

孙宏达, 钟民正, 张 腾, 等. 黄土高原潜在缺锌区施用纳米氧化锌(ZnO NPs)对冬小麦生长及籽粒品质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(9): 2041–2048.

SUN Hong-da, ZHONG Min-zheng, ZHANG Teng, et al. Effects of ZnO NPs application on winter wheat growth and grain quality in a potentially zinc-deficient area of the Loess Plateau, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(9): 2041–2048.

黄土高原潜在缺锌区施用纳米氧化锌(ZnO NPs)对冬小麦生长及籽粒品质的影响

孙宏达^{1,2}, 钟民正², 张 腾³, 翟丙年², 王朝辉², 毛 晖^{1,2*}

(1. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 3. 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘 要:为研究纳米氧化锌的施用方式对冬小麦生长及籽粒品质的影响,本研究在黄土高原潜在缺锌地区进行田间微区试验,使用传统的七水硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)和新型的纳米氧化锌(ZnO NPs)作为锌肥,设置对照(CK)、喷施硫酸锌(FZn)、土施 ZnO NPs (SZnO)、喷施 ZnO NPs (FZnO)和土喷结合 ZnO NPs (SFZnO)五个处理。结果表明,不同处理对于冬小麦产量及其构成因素和籽粒品质(淀粉、可溶性糖和谷蛋白)未造成显著影响。ZnO NPs处理相比CK,在两季均显著提高了冬小麦的籽粒锌含量。对比硫酸锌处理,FZnO和SFZnO比FZn处理的籽粒锌含量在第一年分别提高了36%和45%,在第二年分别提高了12%和24%。拔节期叶片扫描表明FZn处理与CK的叶片结构没有差异,FZnO处理观察到颗粒表面附着,能谱仪扫描确定FZnO处理的锌含量显著高于FZn处理和CK。五个不同处理结果表明,小麦施用ZnO NPs比施硫酸锌有较显著的增锌效果,不同施用方式以土喷结合处理增锌效果最佳,籽粒锌含量达到 $37 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,单独喷施处理的锌转移吸收效率最高。施用ZnO NPs对小麦生长、籽粒品质以及叶片生理结构没有产生不良影响,ZnO NPs可作为新型锌肥应用于农业研究。

关键词: ZnO NPs; 土施; 喷施; 小麦; 籽粒锌含量

中图分类号: S512 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2019)09-2041-08 **doi:** 10.11654/jaes.2018-1499

Effects of ZnO NPs application on winter wheat growth and grain quality in a potentially zinc-deficient area of the Loess Plateau, China

SUN Hong-da^{1,2}, ZHONG Min-zheng², ZHANG Teng³, ZHAI Bing-nian², WANG Zhao-hui², MAO Hui^{1,2*}

(1. College of Resources and Environmental Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. Key Laboratory of Plant Nutrition and the Agro-environment in Northwest China, Ministry of Agriculture, Yangling 712100, China; 3. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: A two-season field trial was conducted in a potentially zinc-deficient area of the Loess Plateau, which focused on the effect of zinc oxide nanoparticle (ZnO NPs) application on the growth and grain quality of winter wheat. Five treatments, including CK (blank), FZn (foliar application of ZnSO_4 solution), SZnO (soil application of ZnO NPs), FZnO (foliar application of ZnO NPs), and SFZnO (soil and foliar combined application of ZnO NPs) were applied. During the two-season field trials, all treatments appeared to show no differences to wheat grain yields or qualities (in terms of starch, soluble sugar, or gluten content). Treatment with ZnO NPs increased grain Zn content significantly, compared with CK, in both growing seasons. Moreover, in comparison with FZn treatment, FZnO and SFZnO treatments in-

收稿日期: 2018-11-29 录用日期: 2019-01-29

作者简介: 孙宏达(1994—),男,山东东平人,博士研究生,主要从事 ZnO NPs 环境影响的研究。E-mail: boxofhd@163.com

*通信作者: 毛 晖 E-mail: maohui@nwsuaf.edu.cn

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2015BAD23B04); 公益性行业(农业)科研专项(201503124); 国家自然科学基金项目(41571282); 中央高校基本科研业务费(2452015047)

Project supported: The National Key Technology Research and Development Program of the Ministry of Science and Technology of China (2015BAD23B04); The Special Scientific Research Fund of Agricultural Public Welfare Profession of China (201503124); The National Natural Science Foundation of China (41571282); The Fundamental Research Funds for the Central Universities (2452015047)

creased grain Zn content by 36% and 45% in the first season, and by 12% and 24% in the second season, respectively. Scanning electron microscope analysis of wheat leaves in their elongation stage found particles adhering to the leaf surfaces after FZnO treatment, while no differences were found after FZn and FZnO treatments. Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy results showed higher Zn content in selected leaf spots compared with CK and FZn treatments. As a whole, ZnO NPs application showed better grain Zn increasing ability than either CK or ZnSO₄ treatments. SFZnO showed the highest grain Zn content (37 mg·kg⁻¹) in the trials, while single foliar applications of ZnO NPs exhibited the highest Zn transfer efficiency. This study has provided evidence that ZnO NPs can be regarded as a new and safe Zn fertilizer, being harmless to winter wheat growth, grain quality and leaf structure.

Keywords: ZnO NPs; soil application; foliar application; wheat; grain Zn content

锌是人体必需的微量元素之一,对于哺乳动物的生长发育至关重要。它影响多种酶的活性,促进核酸代谢和蛋白质的合成、促进胶原纤维的合成、促进机体的新陈代谢、增强机体的免疫能力等,一旦人体内缺锌则会造成一系列的疾病与危害^[1]。目前锌营养缺乏也是世界上公认的公共卫生问题,造成了严重的健康和社会经济问题,也引起了生命科学等方面的关注,被列为需首要解决的问题^[2]。锌的摄入量低是人体广泛缺锌的主要原因^[3],通过科学的膳食结构和合理的补锌措施来维护身体锌水平以应对缺锌引起的人体健康问题的研究方向在这一领域成为共识。

小麦是我国三大粮食作物之一,尤其是黄土高原地区主要的作物类型。已有研究结果表明:我国目前小麦籽粒锌含量平均值为 24~33 mg·kg⁻¹^[4-6],显著低于小麦籽粒锌含量 40~60 mg·kg⁻¹ 的推荐值^[7-8],所以小麦籽粒增锌成为迫切需要解决的问题。传统的作物增锌方式主要有育种改良(例如遗传生物强化)和施用锌肥(例如农艺生物强化)两种途径^[9]。育种改良可以提供持续的改善效果,作为有效的增锌途径,受到全球该领域的关注^[8],但该途径面临的限制因素包括:育种周期较长,应用成本较高等。因此,施用锌肥进行作物生物强化以达到增锌的效果,被认为是安全、高效和可行的措施^[10]。Cakmak 等^[7-8]报道了在田间条件下叶面或土施结合喷施锌肥,是非常有效和实用的方法,最大限度地提高了小麦籽粒中锌的吸收和累积,籽粒锌含量达到 60 mg·kg⁻¹。可见,施锌能够有效解决作物锌缺乏带来的问题,也是植物育种策略的补充方法。

相关研究都已证明,土壤和叶面施用锌肥可以有效改善缺锌及潜在缺锌地区小麦籽粒锌含量^[11-14]。杨月娥等^[15]分别在小麦拔节中期和末期(抽穗前)喷施锌(0.4% ZnSO₄·7H₂O 750 kg·hm⁻²),氮、磷、钾肥的施用均采用当地最佳施肥量和施肥方式,结果表明:土壤 pH<7 的区域籽粒锌含量显著高于 pH>7 的区

域,均值分别为 37.0 mg·kg⁻¹ 和 31.8 mg·kg⁻¹。本课题组^[14]在黄土高原潜在缺锌地区对拔节期和灌浆期冬小麦进行喷施硫酸锌(ZnSO₄·7H₂O 4.2 kg·hm⁻²)处理,结果表明籽粒锌含量达到 29.5 mg·kg⁻¹,相比对照增锌幅度达到 25%,仍低于推荐的目标锌含量。因此,采用传统锌肥在该地区进行小麦增锌调控已经遇到瓶颈。与此同时,ZnO NPs 作为工业生产和消费总量达到前列的纳米材料,最终通过沉降、迁移而导致对农业生产的影响受到越来越多的重视^[16]。大量纳米肥料的农业应用研究被报道。有研究表明,纳米肥料可以被植物的叶和根吸收^[17-18],但不确定是否以颗粒形态被吸收^[19-20]。Zhao 等^[21]通过电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定发现,纳米氧化铈和纳米氧化锌(ZnO NPs)在黄瓜果实中以颗粒形态存在,证实纳米粒子可以在生物体内累积。Du 等^[22]在大田试验中研究了土施 ZnO NPs 对小麦生长的影响,在小麦新生根中未发现 ZnO NPs 粒子,但是 SZnO 处理与 CK 相比,小麦组织中的锌含量增加,这表明 ZnO NPs 溶解,使 Zn²⁺ 进入细胞和组织。本课题组^[14]设置了仅喷施 ZnO NPs 和仅喷施硫酸锌处理的田间微区试验,研究了两种处理对于小麦籽粒锌含量的影响及锌元素在小麦籽粒中的分布和存在形态,确定 ZnO NPs 处理较之硫酸锌处理更好地增加籽粒锌含量,且 ZnO NPs 处理籽粒中 70% 的锌元素是以磷酸锌的形式存在于籽粒的折痕组织和糊粉层处,未发现 ZnO NPs 颗粒。王振红等^[23]发现 ZnO NPs 较 Zn²⁺ 更有利于绿豆芽可食部分锌的富集,使绿豆芽产生更多的过氧化物酶(对高等植物而言,环境胁迫时会形成大量的自由基,植物通过抗氧化系统产生一系列产物来消除过量的自由基),更好地消除体内过量的自由基,并促进自身的生长。但是由于 Zn²⁺ 植物毒性大于 ZnO NPs 导致 ZnO NPs 处理绿豆芽蛋白质含量低于 Zn²⁺。一系列研究^[24]表明,纳米肥料在农业领域的应用越来越广泛,在食品生产中发挥关键作用。分析原因,是因为纳米粒子

相对于常规颗粒具有粒径小、比表面积大和更高反应活性^[25]等优势。因此,结合 ZnO NPs 不同于传统锌肥的特殊性质及其在黄土高原潜在缺锌区的增锌潜力,探究其不同的施用方式对冬小麦籽粒增锌效果的研究值得关注 and 期待。

综上所述,以 ZnO NPs 作为新型肥料,研究不同施用方式对冬小麦籽粒品质及其不同器官之间转运效率的影响,探索在黄土高原潜在缺锌区采用 ZnO NPs 进行增锌的最佳方式和途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验中 ZnO NPs(粒径 20 nm±5 nm,纯度>99.6%),购自宏升材料科技有限公司,硫酸锌(ZnSO₄·7H₂O)购自克拉玛尔(中国)公司。图 1 表明,ZnO NPs 颗粒呈球形,粒径约 20 nm。饱和溶液的溶解度为 7.38 mg·L⁻¹,水溶液中会产生团聚效应,形成较大尺寸的团聚体。

1.2 试验基地概况

试验于 2015—2016 年和 2016—2017 年连续两个冬小麦种植季节在陕西省永寿县御驾宫镇御中村试验基地进行,年降水量 610 mm,无霜期为 210 d,平均气温为 10.2 ℃。表 1 为试验田土壤的基本理化性质。

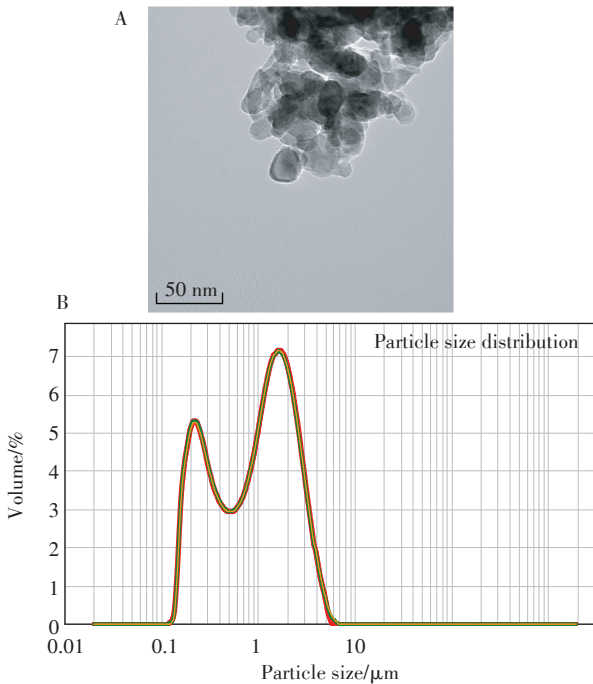


图 1 去离子水中 ZnO NPs 颗粒 TEM 扫描图(A)和水动力学尺寸图(B)

Figure 1 TEM scan(A) and hydrodynamic dimension(B) of ZnO NPs particles in DI water

表 1 试验田土壤基本理化性质
Table 1 Basic physical and chemical properties of experimental field

pH	有机质 OM/ g·kg ⁻¹	全氮 Total N/ g·kg ⁻¹	有效磷 Olsen-P/ mg·kg ⁻¹	速效钾 Avail. K/ mg·kg ⁻¹	DTPA-Zn/ mg·kg ⁻¹
8.5	15.5	1.04	18.8	154.5	0.58

1.3 试验设计

本试验采用田间微区试验,共设置:(1)不施锌对照(CK),(2)喷施硫酸锌(FZn),(3)土施 ZnO NPs(SZnO),(4)喷施 ZnO NPs(FZnO),(5)土喷结合 ZnO NPs(SFZnO),共计 5 个处理。其中,SZnO 处理用量为 102.3 kg·hm⁻²,在播种前拌土施入土壤。FZnO 处理用量为 1.2 kg·hm⁻²。SFZnO 为 SZnO 与 FZnO 的总和,其中 ZnO NPs 施肥用量参考文献[22]。FZn 处理用量为施 ZnSO₄·7H₂O 4.2 kg·hm⁻²,为地区最佳用量。在小麦拔节期和抽穗后期各喷施一次,喷施量均为 600 L·hm⁻²。所有处理在播前均施用 120 kg N·hm⁻² 的氮肥和 90 kg P₂O₅·hm⁻² 的磷肥,肥料分别为尿素和磷酸二铵。试验小区的面积为 9 m²(3 m×3 m),小麦品种为洛旱 6 号,播种量为 150 kg·hm⁻²,株行距 20 cm,每个处理采用完全随机区组设计,设置 4 个重复。

1.4 样品采集及测定方法

小麦成熟期,在每个小区内部随机收获两个 1 m² 样方的籽粒,烘干后测定籽粒产量和生物量。在每个小区随机选取 3 个 1 m 长样段,将小麦连根拔起后进行组织分离。组织器官分为茎、叶、穗(籽粒、颖壳)三部分,风干后称量记录数据,穗风干后脱粒,称量风干籽粒和颖壳并记录。称取一部分有代表性的茎、叶、颖壳、籽粒样品,分别测定其含水量并记录数据。在风干样中取有代表性的样品用蒸馏水清洗 3 次,在烘箱中烘干 48 h 以上。然后使用碳化钨球磨机(莱驰 MM 400,德国)磨碎,干燥密封保存。磨碎样品和标准面粉采用浓 HNO₃-H₂O₂ 微波消解(屹尧 WX-8000,中国),标准面粉 GBW10046(GSB-24)用于质量控制,平均回收率为 93%。利用石墨炉原子吸收分光光度法(日立 Z2000,日本)测定其微量元素含量。使用近红外分析仪测定小麦籽粒品质指标。使用扫描电子显微镜(SEM,日立 S-4800,日本)观测拔节期小麦叶片的微观结构。利用透射电子显微镜(TEM,JEOL 100CX,日本)观测 ZnO NPs 颗粒微观结构。使用马尔文激光粒度仪(Mastersizer 2000,英国)测定 ZnO NPs 颗粒水动力学尺寸。

1.5 数据处理

实验数据处理采用SPSS 19.0进行统计分析,采用LSD法进行多重比较,显著性差异为 $P<0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 ZnO NPs的不同施用方式对冬小麦产量构成因素及其籽粒品质的影响

锌是小麦机体酶的组成和蛋白质合成不可或缺的部分。生长过程中锌的主要来源是土壤有效锌,当土壤缺锌时,会抑制小麦正常生长。在本研究中,表2数据表明第一年的产量平均为 $7593\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,第二年产量平均为 $5541\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,两年之间的差异主要是由于第二年雨水严重不足,造成小麦减产。第一年的收获指数达到51%左右,第二年为40%左右,说明环境的变化对小麦的产品质量也产生了明显影响。在同一年不同的处理中,施用锌肥对小麦产量没有较显著的影响,说明本地区施用锌肥没有增加小麦产量。与前人报道结果基本一致。例如,李孟华等^[26]研究表明:在潜在缺锌地区土施 $50\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 和喷施 $4.8\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 硫酸锌的处理对产量无显著影响。根据韩金玲等^[27]的结果表明:旱地施用锌肥使小麦干物质累积量显著增多,但施锌肥过量,干物质累积量减少,各产量构成因素受锌影响较小,差异均未达显著水平。Du

等^[22]开展的土施ZnO NPs对小麦生长的微区试验表明,在农田土壤施用ZnO NPs不会造成生物量的差异。

在本研究中,两年的小麦籽粒的品质指标(谷蛋白、可溶性糖和淀粉)结果(表3)表明:各处理间无显著差异,淀粉、可溶性糖和谷蛋白含量没有因为产量变化产生差异,表明产量的变化对籽粒品质没有产生直接影响。张洁梅^[28]对黄淮平原区冬小麦扬花期和灌浆中期进行了喷施硫酸锌处理研究,结果表明:小麦籽粒可溶性糖含量提高 $0.21\sim 2.98\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,达到显著水平。张晓等^[13]的研究表明施用锌肥能明显提高籽粒中相应的微量元素含量,但对籽粒蛋白质含量影响均不显著。说明不同的地区、不同的施用方式及时间因素都可能对小麦籽粒品质因素构成影响,与本研究结果一致。ZnO NPs和硫酸锌的处理对籽粒品质指标的影响没有差异,表明ZnO NPs对小麦籽粒品质没有产生不良影响,证实了ZnO NPs在大田施用的可行性和安全性。

2.2 ZnO NPs的不同施用方式对冬小麦籽粒锌含量及累积量的影响

ZnO NPs不同施用方式对冬小麦籽粒锌含量及累积量有显著影响,两年度不同处理对籽粒锌含量的影响一致。表4的数据表明,第一年度里,FZn、

表2 ZnO NPs的不同施用方式对冬小麦产量、生物量和收获指数的影响

Table 2 Effects of different application methods of ZnO NPs on yield, biomass, and harvest index of winter wheat

处理 Treatment	1 st Season (2015—2016)			2 nd Season (2016—2017)		
	产量	生物量	收获指数	产量	生物量	收获指数
	Grain yield/kg·hm ⁻²	Biomass/kg·hm ⁻²	Harvest index/%	Grain yield/kg·hm ⁻²	Biomass/kg·hm ⁻²	Harvest index/%
CK	7881±216a	15 381±840a	51±1.4a	5411±279a	12 945±981a	42±2.1a
FZn	7820±692a	15 603±851a	50±1.7a	5157±485a	14 364±940a	36±2.3a
SZnO	7572±1187a	15 253±1598a	49±2.8a	5320±235a	13 149±1450a	41±6.1a
FZnO	7300±437a	14 897±1139a	49±1.4a	5061±288a	13 739±500a	37±3.2a
SFZnO	7392±878a	15 057±1487a	49±1.1a	5756±626a	13 938±1205a	41±2.1a

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。
Note: Different small letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

表3 ZnO NPs的不同施用方式对冬小麦籽粒品质的影响

Table 3 Effect of different application methods of ZnO NPs on grain quality of winter wheat

处理 Treatment	谷蛋白 Glutenin/mg·g ⁻¹		可溶性糖 Soluble suger/mg·g ⁻¹		淀粉 Starch/%	
	1 st Season	2 nd Season	1 st Season	2 nd Season	1 st Season	2 nd Season
CK	6.1±0.4a	6.1±0.2a	33.0±18.2a	39.1±13.6a	50.2±0.6a	49.0±0.7a
FZn	6.5±0.2a	6.5±0.6a	24.1±5.4a	37.5±10.9a	48.6±2.4a	49.2±1.2a
SZnO	6.1±0.5a	5.9±0.3a	20.2±3.1a	34.3±6.3a	49.5±0.9a	49.5±0.9a
FZnO	6.5±0.9a	6.3±0.6a	23.1±3.1a	38.7±3.5a	48.6±0.7a	48.7±0.7a
SFZnO	5.9±0.4a	6.4±0.5a	28.6±14.4a	33.1±6.1a	49.9±2.0a	49.6±0.9a

SZnO、FZnO 和 SFZnO 处理中小麦籽粒锌含量比 CK 分别提高了 10%、30%、50% 和 60%;第二年度里, FZn、SZnO、FZnO 和 SFZnO 处理中小麦籽粒锌含量比 CK 分别提高了 27%、40%、43% 和 58%。两年试验期间,不同处理对小麦籽粒增锌效果从大到小依次为: SFZnO>FZnO>SZnO>FZn。虽然各处理均具有一定的小麦籽粒增锌效果,但仍以 SFZnO 处理效果最为显著,是因为土喷结合兼具了土施和喷施的增锌效果。SFZnO 处理籽粒最高锌含量分别为: 30.2 mg·kg⁻¹ 和 36.9 mg·kg⁻¹,两年间锌含量存在差异,可能的原因是气候因素对大田试验影响较大,造成年际之间的产量形成较大差异。而籽粒中微量元素含量与产量之间具有稀释浓缩效应,从而造成锌含量之间的差异。因此,年际之间锌含量的对比不能体现锌肥的差异。FZnO 处理和 FZn 处理的籽粒锌含量对比,在第一年 FZnO 比 FZn 高 36%,第二年高 12%。两年间提高幅度受产量影响,但是 ZnO NPs 处理的籽粒锌含量显著高于硫酸锌处理。说明喷施相同量的不同锌肥,小麦籽粒对 ZnO NPs 的吸收效率显著高于硫酸锌^[29]。原因是 ZnO NPs 通过叶片组织进入植物体,同时较强的吸附性使得 ZnO NPs 长期吸附在叶片上作为锌库供锌。研究表明,纳米粒子的高效转移、吸收与纳米粒子的浓度、粒径、表面积、理化性质、表面涂敷和稀释剂有关^[30]。因为植物细胞被半透性细胞壁包裹,细胞壁孔径约为 2~20 nm,喷施在小麦叶片上较小的纳米粒子可以直接穿过细胞壁,被叶片细胞吸收^[31]。也有研究发现,纳米颗粒可以刺激植物细胞壁形成更大的孔隙,使得更多的纳米粒子进入细胞^[22]。

本研究中,第一年 FZnO 处理籽粒锌含量比 SZnO 处理高 15%,SFZnO 比 FZnO 高 6%,说明小麦籽粒中增加的锌主要来自于 FZnO。分析原因为土施锌肥在土壤环境中经过一系列反应,由植物根部吸收后,经地上部器官运输到籽粒中,吸收转运效率低。而喷施锌肥可直接由叶片吸收运输到籽粒中,效率较高。土施作为一种传统的施肥手段,其用量大,效率低的短板无法弥补。而喷施具有用量少、效率高、环境负荷小等优势。所以 FZnO 与 SZnO 相比,喷施是一种更为高效的增锌方式。喷施的 ZnO NPs 不仅有快速吸收的特性,还可以缓慢释放^[32]。Du 等^[22]土施 ZnO NPs,使得小麦组织中的锌含量增加,这表明 ZnO NPs 溶解,使 Zn²⁺进入细胞和组织,这与本研究 SZnO 处理的结果一致。Torabian 等^[33]研究表明叶面喷施 ZnO NPs 可极大提高向阳植物(向日葵)中的锌含量,Zhang

表 4 ZnO NPs 的不同施用方式对冬小麦籽粒锌含量及累积量的影响

Table 4 Effects of different application methods of ZnO NPs on grain Zn content and accumulation of winter wheat

处理 Treatment	1 st Season		2 nd Season	
	锌含量 Zn content/ mg·kg ⁻¹	锌累积量 Zn accumulation/ g·hm ⁻²	锌含量 Zn content/ mg·kg ⁻¹	锌累积量 Zn accumulation/ g·hm ⁻²
CK	19.0±1.5d	147.2±16.6c	23.3±0.9d	127.9±5.0d
FZn	20.9±1.8d	159.1±24.8c	29.7±0.2c	152.4±2.0c
SZnO	24.6±2.1c	184.1±14.5b	32.6±1.1b	171.2±6.2b
FZnO	28.4±0.8b	211.1±20.5a	33.2±1.7b	175.1±5.5b
SFZnO	30.2±0.7a	226.3±35.6a	36.9±2.3a	206.6±4.1a

等^[14]研究叶面喷施 ZnO NPs 使得小麦籽粒锌含量显著提高,通过 X 射线近边结构谱(XANES)的分析发现,70%~80% 的锌以磷锌化合物的形式存在于籽粒中,与本研究喷施 ZnO NPs 显著增锌结果一致。

籽粒锌累积量在两年度各处理中的含量顺序一致,但差异不同。第一年籽粒锌累积量在 FZn 与 CK 之间和 SFZnO 与 FZnO 之间差异不显著,但 SFZnO 和 FZnO 与其他处理差异显著。FZn、SZnO、FZnO 和 SFZnO 处理相比 CK 分别提高了 8%、25%、44% 和 54%。籽粒锌累积量在第二年度中各处理间的趋势与第一年类似,相比 CK 均有显著差异,FZn、SZnO、FZnO 和 SFZnO 相比 CK 分别提高了 19%、34%、37% 和 62%。研究结果与齐义涛等^[34]叶面喷施硫酸锌对小麦籽粒各部位锌累积量的影响结果一致。曹玉贤等^[11]和赵爱青^[35]研究均表明,潜在缺锌的石灰性土壤上,土施锌肥处理对小麦籽粒的增锌效应显著低于喷施处理。土施锌肥虽可大幅度提高耕层土壤有效锌含量,但对籽粒锌含量提升的影响较小。这与本研究中,喷施锌肥处理的小麦籽粒锌含量和锌累积量较高的结果一致。

2.3 ZnO NPs 的不同施用方式对冬小麦根、茎叶和颖壳锌含量及累积量的影响

表 5 表明,在第一年中,根的锌含量 FZn、SZnO、FZnO 和 SFZnO 对比 CK 分别高出 8%、60%、8% 和 114%;茎叶锌含量分别高出 94%、123%、1102% 和 1423%;颖壳各处理分别高出 65%、58%、413% 和 455%。第二年中,根的锌含量 FZn、SZnO、FZnO 和 SFZnO 对比 CK 分别高出 45%、135%、5% 和 190%;茎叶分别高出 570%、387%、1853%、2088%;颖壳分别高出 25%、53%、175% 和 180%。锌在根、茎叶和颖壳中的累积量趋势和锌含量趋于一致,均表现出含锌量

(锌含量或锌累积量)随着锌肥的施用而显著增加。小麦根的数据表明,无论喷施哪种锌肥,均不能较好地增加根中的锌含量,是因为喷施处理在地上部进行,吸收转移到地下效率极低。反观土施锌肥,ZnO NPs 较 FZn 和 CK 都形成显著差异。FZnO 和 SFZnO 处理与 FZn 处理地上部器官含锌量形成显著差异,但 SZnO 与 FZn 未形成显著差异,是因为土施容易造成锌肥钝化无法被作物吸收,而 FZn 低于 FZnO 则是因为吸附力差异受环境影响造成流失。说明土施可以取得一定的增锌效果,但远低于土喷结合和喷施处理的增锌效果,也说明各器官增加的锌主要来自 FZnO。

与 CK 相比,各处理均增加了小麦根、茎叶和颖壳锌累积量,在地上部器官中 FZnO 和 SFZnO 处理增加的幅度最高,茎叶的锌累积量达到数十倍的增幅。但在地下部的根中,锌累积量较之地上部器官取得了较小的增幅。分析原因可能是因为土壤环境较为复杂,对植物吸收利用锌肥产生影响,降低了根对锌肥的吸收效率。同时又因为叶面喷施 ZnO NPs 会导致较多的颗粒黏附在叶面上,从而极大地提高茎叶的含锌量,导致喷施和土喷结合处理的茎叶含锌量显著提高。陆欣春等^[36]的研究表明,在石灰性土壤中氮锌肥配施可增加小麦各部分的锌累积量。本试验在当地最佳施氮水平下,实现地上部器官锌累积量显著增加与其研究结果一致。FZnO 和 SFZnO 取得最显著效果,大幅度提高了茎叶和颖壳的锌含量和累积量。同时茎叶和颖壳上较高的锌含量也为更多的锌进入到植物体内创造了可能。

2.4 施用 ZnO NPs 对小麦叶片表面结构的影响及尺寸关系

图 2A 为 CK 的气孔,张永平等^[37]的研究表明,小麦叶片的气孔长约 $45\pm1\ \mu\text{m}$,宽约 $25\pm1\ \mu\text{m}$,这与图 2A 显示的结果一致。使用能谱仪对拔节期 FZn 和 FZnO 处理的叶尖进行元素扫描,通过图 2C、图 2D 可

以明显地看出,FZnO 一周后有少量附着,含量与 FZn 形成显著差异。

通过图 2A 可以确定,ZnO NPs 粒子($<100\ \text{nm}$)远小于小麦气孔的孔径($45\ \mu\text{m}\times 25\ \mu\text{m}$)^[37],观测结果表明:就尺寸对比而言,ZnO NPs 粒子作为自由态锌离子完全可以通过气孔进入到小麦叶片。汪洪等^[38]的研究表明锌在植物中存在的形式常为自由态离子、低分子量有机物配合态复合物、贮存金属蛋白以及与细胞壁结合的非溶形式,自由态锌离子的浓度一般较低,植物体中锌的运输需要通过载体蛋白进行跨膜运输。也有研究^[20]表明纳米粒子可以刺激植物叶片气孔细胞产生变化,通过胞吞形式吸收纳米颗粒。图 2B 为拔节期喷施 ZnO NPs 处理一周的小麦叶片气孔图。图中可清晰看到白色附着物,能谱仪扫描结果显示(图 2C):白色十字处锌含量显著高于硫酸锌处理(图 2D)同样位置的锌含量。FZn 处理的叶片气孔扫描图未发现附着物和较显著的结构变化,和 CK 气孔图无差异。但是目前在小麦大田试验中还没有相关报道证明 ZnO NPs 进入到小麦体内,对于 ZnO NPs 是否可以进入小麦体内和如何进入还需要进一步的测定,从而明确 ZnO NPs 的进入途径和机理,为确定纳米粒子对生物安全的影响提供理论依据。

3 结论

(1)在本试验中,施用 ZnO NPs 处理的小麦籽粒锌含量相比 CK 增量达到 60%,较硫酸锌处理也有显著提高,对于小麦产量和籽粒品质没有影响。证明 ZnO NPs 可以作为一种新型肥料应用于农业研究。

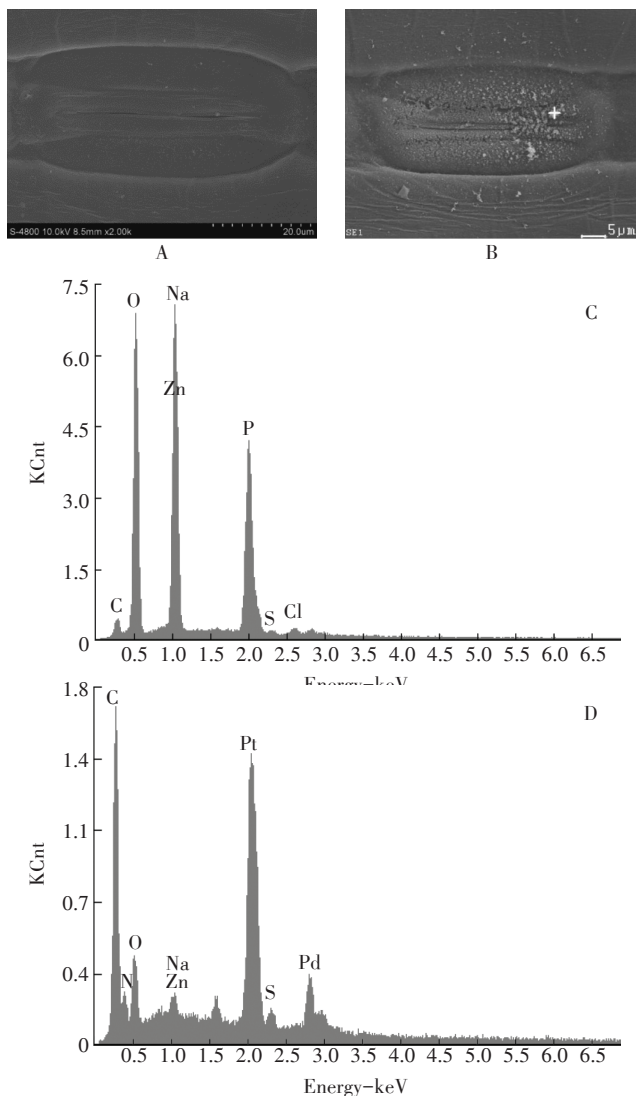
(2)比较不同施用方式发现,FZnO 比 SZnO 更容易被植物吸收利用。在籽粒和其他器官中,无论什么方式施用 ZnO NPs,都可以被植物体吸收转运,但是喷施比土施更容易被植物吸收利用。

(3)通过观察叶片微观结构,证实 ZnO NPs 颗粒

表 5 ZnO NPs 的不同施用方式对冬小麦根、茎叶和颖壳锌含量及累积量的影响

Table 5 Effects of different application methods of ZnO NPs on Zn content and accumulation in roots, stems, and glume of winter wheat

处理 Treatment	1 st Season						2 nd Season					
	锌含量 Zn content/(mg·kg ⁻¹)			锌累积量 Zn accumulation/(g·hm ⁻²)			锌含量 Zn content/(mg·kg ⁻¹)			锌累积量 Zn accumulation/(g·hm ⁻²)		
	根 Root	茎叶 Stem	颖壳 Glume	根 Root	茎叶 Stem	颖壳 Glume	根 Root	茎叶 Stem	颖壳 Glume	根 Root	茎叶 Stem	颖壳 Glume
CK	35.1±7.5c	3.8±1.3d	5.2±1.3d	26.2±5.6c	20.5±1.8e	10±3.7c	20.9±1.7c	1.7±0.4c	3.9±0.1d	16.7±1.5d	9.6±2.5d	8±1.0c
FZn	38.0±3.8c	7.3±1.4c	8.6±1.8c	24.7±2.5c	40.5±1.8d	30±4.0b	29.7±3.6b	11.2±2.1b	4.9±0.3c	22.7±1.6c	76.0±13.7b	13±2.5b
SZnO	56.6±6.6b	8.4±2.2c	8.2±0.6c	41.6±4.9b	48.5±2.1c	16±3.3c	46.9±9.1a	8.2±4.1b	5.9±0.3b	36.1±6.3b	44.1±14.6c	13±4.2b
FZnO	38.8±4.5c	45.1±3.6b	26.8±1.1b	26.2±3.1c	245.7±3.2b	56±3.0a	21.1±4.9c	32.8±5.8a	10.8±0.4a	16.5±0.2d	197.3±14.4a	26±0.2a
SFZnO	75.7±7.1a	58.1±1.6a	29.1±0.9a	52.6±5.0a	320.3±2.1a	55±4.0a	58.8±7.3a	36.7±4.4a	10.9±0.6a	42.7±6.7a	204.5±37.7a	27±5.3a



图A为对照组拔节期喷施后一周的叶片气孔扫描电子显微镜(SEM)扫描图($\times 2000$ 倍);图B为FZnO处理的能谱仪扫描图片;
图C为能谱仪对图B中白色十字位置的元素分析图;
图D为FZn与图B相似位置能谱仪元素谱图

Fig. A is a scanning electron microscope(SEM) scanning chart of the leaves of the control group after one week of spraying at the jointing stage($\times 2000$ times); Fig. B is a scanning of spectrometer picture for FZnO; Fig. C is an energy spectrometer for the white cross position in B the elemental analysis chart; Fig. D is used to FZn in the B spectrograph of the same position energy spectrometer

图2 施用ZnO NPs对小麦叶片结构的影响及尺寸关系

Figure 2 Effect of ZnO NPs on wheat leaf structure and size relationship

粒径远小于叶片气孔孔径,发现ZnO NPs颗粒可以附着在小麦叶片上,经过叶片的转化利用可以被植物叶片吸收。

参考文献:

[1] Prasad A S. Discovery of human zinc deficiency and studies in an ex-

perimental human model[J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1991, 53(2):403-412.

[2] Nriagu J. Zinc deficiency in human health[J]. *Encyclopedia of Environmental Health*, 2011:789-800.

[3] 庞全海,张莉,张春有,等.微量元素锌在动物健康及营养中的研究进展[J]. *动物医学进展*, 2002, 23(2):41-43.

PANG Quan-hai, ZHANG Li, ZHANG Chun-you, et al. Advances of the zinc research in the health and nutrition of animals[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2002, 23(2):41-43.

[4] Zhang Y, Song Q, Yan J, et al. Mineral element concentrations in grains of Chinese wheat cultivars[J]. *Euphytica*, 2010, 174(3):303-313.

[5] 傅兆麟,李明艳,郭孙黎,等.黄淮海区主要小麦种质资源锌含量测定报告[J]. *北京农业*, 2007, 29(27):1-4.

FU Zhao-lin, LI Ming-yan, GUO Sun-li, et al. The determining report of Zn content in seed for the main wheat idioplasm resources in Huang-huai wheat area[J]. *Beijing Agriculture*, 2007, 29(27):1-4.

[6] 张明艳,郁一凡,封超年,等.不同基因型小麦籽粒、面粉和麸皮中Ca和Zn含量的差异[J]. *麦类作物学报*, 2011, 31(2):52-57.

ZHANG Ming-yan, YU Yi-fan, FENG Chao-nian, et al. Differences of calcium and zinc contents among flour, grain and bran of different wheat varieties[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2011, 31(2):52-57.

[7] Cakmak I, Kalayci M, Kaya Y, et al. Biofortification and localization of zinc in wheat grain[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(16):9092-9102.

[8] Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification?[J]. *Plant & Soil*, 2008, 302(1/2):1-17.

[9] Howarth B, Rossm W. Biofortification: A sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south[J]. *Crop Science*, 2010, 50(Suppl 1):S20-S32.

[10] Yilmaz A, Ekiz H, Torun B, et al. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on zinc-deficient calcareous soils[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1997, 20(4/5):461-471.

[11] 曹玉贤,田霄鸿,杨习文,等.土施和喷施锌肥对冬小麦子粒锌含量及生物有效性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2010, 16(6):1394-1401.

CAO Yu-xian, TIAN Xiao-hong, YANG Xi-wen, et al. Effects of soil and foliar applications of Zn on winter wheat grain Zn concentration and bioavailability[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2010, 16(6):1394-1401.

[12] 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.

[13] 张晓,卜冬宁,李瑞奇,等.叶面喷施微肥对冬小麦产量和品质的影响[J]. *麦类作物学报*, 2012, 32(4):747-749.

ZHANG Xiao, BO Dong-ning, LI Rui-qi, et al. Effects of foliar spraying microelement fertilizers on yield and quality of winter wheat[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2012, 32(4):747-749.

[14] Zhang T, Sun H, Lv Z, et al. Using synchrotron-based approaches to examine the foliar application of ZnSO₄ and ZnO nanoparticles for

- field-grown winter wheat[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2017, 66(11):2572-2579.
- [15] 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]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2016, 22(3):579-589.
- [16] Reddy Pullagurala V L, Adisa I O, Rawat S, et al. Finding the conditions for the beneficial use of ZnO nanoparticles towards plants: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 241:1175-1181.
- [17] Hussain H I, Yi Z, Rookes J E, et al. Mesoporous silica nanoparticles as a biomolecule delivery vehicle in plants[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2013, 15(6):1676-1691.
- [18] Slomberg D L, Schoenfisch M H. Silica nanoparticle phytotoxicity to *Arabidopsis thaliana*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(18):10247-10254.
- [19] Wang P, Lombi E, Sun S, et al. Characterizing the uptake, accumulation and toxicity of silver sulfide nanoparticles in plants[J]. *Environmental Science Nano*, 2017, 4(2):448-460.
- [20] Wang P, Lombi E, Zhao F J, et al. Nanotechnology: A new opportunity in plant sciences[J]. *Trends in Plant Science*, 2016, 21(8):699-712.
- [21] Zhao L, Sun Y, Hernandez-Viezcas J A, et al. Monitoring the environmental effects of CeO₂ and ZnO nanoparticles through the life cycle of corn (*Zea mays*) plants and in situ Mu-XRF mapping of nutrients in kernels[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(5):2921-2928.
- [22] Du W C, Sun Y Y, Ji R, et al. TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13(4):822-828.
- [23] 王振红, 罗专溪, 颜昌雷, 等. 纳米氧化锌对绿豆芽生长的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(4):619-624.
- WANG Zhen-hong, LUO Zhuan-xi, YAN Chang-zhou, et al. Effects of Nano-ZnO particles on the growth of green bean sprouts[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(4):619-624.
- [24] Spielmanns E, Lombi E, Donner E, et al. Impact of surface charge on cerium oxide nanoparticle uptake and translocation by wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(13):7361-7368.
- [25] Watson J L, Fang T, Dimkpa C O, et al. The phytotoxicity of ZnO nanoparticles on wheat varies with soil properties[J]. *Biometals*, 2015, 28(1):101-112.
- [26] 李孟华, 王朝辉, 王建伟, 等. 低锌旱地施锌方式对小麦产量和锌利用的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2013(6):1346-1355.
- LI Meng-hua, WANG Zhao-hui, WANG Jian-wei, et al. Effect of Zn application methods on wheat grain yield and Zn utilization in Zn-deficient soils of dryland[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2013(6):1346-1355.
- [27] 韩金玲, 杨 晴, 周印富, 等. 旱地施用锌肥对冬小麦干物质积累和产量的影响[J]. *麦类作物学报*, 2010, 30(2):358-361.
- HAN Jin-ling, YANG Qing, ZHOU Yin-fu, et al. Effect of zinc fertilizer on the accumulation of dry matter and yield of winter wheat in dryland[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30(2):358-361.
- [28] 张洁梅. 喷施锌肥对小麦不同穗位籽粒锌的积累及品质的影响[D]. 郑州:河南农业大学, 2014.
- ZHANG Jie-mei. Effects of foliar zinc application on zinc accumulation and quality of grain in different ear parts in wheat[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2014.
- [29] Yang J, Cao W, Rui Y. Interactions between nanoparticles and plants: Phytotoxicity and defense mechanisms[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2017, 12(1):158-169.
- [30] Handy R, Owen R J E. The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: Current status, knowledge gaps, challenges, and future needs[J]. *Ecotoxicology*, 2008, 17(5):315-325.
- [31] Singh A, Singh N B, Afzal S, et al. Zinc oxide nanoparticles: A review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants[J]. *Journal of Materials Science*, 2018, 53(1):185-201.
- [32] Liu R, Lal R. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 514:131-139.
- [33] Torabian S, Zahedi M, Khoshgoftar A H. Effects of foliar spray of two kinds of zinc oxide on the growth and ion concentration of sunflower cultivars under salt stress[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2015, 39(2):172-180.
- [34] 齐义涛, 张 庆, 周三妮, 等. 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[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(4):675-680.
- QI Yi-tao, ZHANG Qing, ZHOU San-ni, et al. The effect of foliar Zn application at grain filling stage on Zn content in grain fractions of winter wheat Yangmai 16 and Yangfumai 2[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(4):675-680.
- [35] 赵爱青. 潜在性缺锌土壤上不同施锌方式对提高小麦籽粒锌营养品质的影响研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2011.
- ZHAO Ai-qing. Effects of different zinc application methods on improving zinc nutrition quality of wheat grains in potential zinc deficit soils[D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2011.
- [36] 陆欣春, 田霄鸿, 杨习文, 等. 氮锌配施对不同冬小麦品种产量及锌营养的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2010, 18(5):923-928.
- LU Xin-chun, TIAN Xiao-hong, YANG Xi-wen, et al. Effect of combination use of Zn and N fertilizers on yield and Zn content in winter wheat[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(5):923-928.
- [37] 张永平, 王志敏, 吴永成, 等. 不同供水条件下小麦不同绿色器官的气孔特性研究[J]. *作物学报* 2006, 32(1):70-75.
- ZHANG Yong-ping, WANG Zhi-min, WU Yong-cheng, et al. Stomatal characteristics of different green organs in wheat under different irrigation regimes[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(1):70-75.
- [38] 汪 洪, 金继运. 植物对锌吸收运输及积累的生理与分子机制[J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(1):225-235.
- WANG Hong, JIN Ji-yun. The physiological and molecular mechanisms of zinc uptake, transport, and hyperaccumulation in plants: A review[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15(1):225-235.