

结实期叶面施锌对扬麦 16 号和扬辐麦 2 号籽粒不同部位锌含量的影响

齐义涛, 张 庆, 周三妮, 杨晓晨, 杨连新, 王云霞*

(扬州大学 江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏 扬州 225009)

摘 要:增加谷粒特别是人类食用部位胚乳中的锌浓度是当前生物强化领域一个挑战。2011 年在土培条件下,以扬麦 16 号和扬辐麦 2 号两个当地高产品种为供试材料,于花后每隔 1 周喷施 0.2%或 0.4% ZnSO_4 3 次,以喷等量清水为对照,研究结实期叶面喷施锌肥对小麦籽粒不同部位锌含量的影响。结果表明,与对照相比,0.2%、0.4% ZnSO_4 处理使供试品种籽粒中的锌浓度平均分别增加 58%和 125%,达极显著水平。利用磨粉机 Sedimat Laboratory Mill 将小麦籽粒分为麸皮、次粉和面粉 3 个组分,测定数据表明,锌浓度为麸皮>次粉>面粉,最高和最低浓度相差约 8 倍。两品种平均,0.2% ZnSO_4 处理使小麦麸皮、次粉和面粉中锌浓度分别增加 64%、54%和 37%,0.4% ZnSO_4 处理使对应部位锌浓度分别增加 117%、110%和 92%,均达显著或极显著水平。结实期叶面施锌对籽粒各部位锌积累量的影响与锌浓度的响应趋势一致。与此不同,结实期叶面施锌对麸皮、次粉和面粉锌积累量占籽粒总锌积累量的比例没有影响。多数情况下,结实期锌处理对扬麦 16 号籽粒各部位锌浓度和锌积累量的影响大于扬辐麦 2 号。以上数据表明,通过选择适宜品种结合叶面施锌,可以经济有效地改善现代小麦品种面粉的锌营养水平。

关键词:小麦;生物强化;锌;浓度;积累量

中图分类号:S143.7 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)04-0675-06 doi:10.11654/jaes.2013.04.003

The Effect of Foliar Zn Application at Grain Filling Stage on Zn Content in Grain Fractions of Winter Wheat Yangmai 16 and Yangfumai 2

QI Yi-tao, ZHANG Qing, ZHOU San-ni, YANG Xiao-chen, YANG Lian-xin, WANG Yun-xia*

(Key Laboron of Crop Genetics and Physiology of Jiangsu Province, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Zinc (Zn) deficiency is a widespread problem in the world, especially in the developing regions where staple foods derived from cereals are the main source of daily micronutrients intake. Therefore, the increase of Zn content in the endosperm, which is consumed as wheat flour by human being, is the main challenge in the research area of biofortification. Winter wheat cultivar Yangmai 16 and Yangfumai 2, grown in a cement tank filled with clay loam soil, were treated by foliar Zn application at 3 rates of 0 (control), 0.2% and 0.4% ZnSO_4 at grain filling stage. The first Zn treatment was applied at 1 week after flowering (WAF), the second and third application were at 2 WAF and 3 WAF, respectively. The plants in control plots received clean water. The results showed that foliar Zn application of 0.2% and 0.4% ZnSO_4 increased grain Zn concentration by 58% and 125%, respectively. Wheat grains were further separated by Sedimat Laboratory Mill into bran, shorts and flour, and Zn concentration in each grain fraction were analyzed by ICP-AES. Zn concentration in different milling fractions followed the order of bran > shorts > flour, and Zn concentration in bran was 8 times higher than in flour. Compared with control, foliar 0.2% ZnSO_4 application increased Zn concentration in bran, shorts and flour by 64%, 54% and 36%, respectively; and 0.4% ZnSO_4 treatments increased Zn concentration in bran, shorts and flour by 117%, 110% and 92%, respectively; As the case of Zn concentration in grain fractions, Zn contents in bran, shorts and flour showed same trend in the response to foliar Zn application at grain filling stage. However, foliar Zn application at grain filling stage did not affect Zn distribution in different milling fractions of mature grains. Compared within cultivars, foliar Zn application had greater effect on Yangmai 16 than Yangfumai 2, as showed by most measured parameters. These results indicate that suitable cultivar selection accompanied with foliar Zn applications at grain filling stage improve Zn level of wheat flour, which will have beneficial effect on human health.

Keywords: wheat; biofortification; zinc; concentration; accumulation

收稿日期:2012-11-08

基金项目:国家自然科学基金(31101101,31171460);江苏省高校自然科学重大基础研究项目(11KJA210003);江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介:齐义涛(1989—),男,安徽六安人,硕士生,主要从事作物逆境生理和生物强化方面的研究。E-mail:qiyitao614@126.com

* 通信作者:王云霞 E-mail:yxwang@yzu.edu.cn

锌是动植物和人类必需的微量元素之一,作为多种酶的组成成分广泛地参与各种代谢活动,是人类最易缺乏的5种微量元素之一,全世界约有三分之一的人口存在缺锌的风险^[1-2]。锌缺乏影响人类的生长、生殖、免疫和大脑发育,还可导致疾病。缺锌已被世界卫生组织(WHO)列为发展中国家第五大致病因素^[3],每年将近450 000名5岁以下的儿童因缺锌而死亡^[4]。目前,控制缺锌问题主要有3种策略:药剂补充、强化食品以及饮食调节,但在欠发达国家和地区由于经济或社会原因难以普及^[5]。近年来,通过生物强化(Bio-fortification)提高主食中锌含量被认为是有效和根本解决锌营养问题的最具可持续发展的途径,成为这一领域的研究热点^[1,6-10]。

通常某一地区居民缺锌与当地土壤缺锌是密切相关的^[11,6,8]。世界范围内将近一半的禾谷类作物生长在潜在缺锌的土壤中^[11]。在生产上,对缺锌土壤增施锌肥被认为是增加谷粒锌浓度最直接有效的途径^[8,12-16]。锌在韧皮部中具有较大的可移动性^[17],一般叶施锌肥较土施锌肥更容易转运至籽粒,对于提高籽粒的锌浓度效果更为明显^[8,14,18]。同时,叶施锌肥还可避免土施可能带来的负作用,例如可能造成的食物链重金属污染(土施锌肥中通常含有镉等重金属元素)^[19-20]。作物种子中的锌含量除了与外源锌可给性有关,还与品种的年代或来源有关^[21-22]。研究表明,现代高产小麦品种籽粒锌含量明显低于早期的小麦品种^[21],可能源于高产带来的锌稀释效应。这种现象说明现代高产品种栽培更需要补充锌肥。籽粒发育早期叶面喷施锌肥可在多大程度上影响现代小麦品种籽粒的锌含量?这种影响是否因不同品种或籽粒的不同部位而异?这些问题均不甚清楚。本试验以本地高产小麦品种扬麦16号和扬辐麦2号为试验材料,研究花后叶面施锌对两品种籽粒不同部位锌积累的影响,旨在寻求经济有效提高小麦锌营养的途径。

1 材料与方法

1.1 实验设计

试验于2011—2012年在扬州大学网室土培池中进行(32°23.3'N,119°25.0'E),每个土培池长3.8 m、宽1.3 m、深0.45 m、面积5.1 m²。当地年平均气温为14.8℃,年日照2140 h,年平均降水量1020 mm。供试土壤为粘质壤土,主要理化性状为:全N 1.3 g·kg⁻¹,全P 1.74 g·kg⁻¹,速效K 69.26 mg·kg⁻¹(乙酸铵浸提),pH7.0(水土比1:1)。供试品种为当地高产冬小麦品种

扬麦16号和扬辐麦2号,试验设对照、0.2%和0.4%(以溶液Zn²⁺浓度计)锌肥处理,锌肥以硫酸锌溶液形式叶面施用(600 L·hm⁻²,加入0.01%的Tween,对照喷等量清水),处理始于小麦开花1周,每隔1周喷施1次,共3次。每处理3次重复。

1.2 材料培育

小麦采用条播方式,11月3日播种。氮肥(尿素)施用量为225 kg·hm⁻²,氮肥施用时期及比例分别为:11月3日施基肥,占总施氮量的50%,2012年3月10日施壮蘖肥,占总施氮量的10%,4月5日施孕穗肥,占总施氮量的40%。磷肥(过磷酸钙)和钾肥(氯化钾)施用量分别为75 kg·hm⁻² P₂O₅和75 kg·hm⁻² K₂O,且均作为基肥施用。适时进行病虫草害防治及生育后期水分管理,保证小麦正常生长发育。

1.3 测定内容与方法

于小麦成熟期收获地上部分,每个重复随机选取10个代表性单茎,手工脱粒,60℃烘干至恒重后称重。将烘干后的籽粒用Sedimat Laboratory Mill (Brabender™ GmbH&Co, Germany)磨粉,重复操作2次,将麸皮等部位过40目和100目筛,留在40目筛上部分的作为麸皮回收,通过100目筛的部分和筒内面粉合并作为面粉回收,介于40和100目筛之间的作为次粉回收,然后分别称重。称取0.1 g左右样品置于马弗炉内灰化(480℃,18 h),待灰化冷却后用2 mL 1:3(V/V)HNO₃溶解,静置1 h,加入8 mL超纯水稀释后过滤,然后用IRIS电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP, Thermo Elemental, 美国)测定滤液中锌元素的浓度,据此计算籽粒各部分锌累积量以及锌在籽粒不同部位的分配比例。每个样品3次重复。

1.4 数据分析

所有数据经Excel处理和绘制图表,用SPSS(V19.0)进行统计分析。多重比较采用SPSS提供的LSD法($\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 籽粒不同部位锌浓度

结实期锌处理对小麦成熟籽粒锌浓度的影响示于图1。由该图可知,在不施锌的条件下,扬麦16号和扬辐麦2号籽粒平均锌浓度分别为31.8 mg·kg⁻¹和33.5 mg·kg⁻¹,无显著差异。与对照相比,0.2%、0.4% ZnSO₄处理使供试品种籽粒中的锌浓度平均增加58%和125%,均达极显著水平。从不同品种看,扬麦16号籽粒锌浓度分别增加73%、103%,扬辐麦2号

分别增加 44%和 148%,均达显著或极显著水平。方差分析表明(表 1),锌处理及其与品种的互作对小麦籽粒锌浓度的影响均达极显著水平。说明结实期叶面施锌使籽粒锌浓度显著增加,增幅因品种而异。

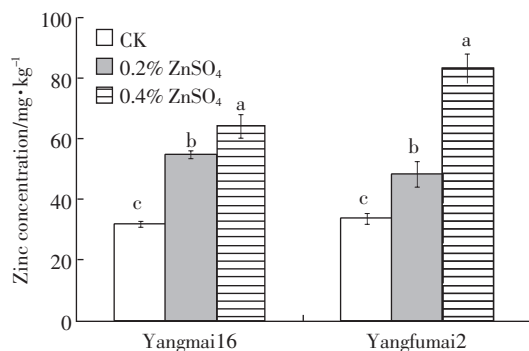


图 1 结实期叶面施锌对小麦整个籽粒锌浓度的影响

Figure 1 Effect of foliar application of ZnSO_4 on Zn concentration of whole grain at maturity of two tested cultivars

Bars show standard error, $n=3$

将小麦籽粒区分为麸皮、次粉和面粉,各部位锌浓度的测试结果见图 2。两品种不同部位锌浓度相比,均为麸皮最高,面粉最低,次粉居中,但同一部位锌浓度品种间没有差异。与对照相比,0.2% ZnSO_4 处理使两品种麸皮、次粉和面粉的锌浓度平均分别增加 64%、54%和 37%,均达显著或极显著水平。从不同品种看,扬麦 16 号对应部位锌浓度分别增加 70% ($P<0.05$)、54% ($P>0.1$)、47% ($P<0.05$),扬辐麦 2 号分别增加 58% ($P<0.01$)、53% ($P<0.1$)和 26% ($P>0.1$),增幅为麸皮>次粉>面粉。同一部位锌浓度的增幅扬麦 16 号>扬辐麦 2 号。0.4% ZnSO_4 处理使两品种麸皮、次粉和面粉的锌浓度平均分别增加 117%、110%和 92%,其中扬麦 16 号分别增加 89%、132%和 136%,扬辐麦 2 号分别增加 148%、88%和 48%,均达显著或极显著水平。其中扬麦 16 号以面粉锌浓度的增幅最大,扬辐麦 2 号则以麸皮部位增幅最大。锌处理对籽粒各组分锌浓度的影响均达极显著水平(表 1)。以上结果说明,结实期叶面施锌使小麦麸皮、次粉和面粉锌浓度均显著增加,增幅因不同品种不同部位而异。

2.2 籽粒不同部位锌积累量

结实期锌处理对小麦成熟期单穗锌积累量的影响见图 3。与对照相比,0.2%、0.4% ZnSO_4 处理使两品种锌积累量平均分别增加 85%、154%,其中扬麦 16 号分别增加 109%、143%,扬辐麦 2 号分别增加 62%、166%,均达显著或极显著水平。方差分析表明,品种

表 1 结实期锌处理对小麦成熟期籽粒不同部位锌浓度、积累量以及比例影响的方差分析结果

Table 1 Results of ANOVA showing the significance (P value) of Zn treatment, cultivar, and their interactions on Zn concentration, Zn accumulation and Zn distribution in different parts of grains at maturity

项目	锌处理	品种	锌处理×品种
籽粒锌浓度	<0.001	0.105	0.007
麸皮锌浓度	<0.001	0.958	0.155
次粉锌浓度	<0.001	0.351	0.914
面粉锌浓度	<0.001	0.868	0.103
籽粒锌积累量	<0.001	0.394	0.077
麸皮锌积累量	<0.001	0.187	0.011
次粉锌积累量	0.004	0.086	0.294
面粉锌积累量	0.262	0.493	0.064
麸皮锌占籽粒总锌含量的比例	0.787	0.384	0.089
次粉锌占籽粒总锌含量的比例	0.948	0.155	0.369
面粉锌占籽粒总锌含量的比例	0.605	0.295	0.074

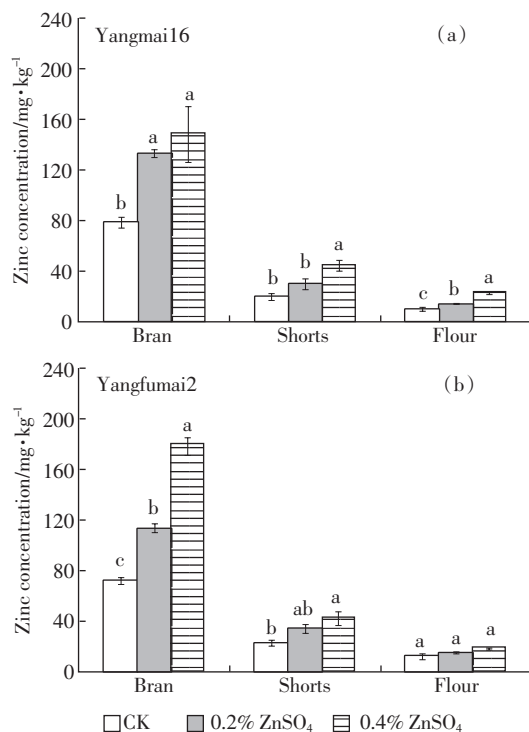


图 2 结实期叶面施锌对扬麦 16 号(a)和扬辐麦 2 号(b)籽粒不同部位锌浓度的影响

Figure 2 Effect of foliar application of ZnSO_4 on Zn concentration of grain fraction at maturity of Yangmai 16(a) and Yangfumai 2(b)

Bars show standard error, $n=3$

对锌积累量没有影响,但锌处理的影响达极显著水平,锌处理与品种间亦有一定的互作效应 ($P<0.1$,表 1)。说明结实期叶面施锌使籽粒锌积累量大幅增加,

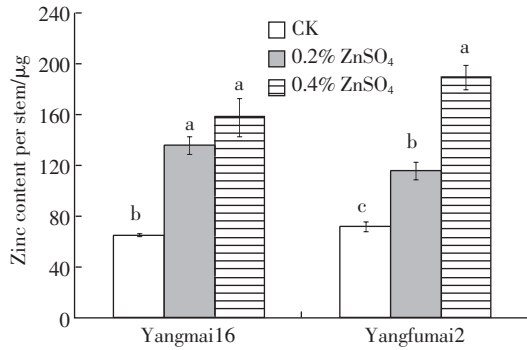


图3 结实期叶面施锌对供试小麦品种整个籽粒锌积累量的影响

Figure 3 Effect of foliar application of ZnSO₄ on Zn accumulation of whole grain at maturity of two tested cultivars. Bars show standard error, $n=3$

品种间存在一定差异。

结实期锌处理对小麦麸皮、次粉和面粉锌积累量的影响示于图4。与对照相比,0.2% ZnSO₄ 处理使两品种单穗中麸皮、次粉和面粉锌积累量平均分别增加90%、78%和61%,均达显著或极显著水平。从不同品种看,扬麦16号对应部位锌积累量分别增加121% ($P<0.05$)、100% ($P<0.1$)、48% ($P>0.1$),扬辐麦2号分

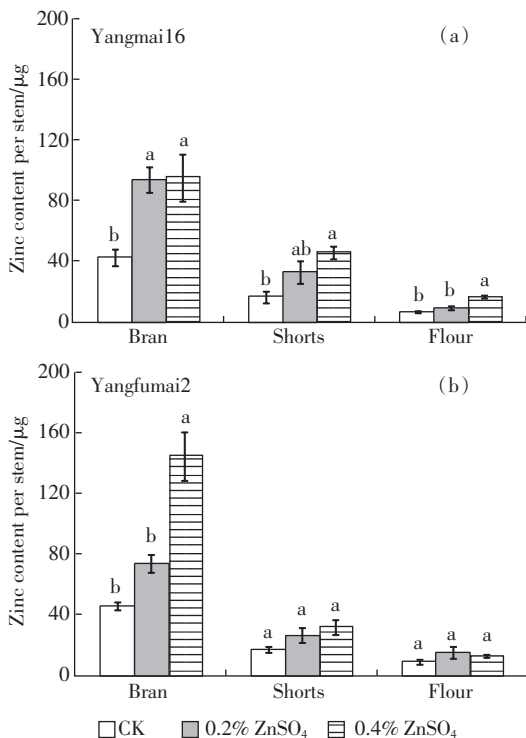


图4 结实期叶面施锌对扬麦16号(a)和扬辐麦2号(b)籽粒不同部位锌积累量的影响

Figure 4 Effect of foliar application of ZnSO₄ on Zn accumulation of grain fraction at maturity of Yangmai 16(a) and Yangfumi 2(b). Bars show standard error, $n=3$

别增加62% ($P<0.1$)、55% ($P>0.1$) 和75% ($P>0.1$),两品种均以麸皮部位的增幅最大。与对照相比,0.4% ZnSO₄ 处理使两品种麸皮、次粉和面粉的锌积累量平均分别增加173%、134%和108%,均达极显著水平。从不同品种看,扬麦16号对应部位锌积累量分别增加125% ($P<0.01$)、180% ($P<0.05$)、169% ($P<0.05$),扬辐麦2号分别增加217% ($P<0.01$)、88% ($P<0.1$) 和47% ($P>0.1$),两品种均以面粉的增幅较小。品种对籽粒不同部位锌积累量没有影响,但锌处理对不同部位锌积累量的影响除面粉外均达极显著水平,锌与品种的互作对麸皮 ($P<0.05$) 和面粉锌积累量 ($P<0.1$) 亦有明显影响(表1)。以上结果说明,结实期叶面施锌使麸皮、次粉和面粉锌积累量均增加,增幅因不同品种不同部位而异。

2.3 籽粒不同部位锌积累量占籽粒总锌积累量的百分比

根据籽粒不同部位的锌积累量,计算锌积累量在籽粒不同部位所占的百分比(图5)。结果表明,两品种平均,0.2%和0.4% ZnSO₄ 处理使麸皮中锌积累量占籽粒总锌积累量的百分比平均分别增加1.9%和

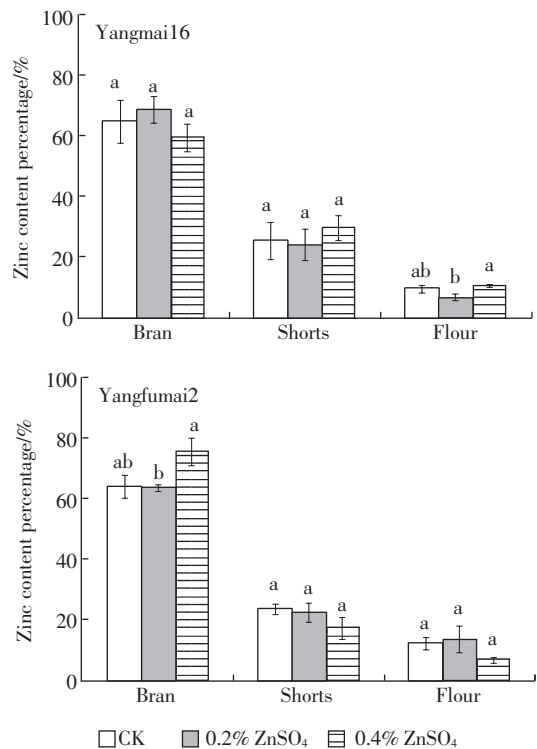


图5 结实期叶面施锌对供试小麦品种锌在成熟籽粒不同部位分配比例的影响

Figure 5 Effect of foliar application of ZnSO₄ on Zn distribution in grain fraction at maturity of Yangmai 16 and Yangfumi 2. Bars show standard error, $n=3$

3.2%,使次粉和面粉中锌积累量占籽粒总锌积累量的百分比平均减少0.6%~2.1%,均未达显著性水平。方差分析表明,品种、锌处理以及品种与锌处理的互作对锌积累量在籽粒不同部位的分配均无显著影响(表1)。可见,结实期锌处理对锌积累量在籽粒不同部位的分配比例没有影响,两品种趋势一致。

3 讨论

前人研究表明,小麦花后增施锌肥可以显著增加小麦籽粒的锌浓度^[8,12-13,15]。本研究以两个现代高产小麦品种扬麦16号和扬辐麦2号为供试材料,于小麦花后每隔1周叶面喷施0.2%和0.4% ZnSO₄ 3次,结果表明,0.2%和0.4% ZnSO₄处理使整粒种子锌浓度由对照的32.6 mg·kg⁻¹分别增加到51.5 mg·kg⁻¹和73.7 mg·kg⁻¹,增幅分别为58%和125%(图1)。籽粒发育早期叶面喷施锌肥大幅增加小麦籽粒中的锌浓度可能与籽粒发育早期种子吸收锌的库具有较强的活性有关。通常小麦籽粒积累锌的高峰期出现在乳熟早期前后^[23]。

与人类营养和食品安全直接相关的是胚乳中的元素浓度。本研究利用Sedimat Laboratory Mill (Brabender™ GmbH&Co, Germany)将小麦籽粒进一步分为麸皮、次粉和面粉3个部分。ICP-MS测定结果表明,无论是对照还是处理植株,处于谷粒最外层的麸皮的锌元素浓度(平均121 mg·kg⁻¹)明显高于次粉(32 mg·kg⁻¹)和面粉中的锌元素浓度(15 mg·kg⁻¹),这一结果与文献报道的趋势一致^[8,10,16,24],但本试验籽粒不同部位锌浓度的差异明显小于笔者之前利用激光侵蚀等离子体质谱(LA-ICP-MS)进行籽粒各部位微区测定的结果^[10,24-25]。这种差异除了与供试品种不同有关外,可能主要与籽粒各部位(糊粉层、胚乳、胚)区分的程度有关。从本试验结果看,面粉锌浓度(15 mg·kg⁻¹)与文献报道很接近,但其他部位的浓度明显低于以前报道^[10,24-25]。可能是由于磨粉机分离小麦各部位时,麸皮和次粉中混有面粉,导致这两部位的锌被稀释,锌浓度降低。籽粒外周麸皮富集锌的能力明显大于次粉特别是面粉,这可能与本试验麸皮部分主要由糊粉层组成有关,糊粉层具有高浓度的肌醇六磷酸(Phytate)和蛋白质,这些物质被认为有利于形成一个吸收锌的强库^[15-16]。从积累量分布看,本试验对照小麦麸皮、次粉和面粉中的锌积累量平均分别占籽粒总积累量的65%、24%和11%(图4),锌主要累积在籽粒外围麸皮和次粉部位,这些部位在谷粒加工过程中多

被去除,导致人类直接食用的面粉中锌含量锐减。这一结果进一步说明,小麦的锌生物强化应以提高面粉中的锌含量而非籽粒全锌为重点^[24]。

虽然叶面施锌对小麦籽粒中锌含量的影响有很多报道,但是叶面施锌对小麦籽粒不同部位锌营养的影响报道甚少^[8,10,16]。本试验结果表明,小麦结实期适量喷施锌肥可使小麦麸皮、次粉和面粉中的微量元素锌浓度均大幅增加,与前人报道的趋势一致^[8,10,16]。比较小麦不同组分的响应,我们还发现处理植株面粉锌浓度的增幅可以达到甚至超过麸皮和次粉部位锌浓度的增幅(图3)。例如0.2% ZnSO₄处理使扬麦16号麸皮、次粉和面粉锌浓度分别增加70%($P<0.05$)、54%($P>0.1$)、47%($P<0.05$),0.4% ZnSO₄处理使扬麦16号对应部位分别增加89%($P<0.01$)、132%($P<0.01$)和136%($P<0.01$)。这一结果与笔者离体穗培养试验的结果不尽相同:LA-ICP-MS测定数据表明,当液体培养基中锌浓度增加3倍(从30~90 μmol·L⁻¹)时,小麦籽粒总锌浓度平均增加了130%,而胚乳锌浓度平均只增加了28%^[10]。离体穗培养试验中锌处理从花后3周开始,且处理时间较短(9 d),锌从茎秆切口进入穗部最终转运到籽粒并积累到胚乳需要一定的时间。这一差异说明胚乳锌的提高效率还与施锌策略有关,通过籽粒发育早期叶面喷施锌肥可经济有效地提高人类直接食用的胚乳部位的锌含量。由于结实期施锌同时促进籽粒的生长(图略),籽粒各部位锌积累量的增幅更为明显(表1和图4)。与此不同,结实期叶面施锌锌元素在籽粒不同组分中的分配模式没有变化,不同品种趋势一致(表1和图5)。本试验另一个重要发现是锌处理与品种对小麦籽粒及其不同组分锌浓度和锌积累量有一定的互作效应:多数情况下结实期叶面喷施锌肥对扬麦16号籽粒及各部位锌营养的影响大于扬辐麦2号。说明适宜品种的选择(育)可以增加小麦锌生物强化的效果。

以上结果对经济有效地解决我国的锌营养问题具有重要意义。在中国,大约三分之一的耕地缺锌^[26],但是锌肥的施用并没有得到足够的重视。因为我国轻度或中等缺锌土壤多属于农作物潜在缺锌,即无明显的缺锌症状(不易被农民察觉),但是影响最终的产量和作物的锌营养品质。本试验定量研究进一步证明,通过花后叶面喷施锌肥以及品种选择等途径可以非常有效、快捷地增加现代小麦品种籽粒特别是胚乳(面粉)的锌浓度,进而持续地、稳定地提高人类的锌营养水平。

利用生物强化手段提高主要农作物微量元素含量是解决人类“隐性饥饿”最具可持续发展的途径。锌、铁、铜等微量元素是人和动植物的必需营养元素,但摄入或吸收过量就会成为有毒的重金属。本研究只设计了两个锌浓度,而且表现为喷锌浓度高的处理,籽粒锌浓度和累积量也高,且影响显著或极显著。因此,有必要进行适宜喷锌浓度与籽粒锌安全剂量关系的研究,以免造成锌中毒的问题。

4 结论

本研究以两个现代小麦品种为供试材料,定量研究结果表明,在籽粒生长早期叶面喷施锌肥可以有效地增加籽粒特别是人类食用部位胚乳中的锌浓度和锌积累量,增幅因不同品种而异。因此,有必要进一步深入开展微量元素锌在小麦品种体内的积累、运转及其调控机理的研究,为进一步利用农艺措施进行主要农作物的微量元素生物强化提供科学依据。

参考文献:

- [1] Hotz C, Brown K H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control[J]. *Food and Nutrition Bulletin*, 2004, 25: 94–204.
- [2] Stein A J. Global impacts of human mineral malnutrition[J]. *Plant Soil*, 2010, 335: 133–154.
- [3] WHO. Reducing risks, promoting healthy life[R]//World Health Organization. The World Health Report. Geneva, Switzerland, 2002.
- [4] Black R E, Lindsay H A, Bhutta Z A, et al. Maternal and child under-nutrition: Global and regional exposures and health consequences[J]. *The Lancet*, 2008, 371: 243–260.
- [5] Brown K H. The public health importance of zinc nutrition and strategies for the control of zinc deficiency[G]//Zncrops. Istanbul, Turkey, 2007.
- [6] Bouis H E. Micronutrient fortification of plants through plant breeding: Can it improve nutrition in man at low cost[J]. *Proceedings of Nutrition Society*, 2003, 62: 403–411.
- [7] Nestel P, Bouis H E, Meenakshi J V, et al. Biofortification of staple food crops[J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136: 1064–1067.
- [8] Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification[J]. *Plant and Soil*, 2008, 302: 1–17.
- [9] Waters B M, Sankaran R P. Moving micronutrients from the soil to the seeds: Genes and physiological processes from a biofortification perspective[J]. *Plant Science*, 2011, 180: 562–574.
- [10] Wang Y X, Specht A, Horst W J. Stable isotope labelling and zinc distribution in grains studied by laser ablation ICP-MS in an ear culture system reveals zinc transport barriers during grain filling in wheat[J]. *New Phytologist*, 2011, 189: 428–437.
- [11] Graham R D, Welch R M. Breeding for staple-food crops with high micronutrient density[G]//International Food Policy Research Institute, Working papers on agricultural strategies for micronutrients. Washington D C, 1996.
- [12] Yilmaz A, Ekiz H, Torun B, et al. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat grown on zinc-deficient calcareous soils in Central Anatolia[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1997, 20: 461–471.
- [13] Peck A W, McDonald G K, Graham R D. Zinc nutrition influences the protein composition of flour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Journal of Cereal Science*, 2008, 47: 266–274.
- [14] Rengel Z, Batten G D, Crowley D E. Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops[J]. *Field Crops Research*, 1999, 60: 27–40.
- [15] Cakmak I, Pfeiffer W H, McClafferty B. Biofortification of durum wheat with zinc and iron[J]. *Cereal Chemistry*, 2010, 87: 10–20.
- [16] Cakmak I, Kalayci M, Kaya Y, et al. Biofortification and localization of zinc in wheat grain[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58: 9092–9102.
- [17] Haslett B S, Reid R J, Rengel Z. Zinc mobility in wheat: Uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots[J]. *Annals of Botany*, 2001, 87: 379–386.
- [18] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants[M]. London: Academic Press, 1995: 25–43.
- [19] Harris N S, Taylor G J. Remobilization of cadmium in maturing shoots of near isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium accumulation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52: 1473–1481.
- [20] 王云霞, 杨连新, Horst W J. 重金属复合处理对小麦铜锌镉积累和分布的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11): 2145–2151. WANG Yun-xia, YANG Lian-xin, Horst W J. The accumulation pattern of Zn, Cu, Ni, Cd in wheat grown in heavy-metal enriched substrate[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(11): 2145–2151.
- [21] Zhao F J, Su Y H, Dunham S J, et al. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin[J]. *Journal of Cereal Science*, 2009, 49: 290–295.
- [22] Joshi A K, Crossa J, Arun B, et al. Genotype x environment interaction for zinc and iron concentration of wheat grain in eastern Gangetic plains of India[J]. *Field Crops Research*, 2010, 116: 268–277.
- [23] Ozturk L, Yazici M A, Yucel C, et al. Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2006, 128: 144–152.
- [24] 王云霞, 杨连新, Horst W J. 激光剥蚀电感耦合等离子体质谱仪(LA-ICP-MS)定量分析小麦籽粒锌元素的空间分布[J]. 南京农业大学学报, 2011, 34(2): 18–22. WANG Yun-xia, YANG Lian-xin, Horst W J. Quantification and spatial distribution of zinc in wheat grains by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2011, 34(2): 18–22.
- [25] 王云霞, 杨连新, Horst W J. 用激光剥蚀电感耦合等离子体质谱研究小麦籽粒元素的共分布[J]. 作物学报, 2012, 38(3): 1–8. WANG Yun-xia, YANG Lian-xin, Horst W J. Element colocalization in wheat seed revealed by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(3): 1–8.
- [26] Frossard E, Bucher M, Machler F, et al. Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80: 861–879.