

## 大豆根系吸收亚硒酸盐的生理特性研究

张联合, 郁飞燕, 邓 坤, 谢玉松

(河南科技大学 农学院, 河南 洛阳 471003)

**摘要:**通过生理学和药理学方法,探讨了大豆根系吸收亚硒酸盐的生理特性。结果表明:大豆离体根吸收亚硒酸盐速率随 pH 升高而降低。pH3.0 和 8.0 时,大豆吸收亚硒酸盐速率随硒含量增加呈比例升高,数据符合直线方程。pH5.0 时,大豆吸收亚硒酸盐随硒含量增加而升高直至饱和,数据符合米氏动力学曲线方程。pH3.0 时,DNP、NaF 和 4℃ 抑制亚硒酸盐吸收的程度分别为 15%、19% 和 23%;pH5.0 时,分别达到 81%、80% 和 79%;pH8.0 时,分别为 16%、8% 和 11%。进一步研究表明,pH3.0 时,HgCl<sub>2</sub> 和 AgNO<sub>3</sub> 抑制亚硒酸盐吸收的程度分别为 78% 和 79%;pH5.0 时,磷饥饿显著促进亚硒酸盐吸收;pH8.0 时,NPPB、9-CA、NPAA、TEACl、NA 和 DIDS 分别抑制亚硒酸盐吸收的程度为 13%、17%、22%、7%、18% 和 6%。表明大豆根系能通过水通道以被动方式吸收 H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>,通过磷转运蛋白以主动方式吸收 HSeO<sub>3</sub><sup>-</sup>。

**关键词:**大豆离体根;亚硒酸盐吸收;生理特性

中图分类号:Q945.1

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2014.04.0519

## Study on Physiological Characteristics of Selenite Uptake by Soybean Excised Roots

ZHANG Lian-he, YU Fei-yan, DENG Kun, XIE Yu-shong

(Agricultural College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

**Abstract:** Physiological characteristics of selenite uptake by soybean roots was investigated by means of physiological and pharmacological methods. The results showed that the rate of selenite uptake by soybean excised roots declined with an increase of pH. Concentration-dependent kinetics suggested that the rate of selenite uptake increased in proportion to the Se concentration in the absorption solution at pH3.0 and pH8.0. Linear equations were fitted to the data. The rate of selenite uptake increased and followed saturation kinetics with increasing Se concentrations in the absorption solution at pH5.0. The data fitted a Michaelis-Menten saturation curve. The results showed that DNP, NaF and a temperature of 4℃ repressed the rate of selenite uptake by 15%, 19% and 23% at pH3.0, by up to 81%, 80% and 79% at pH5.0, and by 16%, 8% and 11% at pH8.0. Further study suggested that HgCl<sub>2</sub> and AgNO<sub>3</sub> inhibited selenite uptake by 78% and 79% at pH3.0. Phosphorus starvation increased the rate of selenite uptake by soybean roots at pH5.0. NPPB, 9-CA, NPAA, TEACl, NA and DIDS inhibited selenite uptake by 13%, 17%, 22%, 7%, 18% and 6% at pH8.0. It demonstrated that selenite was absorbed passively by soybean roots through aquaporins in the form of H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> at pH3.0, and was absorbed actively through phosphorus transporters in the form of HSeO<sub>3</sub><sup>-</sup> at pH5.0.

**Key words:** Soybean excised roots; Selenite uptake; Physiological characteristics

硒是人和动物必需的微量元素,除具有抗氧化、提高免疫力和预防癌症等功能外,还具有维持男性生育功能、抵抗 HIV 病毒和延缓人体衰老等作用<sup>[1-5]</sup>。我国一些地方性疾病如克山病、大骨节病、地氟病、克汀病、地方性癌等均与环境中低硒水平有关<sup>[6]</sup>。人体每天适宜的摄硒量为 50~200 μg<sup>[7]</sup>。全国 13 个省市营养调查表明,成人每日摄硒量仅 26.63 μg<sup>[8]</sup>,距离中国营养学会 1988 年推荐的每日 50 μg 摄硒量标准还有较大差距。大豆是日常膳食中重要的蛋白质来源。硒被大豆根系吸收后,在体内很容易转化为硒代氨基酸而参与蛋白质的合成。大豆含硒蛋白除具有营养功能外,还具有增强抗氧化酶活力、促进免疫器官发育和抑制肿瘤生长的作

用<sup>[9]</sup>。因此,研究大豆根系吸收和累积硒对于提高大豆籽粒硒含量、生产高硒含量的大豆蛋白、提高我国居民摄硒水平以及促进人体健康具有重要意义。

在土壤溶液中,硒主要以元素硒、硒化物、亚硒酸盐、硒酸盐和有机态硒等形式存在,其中植物根系可以直接吸收硒酸盐和亚硒酸盐<sup>[10]</sup>。在降水丰沛和土质粘重的酸性条件下,亚硒酸盐是其存在的主要形式<sup>[11-12]</sup>。在一些土壤中,亚硒酸盐约占 40% 以上,而硒酸盐总量不超过 10%<sup>[13-14]</sup>。在亚硒酸盐溶液中,存在 H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>、SeO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 和 HSeO<sub>3</sub><sup>-</sup> 等不同形式的硒<sup>[15]</sup>。水稻根系主要通过水通道吸收 H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>,通过磷转运蛋白吸收 HSeO<sub>3</sub><sup>-</sup><sup>[16-18]</sup>。然而有关大豆根

收稿日期:2014-01-16

基金项目:河南科技大学校校人才基金(09001107)。

第一作者简介:张联合(1970-),男,博士,副教授,硕士生导师,主要从事植物营养生理研究。E-mail:lhzzhang2007@126.com。

系吸收亚硒酸盐的生理特性却知之甚少<sup>[19]</sup>,因此很有必要探讨大豆吸收亚硒酸盐的生理机制,为进一步阐明其分子机制并通过遗传改良途径提高大豆吸收硒能力提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选用大豆 (*Glycine max*) 洛 G36 作试验材料。挑选籽粒饱满的种子用 2% 的次氯酸钠消毒 15 min,然后用蒸馏水反复冲洗干净。大豆种子浸泡 12 h 后移入湿砂中培养,待胚根长到 3~4 cm 时移入 12 L 方形容器中培养。容器上方为 12 孔聚乙烯塑料培植板,每孔植入大豆幼苗 3 株。大豆幼苗移入容器前剪去主根根尖以促进侧根形成和生长。先用 1/2 浓度的 Hoagland 营养液培养,3 d 后换为全量营养液。每天向营养液通气 2 h (8:00~10:00 和 16:00~18:00 各 1 次,每次通气 1 h)。光强为  $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,每天光照和黑暗时间分别为 14 和 10 h,光照和黑暗时温度分别为 25 和 18℃。

### 1.2 方法

**1.2.1 pH 对大豆离体根吸收亚硒酸盐的影响** 待大豆苗生长 20 d 左右时,将幼苗侧根从主根基部剪去,取 0.5 g 左右离体根,分别放入 100 mL 含有  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$  混合液的玻璃杯中,预处理 30 min 后将溶液倒去,然后分别加入 100 mL 不同 pH (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 和 8.0), 含有  $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  的溶液中,其中用  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris 三羟基甲烷 ( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ ) 调节 pH 至 8.0。3 次重复,吸收 3 h 后将吸收液倒去,加入 100 mL  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{K}_2\text{SO}_4$  的冰冷混合液,浸泡 15 min 后倒去其中的溶液,然后用去离子水冲洗 2~3 次。用滤纸吸去多余水分后放入备好纸袋中,在烘箱中杀青、烘干备用。

**1.2.2 大豆离体根吸收亚硒酸盐动力学试验** 取 0.5 g 左右离体根,在上述  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{MgCl}_2$  混合液中预处理后,分别加入 100 mL 含  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和不同亚硒酸盐浓度的吸收液中 (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 和  $9.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH3.0), 3 次重复,吸收 3 h 后用上述方法浸泡、冲洗 2~3 次。用滤纸将根吸干后杀青、烘干,用于硒含量测定。按照同样方法,分别在 pH5.0 和 8.0 条件下重复不同亚硒酸盐浓度吸收试验。

**1.2.3 不同 pH 条件下呼吸抑制剂和 4℃ 低温对大豆离体根吸收亚硒酸盐的影响** 取 0.5 g 左右离体根,在上述  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{MgCl}_2$  混合液中预处理后,分别加入 100 mL 含  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DNP,  $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaF,  $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, pH3.0 的溶

液,对照溶液中不含 DNP 或 NaF。吸收 3 h 后用上述方法浸泡、冲洗 2~3 次。同时,分别将离体根放入 100 mL 含  $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, pH3.0 的溶液中,然后在 4℃ 低温下处理 3 h。3 次重复。将离体根用滤纸吸去多余水分后放入备好的纸袋中,在烘箱中杀青、烘干备用。按照相同方法,分别在 pH5.0 和 8.0 时重复上述试验,其中用  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES 调节 pH 至 5.0,用  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris 三羟基甲烷 ( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ ) 调节 pH 至 8.0。

**1.2.4 通道抑制剂对大豆离体根吸收亚硒酸盐的影响** 取 0.5 g 左右离体根,在上述  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{MgCl}_2$  混合液中预处理后,分别加入 100 mL 含有  $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES 和通道抑制剂 ( $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{HgCl}_2$ ,  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{AgNO}_3$ ,  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{CoCl}_2$ ,  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  TEACl 或  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DIDS), pH3.0 的溶液,以无通道抑制剂为对照,3 次重复。吸收 3 h 后将吸收液倒去,加入上述  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{K}_2\text{SO}_4$  的冰冷混合液,浸泡 15 min 后倒去其中的溶液,用去离子水冲洗 2~3 次。用滤纸吸去多余水分后放入备好的纸袋中,在烘箱中杀青、烘干备用。按照上述方法,分别在 pH5.0 时重复上述试验。

**1.2.5 pH8.0 时阴离子通道抑制剂对大豆离体根吸收亚硒酸盐的影响** 取 0.5 g 左右离体根,在上述  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{MgCl}_2$  混合液中预处理后,分别加入 100 mL 含有  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NPPB,  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  9-CA,  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  TEACl,  $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NA,  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DIDS 或  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NPAA,  $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, pH8.0 的溶液,以无阴离子通道抑制剂为对照,3 次重复。吸收 3 h 后将吸收液倒去,加入上述  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{K}_2\text{SO}_4$  的冰冷混合液,浸泡 15 min 后倒去其中的溶液,用去离子水冲洗 2~3 次。用滤纸吸去多余水分后放入备好的纸袋中,在烘箱中杀青、烘干备用。试剂 NPPB、9-CA、NPAA、NA、TEACl 和 DIDS 分别购自 Sigma 公司。

**1.2.6 磷和硫饥饿对大豆根系吸收亚硒酸盐的影响** 待大豆苗生长 15 d 左右时,用去离子水冲洗幼根后转移至缺磷和缺硫营养液中培养。溶液为经过调整的 Hoagland 营养液,对照为正常营养液。在缺磷和缺硫溶液中,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4$ 、 $\text{ZnSO}_4$  和  $\text{CuSO}_4$  分别用等摩尔对应氯盐替代。待幼苗磷硫饥饿 3 d 后转移至含有  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  和  $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  溶液中,培养 3 h 后用上述方法浸泡、冲洗 2~3 次。用滤纸吸去多余水分后放入备好的纸袋中,在烘箱中杀青、烘干备用。

**1.2.7 样品消化处理** 所用玻璃容器预先浸泡于 10% 的盐酸 24 h,然后用超纯水清洗 2~3 次。称取一定量的烘干大豆根样品放入 100 mL 消化管中,加入 5 mL 混合酸 (硝酸:高氯酸 = 4:1 v/v) 后在室温

下静置 24 h,然后在 150 ~ 165℃ 的消化炉中彻底消化。冷却后,用重蒸水把消化液稀释为 25 mL,用 ICP-MS 测定硒含量。所用试剂均为优级纯。茶叶标样和样品、空白同时消化 (GBW07605 (GSV-4) ( $0.072 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Se}$ ))。硒平均回收率为 89% ~ 93%。

### 1.3 数据分析

利用 SPSS 13.0 进行单因素方差分析,比较处理和对照间的显著性差异。所有数据为 3 ~ 5 个重复的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 对大豆离体根吸收亚硒酸盐影响

由图 1 可看出,在 pH3.0 和 pH8.0 之间,大豆离体根吸收亚硒酸盐速率随 pH 升高而降低,其中在 pH3.0 和 pH5.0 之间呈现急剧下降趋势,在 pH5.0 和 8.0 之间下降趋势较缓。pH3.0 时大豆离体根吸收硒速率分别是 pH5.0 和 pH8.0 时的 5.57 倍和 14.43 倍,pH5.0 时大豆吸收硒速率是 pH8.0 时的 2.59 倍。

### 2.2 大豆离体根吸收亚硒酸盐动力学曲线

由图 2 可知,在 pH3.0 和 pH8.0 条件下,大豆离体根吸收硒速率与亚硒酸盐浓度呈正比,随亚硒

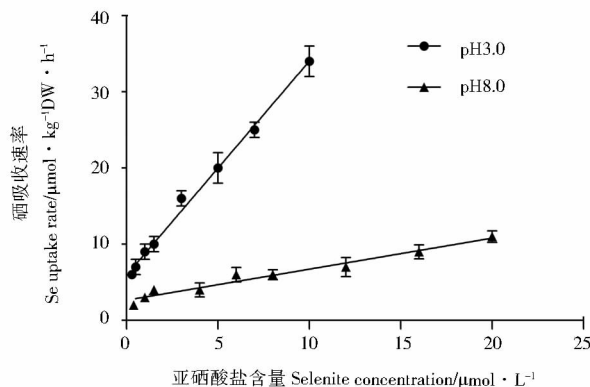


图 2 大豆根吸收亚硒酸盐随浓度变化曲线

Fig. 2 Concentration-dependent uptake curves of selenite by soybean roots

### 2.3 不同 pH 条件下呼吸抑制剂对大豆离体根吸收亚硒酸盐

图 3 表明不同 pH、低温和呼吸抑制剂对大豆吸收亚硒酸盐的抑制程度存在明显差异。pH3.0 时,100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  DNP、NaF 和 4℃ 低温对大豆根系吸收亚硒酸盐的抑制程度为 15%、19% 和 23%;pH5.0 时,对大豆根系吸收亚硒酸盐抑制程度较大,抑制程度分别为 81%、80% 和 79%;pH8.0 时,对大豆根系吸收亚硒酸盐的抑制程度为 16%、8% 和 11%。可见,pH3.0 和 pH8.0 时大豆吸收亚硒酸盐不依赖于能量,而 pH5.0 时大豆对亚硒酸盐的吸收要依赖于根内能量代谢的过程。

### 2.4 通道抑制剂对大豆离体根吸收亚硒酸盐影响

图 4 显示了专性通道抑制剂  $\text{HgCl}_2$ 、 $\text{AgNO}_3$ 、 $\text{CoCl}_2$ 、TEACl 和 DIDS 对大豆根系吸收亚硒酸盐的影响。与对照相比,pH3.0 时水通道抑制剂  $\text{HgCl}_2$

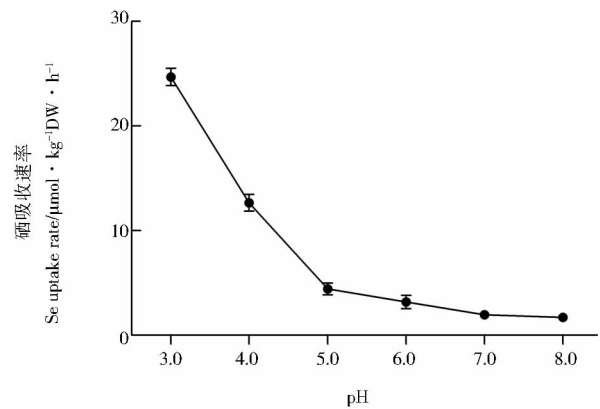


图 1 pH 对大豆根吸收亚硒酸盐影响

Fig. 1 Effects of pH on the rate of selenite uptake by soybean roots

酸盐浓度变化趋势呈一直线,数据符合直线方程,pH3.0 和 pH8.0 时直线斜率分别为 2.34 和 0.41,  $R^2$  均为 0.96。在 pH5.0 条件下,大豆离体根吸收硒速率在一定浓度范围内随着亚硒酸盐浓度提高而升高,达到一定浓度后趋于饱和,吸收硒速率数据随亚硒酸盐浓度变化趋势符合酶动力学曲线方程,  $V_{\max}$  为  $8.18 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW} \cdot \text{h}^{-1}$ ,  $K_m$  为  $2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ ,  $R^2$  为 0.98。

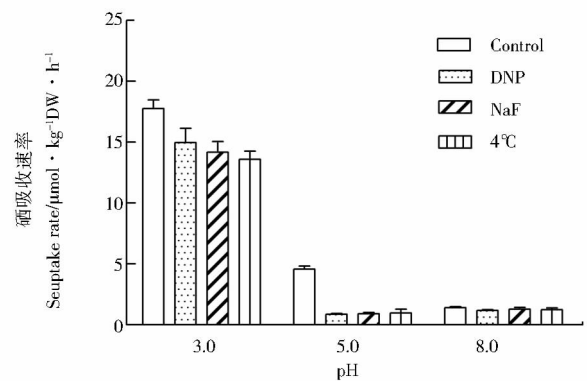
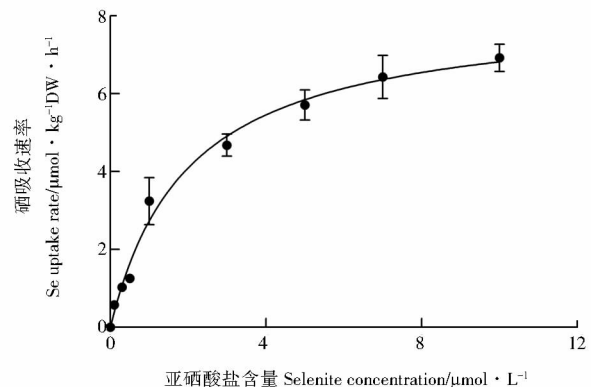


图 3 不同 pH 时呼吸抑制剂和低温对大豆吸收亚硒酸盐影响

Fig. 3 Effects of respiration inhibitors and low temperature on the rate of selenite uptake by soybean roots at different pH

和  $\text{AgNO}_3$  能在很大程度上抑制大豆吸收亚硒酸盐, 而  $\text{K}^+$  通道抑制剂  $\text{TEACl}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  通道抑制剂  $\text{CoCl}_2$  和阴离子通道抑制剂  $\text{DIDS}$  对大豆吸收亚硒酸盐影响较小。pH3.0 时,  $\text{HgCl}_2$  和  $\text{AgNO}_3$  抑制大豆吸收亚硒酸盐的程度分别为 78% 和 79%。说明 pH3.0 时亚硒酸盐主要通过水通道进入大豆根内。

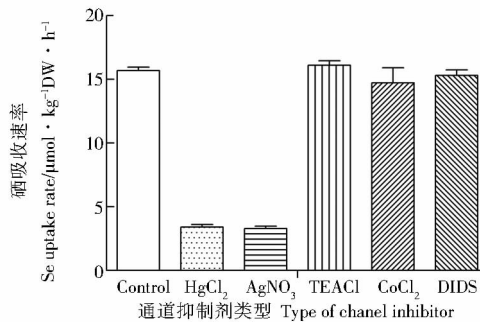


图4 pH3.0 时通道抑制剂对大豆根系吸收亚硒酸盐影响  
Fig.4 Effects of channel inhibitors on the rate of selenite uptake by soybean roots at pH3.0

## 2.5 pH8.0 时阴离子通道抑制剂对大豆离体根吸收亚硒酸盐影响

由图6可知,  $\text{NA}$  和  $\text{DIDS}$  是钙激活和容量敏感性氯离子通道阻断剂,  $\text{NPPB}$  是容量敏感性氯通道阻断剂,  $9\text{-CA}$  是氯通道和  $\text{S}$ -型阴离子通道阻断剂。与对照相比, pH8.0 时不同阴离子通道抑制剂  $\text{NPPB}$ 、 $9\text{-CA}$ 、 $\text{NPAA}$ 、 $\text{TEACl}$ 、 $\text{NA}$  和  $\text{DIDS}$  对大豆吸收亚硒酸盐的抑制程度分别为 13%、17%、22%、7%、18% 和 6%, 可见, 不同类型阴离子通道抑制剂对大豆和大豆吸收亚硒酸盐不太敏感。可见, 亚硒酸盐可能主要不是通过上述类型的阴离子通道进入大豆和大豆根内。

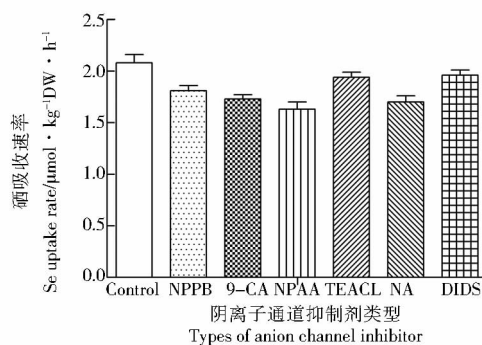


图5 pH8.0 时不同阴离子通道抑制剂对大豆根吸收亚硒酸盐影响

Fig.5 Effects of anion channel inhibitors on the rate of selenite uptake by soybean roots at pH8.0

## 2.6 磷和硫饥饿对大豆根系吸收亚硒酸盐影响

由图7可知, 在磷饥饿条件下, 大豆离体根吸收亚硒酸盐速率明显高于对照, 而硫饥饿对亚硒酸盐吸收影响较小。在磷饥饿条件下, 与对照相比, 大豆吸收亚硒酸盐速率是对照的 2.17 倍。可见, 磷饥饿促进了大豆对亚硒酸盐的吸收。

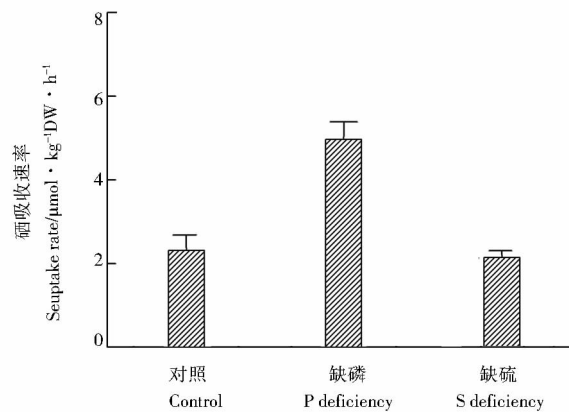


图6 磷或硫饥饿对大豆根吸收亚硒酸盐影响  
Fig.6 Effects of P or S starvation on the rate of selenite uptake by soybean roots

## 3 讨论

本研究表明, 大豆离体根吸收亚硒酸盐速率随 pH 升高而降低, 尤其在 pH 3.0 ~ 5.0, 呈现急剧下降趋势。在亚硒酸盐溶液中, 存在  $\text{H}_2\text{SeO}_3$ 、 $\text{HSeO}_3^-$  和  $\text{SeO}_3^{2-}$  等不同的硒形式<sup>[15]</sup>。不同形式亚硒酸盐在溶液中数量受 pH 影响很大, 随着 pH 升高, 溶液中亚硒酸盐数量由以  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  和  $\text{HSeO}_3^-$  为主逐渐转化为以  $\text{HSeO}_3^-$  为主, 在 pH5.0 时  $\text{HSeO}_3^-$  数量达到最高, 然后随 pH 升高转化为以  $\text{HSeO}_3^-$  和  $\text{SeO}_3^{2-}$  为主的形式, 在 pH8.0 时  $\text{SeO}_3^{2-}$  数量达到最高<sup>[15-16]</sup>。因此, pH 从 3.0 到 8.0 的变化过程, 实际上也是  $\text{H}_2\text{SeO}_3$ 、 $\text{HSeO}_3^-$  和  $\text{SeO}_3^{2-}$  等不同亚硒酸盐形式和数量相互转化的过程。大豆根系吸收亚硒酸盐速率的变化, 在一定程度上是由于亚硒酸盐存在形式和数量变化造成的。

pH 在很大程度上影响到低温和呼吸抑制剂对大豆吸收亚硒酸盐的抑制。pH3.0 和 pH8.0 时, 呼吸抑制剂和低温对大豆离体根吸收亚硒酸盐的抑制程度较低; pH5.0 时, 呼吸抑制剂和低温对大豆离体根吸收亚硒酸盐抑制程度较大。可见, pH3.0 和 pH8.0 时大豆吸收亚硒酸盐主要是一个不依赖根内能量代谢的过程, 而 pH5.0 时主要依赖能量代谢。吸收动力学试验结果表明, pH3.0 和 pH8.0 时, 大豆吸收亚硒酸盐随硒浓度升高的变化趋势为一直线, 而在 pH5.0 时大豆吸收亚硒酸盐是一饱和曲线。因此大豆根系吸收  $\text{HSeO}_3^-$  是一个主动过程, 而吸收  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  和  $\text{SeO}_3^{2-}$  主要是一个被动过程。

在 pH3.0 时,  $\text{HgCl}_2$  和  $\text{AgNO}_3$  能大幅度抑制大豆吸收亚硒酸盐。  $\text{HgCl}_2$  和  $\text{AgNO}_3$  是典型的水通道抑制剂, 可见, pH3.0 时  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  主要通过水通道进入大豆根内。pH5.0 时, 磷饥饿显著促进大豆根系吸收亚硒酸盐, 而硫饥饿对亚硒酸盐吸收影响较小。植物在磷饥饿条件下, 根系能诱导大量的磷转运蛋白基因表达<sup>[20-22]</sup>。因此磷饥饿促进大豆吸收硒与根细胞膜磷转运蛋白的表达有密切关系。可

见,大豆根系能通过磷转运蛋白吸收  $\text{HSeO}_3^-$ 。在 pH8.0 条件下,阴离子通道抑制剂 NPPB、9-CA、NPAA、TEACl、NA 和 DIDS 对大豆吸收亚硒酸盐抑制程度较低,说明大豆对不同类型阴离子通道抑制剂并不敏感,因此  $\text{SeO}_3^{2-}$  主要不是通过阴离子通道进入大豆根内。

文献报道<sup>[14]</sup>,小麦根系能通过磷转运蛋白吸收亚硒酸盐。最近研究表明<sup>[18]</sup>,水稻根系通过 OsPT2 主动吸收  $\text{HSeO}_3^-$  形式的亚硒酸盐。可见,大豆与小麦和水稻相同,能通过根表皮细胞膜上的磷转运蛋白吸收亚硒酸盐。目前,有关水稻磷转运蛋白研究较多<sup>[22-24]</sup>,而在大豆中研究较少<sup>[25-26]</sup>。因此直接寻找大豆根中转运亚硒酸盐的磷转运蛋白比较困难。但是,由于大豆与水稻吸收亚硒酸盐机制相同,这样可以以水稻吸收亚硒酸盐的分子机制为线索,探索和阐明大豆根系吸收亚硒酸盐的分子机制,从而为进一步通过遗传改良途径提高根系吸收亚硒酸盐能力和提高大豆籽粒硒含量提供理论依据。

## 参考文献

- [1] Rotruck J T, Pope A L, Ganther H E, et al. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase [J]. *Science*, 1973, 179(73): 588-590.
- [2] Stadtman T C. Selenium-dependent enzymes [J]. *Annual Reviews Biochemistry*, 1980, 49: 93-110.
- [3] Behne D, Weiler H, Kyriakopoulos A. Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats [J]. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1996, 106: 291-297.
- [4] Taylor E W, Nadimpalli R G, Ramanathan C S. Genomic structures of viral agents in relation to the biosynthesis of selenoproteins [J]. *Biological Trace Element Research*, 1997, 56: 63-91.
- [5] McKenzie R C, Rafferty T S, Beckett G J, et al. Effects of selenium on immunity and aging [M] // Hatfield D L, Marla J B, Gladyshev V N. Selenium: its molecular biology and role in human health. Norwell, Mass: Kluwer Academic Publishers, 2001.
- [6] 赵中秋, 郑海雷, 张春光, 等. 土壤硒及其与植物硒营养的关系 [J]. *生态学杂志*, 2003, 22(1): 22-25. (Zhao Z Q, Zheng H L, Zhang C G. Advances in the studies on selenium in soil and selenium biological effect [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2003, 22(1): 22-25.)
- [7] 刘铮. 中国土壤微量元素 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996. (Liu Z. Microelements in soils of China [M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing House, 1996.)
- [8] 郑建仙, 李璇. 硒的天然有机化及在谷物食品中应用的研究 [J]. *食品工业*, 1997(3): 25-27. (Zheng J X, Li X. Studies on the natural organizing of selenium and its application in cereal foods [J]. *Cereal and Feed Industry*, 1997(3): 25-27.)
- [9] 向天勇, 吴永尧, 陈建英. 大豆硒蛋白的生物学功能初探 [J]. *营养学报*, 2004, 26(6): 460-463. (Xiang T Y, Wu Y Y, Chen J Y. A preliminary approach to biological function of soybean selenoprotein [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2004, 26(6): 460-463.)
- [10] Geering H R, Cary E E, Jones L H. Solubility and redox criteria for the possible forms of selenium in soils [J]. *Soil Science Society of America Proceedings*, 1968, 32: 35-40.
- [11] 布和敖斯尔, 张东威, 刘力. 土壤硒区域环境分异及安全阈值的 研究 [J]. *土壤学报*, 1995, 32(2): 186-193. (Aosier B H, Zhang D W, Liu L. Regional environmental differentiation and regional safety threshold of soil selenium [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1995, 32(2): 186-193.)
- [12] 张东威, 布和敖斯尔. 确定不同环境下土壤硒的活性稳定性及安全阈值 [J]. *水土保持研究*, 1994, 1(5): 82-87. (Zhang D W, Aosier B H. The determination of activity and stability as well as the safe threshold value of selenium in the soil under various circumstances [J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 1994, 1(5): 82-87.)
- [13] 张艳玲, 潘根兴, 李正文, 等. 土壤-植物系统中硒的迁移转化及低硒地区食物链中硒的调节 [J]. *土壤与环境*, 2002, 11(4): 388-391. (Zhang Y L, Pan G X, Li Z W, et al. Translation of selenium in the system of soil-plant and its regulation in food-chain [J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2002, 11(4): 388-391.)
- [14] Li H F, Steve P M, Zhao F J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite [J]. *New Phytologist*, 2008, 178: 92-102.
- [15] Milne J. Haloselenate(IV) formation and selenous acid dissociation equilibria in hydrochloric and hydrofluoric acids [J]. *Canadian Journal of Chemistry*, 1987, 65: 316-321.
- [16] Zhang L H, Shi W M, Wang X C. Difference in selenite absorption between high- and low-selenium rice cultivars and its mechanism [J]. *Plant and Soil*, 2006, 282(1-2): 183-193.
- [17] Zhao X Q, Mitani N, Yamaji N, et al. Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice [J]. *Plant Physiology*, 2010, 153(4): 1871-1877.
- [18] Zhang L H, Hu B, Li W, et al. OsPT2, a phosphate transporter, is involved in active uptake of selenite in rice [J]. *New Phytologist*, 2014, 201: 1183-1191.
- [19] Zhang Y L, Pan G X, Chen J, et al. Uptake and transport of selenite and selenate by soybean seedlings of two genotypes [J]. *Plant and Soil*, 2003, 253: 437-443.
- [20] Bari R, Datt Pant B D, Stitt M, et al. PHO2, microRNA399, and PHR1 define a phosphate-signaling pathway in plants [J]. *Plant Physiology*, 2006, 141(3): 988-999.
- [21] Liu F, Wang Z Y, Ren H Y, et al. OsSPX1 suppresses the function of OsPHR2 in the regulation of expression of OsPT2 and phosphate homeostasis in shoots of rice [J]. *The Plant Journal*, 2010, 62: 508-517.
- [22] Ai P H, Sun S B, Zhao J N, et al. Two rice phosphate transporters, OsPht1;2 and OsPht1;6, have different functions and kinetic properties in uptake and translocation [J]. *The Plant Journal*, 2009, 57: 798-809.
- [23] Jia H F, Ren H Y, Gu M, et al. Phosphate transporter gene, OsPht1;8, is involved in phosphate homeostasis in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156: 1164-1175.
- [24] Sun S, Gu M, Cao Y, et al. A constitutive expressed phosphate transporter, OsPht1;1, modulates phosphate uptake and translocation in phosphate-replete rice [J]. *Plant Physiology*, 2012, 159(4): 1571-1581.
- [25] Wu Z Y, Zhao J M, Gao R F, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of two members of the pht1 family of phosphate transporters in *Glycine max* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): 19752.
- [26] Qin L, Zhao J, Tian J, et al. The high-affinity phosphate transporter GmPT5 regulates phosphate transport to nodules and nodulation in soybean [J]. *Plant Physiology*, 2012, 159: 1634-1643.