DOI: 10. 11686/cyxb2025493
http://cyxb. magtech. com. cn
郭紫瑞, 朱文琰, 郑鑫淼, 等. 适量硒对聚乙烯纳米塑料胁迫下多茬紫花苜蓿的缓解作用. 草业学报, 2026, 35(12): 124－138.
GUO Zi-rui, ZHU Wen-yan, ZHENG Xin-miao, *et al*. Alleviation of polyethylene nanoparticle stress in multi-cut alfalfa using selenium application. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(12): 124－138.

适量硒对聚乙烯纳米塑料胁迫下多茬紫花苜蓿的缓解作用

郭紫瑞[1], 朱文琰[2], 郑鑫淼[1], 孙平[1*]
(1. 河南科技大学动物科技学院, 河南 洛阳 471000; 2. 河南科技大学园艺与植物保护学院, 河南 洛阳 471000)

摘要: 为探究硒(Se)对高浓度聚乙烯纳米塑料(PE-NPs)污染土壤中多茬紫花苜蓿生长与品质的缓解效应及适宜施用量, 本研究采用室外盆栽法, 以 1%100 nm PE-NPs 处理土壤, 设置 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mg·kg^{-1} 6 个硒浓度梯度, 连续种植并收获 4 茬初花期紫花苜蓿, 测定其生长与营养指标, 通过隶属函数法综合评价硒的缓解效果。结果表明, 1%PE-NPs 显著抑制 4 茬紫花苜蓿的生长与营养品质, 适宜浓度硒可有效缓解该毒性效应, 且最佳缓解浓度随茬次增加呈升高趋势: 0.8 mg·kg^{-1}硒对第 1 茬缓解效果最优, 1.6 mg·kg^{-1}硒适用于第 2、3 茬, 2.0 mg·kg^{-1}硒对第 4 茬缓解作用最显著。各茬次中第 2 茬经硒调控后综合表现最佳。本研究明确了硒对 PE-NPs 胁迫的缓解具有茬次依赖性的浓度效应, 可为纳米塑料污染农田的牧草安全生产、硒肥科学施用提供理论依据, 也为土壤纳米塑料污染的植物修复提供了新思路。

关键词: 聚乙烯微塑料; 硒; 紫花苜蓿; 营养品质

Alleviation of polyethylene nanoparticle stress in multi-cut alfalfa using selenium application

GUO Zi-rui[1], ZHU Wen-yan[2], ZHENG Xin-miao[1], SUN Ping[1*]
1. *College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang* 471000, *China*; 2. *College of Horticulture and Plant Protection, Henan University of Science and Technology, Luoyang* 471000, *China*

Abstract: An outdoor pot experiment was conducted to investigate the mitigation effect and optimal application rate of selenium (Se) on the growth and nutritional quality of multi-cut alfalfa (*Medicago sativa*) grown in soil highly contaminated with polyethylene nanoplastics (PE-NPs). The soil was amended with 1% 100 nm PE-NPs, and treated with six levels of Se (0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, and 2.0 mg·kg^{-1} soil). Alfalfa plants at the initial flowering stage were harvested over four consecutive harvests, and their growth and nutritional quality indicators were measured. A multi-trait evaluation of the mitigation effect of Se was performed using the membership function method. The results showed that 1% PE-NPs significantly inhibited the growth and reduced the nutritional quality of foliage from the four consecutive alfalfa harvests, while application of Se alleviated this toxic effect at some tested treatment levels. The optimal Se concentration increased with successive harvests, being 0.8 mg·kg^{-1} for the first harvest, 1.6 mg·kg^{-1} for the second and third, and 2.0 mg·kg^{-1} for the fourth. Among all harvests, the second

收稿日期: 2025-12-02; 改回日期: 2026-03-23
基金项目: 青海省帅才科学家项目(2024-SF-102)资助。
作者简介: 郭紫瑞(2001－), 女, 河南南阳人, 硕士。E-mail: 15838798117@139. com
*通信作者 Corresponding author. E-mail: pingsunny@msn. com

exhibited the best overall alfalfa performance under PE-NP stress, following Se application. This study clarified the harvest and concentration-dependent effect of Se in alleviating PE-NPs stress, providing formal scientific data to improve forage production in farmland contaminated with nanoplastics, using Se fertilizer as a mitigation tool, and offering a new approach for the phytoremediation of soil contaminated with nanoplastics.

Key words: polyethylene nanoplastics; selenium; alfalfa; nutritional quality

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)富含苜蓿多糖、黄酮、异黄酮等多种生物活性物质,是我国大规模种植的优质牧草[1]。紫花苜蓿作为优质豆科牧草,兼具高营养价值与绿肥特性,刈割是紫花苜蓿种植中常见的管理措施,普遍认为可以提升饲草产量和品质。在实际生产中,合理增加刈割频次可灵活调控生育期、减少收获压力,为提升经济收益,常会采用增加刈割频次的方式[2]。

2004 年,Thompson 等[3]提出将粒径小于 5 mm 的塑料微颗粒称为微塑料。通常小于 1 μm 的塑料颗粒被定义为纳米塑料,由于它们的持久性和对生态系统的广泛影响,而被视为新兴污染物[4]。聚乙烯(polyethylene,PE)是我国农用土壤中检出率最高的微塑料类型[5],其主要来源为农用塑料薄膜、日用品、包装材料,而苜蓿种植过程中,地膜覆盖[6]、化肥和农药的包装[7]、污染的灌溉用水[8]、畜禽粪肥施用[9]等行为,均会直接向种植土壤输入微塑料。中国农田环境中塑料残留均值为 103.3 kg·hm^{-2}(中值:54.7 kg·hm^{-2}),农田土壤微塑料丰度均值为 4536.6 items·kg^{-1}(中值:1640.0 items·kg^{-1})[10]。微塑料破坏土壤结构,影响孔隙率、保水性和养分动态等物理特性[11],这些特性都会阻碍根系生长,降低植物的养分吸收效率,并影响必需元素的生物利用度[12]。研究发现,纳米塑料可以显著抑制草莓(*Fragaria×ananassa*)的根系生长,降低根长,并干扰根-冠之间的营养转运过程,引发植株营养失衡,破坏营养元素在草莓体内的正常分配[13]。

硒(selenium,Se)是生物体必需的一种氧化还原活性微量营养元素[14]。植物中主要存在的 Se 形态为无机硒,即亚硒酸盐和硒酸盐[15]。Se 可在适当浓度下促进紫花苜蓿的生长和发育[16-17],但 Se 缺乏和过量可能会对生物造成伤害[18-19]。适量 Se 在缓解植物生物与非生物胁迫中的作用已得到广泛研究并证实[20]。低浓度硒(≤1.00 mg·kg^{-1})可作为抗氧化剂提升植物抗氧化能力、缓解非生物胁迫造成的氧化损伤并促进植株生长,高浓度硒(2.00 mg·kg^{-1})则会产生促氧化效应,引发氧化胁迫并抑制植物的生长发育[21]。同时,Se 对微塑料胁迫下头茬紫花苜蓿的毒害具有显著缓解作用,且呈剂量依赖性。低中浓度 Se(0.4~1.2 mg·kg^{-1})能提升叶绿素含量与气孔导度,显著恢复净光合速率;可促进硒代蛋氨酸合成以提高粗蛋白含量,降低酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维含量以改善营养品质;还可减少微塑料诱导的根系过度分支,平衡光合产物分配[22-23]。外源亚硒酸盐在土壤中 6 h 内可完成吸附并达到平衡,吸附效果受土壤铁铝氧化物、有机质含量和 pH 调控。Se 在土壤中的形态转化核心周期为 0~60 d,后续进入长期固化阶段,Se 的生物有效性大幅降低并趋于稳定[24]。而植物根系对 Se^{4+} 普遍表现为高吸收、低转运的特征,吸收的 Se^{4+} 主要累积于根系,向地上部转运效率极低[25-26]。紫花苜蓿作为多年生多茬次刈割作物,生育期短、再生快,在土壤中施适量亚硒酸盐可持续为多茬次苜蓿提供保护。

现有研究多聚焦单一茬次的短期效应,对 Se 缓解微塑料毒害的长期动态规律关注不足。土壤高浓度微塑料污染已对紫花苜蓿生产构成严峻挑战,亟须探寻有效缓解途径。作为有益元素,Se 在增强植物抗逆性方面潜力突出。据此,本研究提出假设:1)微塑料对连续刈割的紫花苜蓿有抑制作用。2)外源添加适量 Se 可缓解微塑料对不同茬次紫花苜蓿的胁迫作用,改善其生长和营养品质。本研究拟通过盆栽试验,系统分析硒对不同茬次苜蓿生长和营养指标的影响,筛选最佳施用策略,旨在为微塑料污染下牧草安全生产与品质提升提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验于 2024 年 4-8 月在河南科技大学进行。供试土壤采自该校农场长期未实施地膜覆盖与再生水灌溉的耕作层(0~20 cm 深度),以排除外源塑料、盐分及养分输入对试验结果的干扰。耕层土壤为中壤黄潮土,pH

7.56,有机碳10.72 mg·kg^{-1},碱解氮79.86 mg·kg^{-1},有效磷11.62 mg·kg^{-1},速效钾223.80 mg·kg^{-1},有效铁5.98 mg·kg^{-1}。该土壤肥力水平均匀、背景条件稳定,可保证试验处理间的差异主要源于试验因素,土壤条件不会对试验结果造成显著干扰。供试紫花苜蓿种子为"金皇后",购自江苏千花百魅种业有限公司。试验所用纳米微塑料类型为100 nm的聚乙烯(polyethylene nanoplastics,PE-NPs),购自东莞市凯萱塑胶科技有限公司。供试硒肥为亚硒酸钠(Na_2SeO_3,analytical reagent,AR),含硒量为45.5%。

1.2 试验方法

土壤处理:采集土壤经自然风干后,人工剔除可见植物残体(树枝、杂草)及粒径>2 mm的石砾等异物,过2 mm尼龙筛(GB/T 6003.1—2012)[22]后,置于DHG-9011A型恒温干燥箱(上海精密科学仪器有限公司,上海)(80±2)℃烘干至恒重。将微塑料与土壤预混,然后再均匀混合至全部土壤。根据目标硒浓度计算所需用量,装盆时用去离子水溶解每盆所需的亚硒酸钠(Na_2SeO_3,AR),用喷壶浇匀风干土,施入2 g基肥,拌匀装盆[27]。试验选用直径21.5 cm、高14.5 cm的3号加仑盆,每盆精确盛装2 kg土壤,平衡10 d,以确保硒和微塑料在土壤中均匀分布和稳定。

种子处理:播种前种子采用5%次氯酸钠消毒8 min,蒸馏水冲洗干净。每盆播种25粒,覆土厚度1.5 cm。发芽7 d之后进行间苗,每盆留苗10株,而后根据植物的生长及土壤干湿情况及时浇水,防病虫害,在初花期收获,每次收获后,留茬3 cm,共收获4茬。

1.3 硒缓解微塑料毒性试验

为探究硒的剂量效应,共设置7个处理组,采用完全随机区组设计,每个处理3个重复。1)CK组;2)PE组:1%PE-NPs;3)PE-$Se_{0.4}$组:1%PE-NPs+0.4 mg·kg^{-1} Se;4)PE-$Se_{0.8}$组:1%PE-NPs+0.8 mg·kg^{-1} Se;5)PE-$Se_{1.2}$组:1%PE-NPs+1.2 mg·kg^{-1} Se;6)PE-$Se_{1.6}$组:1%PE-NPs+1.6 mg·kg^{-1} Se;7)PE-$Se_{2.0}$组:1%PE-NPs+2.0 mg·kg^{-1} Se。

1.4 测定方法

1.4.1 生长指标 刈割前,每个处理组随机选取6株,用量尺(精确到0.1 cm)测定每株自地面到达生长点的垂直高度,记为株高(plant height)。

采用恒温烘干法测定地上生物量(aboveground biomass,AGB)[28]。取样后,将样品置于105 ℃烘箱中杀青30 min,之后在75 ℃的温度下烘干72 h到恒重,使用ESJ30-5A型分析天平(上海精密科学仪器有限公司,上海,精确度为0.0001 g)对样品进行干重测定。

每组随机选择6个健康完整叶片,使用LI-3000C型高通量叶面积仪(American Licorice Company,美国)扫描完整叶片,后期利用Image J软件计算叶面积(A),将扫描后的叶片放入信封内,在60 ℃的烘箱内烘干48 h,用分析天平(ESJ30-5A,上海)称叶片干重(leaf dry mass,LDM)。比叶面积(specific leaf area,SLA)的计算公式为:$SLA=A/LDM$,式中:A为叶片面积(cm^2),LDM为叶片干重(g)。

1.4.2 营养指标 新鲜样品粉碎后使用近红外扫描仪(Carl-Zeiss Promenade 10 07745 Jena,德国)测定干物质(dry matter,DM)、粗灰分(crude ash,Ash)、粗蛋白质(crude protein,CP)、粗脂肪(ether extract,EE)、中性洗涤纤维(neutral detergent fiber,NDF)和酸性洗涤纤维(acid detergent fiber,ADF)的百分比。

相对饲喂价值(relative feeding value,RFV)采用$RFV(\%)=(DMI\times DDM)/1.29$计算,式中:$DMI$(dry matter intake)为单位体重家畜粗饲料干物质的随意采食量(percent of body weight,%BW);DDM(digestible dry matter)为可消化的干物质占干物质总量的比例(percentage of dry matter,%DM)。DMI与DDM的预测模型分别为:$DMI(\%)=120/NDF$和$DDM(\%)=88.9-0.779\times ADF$[29]。

1.5 补偿效应

分别计算第2、3、4茬Se和PE添加下紫花苜蓿的地上生物量、株高、粗蛋白含量和第1茬相关指标的比值即补偿指数(compensation index,CI),结合方差检验结果判断补偿效应:若$CI>1$,第2、3、4茬和第1茬各指标方差分析显著,为超补偿;若$CI\geqslant 1$,差异不显著,为等量补偿;若$CI<1$,差异显著,为不足补偿[30]。

1.6 数据分析

使用SPSS 27.0软件进行数据分析。采用双因素方差分析(Two-way ANOVA)检验刈割茬数和Se浓度的主效应及其交互作用。使用单因素方差分析(One-way ANOVA)中的邓肯氏多重极差检验分析同一茬数不同处理之间和相同处理下不同茬数之间的差异,$P<0.05$表示存在显著差异。试验测定的指标均以平均值±标准误差[mean±standard error of the mean (SEM)]表示,用Origin 2024软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同Se浓度和茬数对PE-NPs土壤环境下紫花苜蓿生长指标的影响

与CK组相比,土壤中添加1%PE-NPs后,显著降低第3茬紫花苜蓿的地上生物量($P<0.05$),对1、2、4茬无显著影响(图1,$P>0.05$)。在PE-NPs污染土壤引入Se添加后,与PE组相比,随着Se浓度的增加,4茬紫花苜蓿的地上生物量均呈先上升后下降的趋势,且PE-$Se_{0.8}$最大。PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{0.8}$组第4茬显著低于1、3茬($P<0.05$);PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组第4茬显著低于其他3茬($P<0.05$)。

与CK组相比,土壤中添加1%PE-NPs后,显著降低了第1、3、4茬紫花苜蓿的株高(图2,$P<0.05$),对第2茬也存在一定的抑制作用,但差异不显著($P>0.05$)。引入Se添加后,与PE组相比,随着Se浓度的增加,4茬均呈先上升后下降的趋势,第1、2茬PE-$Se_{0.8}$组最高,第3、4茬PE-$Se_{1.2}$组最高。所有组中,第1、4茬均显著低于2、3茬($P<0.05$)。

与CK组相比,土壤中添加1%PE-NPs后,显著降低了紫花苜蓿第4茬的比叶面积(图3,$P<0.05$)。引入Se添加后,与PE组相比,随着Se浓度的增加,2、3、4茬紫花苜蓿的比叶面积整体呈下降趋势。PE-$Se_{1.6}$组的比叶面积第4茬显著低于前3茬($P<0.05$)。

双因素方差分析表明(表1),在PE土壤环境下,紫花苜蓿的地上生物量受刈割茬数和Se浓度及二者交互作用的显著影响($P<0.05$)。株高和比叶面积受刈割茬数和Se浓度的显著影响($P<0.05$),二者的交互作用影响不显著($P>0.05$)。

2.2 不同Se浓度和茬数对PE-NPs土壤环境下紫花苜蓿营养指标的影响

与CK组相比,第1茬紫花苜蓿PE处理组的营养指标无显著变化(表2,$P>0.05$)。添加Se后,干物质含量均显著低于PE组($P<0.05$);PE-$Se_{0.4}$和PE-$Se_{0.8}$组粗灰分含量显著低于PE组($P<0.05$),其余3组显著高于PE组($P<0.05$);PE-$Se_{0.4}$组粗蛋白质含量显著低于PE组($P<0.05$);PE-$Se_{0.8}$和PE-$Se_{1.2}$组粗脂肪

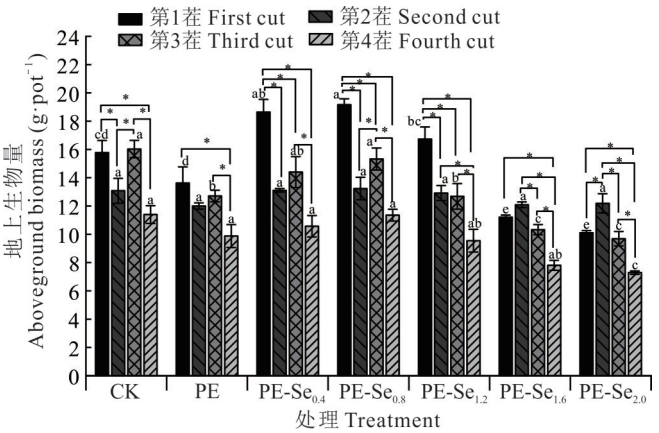

图1 施硒量和刈割茬数对聚乙烯纳米塑料土壤环境下生长的紫花苜蓿地上生物量的影响

Fig. 1 Effects of selenium (Se) application rate and cutting number on the aboveground biomass of alfalfa grown in polyethylene nanoparticles (PE-NPs) soil

不同小写字母表示同茬不同处理之间差异显著($P<0.05$),*表示相同处理不同茬数之间差异显著($P<0.05$),下同。Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments within the same cutting frequency ($P<0.05$), * indicates significant differences among different cutting frequency under the same treatment ($P<0.05$), the same below.

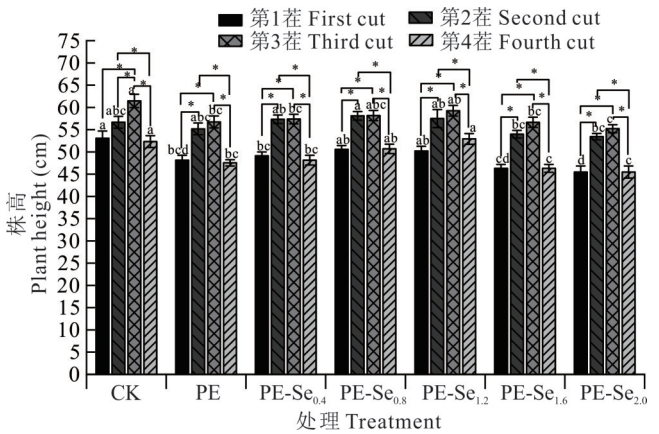

图2 施硒量和刈割茬数对聚乙烯纳米塑料土壤环境下生长的紫花苜蓿株高的影响

Fig. 2 Effects of selenium (Se) application rate and cutting number on the plant height of alfalfa grown in polyethylene nanoparticles (PE-NPs) soil

含量显著高于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组中性洗涤纤维含量显著高于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{1.6}$和PE-$Se_{2.0}$组酸性洗涤纤维含量显著高于PE组($P<0.05$)。

与CK组相比，第2茬紫花苜蓿PE组的干物质和粗蛋白质含量显著升高(表3，$P<0.05$)，粗灰分、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量显著降低($P<0.05$)。添加Se后，PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组干物质含量显著低于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组的粗灰分含量显著高于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{2.0}$组的粗蛋白质含量显著低于PE组($P<0.05$)；添加Se组的粗脂肪含量均显著低于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{2.0}$组的中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量显著高于PE组($P<0.05$)。

与CK组相比，第3茬紫花苜蓿PE组的干物质含量显著降低(表4，$P<0.05$)，粗蛋白质含量显著升高($P<0.05$)。添加Se后，PE-$Se_{1.6}$组的干物质含量显著低于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{0.4}$和PE-$Se_{0.8}$组的粗灰分含量显著低于PE组($P<0.05$)，PE-$Se_{2.0}$组的粗灰分含量显著高于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.2}$组的粗蛋白质含量显著高于PE组($P<0.05$)；PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{0.8}$组的粗脂肪、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量显著低于PE组($P<0.05$)，PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组的粗脂肪、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量显著高于PE组($P<0.05$)。

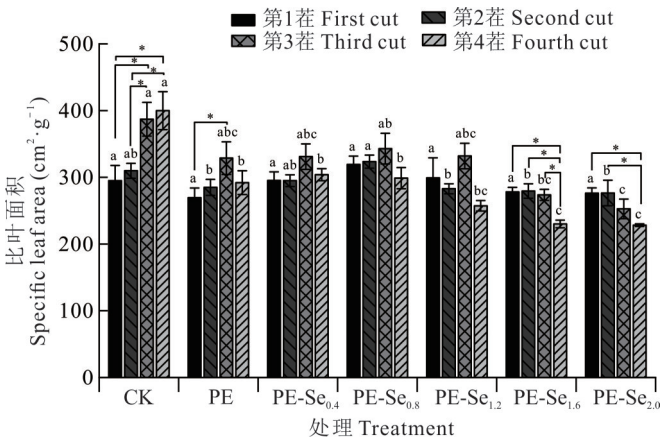

图3 施硒量和刈割茬数对聚乙烯纳米塑料土壤环境下生长的紫花苜蓿比叶面积的影响

Fig. 3 Effects of selenium (Se) application rate and cutting number on the specific leaf area of alfalfa grown in polyethylene nanoparticles (PE-NPs) soil

表1 双因素方差分析中生长指标受刈割茬数和土壤硒含量的主效应及其交互作用的*P*值

Table 1 *P*-values for the main effects and interactions of cutting frequency and soil selenium (Se) content on growth indices in the two-factor ANOVA

因素 Factor	地上生物量 Aboveground biomass	株高 Plant height	比叶面积 Specific leaf area
茬数 Cutting number	<0.001	<0.001	<0.001
Se浓度 Concentration	<0.001	<0.001	<0.001
交互作用 Interaction	<0.001	0.979	0.236

表2 不同浓度硒添加对聚乙烯纳米塑料土壤环境下第1茬紫花苜蓿营养成分的影响

Table 2 Effects of different selenium (Se) application concentrations on the nutrient components of the first-cut alfalfa grown in polyethylene nanoparticles (PE-NPs) soil (%)

处理 Treatment	干物质 Dry matter	粗灰分 Crude ash	粗蛋白质 Crude protein	粗脂肪 Ether extract	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber
CK	27.00±0.27a	8.24±0.03d	17.96±0.26a	2.81±0.03c	39.75±0.52b	25.75±0.21b
PE	26.11±0.20a	8.23±0.07d	18.06±0.25a	2.93±0.04bc	40.12±0.44b	25.62±0.19bc
PE-$Se_{0.4}$	21.39±0.11c	7.55±0.05e	16.93±0.33b	2.97±0.05b	41.95±0.60a	25.65±0.33bc
PE-$Se_{0.8}$	20.12±0.15d	7.48±0.14e	18.77±0.34a	3.14±0.04a	39.52±0.49b	24.88±0.21c
PE-$Se_{1.2}$	21.28±0.07c	8.52±0.10c	18.32±0.21a	3.13±0.08a	41.84±0.56a	25.87±0.24b
PE-$Se_{1.6}$	21.94±0.11b	8.97±0.10b	18.17±0.16a	3.00±0.03ab	43.35±0.24a	26.94±0.19a
PE-$Se_{2.0}$	22.18±0.17b	9.21±0.07a	18.28±0.20a	2.96±0.03b	43.14±0.49a	27.00±0.26a

注：同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)，下同。

Note: Different letters within the same column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$, the same below.

表 3　不同浓度硒添加对聚乙烯纳米塑料土壤环境下第 2 茬紫花苜蓿营养成分的影响

Table 3　Effects of different selenium (Se) application concentrations on the nutrient components of the second-cut alfalfa grown in polyethylene nanoparticles (PE-NPs) soil (%)

处理 Treatment	干物质 Dry matter	粗灰分 Crude ash	粗蛋白质 Crude protein	粗脂肪 Ether extract	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber
CK	24.20±0.12bc	7.42±0.10c	16.88±0.18b	3.07±0.04ab	41.83±0.24a	26.18±0.16a
PE	25.85±0.78a	6.73±0.20d	18.99±0.33a	3.19±0.07a	34.56±0.64d	23.19±0.31c
PE-$Se_{0.4}$	26.14±0.40a	6.67±0.08d	18.46±0.23a	2.78±0.06d	37.71±0.50c	24.96±0.18b
PE-$Se_{0.8}$	24.45±0.18b	7.75±0.05b	17.09±0.17b	2.90±0.04bcd	40.74±0.49ab	25.68±0.27ab
PE-$Se_{1.2}$	26.97±0.41a	7.78±0.09b	17.24±0.25b	2.88±0.07cd	39.62±0.57b	25.08±0.30b
PE-$Se_{1.6}$	22.21±0.28cd	8.02±0.07b	19.05±0.16a	3.00±0.10bc	34.96±0.26d	23.18±0.13c
PE-$Se_{2.0}$	23.24±0.30d	8.60±0.05a	17.47±0.22b	2.88±0.06cd	41.43±0.44a	25.56±0.27ab

表 4　不同浓度硒添加对聚乙烯纳米塑料土壤环境下第 3 茬紫花苜蓿营养成分的影响

Table 4　Effects of different selenium (Se) application concentrations on the nutrient components of third-cut alfalfa in polyethylene nanoparticles (PE-NPs) soil (%)

处理 Treatment	干物质 Dry matter	粗灰分 Crude ash	粗蛋白质 Crude protein	粗脂肪 Ether extract	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber
CK	23.49±0.12a	8.51±0.07cd	15.97±0.19d	2.80±0.05b	46.21±0.34b	28.39±0.18bc
PE	20.43±0.28bc	8.70±0.20bc	17.53±0.33c	2.90±0.06b	45.96±0.67b	27.73±0.50c
PE-$Se_{0.4}$	20.91±0.19bc	8.15±0.22de	19.23±0.24a	2.98±0.07d	40.71±0.47c	25.40±0.23e
PE-$Se_{0.8}$	20.28±0.49c	8.08±0.10e	18.42±0.21b	2.87±0.06c	43.24±0.78c	26.77±0.24d
PE-$Se_{1.2}$	20.10±0.40c	8.64±0.11c	18.41±0.26b	2.84±0.04b	46.64±0.41b	28.49±0.20bc
PE-$Se_{1.6}$	18.65±0.26d	9.07±0.10b	17.11±0.19c	3.08±0.07a	49.85±0.39a	29.66±0.14a
PE-$Se_{2.0}$	21.27±0.22b	9.97±0.08a	17.33±0.34c	2.60±0.08a	48.84±0.65a	28.93±0.32ab

与CK组相比，第4茬紫花苜蓿PE组的粗灰分、粗脂肪、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量显著升高（表5，$P<0.05$）。添加Se后，PE-$Se_{2.0}$组的干物质含量显著高于PE组（$P<0.05$）；PE-$Se_{0.4}$和PE-$Se_{1.2}$组的粗灰分含量显著低于PE组（$P<0.05$），PE-$Se_{1.6}$和PE-$Se_{2.0}$组的粗灰分含量显著高于PE组（$P<0.05$）；添加Se组的粗蛋白质含量均显著高于PE组（$P<0.05$）；PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{1.2}$组的粗脂肪含量显著高于PE组（$P<0.05$）；PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{2.0}$组的中性洗涤纤维含量显著低于PE组（$P<0.05$）；PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{2.0}$组的酸性洗涤纤维含量显著低于PE组（$P<0.05$）。

2.3　地上生物量与营养品质的主成分分析

根据主成分分析理论，当累计率≥85%时，主成分就能够代表原始数据的主要特征，此时可以停止提取更多的主成分。本试验选取地上生物量、干物质、粗蛋白质、酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量5个指标进行主成分分析。前2个因子在4茬的主成分累计贡献率分别达到91.429%、93.402%、92.926%和86.173%，均能够有效解析硒浓度梯度对PE-NPs污染下紫花苜蓿品质特征的调控规律（表6）。

综合4茬主成分旋转矩阵的载荷分布特征可知（表7）：第1茬中，Y_1主要体现干物质、地上生物量与纤维类指标（酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维）的综合关联，形成“生物量－纤维”协同特征；Y_2以粗蛋白为主导，同时与干物质、地上生物量存在反向关联，核心反映蛋白质含量的品质特征。第2茬Y_1集中呈粗蛋白与纤维指标（酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维）的强协同变化，是营养品质的核心代表；Y_2与干物质和地上生物量正向关联，反映作物生长积累的生物量特征，与营养品质指标关联极弱。第3茬Y_1突出酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维与粗蛋白的正向关

表5 不同浓度硒添加对聚乙烯纳米塑料土壤环境下第4茬紫花苜蓿营养成分的影响

Table 5 Effects of different selenium (Se) application concentrations on the nutrient components of fourth-cut alfalfa in polyethylene nanoparticles (PE-NPs) soil (%)

处理 Treatment	干物质 Dry matter	粗灰分 Crude ash	粗蛋白质 Crude protein	粗脂肪 Ether extract	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber
CK	21.41±0.15b	8.04±0.08d	17.08±0.32d	2.74±0.05d	40.79±0.49bc	24.68±0.27c
PE	20.80±0.28bc	8.47±0.11c	17.57±0.14d	2.92±0.04bc	42.54±0.44a	25.94±0.23a
PE-$Se_{0.4}$	20.85±0.25bc	8.05±0.11d	19.69±0.15b	3.07±0.06a	39.34±0.41cd	25.04±0.30bc
PE-$Se_{0.8}$	20.50±0.15c	8.22±0.17cd	19.01±0.31c	3.01±0.05ab	40.36±0.84bcd	24.98±0.40bc
PE-$Se_{1.2}$	20.50±0.21c	8.09±0.10d	19.41±0.14bc	3.12±0.04a	40.90±0.49bc	25.73±0.27ab
PE-$Se_{1.6}$	21.23±0.19b	8.84±0.15b	19.71±0.20b	2.88±0.04bc	41.21±0.60ab	25.59±0.26ab
PE-$Se_{2.0}$	24.27±0.16a	10.20±0.09a	20.73±0.14a	2.83±0.03cd	38.92±0.40d	23.83±0.21d

表6 第1~4茬地上生物量与营养品质的主成分分析

Table 6 Principal component analysis of aboveground biomass and nutritional quality for the first to fourth cuts

茬 Cut	主成分 Principal component	提取平方和载入 Extraction sums of squared loadings			提取载荷平方和 Extraction sums of squared loadings		
		特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rate (%)	累积贡献率 Cumulative contribution rate (%)	特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rate (%)	累积贡献率 Cumulative contribution rate (%)
1	1	3.384	67.677	67.677	3.384	67.677	67.677
	2	1.188	23.752	91.429	1.188	23.752	91.429
	3	0.355	7.107	98.536			
	4	0.071	1.423	99.959			
	5	0.002	0.041	100.000			
2	1	2.986	59.723	59.723	2.986	59.723	59.723
	2	1.684	33.679	93.402	1.684	33.679	93.402
	3	0.239	4.776	98.178			
	4	0.073	1.455	99.633			
	5	0.018	0.367	100.000			
3	1	3.004	60.084	60.084	3.004	60.084	60.084
	2	1.642	32.842	92.926	1.642	32.842	92.926
	3	0.279	5.573	98.499			
	4	0.074	1.485	99.984			
	5	0.001	0.016	100.000			
4	1	3.190	63.807	63.807	3.190	63.807	63.807
	2	1.118	22.366	86.173	1.118	22.366	86.173
	3	0.657	13.149	99.323			
	4	0.022	0.445	99.767			
	5	0.012	0.233	100.000			

联,与干物质反向关联;Y_2以干物质为核心,关联地上生物量的生长情况,且与粗蛋白呈明显反向关系,体现“生长-品质”的负相关规律。第4茬Y_1主要体现酸性洗涤纤维与中性洗涤纤维的纤维类指标协同特征,同时与干物质存在一定关联,与粗蛋白、地上生物量关联较弱;Y_2则突出地上生物量的强负向特征,且与粗蛋白、干物质存在正向关联,形成“地上生物量-粗蛋白”的反向关联规律。

表 7　第 1~4 茬主成分旋转矩阵的载荷分布特征

Table 7　Characteristics of load distribution of rotated component matrix for the first to fourth cuts

茬 Cut	成分 Component	干物质 Dry matter (X_1)	地上生物量 Aboveground biomass (X_2)	粗蛋白质 Crude protein (X_3)	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (X_4)	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (X_5)
1	Y_1	0.934	0.917	−0.049	0.993	0.824
	Y_2	−0.212	−0.281	0.958	0.096	0.376
2	Y_1	0.066	0.065	0.974	0.983	0.988
	Y_2	0.936	0.937	0.073	0.033	0.100
3	Y_1	−0.027	0.572	0.833	0.966	0.964
	Y_2	0.940	0.724	−0.506	0.173	0.259
4	Y_1	0.676	−0.031	0.395	0.967	0.905
	Y_2	0.574	−0.982	0.769	0.108	0.206

2.4　主成分－隶属函数耦合模型

通过主成分－隶属函数耦合分析体系，系统评价了 Se 添加对 PE-NPs 污染土壤中紫花苜蓿品质特征的调控效应（表 8）。综合得分（F）是由各个主成分与其对应的线性加权后的主成分贡献率乘积的总和。综合得分越高说明该处理组的综合表现越好，反之则越差。

表 8　第 1~4 茬地上生物量与营养品质指标的主成分标准化表达式

Table 8　Standardized expressions of principal components for aboveground biomass and nutritional quality indices across the first to fourth cuts

茬 Cut	第 1 主成分 The first principal component	第 2 主成分 The second principal component
1	$F_1=0.934X_1+0.917X_2-0.049X_3+0.993X_4+0.824X_5$	$F_2=-0.212X_1-0.281X_2+0.958X_3+0.096X_4+0.376X_5$
2	$F_1=0.066X_1+0.065X_2+0.974X_3+0.983X_4+0.988X_5$	$F_2=0.936X_1+0.937X_2-0.073X_3+0.033X_4+0.100X_5$
3	$F_1=-0.027X_1+0.572X_2+0.833X_3+0.966X_4+0.964X_5$	$F_2=0.940X_1+0.724X_2-0.506X_3+0.173X_4+0.259X_5$
4	$F_1=0.676X_1-0.031X_2+0.395X_3+0.967X_4+0.905X_5$	$F_2=0.574X_1-0.982X_2+0.769X_3+0.108X_4+0.206X_5$

注：F_1 表示主成分 1 的标准化得分，F_2 表示主成分 2 的标准化得分。

Note：F_1 and F_2 denote the standardized scores of the first (PC1) and second (PC2) principal components, respectively.

不同 Se 浓度处理下各主成分的得分变化（表 9），进一步量化了 Se 浓度对 PE-NPs 环境下各茬次紫花苜蓿的影响：第 1 茬 Se 浓度在 0.8 mg·kg^{-1} 处理下，“生物量－纤维类”与“粗蛋白”主成分得分均明显提升，综合表现最优；第 2、3 茬 Se 浓度在 1.6 mg·kg^{-1} 处理可有效缓解 PE-NPs 污染对“营养品质”主成分的抑制作用，成为除空白对照组外的最优硒处理方案；第 4 茬 Se 浓度在 2.0 mg·kg^{-1} 处理则能显著提升“纤维类”与“地上生物量－粗蛋白”主成分的综合得分，对 PE-NPs 污染的缓解效果最佳。

2.5　不同 Se 浓度和茬数对紫花苜蓿的补偿指数分析

补偿指数（CI）计算以各指标第 1 茬数据为基准，结合方差检验结果对补偿效应进行判定，第 2 茬 PE-$Se_{2.0}$ 组地上生物量的 $CI>1$，且经方差分析，该组与第 1 茬差异显著（$P<0.05$），属于超补偿（图 4）；第 3 茬 PE 与中低浓度 Se（PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.2}$）处理的 $CI\geqslant1$，但与第 1 茬差异不显著（$P>0.05$），为等量补偿，其余处理组 $CI<1$ 且差异显著（$P<0.05$），呈不足补偿；第 4 茬所有处理组 $CI<1$，且与第 1 茬差异显著（$P<0.05$），均为不足补偿，其中 CK 组的 CI 最低，再生生长能力显著衰退。

第 2、3 茬 PE 处理组与所有 Se 添加组株高的 $CI>1$，且与第 1 茬差异显著（$P<0.05$），属于超补偿，其中第 2 茬 PE-$Se_{1.6}$ 组和第 3 茬 PE-$Se_{2.0}$ 组的 CI 均最高，说明超补偿效应最大；第 4 茬 CK 组和处理组的 $CI>1$，与第 1 茬差异不显著（$P>0.05$），属于等补偿状态，株高再生的超补偿能力随茬次增加明显减弱。

表9 第1~4茬不同硒添加的隶属函数分析与综合排名

Table 9 Membership function analysis and comprehensive ranking (CR) of different selenium (Se) applications for the first to fourth cuts

茬 Cut	处理 Treatment	F_3	F_4	F	综合排名 CR	茬 Cut	处理 Treatment	F_3	F_4	F	综合排名 CR
1	CK	1.658	0.186	1.844	3	3	CK	0.787	0.643	1.430	1
	PE	1.649	0.187	1.836	4		PE	0.974	0.225	1.199	5
	PE-$Se_{0.4}$	2.021	−0.073	1.948	2		PE-$Se_{0.4}$	2.053	0.319	2.372	7
	PE-$Se_{0.8}$	2.638	0.248	2.886	1		PE-$Se_{0.8}$	1.602	0.313	1.915	6
	PE-$Se_{1.2}$	1.596	0.147	1.743	5		PE-$Se_{1.2}$	0.962	0.136	1.098	4
	PE-$Se_{1.6}$	0.079	0.161	0.240	6		PE-$Se_{1.6}$	0.225	−0.037	0.188	2
	PE-$Se_{2.0}$	0.007	0.188	0.195	7		PE-$Se_{2.0}$	0.390	0.126	0.516	3
2	CK	1.927	0.705	2.632	1	4	CK	0.851	−0.176	0.675	5
	PE	0.018	0.141	0.159	7		PE	0.065	−0.122	−0.057	7
	PE-$Se_{0.4}$	1.140	0.628	1.768	3		PE-$Se_{0.4}$	1.134	0.012	1.146	2
	PE-$Se_{0.8}$	0.323	0.506	0.829	5		PE-$Se_{0.8}$	0.860	−0.102	0.758	4
	PE-$Se_{1.2}$	0.590	0.528	1.118	4		PE-$Se_{1.2}$	0.550	0.015	0.565	6
	PE-$Se_{1.6}$	1.864	0.098	1.962	2		PE-$Se_{1.6}$	0.669	0.165	0.834	3
	PE-$Se_{2.0}$	0.350	0.136	0.486	6		PE-$Se_{2.0}$	2.179	0.430	2.609	1

注：F_3为第1主成分线性加权后得分；F_4为第2主成分线性加权后得分；F为综合指标总得分。

Note: F_3 represents the linearly weighted score of the first principal component; F_4 represents the linearly weighted score of the second principal component; F represents the total composite score.

第2茬CK、PE、PE-$Se_{0.4}$组粗蛋白质含量的$CI>1$，且与第1茬差异显著($P<0.05$)，为超补偿，PE-$Se_{0.8}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组的$CI<1$，且与第1茬差异显著($P<0.05$)，为不足补偿；第3茬所有处理组的$CI<1$，且与第1茬差异显著($P<0.05$)，呈不足补偿；第4茬PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组的$CI>1$，经方差检验与第1茬差异显著($P<0.05$)，属于超补偿。中高浓度(1.2、1.6、2.0 mg·kg^{-1})Se处理对该茬次粗蛋白质积累的超补偿效应调控作用显著。

第2茬CK、PE、PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{1.2}$、PE-$Se_{1.6}$组相对饲喂价值的$CI>1$，且与第1茬差异显著($P<0.05$)，为超补偿；第3茬所有处理组的$CI<1$，且与第1茬差异显著($P<0.05$)，均为不足补偿；第4茬PE-$Se_{0.4}$、PE-$Se_{1.6}$、PE-$Se_{2.0}$组相对饲喂价值的$CI>1$，且与第1茬差异显著($P<0.05$)，为超补偿，PE组的$CI<1$，且与第1茬差异显著($P<0.05$)，均为不足补偿；第4茬各处理组的CI普遍低于第3茬，纤维类成分随茬次积累导致饲喂价值的补偿能力持续衰退。

3 讨论

3.1 微塑料对紫花苜蓿的毒害作用

植物生长指标的下降是污染物毒害作用最直观的表现。本研究结果显示，PE组显著抑制了紫花苜蓿的株高和地上生物量，表明PE-NPs对紫花苜蓿有毒害作用。这与前人研究结果一致：微塑料能够对大豆(*Glycine max*)、小麦(*Triticum aestivum*)、玉米(*Zea mays*)等植物产生毒害效应，影响根系发育和幼苗生长，并降低其产量和品质[31]。造成以上结果的原因可能有：一是微塑料可以进入植物根部，破坏根系正常结构[32]，造成根系损伤[33]；二是微塑料可进入植物根部以及种皮的表皮孔隙中，堵塞孔隙，抑制其对水分及营养的吸收[34]；也可能堵塞植物细胞连接或细胞壁孔隙，破坏营养物质转运[35]；三是微塑料还可以通过影响植物的光合作用效率，降低植物体内营养物质的合成，进而抑制植物的生长发育[36]。

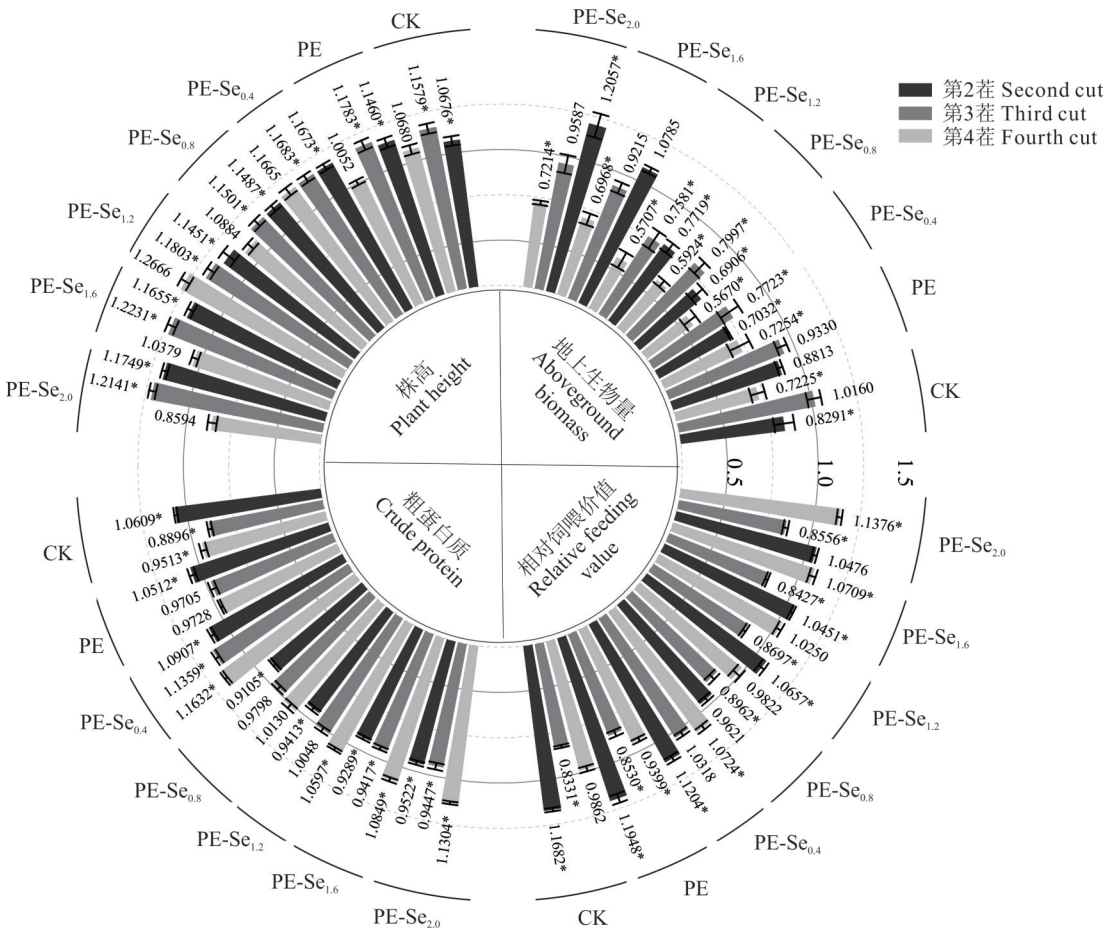

图 4　不同浓度硒和茬数对紫花苜蓿地上生长和营养的补偿指数

Fig. 4　Compensation indices of aboveground growth and nutrition in alfalfa under different concentrations of selenium and cutting number

*表示与第 1 茬相比有显著差异($P<0.05$)；无*表示与第 1 茬相比无显著差异($P>0.05$)。 * indicates a significant difference compared with the first cutting ($P<0.05$); no * indicates no significant difference compared with the first cutting ($P>0.05$).

3.2　不同刈割茬数和 Se 浓度对 PE 土壤环境下紫花苜蓿的影响

本研究结果表明，低浓度 Se 能够促进 PE 土壤中第 1、2 茬紫花苜蓿的地上生物量，而在较高浓度下则会抑制其生长。在 PE 土壤环境下，施 Se 量在 0.4、0.8、1.2 mg·kg^{-1}时，可以缓解 PE 对第 1 茬紫花苜蓿地上生物量的毒害作用。类似的研究发现，在辣椒(*Capsicum annuum*)叶面喷施纳米硒时，Li 等[33]观察到适量硒可提高辣椒中叶绿素、可溶性糖及氨基酸含量，从而促进细胞伸长与分裂。同时，适量施 Se 可以增强植物体内抗氧化酶活性，缓减外界环境对植物的损伤[37]。一是适量 Se 可通过调节抗氧化酶活性间接调控叶绿素的合成过程[38]，有效防止叶绿素因微塑料胁迫发生降解，调节植物细胞间隙、增加气孔导度，提升光合电子传递效率与净光合速率，为干物质积累提供充足的物质基础；二是 Se 能够增强抗氧化酶的活性，有效清除微塑料诱导产生的过量活性氧(reactive oxygen species, ROS)，减轻膜脂过氧化程度，降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)积累，维持细胞膜结构的完整性[39−40]，进而增强植株的胁迫耐受性，缓解外界环境对植物的损伤。三是 Se 可通过根系细胞膜上的硫酸盐转运蛋白进入植株体内，参与硒代半胱氨酸、硒代蛋氨酸等含硒氨基酸的合成[41−42]，不仅促进氨基酸整体代谢与蛋白质合成，缓解微塑料对矿质元素吸收和转运的抑制作用，还能降低酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量，提升紫花苜蓿的饲用品质。四是 Se 可通过双重途径抑制微塑料胁迫诱导的根系过度分枝：竞争性抑制硫转运蛋白，阻碍生长素合成前体色氨酸的硫依赖性代谢，干扰生长素极性运输并抑制侧根发生[43]。而当 Se 施用浓度过高时，其缓解作用会转变为毒性抑制：高浓度 Se 会诱导气孔关闭、降低气孔导度，减少水分蒸腾和 CO_2进入胞间的效

率[38],进而降低净光合速率,还可能因替代硫参与叶绿体蛋白合成,直接破坏光合色素结构[44],最终抑制植物光合作用;同时Se的毒性会随浓度升高逐渐增强,植株会通过增厚细胞壁的方式抵御硒毒性,这一防御反应会导致ADF和NDF含量再度升高,使得紫花苜蓿的饲用品质下降。

本研究还发现,在PE土壤环境下,施硒量在1.6、2.0 mg·kg^{-1}时,可以明显缓解PE对第4茬紫花苜蓿地上生物量的毒害作用。随着植物生长和叶面积增加,植物用于构造单位面积叶片的投入有增加趋势,即比叶面积降低[45],而较低的比叶面积则有助于维持植物的功能稳定性,提高其抗逆性和生存率[46]。在微塑料暴露下,植物将更多资源分配给根系以增强对水分、氮磷等资源的捕获能力,促使叶片通过增加干物质积累而非扩展面积来适应环境,最终导致比叶面积降低[47]。本研究结果表明,在PE土壤环境下,第2、3、4茬比叶面积随着Se浓度的增加呈下降趋势,这说明随着Se浓度的升高,环境条件恶化,植物比叶面积降低,从而增强对养分和水分的保持能力[48]。

紫花苜蓿作为多年生豆科牧草,每次刈割都会导致植株体内养分和Se的流失。Zoltán等[49]研究发现,随着刈割次数增加,再生植株的根系对养分的主动吸收能力减弱、叶片光合效率降低,进而导致对硒的吸收与转化效率下降。本研究表明,第1茬紫花苜蓿Se添加量为0.8 mg·kg^{-1}时,可以更好地缓解PE-NPs对紫花苜蓿的损伤;第2、3茬紫花苜蓿Se添加量为1.6 mg·kg^{-1}时,可以更好地缓解PE-NPs对紫花苜蓿的损伤;第4茬紫花苜蓿的Se添加量为2.0 mg·kg^{-1}时,可以更好地缓解PE-NPs对紫花苜蓿的损伤。究其原因,低浓度Se在初期茬次中可通过提高抗氧化酶活性、增强细胞膜稳定性缓解微塑料胁迫,随着茬数增加,植株体内Se储备耗尽,且微塑料对植物的累积损伤加剧,需要更高浓度的Se才能维持抗氧化系统功能,抵消活性氧积累造成的损伤[50]。另一方面,Se可以通过紫花苜蓿根系细胞膜上的硫酸盐转运蛋白进入植株体内,合成硒代半胱氨酸、甲基硒代半胱氨酸等功能性物质,提高植物的营养品质和生长活力[51]。所以,随着茬数的增加,所需缓解PE-NPs损伤的Se浓度也会增大。

3.3 刈割茬数影响Se和PE添加下紫花苜蓿的补偿生长

本研究表明(图4),第2茬紫花苜蓿在生长指标与营养品质的补偿效应平衡上表现最优,紫花苜蓿第2茬刈割后根系活力较强,根系中储存的光合产物与矿质养分可快速向地上转运,对资源的吸收与利用效率处于较高水平;且植株未进入过度木质化阶段,中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维等纤维类成分含量相对较好,使得相对饲喂价值这一营养指标保持在较高水平[52]。

第3茬紫花苜蓿的地上生物量、株高仍表现出较好的补偿效应,这是由于刈割后,紫花苜蓿会启动自我修复与生长补偿机制,将根系储存的碳水化合物、可溶性糖等光合产物优先转运至地上部分,支撑地上分枝与茎秆生长[53]。但该茬次粗蛋白质、相对饲喂价值等营养品质指标的补偿效应呈显著不足状态,呈生长补偿优先于营养积累的特征,这与前人的研究结果相符[54],多次刈割会改变牧草的养分分配策略,使植株优先将有限养分供给营养器官的再生,进而导致营养物质积累滞后。一是前茬刈割已持续消耗土壤氮素,尽管紫花苜蓿可通过根瘤菌进行生物固氮,但后续茬次植株快速生长对氮素的需求远超固氮效率,导致氮素供应相对不足,进而影响粗蛋白质的合成与积累[52]。二是连续刈割会激活植株的应激响应机制,使氮素转运相关基因向地上营养器官特异性表达,根系吸收的氮素优先供给茎、叶的再生生长,而非蛋白质的合成积累[55]。三是植株生长周期延长使木质素合成酶(如苯丙氨酸解氨酶、过氧化物酶)活性显著升高,茎秆木质化程度不断加深,中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维等结构性成分含量升高[56],而相对饲喂价值与纤维含量呈负相关关系,纤维含量的增加直接导致相对饲喂价值下降。

本研究中第4茬紫花苜蓿生长类指标的补偿指数均降至1以下,表现为不足补偿,紫花苜蓿经连续刈割后根系养分被持续消耗,再生能力随茬次增加显著减弱,导致整体生长势下降[57]。连续刈割对根系造成不可逆的生理损伤,地下生物量和主根直径均降低[58],根系吸收面积与固氮能力大幅下降[59],同时根系中储存的碳水化合物、可溶性糖等光合产物被持续消耗,无法为地上再生生长提供充足的物质与能量支撑[60]。而与生长指标相反,第4茬紫花苜蓿在中高浓度Se(1.2、1.6、2.0 mg·kg^{-1})处理下,粗蛋白质含量呈显著的超补偿效应,一方面,硒可促进紫花苜蓿将无机硒转化为有机硒(如硒代蛋氨酸),为蛋白质合成提供原料,进而提升粗蛋白含量。硒通过激活紫花

苜蓿的抗氧化防御系统，减轻了活性氧对蛋白质合成相关酶的氧化损伤，如谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase，GS）/谷氨酸合成酶（glutamate synthase，GOGAT）循环中的关键酶，从而维持了氮代谢效率和氨基酸合成能力，间接保障了蛋白质合成过程的正常进行[49]。另一方面，当植株再生生长能力衰退时，其内部的养分分配调控网络会发生重构，主动将有限的光合产物与矿质养分从营养器官的构建转向蛋白质等物质的合成，以维持自身的生理代谢平衡[61]。同时，第 4 茬紫花苜蓿相对饲喂价值的有偿指数普遍低于第 3 茬，纤维类成分随茬次积累导致饲喂价值的补偿能力持续衰退，说明纤维类成分随刈割茬次的持续累积，已成为影响紫花苜蓿饲用品质的关键因素，连续刈割使得土壤有机碳含量下降[62]，加强对有效氮的竞争，导致植物面临氮素胁迫[63]，可能会将更多的碳分配给次级代谢，加剧纤维类成分的异常累积[64]。

本研究发现，第 2 茬是生长与营养品质协同补偿的最佳平衡点；第 3 茬表现出“生长补偿优先于营养积累”的特征；而第 4 茬则出现了“生长不足，但品质超补偿”的现象。这说明通过添加适量硒和调控刈割茬次，可以缓解纳米塑料对紫花苜蓿的损伤，为定向优化多年生作物的栽培管理和降低纳米塑料污染的损伤提供了新的方式。

4　结论

通过研究施 Se 对 PE 土壤环境下 4 茬紫花苜蓿的生长和营养指标的缓解作用，结果表明：1）硒添加量为 0.8 mg·kg^{-1}对 PE-NPs 土壤环境下第 1 茬紫花苜蓿的缓解作用最大。2）硒添加量为 1.6 mg·kg^{-1}对 PE-NPs 土壤环境下第 2、3 茬紫花苜蓿的缓解作用最大。3）硒添加量为 2.0 mg·kg^{-1}对 PE-NPs 土壤环境下第 4 茬紫花苜蓿的缓解作用最大。4）对比各茬次综合表现，第 2 茬生长与营养品质的表现更好。总之，Se 对 PE-NPs 土壤环境紫花苜蓿的生长和营养品质的缓解作用随茬次的增加具有浓度依赖性。

参考文献 References：

[1] Hou W L, Kang W J, Lu B F, *et al*. Effects of rhizobial strains with different symbiotic effects on the photosynthetic characteristics and respiratory metabolism of alfalfa. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(11): 66－80.
侯文璐, 康文娟, 陆保福, 等. 不同共生效应根瘤菌株对紫花苜蓿光合特性和呼吸代谢的影响. 草业学报, 2025, 34(11): 66－80.

[2] Wang X G, Han J G, Liu F Y, *et al*. Effect of cutting on reproductive growth stage, the seed yield and seed quality of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Acta Agrestia Sinica, 2005, 13(4): 274－277.
王显国, 韩建国, 刘富渊, 等. 刈割对紫花苜蓿生殖生育期的调控及对种子产量和质量性状的影响. 草地学报, 2005,13(4): 274－277.

[3] Thompson C R, Olsen Y, Mitchell P R, *et al*. Lost at sea where is all the plastic? Science, 2004, 304(5672): 838.

[4] Piccardo M, Renzi M, Terlizzi A. Nanoplastics in the oceans: Theory, experimental evidence and real world. Marine Pollution Bulletin, 2020, 157: 111317.

[5] Wu T, Jiao Y Y, Jiao H H. Meta-analysis of the occurrence characteristics and influencing factors of microplastics in agricultural soil in China. Environmental Science, 2025, 46(1): 498－509.
吴婷, 焦旸洋, 焦海华. 我国农用土壤微塑料赋存特征及其影响因素的Meta分析. 环境科学, 2025, 46(1): 498－509.

[6] Liu B S, Li W F, Pan X L, *et al*. The persistently breaking trade-offs of three-decade plastic film mulching: Microplastic pollution, soil degradation and reduced cotton yield. Journal of Hazardous Materials, 2022, 439: 129586.

[7] Yu L, Zhang J D, Liu Y, *et al*. Distribution characteristics of microplastics in agricultural soils from the largest vegetable production base in China. Science of the Total Environment, 2021, 756: 143860.

[8] Guo S, Zhang J J, Liu J W, *et al*. Organic fertilizer and irrigation water are the primary sources of microplastics in the facility soil, Beijing. Science of the Total Environment, 2023, 895: 165005.

[9] Weithmann N, Möller J N, Löder M G J, *et al*. Organic fertilizer as a vehicle for the entry of microplastic into the environment. Science Advances, 2018, 4(4): aap8060.

[10] Ren S Y, Wang K, Zhang J R, *et al*. Potential sources and occurrence of macro-plastics and microplastics pollution in farmland soils: A typical case of China. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2024, 54(7): 533－556.

[11] Chang N, Chen L, Wang N, *et al*. Unveiling the impacts of microplastic pollution on soil ecosystems: a comprehensive review. Science of the Total Environment, 2024, 951(8): 175643.

[12] Dong Y M, Gao M L, Song Z G, *et al*. Microplastic particles increase arsenic toxicity to rice seedlings. Environmental Pollution, 2020, 259: 113892.

[13] Bai H H, Yang Y Q, Huang Y. Distribution of microplastics and their effects on nutrient absorption in strawberry plants. Scientia Horticulturae, 2024, 332: 113214.

[14] Titov A F, Kaznina N M, Karapetyan T A, *et al*. Role of selenium in plants, animals, and humans. Biology Bulletin Reviews, 2022, 12(2): 189－200.

[15] 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. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 189: 109955.

[16] Schiavon M, Pilon-Smits E. Selenium biofortification and phytoremediation phytotechnologies: A review. Journal of Environmental Quality, 2017, 46(1): 10－19.

[17] Bai X Q, Jia C Y, Li W S, *et al*. An investigation of foliar spraying of selenium fertilizer for selenium enrichment and cadmium reduction in alfalfa. Acta Prataculturae Sinica, 2024, 33(1): 50－60.
白旭琴, 贾春云, 李文栓, 等. 叶面喷施硒肥对紫花苜蓿富硒降镉效果的影响. 草业学报, 2024, 33(1): 50－60.

[18] Gui J Y, Rao S, Huang X R, *et al*. Interaction between selenium and essential micronutrient elements in plants: A systematic review. Science of the Total Environment, 2022, 853: 158673.

[19] Gupta M, Gupta S. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. Frontiers in Plant Science, 2017, 7: 2074.

[20] Fatima M, Maqbool A, Sardar R, *et al*. Nano-selenium: A green promising approach against abiotic stresses in plants. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2024, 24(3): 6000－6023.

[21] Santos D C L, Martins S G, Lima S D J, *et al*. Enhancing wheat resilience to water deficit through selenium biofortification: Perspectives on physiological, biochemical and nutritional responses. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2024, 24(4): 7418－7435.

[22] Zheng X M, Zhu W Y, Guo Z R, *et al*. Study on selenium fertilizer mitigation of nutritional inhibition in *Medicago sativa* induced by high-concentration polyethylene nanoplastics. Feed Research, 2025, 48(16): 104－109.
郑鑫淼, 朱文琰, 郭紫瑞, 等. 硒肥缓解高浓度聚乙烯纳米塑料对紫花苜蓿营养抑制的研究. 饲料研究, 2025, 48(16): 104－109.

[23] Sun P, Zheng X M, Zhu W Y, *et al*. Moderate application of selenium alleviates the stress of high concentration polypropylene nanoplastics on alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Henan University of Science and Technology (Natural Science), 2025, 46(6)79－88.
孙平, 郑鑫淼, 朱文琰, 等. 适量施硒缓解高浓度聚丙烯纳米塑料对紫花苜蓿的胁迫. 河南科技大学学报(自然科学版), 2025, 46(6)79－88.

[24] Fan J X, Zhao G L. Sorption characteristics and fraction distribution changes of selenite in soil. Sustainability, 2018, 10(7): 2491.

[25] Chen S Y, Jiang R F, Li H F. Uptake and translocation of selenate or selenite by wheat and rice seedlings. Environmental Science, 2011, 32(1): 284－289.
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): 284－289.

[26] Huang Q Q, Chen S Y, Wang Q, *et al*. Effects of selenite/selenate and their coexistence in plant on selenium uptake and translocation in rice. Journal of Agro-Environment Science, 2014, 33(11): 2098－2103.
黄青青, 陈思杨, 王琪, 等. 亚硒酸盐/硒酸盐及相互作用对水稻吸收及转运硒的影响. 农业环境科学学报, 2014, 33(11): 2098－2103.

[27] Chen Z D, Qiu S L, Feng D Q, *et al*. Effects of selenium application on the production and selenium accumulation of hybrid *Pennisetum*. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(3): 838－847.
陈钟佃, 邱水玲, 冯德庆, 等. 土壤施硒量对杂交狼尾草生长和硒积累的影响. 草地学报, 2024, 32(3): 838－847.

[28] Ma P, Liu Z G, Sha Y S, *et al*. Nitrogen utilization characteristics of alfalfa at the seedling stage and screening of nitrogen-efficient varieties. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(4): 112－123.
马苹, 刘志国, 沙煜舒, 等. 紫花苜蓿苗期氮利用特性及氮高效品种的筛选. 草业学报, 2026, 35(4): 112－123.

[29] Yang H, Yang X F, Ning Z P, *et al*. The beneficial and hazardous effects of selenium on the health of the soil-plant-human system: An overview. Journal of Hazardous Materials, 2021, 422: 126876.

[30] Ma X R, Qian Y H, Yan X X, *et al*. Effects of combining organic manure and chemical fertilizer on the productivity and

nutritional quality of alfalfa. Pratacultural Science, 2026, DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2025-0300.
马雪融, 钱一翰, 闫晓旭, 等. 有机肥配施化肥对紫花苜蓿生产性能及营养品质的影响. 草业科学, 2026, DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2025-0300.

[31] Yin L S, Wen X F, Huang D L, *et al*. Interactions between microplastics/nanoplastics and vascular plants. Environmental Pollution, 2021, 290: 117999.

[32] Li C N, Wang L, Zhou J Q, *et al*. Effect of microplastics on the growth and physiological characteristics of alfalfa (*Medicago sativa*). Acta Prataculturae Sinica, 2023, 32(5): 138－146.
李超男, 王磊, 周继强, 等. 微塑料对紫花苜蓿生长及生理特性的影响. 草业学报, 2023, 32(5): 138－146.

[33] Li D, Zhou C R, Zhang J B, *et al*. Nanoselenium foliar applications enhance the nutrient quality of pepper by activating the capsaicinoid synthetic pathway. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(37): 9888－9895.

[34] Asli S, Neuman P M. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. Plant Cell & Environment, 2010, 32(5): 577－584.

[35] Huang M G, Huang Y X, Liu L, *et al*. The effects of micro/nano-plastics exposure on plants and their toxic mechanisms: A review from multi-omics perspectives. Journal of Hazardous Materials, 2024, 465: 133279.

[36] Gao M L, Liu Y, Song Z G. Effects of polyethylene microplastic on the phytotoxicity of di-n-butyl phthalate in lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort). Chemosphere, 2019, 237: 124482.

[37] Jiang X L, Qiao Y T, Li X J, *et al*. Effects of foliar spraying of excessive selenium on yields and contents of selenium and mineral elements of maize. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(12): 2841－2849.
蒋曦龙, 乔月彤, 李晓靖, 等. 叶面过量施硒对玉米产量、硒和矿质营养元素含量的影响. 核农学报, 2021, 35(12): 2841－2849.

[38] Jin X W, Zhu X, Huang J, *et al*. Effects of selenium on chloroplast and photosynthesis. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(1): 288－294.
金小琬, 朱茜, 黄进, 等. 硒对叶绿体及光合作用的影响. 分子植物育种, 2019, 17(1): 288－294.

[39] Djanaguiraman M , Devi D D, Shanker K A, *et al*. Selenium an antioxidative protectant in soybean during senescence. Plant and Soil, 2005, 272(112): 77－86.

[40] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12): 909－930.

[41] Shi L J, Bai W B, Cao C L, *et al*. Effects of different selenium application methods on selenium-enriched effect, yield and quality of sorghum. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2021, 49(10): 1200－1204.
史丽娟, 白文斌, 曹昌林, 等. 施硒方式对高粱富硒效果、产量及品质的影响. 山西农业科学, 2021, 49(10): 1200－1204.

[42] Mu T T, Zhang F Y, Li Z H, *et al*. Effects of spraying selenium on selenium Content, conversion rate of organic selenium and quality of foxtail millet in different stages. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2018, 33(6): 193－198.
穆婷婷, 张福耀, 李志华, 等. 不同时期施硒对谷子硒含量、有机硒转化率及谷子品质的影响. 华北农学报, 2018, 33(6): 193－198.

[43] Ramady H, Abdalla N, Taha S H. Selenium and nano selenium in plant nutrition. Environmental Chemistry Letters, 2016, 14(1): 123－147.

[44] Feng R W, Wei C Y, Tu S X. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. Environmental and Experimental Botany, 2013, 87: 58－68.

[45] Milla R, Reich B P, Niinemets Ü, *et al*. Environmental and developmental controls on specific leaf area are little modified by leaf allometry. Functional Ecology, 2008, 22(4): 565－576.

[46] Sarah G, Paloma R, Jordi M, *et al*. Tree mortality across biomes is promoted by drought intensity, lower wood density and higher specific leaf area. Ecology Letters, 2017, 20(4): 539－553.

[47] Shi X, Yang G L, Zheng Y L. Effects of microplastics, fertilization and pesticides on alien and native plants. Plants, 2024, 13(21): 2947.

[48] Liu W X, Cai J P, Fu J L, *et al*. Responses of leaf functional traits of different grassland plants to desertification and their adaptation strategies. Chinese Journal of Applied Ecology, 2025, 36(8): 2379－2387.
刘万新, 蔡江平, 付佳琳, 等. 不同草地植物叶功能性状对沙化的响应及适应策略. 应用生态学报, 2025, 36(8): 2379－2387.

[49] Zoltán K, Áron S, Béla K, *et al*. Uptake dynamics of ionic and elemental selenium forms and their metabolism in multiple-

harvested alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plants, 2021, 10(7): 1277.

[50] Ren Y R, Zhang Q, Li X, *et al*. Effects of selenium content on growth, antioxidant activity, and key selenium-enriched gene expression in alfalfa sprouts. Foods, 2024, 13(14): 2261.

[51] Gao C Y, Xiao M, Gong Z Q, *et al*. Selenium biofortification and increased nutritional quality in alfalfa (*Medicago sativa* L.) using foliar application of selenium-rich nutrient solution. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2023, 23(3): 3600－3611.

[52] Wang Y, Zhang J S, He C X, *et al*. Effects of intercropping and mowing frequency on biological nitrogen fixation capacity, nutritive value, and yield in alfalfa (*Medicago sativa* L. cv. Vernal). Plants, 2025, 14(2): 240.

[53] Wei Y, Wu X X, Li Y D, *et al*. Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus and rhizobium on the growth and nutritional value of *Medicago sativa*. Pratacultural Science, 2020, 37(6): 1115－1123.
魏勇, 吴茜茜, 李应德, 等. AM真菌和根瘤菌对紫花苜蓿生长及其营养价值的影响. 草业科学, 2020, 37(6): 1115－1123.

[54] Wang S, Lyu J Y, Zhong S Z, *et al*. Evaluation of biomass yield and nutritional value of *Silphium perfoliatum* L. under different cutting frequencies during leafy stage. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2025, 37(10): 7206－7217.
王硕, 吕静仪, 钟荣珍, 等. 叶丛期不同刈割茬次串叶松香草的生物产量及营养价值评价. 动物营养学报, 2025, 37(10): 7206－7217.

[55] Zheng C C, Wang Y J, Sun H, *et al*. Effects of clipping on nitrogen allocation strategy and compensatory growth of *Leymus chinensis* under saline-alkali conditions. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(7): 2222－2230.
郑聪聪, 王永静, 孙昊, 等. 盐碱条件下刈割干扰对羊草的氮素分配策略及补偿生长的影响. 应用生态学报, 2017, 28(7): 2222－2230.

[56] Wang Y, Dai X L, Ma X Y, *et al*. Yield and quality changes of alfalfa in response to rotationally grazing. Acta Agrestia Sinica, 2022, 30(9): 2477－2482.
王瑜, 代先林, 马晓颖, 等. 划区轮牧对放牧型紫花苜蓿人工草地产量与品质的影响. 草地学报, 2022, 30(9): 2477－2482.

[57] Monirifar H, Mirmozaffari Roudsari A, Ghassemi S, *et al*. Harvest time and cultivar effects on growth, physiological traits, yield and quality of alfalfa in saline condition. International Journal of Plant Production, 2020, 14(1): 453－462.

[58] Tälle M, Deák B, Poschlod P, *et al*. Similar effects of different mowing frequencies on the conservation value of semi-natural grasslands in Europe. Biodiversity and Conservation, 2018, 27(10): 2451－2475.

[59] Tian J J, Wan W F, Liu Q, *et al*. Response of alfalfa growth and rhizosphere properties to soil phosphorus supply and mowing in a salt-affected soil. Frontiers in Plant Science, 2025, 16: 1565162.

[60] Andreas S, Johanna P, Yakov K. C and N allocation in soil under ryegrass and alfalfa estimated by ^{13}C and ^{15}N labelling. Plant and Soil, 2013, 368(112): 581－590.

[61] Gulinigaer A, Zhang X Y, Wan J C, *et al*. Effects of growth years and cutting times on nutrient composition and digestibility of cultivated *Glycyrrhiza uralensis*. Pratacultural Science, 2022, 39(11): 2317－2325.
古丽尼尕尔·艾依斯热洪, 张修业, 万江春, 等. 育龄及刈割频次对栽培甘草营养成分及消化率的影响. 草业科学, 2022, 39(11): 2317－2325.

[62] Yang Y J, Wang J M, Wu F, *et al*. Effects of nitrogen fertilization and mowing on soil aggregate distribution and organic carbon content of degraded grassland in northwest Liaoning Province. Journal of Dalian Minzu University, 2026, 28(1): 13－19.
杨沂杰, 王佳铭, 吴飞, 等. 施氮和刈割对辽西北退化草地土壤团聚体分布及有机碳含量的影响. 大连民族大学学报, 2026, 28(1): 13－19.

[63] Fidler D B, George P B L, Le Brun L J, *et al*. Soil microbial adaptation to carbon deprivation: shifts in lignocellulolytic gene profiles following long-term plant exclusion. Environmental Microbiome, 2025, 21(1): 9.

[64] Samarina L, Malyukova L, Wang S, *et al*. Nitrogen deficiency differentially affects lignin biosynthesis genes and flavanols accumulation in tolerant and susceptible tea genotypes (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Plant Stress, 2024, 14: 100581.