

· 研究报告 ·

## 硒对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响

彭琪<sup>1,3</sup>, 何红花<sup>1,2</sup>, 范陈斌<sup>2</sup>, 张兴昌<sup>1,2</sup>

(1.中国科学院水利部水土保持研究所黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100;  
2.西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100; 3.中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:**采用土培试验方法,在黄绵土、风沙土和风沙土+砒砂岩3种土壤环境下,研究不同外源硒形态和添加浓度对紫花苜蓿种子发芽率、发芽指数、生物量和幼苗芽长及根系形态的影响。结果表明:不同土壤类型和硒处理对紫花苜蓿种子发芽率没有显著影响。硒酸盐(Se(VI))和亚硒酸盐(Se(IV))处理对苜蓿幼苗生长有抑制作用,且Se(VI)处理下的抑制作用显著强于Se(IV)处理。不同的土壤类型和外源硒形态有不同的抑制浓度节点,且硒添加浓度越高抑制作用越明显。经相关分析可知,土壤Se(VI)和Se(IV)的质量浓度与苜蓿幼苗的根长抑制率呈显著正相关。通过比较 $EC_{50}$ 值,得出Se(VI)和Se(IV)在黄绵土中的抑制作用最弱,在风沙土和风沙土+砒砂岩中相差较小。在这3种土壤中,适宜的Se(VI)和Se(IV)添加量范围分别为 $0\sim 2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0\sim 4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

**关键词:** 紫花苜蓿; 种子萌发; 硒酸钠; 亚硒酸钠; 幼苗生长

**DOI 编码:** 10.16590/j.cnki.1001-4705.2020.06.001

**中图分类号:** S 541      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1001-4705(2020)06-001-08

### Effects of Selenium on Seed Germination and Seedling Growth of Alfalfa

PENG Qi<sup>1,3</sup>, HE Honghua<sup>1,2</sup>, FAN Chenbin<sup>2</sup>, ZHANG Xingchang<sup>1,2</sup>

(1.State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences & Ministry of Water Resources, Yangling Shaanxi 712100, China;  
2.Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China;  
3.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** The effects of selenium forms and concentrations on germination rate, germination index, biomass, seedling length and root morphology of alfalfa seeds were studied by soil culture experiment with three soil conditions, including loessal soil, aeolian sandy soil and composite soil of aeolian sandy soil and arsenic sandstone. The results showed that different soil types and selenium treatments had no significant effect on the germination rate of alfalfa seeds. The growth of alfalfa seedlings were restrained to some extent when the seedlings were treated with Selenate (Se(VI)) and selenite (Se(IV)) and inhibiting effect of Se(VI) was much stronger than Se(IV). Different soil types and selenium forms had different inhibitory concentration threshold, and the higher the selenium concentration was, the more obvious the inhibitory effect was. The correlation analysis showed that the mass concentration of Se(VI) and Se(IV) in soil was significantly positively correlated with root length inhibition rate. The inhibition of Se(VI) and Se(IV) in loessal soil was the weakest by comparing the  $EC_{50}$  values while there was no difference between aeolian sandy soil and composite soil. In conclusion, among the three kinds of soil, suitable concentration range was  $0\sim 2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  for Se(VI) and  $0\sim 4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  for Se(IV) respectively.

**Key words:** alfalfa; seed germination; selenate; selenite; seedling growth

收稿日期: 2020-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(41301570)和国家重点研发计划项目(2017 YFC 0504504)。

作者简介: 彭琪(1994—), 女, 四川成都人; 在读博士, 研究方向: 植物营养; E-mail: pengqi16@mailsucas.ac.cn。

通讯作者: 张兴昌(1965—), 男, 陕西武功人; 研究员, 研究方向: 土壤化学与环境科学; E-mail: zxc@xab.ac.cn。

硒是人和动物必需的微量元素之一,是构成哺乳动物体内多种含硒蛋白质与含硒酶如谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还原蛋白酶以及碘化甲腺原氨酸脱碘酶等的重要组成成分<sup>[1-2]</sup>,兼具营养、毒性和解毒三重生物学功能,被称为生命的保护剂<sup>[3]</sup>。硒与人体健康息息相关,人体缺硒容易导致未老先衰、精神不振、精子活力下降等症状。在世界范围内,有 5 亿~10 亿人缺硒<sup>[4]</sup>。人体缺硒现象非常普遍,我国 2/3 地区属缺硒地区,其中黄土高原中北部是典型的缺硒区,土壤硒含量低于  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ <sup>[5-6]</sup>。目前通过向土壤中施加适量的硒,提高植物体内硒含量,从而提高食物链硒水平,是人、畜补硒的重要途径。

硒作为植物生长有益的营养元素,在植物的生理过程中起着重要作用。硒能促进种子萌发,如硒酸钠溶液可促进荞麦 (*Fagopyrum esculentum*)、大豆 (*Glycine max*)、花生 (*Arachishypogaea*)、芸豆 (*Phaseolus vulgaris*) 等种子的发芽,但这种促进作用与硒浓度密切相关,其有效浓度和致毒浓度之间的差值很小<sup>[7-9]</sup>。曾维超等研究表明,高浓度硒酸盐对甘蓝种子的发芽率和发芽势均产生抑制效应,而低浓度硒酸钠处理提高了甘蓝植株的过氧化物酶活性<sup>[10]</sup>。郭秋菊等通过水培实验发现,低浓度 ( $0\sim 0.25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 的亚硒酸钠处理对水杉种子的萌发有一定的促进作用,而高浓度 ( $>0.25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 的亚硒酸钠处理对水杉种子萌发则有一定的抑制作用<sup>[7]</sup>。

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 是一种多年生优质蛋白牧草,对硒有很强的吸收和富集能力。随着我国农业产业结构的调整,紫花苜蓿的优质高产越来越受到重视。适量施硒可以促进紫花苜蓿生长,提高其产量和品质<sup>[11-12]</sup>,而过量施硒则会对紫花苜蓿产生毒害,导致产草量下降<sup>[13]</sup>。因此,本实验研究了不同外源硒形态和浓度对紫花苜蓿种子萌发和生长的影响,旨在为富硒苜蓿栽培和缺硒地区合理补充硒素提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

供试植物为紫花苜蓿,品种为金皇后,该品种是美国培育的优质紫花苜蓿品种,根系发达,抗旱、抗寒性极强,是产草量较高的优良品种。试验用硒为硒酸钠 ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) 和亚硒酸钠 ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )。供试土壤为采自陕西省安塞县黄绵土以及采自内蒙古准格尔旗的

风沙土和砒砂岩,土样风干后过 2 mm 筛备用。供试土壤基本理化性质如表 1 所示,风沙土和砒砂岩混合物的混合比例为 3:1。

### 1.2 实验设计

将风干过筛后的土样 (80 g) 装入培养皿中,加入浓度分别为 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  和  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  溶液,并调节土壤含水量至田间持水量的 80%,放入人工培养箱中,24 h 后将各个培养皿中的土壤混匀,再放入培养箱中。48 h 后,挑选籽粒饱满、大小均匀一致的首蓿种子,用 30% 双氧水消毒 5 min 后,蒸馏水冲洗数次,整齐地排列在上述加入不同浓度梯度 Se(VI) 和 Se(IV) 处理下的培养皿土壤中。每皿 50 粒,使每粒种子之间留有均匀的间距,保证与土壤有良好的接触及足够的生长空间。随后,将培养皿放回培养箱中。每个处理 4 次重复。本试验均在智能人工培养箱内进行。温度设置为恒温 25  $^{\circ}\text{C}$ , 12 h/12 h (光照/黑暗) 依次交替,相对湿度为 60%。

发芽期间每天定时补充水分,调节土壤含水量至田间持水量的 80%,并记录种子发芽数,共统计 7 d。第 7 天统计种子发芽率,计算发芽指数并测量幼苗芽长和根长。

### 1.3 测定项目及方法

#### 1.3.1 发芽指标测定

参照《国际种子萌发规程 GB/T 2930.4-2017》计算各项指标。

发芽率 (%) = (发芽种子数/供试种子数)  $\times$  100%;

发芽指数 (GI) =  $\sum Gt/Dt$ , 式中:  $Gt$  为 t 日的发芽数,  $Dt$  为发芽天数;

根长抑制率 = (对样品根长 - 各处理样品的根长)/对样品根长。

#### 1.3.2 生长指标测定

采用 Epson Expression 扫描仪扫描根系,使用 WinRHIZO 根系分析系统 (Regent Instruments, Quebec, Canada) 分析根长、根表面积、根直径<sup>[14]</sup>。每个培养皿选取生长适中的 20 棵发芽幼苗,用直尺测量芽长。之后将地上部和地下部分别装于牛皮纸袋中,

表 1 供试土壤的基本性质

土壤类型	土壤理化性质					
	pH 值	全氮/ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	全磷/ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	全钾/ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	Se/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	有机质/ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
黄绵土	8.7	0.27	0.49	1.5	0.09	2.84
风沙土	8.5	0.13	0.27	0.8	0.04	2.12
风沙土 + 砒砂岩	8.6	0.14	0.35	1.2	0.10	2.37

放入 60 °C 烘箱,烘干至恒重后称量并记录干重。

### 1.3.3 EC<sub>50</sub> 值的计算分析

EC<sub>50</sub>(半数效应量)是表示物质生理毒性的有效参数。通过回归方程计算 EC<sub>50</sub> 的值,比较其数值大小可以判断 Se(VI) 和 Se(IV) 的毒害效应的强弱。EC<sub>50</sub> 的值越小毒害效应越大,反之成立<sup>[15]</sup>。

### 1.3.4 数据分析

数据均采用 SPSS 20.0 软件进行方差分析,检验差异显著性,采用 Origin 9.0 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同土壤类型中外源硒对苜蓿种子萌发的影响

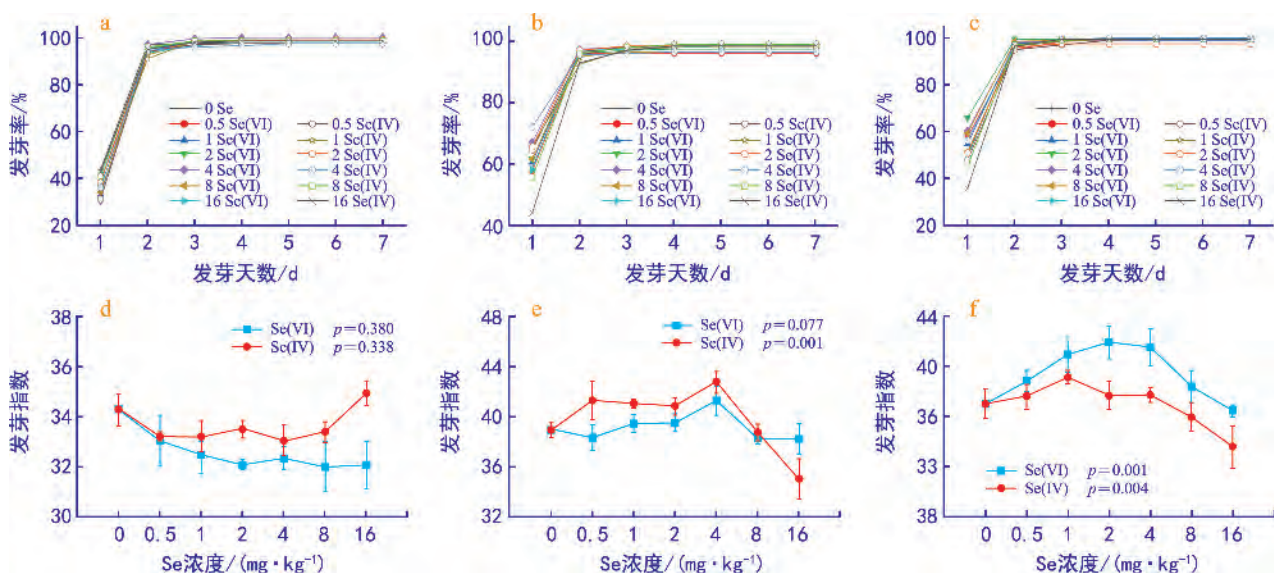
图 1(a-c) 中所示的是外源添加 Se(VI) 和 Se(IV) 在质量浓度为 0~16 mg·kg<sup>-1</sup> 时,紫花苜蓿种子在 3 种不同类型土壤中的发芽率均值。通过显著性分析可知,不同浓度梯度下对应的值和对照组之间并未有显著性差异,不同形态的 Se 处理之间也未有显著性差异。

在黄绵土中,Se(VI) 和 Se(IV) 处理下的种子发芽指数均低于对照组。随着不同外源 Se 的浓度上升,种子发芽指数呈先下降后逐渐平缓的变化趋势。所有 Se(IV) 处理下的种子发芽指数均高于 Se(VI) 处理下的发芽指数(图 1 d)。在风沙土中,随着 Se(VI) 和 Se(IV) 浓度的增加,种子发芽指数均呈先平缓上升后急剧下降的变化趋势。当 Se(VI) 和 Se(IV) 的浓度为 4 mg·kg<sup>-1</sup> 时,种子发芽指数达到最大,分别比对照组高 6% 和 8%;当 Se(VI) 和 Se(IV) 的浓度为 8 mg·

kg<sup>-1</sup> 和 16 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数分别比对照组低 2.6%、3.5% 和 2.3%、10%。除了 16 mg·kg<sup>-1</sup> Se(IV) 处理,其余浓度 Se(IV) 处理下的发芽指数均高于 Se(VI) 处理(图 1 e)。在风沙土+砒砂岩中,当 Se(VI) 浓度为 0.5~2.0 mg·kg<sup>-1</sup> 时,种子发芽指数显著上升 ( $p < 0.001$ ),高于对照组 5%~13%;当 Se(VI) 添加浓度为 2~16 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数显著下降了 10%~18% ( $p < 0.001$ )。Se(VI) 浓度为 2 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数达到最大值;Se(VI) 浓度为 16 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数低于对照组。当 Se(IV) 浓度为 0.5~1.0 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数上升,高于对照组 2%~6%;当 Se(IV) 浓度为 1~16 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数显著下降了 4%~14% ( $p < 0.001$ )。Se(IV) 浓度为 1 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数达到最大值;Se(IV) 浓度为 8 mg·kg<sup>-1</sup> 和 16 mg·kg<sup>-1</sup> 时,发芽指数低于对照组。所有相同浓度 Se(VI) 处理下的发芽指数均高于 Se(IV) 处理(图 1 f)。

### 2.2 不同土壤条件下外源硒对苜蓿幼苗生长的影响

在黄绵土中,随着 Se(VI) 添加浓度的增加,地上部生物量和地下部生物量分别减少了 6%~12% 和 11%~47%,当 Se(VI) 添加浓度分别 >0.5 mg·kg<sup>-1</sup> 和 >4 mg·kg<sup>-1</sup> 时差异达显著水平 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ )。然而,Se(IV) 的添加浓度对生物量没有显著影响(图 2 a, d)。在风沙土中,Se(VI) 添加浓度在 0~1 mg·kg<sup>-1</sup> 时,地上部生物量增加,当浓度 >1 mg·kg<sup>-1</sup> 时地上部生物量开始显著减少 ( $p < 0.001$ )。与对照相比,添加硒使地下部生物量减少了 26%~66%,当硒



注:a、d 为黄绵土;b、e 为风沙土;c、f 为风沙土+砒砂岩。下同。

图 1 不同土壤类型下不同浓度硒酸钠和亚硒酸钠处理对紫花苜蓿种子发芽率和发芽指数的影响

浓度  $\geq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时差异达极显著水平 ( $p < 0.001$ )。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加,地上部生物量显著减少了 4%~11%,地下部生物量先平缓上升,当浓度  $> 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时开始急剧下降差异达极显著水平 ( $p < 0.001$ ) (图 2 b, e)。在风沙土+砒砂岩中,随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加,地上部和地下部生物量均先增加后减少,当浓度分别  $> 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $> 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时开始下降,差异达显著水平 ( $p < 0.05, p < 0.001$ ) (图 2 c, f)。

在黄绵土中,随着  $\text{Se(VI)}$  和  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加,芽长分别减少了 9%~48% 和 13%~22%;当  $\text{Se(VI)}$  和  $\text{Se(IV)}$  浓度  $> 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时差异均达显著水平

( $p < 0.05$ ) (图 3 a)。在风沙土中,随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加,芽长减少了 10%~52%,当浓度  $> 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时开始急剧下降,差异达极显著水平 ( $p < 0.001$ )。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加,芽长减少了 5%~52%;当浓度  $> 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时开始急剧下降,差异达极显著水平 ( $p < 0.001$ ) (图 3 b)。在风沙土+砒砂岩中,随着  $\text{Se(VI)}$  和  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加,芽长减少了 5%~35% 和 5%~40%;当浓度  $> 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时差异均达极显著水平 ( $p < 0.001$ ) (图 3 c)。

在黄绵土中,随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加,根长减少了 5%~83%,当浓度  $> 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时差异达显著水平

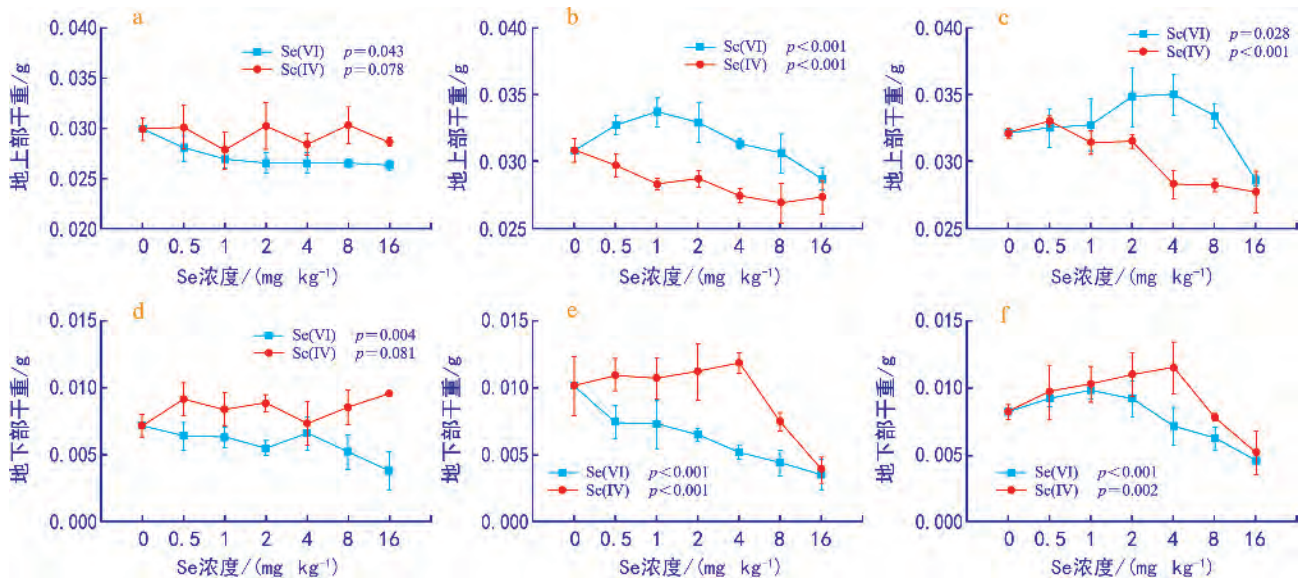


图 2 不同土壤类型下不同浓度硒酸钠和亚硒酸钠处理对紫花苜蓿地上部干重和地下部干重的影响

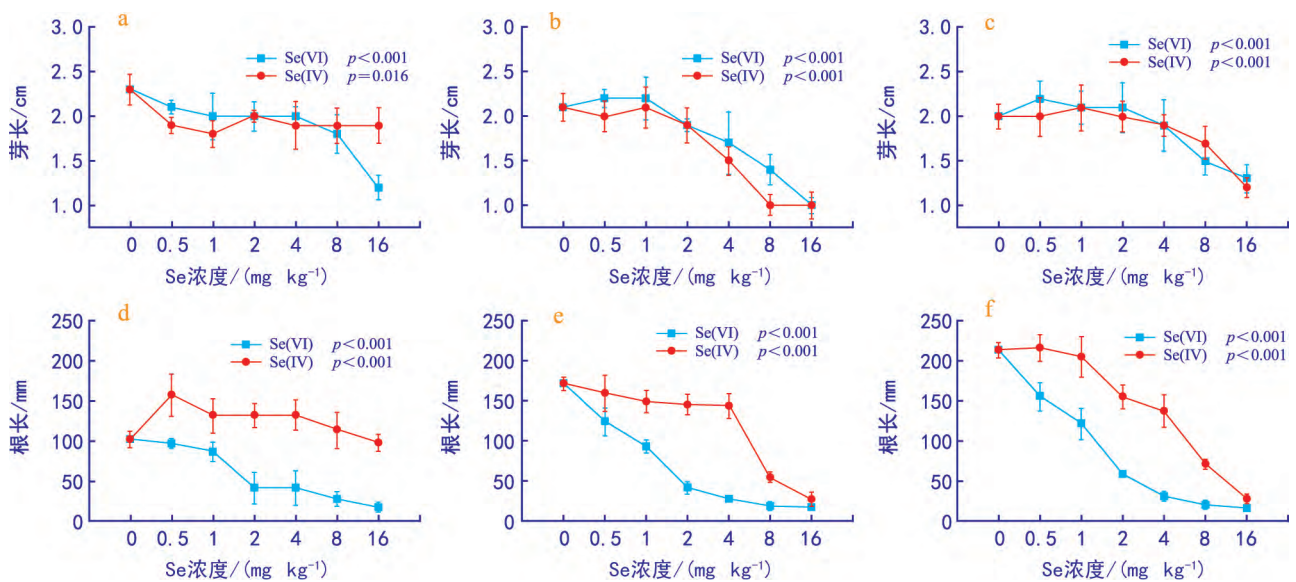


图 3 不同土壤类型下不同浓度硒酸钠和亚硒酸钠处理对紫花苜蓿芽长和根长的影响

( $p < 0.001$ )。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加, 根长增加了 12%~62%, 且除了  $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$   $\text{Se(IV)}$  处理外, 所有  $\text{Se(IV)}$  处理下的根长均高于对照组(图 3 d)。在该土壤环境中,  $\text{Se(IV)}$  对苜蓿根生长有促进作用。在风沙土中, 随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加, 根长减少了 28%~90%。当浓度  $\geq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时开始急剧下降, 差异达极显著水平( $p < 0.001$ ); 当浓度为  $2 \sim 16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 根长变化趋于平缓。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加, 根长减少了 6%~84%; 当浓度  $> 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时根长开始急剧下降, 差异达显著水平( $p < 0.05$ )(图 3 e)。在风沙土+砒砂岩中, 随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加, 根长减少了 27%~92%。当浓度  $\geq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时根长开始急剧下降, 差异达极显著水平( $p < 0.001$ ); 当浓度为  $4 \sim 16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 根长变化趋于平缓。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加, 根长减少了 4%~87%, 当浓度  $> 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时根长开始急剧下降, 差异达显著水平( $p < 0.05$ )(图 3 f)。3 种土壤中, 所有同一浓度  $\text{Se(IV)}$  处理下的根长均高于  $\text{Se(VI)}$  处理。

抑制指数与硒浓度的对数间的相关性回归方程和  $\text{EC}_{50}$  值见表 2。当苜蓿生长开始受抑制时, 其根生长的抑制指数与硒浓度的对数呈正相关性, 其中黄绵土中  $\text{Se(IV)}$  处理对根生长没有抑制作用, 当添加浓度  $< 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时还有显著的促进作用。由  $\text{EC}_{50}$  值可知,

$\text{Se(VI)}$  的毒性大于  $\text{Se(IV)}$ 。3 种土壤环境下硒的  $\text{EC}_{50}$  值为黄绵土  $>$  风沙土+砒砂岩  $>$  风沙土。

### 2.3 不同土壤类型下外源硒对苜蓿幼苗根系形态的影响

在黄绵土中, 随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加, 根系表面积减少了 13%~67%, 当浓度  $> 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加, 根表面积增加了 8%~50%, 当浓度为  $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时差异达显著水平( $p < 0.05$ )(图 4 a)。在风沙土中, 随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加, 根表面积减少了 31%~82%, 当浓度  $\geq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时根表面积开始急剧下降, 差异达极显著水平( $p < 0.001$ ), 当浓度为  $2 \sim 16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 根表面积变化趋于平缓。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加, 根表面积减少了 2%~81%, 当浓度  $> 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时根表面积开始急剧下降, 差异达极显著水平( $p < 0.05$ )(图 4 b)。在风沙土+砒砂岩中, 随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加, 根表面积减少了 19%~85%, 当浓度  $\geq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时开始急剧

表 2 硒对紫花苜蓿根抑制的相关性回归方程和  $\text{EC}_{50}$  值

土壤类型	价态	回归方程	显著性	线性系数	$\text{EC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
黄绵土	$\text{Se(VI)}$	$y = 0.5331 \lg C + 0.2482$	$p = 0.003$	0.9021	2.96
	$\text{Se(IV)}$	$y = 0.3253 \lg C - 0.3942$	$p = 0.007$	0.8668	—
风沙土	$\text{Se(VI)}$	$y = 0.4256 \lg C + 0.4931$	$p = 0.008$	0.8579	1.03
	$\text{Se(IV)}$	$y = 0.5561 \lg C + 0.1392$	$p = 0.008$	0.9303	4.37
风沙土+砒砂岩	$\text{Se(VI)}$	$y = 0.4552 \lg C + 0.4778$	$p = 0.008$	0.8908	1.11
	$\text{Se(IV)}$	$y = 0.6049 \lg C + 0.0919$	$p < 0.001$	0.9625	4.72

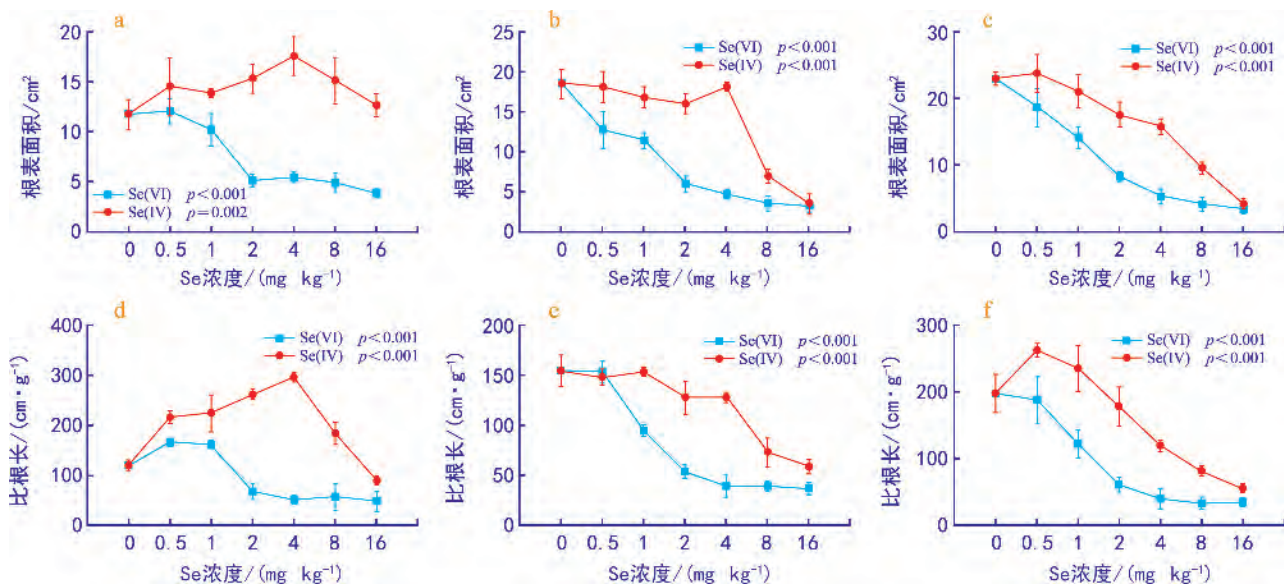


图 4 不同土壤类型下不同浓度硒酸钠和亚硒酸钠处理对紫花苜蓿根表面积和比根长的影响

下降,差异达极显著水平( $p < 0.001$ );当浓度为  $4 \sim 16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,根表面积变化趋于平缓。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加,根表面积减少了  $9\% \sim 82\%$ ,当浓度  $> 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时开始急剧下降,差异达显著水平( $p < 0.05$ )(图 4 c)。3 种土壤中,所有同一浓度  $\text{Se(IV)}$  处理下的根表面积均显著高于  $\text{Se(VI)}$  处理。

在黄绵土中,当  $\text{Se(VI)}$  浓度从 0 增加到  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,比根长显著增加了  $34\% \sim 39\%$ ( $p < 0.001$ ),当浓度从  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  增加到  $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,比根长显著减少了  $58\% \sim 70\%$ 。当  $\text{Se(IV)}$  浓度从  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  增加到  $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,比根长显著增加了  $79\% \sim 145\%$ ( $p < 0.001$ ),当浓度从  $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  增加到  $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,比根长显著减少了  $37\% \sim 70\%$ ( $p < 0.001$ ),除了  $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  外,其余浓度下的比根长均高于对照组(图 4 d)。在风沙土中,随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加,比根长减少了  $1\% \sim 76\%$ ,当浓度  $> 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时比根长开始急剧下降,差异达极显著水平( $p < 0.001$ )。随着  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加,比根长减少了  $4\% \sim 62\%$ ,当浓度  $> 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时比根长开始急剧下降,差异达极显著水平( $p < 0.001$ )(图 4 e)。在风沙土+砒砂岩中,随着  $\text{Se(VI)}$  浓度的增加,比根长减少了  $5\% \sim 83\%$ ,当浓度  $\geq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时比根长开始急剧下降,差异达极显著水平( $p < 0.001$ )。当  $\text{Se(IV)}$  浓度从 0 增加到  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,比根长显著增加了  $19\% \sim 32\%$ ,当浓度从  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  增加到  $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,比根长显著减少了  $24\% \sim 76\%$ ( $p < 0.001$ )(图 4 f)。3 种土壤中,同一浓度  $\text{Se(IV)}$  处理下的比根长均高于  $\text{Se(VI)}$  处理。

#### 2.4 不同土壤条件下外源硒(Se)对苜蓿根系不同径级根长分布的影响

在 3 种土壤中,苜蓿直径分级的根长参数以  $0 \sim 0.5 \text{ mm}$  中的最大。在黄绵土中,苜蓿根系直径为  $0 \sim 0.5 \text{ mm}$  时,随着  $\text{Se(VI)}$  添加浓度的增加,总根长减少了  $6\% \sim 92\%$ ;  $0.5 \sim 8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Se(IV)}$  处理下的总根长较对照组增加了  $26\% \sim 51\%$ 。

所有  $\text{Se(IV)}$  处理下的根长均显著大于  $\text{Se(VI)}$  处理,是其  $1.6 \sim 11.8$  倍。根系直径  $> 0.5 \text{ mm}$  时,  $\text{Se(VI)}$  处理下的根长均小于  $\text{Se(IV)}$  处理,且均低于对照组(表 3)。在风沙土中,苜蓿根系直径为  $0 \sim 0.5 \text{ mm}$  时,随着  $\text{Se(VI)}$  和  $\text{Se(IV)}$  浓度的增加,总根长分别减少了  $33\% \sim 94\%$  和  $7\% \sim 88\%$ 。所有  $\text{Se(IV)}$  处理下的根长均显著大于  $\text{Se(VI)}$  处理,是其  $1.4 \sim 7.4$  倍。根系直径  $> 0.5 \text{ mm}$  时,  $0.5 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Se(IV)}$  处理下的根长均小于  $\text{Se(VI)}$  处理(表 4)。在风沙土+砒砂岩中,苜蓿根系直径为  $0 \sim 0.5 \text{ mm}$  时,随着  $\text{Se(VI)}$  和  $\text{Se(IV)}$  添加浓度的增加,总根长分别减少了  $21\% \sim 97\%$  和  $5\% \sim 90\%$ 。所有  $\text{Se(IV)}$  处理下的根长均显著大于  $\text{Se(VI)}$ 。

表 3 黄绵土中不同硒处理下不同直径下的根长分布特征

Se 浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	Se(IV)			Se(VI)		
	$0 < d \leq 0.5$	$0.5 < d \leq 1$	$1 < d$	$0 < d \leq 0.5$	$0.5 < d \leq 1$	$1 < d$
0.0	91.6±8.7	10.9±2.8	0.5±0.2	91.6±8.7	10.9±2.8	0.5±0.2
0.5	86.3±4.7	9.8±2.1	1.2±0.1	138.6±28.7	7.4±1.7	0.8±0.1
1.0	72.2±4.6	8.7±2.1	0.7±0.4	118.2±20.9	8.9±2.6	0.7±0.2
2.0	28.2±11.2	10.1±3.1	0.9±0.1	122.7±3.9	8.4±1.2	0.5±0.1
4.0	19.2±2.8	11.0±2.4	1.2±0.5	124.8±16.1	7.9±1.4	0.5±0.2
8.0	13.6±1.1	10.2±4.2	1.1±0.6	115.5±18.4	7.9±2.3	0.8±0.1
16.0	7.4±1.2	8.7±3.2	1.0±0.3	87.1±11.2	10.4±1.5	0.9±0.1

注:  $d$  表示根系直径,单位 mm。下同。

表 4 风沙土中不同硒处理下不同直径下的根长分布特征

Se 浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	Se(IV)			Se(VI)		
	$0 < d \leq 0.5$	$0.5 < d \leq 1$	$1 < d$	$0 < d \leq 0.5$	$0.5 < d \leq 1$	$1 < d$
0.0	159.5±8.2	11.1±1.6	1.1±0.3	159.5±8.2	11.1±1.6	1.1±0.3
0.5	106.6±23.4	7.0±0.8	0.8±0.4	147.7±22.4	11.5±1.6	0.5±0.2
1.0	83.6±7.1	8.5±1.8	0.7±0.2	139.1±12.3	11.4±1.9	0.7±0.3
2.0	32.6±6.7	8.0±1.9	0.9±0.5	133.9±12.1	9.8±0.8	0.6±0.3
4.0	18.1±0.5	8.4±0.8	1.0±0.3	133.8±13.2	9.3±2.8	0.7±0.2
8.0	10.6±2.7	7.1±0.4	0.7±0.2	46.9±4.1	5.4±0.4	0.6±0.1
16.0	9.2±0.7	6.7±1.3	0.7±0.4	19.9±2.3	2.8±0.9	0.3±0.1

表 5 风沙土+砒砂岩中不同硒处理下不同直径下的根长分布特征

Se 浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	Se(IV)			Se(VI)		
	$0 < d \leq 0.5$	$0.5 < d \leq 1$	$1 < d$	$0 < d \leq 0.5$	$0.5 < d \leq 1$	$1 < d$
0.0	199.1±8.1	11.5±3.6	1.0±0.3	199.1±8.1	11.5±3.6	1.0±0.3
0.5	157.5±29.7	10.2±1.4	1.5±0.1	202.4±16.2	12.5±1.4	1.1±0.6
1.0	111.3±19.3	8.9±0.8	1.3±0.4	190.0±21.4	10.4±1.5	1.5±0.4
2.0	47.5±3.5	7.6±2.1	1.7±0.4	151.1±4.1	8.7±1.4	1.4±0.3
4.0	22.1±3.5	8.3±1.3	1.6±0.3	117.8±3.9	9.2±1.8	1.3±0.4
8.0	10.6±2.4	9.1±1.9	2.2±0.1	61.3±3.8	8.2±1.8	1.4±0.4
16.0	6.8±1.4	7.5±0.1	1.6±0.2	20.2±4.8	6.0±0.1	0.5±0.2

处理, 是其 1.3~5.8 倍。根系直径为  $>0.5$  mm 时,  $0.5\sim 4$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Se(IV) 处理下的根长均小于 Se(VI) 处理(表 5)。

### 3 讨论与结论

研究表明, 硒对植物生长的作用符合一般必需微量元素的生物效应规律, 即适量硒提高植物体内的能量代谢过程, 促进植物生长发育, 而高浓度硒则会对植物产生毒害<sup>[16-17]</sup>。发芽率是种子萌发过程中能直接反映种子萌发状态的生理指标, 发芽势则能表示种子生活力的强弱和种子发芽出苗的整齐度, 二者越高则说明种子的发芽力越强<sup>[18]</sup>。本实验表明, 在 3 种土壤中, Se(VI) 和 Se(IV) 处理对紫花苜蓿种子的最终发芽率没有显著差异。这是由于种子的发芽过程主要利用胚内养分, 外界土壤中的硒对其影响不大<sup>[19]</sup>。王军涛等研究发现, 西红柿、黄瓜、小麦种子在不同浓度铬(Cr(VI)) 处理下发芽率较对照组均没有明显差异<sup>[19]</sup>。

发芽指数可以反映不同形态和添加浓度的硒对种子萌发的促进或胁迫情况。在风沙土和风沙土+砒砂岩中, 2 种外源硒的添加提高了苜蓿种子的发芽指数, 说明在这 2 种土壤环境下, 硒能够改善种子发芽质量。但当添加浓度  $>4$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  后, 发芽指数开始急剧下降, 说明苜蓿种子的发芽指数对硒的响应存在浓度计量效应。添加浓度  $>4$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  会抑制种子发芽, 在风沙土中 Se(VI) 处理下产生的抑制作用高于 Se(IV) 处理, 在风沙土+砒砂岩中情况则相反。而在黄绵土中, 随着 2 种外源硒浓度的增加, 苜蓿种子的发芽指数持续下降, 产生了抑制效应, 且 Se(VI) 处理下的发芽指数高于 Se(IV) 处理。苜蓿种子萌发也与土壤类型有关, 不同类型土壤中苜蓿的发芽指数由高到低为黄绵土  $>$  风沙土+砒砂岩  $>$  风沙土。本实验所用土壤中, 土壤养分含量由高到低为黄绵土  $>$  风沙土+砒砂岩  $>$  风沙土, 良好的土壤养分含量和保水性有利于种子萌发。李雁冰等研究表明, 土壤养分丰富、土壤湿度适宜能够促进棕榈藤种子萌发, 并提高幼苗成活率。风沙土中添加砒砂岩后, 土壤全磷、全钾、全氮和有机质含量均高于纯风沙土<sup>[20]</sup>。摄晓燕等研究表明, 砒砂岩和风沙土以 1:3 比例混合的改良模式可以提高土壤中水分的有效性, 显著减少土壤对磷的吸附, 提高磷的有效性<sup>[21-22]</sup>。

Se(VI) 和 Se(IV) 处理对苜蓿幼苗的生物量及芽长和根长有极显著的抑制效应, 硒浓度的对数值与苜蓿根生长抑制指数之间亦存在正相关性, 硒浓度越大对苜蓿的毒害作用越大。在风沙土中, 当 Se(VI) 和 Se

(IV) 的添加浓度  $>1$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时显著抑制地上部生长; 当 Se(VI) 的添加浓度  $>2$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Se(IV) 的添加浓度  $>4$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时显著抑制地下部生长。在风沙土+砒砂岩中, 当 Se(VI) 和 Se(IV) 的添加浓度  $>2$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时显著抑制地上部生长; 当 Se(VI) 的添加浓度  $>2$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Se(IV) 的添加浓度  $>4$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时显著抑制地下部生长。而在黄绵土中, 低浓度 Se(IV) 处理对苜蓿根长有促进作用, 当 Se(IV) 的添加浓度  $>4$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时开始产生抑制, 说明在该土壤条件下, Se(IV) 对苜蓿生长呈现低促高抑效应。孟祥等研究表明, 低浓度硒对烟草生长有刺激效应, 而过量施用则对烟草生长产生毒害作用<sup>[23]</sup>。王永勤等研究表明, 硒对植物生物量表现为低浓度促进、高浓度抑制<sup>[24]</sup>。Se(VI) 对植物的抑制作用均强于 Se(IV), 尤其是对地下部, Se(VI) 处理下的根长和地下部生物量都显著低于 Se(IV) 处理。从半效应计量 ( $\text{EC}_{50}$ ) 也可以看出, Se(VI) 的生理毒性大于 Se(IV)。这与孙汉文等<sup>[15]</sup> 的研究结果一致。与亚硒酸盐相比, 硒酸盐的生物有效性高, 作物对其的吸收量远远大于亚硒酸盐。在硒酸盐处理中, 植物根系吸收的六价硒大多数直接沿木质部向地上部运输, 反映出较高的转运系数和地上部硒含量<sup>[25-27]</sup>; 而植物对亚硒酸盐的吸收主要依赖磷酸盐转运子, 其被植物根系吸收后主要在根部转化为大分子有机硒(如硒代甲硫氨酸), 一部分向地上部转运, 一部分在根部积累<sup>[28-30]</sup>。Arvy 等<sup>[31]</sup> 研究显示, 硒酸盐处理的菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) 中, 根系吸收的 50% 硒酸盐由根部转移到了植物地上部; 而亚硒酸钠处理的植株中, 大部分硒累积在根部, 只有极少部分硒在地下部积累。Smith 等研究表明, 亚硒酸盐处理的植物其地下部的硒形态处于不活跃的状态<sup>[32]</sup>。土壤-植物体系中硒的形态变化和转运过程可能是导致硒在植物生长中起促进或抑制作用的关键过程, 这有待进一步研究。

本研究测定了不同土壤类型以及外源硒添加形态和浓度下紫花苜蓿的发芽率、发芽指数、生物量及幼苗芽长和根系形态, 结果发现, 虽然不同土壤类型和硒处理对紫花苜蓿种子最终的发芽率没有显著影响, 但低浓度硒处理 ( $0\sim 4$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 在风沙土和风沙土+砒砂岩中增加了苜蓿的种子活力。Se(VI) 和 Se(IV) 处理对苜蓿生长有抑制作用, 不同的土壤类型和外源硒添加形态有不同的抑制浓度节点, 且硒浓度越高抑制作用越明显, Se(VI) 处理下的抑制作用显著强于 Se(IV) 处理。在本实验条件下的 3 种土壤中, 适宜的 Se(VI) 和 Se(IV) 添加量范围分别为  $0\sim 2$   $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  和

0~4 mg·kg<sup>-1</sup>。在进行硒处理的时候,应针对不同的土壤分别采取适宜的添加形态和浓度。

#### 参考文献:

- [1] Brown K M, Arthur J R Selenium, Selenoproteins and human health; a review[J]. Public Health Nutrition, 2001, 4: 593-599.
- [2] 何士敏, 张燕, 易涵. 硒浸种对豌豆种子萌发的生理生化效应[J]. 种子, 2012, 31(02): 42-47.
- [3] 吴永尧, 彭振坤, 陈建英, 等. 水稻对环境硒的富集和耐受能力研究[J]. 微量元素与健康研究, 1999, 16(4): 42-44.
- [4] Combs G F. Selenium in global food systems[J]. British Journal of Nutrition, 2001, 85: 517-547.
- [5] 田春丽, 李斌, 刘芳, 等. 硒、锌元素配施对紫花苜蓿产量、植株体内硒锌积累和氨基酸含量的影响[J]. 草业学报, 2019, 28(3): 142-153.
- [6] Blazina T, Sun Y, Voegelin A, et al. Terrestrial selenium distribution in China is potentially linked to monsoonal climate[J]. Nature Communications, 2014, 5: 4717.
- [7] 郭秋菊, 王志鸣, 邓桢珍. 不同浓度亚硒酸钠溶液对水杉种子萌发的影响[J]. 广西植物, 2018, 38(10): 63-69.
- [8] 翁伯琦, 黄东风, 熊德中, 等. 硒肥对豆科牧草圆叶决明生长和植株养分含量及其固氮能力的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(6): 1056-1060.
- [9] 胡华锋, 介晓磊, 郭孝, 等. 喷施微肥对紫花苜蓿营养品质的影响[J]. 中国草地学报, 2007, 29(2): 107-111.
- [10] 曾维超, 梁天麟, 罗金玲, 等. 硒酸钠和鸭绿酸奶对甘蓝种子萌发及生长生理特性的影响[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2018, 31(4): 03-05.
- [11] 胡华锋, 刘太宇, 郭孝, 等. 基施硒肥对不同生育期紫花苜蓿吸收、转化及利用硒的影响[J]. 草地学报, 2015, 01: 101-106.
- [12] Owusu-Sekyere A, Kontturi J, Hajiboland R, et al. Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. Plant and Soil, 2013, 373: 541-552.
- [13] 刘芳, 胡华锋, 刘岷, 等. 基施硒肥对紫花苜蓿草产量及抗氧化作用的影响[J]. 草地学报, 2013, 01: 109-113.
- [14] He H H, Bleby T M, Veneklaas E J, et al. Arid-zone Acacia species can access poorly soluble iron phosphate but show limited growth response[J]. Plant and Soil, 2012, 358: 119-130.
- [15] 孙汉文, 李朝昉, 梁淑轩, 等. 硒对铬胁迫下蔬菜幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1): 63-68.
- [16] 崔科飞, 代惠萍, 朱佳妮, 等. 硒胁迫对大叶紫花苜蓿生理特性的影响[J]. 作物杂志, 2016(4): 133-136.
- [17] 薛瑞玲, 梁东丽, 吴雄平, 等. 亚硒酸钠和硒酸钠对小白菜生长生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2010, 30(5): 974-980.
- [18] 韩建国. 牧草种子学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000.
- [19] 王军涛, 吴文勇, 刘洪禄, 等. 土培条件下重金属 Cr(VI) 对作物种子发芽影响的实验研究[J]. 灌溉排水学报, 2010, 29(6): 34-36.
- [20] 李雁冰, 陈本学, 刘广路, 等. 棕榈藤天然更新影响因子及人工促进更新研究综述[J]. 世界竹藤通讯, 2018, 84(4): 56-60.
- [21] 摄晓燕, 魏孝荣, 马天娥, 等. 砒砂岩改良风沙土对磷的吸附特性影响研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2015(5): 1373-1380.
- [22] 摄晓燕, 张兴昌, 魏孝荣. 适量砒砂岩改良风沙土的吸水和保水特性[J]. 农业工程学报, 2014(14): 115-123.
- [23] 孟祥. 硒对烟草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 535(30): 31-33.
- [24] 王永勤, 曹家树, 李建华, 等. 施硒对大蒜产量和含硒量的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(5): 425-429.
- [25] Li C X, Cao H. The research overview of the nutrition characteristics, absorption and transformation of the plant selenium[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2006, 27(4): 72-76.
- [26] White P J. Selenium accumulation by plants[J]. Annals of Botany, 2016, 117(2): 217-235.
- [27] Thavarajah P, Vial E, Gebhardt M, et al. Will selenium increase lentil (*Lens culinaris* Medik.) yield and seed quality? [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 1-9.
- [28] Keskinen R, Turakainen M, Hartikainen H. Plant availability of soil selenate additions and selenium distribution within wheat and ryegrass[J]. Plant and soil, 2010, 333(1-2): 301-313.
- [29] 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, 182(1): 49-84.
- [30] de Souza M P, Pilon-Smits E A H, Lytle C M, et al. Rate-limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian mustard[J]. Plant Physiology, 1998, 117(4): 1487-1494.
- [31] Arvy M P. Selenate and selenite uptake and translocation in bean plants (*Phaseolus vulgaris*) [J]. Journal of Experimental Botany, 1993, 44: 1083-1087.
- [32] Smith G S, Watkinson J H. Selenium toxicity in perennial ryegrass and white clover[J]. New Phytologist, 2010, 97(4): 557-564.