

张欣, 户少武, 章燕柳, 等. 叶面施锌对不同水稻品种稻米锌营养的影响及其机理[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(7): 1450–1458.

ZHANG Xin, HU Shao-wu, ZHANG Yan-liu, et al. Effect of foliar zinc application on zinc nutrient levels of different rice cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(7): 1450–1458.

叶面施锌对不同水稻品种稻米锌营养的影响及其机理

张欣¹, 户少武¹, 章燕柳¹, 牛玺朝², 邵在胜¹, 杨阳², 童楷程², 王云霞², 杨连新^{1*}

(1.扬州大学江苏省作物遗传生理国家重点实验室培育点/粮食作物现代产业技术协同创新中心, 江苏扬州 225009; 2.扬州大学环境科学与工程学院, 江苏扬州 225009)

摘要: 研究水稻灌浆早期叶面施锌对稻米锌浓度及其生物有效性的影响及其与叶片气孔特征的关系, 旨在为稻作生产上生物强化策略的制订提供参考依据。2016—2017年在土培条件下, 以6个水稻品种为供试材料, 于抽穗期、抽穗后6 d和12 d叶面喷施0.2% ZnSO₄共3次, 以喷施等量清水为对照, 抽穗灌浆期测定剑叶气孔导度和气孔结构, 成熟期测定产量性状、糙米锌浓度、植酸浓度和植酸与锌的摩尔比。结果表明, 尽管叶面施锌对水稻籽粒产量无显著影响, 但显著改变稻米的锌含量水平。与对照相比, 锌处理使两年所有品种糙米锌浓度平均增加27.9% ($P < 0.01$)。锌处理对各品种糙米植酸浓度没有影响, 但使植酸与锌摩尔比平均下降23.4% ($P < 0.01$)。灌浆期叶面施锌对糙米锌浓度、植酸与锌摩尔比的影响因品种而异, 表现在锌处理与品种间存在明显的互作效应, 其中3个低锌水稻品种的反应明显大于3个高锌水稻品种。相关分析表明, 叶面施锌导致糙米锌浓度的增幅与灌浆早期气孔导度呈显著正相关, 但与气孔长度和密度相关不密切。水稻灌浆初期叶面施锌可大幅增加糙米锌浓度及其生物有效性, 增幅因品种不同而异; 水稻本身锌水平低, 叶片气孔导度大均有利于叶面锌肥的吸收。

关键词: 水稻; 锌; 生物有效性; 生物强化; 气孔导度; 叶片结构特征

中图分类号: S511 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2019)07-1450-09 doi:10.11654/jaes.2018-1256

Effect of foliar zinc application on zinc nutrient levels of different rice cultivars

ZHANG Xin¹, HU Shao-wu¹, ZHANG Yan-liu¹, NIU Xi-chao², SHAO Zai-sheng¹, YANG Yang², TONG Kai-cheng², WANG Yun-xia², YANG Lian-xin^{1*}

(1. Yangzhou University/Jiangsu Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology/Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops, Yangzhou 225009, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The effects of foliar Zn application during the early grain-filling stage on Zn concentration and Zn bioavailability in rice and its relationship with leaf stomata characteristics were studied to provide a scientific basis for effective Zn biofortification in rice production. Six rice cultivars with different seed Zn contents were grown under soil culture conditions from 2016–2017. Foliar Zn spray (0.2% ZnSO₄) was applied at heading, 6 d after heading (DAH), and 12 DAH, and the same amount of water was sprayed as the control. The stomatal conductance and stomatal structure of flag leaves were measured at the heading and early grain-filling stages. The yield traits, Zn concentration, phytic acid concentration, and molar ratio of phytic acid to Zn in brown rice were determined at plant maturity. Although foliar Zn application had no significant effect on the grain yield of rice, it significantly changed the Zn nutrition level of brown rice. Averaged over 2 a, Zn application increased the Zn concentration in brown rice by 27.9% ($P < 0.01$). Zn application did not affect the phytic acid concentration of brown rice, but molar ratio of phytic acid to Zn decreased by 23.4% ($P < 0.01$) on average. The effects of foliar Zn application during the early grain-filling stage on the Zn concentration, phytic acid concentration, and molar ratio of phytic acid to Zn in brown rice varied with

收稿日期: 2018-10-08 录用日期: 2019-02-27

作者简介: 张欣 (1992—), 女, 江苏徐州人, 硕士研究生, 从事水稻微量元素生物强化研究。E-mail: 877132051@qq.com

*通信作者: 杨连新 E-mail: lxyang@yzu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671618, 31471437, 31171460, 31101101); 江苏高校优势学科建设工程项目

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(31671618, 31471437, 31171460, 31101101); Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions

cultivars, as shown by the significant Zn treatment by cultivar interactions. The responses of the three cultivars with low seed Zn content were significantly greater than those of the three cultivars with high seed Zn content. The correlation analysis showed that the increment of Zn concentration in the brown rice due to foliar Zn application was significantly positively correlated with the stomatal conductance at the early grain-filling stage, but not related to the stomatal length or density. In conclusion, foliar Zn application during the early grain-filling stage can significantly increase the Zn concentration and bioavailability in brown rice, and the increment varied with cultivars. The low level of seed Zn and the large stomatal conductance of leaves may be beneficial for the absorption of Zn fertilizer into rice leaves.

Keywords: rice; zinc; bioavailability; biofortification; stomatal conductance; leaf structural characteristics

锌是人体必需微量元素之一,也是人体较易缺乏的微量元素之一;缺锌可导致身体异常发育和许多慢性疾病的发生,对全世界超过30亿人口特别是亚洲和非洲等地人口的健康构成威胁^[1-3]。微量元素的缺乏通常与粮食作物籽粒中微量元素浓度较低有关^[1-2,4]。水稻是人类一半人口的主要粮食作物,在我国膳食结构中占主导地位,但稻米锌浓度通常低于其他谷类作物^[1,4-7];最新大田研究表明,不断升高的大气CO₂浓度将使稻米锌含量进一步下降,进而恶化人类因缺锌导致的相关健康问题^[8-10]。因此,研究如何生产足够的富锌稻米以满足不断增长的世界人口需求显得日益重要。

生物强化一般是指通过农艺措施提高现有农产品微量营养元素的含量,其优点在于无需改变人类的饮食习惯,可覆盖广泛的人群,是目前解决人类微量元素缺乏最具可持续发展的途径^[1]。通过农艺措施来提高水稻籽粒中锌元素的含量通常依赖于微肥的施用,一般认为根系吸收是作物摄取锌的主要途径,叶面吸收则是重要的补充途径。叶面施锌具有需肥量少、吸收快、针对性强、环境影响小等特点,是一种快捷高效的锌生物强化手段^[1-2,11-14]。人体锌缺乏不仅与谷粒中锌含量低有关,也与锌的生物有效性差有关^[1,4];植酸与锌摩尔比被广泛地用于评价食品中锌的生物有效性^[15]。当植酸与锌摩尔比大于15时,锌的生物利用率仅为10%~15%,当植酸与锌摩尔比介于5~15时,利用率为30%~35%,当该值小于5时,利用率为45%~55%^[16]。叶面锌肥对稻米锌含量影响的研究很多^[14,17-25],但对反映锌生物有效性的植酸与锌摩尔比的报道很少,且已有报道多数局限于个别品种^[19-22]。研究表明,现代高产作物品种籽粒锌含量低于早期品种(稀释效应所致)^[1,26],这说明现代品种可能更需补施锌肥。籽粒发育早期叶面喷施锌肥可在多大程度上改变现代水稻品种(包括超级稻)籽粒的锌含量?这种影响是否因品种而异?这些方面报道甚少。

前人利用不同水稻品种研究表明,叶面施锌可不同程度提高水稻籽粒中锌的浓度,但品种间响应幅度不同的机制尚不清楚,对植物叶面肥吸收主要是通过叶片气孔还是角质层裂隙仍存在争议^[27-28]。另外,影响植物叶面营养吸收过程的因素非常复杂,主要取决于植物本身和环境因素;尽管前人对锌通过植物根系吸收方面进行了大量的研究^[3-4,29],但对叶面施锌效率及其影响因子的研究非常欠缺。

本研究以广泛种植的6个不同锌含量水稻品种为试验材料(优质丰产籼稻和粳稻,包含新育成的超级水稻),重点研究灌浆早期叶面施锌对籽粒产量以及糙米的锌浓度、植酸浓度、植酸与锌摩尔比的影响,比较不同品种响应的异同点,同时探讨水稻叶面锌肥吸收效率与叶片气孔特性的关系。通过该研究旨在为稻作生产上生物强化策略的制订提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验设计

试验于2016、2017年在扬州大学农学院网室的6个土培池中进行(32°23′23″N, 119°25′0″E)。每个土培池长3.8 m,宽1.3 m,深0.45 m。供试土壤为灰潮土,pH值为7.6,全氮0.84 g·kg⁻¹,碱解氮76.1 mg·kg⁻¹,全磷1.63 g·kg⁻¹,全钾11.4 g·kg⁻¹,全锌0.09 g·kg⁻¹,速效磷67.2 mg·kg⁻¹,速效钾70.6 mg·kg⁻¹,有效锌7.88 mg·kg⁻¹。试验设置对照、0.2%锌肥(以溶液中Zn²⁺浓度计)处理2个水平。喷锌处理从水稻抽穗50%开始,每隔6 d喷施1次,共3次;最后一次喷施时间为抽穗后12 d,处于籽粒灌浆早期;对照同期喷施等量清水。喷施时将处理植株与对照植株用塑料薄膜隔开避免污染。锌肥以硫酸锌溶液形式叶面施用(800 L·hm⁻²,加入0.01%的Tween溶液)。每个处理喷施7株,3次重复。

1.2 材料培育

本试验以当前大田生产中常用的6个优质丰产品种为试验材料,分别为南粳9108、武运粳23、甬优

12、武运梗27、扬稻6号和Y两优1998。两年水稻试验时间相同,秧苗采用大田早育秧,5月18日播种,6月19日移栽,株行距为16 cm×20 cm。每个土培池中各品种均3行,每行7穴。常规粳稻每穴2苗,其余品种每穴1苗。水稻生育期总施氮量为22.5 g·m⁻²,其中6月19日施用基肥(占总施氮量的40%),6月29日施用分蘖肥(占总施氮量的30%),7月28日施用穗肥(占总施氮量的30%);磷和钾肥施用量均为9 g·m⁻²,作基肥一次施用。水肥管理为6月19日—7月17日保持水层(约3 cm),7月17日后控水搁田,及时防治病虫害,保证水稻正常发育。

1.3 测定内容

产量性状:于成熟期每小区选取5穴长势一致的稻株收获并调查穗数。手工脱粒,晒干至恒质量,用杭州汇尔公司FX-II风选仪区分饱粒和空秕粒。用数粒板测定饱粒数,手工测定空秕粒数后分别称质量,根据以上测定数据计算籽粒产量及产量构成因子。

籽粒产量(g·m⁻²)=单位面积穗数×每穗颖花数×饱粒重×饱粒率

饱粒率=饱粒数/总粒数×100%

饱粒质量(mg)=饱粒总干质量/饱粒数

糙米氮含量:参照《优质稻谷》(GB/T 17891—1999),用凯氏定氮法测定含氮量。

糙米锌和其他元素浓度:称取0.5 g样品,加入5 mL优级纯硝酸后置于微波消解仪(CEM-MARS 5, USA)内高温消解。消解液稀释后用等离子发射光谱-原子吸收仪(iCAP 6300, USA)测定滤液中磷、钾、钙、镁、硫等大量元素及铜、铁、锰、锌等微量元素的浓度。

糙米植酸浓度:参照Lapteva^[30]并作适当改进,具体如下:称取烘干样品0.25 g,加入5 mL 0.7% HCl振荡提取1 h(25 °C, 150 r·min⁻¹),离心(4000 r·min⁻¹, 15 min)后取上清液,加入显色剂(由FeCl₃和磺基水杨酸配制)混匀后离心(3400 r·min⁻¹, 10 min),取上清液于500 nm下测定吸光度;根据标准曲线计算样品植酸浓度,标准溶液由植酸钠配制。

光合参数:于抽穗期和穗后20 d采用LI-6400XT光合测定系统(LI-COR公司,美国)测定剑叶叶片中上部净光合速率(Pn)和气孔导度(Gs)等光合相关参数,每个处理测定3张叶片,共3个重复。测定时采用CO₂小钢瓶(LI-COR公司,美国)控制CO₂浓度为400 μmol·mol⁻¹,光强控制为1200 μmol·m⁻²·s⁻¹,测定气体流速为500 μmol·s⁻¹,测定温度与当时叶温一致,湿度

为当时空气湿度。

气孔结构的显微镜观察:抽穗期时每个池子选取3株植株,每株选取一张剑叶,使用指甲油涂抹剑叶背部中部约1 cm×1 cm区域,待其完全凝固后用透明胶带撕下,将贴合叶片的一面朝上贴于载玻片上,置于Leica DM 2500型显微镜下观察气密度及气孔长度^[31]。

1.4 数据分析

所有数据用Excel 2013处理和绘制图表,用SPSS 19.0进行统计分析。

2 结果与分析

锌处理、品种、年度及其互作对水稻产量性状以及糙米N、P、K、Ca、Mg、S、Fe、Mn、Cu等矿物质元素浓度的影响列于表1。由表1可知,尽管品种、年度对这些参数的影响多数情况下达显著或极显著水平,但锌处理、锌处理×品种、锌处理×年度、锌处理×品种×年份间对这些参数多无显著影响;说明灌浆早期叶面施锌对水稻产量性状以及测定的上述元素浓度多无显著影响,不同品种和年度趋势一致。因此,本文将重点分析不同水稻品种糙米锌营养数据及其与叶片气孔特性的关系。

2.1 叶面施锌对不同水稻品种糙米锌浓度的影响

叶面喷施0.2%硫酸锌对6个供试品种糙米锌浓度的影响示于图1和表2。结果表明:从不同年份看,6品种两处理平均,2017年糙米锌浓度较2016年下降8.6%,年度间差异达极显著水平;供试品种糙米平均锌浓度的变幅为28.5~39.5 mg·kg⁻¹,品种间差异达极显著水平;两年所有品种平均,叶面施锌使糙米锌浓度平均增加8.1 mg·kg⁻¹,增幅为27.9%,达极显著水平。从不同年份看,叶面施锌使2016、2017年糙米锌浓度平均分别增加22.4%、34.3%,均达极显著水平。从不同品种看,叶面施锌使NJ9108、WYJ23、YY12、WYJ27、YD6和YLY1998分别增加18.6%、17.2%、10.8%、48.3%、42.6%和43.5%,其中NJ9108达显著水平,WYJ27、YD6和YLY1998达极显著水平。综合方差分析表明,锌处理×品种、品种×年份对糙米锌浓度的互作达极显著水平(表2)。

2.2 叶面施锌对不同水稻品种糙米植酸浓度的影响

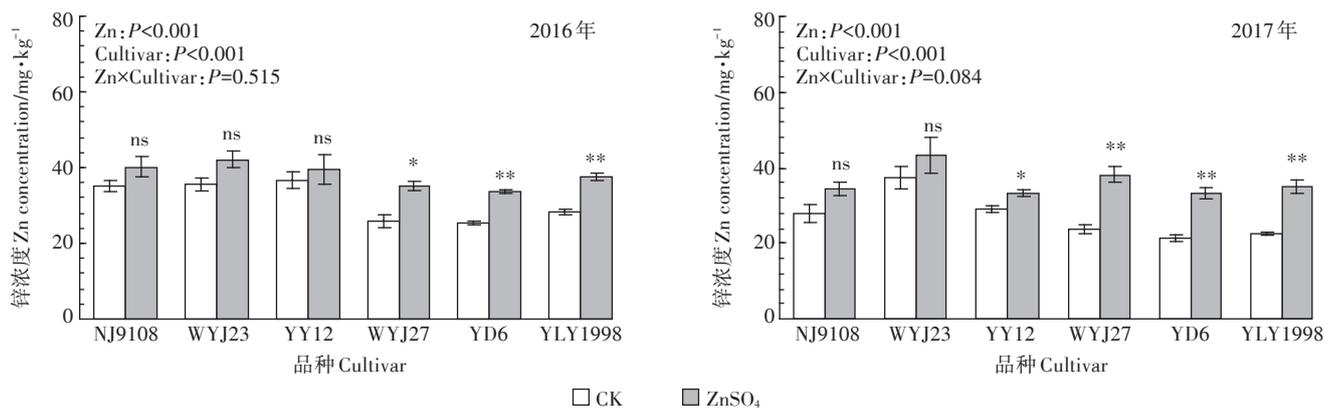
不同水稻品种糙米植酸浓度的测定结果示于图2和表2。结果表明:两处理所有品种平均,2016、2017年糙米植酸浓度平均分别为10.9、11.5 mg·g⁻¹,两者差异达极显著水平。供试品种糙米平均植酸浓度

表1 锌处理、品种、年份及其互作对水稻产量性状以及糙米矿质养分浓度的影响(P 值)Table 1 Effects of zinc treatment, cultivar, year and their interactions on rice yield traits and the concentrations of mineral nutrients of brown rice (P value)

参数 Parameters	锌处理(Zn)	品种 Cultivar(C)	年份 Year(Y)	Zn×C	Zn×Y	C×Y	Zn×C×Y	
产量性状 Yield traits	籽粒产量 Yield	0.578	<0.001	<0.001	0.344	0.015	<0.001	0.517
	单位面积穗数 Panicle number per m ²	0.127	<0.001	<0.001	0.100	0.001	<0.001	0.222
	每穗颖花数 Spikelet number per panicle	0.817	<0.001	0.003	0.962	0.503	<0.001	0.908
	饱粒率 Full-filled grain rate	0.570	<0.001	0.339	1.000	0.694	<0.001	0.957
	饱粒质量 Full-filled grain weight	0.508	<0.001	<0.001	0.953	0.585	<0.001	0.206
元素浓度 Element conc.	N	0.217	<0.001	0.430	0.668	0.173	0.533	
	P	0.362	0.085	<0.001	0.791	0.236	0.033	0.742
	K	0.710	<0.001	0.023	0.903	0.496	0.913	0.835
	Ca	0.320	0.001	<0.001	0.341	0.849	0.279	0.789
	Mg	0.656	0.429	<0.001	0.892	0.416	0.065	0.763
	S	0.008	<0.001	0.612	0.887	0.170	0.223	0.892
	Fe	0.052	0.105	<0.001	0.028	0.136	0.135	0.464
	Mn	0.704	<0.001	<0.001	0.230	0.242	0.654	0.082
	Cu	0.754	<0.001	<0.001	0.960	0.679	0.920	0.940

注:黑体数字表示达显著或极显著水平。下同。

Note: Significant at $P<0.05$ or $P<0.01$ are shown in bold. The same below.



CK-对照; ZnSO₄-叶面喷施0.2%硫酸锌; Zn-叶面施锌处理; NJ9108、WYJ23、YY12、WYJ27、YD6、YLY1998分别代表南粳9108、武运粳23、甬优12、武运粳27、扬稻6号和Y两优1998; ns, 不显著; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$ 。下同

CK, Control; ZnSO₄, Foliar applications of 0.2% ZnSO₄; Zn, Foliar Zn application; NJ9108, WYJ23, YY12, WYJ27, YD6 and YLY1998 represent Nanjing 9108, Wuyunjing 23, Yongyou 12, Wuyunjing 27, Yangdao 6 and Y II you 1998, respectively. ns, no significant; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$.

The same below

图1 灌浆前期叶面喷施0.2%硫酸锌对不同水稻品种糙米锌浓度的影响

Figure 1 Effect of foliar applications of 0.2% ZnSO₄ at early grain filling stage on zinc concentration in brown rice of different rice cultivars表2 锌处理、品种、年份及其互作对糙米锌浓度、植酸浓度以及植酸与锌摩尔比的显著性检验(P 值)Table 2 Effects of zinc treatment, cultivar, year and their interactions on zinc concentration, phytic acid concentration and the mole ratio of phytic acid to zinc in brown rice (P value)

参数 Parameters	Zn	Cultivar(C)	Year(Y)	Zn×C	Zn×Y	C×Y	Zn×C×Y
锌浓度 Zn concentration	<0.001	<0.001	<0.001	0.022	0.160	0.016	0.939
植酸浓度 PA concentration	0.570	<0.001	0.004	0.924	0.628	0.002	0.186
植酸与锌摩尔比 PA/Zn molar ratio	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.007	0.064	0.488

的变幅为10.1~12.1 mg·g⁻¹, 品种间差异达极显著水平。灌浆早期叶面施锌对糙米植酸浓度无显著影响,

不同年份、不同品种趋势一致。方差分析表明, 仅品种×年份对糙米植酸浓度的互作达极显著水平(表2)。

2.3 叶面施锌对不同水稻品种糙米植酸与锌摩尔比的影响

锌的生物有效性常以植酸与锌的摩尔比来表示,该参数结果见图3和表2。可见2016、2017年糙米植酸与锌摩尔比平均分别为32.2、38.0,年度差异达极显著水平。供试品种糙米植酸与锌摩尔比的变幅为27.5~40.2,品种间差异亦达极显著水平。叶面施锌使糙米植酸与锌摩尔比平均降低23.4%,达极显著水平。从年份看,叶面施锌使2016、2017年糙米植酸与锌摩尔比分别平均降低18.0%、27.7%,均达极显著水平;从品种看,叶面施锌使NJ9108、WYJ23、YY12、WYJ27、YD6、YLY1998分别下降14.2%、12.9%、11.8%、34.0%、29.1%、29.4%,其中YY12、WYJ27、YD6和YLY1998均达显著或极显著水平。锌处理×品种、锌处理×年份对糙米植酸与锌摩尔比的交互均达极显著水平(表2)。

2.4 不同水稻品种叶片气孔性状及其与叶面施锌效率的关系

为了探索不同品种稻米锌富集差异与叶片性状的关系,2017年观察了水稻抽穗期及穗后20 d剑叶净光合速率(Pn)和气孔导度(Gs)。前期4个品种的研究表明,叶面施锌对这两个参数均没有显著影响(Pn, $P=0.104$; Gs, $P=0.849$);下面只分析对照水稻Pn和Gs的品种差异,以进一步了解水稻本身的叶片性状对富锌效果的影响。由表3可知,抽穗后20 d叶片Pn、Gs均小于抽穗期。叶片Pn或Gs的品种差异均达极显著水平;两个生育期叶片Gs的变幅为0.35~0.79 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,其中WYJ27、YD6、YLY1998叶片Gs均大于NJ9108、WYJ23、YY12;对应地,WYJ27、YD6、YLY1998叶片的Pn多大于其他3个品种。上述品种差异抽穗后20 d较抽穗期更为明显,表现在品种×时期对叶片Pn、Gs的影响均达极显著水平。

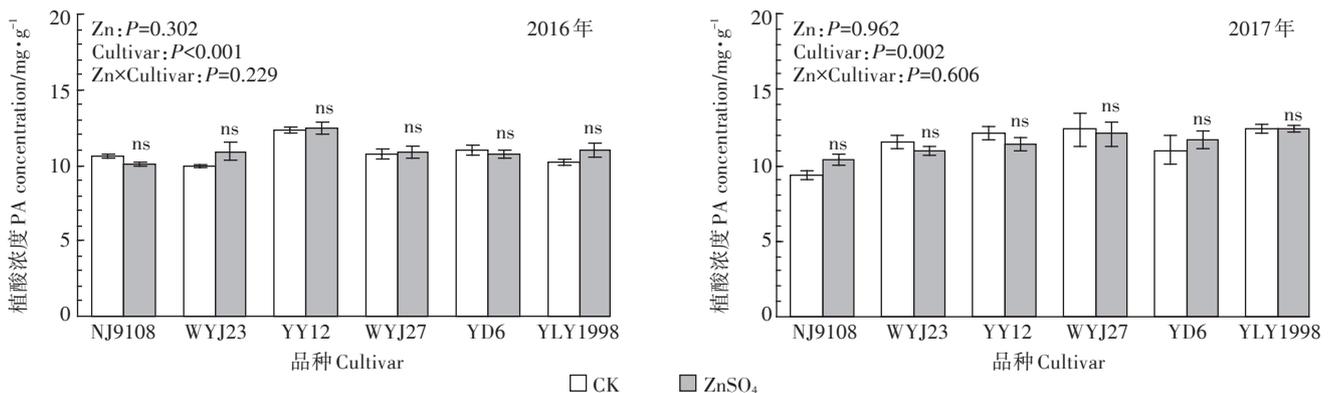


图2 灌浆前期叶面喷施0.2%硫酸锌对不同水稻品种糙米植酸浓度的影响

Figure 2 Effect of foliar applications of 0.2% ZnSO_4 at early grain filling stage on phytic acid concentration in brown rice of different rice cultivars

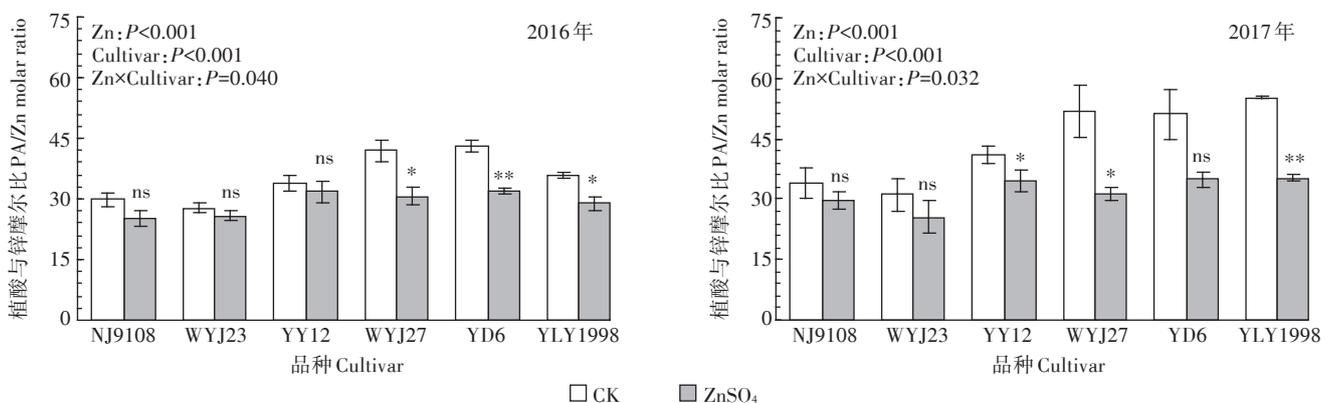


图3 灌浆期叶面喷施0.2%硫酸锌对不同水稻品种糙米植酸与锌摩尔比的影响

Figure 3 Effect of three foliar applications of 0.2% ZnSO_4 at early grain filling stage on the molar ratio of PA to Zn of brown rice of different rice cultivars

另外,我们还测量了各供试品种对照水稻抽穗期叶片表面的气孔长度和密度,结果见表4。不同品种气孔长度和密度的差异均达极显著水平。其中,气孔长度的变幅在21.6~24.2 μm 之间,以YLY1998最大,YD6最小,其余4个品种介于两者之间,气孔长度比较接近。对气孔密度而言,不同品种的变幅在595.7~820.2 mm^{-2} 之间,其中YY12、YD6、YLY1998的气孔密度明显大于NJ9108、WYJ23和WYJ27。

对叶面施锌后稻米锌浓度的增幅和对照条件下剑叶的气孔性状进行相关分析,结果示于表5。叶面施锌后稻米锌浓度的增幅与抽穗期气孔长度和气孔密度相关不密切,但与抽穗期、抽穗后20 d叶片Gs呈极显著和显著线性正相关。这说明供试品种叶片气孔导度越大,叶面施锌的效果越好,但气孔结构特征

与施锌效果无明显关联。表5还表明,两个生育期叶片Gs与气孔长度或气孔密度均无显著相关。

3 讨论

本试验所用材料为生产上广泛使用的水稻品种。前人研究表明,灌浆早期叶面施用锌肥对水稻产量多无显著影响^[14,19-20,23,25],亦有少量增产的报道^[17,22]。本研究发现,水稻籽粒形成前期叶面喷施0.2%硫酸锌对籽粒产量及其构成因子均无显著性影响,不同品种趋势一致,表现在锌处理×品种间和锌处理×品种×年份间均无交互效应(表1),这可能与本试验供试土壤有效锌含量充足有关。综合文献可知,在土壤不缺锌的条件下,灌浆早期叶施锌肥本身对水稻无显著增产作用。

与产量性状相似,灌浆早期叶面施锌对糙米除锌硫之外的其他元素亦无显著影响,说明叶面施锌处理不影响水稻产量及稻米铁铜等矿质营养^[18,20]。叶面施用锌肥,使稻米的锌含量大幅增加。本研究表明,与常规种植水稻(对照)相比,灌浆早期连续喷施3次0.2%硫酸锌对稻米的富锌效果明显:两年所有品种

表3 对照条件下不同水稻品种灌浆期叶片的净同化率和气孔导度(2017年)

Table 3 Net assimilation rate and stomatal conductance of different rice cultivars at early grain filling stage under controlled condition (2017)

品种 Cultivar	净光合速率 Pn/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$		气孔导度 Gs/ $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	
	Heading	DAH20	Heading	DAH20
NJ9108	22.1±0.7	18.7±0.6	0.67±0.02	0.39±0.03
WYJ23	20.1±0.8	16.8±0.3	0.65±0.03	0.39±0.03
YY12	14.3±1.1	16.9±0.1	0.35±0.01	0.35±0.02
WYJ27	22.4±1.0	21.3±1.2	0.68±0.02	0.47±0.02
YD6	22.5±0.3	22.0±0.8	0.79±0.06	0.44±0.02
YLY1998	21.0±0.9	20.3±0.7	0.75±0.05	0.59±0.09
ANOVA results				
Stage	0.028		<0.001	
Cultivar	<0.001		<0.001	
Cultivar × Stage	0.008		0.004	

注: Pn-净光合速率; Gs-气孔导度; DAH20-抽穗后20 d。

Note: Pn, Net assimilation rate; Gs, stomatal conductance; DAH20, 20 days after heading.

表4 对照条件下不同水稻品种抽穗期叶片气孔长度和气孔密度(2017年)

Table 4 Stomatal length and stomatal density of different rice cultivars at heading stage under controlled conditions (2017)

品种 Cultivar	气孔长度 Stomatal length/ μm	气孔密度 Stomatal density/ mm^{-2}
NJ9108	23.1±0.4	595.7±18.3
WYJ23	23.0±0.7	646.9±27.6
YY12	23.3±0.3	801.6±8.9
WYJ27	23.5±0.2	628.8±15.1
YD6	21.6±0.1	820.2±18.7
YLY1998	24.2±0.5	709.8±5.7
ANOVA results		
	0.006	<0.001

表5 叶面施锌后糙米锌浓度的增幅与水稻剑叶气孔导度、气孔长度和密度的相关性分析($n=18$, 2017年)

Table 5 The correlation between increment of Zn concentration in brown rice by foliar Zn application and stomatal conductance, stomatal length and stomatal density of flag leaves in rice ($n=18$, 2017)

相关性分析 Correlation analysis	糙米锌浓度增幅 Percentage increase in Zn concentration in brown rice	抽穗期Gs Gs at heading	抽穗后20 dGs Gs at 20 days after heading	抽穗期气孔长度 Stomatal length at heading	抽穗期气孔密度 Stomatal density at heading
糙米锌浓度增幅 Percentage increase in zinc concentration in brown rice	1				
抽穗期Gs Gs at heading	0.646**	1			
抽穗后20 dGs Gs at 20 DAH	0.544*	0.377	1		
抽穗期气孔长度 Stomatal length at heading	-0.132	-0.215	0.360	1	
抽穗期气孔密度 Stomatal density at heading	0.123	-0.152	-0.062	-0.452	1

平均,糙米锌浓度从 $29.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 增加至 $37.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,增幅达 27.9%。叶面施锌使籽粒锌含量大幅增加的机理目前还不是非常清楚。Jiang 等^[32]利用锌同位素的研究发现早稻籽粒灌浆时期吸收的锌通过木质部进入籽粒的过程比通过叶片韧皮部再转运更为重要,而 Wu 等^[33]研究认为水稻籽粒中的锌积累除了直接通过木质部进入籽粒,也可以通过叶片韧皮部再转运进入籽粒。本研究及前人叶面施锌的结果间接证明韧皮部转运在籽粒锌积累中起重要作用。

本研究中糙米锌含量在不同年份间差异显著,这种差异可能主要与两年水稻季的天气条件差异很大有关。根据气象数据,2017年7—9月份雨水天气较2016年多出23 d,故尽管两年人为搁田的时间相同,但2016年的搁田效果要明显好于2017年。已有研究表明,适度搁田,有助于水稻优质根系的建立,进而有利于水稻对土壤锌的吸收。2017年的搁田效果明显不如2016年,这可能是2017年糙米锌含量较低的重要原因。另外,2017年较2016年阴雨天气多,日照时数相应亦明显减少,这会导致植株蒸腾下降,通过质流方式吸收的锌下降,因而降低糙米的锌浓度。

尽管2017年糙米锌浓度的增幅总体大于2016年,但锌处理与年份的互作未达显著水平(表2),说明施锌导致的糙米锌浓度增加两年趋势一致。叶面施锌后谷粒的产量未变但锌浓度明显增加的现象,在水稻^[14,18-20,23,25]和小麦上^[13,34]均有报道。本研究还发现,叶面施锌后糙米锌浓度的增幅因品种而异,表现在锌处理与品种间存在显著的互作效应;其中武运粳27、扬稻6号和Y两优1998的增幅(>40%)是南粳9108、武运粳23、甬优12(<20%)的2倍多(图1),本试验观察到的品种间响应差异大于Wei等^[18]和张庆等^[20]的报道(3个供试品种)。

人体对锌的摄入量不仅与谷粒中锌含量有关,而且与其生物有效性密切相关^[2,4]。作为籽粒中的抗营养因子,植酸容易与金属离子螯合形成难溶性的盐,限制人体对这些元素的吸收和利用;通常用植酸与锌的摩尔比来表示锌的生物有效性^[2,15,35]。前期研究表明,灌浆早期叶面施锌对糙米植酸浓度多无显著影响^[20-21],但也有不同的报道^[18,22]。本研究表明,叶面喷锌处理及其与品种、年度的互作对糙米植酸浓度均无显著影响,说明叶面施锌不会造成糙米植酸浓度的变化,不同品种和年份趋势一致(图2和表2)。

尽管叶面施锌对糙米植酸浓度无显著影响,但由于锌浓度明显增加,故植酸与锌摩尔比随之下降,锌

的生物有效性因此增加(图3)。这与前期在水稻^[20-21]和小麦^[2,36]上的报道一致。本研究还发现灌浆期喷锌处理对糙米植酸与锌摩尔比的影响因品种而异(图3),其中武运粳27、扬稻6号和Y两优1998的降幅明显大于另外3个供试品种的降幅;方差分析亦表明,锌处理与品种对该参数有极显著的互作效应(表2)。必须指出的是,尽管叶面施锌后6个品种糙米的植酸与锌摩尔比均显著下降,但下降后的绝对值均落在20~35之间。研究表明,植酸与锌的摩尔比高于20时严重抑制锌的吸收利用^[37-38],故需要探明如何进一步降低糙米的植酸与锌摩尔比。

水稻灌浆早期叶面喷锌对谷粒锌浓度的影响存在品种差异^[18,20],目前对造成这种差异的原因报道甚少。本研究从叶片气孔特征等角度对叶面施锌效率的影响因素作了初步探讨。许多研究表明,气孔的存在显著增加叶面吸收率,特别是在有利于气孔开张的环境中^[27,39-45]。然而,气孔对叶面肥吸收作用的机理还不清楚。有作者认为水和溶质是通过气孔直接进入叶片^[40],另外一些研究者把气孔增强叶面肥吸收的作用归因于气孔周边角质层有较高的渗透性^[46-47]。本研究发现,叶面施锌后糙米锌浓度的增幅与水稻灌浆早期剑叶的气孔导度相关显著,而与气孔长度和密度均无相关(表5)。说明叶片气孔导度与糙米锌富集效果密切相关,气孔开张大有利于叶面肥的吸收。由于在前期研究中发现叶面施锌对剑叶气孔导度没有显著影响($G_s; P=0.849$),因此本研究中没有对施锌后的剑叶气孔导度进行重复测定。

植株本身锌浓度的差异可能是造成糙米锌浓度增幅不同的内在因素之一。本研究发现,武运粳27、扬稻6号和Y两优1998糙米中的初始锌浓度明显低于另外3个品种,对应地前者对叶面施锌的响应明显大于后者(图1)。这一发现与Jaksomsak等^[48]的最新报道一致,该研究表明,两个现代高产但种子中锌含量低的水稻品种对叶面施锌的响应明显大于两个传统低产但种子中锌含量高的水稻品种。这种差异是否具有普遍性需要更多品种试验的结果来验证,同时叶面施锌效率与稻株或谷粒本身锌水平之间的关系尚需进一步的研究。

初始锌浓度低的水稻品种生物强化效果明显低于初始锌浓度高的水稻品种,预示在水稻锌生物强化实践中应考虑品种差异,对于高产优质但锌含量低的品种进行富锌强化可能会产生更高的效益。同时,水稻锌生物强化目标值的设定必须考虑不同地区稻米

作为主食的日消耗量以及人群年龄结构等情况。例如,对于孩童,如其50%以上饮食锌来源于大米,通过生物强化使精米锌含量有中等程度的增加即可对健康状况产生显著正效应;即精米锌含量从目前平均 $13\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 增加到 $24\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,等同于糙米增加到 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[49]。

4 结论

(1)两个生长季的试验一致表明,灌浆期叶面喷锌使供试水稻的糙米锌浓度和生物有效性显著增加,但这种增幅品种间存在很大差异。

(2)叶面锌肥吸收效率高的品种具有自身锌浓度低和叶片气孔导度大的特点,叶面锌肥的效果可能与这两个因子协同作用有关。

参考文献:

- [1] Cakmak I, Kutman U B. Agronomic biofortification of cereals with zinc: A review[J]. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69(1):172-180.
- [2] Rehman A, Farooq M, Ozturk L, et al. Zinc nutrition in wheat-based cropping systems[J]. *Plant and Soil*, 2018, 422(1/2):283-315.
- [3] 虞银江, 廖海兵, 陈文荣, 等. 水稻吸收、运输锌及其籽粒富集锌的机制[J]. *中国水稻科学*, 2012, 26(3):365-372.
YU Yin-jiang, LIAO Hai-bing, CHEN Wen-rong, et al. Mechanism of Zn uptake, translocation in rice plant and Zn-enrichment in rice grain [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2012, 26(3):365-372.
- [4] 吴春勇, 韦燕燕, 冯英, 等. 水稻锌生物有效性及通过土壤-植物系统强化锌含量的研究进展[J]. *中国农业科技导报*, 2009, 11(2):23-29.
WU Chun-yong, WEI Yan-yan, FENG Ying, et al. Research progress on zinc bioavailability and zinc biofortification through soil-plant system[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2009, 11(2):23-29.
- [5] Juliano B O. Rice in human nutrition[M]. Int Rice Res Inst, 1993.
- [6] Welch R M, Graham R D. Breeding crops for enhanced micronutrient content[J]. *Plant and Soil*, 2002, 245(1):205-214.
- [7] Fageria N K, Baligar V C, Clark R B. Micronutrients in crop production [J]. *Advances in Agronomy*, 2002, 77:185-268.
- [8] 周三妮, 赖上坤, 吴艳珍, 等. 大气CO₂浓度升高和叶面施锌对武运粳23稻米不同部位锌浓度和有效性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(9):1686-1692.
ZHOU San-ni, LAI Shang-kun, WU Yan-zhen, et al. Effects of elevated CO₂ concentration and foliar Zn application on Zn concentration and bioavailability in different parts of grains of rice Wuyunjing 23[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(9):1686-1692.
- [9] Myers S S, Zanobetti A, Kloog I, et al. Increasing CO₂ threatens human nutrition[J]. *Nature*, 2014, 510(7503):139-142.
- [10] 景立权, 户少武, 穆海蓉, 等. 大气环境变化导致水稻品质总体变劣[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(13):2462-2475.
JING Li-quan, HU Shao-wu, MU Hai-rong, et al. Change of atmospheric environment leads to deterioration of rice quality[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(13):2462-2475.
- [11] 李燕婷, 李秀英, 肖艳, 等. 叶面肥的营养机理及应用研究进展[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(1):162-172.
LI Yan-ting, LI Xiu-ying, XIAO Yan, et al. Advances in study on mechanism of foliar nutrition and development of foliar fertilizer application[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(1):162-172.
- [12] 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(16):9092-9102.
- [13] Zhang Y Q, Sun Y X, Ye Y L, et al. Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China[J]. *Field Crops Research*, 2012, 125:1-7.
- [14] Phattarakul N, Rerkasem B, Li L J, et al. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries[J]. *Plant and Soil*, 2012, 361(1/2):131-141.
- [15] Weaver C M, Kannan S. Phytate and mineral bioavailability[J]. *Food Phytates*, 2002:211-223.
- [16] World Health Organization. Trace element in human nutrition and health[R]. Geneva, 1996.
- [17] 付力成, 王人民, 孟杰, 等. 叶面锌、铁配施对水稻产量、品质及锌铁分布的影响及其品种差异[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(24):5009-5018.
FU Li-cheng, WANG Ren-min, MENG Jie, et al. Effect of foliar application of zinc and iron fertilizers on distribution of zinc and iron, quality and yield of rice grain[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(24):5009-5018.
- [18] Wei Y, Shohag M J I, Yang X. Biofortification and bioavailability of rice grain zinc as affected by different forms of foliar zinc fertilization [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9):e45428.
- [19] Boonchuay P, Cakmak I, Rerkasem B, et al. Effect of different foliar zinc application at different growth stages on seed zinc concentration and its impact on seedling vigor in rice[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2013, 59(2):180-188.
- [20] 张庆, 王娟, 景立权, 等. 叶面施用不同形态锌化合物对稻米锌浓度及有效性的影响[J]. *中国水稻科学*, 2015, 29(6):610-618.
ZHANG Qing, WANG Juan, JING Li-quan, et al. Effect of foliar application of different Zn compounds on Zn concentration and bioavailability in brown rice[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2015, 29(6):610-618.
- [21] 周三妮, 王云霞, 赖上坤, 等. FACE下二氧化碳、施氮量、密度和锌肥对II优084稻米锌浓度及有效性的影响[J]. *中国水稻科学*, 2014, 23(3):289-296.
ZHOU San-ni, WANG Yun-xia, LAI Shang-kun, et al. Effects of elevated CO₂ concentration, nitrogen fertilization, planting density and foliar Zn application on rice Zn concentration and bioavailability of super rice II you 084 under FACE conditions[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2014, 23(3):289-296.
- [22] Imran M, Kanwal S, Hussain S, et al. Efficacy of zinc application methods for concentration and estimated bioavailability of zinc in grains of rice grown on a calcareous soil[J]. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 2015, 52(1):169-175.

- [23] 冯绪猛, 郭九信, 王玉雯, 等. 锌肥品种与施用方法对水稻产量和锌含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(5):1329-1338.
FENG Xu-meng, GUO Jiu-xin, WANG Yu-wen, et al. Effects of Zn fertilizer types and application methods on grain yield and Zn concentration of rice[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2016, 22(5):1329-1338.
- [24] 郭九信, 廖文强, 孙玉明, 等. 锌肥施用方法对水稻产量及籽粒氮锌含量的影响[J]. 中国水稻科学, 2014, 28(2):185-192.
GUO Jiu-xin, LIAO Wen-qiang, SUN Yu-ming, et al. Effects of Zn fertilizer application methods on yield and contents of N and Zn in grain of rice[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2014, 28(2):185-192.
- [25] 索炎炎, 吴士文, 朱骏杰, 等. 叶面喷施锌肥对不同镉水平下水稻产量及元素含量的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2012, 38(4):449-458.
SUO Yan-yan, WU Shi-wen, ZHU Jun-jie, et al. Effects of foliar Zn application on rice yield and element contents under different Cd levels[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Science)*, 2012, 38(4):449-458.
- [26] 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(2):290-295.
- [27] Eichert T, Goldbach H E. Equivalent pore radii of hydrophilic foliar uptake routes in stomatous and astomatous leaf surfaces—further evidence for a stomatal pathway[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 132(4):491-502.
- [28] Fernández V, Eichert T. Uptake of hydrophilic solutes through plant leaves: Current state of knowledge and perspectives of foliar fertilization[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2009, 28(1/2):36-68.
- [29] 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(2):428-437.
- [30] Laptewa N A. Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing[J]. *Analytical Biochemistry*, 1988, 175(1):227-230.
- [31] Laza M R C, Kondo M, Ideta O, et al. Quantitative trait loci for stomatal density and size in lowland rice[J]. *Euphytica*, 2010, 172(2):149-158.
- [32] Jiang W, Struik P C, Lingna J, et al. Uptake and distribution of root-applied or foliar-applied ^{65}Zn after flowering in aerobic rice[J]. *Annals of Applied Biology*, 2007, 150(3):383-391.
- [33] Wu C, Lu L, Yang X, et al. Uptake, translocation, and remobilization of zinc absorbed at different growth stages by rice genotypes of different Zn densities[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(11):6767-6773.
- [34] 杨月娥, 王森, 王朝辉, 等. 我国主要麦区小麦籽粒锌含量对叶喷锌肥的响应[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(3):579-589.
YANG Yue-e, WANG Sen, WANG Zhao-hui, et al. Response of wheat grain Zn concentration to foliar sprayed Zn in main wheat production regions of China[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2016, 22(3):579-589.
- [35] Morris E R, Ellis R. Usefulness of the dietary phytic acid/zinc molar ratio as an index of zinc bioavailability to rats and humans[J]. *Biological Trace Element Research*, 1989, 19(1/2):107-117.
- [36] 齐义涛, 周三妮, 张庆, 等. 结实期叶面施锌对小麦籽粒不同部位锌生物有效性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(6):1085-1091.
QI Yi-tao, ZHOU San-ni, ZHANG Qing, et al. The effect of foliar Zn application at grain filling stage on Zn bioavailability in grain fractions of modern winter wheat cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(6):1085-1091.
- [37] Gibson R S, Bailey K B, Gibbs M, et al. A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability[J]. *Food and Nutrition Bulletin*, 2010, 31(2):134-146.
- [38] Karunaratne A M, Amerasinghe P H, Ramanujam V M S, et al. Zinc, iron and phytic acid levels of some popular foods consumed by rural children in Sri Lanka[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, 21(6):481-488.
- [39] Greene D W, Bukovac M J. Stomatal penetration: Effect of surfactants and role in foliar absorption[J]. *American Journal of Botany*, 1974, 61(1):100-106.
- [40] Middleton L J, Sanderson J. The uptake of inorganic ions by plant leaves[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1965, 16(2):197-215.
- [41] Sargent, J A, Blackman G E. Studies on foliar penetration: 2. The role of light in determining the penetration of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1965, 16(1):24-47.
- [42] Eichert T, Goldbach H E, Burkhardt J. Evidence for the uptake of large anions through stomatal pores[J]. *Botanica Acta*, 1998, 111(6):461-466.
- [43] Schlegel T K, Schönherr J, Schreiber L. Rates of foliar penetration of chelated Fe(III): Role of light, stomata, species, and leaf age[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(18):6809-6813.
- [44] Eichert T, Burkhardt J, Goldbach H E. Some factors controlling stomatal uptake[J]. *Acta Horticulturae*, 2002, 594:85-90.
- [45] Fernández V, Ebert G, Winkelmann G. The use of microbial siderophores for foliar iron application studies[J]. *Plant and Soil*, 2005, 272(1/2):245-252.
- [46] Schlegel T K, Schönherr J. Selective permeability of cuticles over stomata and trichomes to calcium chloride[J]. *Acta Horticulturae*, 2002, 594:91-96.
- [47] Schlegel T K, Schönherr J, Schreiber L. Size selectivity of aqueous pores in stomatous cuticles of *Vicia faba* leaves[J]. *Planta*, 2005, 221(5):648-655.
- [48] Jaksomsak P, Tuiwong P, Rerkasem B, et al. The impact of foliar applied zinc fertilizer on zinc and phytate accumulation in dorsal and ventral grain sections of four Thai rice varieties with different grain zinc[J]. *Journal of Cereal Science*, 2018, 79:6-12.
- [49] Meenakshi J V, Johnson N L, Manyong V M, et al. How cost-effective is biofortification in combating micronutrient malnutrition? An *Ex ante* assessment[J]. *World Development*, 2010, 38(1):64-75.