

文章编号: 1004-0374(2012)02-0123-07

植物硒及其含硒蛋白的研究

雷红灵

(湖北民族学院生物资源保护与利用湖北省重点实验室, 恩施 445000)

摘要: 硒是植物的有益元素, 植物对硒的吸收与外源硒的有效性、硒的形态、植物的种类等有关; 硒在植物中主要以有机硒形态存在, HPLC-ICP-MS 联用已成为植物体内硒形态鉴定的最常用手段; 含硒蛋白是植物体内最主要的有机大分子硒, 具有抗肿瘤、抗氧化等多种生物活性。在环境安全和人类健康等方面, 富硒植物具有很好的应用价值, 所以利用分子生物学手段分析富硒植物的富硒机制, 可以为富硒基因的筛选和利用提供理论依据。

关键词: 硒; 植物; 硒形态; 含硒蛋白

中图分类号: Q946.1; Q945.14 **文献标志码:** A

Study of plant selenium and selenium-containing protein

LEI Hong-Ling

(Key Laboratory of Biological Resources Protection and Utilization of Hubei Province,
Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China)

Abstract: Selenium is a beneficial element for plants, whose absorption of selenium is associated with effectiveness of exogenous selenium, forms of selenium and variety of plants etc. Selenium exists in plants mainly in organic forms. Jointly application of HPLC-ICP-MS has already become the most common measure for measuring different selenium forms inside plants and Se-containing protein is the principle organic macromolecule form, which has multiple bioactivities, like anti-tumor and anti-oxidation, etc. Selenium-enriched plant exhibits practical application value on environment safety and human health. Therefore, theoretical basis for screening and utilizing of selenium-enriched genes could be furnished by utilizing molecular biology measure to analyze the selenium-enriched mechanism of selenium-enrich plants.

Key words: selenium; plant; selenium forms; selenium-containing protein

1979年, 中国克山病研究小组证明硒(Se)缺乏是导致克山病的一个必要条件^[1], 从此硒的研究受到了医学、生物、化学、食品营养等各领域的科学工作者的重视。目前, 硒在动物和人体生命活动中的重要作用已经得到了深入阐释, 硒是人体和动物必需的微量元素, 兼具营养、疾病治疗和致毒等多种生物学效应^[2-3]。

世界卫生组织公布的资料表明, 全世界有40多个国家和地区不同程度的缺硒, 我国2/3的地区属于缺硒地区, 29%的地区严重缺硒^[4]。已经证明, 硒的形态是影响生物对其吸收和利用的重要因素。无机亚硒酸钠毒性高, 且动物对无机硒吸收利用率不高, 而人的安全膳食硒摄入量为50~500 μg/d,

与中毒剂量(750 μg/d)相差范围小, 故以亚硒酸钠作为动物及人体补硒的直接硒源, 其风险大; 生物大分子结合态有机硒安全、生物活性好、吸收率较高, 所以有机硒补剂产品的开发和研究受到了广泛关注。研究表明, 通过食物链转化, 从天然食品中摄取硒是一种安全的补硒途径。植物是人类最直接的、最广泛的食物来源, 且植物硒的生态效价高于

收稿日期: 2011-08-17; 修回日期: 2011-11-06

基金项目: 湖北省教育厅2010年科学研究计划项目(D20101905); 国家民委科研项目(10HB05)

通信作者: E-mail: leihl123366@163.com; Tel: 13986860035

动物硒,所以随着硒营养研究的不断深入,硒对植物的生理作用,硒在植物体内的吸收和转化,植物有机硒成分的分离及其生物活性等各方面也得到了广泛的研究。本文主要从植物吸收硒的特点、硒在植物体内的存在形态、植物体内硒的形态鉴定以及植物含硒蛋白的分离和生理功能等方面的研究进行综述。

1 植物对硒的吸收

植物主要从土壤和大气中吸收硒。植物对硒的吸收与外源硒的形态、植物的种类、基因型及部位有关,还与 S、N、P、Ca 等元素有关^[5]。

1.1 植物对硒的吸收和转运

硒主要以硒酸盐、亚硒酸盐形态被植物吸收,植物的根和叶都具有一定的吸收能力。硒在植株体内的转移及分布主要取决于外源硒的形态^[6]。如硒酸盐态硒的生物有效性及其在小白菜体内的迁移能力强于亚硒酸盐态硒,在土壤硒的各种价态中,以 Se(VI) 对小白菜硒含量的贡献最大^[7]。

植物对硒酸盐和亚硒酸盐的吸收机理不一样。硒酸盐在植物根部借助于高效的硫转运蛋白被吸收^[8]。对于亚硒酸盐,有人推测是被动吸收进入植物体^[9-10],也有研究表明,亚硒酸盐的吸收与硒酸盐吸收的差异不大^[11],且在水培实验中发现磷酸盐可以抑制亚硒酸盐的吸收^[12],而这一现象是无法用被动吸收来解释的,推测亚硒酸盐的吸收可能与另外的机制有关。两种形态的硒进入植物体后迁移也不同,硒酸盐更容易分布在嫩芽中,而亚硒酸盐代谢产物更趋向于在根部积累^[11,13-14]。Li 等^[15]研究表明,亚硒酸盐可以快速地根部被同化成各种有机硒形态,而且被限制向幼嫩芽尖转移;而硒酸盐则是在木质部高速转运,亚硒酸盐可以抑制硒酸盐的吸收。他们推测,亚硒酸盐的吸收可能与磷酸转运蛋白有关。Susanne 等^[16]的研究也显示,土壤中磷水平的增高会减少亚硒酸盐的吸收,而对硒酸盐的影响不大,在粉砂壤土中甚至还会促进硒酸盐的吸收。

对水稻不同品种吸收硒(亚硒酸钠)的特性研究表明^[17],植株富 Se 能力与茎叶 Se 转运能力关系密切,而且茎叶 Se 含量与茎叶 N、P 含量及根际速效 P 亏缺率显著相关,而与根际 K 和 pH 值无关。水稻吸收的硒向地上部的迁移能力大于小麦,水稻和小麦对亚硒酸盐的吸收能力差异主要体现在植物根系对离子的亲和力上,水稻根系对亚硒酸盐的亲

和力远远大于小麦根系^[14]。Byren 等^[18]的研究则提示,黑麦草中硒的转运和富集可能与 ABC 转运子有关。可见,影响硒在不同植物体内的吸收和转运的机制可能存在差异,受到多种因素的调控。

硒在植物体内的分配主要集中在生命旺盛的器官,在植物不同器官和不同生育阶段分布差异较大^[19-20]。蔬菜可食用部分硒含量低于非食用部分^[19]。

1.2 植物的富硒能力及其富硒机理

外源的硒可以提高植物体内的含硒量,但不同的植物耐硒和富集硒的能力都不一样。

1.2.1 植物的富硒能力与富硒植物

大多数植物都不富硒,它们体内的硒浓度很少超过 100 $\mu\text{g/g(DW)}$,而有些植物,即使生长在含硒仅 $2 \times 10^{-6} \sim 10^{-5}$ 的土壤中,也能富集硒,使体内浓度超过 1 000 $\mu\text{g/g(DW)}$,这些植物被称为超聚硒植物(Se-hyperaccumulator)^[21-22]。众多研究发现,十字花科、百合科和豆科植物吸收硒的能力大。在发现的超富硒植物中,大多数属于紫云英属(*Astragalus*),有 25 种已经被鉴定和描述。目前对硒具有超富集能力的代表植物是豆科的双槽紫云英(*Astragalus bisulcatus*, 主要生长在美国西南部)和十字花科的 *Stanleya pinnata*(美国西部)^[23]。2003 年在中国湖北恩施高硒区发现了一种富集硒能力极强的植物——十字花科碎米荠属(*Cardamine* L.)的一种碎米荠(*Cardamine* sp.),其苗期叶片含硒量可以超过 1 000 $\mu\text{g/g}$ 。硒在该植物体内的分布、生理作用、耐硒机理及含硒化合物的初步分离鉴定、结构和功能等已经有了比较系统的研究^[24-26]。这是在我国首次发现的超聚硒能力的植物,作者所在的研究团队正在对其富硒特性,及含硒有机物的分离纯化和生理活性等进行更深入地探讨。

1.2.2 富硒机理研究

硒氨基酸无序性进入蛋白质是硒毒害的主要原因,而硒富集植物能够积累非蛋白氨基酸,如硒甲基硒半胱氨酸(SeMSC)和丙氨酸丁氨酸硒醚,硒的这些有机化合物形态可安全地储存在植物膜结合结构中,从而阻止氨基酸无序进入蛋白质^[27]。Pickering 等^[28]研究表明,超富硒植物嫩芽部分的硒超过 90% 以 SeMSC 形态存在,SeMSC 的形成有赖于专一的硒代半胱氨酸甲基转移酶;Wang 等^[29]将这个酶的基因转入拟南芥,植物可以积累 SeMSC、 γ -谷酰基 SeMSC(γ -glutamyl SeMSC),提高了植物的富硒和耐硒能力;Sors 等^[30]利用不同聚硒能力的紫云英属植物分析硒和硫的同化作用发现,植物的

富硒能力与嫩芽的 S-methylcysteine (MeCys) 和 Se-methylselenocysteine (MeSeCys) 以及硒代半胱氨酸甲基转移酶 (SMT) 活性成正相关, 而与 ATP 硫化酶 (ATPS)、APS 还原酶 (APR) 和丝氨酸乙酰基转移酶 (SAT) 的活性无关, 说明超富硒植物的富硒能力不依赖于这些酶活力的增加, 而是通过硫转运蛋白增加硒的转移, 生物合成 MeCys 或 MeSeCys, 或者是还未知的硒同化途径。Marian 等^[31]指出: 超富硒植物的 SMT 基因可以普遍用于增加 Se 向 SeMet 的代谢转化, 但 ATPS 的活性能否被增强则与植物的种类有关。对 *Astragalus chrysochlorus* 的研究显示其是属于次级聚硒植物, 对该植物可能编码 SMT 的 cDNA 序列分析表明, 其与超聚硒植物 *A. bisulcatus* 中编码 SMT 的核酸序列相似性为 92%^[32]。所以, SMT 基因是与植物富硒能力直接相关的一个主要基因。

2 植物体内的硒形态分析

外源硒进入植物体内, 通过代谢可以转换成多种硒形态。

2.1 硒在植物体内的存在形态

硒在植物中存在的主要形态为有机硒^[33]。小分子的有机硒形态主要是硒代氨基酸及其衍生物, 主要有 Se- 甲基硒代半胱氨酸、硒代半胱氨酸、硒代甲硫氨酸、硒多肽、二甲基二硒醚、硒代高胱氨酸、硒代半胱氨酸亚硒酸、Se- 丙烯基硒代半胱氨酸氧化物等。植物中以大分子形态存在的硒则包括含硒蛋白、含硒核糖核酸、硒多糖等, 其中硒蛋白是大分子硒的主要存在形态。硒结合入蛋白质可以通过两种形式, 一是在蛋白质合成时硒代甲硫氨酸随机取代甲硫氨酸进入蛋白质, 二是硒代半胱氨酸通过密码子翻译编码到蛋白质中。有人把含有硒代甲硫氨酸的蛋白质称为含硒蛋白, 而含硒代半胱氨酸的蛋白质称为硒蛋白, 而植物蛋白中大多两种硒代氨基酸同时存在, 所以本文没有严格区分这两个概念。

2.2 植物中硒形态的分析

对于无机 Se(IV)、Se(VI) 和有机硒, 可以经不同方法处理样品后直接采用氢化物发生原子荧光光谱法测硒而鉴定^[34]。而对于有机硒的各种存在形态的鉴定, 则需结合多种分离分析技术。采用高效液相分离, 结合质谱验证的方法, 吴永尧等^[35]鉴定了水稻硒蛋白中结合硒的形态既有 Se-Cys, 也有 Se-Met。近些年来, 由于色谱和质谱联用技术的发展, 植物中硒的化学形态可以通过 HPLC-ICP-MS

或者 HPLC-ESI- MS 联用技术进行检测, 最常用的技术是 HPLC-ICP-MS, 通过 HPLC 分离含硒化合物, 利用 ICP-MS 进行鉴定, 这种方式可以排除相似结构不含硒化合物的干扰^[36]。Montes-Bayón 等^[37]利用 HPLC-ICP-MS 从富硒植物大蒜和白菜型油菜不同方式的提取液中鉴定出了 Se-Cys 和 Se-Met, 并发现了其他几种硒的形态。Mazej 等^[38]采用 HPLC-UV-HG-AFS 联用技术分析了 chicory (*Cichorium intybus* L.) 叶片中硒的存在形态。仲娜^[39]采用 HPLC-ICP-MS 定量分析方法, 以 0.1 mol/L HCl 为提取介质, 辅助超声处理样品, 分离出了富硒蒜苗六种硒形态组分: Na₂SeO₃、MeSeCys、SeMet 以及三种未知硒组分。陈贝贝^[40]以烷基咪唑类离子液体作为 HPLC 流动相的添加剂, 建立了离子液体改性反相 (RP)-HPLC-ICP-MS 联用技术, 以 Se(IV)、Se(VI)、SeCys₂(硒代胱氨酸)、SeMet、MeSeCys 和 SeEt(硒代乙硫氨酸) 为目标分析物, 采用 C18 柱作为固定相, 鉴定富硒苜蓿草中存在的水溶态硒主要是 SeMet 和 SeCys₂。Mervi 等^[41]用 HPLC-ICP-MS 联用技术鉴定芸薹属植物 *Brassica napus* 和 *Brassica rapa* 中总硒的 85% 是 SeMet。Chan 等^[42]利用 HPLC-ICP-MS 和 ESI-ITMS 分别对大豆的豆子、豆荚、叶片和根部的硒含量和硒形态进行了分析。

用于生物样品中硒形态分析的这些技术在检测化合物时, 必须先使硒化合物独立出来, 如蛋白质中的含硒氨基酸必须要经过蛋白质水解才可能被检测到, 而在水解过程中, 含硒有机物可能发生形态变化, 导致检测出现假性结果。稳定的同位素 ⁷⁷Se 有特征的 NMR 信号, 所以可以通过提供植物 ⁷⁷Se, 不需要分离便可直接检测生物样品中的含硒化合物^[43]。

3 植物含硒蛋白的鉴定、分离及应用

研究表明, 植物体内的硒大部分为有机硒, 占总量的 80% 以上, 其中又以蛋白硒为主。如大米中水溶性蛋白硒占大米总硒含量的 70%, 大豆中水溶性蛋白硒占 75%, 茶叶中水溶性蛋白硒占 80%。所以关于植物硒蛋白的鉴定、分离纯化及其生理活性也受到广泛的研究。

3.1 含硒蛋白的鉴定分析

现代分析技术的发展也推动了硒蛋白的检测手段的多样化和有效性。Zhang 等^[44]利用 HPLC-ICP-MS 对富硒水稻中提取的白蛋白、球蛋白、鱼精蛋白和谷蛋白中的含硒蛋白进行了鉴定, 结果表明在

球蛋白中相对分子质量为 12 600 的蛋白是主要的含硒蛋白；Kannamkumarath 等^[45]利用 SEC-UV-ICP-MS 和 CE-ICP-MS 鉴定了坚果含硒蛋白，SeMet 是主要的含硒氨基酸。Tastet 等^[46]利用 2D 凝胶电泳结合 nano HPLC-ICP-MS 和 nano HPLC-ESI MS/MS 分析富硒酵母水提物含硒蛋白，鉴定了两个硒蛋白。所以结合蛋白质组学的双向电泳技术分离蛋白质，对含硒蛋白胶内酶切，利用 ICP-MS 联用技术，结合数据库检索鉴定含硒蛋白将是未来植物含硒蛋白鉴定的一种发展趋势。

3.2 植物含硒蛋白的分离纯化

常用的蛋白质分离方法都可以用于植物含硒蛋白的分离纯化。在植物含硒蛋白的实际分离纯化中往往采用几种方法的联合使用，如采用分段盐析和琼脂糖 6B 柱层析分离纯化水稻硒蛋白^[35]；采用 DEAE-离子交换纤维素柱和 Sephacryl S200 凝胶柱从大豆中分离纯化出了含硒蛋白；段咏新等^[47]采用 sephadex G-200 柱层析和凝胶电泳从大蒜中分离出了相对分子质量为 30 000 的硒蛋白；谢申猛等^[48]采用凝胶电泳结合高效液相色谱荧光法从大豆中分离出了 13 个硒蛋白；郭晓娜和姚惠源^[49]利用硫酸铵沉淀、DEAE-sepharose 离子交换层析和 sephadex-100 从苦荞水溶性蛋白质中纯化出一种活性蛋白，对纯化的蛋白用圆二色谱分析了各种二级结构的比率；Rodrigo 等^[50]利用氧压力条件分离出了拟南芥中的含硒蛋白。此外，在一些低等植物，如富硒灵芝、螺旋藻中都分离出了具有生理活性的含硒蛋白^[51-52]。

3.3 植物含硒蛋白的生物活性研究

陈春英等^[53]观察了烟叶硒蛋白对四氯化碳肝损伤小鼠的保护作用，认为提前补充烟叶硒蛋白 7 d，可降低四氯化碳对肝脏的损伤，并呈现出剂量效应关系；对脂质过氧化物作用方面，硒蛋白明显优于亚硒酸钠和不含硒的蛋白组；烟叶硒蛋白对红细胞 γ 照射也具有较好的预防效果，对羟自由基有明显的清除作用^[54]；Du 等^[51]从富硒灵芝中获得了一种新的含硒蛋白，抗氧化研究表明具有较高的清除羟自由基和超氧自由基活性；对恩施高硒地区富硒大蒜采用连续提取法依次提取不同类型的蛋白质，研究发现，四种含硒粗蛋白对清除羟基自由基 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2\cdot^-$ 具有较好的量效关系，在体外反应体系中，水溶性、碱溶性和盐溶性蛋白能显著地降低 MDA 生成和肝中过氧化物的含量^[55]。兰宁等^[56]以不同剂量和 2 种形式（酶解和非酶解）的硒蛋白口

服液分组饲养接种了小鼠肉瘤 S180 和小鼠肝癌 HAC 的 ICR 纯系小鼠，结果显示 2 种硒蛋白液对 S180 的生长均有一定抑制作用；向天勇和吴永尧^[57]建立 S180 小鼠肿瘤动物模型，采用胃饲法补充从高硒土栽培大豆中提取的硒蛋白，显示在 202.50 $\mu\text{g}(\text{Se})/\text{kg}$ （体重）剂量范围内，大豆硒蛋白剂量增加可显著加强对 S180 肉瘤生长的抑制，并能推迟 S180 肉瘤大鼠的死亡时间；从苦荞中纯化的含硒蛋白体外抗肿瘤活性实验也表明，含硒蛋白能明显抑制人乳腺癌细胞的增殖作用，并存在时间和剂量效应^[49]。杜莹等^[58]的研究表明富硒蛋白有提高小鼠体液免疫、细胞免疫功能的作用。给低硒雄性 SD 大鼠补充大豆硒蛋白和亚硒酸钠，结果表明大豆硒蛋白对含硒酶活性的影响明显高于亚硒酸钠组，证明大豆硒蛋白具有低毒高效的特点，吸收利用效果优于亚硒酸钠^[59]。可见，植物硒蛋白具有抗氧化、抗癌、提高免疫力等功能，且生物活性高于不含硒蛋白质及无机硒。

4 应用及展望

植物有机硒作为高效低毒优质硒源，在人和动物的健康保健领域有广阔的应用前景。自然富硒植物资源少，因此研究植物的富硒特点、植物硒的存在形态及鉴定，将极大促进富硒资源的开发、利用和该研究领域的深入。

4.1 富硒植物应用的局限性及解决方式

富硒植物在人类健康与环境安全的保障中有非常好的应用价值。一方面这些聚硒植物可以在富硒或硒污染地区从土壤中吸收硒，对硒毒土壤或水域进行修复，如芸薹属的植物花椰菜被用做植物修复。Banuelos^[60]用含硒污水灌溉，在一个生长期中，花椰菜可以吸收污水中 20% 的可溶态硒。另一方面，这些植物通过栽培转移在缺硒地区可以作为一个“硒释放系统”归还土壤或以食品、药物前体物和添加剂的形式供给人和动物。

但目前发现的富硒植物还很少，而且这些植物的利用潜力因为生长慢、生物量小及生境局限而被限制^[61]。如作为硒污染植物修复的植物除了要有高富硒和耐硒能力外，还必须具备生长快速、生物量大、根系发达、容易培育、生境广泛及容易收获等特点^[62]。所以，要丰富富硒植物资源，提升其利用价值，可以从以下几方面开展工作。一是在高硒区寻找更多的自然聚硒植物。二是筛选富硒基因型品种，因为植物对硒的吸收和积累不仅与硒的有效

性有关,还与基因型有关^[11]。研究显示,一些野生型作物相比栽培品种具有更高的吸收和积累硒的能力^[63]。三是通过改进栽培技术措施,选育富硒品种和利用植物本身富集硒的潜力,通过遗传改良的手段等来提高根系对土壤硒的吸收。四是通过转基因技术,提高植物的富硒能力^[22]。在以上这些方式中,最后一种无疑是最有效的,而阐明超富硒植物的富硒机理是分离富硒基因的前提。目前,金属(Cd、Ni和Zn)超富集生理学的研究已经广泛使用分子生物学手段,利用转录组的分析,可以鉴定金属超积聚与非积聚植物基因表达的差异,蛋白质组学技术可以分析超富集植物的表现型及其复杂的调控网络。所以,广泛应用基因组学、转录组学、蛋白质组学及代谢组学技术将有助于植物富硒机制的阐明。

4.2 植物硒蛋白的分子生物学研究

针对哺乳动物和原核生物的硒蛋白组已经有相关研究开展。已经鉴定25个人类硒蛋白基因,其合成、功能、分布、亚细胞定位、表达的调控等都已阐明^[64];原核生物已有完整的硒蛋白基因组序列数据库^[65];而对于植物的硒蛋白组的研究还仅限于低等的植物如藻类。Novoselov等^[66]报道在衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)中发现了6种硒蛋白,给出了完整的氨基酸序列和合成机制,并指出这6种衣藻硒蛋白对应的硒代半胱氨酸插入序列(selenocysteine insertion element, SECIS)与动物硒蛋白对应的SECIS有微小差异:即SECIS中心区和顶部环及中间凸起之间的核苷酸为12~13个,动物中该区域数目为11~12个。

对于硒蛋白的鉴定可以利用生物信息学,一是通过识别RNA的茎环-硒代半胱氨酸插入序列元件,二是鉴定Sec/Cys对同源序列。如刘琼等^[67]以斑马鱼为研究对象,通过以密码子TGA终止的基因再分析、3'-UTR区域中SECIS结构的检索、同源相似基因中硒代半胱氨酸/半胱氨酸的比对、硒蛋白基因编码区的识别等步骤,从已注释的基因组中用计算机寻找、鉴定出13个新硒蛋白。所以,对于植物硒蛋白的鉴定也可以借鉴动物硒蛋白鉴定的方法。肖庆^[68]采用生物信息学的研究方法和工具,对硬粒小麦(*durum wheat*)中可能存在的硒蛋白进行探索性研究,通过从上述报道的衣藻硒蛋白结构特征入手,对GenBank中的*durum wheat*表达核酸序列进行筛选,发现了2个目标序列与硒蛋白具有明显的生物相关性,推测认为:这2个目标序列所在位置范围存在编码硒蛋白的编码区。

到目前为止,关于植物硒蛋白的分子生物学研究未见突破性进展,所以深入植物,特别是富硒植物的硒蛋白质组研究及硒蛋白的鉴定,对于探索硒与植物作用的分子机制及科学合理开发利用植物硒资源有非常重要的意义。

[参 考 文 献]

- [1] 杨光圻,王光亚,殷泰安,等.我国克山病的分布和硒营养状态的关系.营养学报,1982,4(3):191-200
- [2] Patrick L. Selenium biochemistry and cancer: a review of the literature. Altern Med Rev, 2004, 9(3): 239-58
- [3] Xia YM, Hill KE, Byren DW, et al. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China. Am J Clin Nutr, 2005, 81(4): 829-34
- [4] 唐新欣. 硒摄入不足——中国人健康的“软肋”. 医药世界, 2004(10): 22-4
- [5] Feng RW, Wei CY, Tu SX, et al. Effects of Se on the uptake of essential elements in *Pteris vittata* L. Plant Soil, 2009, 325(1-2): 123-32
- [6] Sucheta S, Abhey B, Surjit KD, et al. Comparative effects of selenate and selenite on growth and biochemical composition of rapeseed (*Brassica napus* L). Plant Soil, 2010, 329(1-2): 339-48
- [7] 薛瑞玲,梁东丽,王松山,等.外源亚硒酸盐和硒酸盐在土壤中的价态转化及其生物有效性.环境科学,2011,32(6):1726-33
- [8] Sors TG, Ellis DR, Salt DE. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. Photosynthesis Res, 2005, 86(3): 373-89
- [9] Terry N, Zayed AM, De Souza MP, et al. Selenium in higher plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2000, 51: 401-32
- [10] Shrift A, Ulrich JM. Transport of selenate and selenite into *Astragalus* roots. Plant Physiol, 1969, 44(6): 893-6
- [11] Zhang YL, Pan GX, Chen J, et al. Uptake and transport of selenite and selenate by soybean seedlings of two genotypes. Plant Soil, 2003, 253(2): 437-43
- [12] Jennifer LH, David RP. Plant availability of selenite and selenate as influenced by the competing ions phosphate and sulfate. Plant Soil, 1999, 210(2): 199-207
- [13] Zayed A, Lytle CM, Terry N. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. Planta, 1998, 206(2): 284-92
- [14] 陈思杨,江荣风,李花粉.苗期小麦和水稻对硒酸盐/亚硒酸盐的吸收及转运机制.环境科学,2011,32(1): 284-9
- [15] Li HH, McGrath SP, Zhao PJ. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. New Phytol, 2008, 178(1): 92-102
- [16] Susanne EG, Tore K, Trine AS. Effect of phosphorus status of the soil on selenium availability. J Plant Nutr Soil Sci, 2010, 173(3): 337-44
- [17] 陈秋香,施卫明,王校常.有色稻与常规稻富硒能力比较及其机理初探.土壤,2010,42(1): 88-94
- [18] Byrne SL, Durandean K, Naqy I, et al. Identification of

- ABC transporters from *Lolium perenne* L. that are regulated by toxic levels of selenium. *Planta*, 2010, 231(4): 901-11
- [19] Karaj SD, Surjit KD. Accumulation and distribution of selenium in some vegetable crops grown in selenate-Se treated clay loam soil. *Front Agric China*, 2009, 3(4): 366-73
- [20] 张海英, 韩涛, 田磊. 桃、枣和草莓对硒的吸收及富集特性研究. *果树学报*, 2010, 27(5): 802-6
- [21] Brown TA, Shrift A. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biol Res*, 1982, 57(1): 59-84
- [22] Pilon-Smits EA, LeDuc DL. Phytoremediation of selenium using transgenic plants. *Curr Opin Biotechnol*, 2009, 20(2): 207-12
- [23] 江用彬, 季宏兵, 李甜甜, 等. 环境硒污染的植物修复研究进展. *矿物岩石地球化学通报*, 2007, 26(1): 98-104
- [24] 向天勇. 恩施碎米芥的生物学特性及叶片含硒化合物的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006
- [25] 杨大伟. 恩施高富硒植物碎米芥含硒多糖的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2008
- [26] 雷红灵, 胡雪雷, 吴永尧. 硒对恩施碎米芥叶片抗氧化酶活性的影响. *华中科技大学学报: 自然科学版*, 2010, 38(3): 116-9.
- [27] Burnell JN. Selenium metabolism in *Neptunia amplexicaulis*. *Plant Physiol*, 1981, 67(2): 316-24
- [28] Pickering IJ, Wright C, Bubner B, et al. Chemical form and distribution of selenium and sulfur in the selenium hyperaccumulator *Astragalus bisulcatus*. *Plant Physiol*, 2003, 131(3): 1460-7
- [29] Wang Y, Böck A, Neuhierl B. Acquisition of selenium tolerance by a selenium non-accumulating *Astragalus* species via selection. *Biofactors*, 1999, 9(1): 3-10
- [30] Sors TG, Ellis DR, Na GN, et al. Analysis of sulfur and selenium assimilation in *Astragalus* plants with varying capacities to accumulate selenium. *Plant J*, 2005, 42 (6): 785-97
- [31] Mckenzie MJ, Hunter DA, Pathirana R, et al. Accumulation of an organic anticancer selenium compound in a transgenic *Solanaceous* species shows wider applicability of the selenocysteine methyl-transferase transgene from selenium hyperaccumulators. *Transgenic Res*, 2009, 18(3): 407-24
- [32] Şule A, Özgür Ç, Neslihan TK. Selenium tolerance in *Astragalus chrysochlorus*: identification of a cDNA fragment encoding a putative selenocysteine methyltransferase. *Acta Physiol Planta*, 2010, 32(6): 1085-92
- [33] 吴永尧, 彭振坤, 罗泽民. 植物对硒的吸收及其效应. *湖北民族学院学报: 自然科学版*, 1997, 15(3): 10-3
- [34] 陈新, 柳闽生, 鲜华. 氢化物发生原子荧光光谱法测定紫甘薯中的有机硒和无机硒. *食品与发酵工业*, 2010, 36(7): 163-5
- [35] 吴永尧, 罗泽民, 陈建英, 等. 水稻硒蛋白及其硒结合形态研究. *华中师范大学学报: 自然科学版*, 2000, 34(2): 223-5
- [36] Roberge MT, Borgerding AJ, Finley JW. Speciation of selenium compounds from high selenium broccoli is affected by the extracting solution. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(15): 4191-7
- [37] Montes-Bayón M, Molet MJ, González EB, et al. Evaluation of different sample extraction strategies for selenium determination in selenium-enriched plants (*Allium sativum* and *Brassica juncea*) and Se speciation by HPLC-ICP-MS. *Talanta*, 2006, 68(4): 1287-93
- [38] Mazej D, Falnoga I, Veber M, et al. Determination of selenium species in plant leaves by HPLC-UV- HG-AFS. *Talanta*, 2006, 68(3): 558-68
- [39] 仲娜. 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)及高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用技术(HPLC-ICP/MS)用于富硒生物样品中硒的化学形态组成及分布规律研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007
- [40] 陈贝贝. 基于ICP-MS的联用技术及其在生命体系中元素与形态分析的应用[D]. 武汉: 武汉大学, 2010
- [41] Mervi MS, Juha K, Isabel LH, et al. Agronomic biofortification of *Brassica* with selenium- enrichment of SeMet and its identification in *Brassica* seeds and meal. *Plant Soil*, 2010, 337(1-2): 273-83
- [42] Chan Q, Afton SE, Caruso JA. Selenium speciation profiles in selenite-enriched soybean (*Glycine Max*) by HPLC-ICPMS and ESI-ITMS. *Metallomics*, 2010, 2(2): 147-53
- [43] Block E, Glass RS, Jacobsen NE, et al. Identification and synthesis of a novel selenium- sulfur amino acid found in selenized yeast: rapid indirect detection NMR methods for characterizing low-level organose compounds in complex matrices. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(12): 3761-71
- [44] Zhang T, Gao YX, Li B, et al. Study of selenium speciation in selenized rice using high performance liquid, chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometer. *Chin J Anal Chem*, 2008, 36(2): 206-10
- [45] Kannamkumarath SS, Wrobel K, Wuilloud RG. Studying the distribution pattern of selenium in nut proteins with information obtained from SEC-UV- ICP-MS and CE-ICP-MS. *Talanta*, 2005, 66(1): 153-9
- [46] Tastet L, Schaumlöffel D, Bouyssiere B. Identification of selenium-containing proteins in selenium-rich yeast aqueous extract by 2D gel electrophoresis, nanoHPLC-ICP MS and nanoHPLC-ESI-MS/MS. *Talanta*, 2008, 75(4): 1140-5
- [47] 段咏新, 傅庭治, 傅家瑞. 硒在大蒜体内的生物富集及其抗氧化研究. *园艺学报*, 1997, 24(4): 343- 7
- [48] 谢申猛, 王子健, 彭安. SDS-PAGE和HPLC-荧光检测分离鉴定恩施高硒区大豆中含硒蛋白. *环境科学*, 1994, 15(5): 61-2
- [49] 郭晓娜, 姚惠源. 苦荞抗肿瘤蛋白的分离纯化及结构分析. *食品科学*, 2007, 28(7): 462-5
- [50] Rodrigo M, Moskovitz J, Salamini F, et al. Reverse genetic approaches in plants and yeast suggest a role for novel, evolutionarily conserved, selenoprotein- related genes in oxidative stress defense. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267(5): 613-21
- [51] Du MJ, Zhao L, Li CR, et al. Purification and characterization of a novel fungi Se-containing protein from Se-enriched *Ganoderma lucidum* mushroom and its Se-dependent radical scavenging activity. *Euro Food Res Technol*, 2007, 224 (5): 659-65

- [52] Huang Z, Guo BJ, Wong RN, et al. Characterization and antioxidant activity of Se-containing phycocyanin isolated from *Spirulina platensis*. *Food Chem*, 2007, 100(3): 1137-43
- [53] 陈春英, 张劲松, 方宇澄, 等. 烟叶硒蛋白在实验小鼠肝损伤中的抗氧化作用. *营养学报*, 1996, 18(4): 457-60
- [54] 陈春英, 张劲松, 黄开勋, 等. 烟叶硒蛋白对人红细胞的辐射溶血及自由基的作用. *中国药理学通报*, 1996, 12(4): 357-9
- [55] 岳晶念, 戚向阳, 谢笔钧, 等. 恩施富硒大蒜中不同含硒粗蛋白体外抗氧化活性研究. *现代食品科技*, 2009, 25(9): 1005-10
- [56] 兰宁, 徐朝斌. 豌豆硒蛋白抑瘤活性的研究. *现代中西医结合杂志*, 2004, 13(24): 3251-2
- [57] 向天勇, 吴永尧. 天然大豆硒蛋白抗肿瘤作用研究. *氨基酸和生物资源*, 2005, 27(1): 10-3
- [58] 杜莹, 王晓燕, 解清, 等. 富硒蛋白对小鼠免疫功能影响. *中国公共卫生*, 2006, 22(1): 84-5
- [59] 田俊梅, 张丁, 付瑞娟. 大豆硒蛋白与亚硒酸钠生物利用的比较研究. *大豆科学*, 2010, 29(3): 534-6
- [60] Banuelos GS. Irrigation of broccoli and canola with boron and selenium-laden effluent. *J Environ Qual*, 2002, 31(6): 1802-8
- [61] Cherian S, Oliveira MM. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environ Sci Technol*, 2005, 39(24): 9377-90
- [62] Kotrba P, Najmanova J, Macek T, et al. Genetically modified plants in phytoremediation of heavy metal and metalloloid soil and sediment pollution. *Biotechnol Adv*, 2009, 27(6): 799-810
- [63] Yan J, Wang F, Qin HB, et al. Natural variation in grain selenium concentration of wild barley, *Hordeum spontaneum*, populations from Israel. *Biol Trace Elem Res*, 2011, 142(3): 773-86
- [64] Reeves MA, Hoffmann PR. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(15): 2457-78
- [65] Kryukov GV, Gladyshev VN. The prokaryotic selenoproteome. *EMBO Rep*, 2004, 5(5): 538-43
- [66] Novoselov SV, Rao M, Onoshko NV, et al. Selenoproteins and selenocysteine insertion system in the model plant cell system, *Chlamydomonas reinhardtii*. *EMBO J*, 2002, 21(14): 3681-93
- [67] 刘琼, 陈平, 姜亮, 等. 生物体内硒蛋白的计算机识别方法. *计算机与应用化学*, 2006, 23(8): 715-9
- [68] 肖庆. 硬粒小麦硒蛋白的生物信息学研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2008