

汪园,熊雨舟,王世岩,等. 不同施硒方法对豇豆豆荚中硒形态与含量的影响[J]. 江苏农业科学,2022,50(22):145-152.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.22.021

# 不同施硒方法对豇豆豆荚中硒形态与含量的影响

汪园<sup>1,2,3</sup>,熊雨舟<sup>1,2,3</sup>,王世岩<sup>1,2,3</sup>,饶申<sup>1,3</sup>,程华<sup>1,3</sup>,熊银<sup>1,3</sup>,程水源<sup>1,2,3</sup>,李丽<sup>1,3,4</sup>

(1. 武汉轻工大学/国家富硒农产品加工技术与研发专业中心,湖北武汉 430023; 2. 武汉轻工大学生命科学与技术学院,湖北武汉 430023; 3. 武汉轻工大学硒科学与工程现代产业学院,湖北武汉 430023; 4. 粮食作物种质创新与遗传改良湖北省重点实验室,湖北武汉 430023)

**摘要:**为了确定改善豇豆硒营养的硒肥调控措施,以矮蔓豇豆美国无架豆、有架豇豆之豇 28/2 为试验材料,以亚硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )、纳米硒( $\text{SeNPs}$ )为硒源,在 2 个不同的生长季节分别开展硒强化栽培的定点试验。在第 1 季,将外源硒浓度设置为 0、0.1、0.5、1.0、2.5、3.0 mmol/L,研究不同硒浓度、不同硒源对豇豆豆荚中硒形态、硒含量的影响;在第 2 季,将外源硒浓度设置为 0、0.5、2.5 mmol/L,比较不同施肥次数、不同采摘时间对豇豆豆荚中总硒含量的影响。结果表明,2 个豇豆品种豆荚的硒含量均随施入的外源硒浓度的增加而增加,在相同浓度下, $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  对豆荚硒含量的提升效果更为明显。用不同外源硒处理后,豇豆豆荚中硒的主要存在形态为  $\text{MeSeCys}$ 、 $\text{SeMet}$ ,在有架豇豆豆荚中,这 2 种形态硒含量占总硒含量的比例分别为 15.20% ~ 36.53%、63.47% ~ 74.64%,在矮蔓豇豆豆荚中,这 2 种形态硒含量的占比分别为 14.50% ~ 32.31%、55.00% ~ 100.00%;无机硒形态均只能在高浓度处理组中被检测到。用 2 种硒源的硒处理后,低浓度硒处理组的矮蔓豇豆第 2 茬采摘的豆荚中总硒含量与第 1 茬相比略有降低,而高浓度处理组中与此相反,其中 2.5 mmol/L 纳米硒处理组中第 2 茬采摘的豆荚中硒含量显著升高;有架豇豆的表现与矮蔓豇豆不同,2.5 mmol/L 纳米硒处理组中第 2 茬采摘的豆荚中硒含量显著下降。在 2 种硒源处理下,与初花期施 1 次硒相比,结荚期追施 1 次硒对豆荚中硒含量有一定的提升效果,但在高浓度亚硒酸钠处理组中,2 次施肥会造成豆荚中硒含量的下降。由结果可知,叶片喷施纳米硒、亚硒酸钠处理能够有效提高豇豆豆荚的总硒含量,且豆荚中的硒形态以  $\text{SeMet}$ 、 $\text{MeSeCys}$  为主,通过豇豆叶片吸收的硒优先转化为有机硒;不同外源硒种类、施用浓度、植物基因型对豇豆豆荚累积的硒形态、含量有明显影响;用 2.5 mmol/L  $\text{SeNPs}$  在豇豆初花期进行叶面喷施(如有必要可在结荚期追施 1 次)是最佳处理。

**关键词:**长豇豆;品种;纳米硒;亚硒酸钠;施用浓度

**中图分类号:**S643.406 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)22-0145-08

硒(Se)是人类和动物必需的微量营养素,它是硒酶、硒蛋白的活性中心,参与多种生理和代谢过

程,具有抗氧化、免疫调节和拮抗作用,每天摄取足量的硒是维持人类健康、预防疾病和延缓衰老所必需的<sup>[1]</sup>。据估计,全球有 15% 的人口(5 亿 ~ 11 亿)缺乏硒,而中国约有 1.05 亿人可能因缺硒面临着健康隐患<sup>[2]</sup>。调查发现,与 20 年前生活在同一地理区域的居民相比,当前居民头发中的硒含量下降了 24% ~ 46%<sup>[3]</sup>,有 39% ~ 61% 的中国居民日硒摄入量低于世界卫生组织/联合国粮农组织(WHO/FAO)的推荐值(26 ~ 34  $\mu\text{g}/\text{d}$ )<sup>[4]</sup>。因此,在缺硒地区通过生物强化方式提高作物可食用部分硒元素的生物有效浓度,并通过它们进入食物链,进而改

收稿日期:2021-11-27

基金项目:2019 年湖北省技术创新专项(重大项目)(编号:2019ABA113);粮食作物种质创新与遗传改良湖北省重点实验室开放课题(编号:2020zlj09)。

作者简介:汪园(1996—),男,湖北荆州人,硕士研究生,主要从事豆科植物富硒机理研究。E-mail:2390446193@qq.com。

通信作者:程水源,博士,教授,主要从事硒资源评价与利用研究, E-mail:s-y-cheng@sina.com;李丽,博士,副教授,研究方向为植物资源与富硒机理研究, E-mail:lily7819@whpu.edu.cn。

用与环境生物学报:1-14[2021-11-20]. [https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=YYHS2021041300V&uniplatform=NZKPT&v=q70-SxtcQV0ZDnoX22fPlsC56TFopoveyYeKRvVaa\\_DQUz-ZAt1D7uHSTu0abwJOK](https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=YYHS2021041300V&uniplatform=NZKPT&v=q70-SxtcQV0ZDnoX22fPlsC56TFopoveyYeKRvVaa_DQUz-ZAt1D7uHSTu0abwJOK).

[22]王巧良,南歆格,史琰,等. 基于 AHP 法的砷根品种综合评价——以冬季杭州地区绿墙应用为例[J]. 河南农业科学,

2019,48(9):137-142.

[23]黄少玲,汪华清,周意峰,等. 砷根在东莞地区引种驯化过程中的夏季适应性研究[J]. 热带林业,2016,44(4):4-7.

[24]温韦华,陈燕,刘东焕,等. 10 种园林植物的耐阴性比较研究[J]. 中国园林,2018,34(9):104-108.

[25]许琳. 砷根在园林绿化中的应用[J]. 现代园艺,2018(7):100-101.

善人体缺硒状况,是一种十分重要的策略<sup>[5]</sup>。

生长介质(如土壤)中的有效硒含量、植物对硒的吸收和积累作用对可食用植物中的硒含量起决定作用。植物积累硒的能力因植物种类而异,我国不同蔬菜可食用部位的硒含量由高到低排序为块茎类、块根类蔬菜 > 豆类 > 茄属蔬菜 > 叶类蔬菜<sup>[4]</sup>,其中大蒜、洋葱和豆类被认为是高富集硒的植物。豇豆[*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]是豆科作物中的重要一员,栽培豇豆的类型主要包括3种,其中分布在我国的有普通豇豆(重要的食用豆类)、长豇豆(重要的豆类蔬菜)2种。豇豆富含优质蛋白质、矿物质及多酚类化合物,长期食用能够有效提高人体抗氧化能力、增强免疫力<sup>[6-7]</sup>。由于豇豆的营养特性,对炎热、干旱具有较好的适应性,因此在全球范围内,尤其是拉丁美洲、亚洲和非洲等发展中国家被广泛种植,种植面积至少达到1 200万 $\text{hm}^2$ ,年产量高达350万t。近年来,我国豇豆的年播种面积约37万 $\text{hm}^2$ ,栽培面积约占世界总面积的1/5<sup>[8]</sup>。

豇豆是一种富硒能力较强的植物,Silva等通过测定豇豆的硒含量并根据当地居民豇豆日摄入量,推测外源施入10 $\text{g}/\text{hm}^2$ 硒酸钠可提供充足的种子硒,能使人体日硒摄入量增加13~14 $\mu\text{g}/\text{d}$ <sup>[9]</sup>。在我国高硒区湖北省恩施州建始县安乐井村,天然绿色豆角中总硒含量达38.20 $\text{mg}/\text{kg}$ ,检测到的有无机硒(Se VI)、硒代甲硫氨酸(SeMet)和 $\gamma$ -谷氨酰硒甲基半胱氨酸( $\gamma$ -Glu-Se-MC)形态硒含量分别为10.04、10.64、1.48 $\text{mg}/\text{kg}$ <sup>[10]</sup>。相关临床试验结果显示,硒甲基半胱氨酸、 $\gamma$ -谷氨酰硒甲基半胱氨酸具有较好的抗癌效果,其中硒代甲硫氨酸是被授权许可的作为食品强化剂的硒化合物<sup>[10]</sup>。此外,植物硒生物强化不仅能生产富硒食物,还能诱发生更多的次生代谢物,可能更利于人类健康<sup>[5]</sup>。由此可见,富硒豆类植物作为功能性补硒食品具有很好的开发利用价值。

目前关于豇豆的研究主要集中在通过栽培措施调控其生长、营养品质和产量等方面<sup>[11-12]</sup>,关于豇豆富硒栽培及该过程中硒的积累、转化的研究少有报道。由此,本研究主要以亚硒酸钠、纳米硒为硒源,以2个不同生长习性的长豇豆品种——有架豇豆与矮蔓豇豆为试验材料,研究不同外源硒形态、不同施用浓度、不同采收时间和施硒次数对豆荚中硒形态、硒含量的影响,以期阐明豇豆对硒的富集转运特性、生产安全可靠的富硒豇豆提供理

论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设置

本试验所选材料为长江中下游地区广泛种植的2个不同生长习性的长豇豆品种:之豇28/2(有架型)和美国无架豆(矮蔓型),购买于荆州市农资大市场,试验地点位于武汉轻工大学基地种植圃内(土壤类型为壤土)。针对不同研究目的,分别于2020年4—9月开展2个不同阶段的豇豆富硒栽培试验,为避免相互干扰,2次试验在不同种植区域进行。

于2020年3月下旬至6月中旬进行2个豇豆品种不同硒源、不同硒浓度处理的试验。3月31日播种,6月3日于初花期以叶面喷施的方式进行外源硒处理。施入的硒源分别为生物纳米硒(SeNPs)、亚硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ),纳米硒由湖北省农业科学院提供,亚硒酸钠购买于湖北成丰化工有限公司;硒浓度梯度均设为0、0.1、0.5、1.0、2.5、3.0 $\text{mmol}/\text{L}$ 。试验采用随机区组设计,每组设6株植株,共3次重复。生长期间进行正常的水肥及病虫害防治管理,2020年6月11日收获豆荚,将其干燥、研磨成粉状、过筛后备用。

2020年7月下旬至9月下旬进行2个豇豆品种不同采收时间及施硒次数的处理试验。7月27日播种,(1)于豇豆初花期(8月29日)施1次肥,分别于9月8日、9月25日进行采样;(2)于结荚期(9月17日)进行第2次施肥,统一于9月25日采样。根据不同采收时间分为第1茬(9月8日)、第2茬(9月25日);根据生长期间施入硒肥次数的不同,分为施1次肥(仅初花期施1次)、施2次肥(初花期、结荚期各施1次)。外源硒采用叶面喷施方式,所用硒源为纳米硒、亚硒酸钠,施入浓度均分别为0(对照)、0.5(低)、2.5 $\text{mmol}/\text{L}$ (高)。试验采用随机区组设计,每组设6株,共3次重复。在豇豆生长期进行正常水肥及病虫害防治管理。采样后将其干燥、研磨成粉状、过筛后备用。

### 1.2 检测豇豆豆荚中的硒含量和硒形态

1.2.1 总硒含量测定 主要参考 Rao 等的方法<sup>[13]</sup>,用 Multiwave PRO[安东帕(上海)商贸有限公司]对样品进行消解,用10%盐酸定容后,使用原子荧光光谱仪(AFS8530,北京海光仪器有限公司)测定吸光度,根据标准曲线计算样品溶液中的硒含量。

1.2.2 硒形态检测 主要参考 Rao 等的方法<sup>[13]</sup>, 各种硒标准品购自国家标准物质资源共享平台, 包括 SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet、亚硒酸钠与硒酸钠 5 种硒形态标准品, 并绘制标准曲线。将使用蛋白酶 E、蛋白酶 K 消化后的待测样品溶液注入液相色谱-原子荧光联用仪(LC- AFS8530, 北京海光仪器有限公司)中, 测定各种硒形态的峰面积, 将峰面积代入混标标准曲线中, 计算各样品中不同形态硒的含量。

### 1.3 数据处理

用 Excel 2010、Origin 进行数据处理和作图, 用 DPS 软件中的 Duncan's 新复极差法进行不同处理组内及组间均值的差异显著性比较, 结果为“平均值 ± 标准误”, 显著性水平设为 0.05。

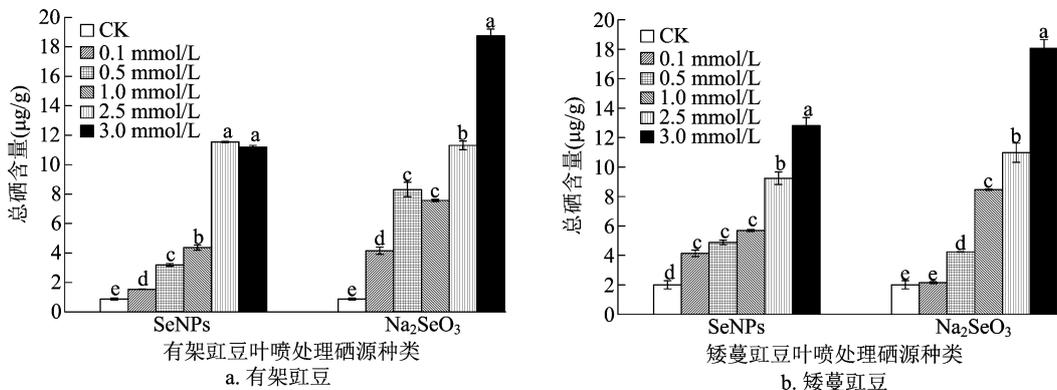
## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度外源硒处理对豇豆总硒含量的影响

从图 1 可以看出, 随着施入外源硒浓度的升高, 2 个不同豇豆品种豆荚中累积的硒含量均有明显提高。与对照组相比, 0.1 ~ 3.0 mmol/L SeNPs 处理组有架豇豆豆荚中的硒含量分别提高了 75.46%、265.75%、399.91%、1 220.32%、1 182.14%, 以

2.5 mmol/L SeNPs 处理的硒含量最高, 为 11.53 μg/g; 与 2.5 mmol/L SeNPs 处理相比, 3.0 mmol/L SeNPs 处理豆荚中的总硒含量略有下降, 但不显著; 有架豇豆在施入 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 后总硒含量的表现与施入 SeNPs 相似, 但在相同浓度下 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 对豆荚中硒含量的提升效果更为明显, 当 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度 > 2.5 mmol/L 后, 豆荚硒的积累量大幅增加, 在 3.0 mmol/L 浓度处理下达到最大值 18.75 μg/g(图 1-a)。

在对照组中, 矮蔓豇豆中的硒含量比有架豇豆高, 前者是后者的 2.30 倍。0.1 ~ 1.0 mmol/L SeNPs 对矮蔓豇豆豆荚中硒含量的提升效果无显著差异, 当 SeNPs 浓度 > 1.0 mmol/L 时, 豆荚中的硒含量显著增加, 当 SeNPs 浓度为 3.0 mmol/L 时达到最大值 12.81 μg/g。如图 1-b 所示, 在低浓度 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (< 0.5 mmol/L) 处理下, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 对矮蔓豇豆豆荚中硒含量的增加效果不如 SeNPs; 当外源硒浓度 > 1.0 mmol/L 时, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 的作用更为明显。相比于对照, 施入 0.5 ~ 3.0 mmol/L Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 后, 矮蔓豇豆豆荚中的硒积累量得到显著提高, 分别增加了 1.11、3.22、4.47、8.00 倍, 且各处理组间差异显著。



同一豇豆品种、同一硒源处理的不同浓度处理组之间标有不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下图同

图1 不同浓度硒源处理对豇豆总硒含量的影响

### 2.2 不同浓度外源硒处理对有架豇豆硒形态的影响

不同外施硒源种类与施入量对有架豇豆豆荚中累积硒的存在形态与含量均有较大影响(表 1、图 2)。在对照处理中, 有架豇豆豆荚中有 SeCys<sub>2</sub>、Se<sup>4+</sup> 2 种形态的硒, 含量占比分别为 88.81%、11.19%。而在用 2 种外源硒处理后, 豆荚中的硒形态均以 MeSeCys、SeMet 为主, 含量占比分别为 15.20% ~ 36.53%、63.47% ~ 74.64%(表 1)。其中, SeNPs 处理的有架豇豆豆荚中的硒均以有机硒形态存在,

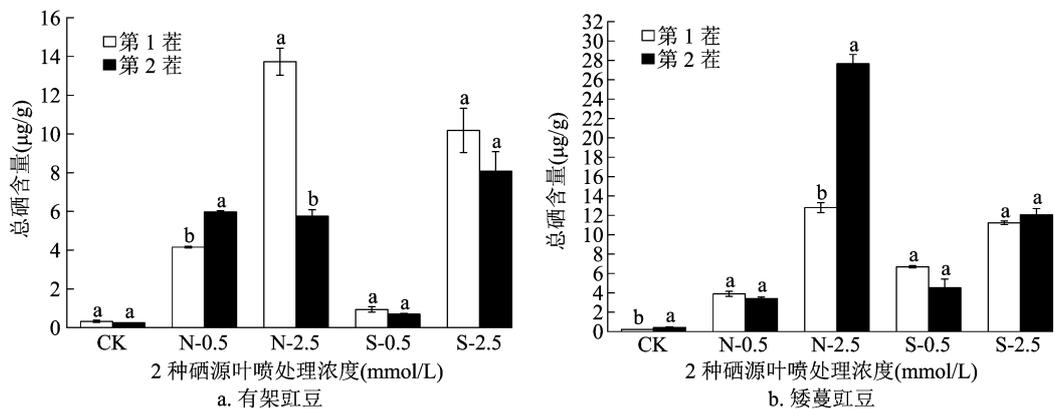
用 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理时, 仅在高浓度下 ( $\geq 2.5$  mmol/L) 检测到无机形态的硒(Se<sup>4+</sup>)。

由表 1 可知, 当施入的 SeNPs 浓度为 0.1 ~ 2.5 mmol/L 时, 从有架豇豆豆荚中检测到 MeSeCys、SeMet 2 种硒形态, 其含量分别为 0.118 3 ~ 0.293 5、0.325 4 ~ 0.705 2 μg/g; 当 SeNPs 浓度为 3.0 mmol/L 时, 检测到 SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet 3 种形态的硒, 其含量占比分别 7.85%、21.19%、70.96%。豆荚中 MeSeCys 的含量随着 SeNPs 施入浓度的增加呈先增后减的趋势, 在 0.5 ~ 3.0 mmol/L

表1 2种硒源处理后有架豇豆豆荚硒形态的含量与每种硒形态含量占比情况

硒源	处理浓度 (mmol/L)	各硒形态含量( $\mu\text{g/g}$ )				
		SeCys <sub>2</sub>	MeSeCys	SeMet	Se <sup>4+</sup>	Se <sup>6+</sup>
CK	0	0.123 8 ± 0.023 6a(88.81%)	—	—	0.015 6 ± 0.002 8a(11.19%)	—
SeNPs	0.1	—	0.118 3 ± 0.005 6b(26.66%)	0.325 4 ± 0.025 0d(73.34%)	—	—
	0.5	—	0.254 1 ± 0.011 5a(32.01%)	0.539 8 ± 0.048 3bc(67.99%)	—	—
	1.0	—	0.253 2 ± 0.018 3a(35.00%)	0.470 2 ± 0.048 5cd(65.00%)	—	—
	2.5	—	0.293 5 ± 0.025 5a(29.39%)	0.705 2 ± 0.035 1ab(70.61%)	—	—
	3.0	0.088 8 ± 0.004 0a(7.85%)	0.239 6 ± 0.012 1a(21.19%)	0.802 5 ± 0.035 0a(70.96%)	—	—
CK	0	0.123 8 ± 0.023 6a(88.81%)	—	—	0.015 6 ± 0.002 8a(11.19%)	—
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0.1	—	0.241 6 ± 0.009 9a(36.53%)	0.419 8 ± 0.015 6c(63.47%)	—	—
	0.5	—	0.251 6 ± 0.027 0a(26.33%)	0.704 0 ± 0.084 1b(73.67%)	—	—
	1.0	—	0.290 1 ± 0.034 0a(31.28%)	0.637 2 ± 0.025 5bc(68.72%)	—	—
	2.5	—	0.308 2 ± 0.027 8a(26.42%)	0.849 6 ± 0.044 5b(72.82%)	0.008 9 ± 0.002 8a(0.76%)	—
	3.0	0.151 5 ± 0.017 7a(9.17%)	0.251 0 ± 0.020 3a(15.20%)	1.232 6 ± 0.073 7a(74.64%)	0.016 4 ± 0.000 6a(0.99%)	—

注:各形态的硒含量以干质量计。同种硒源、不同浓度处理各硒形态含量数据后标有不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。括号内数据为每种硒形态在该浓度硒源处理下的占比。下表同。



N表示SeNPs处理, S表示Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>处理。图3同

图2 不同采摘时间对豇豆总硒含量的影响

处理组间无显著差异,而SeMet含量整体呈逐渐增加的趋势。

Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>与SeNPs处理后硒积累的情况相似。当施入的Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>浓度为0.1~1.0 mmol/L时,从有架豇豆豆荚中仅检测到MeSeCys、SeMet,其含量分别为0.241 6~0.290 1、0.419 8~0.704 0  $\mu\text{g/g}$ ;当Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>浓度升高至2.5 mmol/L时,新增检测到Se<sup>4+</sup>;当Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>浓度升高至3.0 mmol/L时,新增检测到SeCys<sub>2</sub>,此时SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet、Se<sup>4+</sup>的含量占比分别为9.17%、15.20%、74.64%、0.99%。与SeNPs处理相似,MeSeCys的含量在Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>浓度为0.1~3.0 mmol/L时呈先增后减的趋势,处理组之间差异不显著,而SeMet含量整体呈逐渐增加的趋势。

2.3 不同浓度外源硒处理对矮蔓豇豆硒形态的影响

施加外源硒对矮蔓豇豆豆荚中硒积累的影响与对有架豇豆不同。在所有处理中,有架豇豆豆荚中硒的存在形态均以SeMet为主,其占比为55.00%~100.00%。当SeNPs、Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>的处理浓度为0~0.1 mmol/L时,豆荚中均只检测到唯一的硒形态——SeMet;随着外源硒施入浓度的提高,检测到的硒形态种类逐渐增加。且外源硒浓度 $\leq 2.5$  mmol/L时均以有机硒形式存在;当外源硒浓度为3.0 mmol/L时,可检测到无机态硒离子(Se<sup>4+</sup>、Se<sup>6+</sup>) (表2)。

当施入的SeNPs浓度为0.5 mmol/L时,矮蔓豇豆豆荚中的硒形态为MeSeCys、SeMet,其占比分别

为 28.65%、71.35%；当 SeNPs 浓度为 1.0、2.5 mmol/L 时，硒形态有 SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet，占比分别为 2.17%、26.93%、70.90% 和 4.45%、32.31%、63.24%；当 SeNPs 浓度为 3.0 mmol/L 时，检测到 Se<sup>4+</sup>、Se<sup>6+</sup>、SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet 5 种形态的硒，其中无机硒占比为 13.88%，有机硒占比为 86.12%。从表 2 可以看出，从矮蔓豇豆豆荚中检测到的各种形态硒的含量随着施入的 SeNPs 浓度增加呈递增趋势，且各处理间差异显著。

与 SeNPs 处理不同的是，用 0.5 mmol/L Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理后可检测到 SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet 等 3 种有机硒的存在形态，其占比分别为 1.21%、14.82%、83.97%；随 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度升高至 3.0 mmol/L，可检测到 Se<sup>4+</sup>、SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet 4 种形态的硒，其占比分别为 3.12%、6.28%、18.61%、71.99%。同样的，矮蔓豇豆豆荚中检测到的各种硒形态的含量随施入的 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度的增加呈逐渐升高的趋势(表 2)。

#### 2.4 不同采摘时间对豇豆豆荚总硒含量的影响

在硒源相同、处理浓度相同的情况下，不同采摘时间对 2 种豇豆豆荚中总硒含量有较大影响。其中有架豇豆在用 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理后，第 2 茬采样时豆荚中的总硒含量与第 1 茬相比均有所下降，但差异不显著；而用 SeNPs 处理后，低浓度(0.5 mmol/L)处理组中第 2 茬采样的豆荚中总硒含量比第 1 茬显著增加，而高浓度(2.5 mmol/L)处理组中第 2 茬采样的豆荚中总硒含量与第 1 茬采样时相比显著下降(图 2-a)。

不同采摘时间对矮蔓豇豆豆荚中总硒含量的影响与对有架豇豆中总硒含量的影响不同。用 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>、SeNPs 2 种硒源处理后，低浓度(0.5 mmol/L)处理组中第 2 茬采样的豆荚中总硒含量与第 1 茬采样相比都略有降低，而高浓度(2.5 mmol/L)处理组中第 2 茬采样的豆荚中总硒含量与第 1 茬采样相比则有所提高。其中 2.5 mmol/L SeNPs 处理组中，与第 1 茬相比，第 2 茬采样的豆荚中硒含量显著升高，约升高了 1.16 倍(图 2-b)。

#### 2.5 不同施硒次数对豇豆豆荚总硒含量的影响

从图 3 可以看出，不同施硒次数也对豇豆总硒含量有影响，且用不同形态硒源处理后的效果不同。用 SeNPs 处理时，有架豇豆豆荚中的总硒含量随着施硒次数的增加而显著升高，在高浓度(2.5 mmol/L)处理组中，施肥 2 次后豆荚中的总硒

表 2 2 种硒源处理后矮蔓豇豆豆荚硒形态的含量与每种硒形态含量占比情况

硒源	处理浓度 (mmol/L)	各硒形态含量(μg/g)			
		SeCys <sub>2</sub>	MeSeCys	SeMet	Se <sup>6+</sup>
CK	0	—	—	0.118 7 ± 0.005 9 <sub>e</sub> (100.00%)	—
SeNPs	0.1	—	—	0.266 6 ± 0.002 8 <sub>e</sub> (100.00%)	—
	0.5	—	0.150 9 ± 0.011 6 <sub>d</sub> (28.65%)	0.375 8 ± 0.006 1 <sub>d</sub> (71.35%)	—
	1.0	0.018 3 ± 0.005 7 <sub>c</sub> (2.17%)	0.227 4 ± 0.019 5 <sub>c</sub> (26.93%)	0.598 8 ± 0.008 4 <sub>c</sub> (70.90%)	—
	2.5	0.058 7 ± 0.006 6 <sub>b</sub> (4.45%)	0.426 1 ± 0.016 7 <sub>b</sub> (32.31%)	0.833 8 ± 0.074 9 <sub>b</sub> (63.24%)	—
	3.0	0.147 8 ± 0.009 5 <sub>a</sub> (6.88%)	0.520 6 ± 0.012 7 <sub>a</sub> (24.24%)	1.181 3 ± 0.027 2 <sub>a</sub> (55.00%)	0.008 4 ± 0.003 2 <sub>a</sub> (0.39%)
CK	0	—	—	0.118 7 ± 0.005 9 <sub>e</sub> (100.00%)	—
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0.1	—	—	0.154 5 ± 0.011 9 <sub>e</sub> (100.00%)	—
	0.5	0.013 6 ± 0.001 6 <sub>c</sub> (1.21%)	0.167 2 ± 0.007 3 <sub>c</sub> (14.82%)	0.947 3 ± 0.079 9 <sub>c</sub> (83.97%)	—
	1.0	0.045 9 ± 0.008 3 <sub>c</sub> (3.53%)	0.287 2 ± 0.034 8 <sub>bc</sub> (22.09%)	0.967 1 ± 0.096 7 <sub>c</sub> (74.38%)	—
	2.5	0.132 3 ± 0.021 3 <sub>b</sub> (4.68%)	0.409 5 ± 0.030 4 <sub>b</sub> (14.50%)	2.283 3 ± 0.110 1 <sub>b</sub> (80.82%)	—
	3.0	0.299 0 ± 0.012 1 <sub>a</sub> (6.28%)	0.885 9 ± 0.051 7 <sub>a</sub> (18.61%)	3.427 3 ± 0.274 7 <sub>a</sub> (71.99%)	0.148 5 ± 0.041 2 <sub>a</sub> (3.12%)

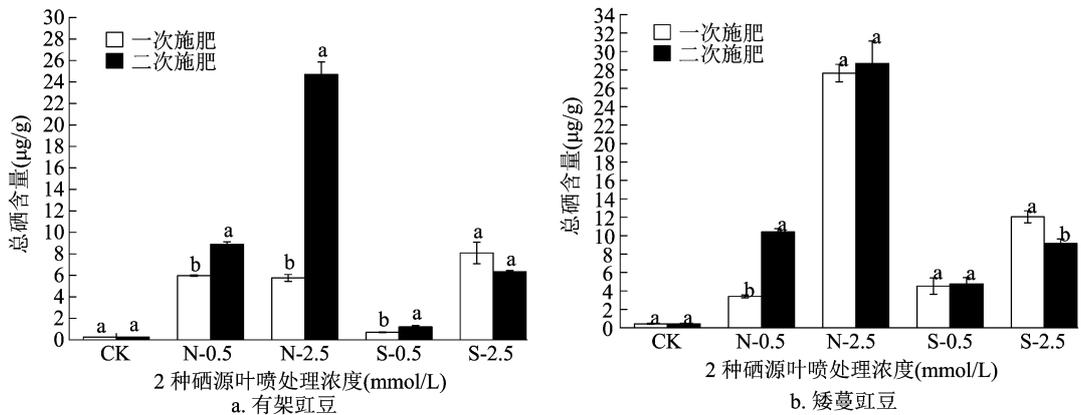


图3 不同施硒次数对豇豆总硒含量的影响

含量约为施肥1次的5.23倍;用 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 处理时,在低浓度(0.5 mmol/L)处理组中,与施肥1次相比,施肥2次的豆荚中总硒含量显著增加,而在高浓度(2.5 mmol/L)处理组中,施肥2次后总硒含量反而下降,但与施肥1次相比没有显著差异(图3-a)。

施硒次数对矮蔓豇豆豆荚中总硒含量的影响与有架豇豆相似。用不同浓度 SeNPs 处理后,与仅施肥1次相比,施肥2次后矮蔓豇豆豆荚的总硒含量均有所增加,其中在低浓度(0.5 mmol/L)处理下,增施效果显著,约提高了2.05倍。而用 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 在增施1次后,对豇豆豆荚中硒含量的影响与 SeNPs 不同。在低浓度(0.5 mmol/L) $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 处理组中,与施肥1次相比,施肥2次的豆荚中总硒含量略有增加,而在高浓度(2.5 mmol/L)处理组中,施肥2次后豆荚中的总硒含量显著下降(图3-b)。

### 3 讨论与结论

根据 WHO/FAO 的建议<sup>[14]</sup>,人体每天需要摄入的硒剂量为 55  $\mu\text{g}/\text{d}$ ,耐受极限为 400  $\mu\text{g}/\text{d}$ 。我国是世界上缺硒程度比较严重的国家之一,大部分人的硒摄入量不足,因此我国早在 20 世纪 90 年代便开始采用硒生物强化策略,经过努力,目前居民缺硒状况已有一定的改善。膳食硒摄入量直接与膳食结构和作物硒生物强化的效果有关。根据《中国统计年鉴(2013—2019年)》,我国居民对谷物类的人均消费量呈逐年下降的趋势,而对豆类、蔬菜类食品的消费量却大幅上升。以往生物硒强化主要集中在水稻、小麦等禾谷类作物,有必要围绕豆类或蔬菜开展相关研究和探索。豇豆是我国重要的常规蔬菜种类之一,栽培范围很广。豇豆鲜豆荚含有丰富的营养,如较高含量的蛋白质、糖类和膳食纤维,以及胡萝卜素、维生素 B 和维生素 C 等<sup>[15]</sup>,可

鲜食、腌制,或加工成饲料;富硒豇豆可作为绿色功能性食物进行开发,但目前相关报道并不多。

施入外源硒(SeNPs 或  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )后,豇豆豆荚中对总硒的吸收和累积均表现出量效关系(dose-response relationship),这与在其他豆科植物如豌豆<sup>[16]</sup>、紫云英<sup>[17]</sup>、普通豇豆<sup>[9]</sup>、苜蓿<sup>[18]</sup>上的研究结果一致。研究发现,叶面喷施 37.5 ~ 750.0 mg/L  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 能有效提高豌豆苗中的大分子结合硒和总硒含量,与对照相比分别提高 8.75 ~ 38.75、6.01 ~ 55.65 倍<sup>[19]</sup>。在本研究中,与对照处理相比,SeNPs、 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 在最高施用浓度(3.0 mmol/L)下,能使有架豇豆豆荚中的硒含量分别提高 1182.14%、2047.27%;能使矮蔓豇豆豆荚中的硒含量分别提高 538.60%、800.76%。总体来看,SeNPs 对豇豆豆荚中硒含量的增加效果不如  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ,这可能与它们的吸收动力学、不同的理化性状以及与生物分子的相互作用不同有关<sup>[20]</sup>。 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 的内流机制与 SeNPs 不同,主要由于  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 进入植物体是通过磷酸盐转运体的主动转运,而 SeNP 则是通过水通道蛋白的被动扩散。在小麦和水稻中<sup>[20-21]</sup>,SeNPs 的吸收速率远低于  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 。此外,本研究中使用的 SeNPs 是由复杂的微生物群落合成的,封端剂(即蛋白质、多糖、酚类、胺类和醇类)存在于 SeNPs 的表面,这种胞外聚合物质的存在可能是影响它们在豇豆中运输和积累的不利因素之一<sup>[20]</sup>。值得注意的是,施用 3.0 mmol/L  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 对豇豆植株有毒害作用,表现为叶缘处分布大量不规则的坏死点和叶脉间褪绿,推测可能是由于高浓度  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 的叶喷处理使豇豆叶肉细胞中形成活性氧(ROS),导致细胞膜结构破坏、叶绿素浓度下降<sup>[22]</sup>。然而,相同浓度 SeNPs 的应用却并未使豇豆植株表现出明显的受害症状,这

一现象表明,SeNPs 的植物毒性低于亚硒酸盐,与 Li 等在大蒜不同形态硒源的水培试验中观察到的结果<sup>[23]</sup>一致。

植物中的硒形态是评价补硒效果的基础。有机硒形式(如硒氨基酸)比无机硒形式(如亚硒酸盐、硒酸盐)具有更高的生物可利用性<sup>[5]</sup>,例如人体可以从硒代甲硫氨酸中吸收 90% 以上的硒,而从亚硒酸盐中只能吸收约 50% 的硒。植物施硒后积累的硒形态和含量因植物种类和基因型以及分布的组织器官不同而有差异。例如,恩施天然富硒土壤中生长的豆角中可检测到 SeMet、Se(IV)、MeSeCys 和  $\gamma$ -Glu-Se-MC 等 4 种形态的硒<sup>[24]</sup>;紫花苜蓿在施用硒酸盐、亚硒酸盐和纳米硒后均只检测到 Se(VI) 和 SeMet<sup>[18]</sup>。SeCys<sub>2</sub>、SeMet 是亚硒酸钠处理下大豆籽粒中的主要硒化合物,约占 74%,此外还含有较少的 MeSeCys(9%);无机硒、SeCys<sub>2</sub> 是豆荚、叶和根中的主要硒形态,其中根、叶中无机硒约占 90% 以上,只有很小一部分硒转化为有机硒形态<sup>[25]</sup>。在本研究中,用不同浓度 SeNPs、Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理后,豇豆豆荚中检测到的硒的主要存在形式为 SeMet,其次是 MeSeCys,这 2 种硒形态在有架豇豆豆荚中的占比分别为 63.47% ~ 74.64%、15.20% ~ 36.53%,在矮蔓豇豆豆荚中的占比分别为 55.00% ~ 100.00%、14.50% ~ 32.31%。随着外源硒浓度的增加,豆荚中检测到的硒化合物种类也逐渐增多,但均以有机硒(尤其是 SeMet)为主,无机硒形式均只能在高浓度处理组中被检测到。在 2 种外源硒处理下,豆荚中硒形态种类和含量随着处理浓度的变化有所不同,且在 2 个豇豆品种中,其变化形式也有差异。Li 等对水稻的研究也发现,当处理的 SeNPs 的浓度由 10  $\mu$ mol/L 提高到 30  $\mu$ mol/L 时,幼苗地上部积累的硒形态由 1 种(SeMet)增加到 2 种(SeMet、MeSeCys),且均以 SeMet 为主;而在 10  $\mu$ mol/L Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理组中,水稻幼苗地上部检测到的硒形态有 SeMet、MeSeCys 和 Se(VI)<sup>[23]</sup>。由此可见,植物组织中硒的存在形式和含量与外施硒源和施硒剂量也密切相关<sup>[23,26]</sup>。植物吸收 SeO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 后,在亚硫酸盐还原酶或还原型谷胱甘肽作用下快速还原为 Se<sup>2-</sup>,Se<sup>2-</sup> 在半胱氨酸合成酶的存在下通过与 O-乙酰丝氨酸(OAS)偶联转化为 SeCys,SeCys 在不同酶的作用下可分别形成 SeMet(可进一步合成 MeSeMet)、MeSeCys、Se<sup>0</sup>,或与 SeMet 一起掺入合成含硒蛋白<sup>[27]</sup>。目前对 SeNPs 在植物体内的同化

机制研究还不够深入,但有证据表明,SeNPs 可以转化为有机硒和氧化硒<sup>[23]</sup>。基于有机硒的作用优于无机硒,在生物强化过程中不仅要提高作物的总硒含量,还需要提高有机硒化合物(如硒代氨基酸和甲基硒)的含量与占比,因此,掌握适合作物硒强化的外源硒种类和浓度至关重要。

对于种植 1 次后可多次收获的植物,研究其再生组织中硒的积累和转运,可为制定平衡的硒强化方法提供有用信息。Zoltán 等对同一生长季节 4 次收获的紫花苜蓿的硒吸收和积累动态进行了监测,发现在硒酸盐和亚硒酸盐处理组中,茎、叶组织中的硒含量在收获期间呈逐渐下降的趋势,纳米硒处理的效果与此不同<sup>[18]</sup>。在 10 mg/L 纳米硒处理组中,豇豆叶片中的总硒含量除 2.5mmol/L Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理短蔓豇豆外在第 1 次收获(14.3  $\mu$ g/g)到第 4 次收获(37.5  $\mu$ g/g)间逐渐增加,在 50 mg/L 纳米硒处理组中,前 1~3 次收获的总硒含量有所下降,第 4 次收获时又有所上升。在本研究中,2 个不同的豇豆品种在 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理下的表现与苜蓿相似,第 2 茬采收的豆荚中的总硒含量除 2.5 mmol/L Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理短蔓豇豆外均较第 1 茬采收的低,但差异不显著。而在用 SeNPs 处理后,2 个不同品种表现有所不同:与第 1 茬相比,有架豇豆在低浓度(0.5 mmol/L)下、矮蔓豇豆在高浓度(2.5 mmol/L)下,第 2 茬采收的豆荚中累积的硒含量均显著上升,另外 2 种情况与此相反。Zoltán 等认为,红色纳米硒与缓释肥料有相似的效果<sup>[18]</sup>。从本研究结果看,该论断有待商榷,很可能因植物基因型不同,纳米硒在植物细胞内发生氧化还原、同化代谢及转运方式的不同而有差异。

本研究表明,通过叶面喷施纳米硒与亚硒酸钠能够有效提高豇豆豆荚的总硒含量。豆荚中的硒形态以 SeMet 和 MeSeCys 为主,因外源硒种类、施用浓度、植物基因型的不同累积的硒形态及含量有所不同。综合豇豆对硒吸收和积累的动态变化,考虑到外源施用的纳米硒比亚硒酸盐对植物及环境更为友好的特点,以及食物中有机硒具有更高的生物利用率和安全性、更好的功效等优点,从硒生物强化的角度,采用 2.5 mmol/L SeNPs 在豇豆初花期进行叶喷(如有必要可在结荚期追施 1 次)是最佳处理。

#### 参考文献:

[1]程水源. 硒学导论[M]. 北京:中国农业出版社,2019:81-115.

- [2] Wang J, Li H R, Yang L S, et al. Distribution and translocation of selenium from soil to highland barley in the Tibetan Plateau Kashin - Beck disease area [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2017, 39(1): 221 - 229.
- [3] Li S M, Bañuelos G S, Wu L H, et al. The changing selenium nutritional status of Chinese residents [J]. *Nutrients*, 2014, 6(3): 1103 - 1114.
- [4] Dinh Q T, Cui Z W, Huang J, et al. Selenium distribution in the Chinese environment and its relationship with human health: a review [J]. *Environment International*, 2018, 112: 294 - 309.
- [5] D'Amato R, Regni L, Falcinelli B, et al. Current knowledge on selenium biofortification to improve the nutraceutical profile of food: a comprehensive review [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(14): 4075 - 4097.
- [6] Cai R, Hettiarachchy N S, Jalaluddin M. High - performance liquid chromatography determination of phenolic constituents in 17 varieties of cowpea [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(6): 1623 - 1627.
- [7] 程安玮, 吴剑夫, 秦宏伟, 等. 4种豆类中多酚、类黄酮含量及抗氧化活性研究 [J]. *中国粮油学报*, 2017, 32(10): 28 - 32.
- [8] 汪宝根, 吴新义, 李素娟, 等. 浙江省地方豇豆种质资源的鉴定与评价 [J]. *植物遗传资源学报*, 2021, 22(2): 380 - 389.
- [9] Silva V M, Boleta E H M, Martins J T, et al. Agronomic biofortification of cowpea with selenium: effects of selenate and selenite applications on selenium and phytate concentrations in seeds [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(13): 5969 - 5983.
- [10] Block E, Birringer M, Jiang W Q, et al. Allium chemistry: synthesis, natural occurrence, biological activity, and chemistry of Se - alk(en)ylselenocysteines and their  $\gamma$  - glutamyl derivatives and oxidation products [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(1): 458 - 470.
- [11] 张伟, 万宣伍, 田卉, 等. 2种植物生长调节剂对豇豆产量和品质的影响 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(7): 2624 - 2628.
- [12] 孙信成, 张忠武, 杨连勇, 等. 密度与追肥量对豇豆产量及农艺性状的影响 [J]. *中国农机化学报*, 2018, 39(6): 71 - 76.
- [13] Rao S, Yu T, Cong X, et al. Integration analysis of PacBio SMRT - and Illumina RNA - seq reveals candidate genes and pathway involved in selenium metabolism in hyperaccumulator *Cardanine violifolia* [J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 492 - 511.
- [14] WHO. Vitamin and mineral requirements in human nutrition [M]. 2nd ed. Geneva: World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004.
- [15] 张志轩, 高艳丽, 汪妮, 等. 豇豆新品种“全王绿宝特”的选育与特征特性 [J]. *北方园艺*, 2018(13): 209 - 210, 2.
- [16] 吴正景, 郭大龙, 高文. 不同时期喷施亚硒酸钠对豌豆芽苗生长及硒含量的影响 [J]. *种子*, 2008, 27(8): 40 - 42.
- [17] 刘芳, 周乾坤, 周守标, 等. 施硒对紫云英生长、生理和硒积累特性的影响 [J]. *土壤通报*, 2016, 47(1): 129 - 136.
- [18] Zoltán K, Áron S, Béla K, et al. Uptake dynamics of ionic and elemental selenium forms and their metabolism in multiple - harvested alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Plants*, 2021, 10(7): 1277.
- [19] 吴正景, 王少先, 蒋燕, 等. 不同质量浓度亚硒酸钠对豌豆芽苗菜生长及硒含量的影响 [J]. *广东微量元素科学*, 2004, 11(12): 35 - 38.
- [20] Hu T, Li H F, Li J X, et al. Absorption and bio - transformation of selenium nanoparticles by wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 597.
- [21] Wang K, Wang Y Q, Li K, et al. Uptake, translocation and biotransformation of selenium nanoparticles in rice seedlings (*Oryza sativa* L.) [J]. *Nanobiotechnology*, 2020, 18(1): 103.
- [22] Lanza M G D B, Silva V M, Montanha G S, et al. Assessment of selenium spatial distribution using  $\mu$  - XFR in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] plants: integration of physiological and biochemical responses [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 207: 111216.
- [23] Li Y X, Zhu N L, Liang X J, et al. A comparative study on the accumulation, translocation and transformation of selenite, selenate, and SeNPs in a hydroponic - plant system [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 189: 109955. 1 - 109955. 7.
- [24] 邵树勋, Dernovics M, 龙胜桥. 恩施富硒豆角中硒的形态研究 [J]. *矿物学报*, 2015, 35(增刊1): 671.
- [25] Chan Q L, Afton S E, Caruso J A. Selenium speciation profiles in selenite - enriched soybean (*Glycine Max*) by HPLC - ICPMS and ESI - ITMS [J]. *Metallomics*, 2010, 2(2): 47 - 53.
- [26] 陈佳佳, 李汛, 吴沿友, 等. 增施 CO<sub>2</sub> 条件下施硒对温室黄瓜产量及硒吸收累积的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2020, 36(6): 1503 - 1511.
- [27] White P J. Selenium metabolism in plants [J]. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 2018, 1862(11): 2333 - 2342.