

引用格式:

唐俊杰, 肖孔操, 段鹏鹏, 李德军, 刘永贤. 外源施硒对小白菜硒富集与土壤生物活性的影响 [J]. 农业现代化研究, 2021, 42(4): 755-763.

Tang J J, Xiao K C, Duan P P, Li D J, Liu Y X. Effects of selenium fertilization on selenium uptake of pakchoi and soil biological activities[J]. Research of Agricultural Modernization, 2021, 42(4): 755-763.

DOI: 10.13872/j.1000-0275.2021.0083



外源施硒对小白菜硒富集与土壤生物活性的影响

唐俊杰^{1,2,3}, 肖孔操^{1,2*}, 段鹏鹏^{1,2}, 李德军^{1,2}, 刘永贤⁴

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南 长沙 410125; 2. 中国科学院环江喀斯特生态系统观测研究站, 广西 环江 547100; 3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 广西壮族自治区农业科学院农业资源与环境研究所, 广西 南宁 530007)

摘要: 硒是人和动物生长发育必需的微量营养元素, 具有增强免疫、抗癌及抗衰老等功效, 但同时也是一种环境毒素。外源施硒是提高作物硒浓度的常见措施, 然而目前其对土壤生物活性方面的影响关注较少。本研究采用盆栽试验, 探讨了不同形态(亚硒酸钠、氨基酸螯合态硒)与水平(土壤硒含量 3 mg/kg 和 6 mg/kg)硒肥施用对小白菜硒富集、土壤微生物群落及酶活性的影响。结果表明: 1) 外源硒添加水平越高, 小白菜硒富集效果越明显。同等硒添加水平下, 亚硒酸钠处理小白菜硒富集的效果显著优于氨基酸螯合态硒处理。2) 外源硒低量施用对土壤微生物生物量没有显著影响, 高量施用显著降低土壤微生物生物量。3) 高低量亚硒酸钠施用对土壤 β -乙酰葡萄糖胺糖苷酶(NAG)与碱性磷酸酶(ALP)活性影响均不明显; 氨基酸螯合态硒则是在低量施用时无影响而高量施用时显著提升土壤 NAG、ALP 酶活性。总体而言, 外源施硒对小白菜硒富集的影响与硒形态和硒施用水平密切相关, 而对土壤生物活性的影响则取决于硒施用水平而非硒形态。

关键词: 亚硒酸钠; 氨基酸螯合态硒; 小白菜; 土壤微生物群落结构; 土壤酶活性

中图分类号: S181

文献标识码: A

文章编号: 1000-0275(2021)04-0755-09

Effects of selenium fertilization on selenium uptake of pakchoi and soil biological activities

TANG Jun-jie^{1,2,3}, XIAO Kong-cao^{1,2}, DUAN Peng-peng^{1,2}, LI De-jun^{1,2}, LIU Yong-xian⁴

(1. Key Laboratory for Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 2. Huanjiang Observation and Research Station for Karst Ecosystem, Chinese Academy of Sciences, Huanjiang, Guangxi 547100, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Institute of Agricultural Resources and Environment, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China)

Abstract: Selenium (Se), an essential trace element for human and animals, plays important roles in enhancing immunity, fighting cancer and aging, but it is also an environmental toxicant. Application of Se-containing fertilizers is a common practice to increase Se concentration of crops. So far, however, little attention has been paid to the impact of Se application on soil biological activities. A pot experiment was conducted to investigate the effects of Se application on Se accumulation in pakchoi, soil microbial community and enzyme activities. Se was applied with different forms (i.e. selenite and amino acid-chelated Se) and levels (0, 3 and 6 mg/kg soil). The results showed that 1) Se accumulation in pakchoi increased with the application rates of exogenous Se. At the same level of Se addition, more Se accumulation in pakchoi was observed under selenite than under amino acid-chelated Se treatments. 2) No significant responses of soil microbial biomass were observed to lower rate of Se fertilization, while higher rate of Se fertilization significantly reduced soil microbial biomass. 3) Applications of selenite with both 3 and 6 mg/kg soil had no significant effects on the activities of soil β -N-acetylglucosaminidase (NAG) and alkaline phosphatase (ALP). For amino acid-chelated Se application, lower rate did not alter but higher rate significantly stimulated the activities of soil NAG and ALP. Overall, the effect of Se fertilization on Se accumulation of pakchoi is highly dependent on both Se form and its application rate, while the impact of Se fertilization on soil biological activities largely depends on Se application rate, rather than Se form.

Key words: Selenite; amino acid-chelated selenium; pakchoi; soil microbial community; soil enzyme activity

基金项目: 广西科技重大专项(AA17202026-4)。

作者简介: 唐俊杰(1996—), 男, 湖南株洲人, 硕士研究生, 主要从事作物硒素利用等方面的研究, E-mail: 348430799@qq.com; 通信作者: 肖孔操(1984—), 男, 湖南郴州人, 博士, 副研究员, 主要从事生物地球化学方面的研究, E-mail: xiaokongcao@isa.ac.cn。

收稿日期: 2021-01-08, 接受日期: 2021-04-20

Foundation item: Science and Technology Major Project of Guangxi (AA17202026-4).

Corresponding author: XIAO Kong-cao, E-mail: xiaokongcao@isa.ac.cn.

Received 8 January, 2021; Accepted 20 April, 2021

硒是人和动物必需的微量营养元素, 其在提高机体免疫力、延缓细胞老化及防癌抗癌等方面都具有非常重要的作用^[1]。人体对硒的摄取主要来自于日常饮食, 因而提高食物中的硒含量对于改善人体硒营养状况具有重要意义。植物从土壤中吸收硒是硒进入食物链的第一步。鉴于全球大部分地区土壤含硒量低或生物有效性低, 导致进入食物链中的硒水平整体较低, 国际上普遍通过外源施硒等措施来提高作物硒含量, 即生物强化 (biofortification)^[2-5]。近年来, 国内外学者从不同化学价态 (如硒酸盐 SeO_4^{2-} 和亚硒酸盐 SeO_3^{2-})^[6-8]、不同添加浓度^[9-11]及不同施用方式 (如叶施和土施)^[12-13] 等方面就外源施硒对作物生长、产量与品质、硒吸收与转运的影响开展了大量的研究。另一方面, 硒具有生物毒性, 过量摄取会导致硒中毒, 不同价态和形态硒的毒性也存在明显差异。迄今为止, 外源施硒是否以及如何影响土壤生物活性这方面的关注严重不足。以往在农业生产上常用的硒肥多为无机形态硒, 包括亚硒酸钠和硒酸钠, 但存在毒性强、肥料利用率低等问题。近年来, 有机态硒肥凭借其低毒、环保等方面的优势在生产应用中逐渐受到重视^[14-16]。不同形态的硒肥施用对土壤生物活性的影响是否存在差异目前尚不明确。

外源施硒会对土壤生物活性 (如微生物生物量、群落结构、代谢等) 产生何种影响, 目前相关认识十分缺乏。土壤微生物是土壤的重要组成部分, 其在有机质分解、养分转化与循环等方面起着关键性的作用, 也是表征土壤肥力水平与生态环境质量的主要指标之一^[17-18]。樊俊等^[19]发现亚硒酸钠和硒酸钠在施用水平为 5~10 mg/kg 时可促进植烟土壤微生物数量增加, 而施用水平达到 30 mg/kg 时, 可导致土壤细菌和真菌数量下降。戴志华与涂书新^[20]指出, 外源硒高量施用 (20 mg/kg) 可抑制水稻土微生物多样性和丰度。程勤等^[21]采用高通量测序技术研究发现, 施用亚硒酸钠显著影响油菜根际土壤细菌群落结构, 但对真菌群落结构影响不明显。由此可见, 低量的外源施硒对土壤微生物生长有一定的促进作用, 而高量外源施硒施用则可能会抑制土壤微生物。然而, 以往研究均采用无机硒, 而有机态硒对土壤微生物的影响尚未见公开报道, 有机态硒施用与传统的无机施硒效果是否存在差异尚未可知。

为此, 本研究选择两种硒肥类型 (亚硒酸钠和氨基酸螯合态硒), 并设置两种不同浓度水平 (土壤硒含量 3 mg/kg 和 6 mg/kg), 以常见蔬菜小白菜

作为栽培作物, 在研究不同形态与水平硒肥施用对小白菜硒富集影响的同时, 探讨了土壤生物活性的响应特征, 以期富硒蔬菜生产实践与科学施硒提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试小白菜 (*Brassica chinensis* L.) 选择当地主栽品种“早熟 5 号”。供试土壤为石灰土, 采自广西环江县中国科学院环江喀斯特农业生态试验站试验田。采用多点取样法采集表层 0~20 cm 土壤, 自然风干后研磨过 2 mm 筛。土壤 pH 值 7.63, 有机碳含量 34.15 g/kg, 全氮含量 3.23 g/kg, 有效磷含量 15.2 mg/kg, 粘粒 19.7%, 粉粒 72.7%, 沙粒 7.6%, 全硒含量 0.89 mg/kg。亚硒酸钠 (Na_2SeO_3) (分析纯, 纯度 >98%), 购自于 Sigma-Aldrich 公司。氨基酸螯合态硒 (以下简称“螯合硒”) 由广西壮族自治区农业科学院农业资源与环境研究所提供, 是将亚硒酸钠与氨基酸溶液经一定配比和工序螯合而成, 硒含量为 2 088.1 mg/L, 有机硒含量占 94.8%^[22]。

1.2 试验设计

本研究采用盆栽试验, 在广西河池市环江县中国科学院环江喀斯特农业生态试验站进行。实验共设置 5 个硒添加处理, 包括加清水 (对照)、亚硒酸钠 L1 (土壤硒含量 3 mg/kg)、螯合硒 L1 (土壤硒含量 3 mg/kg)、亚硒酸钠 L2 (土壤硒含量 6 mg/kg)、螯合硒 L2 (土壤硒含量 6 mg/kg), 以上硒添加水平均指纯硒浓度, 每个处理设置 5 个重复。本试验中硒肥施用量参考杜振宇等^[23]研究以及当地富硒蔬菜生产中的实际用量确定。具体试验方法为: 选择直径 22 cm、深度为 25 cm 的塑料盆, 每盆装土 5.7 kg, 施入底肥 (10 g 复合肥 + 500 g 腐熟牛粪) 混匀。将亚硒酸钠用去离子水配成溶液, 氨基酸螯合态硒则按相应比例稀释以后加入土壤中拌匀。土壤装盆平衡 72 h 后, 将提前育苗的 5 株小白菜幼苗移栽至花盆中。待幼苗长出第三片叶后, 再间苗至每盆 1 株。整个试验期间植株均在自然光照条件下生长, 其他管理措施按当地习惯进行。间苗 40 d 后, 将小白菜按地上和根系分别收获, 用去离子水洗净表面附着泥土后, 烘干称重, 记录干物质质量, 然后用球磨仪粉碎过 0.15 mm 筛, 分析其中的硒含量。将各处理盆栽土壤过 2 mm 筛, 剔除细根与石子后混匀, 经冷冻干燥的 8 g 土壤用于测定土壤微生物群落结构 (PLFA 法), 其余鲜土于 4 °C 冰箱中保存, 用于测定土壤酶活性。

1.3 测定方法

土壤 pH 采用 pH 计测定 (土水比 1:2.5); 有机碳 (SOC) 含量用重铬酸钾容量法; 全氮采用凯氏定氮法; 土壤颗粒组成用激光粒度仪测定; 植物硒用氢化物发生-原子荧光光谱法 (北京吉天 HG-AFS830 原子荧光分光光度计) 测定; 土壤 PLFA 测定方法如下: 用经冷冻干燥的 8 g 土壤, 进行样品的浸提、分离、酯化、萃取, 再用 N₂ 吹干, 最后用加内标的正己烷溶解。以 19:0 甲酯作为内标物, 在气相色谱仪上采用 MIDI 软件识别各种 PLFA 组分, 并测定含量^[24]。最后将各类 PLFA 划分为细菌、真菌、放线菌、原生动物与绿藻。土壤 β -乙酰葡萄糖胺糖苷酶 (NAG) 与碱性磷酸酶 (ALP) 活性使用酶标仪测定, 测定方法参考文献 [25]。

1.4 数据分析

用 Excel 2019 软件整理数据并进行作图; 用 SPSS 16.0 软件 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 进行统计分析, 在统计分析前检验所有数据的正态性与同质性。采用方差分析 (ANOVA) 确定不同硒添加处理间小白菜生物量、硒浓度、富集转运系数、土壤微生物量、群落结构和土壤酶活性的差异是否显著, 并在 $P < 0.05$ 水平下检验差异显著性。采用皮尔森相关性分析确定土壤微生物群落 PLFA 含量、土壤酶活性与小白菜硒浓度之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 小白菜生物量

如图 1 所示, 不同形态与水平硒添加对小白菜地上和根系生物量的影响不一。与对照相比, 3 mg/kg 亚硒酸钠处理对小白菜地上生物量没有显著影响, 而 6 mg/kg 亚硒酸钠处理小白菜地上部分生物量显著降低, 降幅达 30% (图 1A)。两个水平的螯合硒添加均未对小白菜地上部分生物量产生显著影响 (图 1A)。另一方面, 两个水平亚硒酸钠添加对小白菜根系生物量均没有显著影响, 而 3 mg/kg 螯合硒处理小白菜根系生物量显著高于对照 (图 1B)。这与吴雄平等^[26]的研究结果有所不同, 其用西北红油土 (pH=7.75) 进行盆栽试验发现, 亚硒酸钠添加量在 <10 mg/kg 时, 其对小白菜生长均表现出促进效果; 当亚硒酸钠添加量达到 60 mg/kg 时, 对小白菜根系生长才有明显抑制。可见小白菜在西北红油土中生长时对亚硒酸钠毒性的耐受能力要远高于在西南石灰土中。此外, Cartes 等^[27]用火山灰土 (pH=5.75) 进行盆栽试验发现, 亚硒酸钠添加量在 10 mg/kg 以内, 其对黑麦草生长没有显著影响。以

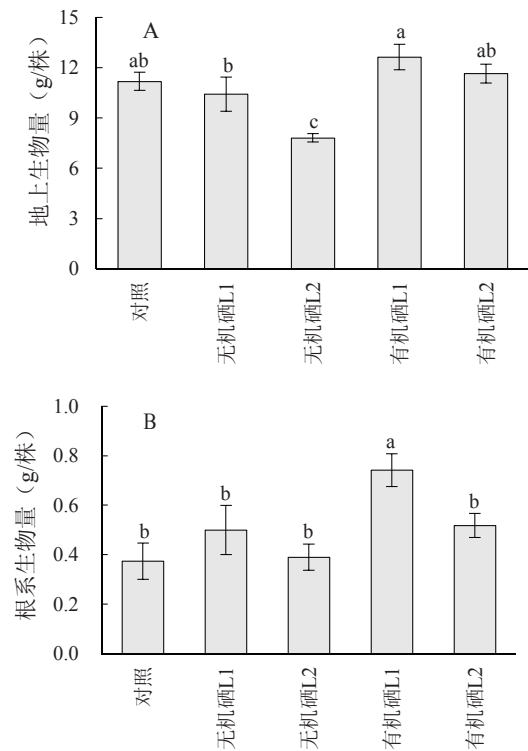


图 1 不同形态与水平硒添加对小白菜生物量的影响

Fig. 1 The effects of applying exogenous Se fertilizers with different forms and levels on the biomass of pakchoi

注: 数据为平均值 \pm 标准误 ($n=5$), 不同字母表示不同外源硒添加处理间在 5% 水平差异显著, 下同。

上表明, 不同的植物种类以及外界环境 (如土壤性质) 可对外源施硒效应造成极大的影响。

2.2 小白菜硒富集与转运

不同形态与水平外源施硒对小白菜硒富集的影响也有所差异 (图 2)。与对照相比, 亚硒酸钠处理小白菜地上硒浓度有显著提升, 而螯合硒处理地上部分硒浓度虽然也有一定程度的增加, 但并未达到统计差异显著水平 ($P > 0.05$, 图 2A)。相同施用水平条件下, 亚硒酸钠处理小白菜地上硒浓度显著高于螯合硒处理 (图 2A), 表明亚硒酸钠施用后对小白菜的生物可利用性更高。此外, 外源施硒处理下小白菜根系硒浓度均显著高于对照 (图 2B)。相同施用水平条件下, 亚硒酸钠和螯合硒处理小白菜根系硒浓度无显著差异 (图 2B)。从整株角度来看, 两个水平亚硒酸钠处理均显著提升小白菜硒浓度, 螯合硒处理则仅在施用水平达到 6 mg/kg 时才显著促进小白菜硒富集 ($P < 0.05$, 图 2C)。杜振宇等^[23]利用棕壤进行的一项盆栽研究结果表明, 当亚硒酸钠施用量为 3 mg/kg 和 6 mg/kg 时, 整株小白菜硒平均浓度可分别达到 4.34 mg/kg 和 8.02 mg/kg。而本试验中, 3 mg/kg 与 6 mg/kg 亚硒酸钠施用处理整株小白菜平均硒浓度分别仅为 0.40 ± 0.05 mg/kg 与

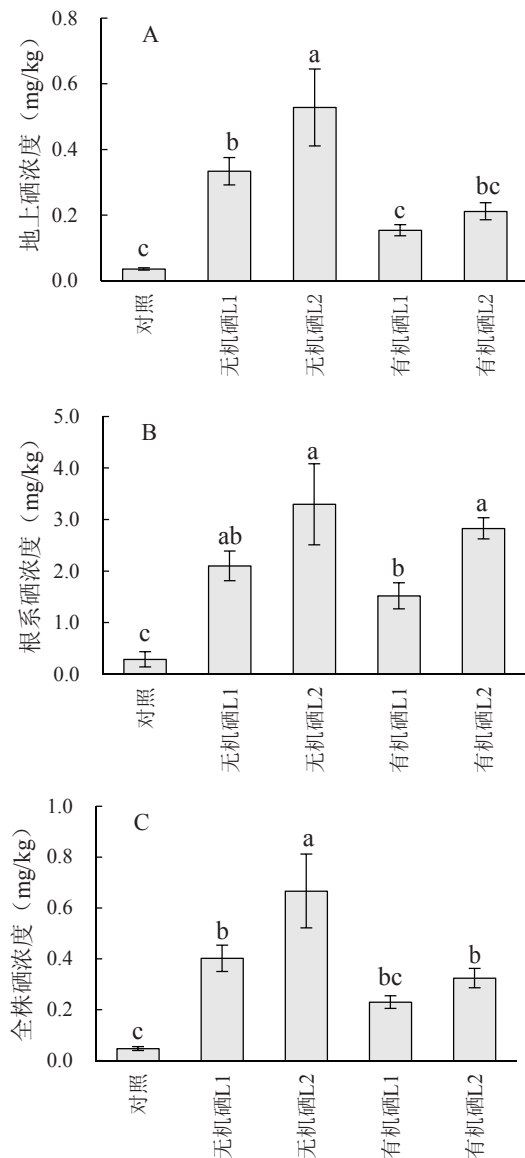


图 2 不同形态与水平硒添加对小白菜硒浓度的影响

Fig. 2 The effects of applying exogenous Se fertilizers with different forms and levels on Se concentration in pakchoi

0.67 ± 0.15 mg/kg (图 2C)。造成如此差异的原因一方面可能与所采用土壤的理化性质有关。如本研究所采用的石灰土有机碳含量 (34.15 g/kg) 远高于杜振宇等^[23]所采用的棕壤 (5.28 g/kg)。以往研究证实,

土壤有机碳对硒具有较强的固定作用^[28], 因而高量的土壤有机碳可导致硒的植物可利用性大幅降低。另一方面可能与不同小白菜品种之间本身对硒的富集能力存在巨大差异有关。如有前人研究发现, 不同品种大豆之间的硒累积能力可相差达数十倍^[29]。

本研究进一步计算了生物富集系数 (BCF, 小白菜硒浓度与土壤硒浓度的比值) 与转运系数 (TF, 小白菜地上部分硒浓度与根系硒浓度的比值)。BCF 和 TF 可分别用来表征小白菜从土壤中吸收富集能力的强弱和硒从根系向地上部分迁移的能力^[30-31]。如表 1 所示, 亚硒酸钠处理 BCF_{地上部/土壤} 值要显著高于螯合硒和对照处理。不同水平亚硒酸钠处理之间 BCF_{地上部/土壤} 值无显著差异, 这与 Li 等^[31] 的研究发现一致。本研究中小白菜硒转运系数 (TF) 值平均在 0.08~0.20 之间, 处于较低水平^[30], 这表明亚硒酸盐和螯合态硒被小白菜根系吸收后极易在根部固定以致向地上部分转运不足^[32]。

2.3 土壤微生物生物量与群落结构

如图 3 所示, 与对照相比, 3 mg/kg 亚硒酸钠与 3 mg/kg 螯合硒两个处理土壤总 PLFA 含量没有显著变化, 而 6 mg/kg 亚硒酸钠和 6 mg/kg 螯合硒两个处理土壤总 PLFA 含量均显著降低, 降幅分别达到 22% 和 16% (图 3A)。土壤细菌 PLFA 含量变化趋势与总 PLFA 含量类似, 6 mg/kg 亚硒酸钠和 6 mg/kg 螯合硒两个处理相比对照细菌 PLFA 含量降幅分别达到 22% 和 17% (图 3B)。土壤真菌 PLFA 含量仅在 6 mg/kg 亚硒酸钠处理下有显著下降, 降幅达 30%, 而其余三个硒添加处理与对照相比无显著差异 (图 3C), 这表明高浓度亚硒酸钠可对真菌产生较强的抑制作用。土壤放线菌 PLFA 含量在两个水平亚硒酸钠处理下均显著低于对照, 降幅分别为 11% 和 19%, 而螯合硒仅在 6 mg/kg 添加条件下显著降低放线菌 PLFA 含量, 降幅 15% (图 3D)。土壤原生动物 PLFA 含量仅在 6 mg/kg 亚硒酸钠处理下显著低于对照, 降幅高达 36%, 其余三个施硒处理与对照相比无显著差异 (图 3E)。当两种形态

表 1 不同形态与水平硒添加处理的小白菜生物富集系数 (BCF) 与转移系数 (TF)

Table 1 The bioconcentration factors and translocation factors of pakchoi as affected by applying exogenous Se fertilizers with different forms and levels

硒处理	BCF _{地上部/土壤}	BCF _{根系/土壤}	BCF _{整株/土壤}	TF _{地上部/根系}
对照	0.04±0.01 b	0.16±0.03 b	0.06±0.01 bc	0.20±0.13 a
亚硒酸钠 L1	0.16±0.06 a	0.68±0.12 a	0.19±0.06 a	0.18±0.04 a
亚硒酸钠 L2	0.12±0.02 a	0.58±0.08 a	0.15±0.01 ab	0.16±0.03 ab
螯合硒 L1	0.06±0.02 b	0.63±0.11 a	0.10±0.01 bc	0.12±0.05 ab
螯合硒 L2	0.03±0.01 b	0.43±0.06 ab	0.05±0.01 c	0.08±0.02 b

注: 表中数据为平均值 ± 标准误 (n=5), 不同小写字母表示不同外源硒添加处理间在 5% 水平差异显著, 下同。

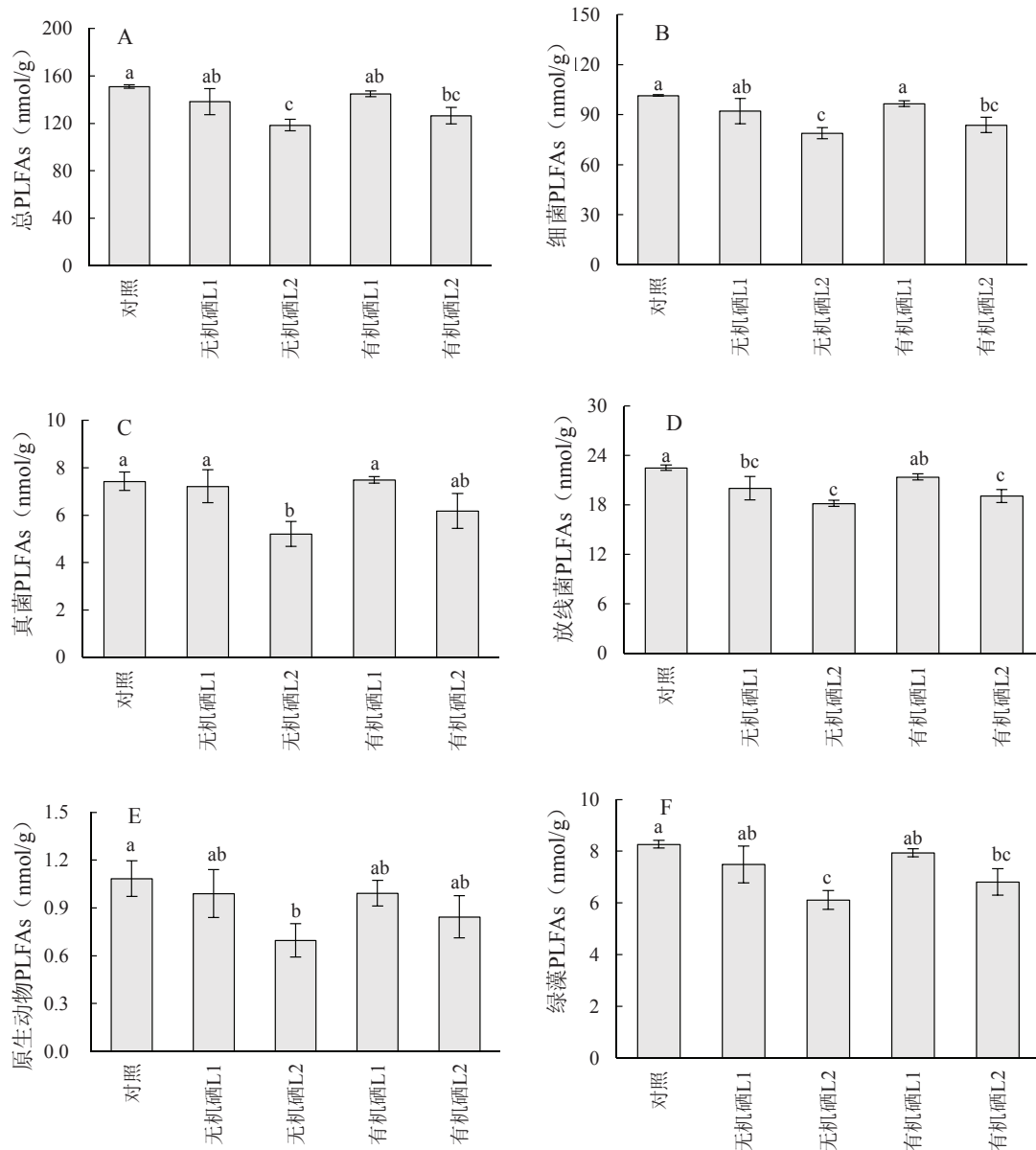


图3 不同形态与水平硒添加对土壤微生物群落的影响

Fig. 3 The effects of applying exogenous Se fertilizers with different forms and levels on soil microbial community

硒施用量为 3 mg/kg 时，土壤绿藻 PLFA 含量与对照相比无显著差异，但在施用水平达到 6 mg/kg 时，土壤绿藻 PLFA 含量均显著低于对照（图 3F）。

不同形态与水平外源硒施用下，土壤微生物群落结构组成也发生一定变化（表 2）。与对照相比，6 mg/kg 螯合硒处理显著降低细菌在微生物群落中的占比，而 6 mg/kg 亚硒酸钠处理显著降低绿藻在微生物群落中的占比。相比 3 mg/kg 亚硒酸钠处理，6 mg/kg 亚硒酸钠处理显著降低土壤真菌占比而提高放线菌占比。两个不同水平的螯合硒添加处理之间土壤微生物群落组成则未见明显差异。原生动物在微生物群落中的占比在不同硒处理之间未发现明显变化。

2.4 土壤酶活性

NAG 酶和 ALP 酶是参与土壤关键养分氮和磷转化的主要酶类^[33-34]。如图 4 所示，与对照相比，两个水平亚硒酸钠施用对土壤 NAG 与 ALP 酶活性均未产生显著影响。这与 Nowak 等^[35]的结果相符合，其发现外源硒施用水平在 3.95~39.5 mg/kg 时，对土壤磷酸酶活性都没有显著影响。此外，吴雄平等^[36]的盆栽实验结果也证实，0~20 mg/kg 亚硒酸钠与硒酸钠对小白菜土壤磷酸酶活性无显著影响。另一方面，3 mg/kg 螯合硒处理对土壤 NAG、ALP 酶活性也没有显著影响，而 6 mg/kg 螯合硒处理土壤 NAG、ALP 酶活性均有显著增加（图 4），可见无机态硒和螯合态硒对土壤酶活性存在不同影响。

表 2 不同形态与水平硒添加处理下土壤微生物各类群占比 (%)

Table 2 The effects of applying exogenous Se fertilizers with different forms and levels on the proportion of soil microbial groups

处理	细菌	真菌	放线菌	原生动物	绿藻	其他
对照	67.13±0.39 a	4.91±0.22 ab	14.87±0.10 ab	0.71±0.07	5.47±0.06 a	6.91±0.13 a
亚硒酸钠 L1	66.58±0.18 ab	5.19±0.11 a	14.52±0.27 b	0.71±0.06	5.39±0.09 ab	7.61±0.17 ab
亚硒酸钠 L2	66.67±0.24 ab	4.36±0.33 b	15.41±0.39 a	0.58±0.08	5.15±0.11 b	7.83±0.06 ab
螯合硒 L1	66.66±0.17 ab	5.17±0.06 a	14.77±0.14 ab	0.68±0.05	5.48±0.05 a	7.24±0.10 b
螯合硒 L2	66.35±0.06 b	4.82±0.38 ab	15.15±0.30 ab	0.65±0.08	5.37±0.13 ab	7.66±0.27 c

注：其他表示未能明确归类的 PLFA。

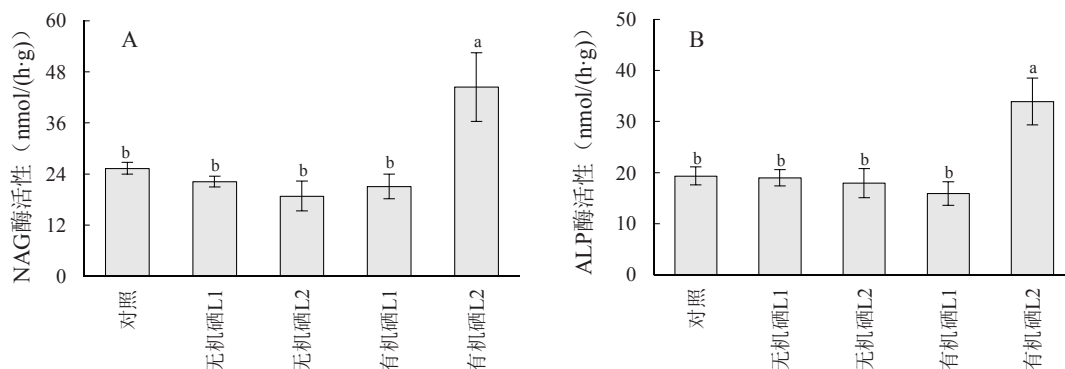


图 4 不同形态与水平硒添加对土壤 NAG 和 ALP 酶活性的影响

Fig. 4 The effects of applying exogenous Se fertilizers with different forms and levels on the soil NAG and ALP enzyme activities

与本研究结果类似，史雅静等^[37]通过室内培养实验研究发现，亚硒酸钠添加量 < 30 mg/kg 时，土壤磷酸酶活性与对照相比没有显著变化；而施用有机态硒（硒代蛋氨酸）< 30 mg/kg 时，对土壤磷酸酶有不同程度的激活作用。高量的螯合硒处理之所以显著增加土壤 NAG 酶和 ALP 酶活性，可能是因为螯合硒溶液含有较高浓度的游离氨基酸，在高量添加的情况下刺激土壤微生物分泌大量分解氨基酸的酶（即 NAG 酶）。微生物在氮供应充足的情况下，对磷的需求也随之增加，进而大量分泌磷酸酶以便从土壤中获取磷。

2.5 土壤生物活性与小白菜硒吸收的相互关系

如表 3 所示，小白菜根系硒浓度与土壤微生物群落总 PLFA 含量呈显著负相关 ($P < 0.05$)，具

表 3 土壤生物活性与小白菜硒浓度间的相关性

Table 3 Correlations between soil biological activities and selenium concentration in pakchoi.

项目	根系硒浓度	地上硒浓度
总 PLFAs	-0.51*	-0.24
细菌 PLFAs	-0.52*	-0.25
真菌 PLFAs	-0.43	-0.14
放线菌 PLFAs	-0.53*	-0.23
原生动物 PLFAs	-0.41	-0.12
绿藻 PLFAs	-0.51*	-0.28
土壤 NAG 酶活性	0.07	0.41
土壤 ALP 酶活性	0.12	0.37

注：* 表示相关性达到 $P < 0.05$ 显著水平。

体到各土壤微生物群落，小白菜根系硒浓度与土壤细菌、放线菌、绿藻 PLFA 含量呈显著负相关关系 ($P < 0.05$)。小白菜地上硒浓度与土壤微生物各群落 PLFA 含量均无显著相关性。这一方面可能与微生物与小白菜在硒吸收上形成直接竞争有关^[38]。另一方面则可能是因为微生物活动一定程度上促进了硒挥发损失^[39]，使得土壤中硒的有效性降低，进而引起植物吸收减少。土壤 NAG 与 ALP 酶活性与小白菜硒浓度之间未发现显著相关性。

3 讨论

3.1 外源硒添加对小白菜硒富集的影响

植物对硒的吸收、运移与代谢机制等方面的认识迄今尚不完全明晰^[32, 40-42]。一般认为，植物根系可以吸收利用的硒形态主要有硒酸盐、亚硒酸盐以及部分有机硒复合物，如硒代蛋氨酸 (SeMet) 等^[30]。硒酸盐主要是通过根系细胞膜中的硫转运蛋白与转运通道^[43-44]，而亚硒酸盐则更有可能是通过磷转运通道进入到植物体内^[43]。亚硒酸盐进入根系细胞后，能够迅速转化成有机硒并在根部累积；而硒酸盐进入根系细胞后，很少会被转化成有机硒而大多转移到植物地上部分^[27, 45-46]。本试验结果表明，外源施硒不同程度提高了小白菜植株硒浓度（图 2），这与以往的研究发现一致^[6, 47-48]。小白菜根系硒浓度总体上要高出其地上部分硒浓度一个数量级以上，说

明小白菜从土壤中吸收的硒绝大部分被固定在根系而不是向地上部分转运。根据《GH/T 1135-2017 富硒农产品行业标准》：蔬菜类富硒食品的总硒含量应在 0.10~1.00 mg/kg 之间，本研究 4 个外源硒添加处理下小白菜地上部分硒浓度在 0.15~0.53 mg/kg 范围内，达到富硒蔬菜标准。按照中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会疾控局在《中国居民膳食指南（2016）》中建议每天蔬菜食用不超过 500 g，本研究中小白菜地上部分浓度最高 0.53 mg/kg，折算日均硒摄入量为 265 μ g，处于我国卫生和计划生育委员会在《WST578.3-2017 中国居民膳食营养素参考摄入量》中规定的 40~400 μ g/d 安全阈值范围内，表明本研究所涉处理下生产的富硒小白菜不会造成硒摄入过量中毒风险。

本研究结果表明，亚硒酸钠处理下小白菜硒富集效果要显著优于螯合硒处理（图 2），这可能是因为螯合硒是由硒素与氨基酸螯合而成一种大分子物质，其施入土壤后有效性不如亚硒酸钠所致。通过对两种不同形态硒肥处理土壤中可提取态有效硒含量进行分析，我们发现 3 mg/kg 与 6 mg/kg 螯合硒处理土壤中可提取态有效硒平均含量分别为 0.16 mg/kg 和 0.49 mg/kg，而相应亚硒酸钠处理则分别达到 0.68 mg/kg 和 0.82 mg/kg。可见，亚硒酸钠处理土壤中硒的生物有效性远大于螯合硒处理。此外，我们还发现，不同形态的硒肥其施用量增加后对小白菜地上部分与根系硒富集的影响不一（图 2）。例如，高量亚硒酸钠处理相比其低量处理明显促进地上部分硒累积，而对根部硒累积无显著影响；高量螯合硒处理相比其低量处理则显著促进小白菜根部硒累积，而对地上部分硒累积无明显影响。可见，仅从提高小白菜可食部分硒浓度的角度来看，施用亚硒酸钠效果要明显优于施用螯合硒。

3.2 外源硒添加对土壤微生物的影响

目前关于外源施硒对土壤微生物群落影响的认识十分不足。本研究发现，相比对照，添加 3 mg/kg 的亚硒酸钠或螯合硒均未对土壤总 PLFA 含量造成显著影响，而添加 6 mg/kg 亚硒酸钠或螯合硒则都导致土壤总 PLFA 含量显著降低（图 3A），说明硒施用水平达到 6 mg/kg 时可对土壤微生物群落生长造成显著抑制作用，这与前人的研究认识具有一致性^[19-20]。此外，不同微生物类群对外源硒的敏感性也存在差异。本研究中，土壤细菌 PLFA 含量在 3 mg/kg 硒施用水平时响应不明显，而在 6 mg/kg 硒施用水平时则显著降低（图 3B），说明外源硒对细菌的影响更取决于用量水平，而非形态；土壤真菌

PLFA 含量在 6 mg/kg 螯合硒处理下与对照差异不明显，而在 6 mg/kg 亚硒酸钠处理下则显著下降（图 3C），说明真菌对高浓度螯合硒的耐受能力要强于其对高浓度亚硒酸钠的耐受能力；此外，土壤放线菌 PLFA 含量在亚硒酸钠 3 mg/kg 水平施用时就显著降低，而螯合硒处理仅在施用水平达到 6 mg/kg 时才有明显减少（图 3D），说明土壤放线菌群落对亚硒酸钠比螯合态硒敏感性高。然而，虽然本研究发现土壤微生物群落对不同形态与水平外源硒施用存在差异化响应，但对这种差异形成的机制尚不明确，有待进一步的探讨。

4 结论

本研究结果表明，外源施硒对小白菜生物量、硒富集以及土壤微生物群落和酶活性的影响与硒形态和用量密切相关。

1) 与不施硒相比，施硒处理均显著促进小白菜植株硒富集。其中，施用亚硒酸钠对小白菜可食用部分硒富集的促进效果优于施用螯合硒。

2) 土壤微生物群落对外源施硒的响应主要由施用水平决定，而不是形态。高量的外源硒肥施用通常会对土壤微生物产生抑制作用。未来可进一步研究以明确土壤微生物对不同形态硒的响应阈值。

3) 亚硒酸钠施用，无论是 3 mg/kg 还是 6 mg/kg 水平，对土壤 NAG、ALP 酶活性均未观察到显著影响。螯合硒在 3 mg/kg 水平施用时对土壤 NAG、ALP 酶活性无显著影响，而在 6 mg/kg 水平施用时就显著刺激土壤 NAG、ALP 酶活性。可见，高水平的螯合硒施用会对土壤生物活性造成深刻影响，进而潜在影响其他养分元素如氮磷等的循环，应予以重视。

参考文献：

- [1] Rayman M P. The importance of selenium to human health[J]. *The Lancet*, 2000, 356(9225): 233-241.
- [2] Ros G H, Van Rotterdam A M D, Bussink D W, et al. Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: An agro-ecosystem approach[J]. *Plant and Soil*, 2016, 404(1): 99-112.
- [3] Ngigi P B, Lachat C, Masinde P W, et al. Agronomic biofortification of maize and beans in Kenya through selenium fertilization[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2019, 41(6): 2577-2591.
- [4] Oliveira K, Pataco I M, Mourinho M, et al. Selenium biofortification in rice—a pragmatic perspective[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2015, 27(3): 231-241.
- [5] Wu Z, Bañuelos G S, Lin Z Q, et al. Biofortification and phytoremediation of selenium in China[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 136.
- [6] 付冬冬, 段曼莉, 梁东丽, 等. 不同价态外源硒对小白菜生长

- 及养分吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(2): 358-365.
- Fu D D, Duan M L, Liang D L, et al. Effects of selenite and selenate on growth and nutrient absorption of pakchoi[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2011, 17(2): 358-365
- [7] Deng X F, Zhao Z Q, Han Z Y, et al. Selenium uptake and fruit quality of pear (*Pyrus communis* L.) treated with foliar Se application[J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2019, 182(4): 637-646.
- [8] Germ M, Stibilj V, Šircelj H, et al. Biofortification of common buckwheat microgreens and seeds with different forms of selenium and iodine[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(9): 4353-4362.
- [9] 郑甲成, 刘婷. 不同浓度硒肥对水稻硒含量和产量的影响[J]. 土壤, 2014, 46(1): 88-93.
- Zheng J C, Liu T. Selenium content and yield of indica rice under different selenium concentration[J]. Soils, 2014, 46(1): 88-93.
- [10] 史雅静, 史雅娟, 王玉荣, 等. 无机硒肥对土壤有效氮含量及菠菜品质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(2): 274-283.
- Shi Y J, Shi Y J, Wang Y R, et al. Effects of inorganic selenium fertilizer on available nitrogen content in soil and spinach quality[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25(2): 274-283.
- [11] Ilbas A I, Yilmaz S, Akbulut M, et al. Uptake and distribution of selenium, nitrogen and sulfur in three barley cultivars subjected to selenium applications[J]. Journal of Plant Nutrition, 2012, 35(3): 442-452.
- [12] Xia Q, Yang Z P, Shui Y, et al. Methods of selenium application differentially modulate plant growth, selenium accumulation and speciation, protein, anthocyanins and concentrations of mineral elements in purple-grained wheat[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 1114.
- [13] Jiang Y, Zeng Z H, Bu Y, et al. Effects of selenium fertilizer on grain yield, Se uptake and distribution in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)[J]. Plant, Soil and Environment, 2015, 61(8): 371-377.
- [14] Luo H W, He L X, Du B, et al. Biofortification with chelating selenium in fragrant rice: Effects on photosynthetic rates, aroma, grain quality and yield formation[J]. Field Crops Research, 2020, 255: 107909.
- [15] 刘军, 刘春生, 史庆华, 等. 新型富硒肥料对韭菜生长及品质的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(16): 164-167.
- Liu J, Liu C S, Shi Q H, et al. Effects of selenium-enriched fertilizer application on the growth and qualities of Chinese chive[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(16): 164-167.
- [16] Hoffman D J, Heinz G H, LeCaptain L J, et al. Toxicity and oxidative stress of different forms of organic selenium and dietary protein in mallard ducklings[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1996, 31(1): 120-127.
- [17] 王晶晶, 樊伟, 崔珺, 等. 氮磷添加对亚热带常绿阔叶林土壤微生物群落特征的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(24): 8361-8373.
- Wang J J, Fan W, Cui J, et al. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community characteristics in a subtropical evergreen broadleaved forest[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(24): 8361-8373.
- [18] Gao C, Zhang Y, Shi N N, et al. Community assembly of ectomycorrhizal fungi along a subtropical secondary forest succession[J]. New Phytologist, 2015, 205(2): 771-785.
- [19] 樊俊, 王瑞, 胡红青, 等. 不同价态外源硒对土壤硒形态及酶活性、微生物数量的影响[J]. 水土保持学报, 2015, 29(5): 137-141, 171.
- Fan J, Wang R, Hu H Q, et al. Effects of exogenous selenium with different valences on Se forms, enzyme activities and microbial quantity of soil[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2015, 29(5): 137-141, 171.
- [20] 戴志华, 涂书新. 外源硒对水稻土壤微生物多样性及土壤硒形态转化的影响[C]. 中国土壤学会土壤环境专业委员会第二十次会议暨农田土壤污染与修复研讨会摘要集[C]. 中国土壤学会土壤环境专业委员会, 2018: 1.
- Dai Z H, Tu S X. Effects of selenium fertilization on rice soil microbial diversity and soil selenium form transformation[C]. Soil Environment Specialized Committee, Chinese Society of Soil Science, Summary of the 20th Conference and Seminar on Farmland Soil Pollution and Remediation[C]. Soil Environment Specialized Committee, Chinese Society of Soil Science, 2018: 1.
- [21] 程勤, 胡承孝, 明佳佳, 等. 硒对油菜根际土壤微生物的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2021, 38(1): 104-110.
- Cheng Q, Hu C X, Ming J J, et al. Effects of selenium on microorganisms in the rhizosphere soil of oilseed rape[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2021, 38(1): 104-110.
- [22] 刘永贤, 吴志林, 农梦玲, 等. 一种液态富硒肥的制备方法及其应用[P]. 广西: CN106045667A, 2016-10-26.
- Liu Y X, Wu Z L, Nong M L, et al. Preparation method and application of liquid selenium-enriched fertilizer[P]. Guangxi: CN106045667A, 2016-10-26.
- [23] 杜振宇, 史衍玺, 王清华. 蔬菜对硒的吸收及适宜补硒食用量[J]. 生态环境, 2004, 13(2): 230-231, 267.
- Du Z Y, Shi Y X, Wang Q H. Selenium uptake by vegetables and recommendation of edible amounts for selenium supplement[J]. Ecology and Environment, 2004, 13(2): 230-231, 267.
- [24] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: Phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns[J]. Microbial Ecology, 1998, 35(3/4): 265-278.
- [25] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, 43: 313-343.
- [26] 吴雄平, 梁东丽, 鲍俊丹, 等. Se(IV)和Se(VI)对小白菜生长及生理效应的影响[J]. 环境科学学报, 2009, 29(10): 2163-2171.
- Wu X P, Liang D L, Bao J D, et al. Effects of different concentrations of selenate and selenite on growth and physiology of Chinese cabbage[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009, 29(10): 2163-2171.
- [27] Cartes P, Gianfreda L, Mora M L. Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms[J]. Plant and Soil, 2005, 276(1): 359-367.
- [28] Wang D, Dinh Q T, Anh Thu T T, et al. Effect of selenium-

- enriched organic material amendment on selenium fraction transformation and bioavailability in soil[J]. *Chemosphere*, 2018, 199: 417-426.
- [29] 李志玉, 郭庆元, 徐巧珍, 等. 不同大豆品种积累硒的特性及基因型差异[J]. *植物营养与肥料学报*, 2000, 6(2): 207-213.
Li Z Y, Guo Q Y, Xu Q Z, et al. Genotypical differences and characteristics of Se accumulation in soybean[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2000, 6(2): 207-213.
- [30] Bitterli C, Bañuelos G S, Schulin R. Use of transfer factors to characterize uptake of selenium by plants[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2010, 107(2): 206-216.
- [31] Li J, Liang D L, Qin S Y, et al. Effects of selenite and selenate application on growth and shoot selenium accumulation of pak choi (*Brassica chinensis* L.) during successive planting conditions[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(14): 11076-11086.
- [32] Terry N, Zayed A M, de Souza M P, et al. Selenium in higher plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2000, 51(1): 401-432.
- [33] Peng X Q, Wang W. Stoichiometry of soil extracellular enzyme activity along a climatic transect in temperate grasslands of Northern China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 98: 74-84.
- [34] Stone M M, Weiss M S, Goodale C L, et al. Temperature sensitivity of soil enzyme kinetics under N-fertilization in two temperate forests[J]. *Global Change Biology*, 2012, 18(3): 1173-1184.
- [35] Nowak J, Kaklewski K, Klódka D. Influence of various concentrations of selenic acid (IV) on the activity of soil enzymes[J]. *Science of the Total Environment*, 2002, 291(1/2/3): 105-110.
- [36] 吴雄平, 武体侠, 付冬冬, 等. 外源硒 (Se^{4+} 和 Se^{6+}) 污染对土壤酶活性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(8): 1526-1533.
Wu X P, Wu T X, Fu D D, et al. Effects of selenate and selenite pollution on soil enzymes activity[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(8): 1526-1533.
- [37] 史雅静, 史雅娟, 王玉荣, 等. 土壤酶对外源有机硒和无机硒的动态响应[J]. *环境科学学报*, 2018, 38(3): 1189-1196.
Shi Y J, Shi Y J, Wang Y R, et al. Dynamic responses of soil enzymes to exogenous sodium selenite and selenomethionine[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(3): 1189-1196.
- [38] Alford É R. Plant selenium accumulation and the rhizosphere effect[D]. Fort Collins: Colorado State University, 2011.
- [39] de Souza M P, Chu D, Zhao M, et al. Rhizosphere bacteria enhance selenium accumulation and volatilization by Indian Mustard[J]. *Plant Physiology*, 1999, 119(2): 565-574.
- [40] Sors T G, Ellis D R, Salt D E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants[J]. *Photosynthesis Research*, 2005, 86(3): 373-389.
- [41] Pilon-Smits E A H, Quinn C F. Selenium metabolism in plants[M]//Cell biology of metals and nutrients. Berlin, Heidelberg, Springer, 2010: 225-241.
- [42] Gupta M, Gupta S. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 7: 2074.
- [43] Feist L J, Parker D R. Ecotypic variation in selenium accumulation among populations of *Stanleya pinnata*[J]. *New Phytologist*, 2001, 149(1): 61-69.
- [44] Zhang Y L, Pan G X, Chen J, et al. Uptake and transport of selenite and selenate by soybean seedlings of two genotypes[J]. *Plant and Soil*, 2003, 253(2): 437-443.
- [45] Li H F, McGrath S P, Zhao F J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite[J]. *New Phytologist*, 2008, 178(1): 92-102.
- [46] Li Y X, Zhu N L, Liang X J, et al. A comparative study on the accumulation, translocation and transformation of selenite, selenate, and SeNPs in a hydroponic-plant system[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 189: 109955.
- [47] De La Luz Mora M, Pinilla L, Rosas A, et al. Selenium uptake and its influence on the antioxidative system of white clover as affected by lime and phosphorus fertilization[J]. *Plant and Soil*, 2008, 303(1): 139-149.
- [48] 郭璐, 满楠, 梁东丽, 等. 小白菜对外源硒酸盐和亚硒酸盐动态吸收的差异及其机制研究[J]. *环境科学*, 2013, 34(8): 3272-3279.
Guo L, Man N, Liang D L, et al. Differences of selenium uptake pattern of pakchoi and the possible mechanism when amended with selenate and selenite[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(8): 3272-3279.

(责任编辑: 王育花)