Chinese Journal of Applied Ecology, Nov. 2017, 28(11): 3527-3534 DOI: 10.13287/j.1001-9332.201711.023

硒的价态与浓度对香橙幼苗生长和AsA-GSH循环的影响

孙协平[1,2] 罗友进[2] 周广文[2] 伊洪伟[2] 陈元平[2] 武 峥[2] 谢永红[2*]
([1]长江师范学院生命科学与技术学院, 重庆涪陵 408100; [2]重庆市农业科学院果树研究所, 重庆 401329)

摘 要 以盆栽香橙为试材,分析不同施用浓度Se^{6+}和Se^{4+}对植株生长和抗坏血酸(AsA)-谷胱甘肽(GSH)循环的影响.结果表明:两种价态硒均可促进香橙生长,主要表现在增加了叶面积、株高、鲜质量和干质量.施用Se^{6+}显著提高了香橙硒含量,且硒主要分配在叶片;而施用Se^{4+}虽能提高硒含量,但其含量远低于Se^{6+}处理,且主要分配在根系.施硒提高了叶片叶绿素和过氧化氢(H_2O_2)含量,且Se^{6+}处理高于Se^{4+}处理.Se^{6+}浓度≤2.0 mg·L^{-1}处理能提高谷胱甘肽还原酶(GR)与谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性、GSH与氧化型谷胱甘肽(GSSG)量,Se^{6+}浓度≥4.0 mg·L^{-1}处理降低GSH循环的物质和酶活性;而Se^{4+}浓度≤2.0 mg·L^{-1}处理能提高脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)与抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性,且具有较高的AsA/[AsA+脱氢抗坏血酸(DHA)]比值,Se^{4+}浓度≥4.0 mg·L^{-1}处理的GSH循环的物质和酶活性升高.综上,硒的不同价态和施用浓度对AsA-GSH循环相关物质含量和酶活性的影响不同.结合香橙生长指标和抗氧化水平,Se^{6+}和Se^{4+}的适宜浓度分别为2.0和4.0 mg·L^{-1}.

关键词 香橙; 硒; 生长; 抗坏血酸-谷胱甘肽循环

Effects of selenium valence states and application concentrations on plant growth, ascorbate-glutathione cycle in *Citrus junos* cv. Ziyang Xiangcheng.

SUN Xie-ping[1,2], LUO You-jin[2], ZHOU Guang-wen[2], YI Hong-wei[2], CHEN Yuan-ping[2], WU Zheng[2], XIE Yong-hong[2*] ([1]*Life Science and Technology Institute, Yangtze Normal University, Fuling* 408100, *Chongqing, China*; [2]*Fruit Research Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing* 401329, *China*).

Abstract: Potted *Citrus. junos* cv. Ziyang Xiangcheng seedlings were used to study the effects of selenium (Se) valence states (Se^{6+} and Se^{4+}) on plant growth and antioxidants and antixodases in ascorbate (AsA)-glutathione (GSH) cycle. The results showed that Se^{6+} and Se^{4+} (from 1.0 mg·L^{-1} to 8.0 mg·L^{-1}) stimulated the seedling growth by increasing plant height, leaf areas, and fresh or dry mass. Applying Se^{6+} significantly increased plant Se levels mainly in leaf, and applying Se^{4+} slightly increased Se content mainly in root. Certain valence states and concentrations of Se increased leaf chlorophyll and hydrogen peroxide (H_2O_2) content. Se^{6+} ≤2.0 mg·L^{-1} treatments enhanced the activates of glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GPX), and the contents of GSH and oxidized glutathione (GSSG), while Se^{6+} ≥4.0 mg·L^{-1} treatments reduced the antioxidant contents and antixodase activities of GSH cycle. Moreover, Se^{4+} ≤ 2.0 mg·L^{-1} treatments increased the activities of dehydroascorbate reductase (DHAR) and ascorbate peroxidase (APX), and resulted in higher AsA/[AsA+dehydroascorbic acid (DHA)] ratio. When Se^{4+} ≥4.0 mg·L^{-1}, the antioxidant contents and antixodase activities of GSH cycle were increased. Together, this study showed that different valence states and application concentrations of Se showed different influences on AsA-GSH cycle in citrus, and 2.0 mg·L^{-1} Se^{6+} and 4.0 mg·L^{-1} Se^{4+} were the best concentrations for plant growth.

Key words: Xiangcheng; selenium; growth; AsA-GSH cycle.

本文由2015年重庆市博士后科研项目(渝 Xm2015126)、2015年重庆市基本科研业务费(2015cstc-jbky-00514)和2017年长江师范学院引进人才科研启动项目(2017KYQD65)资助 This work was supported by the Postdoctoral Scientific Research Project in Chongqing, China (Xm2015126), the Basic Scientific Research Business Expenses in Chongqing, China (2015cstc-jbky-00514), and the Initiation Project of Introduction Talents of Yangtze Normal University (2017KYQD65).
2016-11-21 Received, 2017-07-30 Accepted.
* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: cqxieyh@hotmail.com

硒是人类、动物的必需微量元素[1],其在维持免疫力和防癌方面起着重要的作用.全世界有 15%的人口缺硒,涉及 21 个国家和地区,尤其是中国、南非等国家较为严重[2-4].美国推荐成年人每天至少摄入 55 μg 的硒[5],而我国人均硒摄入量低[6-7].土壤缺硒是导致人体缺硒的主要因素,由于硒是一种稀有分散元素,在自然界中分配极其不均,范围在 0~8500 mg·kg^{-1}[8].我国是缺硒大国[9],接近 72%的国土面积硒含量低于 0.2 mg·kg^{-1}[10],且硒主要集中分布在我国南方和西北地区[11].

硒是植物的有益元素,在提高作物抗逆性、降低重金属毒害、提高产量和品质等方面有显著作用.截至目前,国内外在不同价态硒对柑橘生长、抗氧化水平方面的研究甚少.为此,本研究以此为切入点,研究不同浓度、不同价态硒对植株生长和抗坏血酸(AsA)-谷胱甘肽(GSH)循环的影响,以期为南方富硒柑橘生产提供一定的理论和实践依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤来自重庆市农业科学院高新技术园.土壤类型为紫色土,土壤 pH 6.7,容重 1.34 g·cm^{-3},有机质 14.6 g·kg^{-1},有效氮 87.2 mg·kg^{-1},有效磷 10 mg·kg^{-1},有效钾 171 mg·kg^{-1},以盆栽资阳香橙(*Citrus junos* cv. Ziyang Xiangcheng)幼苗为试验材料,由重庆福禄特农业科技开发有限公司提供.供试药品硒酸钠和亚硒酸钠均为分析纯试剂.

1.2 试验设计

采取土培盆栽的方法,于 2015 年 6 月 26 日将 8.0 cm 左右高的香橙幼苗栽植于 2.22 L 塑料花盆中,土壤体积为 2 L.常规管理一个月,筛选出整齐一致的幼苗进行试验处理,根据土壤体积计算硒酸钠和亚硒酸钠的施入量,将两种试剂分别溶于水中施入种植盆内,Se^{4+} 和 Se^{6+} 浓度梯度水平分别为 0、1.0、2.0、4.0、8.0 mg·L^{-1},共计 9 个处理,以 0 mg·L^{-1}为对照.单株为一个重复,每个处理设置 8 个重复,处理 2 个月.

1.3 测定方法

试验处理 2 个月后,在每个处理中选出 4~6 株整齐一致的幼苗,洗净带回实验室,株高用米尺测量,叶面积采用鲜质量除以比叶重的方法计算.每个处理称取新鲜叶片 0.2 g,用液氮速冻,储存于-40 ℃冰箱用于测量相关物质和酶.最后将植株分成根、茎、叶,洗净擦干,放入烘箱 60 ℃烘干,测量各器官干质量后装袋储存.

1.4 硒含量的测定

硒元素的检测采用原子荧光光度法(ICP-OES),将烘干样品委托青岛科标检测研究院有限公司进行测量,检出限为 0.05 mg·kg^{-1}.

1.5 叶绿素和过氧化氢含量的测定

叶绿素采用 80%丙酮提取,利用紫外分光光度计在 663 和 646 nm 波长下测量其消光度;过氧化氢测定时将香橙叶片在液氮中研磨后丙酮提取,利用其与硫酸钛生成的黄色沉淀物可被硫酸溶解的特性,在 415 nm 波长下比色测定,具体参考蔡永萍[12]的方法.

1.6 AsA-GSH 循环物质和酶的测定

还原型抗坏血酸(AsA)、氧化型抗坏血酸(DHA)、谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)均采用酶联免疫吸附法测定(ELISA),并委托青岛科标检测研究院有限公司进行测定,计算 AsA+DHA、GSH+DHA、AsA/(AsA+DHA)和 GSH/(GSH+DHA)的值.

1.7 数据处理

每个指标测定 4 个重复,利用 Origin 8.5 软件作图和数据分析,其中显著性差异分析采用 LSD 法,显著性水平设定为 $\alpha=0.05$.

2 结果与分析

2.1 硒的不同价态和浓度对香橙生长指标的影响

不同浓度 Se^{6+} 和 Se^{4+} 处理均促进了香橙的生长(图 1).1.0、2.0、4.0 mg·L^{-1} Se^{6+} 处理使香橙株高显著高于对照,而在 8.0 mg·L^{-1}时,其与对照差异不显著;2.0 mg·L^{-1}处理鲜质量最大,其次是 4.0 和 1.0 mg·L^{-1}处理,均显著高于对照,而 8.0 mg·L^{-1}处理与对照差异不显著;不同浓度 Se^{6+} 均显著增加了叶面积,在 2.0 和 4.0 mg·L^{-1}处理下最大(图 1).

不同浓度 Se^{4+} 处理均能显著增加香橙株高,尤其在 2.0 和 4.0 mg·L^{-1}处理下;2.0 和 4.0 mg·L^{-1}处理鲜质量均显著高于对照,而 1.0 和 8.0 mg·L^{-1}处理与对照差异不显著;不同浓度 Se^{4+} 均显著增加了香橙叶面积,在 2.0 和 4.0 mg·L^{-1}处理下最大,其次为 8.0、1.0 mg·L^{-1}处理(图 1).

两种价态不同浓度硒处理均能提高香橙干质量(图2).不同浓度Se^{6+}处理显著增加了香橙的总干质

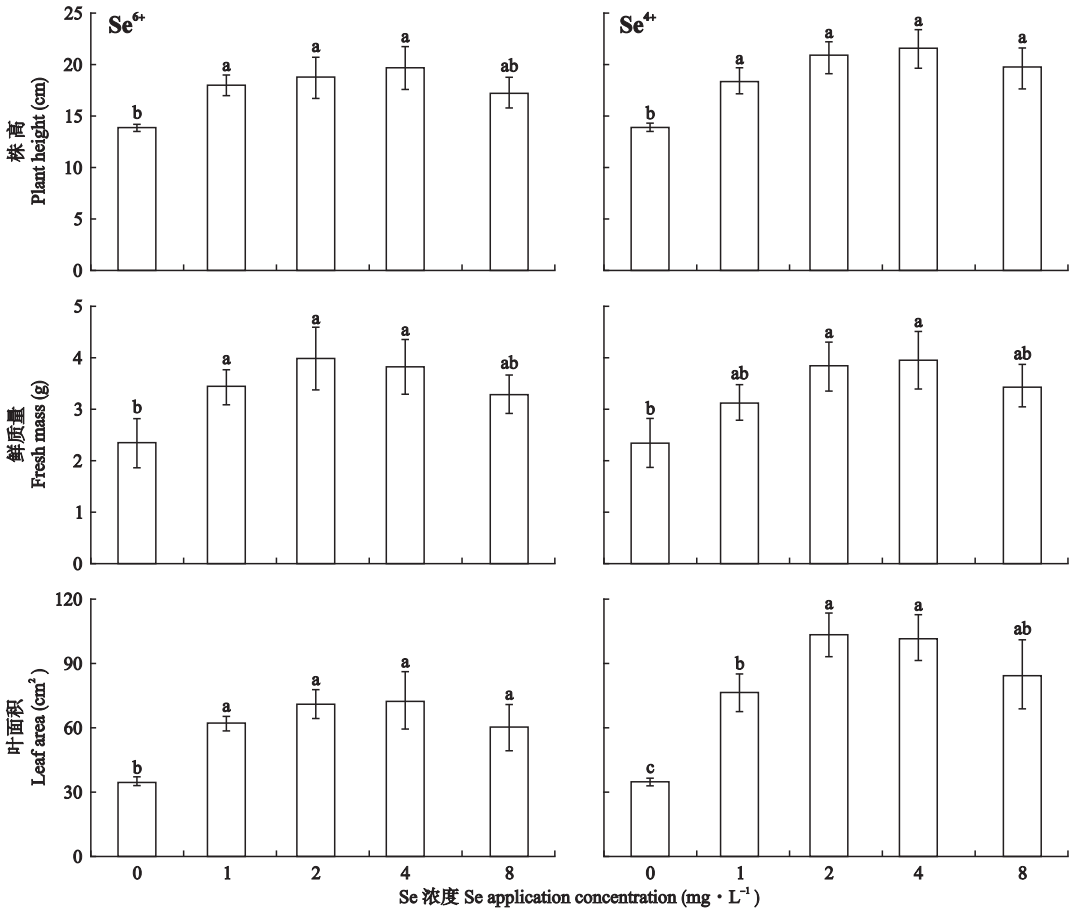


图 1　不同浓度 Se^{6+} 和 Se^{4+} 对香橙株高、鲜质量和叶面积的影响

Fig.1　Effects of different concentrations of Se^{6+} and Se^{4+} on plant height, fresh mass, and leaf area of Ziyang Xiangcheng.

不同字母表示处理间差异显著(P<0.05) Different letters indicated significant difference among treatments at 0.05 level.下同 The same below.

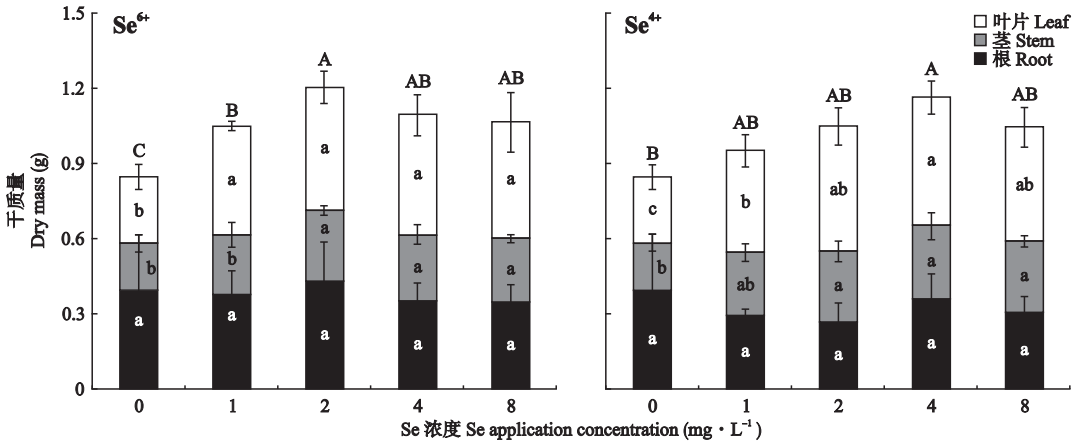


图 2　不同浓度 Se^{6+} 和 Se^{4+} 对香橙叶片、茎和根干质量的影响

Fig.2　Effects of different concentrations of Se^{6+} and Se^{4+} on leaf, stem and root dry mass of Ziyang Xiangcheng.

不同大写字母表示总干质量在处理间差异显著,不同小写字母表示各器官干质量在处理间差异显著(P<0.05) Different capital letters indicated significant difference for total dry mass among treatments, and lowercase letters indicated significant difference for organ dry mass among treatments at 0.05 level.

量,且 2.0 mg · L^{-1}处理香橙干质量最大,为 1.21 g,其次是 4.0 和 8.0 mg · L^{-1}处理(图 2).Se^{4+} 处理中,除了 4.0 mg · L^{-1}处理总干质量(1.16 g)显著大于对照外,其余浓度处理虽能提高总干质量,但差异不显著(图 2).通过分析根、茎和叶干质量可以看出,不同价态硒促进香橙生长主要表现在促进地上部干物质积累(茎、叶的干质量显著高于对照),而对根系的贡献不大(处理与对照差异不显著).

2.2 硒的不同价态和浓度对香橙植株硒含量的影响

硒的不同价态和浓度处理促进了香橙植株对硒的吸收,并有明显的规律性,香橙叶片、茎和根系的硒含量在不同浓度处理间表现为 8.0 mg · L^{-1}处理>4.0 mg · L^{-1}处理>2.0 mg · L^{-1}处理>1.0 mg · L^{-1}处理>0 mg · L^{-1}处理(图 3).在不同浓度 Se^{6+}处理下,叶片是硒的主要储存器官,其次是根系,再次为茎.在不同浓度 Se^{4+}处理下,虽然香橙各器官硒含量随着处理浓度的增加而增加,但远低于 Se^{6+}处理.由于不同价态硒进入植株体内的机制不同,导致 Se^{4+}处理时香橙硒含量极低,叶片和茎的硒含量低于 0.2 mg · kg^{-1},根系硒含量低于 0.45 mg · kg^{-1},且硒主要储存在根系,其次是叶片,再次为茎.

2.3 硒的不同价态和浓度对香橙叶片叶绿素和过氧化氢含量的影响

硒的不同价态和浓度处理均提高了香橙叶片叶绿素和过氧化氢含量(图 4).从叶绿素含量上看,Se^{6+}处理显著高于 Se^{4+}处理,随着浓度的增加,Se^{6+}处理叶绿素含量呈现出先升高后下降的趋势,而 Se^{4+}处理叶绿素含量呈现出缓慢升高的趋势.从过氧化氢含量上看,Se^{6+}处理显著高于 Se^{4+}处理,过氧化氢含量随着 Se^{6+}和 Se^{4+}浓度的增加而增加.

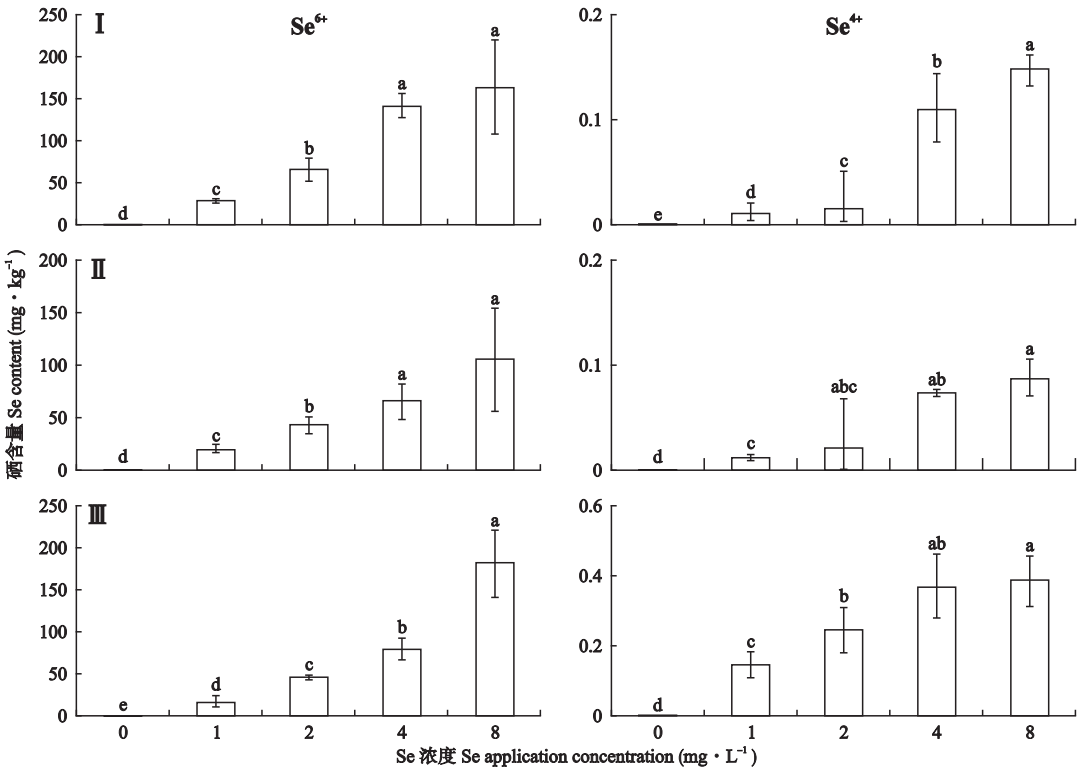


图 3 不同浓度 Se^{6+}和 Se^{4+}对香橙叶片、茎和根系硒含量的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of Se^{6+} and Se^{4+} on Se contents of leaf, stem, and root of Ziyang Xiangcheng.

Ⅰ: 叶片 Leaf; Ⅱ: 茎 Stem; Ⅲ: 根系 Root.

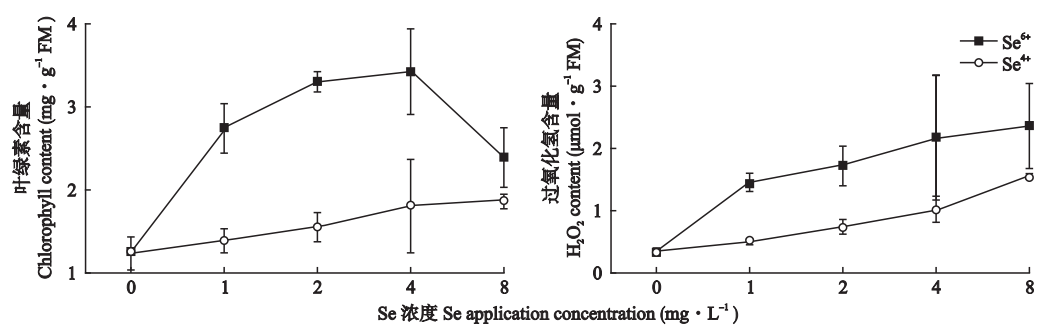


图 4 不同浓度 Se^{6+}和 Se^{4+}对香橙叶片叶绿素和过氧化氢含量的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of Se^{6+} and Se^{4+} on leaf chlorophyll and H_2O_2 contents of Ziyang Xiangcheng.

2.4　硒的不同价态和浓度对香橙叶片 AsA-GSH 循环物质的影响

AsA 和 GSH 是植物体内的抗氧化物质之一，其在清除 H_2O_2 过程中起着重要作用.随着 Se^{6+}浓度的增加，香橙叶片 AsA 和 GSH 含量先升高后下降；而随着 Se^{4+}浓度的增加，叶片 AsA 含量先升高后下降，而 GSH 含量表现出先下降后升高的趋势(图 5). DHA 和 GSSG 分别是 AsA 和 GSH 的氧化型，不同浓度 Se^{6+}处理下 DHA 和 GSSG 含量呈先升高而后下降的趋势，Se^{4+}处理下 DHA 和 GSSG 含量则呈相反的趋势，即先下降而后升高.从总抗坏血酸和总谷胱甘肽含量可以看出，Se^{6+}处理下 AsA+DHA 与 GSH+GSSG 含量先升高后下降，而 Se^{4+}处理下表现出缓慢下降的趋势. AsA/(AsA+DHA)和 GSH/(GSH+GSSG)在 Se^{4+}和 Se^{6+}处理下变化趋势相似.从不同价态硒处理上看，DHA 和 AsA+DHA 在 Se^{6+}处理下高于 Se^{4+}处理，AsA 在两种价态处理下差异不大，而 AsA/(AsA+DHA)在 Se^{4+}处理下高于 Se^{6+}处理.谷胱甘肽在 Se^{6+}处理下高于 Se^{4+}处理(除了 8 mg·L^{-1}处理)，Se^{4+}处理下 AsA/(AsA+DHA)高于 Se^{6+}处理，而 GSH/(GSH+GSSG)在两种价态处理下几乎没有差异.

2.5　硒的不同价态和浓度对香橙叶片 AsA-GSH 循环酶的影响

GR 利用 NADPH 提供的电子将 GSSG 还原成 GSH，其活性的大小反映了植物体内抗氧化能力水平.Se^{6+}浓度<4.0 mg·L^{-1}处理 GR 活性提高，≥4.0 mg·L^{-1}处理 GR 活性降低；而 Se^{4+}浓度<4.0 mg·L^{-1}处理 GR 活性降低，≥4.0 mg·L^{-1}处理 GR 活性增加(图 6).GPX 催化 H_2O_2 和 GSH 生成 H_2O 和 GSSG，直接参与活性氧的清除.Se^{6+}浓度<4.0 mg·L^{-1}处理GPX活性增高，≥4.0 mg·L^{-1}处理活

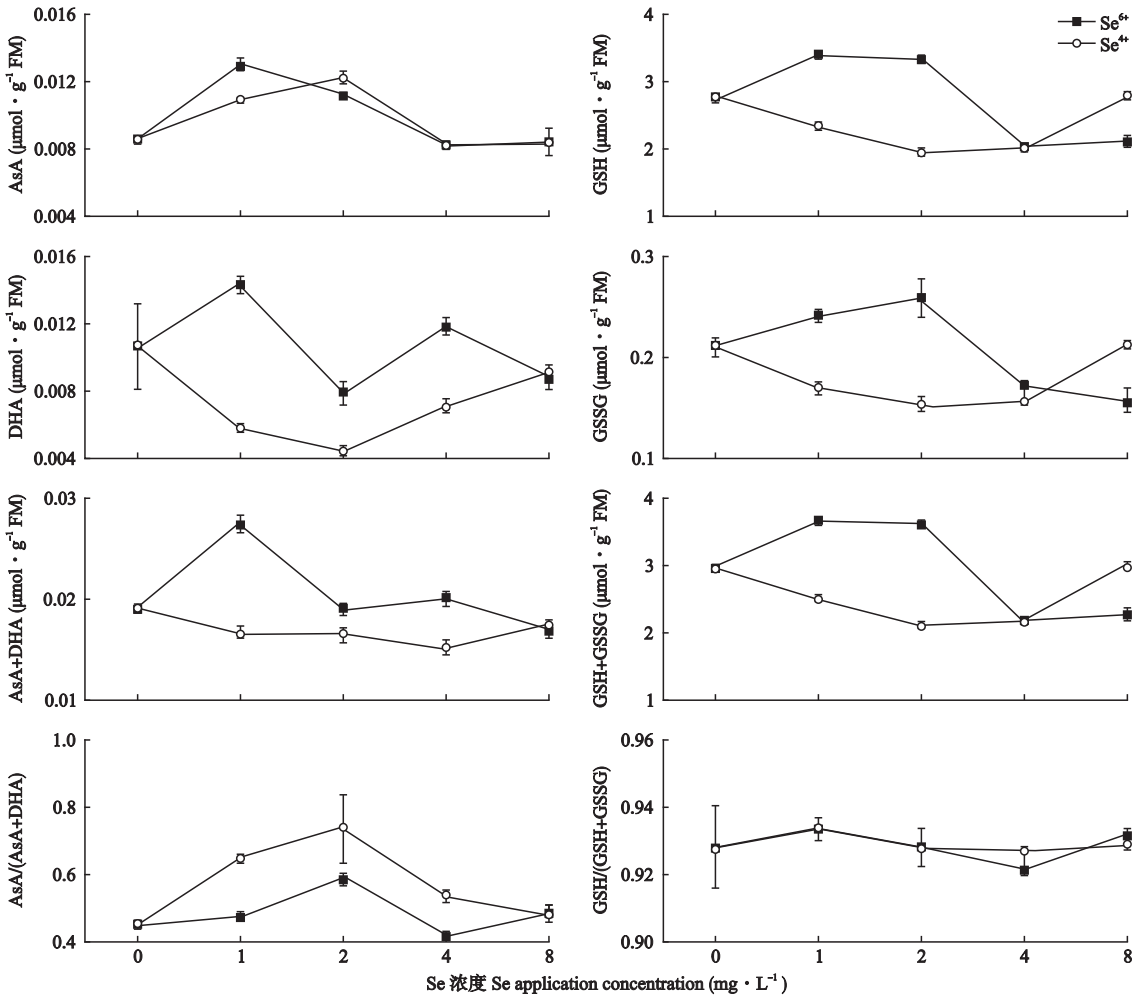


图 5　不同浓度 Se^{6+}和 Se^{4+}对香橙叶片 AsA、DHA、AsA+DHA、GSH、GSSG、GSH+DHA 含量以及 AsA/(AsA+DHA)和 GSH/(GSH+DHA)的影响

Fig.5　Effects of different concentrations of Se^{6+} and Se^{4+} on AsA, DHA, AsA+DHA, GSH, GSSG, GSH+DHA contents and AsA/(AsA+DHA), GSH/(GSH+DHA) of Ziyang Xiangcheng.

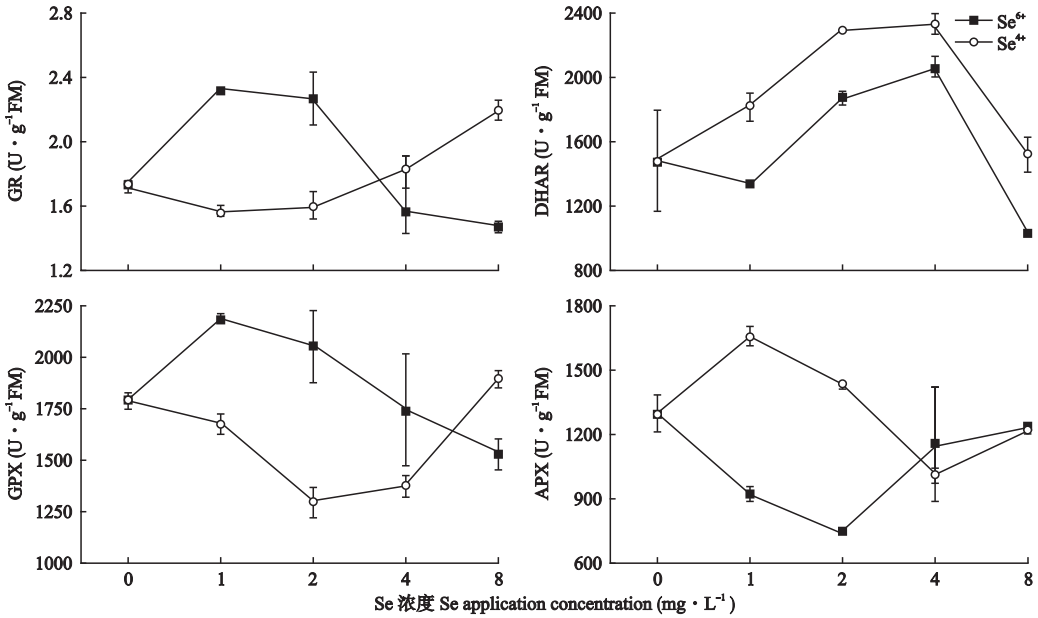


图 6 不同浓度 Se^{6+} 和 Se^{4+} 对香橙叶片 GR、GPX、DHAR 和 APX 活性的影响

Fig.6 Effects of different concentrations of Se^{6+} and Se^{4+} on GR, GPX, DHAR and APX activities of Ziyang Xiangcheng.

性降低;而 Se^{4+} 浓度<8.0 mg · L^{-1} 处理 GPX 活性低于对照,而 8.0 mg · L^{-1} 处理 GPX 活性增加.DHAR 利用 GSH 将 DHA 还原成 AsA, Se^{6+} 浓度 < 8.0 mg · L^{-1} 处理促进了 DHAR 活性,8.0 mg · L^{-1} 处理降低其活性;而 Se^{4+} 浓度在 2.0 和 4.0 mg · L^{-1} 处理下 DHAR 活性增加,而 1.0 和 8.0 mg · L^{-1} 处理其活性降低. APX 使 AsA 和 H_2O_2 反应生成 H_2O 和 MDHA(单脱氢抗坏血酸).Se^{6+} 浓度<4.0 mg · L^{-1} 处理 APX 活性增强,≥4.0 mg · L^{-1} 处理活性下降;而不同浓度 Se^{4+} 处理 APX 活性均低于对照.

3 讨 论

硒对植物的生长有双重作用,低浓度促进生长,高浓度抑制生长[13].与此同时,不同植物对硒的敏感程度不同, Hawrylak-Nowak 等[14] 研究表明,当 SeO_4^{2-}<80 μmol · L^{-1} 或 SeO_3^{2-}<20 μmol · L^{-1} 时促进黄瓜生长,且两者浓度均在 6 μmol · L^{-1} 时黄瓜生长最佳,浓度超过阈值则抑制其生长.大白菜在 Se^{6+} <5 mg · kg^{-1}、Se^{4+}<10 mg · kg^{-1} 促进其生长,反之抑制生长[15]. 段曼丽等[16] 研究表明, Se^{6+} < 1.45 mg · kg^{-1} 时,促进了小白菜、芥菜、生菜和菠菜的生长,过量的硒(>2.04 mg · kg^{-1})对其有明显的毒害作用.本研究表明,硒浓度≤8.0 mg · L^{-1} 均能够刺激香橙的生长,如增加了叶面积、株高、干鲜质量(图 1 和图 2),且 Se^{6+} 和 Se^{4+} 处理香橙最佳生长浓度分别为 2.0 和 4.0 mg · L^{-1}.低浓度硒之所以能够促进植物生长,除了与硒的生理功能有关外(提高植物抗氧化水平,维持植物新陈代谢等),与改善土壤微环境等也有一定的关系.例如,樊俊等[17] 研究表明,适量施用不同价态硒(5~10 mg · kg^{-1})增加了土壤细菌、真菌和放线菌的数量,进而促进植物的生长,而高浓度硒抑制植物生长与硒的毒害作用有关.

不同植物对 Se^{4+} 和 Se^{6+} 的吸收能力差异显著.通过盆栽试验分析小白菜对不同价态 Se 的吸收富集效果表明,小白菜极易吸收 Se^{6+},而对 Se^{4+} 的吸收能力显著低于 Se^{6+}[18],这与我们的研究结果相似,即香橙极易吸收 Se^{6+},而对 Se^{4+} 的吸收能力很弱(图 3).但也有报道表明,用低浓度硒酸盐和亚硒酸盐(0.12、0.63 μmol · L^{-1})处理玉米,虽没有增加玉米生物量,但亚硒酸盐处理的玉米硒含量显著高于硒酸盐处理[19].除了不同植物对不同价态硒吸收能力有差异外,土壤对不同价态硒的吸附和转化行为也不同.Se^{6+} 主要增加了土壤水溶态硒和交换态硒含量,占总硒量的 80%左右,极易被植物吸收,而施入 Se^{4+} 易被土壤吸附进而降低硒的有效性,增加了植物对硒的吸收难度[17].

除了施用不同价态硒导致土壤有效硒成分发生变化外,植物对不同价态硒的吸收转运和分配机制也不同.本研究表明,不同价态硒处理导致 Se^{6+} 主要储存在叶片,而 Se^{4+} 处理主要分布在根部,这与玉米[19]、小麦[13] 的研究结果一致.大量研究也表明, Se^{6+} 主要通过硫酸转运蛋白迅速进入植株体内,快

速运到地上部,在叶片合成有机硒,而 Se^{4+} 通过磷酸或者硅酸转运蛋白进入体内,在根系合成有机硒如硒代蛋氨酸、氧化硒代蛋氨酸、硒甲基半胱氨酸等有机物,再运输到地上部,导致其主要分配在根系[10,20-23].这解释了本研究中香橙极易吸收 Se^{6+},且主要分配在叶片上,而对 Se^{4+} 的吸收能力弱,且根系为主要储存器官.

硒不仅能够促进植物生长发育,还能够提高植物抗逆性和抗氧化能力.植物叶绿素含量直接影响植物光合作用及作物产量,其与矿质营养、逆境条件等有着密切的关系.本研究表明,施用不同浓度价态硒均能够提高香橙叶片叶绿素含量,尤其是 Se^{6+} 处理,这与葡萄[24]、油菜[25]、罗布麻[26]的表现一致.作为活性氧主要成分的 H_2O_2 在植物新陈代谢过程中起到双重作用,低含量的 H_2O_2 成为生理生化信号物质,而高浓度的 H_2O_2 会破坏细胞结构,进而影响植物生长发育.维持细胞 H_2O_2 稳定含量能够保障植物新陈代谢正常运转[27].本研究表明,随着 Se^{6+} 浓度的升高,H_2O_2 含量急剧升高;而 Se^{4+} 处理下,H_2O_2 上升缓慢(图 4),由此可知,Se^{6+} 对香橙生长的刺激显著高于 Se^{4+}.李登超等[28]研究表明,菠菜加硒浓度小于 1.0 mg · L^{-1} 时,H_2O_2 含量随着浓度的升高而降低,当浓度为 1.0 mg · L^{-1} 时,H_2O_2 含量又提高.本研究表明,硒浓度大于 1 mg · L^{-1} 时,H_2O_2 含量已经超过对照,并随着浓度的增加而增加.

植物体内过多的 H_2O_2 要通过抗氧化系统来清除,以维持细胞稳态.AsA-GPX 循环是生物体内普遍存在的抗氧化系统,其能催化活性氧还原生成相应的物质和水,保护细胞免受活性氧的损伤[29].AsA 和 GSH 是植物体内重要的非酶促抗氧化物质,在 ASA-GPX 循环系统中两者的水平高低与植物的抗逆性密切相关.在 1.0 和 2.0 mg · L^{-1} Se^{6+} 处理下,叶片内的 AsA 和 GSH 含量维持较高水平(图 5),GR、GPX 和 DHAR 活性也较高,可见低浓度 Se^{6+} 处理时,香橙体内的抗氧化能力较高.4.0 和 8.0 mg · L^{-1} Se^{6+} 处理香橙体内抗氧化水平下降,不能够及时清除体内 H_2O_2.Se^{4+} 处理时,香橙叶片总抗坏血酸含量与对照差异不大,而 AsA 先升高后下降,DHA 先下降后升高,谷胱甘肽缓慢下降,当达到 8.0 mg · L^{-1} 时才上升,对应的酶变化只有 APX 和 DHAR 活性在低浓度下上升,表明低浓度 Se^{4+} 处理下,香橙体内的 H_2O_2 主要通过抗坏血酸循环进行清除.Wu 等[30]研究表明,添加较多的硒能够增加 GSH 和 AsA 含量以及 GR 和 DHAR 活性,进而提高 AsA-GSH 循环效率.本研究表明,AsA-GSH 循环受硒的不同价态和浓度的影响,低浓度 Se^{6+}(≤2 mg · L^{-1})能够提高 GR 和 GPX 的活性,而低浓度 Se^{4+} 提高了 DHAR 和 APX 的活性(图 6).AsA/(AsA+DHA)和 GSH/(GSH+DHA)或者 AsA/DHA 和 GSH/GSSG 是表征植物抗氧化能力的常用指标[31-32],本研究对上述指标的测定结果表明,Se^{4+} 处理香橙体内的抗氧化水平高于 Se^{6+} 处理.GPX 的活性中心为硒半胱氨酸,其活力大小可以反映香橙体内硒的水平.本研究结果表明,Se^{6+} 能够显著提高香橙各器官的硒含量,并促进 GPX 的活性,然而当土壤 Se 浓度大于 4.0 mg · L^{-1} 时,GPX 活性低于对照;而 Se^{4+} 处理时叶片只能储存少量硒,且 GPX 活性下降,直到浓度上升到 8.0 mg · L^{-1} 时其活性才高于对照.

4　结　　论

综上所述,硒的不同价态与浓度均能促进香橙生长,提高根、茎、叶硒含量.但由于吸收转运机制不同,导致 Se^{6+} 极易被吸收转运,且叶片为其主要储存部位,而 Se^{4+} 很少被吸收和转运,根系为其主要储存部位.硒促进了香橙叶片叶绿素的含量,但同时也增加了 H_2O_2 的含量.不同价态硒与不同浓度对香橙叶片 AsA-GPX 循环物质和酶的影响差异较大,低浓度 Se^{6+} 处理提高了 GSH 代谢循环速率,高浓度降低了其速率;而不同浓度 Se^{4+} 处理提高了 AsA 代谢循环速率,且高浓度 Se^{4+} 提高了 GSH 代谢循环速率.

参考文献

[1] El-Ramady H, Abdalla N, Taha HS. Selenium and nano-selenium in plant nutrition. *Environmental Chemistry Letters*, 2016, **14**: 1-25

[2] Haug A, Graham RD, Christophersen OA, *et al*. How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2007, **19**: 209-228

[3] Hawrylak-Nowak B. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. *Plant Growth Regulation*, 2013, **70**: 149-157

[4] Hargreaves MK, Liu J, Buchowski MS, *et al*. Plasma selenium biomarkers in low income black and white Americans from the Southeastern United States. *PloS One*, 2014, **9**(1): e84972

[5] Boyd R. Selenium stories. *Nature Chemistry*, 2011, **3**: 570, doi:10.1038/nchem.1076

[6] Wei J, Zeng Q, Gong H, *et al*. The association between dietary selenium intake and diabetes: A cross-sectional study among middle-aged and older adults. *Nutrition Journal*, 2015, **14**: 1-6

[7] Chen Z (陈　倬), Li H-R (李海蓉), Yang L-S (杨林生), *et al*. Staple food consumption and related selenium intake among residents in Kashin-Bech disease endemic areas of Lhasa municipality, China. *Chinese Jour-*

nal of Public Health (中国公共卫生), 2015, **31**(7): 915-918 (in Chinese)
[8] Yuan L, Zhu Y, Lin ZQ, *et al*. A novel selenocystine-accumulating plant in selenium-mine drainage area in Enshi, China. *PloS One*, 2013, **8**(6): e65615
[9] Dai W (戴 伟), Geng Z-C (耿增超). The present situations of the study on selenium in soil. *Journal of Northwest Forestry College* (西北林学院学报), 1995, **10**(3): 93-97 (in Chinese)
[10] Liu X, Zhao Z, Hu C, *et al*. Effect of sulphate on selenium uptake and translocation in rape (*Brassica napus* L.) supplied with selenate or selenite. *Plant and Soil*, 2016, **399**: 295-304
[11] Sun X-P (孙协平), Xie Y-H (谢永红), Hu J-Y (胡佳羽), *et al*. Research advances in heavy mental pollution in selenium enriched soils. *Hunan Agricultral Sciences* (湖南农业科学), 2015(10): 146-148 (in Chinese)
[12] Cai Y-P (蔡永萍). Plant Physiology Experiment Instruction. Beijing: China Agricultural University Press, 2014 (in Chinese)
[13] Guerrero B, Llugany M, Palacios O, *et al*. Dual effects of different selenium species on wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, **83**: 300-307
[14] Hawrylak-Nowak B, Matraszek R, Pogorzelec M. The dual effects of two inorganic selenium forms on the growth, selected physiological parameters and macronutrients accumulation in cucumber plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2015, **37**: 1-13
[15] Wu X-P (吴雄平), Liang D-L (梁东丽), Bao J-D (鲍俊丹), *et al*. Effects of different concentrations of selenate and selenite on growth and physiology of Chinese cabbage. *Acta Scientiae Circumstantiae* (环境科学学报), 2009, **29**(10): 2163-2171 (in Chinese)
[16] Duan M-L (段曼丽), Hu B (胡 斌), Liang D-L (梁东丽), *et al*. Absorption, bioaccumulation and translocation of selenium in four different vegetables by applying selenate. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2011, **30**(3): 422-428 (in Chinese)
[17] Fan J (樊 俊), Wang R (王 瑞), Hu H-Q (胡红青), *et al*. Effects of exogenous selenium with different valences on Se forms, enzyme activities, and microbial quantity of soil. *Journal of Soil and Water Conservation* (水土保持学报), 2015, **29**(5): 137-171 (in Chinese)
[18] Li J, Liang D, Qin S, *et al*. Effects of selenite and selenate application on growth and shoot selenium accumulation of pak choi (*Brassica chinensis* L.) during successive planting conditions. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2015, **22**: 11076-11086
[19] Longchamp M, Angeli N, Castrec-Rouelle M. Selenium uptake in *Zea mays* supplied with selenate or selenite under hydroponic conditions. *Plant and Soil*, 2012, **362**: 107-117
[20] White PJ, Broadley MR. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 2009, **182**: 49-84
[21] Sors TG, Ellis DR, Salt DE. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 2005, **86**: 373-389
[22] Zhao XQ, Mitani N, Yamaji N, *et al*. Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice. *Plant Physiology*, 2010, **153**: 1871-1877
[23] Li HF, McGrath SP, Zhao FJ. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 2008, **178**: 92-102
[24] Zhao W (赵 薇), Hui Z-M (惠竹梅), Lin G (林 刚), *et al*. Effect of selenium on physiological and biochemical indexes of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon leaves under water stress. *Journal of Fruit Science* (果树学报), 2011, **28**(6): 984-990 (in Chinese)
[25] Yin L-Q (殷丽琴), Zhong C (钟 成), Chen W (陈伟), *et al*. Effects of selenium on seedling emergence and chlorophyll content of *Brassica napus* L. under waterlogging stress. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* (西南农业学报), 2013, **26**(4): 1398-1401 (in Chinese)
[26] Lyu H-X (吕海祥), Tian C-Y (田长彦), Wang Z-Y (王梓宇), *et al*. Effects of exogenous selenium on growth and photosynthesis of *Apocynum venetum* L. seedlings. *Arid Land Geography* (干旱区地理), 2015, **38**(1): 83-89 (in Chinese)
[27] Ozyigit II, Filiz E, Vatansever R, *et al*. Identification and comparative analysis of H_2O_2-scavenging enzymes (ascorbate peroxidase and glutathione peroxidase) in selected plants employing bioinformatics approaches. *Frontiers in Plant Science*, 2016, **7**: 420, doi: 10.3389/fpls.2016.00301
[28] Li D-C (李登超), Zhu Z-J (朱祝军), Xu Z-H (徐志豪). Effects of selenium on antioxidative system and H_2O_2 content in spinach. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2002, **29**(6): 547-550 (in Chinese)
[29] Reddy K, Tappel AL. Effect of dietary selenium and autoxidized lipids on the glutathione peroxidase system of gastrointestinal tract and other tissues in the rat. *Nutrition Journal*, 1974, **104**: 1069-1078
[30] Wu Z, Liu S, Zhao J, *et al*. Comparative response to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, **133**: 1-11
[31] Li X-Y (李晓云), Wang X-F (王秀峰), Lyu L-F (吕乐福), *et al*. Effects of exogenous nitric oxide on ascorbate-glutathione cycle in tomato seedlings roots under copper stress. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2013, **24**(4): 1023-1030 (in Chinese)
[32] Wang P, Yin L, Liang D, *et al*. Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: Toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. *Journal of Pineal Reseach*, 2012, **53**: 11-20

作者简介 孙协平, 女, 1983 年生,博士,讲师. 主要从事果树生理生态研究. E-mail: xieping444@163.com

责任编辑 张凤丽

孙协平, 罗友进, 周广文, 等. 硒的价态与浓度对香橙幼苗生长和 AsA-GSH 循环的影响. 应用生态学报, 2017, **28**(11): 3527-3534
Sun X-P, Luo Y-J, Zhou G-W. *et al*. Effects of selenium valence states and application concentrations on plant growth, ascorbate-glutathione cycle in *Citrus junos* cv. Ziyang Xiangcheng. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, **28**(11): 3527-3534 (in Chinese)