

大蒜锌生物营养强化效应评估

潘斐¹, 王张民¹, 刘琦¹, 袁林喜^{1,2,3}, 尹雪斌^{1,2,3}

(1. 中国科学技术大学地球和空间科学学院, 安徽合肥 230026;

2. 中国科学技术大学苏州研究院功能农业支撑实验室, 江苏苏州 215123;

3. 中国科学技术大学先进技术研究院功能农业工程中心联合实验室, 安徽合肥 230088)

摘要:通过田间试验,以基肥形式土施锌肥,设置5个锌处理组和一个对照组,对不同生育时期大蒜的各宜食器官锌含量和赋存形态进行了分析,同时对鳞茎锌的生物有效性进行了初步评估。结果表明,施锌可显著提高蒜叶、蒜薹和鳞茎的锌质量分数,分别可提高至93.5、71.8和96.4 mg/kg(干重);施锌可使其不同器官中锌形态的组成特征发生改变,具体表现为蒜叶、蒜薹以及鳞茎中游离态锌比例得到提高,而水溶性蛋白锌和复合态锌比例下降,蒜叶以及蒜薹盐溶态锌和碱溶态锌比例提高,而鳞茎相反。在人工胃肠模拟试验中,锌强化后鳞茎的锌溶出度相比对照组提高68%,当模拟与大米共同进食时,锌溶出度相比提高2.6倍,表明其锌营养品质得到显著改善。

关键词:蒜; 锌生物营养强化; 赋存状态; 营养品质

中图分类号:S143.7; Q946.91 **文献标识码:**A doi:10.3969/j.issn.0253-2778.2015.11.012

引用格式: Pan Fei, Wang Zhangmin, Liu Qi, et al. Effect evaluation of Zn bio-fortification on garlic[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2015,45(11):953-959.

潘斐,王张民,刘琦,等. 大蒜锌生物营养强化效应评估[J]. 中国科学技术大学学报,2015,45(11):953-959.

Effect evaluation of Zn bio-fortification on garlic

PAN Fei¹, WANG Zhangmin¹, LIU Qi¹, YUAN Linxi^{1,2,3}, YIN Xuebin^{1,2,3}

(1. School of Earth and Space Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

2. Advanced Lab for Functional Agriculture, Suzhou Institute of USTC, Suzhou 215123, China;

3. Joint Lab for Functional Agriculture Engineering Centre, Institute of Advanced Technology,

University of Science and Technology of China, Hefei 230088, China)

Abstract: A field experiment was conducted to evaluate the effect of zinc (Zn) fertilization on Zn accumulation in garlic plants. The experiment was designed as five zinc treatment groups and one control, and Zn was added as base fertilizer. The results showed that the Zn mass fractions in garlic leaves, young garlic shoots and the bulbs were significantly increased up to 93.5, 71.8 and 96.4 mg/kg (dry weight) respectively. The Zn forms in different edible garlic organs all changed after the addition of Zn fertilizers. Furthermore, the proportions of free Zn ions were improved in garlic leaves, young garlic shoots and bulbs

收稿日期:2015-08-31;修回日期:2015-11-03

基金项目:国家青年自然科学基金(NNSFC31400091),江苏省青年自然科学基金(BK2012195、BK2012202),苏州市应用基础研究(农业)(SYN201306)资助。

作者简介:潘斐,男,1989年生,硕士生。研究方向:生物营养强化。E-mail:ajfei@mail.ustc.edu.cn

通讯作者:尹雪斌,博士/副教授。E-mail:xybin@ustc.edu.cn

with the increase of Zn levels, while the proportions of water-extractable Zn and residual Zn decreased. However, the proportion of salt- and alkali-extractable Zn increased in garlic leaves and young garlic shoots, but decreased in the bulbs. The *in vitro* simulation of gastrointestinal digestion showed that the Zn dissolution rate in Zn-fortified bulbs increased by 68% compared to the control. When mixing together with rice, the Zn dissolution rate of garlic bulbs increased by 2.6 times, which indicates that the nutritional quality of Zn improved significantly via bio-fortification.

Key words: garlic; Zn bio-fortification; occurrence state; nutritional quality

0 引言

锌为人体必需的微量元素之一,被近代医学界、营养学界喻为人类的“生命之花”、“智慧元素”^[1],它重要的营养作用正引起人们的日益重视。目前,世界范围内人体锌缺乏现象十分普遍,据统计全球约有三分之一人口处于锌缺乏状况,面临着由缺锌引起的各类营养失衡及疾病的威胁,在以植物性膳食结构为主的国家和地区尤为突出^[2-3]。我国居民的饮食结构是典型的植物性食物为主的膳食结构,作物体内锌含量与土壤锌含量特别是土壤有效锌含量密切相关,而我国约 40% 的土壤缺锌,尤其是我国北方及长江中下游平原的石灰性土壤地带问题更为突出^[4],这导致我国居民整体面临严峻的锌营养缺乏现状。

目前,育种措施、基因工程和农艺措施等三种锌强化途径被广泛用来缓解锌营养缺乏问题。然而由于土壤因素、遗传因素和环境因素三者的互相作用限制了育种措施的广泛应用,转基因食品不被消费者接受和食物安全性未被证实,也限制了它的大范围推广应用^[5-7]。因此,作为农艺措施的锌生物营养强化方法具有不需要改变人群膳食结构的特点,被认为是最有前景的途径之一^[8]。国际作物营养强化计划——锌强化计划,已在世界多个地区开展^[9]。

蒜是百合科葱属植物,是我国传统蔬菜和优势园艺作物,栽培面积和产量均居世界第一^[10]。蒜全株可食,蒜苗、蒜薹和鳞茎都是常用的美味食品,且富含微量营养素,对保持机体健康有积极作用,低水平施锌对蒜的营养品质有促进作用^[11]。大蒜对锌有很好的耐受性,能够在较高锌环境中正常生长^[12]。探索锌添加量从较低水平到高水平条件下大蒜对锌的应答情况,对评估大蒜锌富集效果和耐锌能力有着十分重要的意义。

本研究以蒜为锌生物营养强化的载体,拟通过

田间试验和观测施锌肥后锌在蒜的不同生长时期的累积特征,并进行人工模拟胃肠消化试验来初步评价蒜鳞茎的锌营养品质,从而为蒜的锌生物营养强化产业化应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

研究在江苏省如皋市丁堰镇的成熟耕作农田上实施,该地块长期种植当季蔬菜。如皋市(32°~32°30'N,120°~120°50'E)地处江苏省中部东侧,位于长江三角洲北翼,属亚热带湿润气候,四季分明、气候温和、雨水充沛,年均气温为 15.1℃,年均降水量 1074 mm。试验区土壤基本理化性质采用常规方法进行,土壤 pH 为 7.5,有机质质量分数为 16.1 g·kg⁻¹,有效磷质量分数为 14.9 mg·kg⁻¹,速效钾质量分数为 81.2 mg·kg⁻¹,全锌质量分数为 63.1 mg·kg⁻¹,有效锌质量分数为 0.9 mg·kg⁻¹。

1.2 试验材料和方法

试验采用田间微区试验,供试品种为如皋本地大蒜(*Allium sativum* L.)。试验方案处理数为 6 个,即试验设计中 ZnSO₄·7H₂O 的施用量(以纯 Zn 计)分别为 0,30,60,120,180,240 kg·hm⁻²,分别记为 Zn0(CK),Zn 1,Zn 2,Zn 3,Zn 4,Zn 5,除锌处理外所有栽培条件一致,每个处理设 3 次重复。每小区试验面积为 5 m²。于 2014 年 3 月 3 日播种,5 月 1 日采集蒜叶,5 月 22 日采集蒜薹,6 月 12 日采集鳞茎。采样时每个组随机采 10 份,组成一个混样,鲜样用去离子水反复冲洗,烘箱 110℃ 杀青,60℃ 烘 24 h 至恒重,用不锈钢粉碎机粉碎,装袋密封。

1.3 检测指标和方法

1.3.1 锌含量

采用 HNO₃:HClO₄ 体积比为 4:1 的混酸—电热板消解完全,定容后用原子吸收光谱仪(PE Analyst 700)进行测定^[13]。样品检测过程以植物标

样 GBW07603(GSV-2)进行质量控制,相对标准偏差均小于 5%。

1.3.2 锌赋存状态

不同赋存状态的锌采用经典的植物生化分离方法分离^[14],分离步骤如下:

(I) 准确称取样品 1.000 g,置于 50 mL 小烧杯,加入 15 mL 18.2 MΩ 超纯水,磁力搅拌器搅拌 15 min,然后转移到 45 mL 离心管,离心转速 5 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,倾出上清液,重复两次搅拌分离操作;

(II) 将步骤(I)的上清液合并于 45 mL 离心管,用浓硫酸调 pH=2,加入适量饱和(NH₄)₂SO₄溶液,离心转速 5 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,上清液中锌为游离态锌,残渣中的锌为水溶态蛋白锌;

(III) 将步骤(II)的残渣以同样的方法用质量分数 10% 的 NaCl 溶液萃取,上清液中的锌为盐溶态锌;

(IV) 将步骤(III)的残渣以同样的方法用质量分数 0.2% 的 NaOH 溶液萃取,上清液中的锌为碱溶态锌,残渣中的锌为复合态锌。

各赋存状态的锌含量检测方法同节 1.3.1。

1.3.3 锌的生物有效性

鳞茎锌的生物有效性采用静态胃肠模型(SHIME 法,略作调整)^[15]评估,使用 RC-8 型药物溶出仪来模拟,相关实验参数见表 1。

表 1 溶出度测试仪工作参数

Tab. 1 Parameters of dissolution tester

温度/℃	固液质量比	pH(模拟胃液)	转子转速/(r · min ⁻¹)
37.0	20:1	2.0	200

根据不同食物在肠胃滞留的时间选取胃阶段为 2 h、肠阶段为 4 h,模拟胃溶液成分为 5 g · L⁻¹ KHCO₃ + 3 g · L⁻¹ NaCl + 1 g · L⁻¹ 胃蛋白酶,模拟肠溶液成分为 12.5 g · L⁻¹ NaHCO₃ + 6 g · L⁻¹ 胆盐 + 0.9 g · L⁻¹ 胰蛋白酶。

模拟实验共 3 大组 6 小组,其中第 1 组是对照组,为试剂空白;第 2 组分别称取样品 CK, Zn 4 组鳞茎 6.0 g;第 3 组分别称取 CK 组鳞茎 1.0 g + 大米 5.0 g, Zn4 组鳞茎 1.0 g + 大米 5.0 g, 大米 6.0 g。取实验最终样 15 mL, 8 000 r · min⁻¹ 离心 15 min,取上清液,过 0.45 μm 滤膜,取滤液消解后进行锌含量检测。

检测方法同节 1.3.1。

1.4 数据分析

各赋存状态的锌组成比例 = 该赋存状态的锌含量 / 总锌含量 × 100%;

锌的生物有效性 = 锌的析出量 / 锌总量 × 100%;

数据结果进行了平均值和标准差统计,统计结果和作图通过 Excel 2013 获得。

2 结果和讨论

2.1 大蒜植株锌含量特征

植物不同组织中矿质元素含量受到基因型和外界环境的共同作用,对同一种植物而言,外界环境的改变会导致矿质元素含量发生改变。在本研究中,以基肥的形式施用锌肥,大蒜不同组织在宜食时期的锌含量特征如图 1 所示。对照组锌含量由高到低依次为:蒜薹 > 鳞茎 > 蒜叶。试验组各组织锌含量明显高于对照组,其中蒜薹和蒜叶的锌含量变化趋势类似,呈单峰变化趋势,都在 Zn 4(以纯锌计 180 kg · hm⁻²)时达到最高值 71.8 mg · kg⁻¹ 和 77.0 mg · kg⁻¹,分别是对照组的 2.4 倍和 3.8 倍,且未观测到毒害的现象;当施锌量增加,达到 Zn 5(以纯锌计 240 kg · hm⁻²)时,大蒜植株出现了一定的毒害现象,同时蒜薹和蒜叶锌含量下降,鳞茎锌含量也具有类似的变化趋势,但是在 Zn 2(以纯锌计 60 kg · hm⁻²)时锌含量下降,其锌含量显著低于 Zn 1(以纯锌计 30 kg · hm⁻²)和 Zn 3(以纯锌计 90 kg · hm⁻²)组,植株均未出现毒害现象。

由图 1(a)和(b)可知,施肥量低于 Zn 4 时蒜叶和蒜薹锌含量与施锌量呈明显的正相关关系,表明施锌后土壤中锌浓度增加有利于大蒜根系对锌的吸收,锌在吸收后不断被转运至蒜叶和蒜薹中;当施锌量达到 Zn 5 时,蒜叶和蒜薹的锌含量明显下降,同时观测到该组蒜的生长情况相比其他组普遍偏弱,这表明 Zn 5 的锌水平过高,施锌后土壤的锌浓度高于大蒜对锌的耐受值,大蒜的生长受到了锌的抑制,锌的吸收也受到了影响。图 1(c)所示是大蒜鳞茎锌含量变化,由于 Zn 2 组锌含量显著下降,因此出现了 2 个极大值。由于在该组未观测到任何锌对植株的毒害作用,因此可能是由于在 Zn 1, Zn 2 和 Zn 3 时, Zn 2 鳞茎的生物量达到了极值(通过肉眼评估),而 3 组的锌累积量差异不大,导致了该现象的产生。施锌量增加至 Zn 4 时,锌含量达到最大值;当施锌量达到 Zn 5 时,鳞茎的锌含量相比 Zn 4 显著

下降,同图 1(a)和(b)一致。

大蒜各组织对不同施锌量的反应表明,大蒜自身可能存在一定的调控机制,当土壤中锌浓度过高时抑制根系对锌的吸收,从而减少自身受到高锌胁迫的毒害. 沈志锦等^[16]的研究表明,低水平的锌摄入可以提高叶绿素的含量,加强光合作用,促进植物的生长;而锌水平过高时,则会干扰叶绿素的合成,抑制光合作用,不利于植物的生长. 以上结果表明,蒜对锌的吸收存在着低浓度促进、高浓度抑制的现象,这与前人的研究是一致的^[17-19].

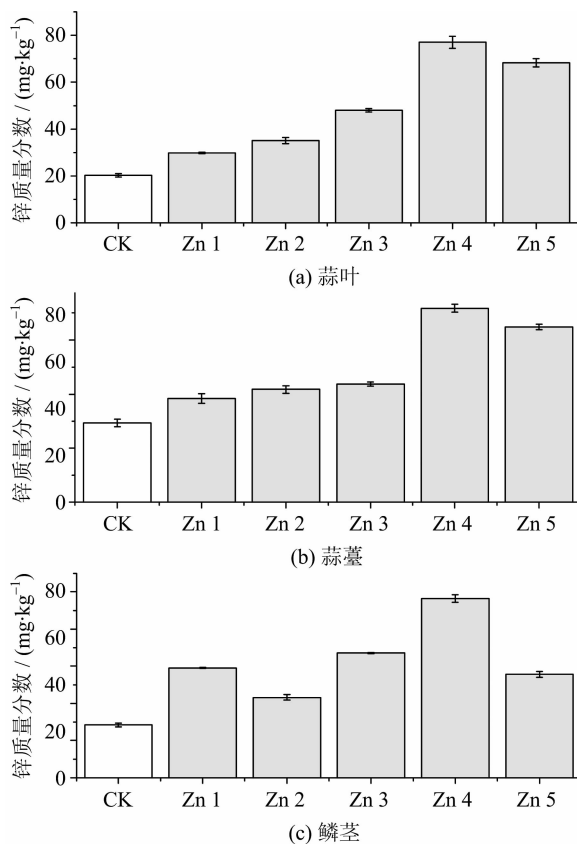


图 1 施锌对蒜不同组织锌含量的影响
Fig. 1 Zinc concentrations in garlic tissues at different Zn fertilization levels

2.2 大蒜植株各组织锌赋存形态特征

锌是植物生长过程中不可缺少的微量元素,它是植物体内许多合成酶的组成成分,能有效地促进光合作用,参与生长素与蛋白质的合成^[20]. 锌跟镁、钙、锰等元素不一样,在植物体内无化合价的变化,大多数锌是以低分子化合物、金属蛋白和自由离子形式存在,也有少部分锌和细胞壁结合形成不溶的形态^[21],植物中 58%~91%的锌是可溶的^[22]. 作为一种必需的微量元素,锌在大蒜体内以不同的赋存

状态储存. 施锌会使大蒜根际土壤的有效锌浓度上升,锌的吸收量也会有明显的上升. 锌离子被根系吸收之后,根据生长需要或者受到其他因素的影响,蒜会对吸收的锌进行再次的配送,以满足生理功能的需要. 由上文可知,施锌后大蒜各组织的锌含量会增加. 本研究为探索在被大蒜植株吸收之后,在远高于植株正常锌水平情况下大蒜的锌赋存形态特征和蒜不同组织在相同锌作用下的反应是否一致,根据前人的思路^[14],将大蒜植株的锌根据不同的萃取溶液分为 5 种不同的赋存形态,分别是游离态锌、水溶态蛋白锌、盐溶态锌、碱溶态锌和复合态锌.

由图 2 可知,在未施锌肥时,大蒜不同组织的锌赋存状态有一定的差异,其中蒜叶中占比最多的是游离态锌和复合态锌,其质量分数分别约为 50%和 20%,水溶态蛋白锌、盐溶态锌和碱溶态锌分别占 9%,13%,8%;蒜薹中占比最多的是游离态锌和盐溶态锌,分别占约 52%和 31%,水溶态蛋白锌、复合态锌分别占约 9%,8%,碱溶态锌未检出;鳞茎中占比最多的是游离态锌,占约 76%,水溶态蛋白锌、盐溶态锌、碱溶态锌和复合态锌分别占约 7%,8%,2%和 7%. 同一植株的不同组织含锌量不同^[20],并且图 2 表明在不同的组织中锌的赋存方式有显著的区别,这可能反映了不同的组织具有不同的结构和功能,锌在不同的组织起到不一样的作用.

Zn 4 处理组大蒜各组织不仅锌含量相对显著提高,其锌赋存状态也发生了显著变化. 由图 2(a)可知,蒜叶 Zn 4 锌含量相对 CK 提高约 2.8 倍,其中游离态锌几乎与锌总量同比例增加;而水溶性蛋白锌和复合态锌含量虽然也有明显提升(相对提高了 70%和 170%),但是低于锌总量的提高幅度,故该赋存状态的占比下降,分别由 9%和 21%降至 4%和 16%;盐溶态锌(提高 4.1 倍)和碱溶态锌(提高 3.9 倍)的组成比例显著提高,分别由 13%和 8%增至 19%和 10%. 由图 2(b)可知,蒜薹 Zn 4 锌含量相对 CK 提高了约 1.4 倍,其中游离态锌所占的比例提高到约 60%;水溶性蛋白锌含量几乎不变;盐溶态锌含量提高 100%,但由于低于锌总量的提高,故其赋存状态的占比下降,由 31%降至 24%;复合态锌(提高 180%)所占百分比由 8%增至 10%;而在对照组未检出的碱溶态锌,随总锌含量的提高也有了显著的提高,组成比例达到了 0.8%. 由图 2(c)

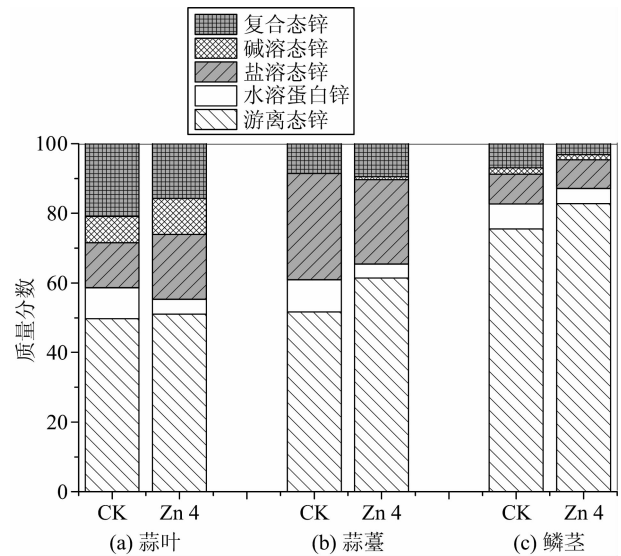
可知,鳞茎 Zn 4 锌含量相对 CK 提高了约 2.4 倍,其中游离态锌所占的百分比由 76% 增至 83%;碱溶态锌和盐溶态锌的组成比例基本不变;而水溶性蛋白锌和复合态锌所占的百分比由 7% 分别降至 4% 和 3%。由图 2 可知,随着锌含量的增加,Zn 4 组相对 CK 组大蒜各组织的各赋存状态的锌含量都有增长,但是 Zn 4 组植株多吸收的锌在体内再分配时并非按照原来的组成比例分配,导致了不同锌赋存形态特征发生了显著改变。施锌后植株吸收的锌再分配时,以区别原本的锌赋存形态特征的比重进行分配,在蒜叶中更多的锌分配在盐溶态和碱溶态中,而水溶态蛋白锌和复合态锌比重减小;在蒜薹中更多的锌分配在游离态中,而水溶态蛋白锌和盐溶态锌比重减小;在鳞茎中更多的锌分配在游离态中,而水溶态蛋白锌和复合态锌比重减小。

锌可以影响植物蛋白质和碳水化合物的代谢,改变体内游离态氨基酸、多糖和蛋白质的含量^[11, 21],且高锌摄入会导致茎叶的纤维化^[19]。蒜叶复合态锌相比蒜薹和鳞茎都有明显的增加,这可能是由于蒜叶中丰富的纤维导致的;而鳞茎中相对蒜薹和蒜叶大量的游离态锌,可能是由于鳞茎细胞中存在大量的液泡。大蒜不同组织含有的营养物质有较大差异,而不同营养物质对锌的要求量不同^[11],这可能对造成图 2 所示现象有一定的影响,但是该现象发生的具体机理目前并没有定论。

2.3 蒜鳞茎锌的生物有效性特征

本研究利用人工胃肠模拟实验来对鳞茎锌的生物有效性进行评估,用锌的溶出度来表征锌的生物有效性。由图 3 可知,模拟实验中 Zn 4 组鳞茎的锌相对 CK 更加容易溶出,锌的溶出度是其 1.7 倍,表明 Zn 4 组鳞茎具有更好的生物有效性。

锌的生物有效性受到很多因素的影响,如锌的赋存形态、pH 值、磷以及植酸等。大米中的锌生物有效性非常低,其最大的影响因素是植酸^[23-24]。在实际饮食中,食物锌的溶出度受到很多因素影响,其中主粮是一个重要的影响因子。修正模拟实验贴近实际饮食情况。本研究添加两组混合样,即大米加上鳞茎组成混合样(糙米的锌含量为 $25.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),由于实际进食中鳞茎和小米质量存在巨大的差异,模拟实验建立一个大概的模型(即大米鳞茎质量比为 5:1)进行锌的生物有效性的初步评估。由图 3 可知,混合样的溶出度相比单一的鳞茎有了显著下降,虚线部分是理论上大米和鳞茎混合样在实



注:蒜叶、蒜薹和鳞茎的取样时间不同,其锌含量也不同,蒜叶 CK, Zn 4 和蒜薹 CK, Zn 4 和鳞茎 CK, Zn 4 的锌质量分数分别为 $20.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $77.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $29.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $71.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $28.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $96.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

图 2 施锌对蒜的锌赋存状态的影响

Fig. 2 Zn fractions in garlic tissues between control group and Zn 4 fortified group

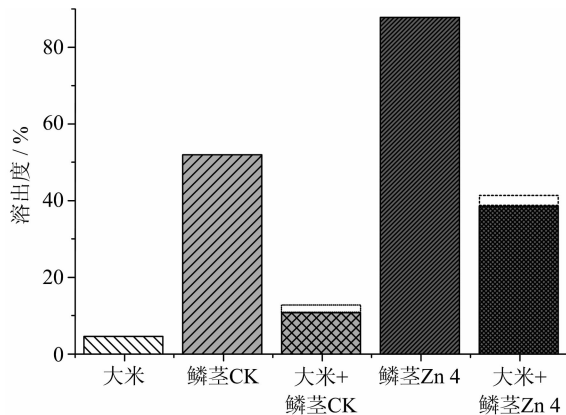
验中仅发生机械混合时的溶出度,可以得出结果,混合样的实际溶出度都低于理论值,表明混合后鳞茎中锌的溶出受到了抑制,这极可能是大米的植酸干扰了鳞茎锌的溶出。在混合溶出组中,鳞茎 CK+大米的锌溶出度下降更加明显,鳞茎 Zn 4+大米的锌溶出度相对高出 2.6 倍。这表明在实际饮食中,考虑其他食物中干扰锌吸收因子存在的情况下,锌营养强化后的鳞茎在拮抗其他影响锌吸收的因子时表现更优异,具有更加优良的锌营养价值。

3 结论

本研究采用大田试验的方式,通过土施锌肥,实现了大蒜的锌生物营养强化,并对大蒜各组织锌的含量、赋存状态和生物有效性进行了分析,结论如下:

(I) 蒜的锌生物营养强化可以提高其锌含量,蒜植株不同组织的锌含量增长有差异,且当土壤原本不缺锌时也会有效果。施锌量过高时,植株的生长会受到抑制,各组织的锌含量会出现大幅度下降。

(II) 未施锌肥时蒜不同组织的锌赋存形态特征并不一致,施锌后各组织的锌赋存状态会发生改变,由于各组织有不同的生理功能和物质构成,各组



注:图中虚线是指理论上大米和鳞茎各自的溶出度不变且互不干扰,机械混合时的溶出度

图 3 胃肠模拟实验中食物锌溶出度

Fig. 3 The dissolution rate of Zn in Zn-biofortified garlic via *in vitro* simulation of gastrointestinal digestion

织的下降和增加的锌赋存形态也不一致。

(Ⅲ) 锌生物营养强化可以提高鳞茎的锌营养品质。体外胃肠模拟实验表明,在单独溶出和混合溶出时,强化后鳞茎相比对照组的锌营养品质得到改善,混合溶出的结果显示强化后鳞茎的锌营养品质更加优良。

参考文献 (References)

- [1] Zhang Li. Trace element zinc and human body health discussion [J]. The Medicine Leads the Publication, 2008, 5: 105-106.
张黎. 微量元素锌与人体健康探讨[J]. 医学导刊, 2008, 5: 105-106.
- [2] Cakmak I, Kalayci M, Ekiz H, et al. Zinc deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: A NATO — science for stability project[J]. Field Crops Research, 1999, 60(1/2): 175-188.
- [3] Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? [J]. Plant and Soil, 2008, 302(1):1-17.
- [4] Liu Zheng. Regularities of content and distribution of zinc in soils of China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1994, 27(1):30-37.
刘铮. 我国土壤中锌含量的分布规律[J]. 中国农业科学, 1994, 27(1): 30-37.
- [5] Cakmak I. Enrichment of fertilizers with zinc: An excellent investment for humanity and crop production in India [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2009, 23(4): 281-289.
- [6] Falk M C, Chassy B M, Harlander S K, et al. Food biotechnology: Benefits and concerns [J]. The Journal of Nutrition, 2002, 132(6): 1 384-1 390.
- [7] Joshi A, Crossa J, Arun B, et al. Genotype environment interaction for zinc and iron concentration of wheat grain in eastern Gangetic plains of India[J]. Field Crops Research, 2010, 116(3):268-277.
- [8] White P J, Broadley M R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine [J]. New Phytologist, 2009, 82(1): 49-84.
- [9] Cakmak I. Harvest plus zinc fertilizer project: Harvest zinc [J]. Better Crops, 2012: 17-19.
- [10] Zhou Yanli, Cheng Zhihui, Meng Huanwen, et al. Allelopathy of garlic root aqueous extracts and root exudates [J]. Journal of Northwest A & F University, 2007, 35(10): 87-92.
周艳丽, 程智慧, 孟焕文, 等. 大蒜根系水浸液及根系分泌物的化感作用评价[J]. 西北农林科技大学学报, 2007, 35(10): 87-92.
- [11] Yang Fengjuan, Liu Shiqi, Wang Xiufeng, et al. The effect of physiological-biochemical indexes and nutrition quality of garlic [J]. Soil Fertilizer Science, 2005, 1: 35-39.
杨凤娟, 刘世琦, 王秀峰, 等. 锌对大蒜生理生化指标及营养品质的影响[J]. 土壤肥料, 2005, 1: 35-39.
- [12] Zhao Fengyun. The toxiction of Zn and Pb on the root in the bulb of allium L[J]. Henan Science, 1999, 17: 116-120.
赵风云. 铅锌对蒜根尖的毒害作用[J]. 河南科学, 1999, 17: 116-120.
- [13] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社. 2000.
- [14] Wang Weiwei, Xu Ruixing, Yan Shulian, et al. Analysis of zinc combined with protein in zinc-enriched soybean protein [J]. Science and Technology of Food Industry, 2002, 23(2): 96-99.
王威威, 徐瑞兴, 闫淑莲, 等. 富锌豆蛋白中锌结合态含量的研究[J]. 食品加工, 2002, 23(2): 96-99.
- [15] Laird B D, Van de Wiele T R, Corriveau M C, et al. Gastrointestinal microbes increase arsenic bioaccessibility of ingested mine tailings using the simulator of the human intestinal microbial ecosystem [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(15):5 542-5 547.
- [16] Shen Zhijing, Pengkeqin, Zhou Hao, et al. Review of the trace element Zinc in plant [J]. Huan Agricultural Science, 2007, 3:110-112.
沈志锦, 彭克勤, 周浩, 等. 植物微量元素锌的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2007, 3: 110-112.
- [17] Wang Libao, Zhu Ninghua, E Jianhua. Effects of

- heavy metals lead, zinc and copper on young seedling growth of *Cinnamomum camphora* and *Koeleria paniculata* [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2010, 30(2): 44-47.
- 王利宝, 朱宁华, 鄂建华. Pb、Zn 等重金属对樟树、栲树幼苗生长的影响 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2010, 30(2): 44-47.
- [18] Huang Yongjie, Yang Hongfei, Zhang Dong, et al. Effects of Zn stress on the growth of *Alternanthera philoxeroides* and Activities of Soil Enzymes [J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University*, 2009, 27(4): 403-408.
- 黄永杰, 杨红飞, 张栋, 等. 锌胁迫对水花生生长及土壤酶活性的影响 [J]. *上海交通大学学报*, 2009, 27(4): 403-408.
- [19] Chen Yuzhen. Study on the toxic effects of soil zinc crops and the toxicity thresholds of Zn for the soil [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2011.
- 陈玉真. 土壤锌对植物的毒害效应及临界值研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- [20] Gao Xiaopeng. Study on the zinc nutrition characteristics of different genotypes dry rice [D]. Beijing: China Agricultural University, 2006.
- 高霄鹏. 不同基因型旱稻锌营养特性的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2006.
- [21] Wang Huazong, Qian Liujiu, Wu Yihong, et al. The green zinc-manure try out bulletin in green food tea plant [J]. *Journal of Tea Business*, 2002, 244:25-26.
- 王华宗, 钱六九, 吴义鸿, 等. 绿色锌肥在绿色食品茶园中应用试验初报 [J]. *茶业通报*, 2002, 244:25-26.
- [22] Xu Xiaoyan, Yang Xiaoe, Yang Yuai. Progress in the research on the forms of Zn in plant and mechanisms of physiological role of Zn [J]. *Trace Elements Science*, 1999, 6(11):1-6.
- 徐晓燕, 杨肖娥, 杨玉爱. 锌在植物中的形态及生理作用机理研究进展 [J]. *广东微量元素科学*, 1999, 6(11):1-6.
- [23] Welch R M, House W A, Van Campen D. Effects of oxalic acid on availability of zinc from spinach leaves and zinc sulfate to rats [J]. *Journal of Nutrition*, 1977, 107(6): 929-933.
- [24] Zhao Li, Wang Zhangmin, Huang Yang, et al. Zinc accumulation in paddy rice (*Oryza sativa* L.) by agronomic biofortification through soil-applied zinc fertilizers [J]. *Journal of University of Science and Technology of China*, 2013, 43(8): 631-638.
- 赵丽, 王张民, 黄阳, 等. 土壤追施锌肥对水稻植株锌累积特征影响研究 [J]. *中国科学技术大学学报*, 2013, 43(8): 631-638.
- [25] Vasca E, Materazzi S, Caruso T, et al. Complex formation between phytic acid and divalent metal ions: a solution equilibria and solid state investigation [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2002, 374(1): 173-178.