

施用硒肥对圆叶决明生长、酶活性及其 叶肉细胞超显微结构的影响

翁伯琦¹, 黄东风², 熊德中³, 应朝阳¹, 黄毅斌¹, 罗 涛²

(1. 福建省农业科学院生态农业研究中心, 2. 福建省农业科学院土壤肥料研究所, 福建
福州 350013; 3. 福建农林大学资源与环境学院, 福建 福州 350002)

摘要:通过盆栽试验,研究在红壤中施用不同浓度的硒肥对豆科牧草圆叶决明植株生长、叶片硝酸还原酶活性、根瘤固氮酶活性及其叶肉细胞超显微结构的影响。试验结果表明,施 0.5~2mg Se/kg 土不同用量的硒肥处理的圆叶决明植株株高、分枝数和植株干重,比不施硒肥的对照处理分别提高 11.71%~18.97%、0.55%~22.61%和 52.9%~144.9%;植株的硒含量随施硒浓度的提高而明显增加,不施硒(CK)处理的植株含硒量仅为 0.025mg/kg,当施硒肥量为 2mg Se/kg 土(S2)时,植株的硒含量达到 0.222mg/kg,比对照增加了 7.88 倍;施硒量为 1 mg Se/kg 土(S1)处理圆叶决明的叶片硝酸还原酶活性最大,比对照提高 281.5%,比施 2mg Se/kg 土的增加了 206.1%;根瘤固氮酶活性以施用 2mgSe/kg 土的处理为最大,比对照增加了 49.41%。植株叶肉细胞超显微结构变化的观察结果表明:施不同用量硒肥处理均能比对照处理增加植株叶绿体的数量,其中以 1.5mg Se/kg 土的施用量处理效果最好,而 1.5mg Se/kg 土和 2mg Se/kg 土处理对提高叶绿体的基粒数量和片层密度效果较佳,但对稳定叶绿体的双层膜结构效果则不明显;而施用 1.5mg Se/kg 土和 1mg Se/kg 土处理则显示了减少线粒体的数量,降低线粒体的内嵴密度,其有利于提高线粒体外膜的稳定性;也有利于提高叶肉细胞细胞壁和细胞膜结构的稳定性,从而有利于防止初生壁与细胞膜物质形成的囊泡状聚集物的沉积。

关键词:硒;圆叶决明;生长;酶活性;细胞超显微结构

Effects of selenium on plant growth, enzyme activity and blade cell submicro-structure of *Chamaecrista rotundifolia*

WENG Bo-Qi¹, HUANG Dong-Feng², XIONG De-Zhong³, YING Zhao-Yang¹, HUANG Yi-Bin¹, LUO Tao²

(1. Research Center of Ecological Agriculture, 2. Institute of Soil and Fertilizer, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China; 3. Resource and Environment department, Fujian Agriculture and Forest University, Fuzhou, Fujian 350002, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(12): 2810~2817.

Abstract: *Chamaecrista rotundifolia* is a recently introduced and screened leguminous pasture. It possesses drought and high resistance biological characteristics. It is suited for planting in the southern red soil mountain area especially inter-planting in the orchard. Scientific research and its field application can improve yield and quality of the pasture. Pot experiment was conducted to study the effects of applying selenium (Se) fertilizer on plant growth, leaf nitrate reductase activity, root nodule nitrogen-fixing fermentation activity and blade cell sub-microstructure of *C. rotundifolia*. The results showed that application of 0.5~2mg Se/kg of soil increased height in *C. rotundifolia* by 11.71%~18.97%, number of branches by 0.55%~22.61% and dry weight by 52.9%~144.9%. Application of high concentration of Se to the soil resulted in high Se content in the plants, e. g., Se content in control plot was 0.025mg Se/kg, while 0.222mg/kg in the treated plots. Se content was 7.88 times higher in the treated than in the control plot. Leaf nitrate reductase activity was highest with application of 1.0 mg Se/kg soil, e. g., it was 281.5% higher than in control plot and 206.1% in plots where 2 mg Se/kg soil was applied. Root nodule

基金项目:福建省科学技术厅重点资助项目(2003No44)

收稿日期:2004-03-30; **修订日期:**2004-09-25

作者简介:翁伯琦(1957~),男,福建福州人,研究员,硕士生导师,主要从事土壤肥料与生态农业技术研究。E-mail: boqiwen@yahoo.com.cn

Foundation item: The Important Item of Fujian Office of Science and Technology (No. 2003No44)

Received date: 2004-03-30; **Accepted date:** 2004-9-25

Biography: WENG Bo-Qi, Professor, mainly engaged in soil, fertilizer and agricultural ecology.

nitrogen-fixing fermentation activity was higher with of application of 2.0 mg Se/kg soil, where it was 49.41% higher than in control plot. The results of experiment on blade cell sub-microstructure showed that application of different amounts of Se to the soil resulted in increased number of chlorophyll. Here, a dose of 1.5mg Se/kg soil gave better result than the other doses. Plots where 1.5 and 2.0 mg Se/kg were applied gave higher granum formation, but had no significant effect on stability of the layer membrane of chlorophyll, cut down number of mitochondria and density of cristae. Application of 1.0 and 1.5 mg Se/kg soil gave better results than the other treatments in enhancing stability of cell wall and cell membrane, reducing deposits of polymers like bags formed by primary wall and cell membrane.

Key words: selenium; *Chamaecrista rotundifolia*; plant growth; enzymatic activity; blade cell sub-microstructure

文章编号:1000-0933(2004)12-2810-08 中图分类号:S541.9 文献标识码:A

圆叶决明系豆科牧草品种,是引自澳大利亚国际农业研究中心的主要牧草品种之一。经多年筛选,其比较适应南方红壤区种植,不仅产量较高,而且抗旱与抗逆能力较强^[1]。据刘晓获报道^[2],我国土壤全硒含量平均值为 0.296 $\mu\text{g}/\text{kg}$,达到国际公布的正常临界值 0.1 mg/kg 的县只有 1/3,即我国 2/3 地区属缺硒区,其中属严重缺硒(含量 $\leq 0.02 \text{ mg}/\text{kg}$)地区占 29%。而我国南方红壤区土壤呈酸性,土壤中的硒与铁或铝容易形成复合物,大大降低了植物对硒的吸收,硒进入食物链受阻,使可利用硒的含量减少,故红壤区土壤也普遍存在着缺硒现象^[3]。研究微量元素肥料施用对豆科牧草生长影响的报道较少,选择硒肥施用及其对圆叶决明生长的影响作为研究内容,一方面是针对红壤区土壤缺硒及牧草生产的实际情况,另一方面则试图了解硒肥科学施用的作用机理,以求为红壤区域牧草业发展提供科学施肥的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验基础条件

试验在福建省农科院土肥所网室内进行,室顶用具有良好透光性的阳光板搭盖成遮雨篷。供试土壤为花岗岩发育的山地丘陵红壤,土样风干后过 0.5cm 筛,供试土壤的物理化学性状为:pH5.74,有机质 1.26%,全氮 0.063%,全磷 0.053%,速效氮 68 mg/kg,速效磷 2 mg/kg,速效钾 25 mg/kg,有效态硒 1.121 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

1.2 试验设计

试验设 5 个处理,即(1)对照(CK,化肥),(2)化肥+0.5 mg Se/kg 土(用 $S_{0.5}$ 表示),(3)化肥+1 mg Se/kg 土(用 S_1 表示),(4)化肥+1.5 mg Se/kg 土(用 $S_{1.5}$ 表示),(5)化肥+2mg Se/kg 土(用 S_2 表示);每处理重复 3 次,共 15 盆。试验所用盆钵为瓦盆,规格为上端内直径 26cm,下端内直径 21cm,高 18cm,每盆装风干土样 7kg。每盆所施的肥料品种及用量如下:对照(化肥)处理为,尿素 0.203g、磷酸二铵 0.715g、氯化钾 0.467g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (分析纯)0.391g;其它处理在施用与对照处理相同的化肥基础上添加相应浓度的亚硒酸钠(分析纯试剂)。试验所用的肥料全部做基肥,与土壤充分混匀,装盆,用去离子水浇透并放置 2d 后移栽,试验期间用去离子水定量浇灌。

供试圆叶决明种子为 34721 品系,2003 年 6 月 4 日播种于田间,7 月 31 日选长势一致的健壮植株移栽,每盆定植 3 株。9 月 22 日至 25 日测定叶片硝酸还原酶活性,采样叶片为中位叶,即从植株自上而下第 3 片完全展开叶开始取样。11 月 15 日至 17 日测定植株根瘤固氮酶活性,并进行圆叶决明植株农艺性状(株高、分枝数、干物质重等)观测,然后将植株样品进行烘干、粉碎、过筛制样,以供植株硒含量测定。

1.3 分析测试方法

植株硒采用 氢化物发生-原子荧光法^[4];硝酸还原酶活性采用 改进常规法^[5];根瘤固氮酶活性采用 乙炔还原-气相色谱仪法^[6]。

叶肉细胞超显微结构 电子显微镜观测。即将圆叶决明叶片切成 0.5mm $\times$ 0.5mm 的组织块,然后将切好的组织块迅速投入 2.5%戊二醛固定液中,4 $^{\circ}\text{C}$ 固定、过夜;用磷酸缓冲液(pH7.6)洗涤 3 次,每次 20min。再将洗涤过的材料转移到 1%锇酸中,置冰箱 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定 4h,再用蒸馏水洗涤 3 次,每次 20min;随后经系列乙醇脱水,环氧树脂 618 包埋,LKB-5 型超薄切片机切片,经醋酸双氧铀染色后,用 JEM100CX- I 型透射电子显微镜观察、拍照。

2 结果与分析

2.1 施硒对圆叶决明植株生长的影响

盆栽试验结果(表 1)表明,施用不同浓度的硒肥均能提高圆叶决明株高、分枝数和植株干重,与 CK 处理相比,其提高幅度分别为 11.71%~18.97%、0.55%~22.61%和 52.9%~144.9%;其中 $S_{1.5}$ (1.5mg Se/kg)处理能分别提高植株株高、分枝数和植株干重 8.1 cm、1.23 条/株和 2 g/株,增长效果相对最佳。经 LSD 检验,施用硒肥处理与对照处理相比,虽然株高和分枝数均无显著性差异,但对植株干重而言, $S_{1.5}$ (1.5mg Se/kg)和 S_2 (2mg Se/kg)处理则与 CK、 $S_{0.5}$ (0.5mg Se/kg)和 S_1 (1mg Se/kg)

处理间有显著的差异。

表 1 施硒对圆叶决明植株株高、分枝数和干重的影响^①

处理 Treatment	株高 Height		分枝数 Branch		植株干重 Plant dry weight	
	高度 Height	± (%)	数量(条/株) Value(branch/plant)	± (%)	重量(g/株) Weight (g/plant)	± (%)
	(cm)					
CK	42. 7a ^②	0	5. 44a	0	1. 38Bb	0
S _{0.5}	47. 7a	11. 71	5. 67a	4. 23	2. 12ABb	53. 6
S ₁	49. 3a	15. 46	6. 44a	18. 38	2. 11ABb	52. 9
S _{1.5}	50. 8a	18. 97	6. 67a	22. 61	3. 38Aa	144. 9
S ₂	48. 4a	13. 35	5. 47a	0. 55	2. 79ABa	102. 2

①表中每一数据均为 3 次重复的平均值(下同)Each value in table was the norm of three repetitions (following is the same); ②表中数值后面大写字母表示 1% 显著性水平,小写字母表示 5% 显著性水平(LSD 检验法,下同)Small and capital letters indicate the different at 5% and 1% levels, respectively (Inspect by LSD, the same below)

2.2 施硒对圆叶决明植株硒吸收量的影响

施用不同浓度的硒肥均能明显地提高圆叶决明植株硒元素的含量(图 1)。施硒浓度与植株硒含量的相关系数 $r=0.913^*$, 呈显著正相关;与 CK 处理相比,施用不同浓度的硒肥后,植株的硒含量增幅为 2.68~10.04 倍;其中 S_{1.5} 处理的含量为 0.222mg/kg,达到最高值。方差分析的结果显示,S₁、S_{1.5} 和 S₂ 处理与 CK 处理间植株硒含量的差异达到极显著水平,而 S_{0.5} 处理与 CK 处理间则差异不显著。用 SPSS10.0 软件对施硒浓度(X)与植株硒的含量(Y)作回归曲线拟合,回归方程为: $Y=0.0398+0.1156X$,呈直线线性相关,决定系数 R^2 为 0.834^{*},达到显著水平。

2.3 施硒对圆叶决明叶片硝酸还原酶活性的影响

施用不同浓度的硒肥均能不同程度地促进圆叶决明植株叶片硝酸还原酶活性的提高(图 2),与 CK 处理相比,其增幅为 61.5%~281.5%;其中 S₁ 处理对植株叶片硝酸还原酶活性的增加效果相对最好,提高值为 3.66μmol NO₂⁻/30min·g 鲜重。方差分析的结果显示,S₁ 处理能比 CK 处理极显著地提高圆叶决明叶片的硝酸还原酶活性(图 2)。

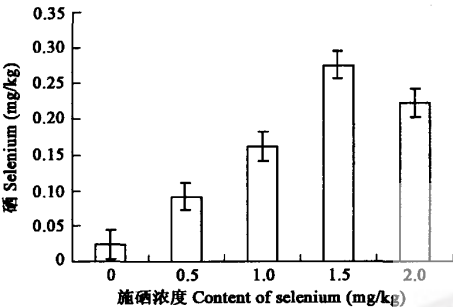


图 1 施硒对圆叶决明植株硒含量的影响

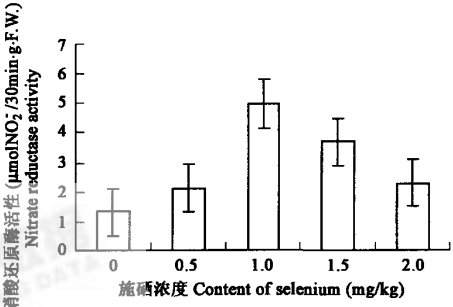


图 2 施硒对圆叶决明叶片硝酸还原酶活性的影响

Fig. 1 Effect of applying selenium on the element's content of plant in *Chamaecrista rotundifolia*. Fig. 2 Effects of applying selenium on the leaf's Nitrate Reductase Activity of *Chamaecrista rotundifolia*

2.4 施硒对圆叶决明根瘤固氮能力的影响

试验结果(图 3)表明,施用硒肥对圆叶决明根瘤固氮酶活性的影响随施硒浓度的不同而异,与 CK 处理相比,其变幅为 -17.86%~49.41%;其中低浓度硒肥(S_{0.5}和 S₁)处理对植株根瘤固氮酶活性没有促进作用,而较高浓度的硒肥(S_{1.5}和 S₂)处理则有一定的促进效果。

2.5 施用硒肥对圆叶决明叶肉细胞叶绿体、线粒体、细胞壁和细胞膜超显微结构的影响

从施用硒肥对圆叶决明叶肉细胞叶绿体超显微结构影响的透射电镜图(图 4,图 5)可以看出,与对照(CK)处理相比,施用硒肥处理能增加叶肉细胞中叶绿体的数量,其中以 S_{1.5} 处理的效果相对最好;能在一定程度上促进了基质片层的重叠,形成具有光反应功能的柱状基粒,其中 S_{1.5} 和 S₂ 处理的效果较佳;但其对稳定叶绿体的双层膜结构效果不明显。

从施用硒肥对圆叶决明叶肉细胞线粒体超显微结构影响的透射电镜图(图 6)可以看出,与对照(CK)处理相比,施用硒肥处理对叶肉细胞中线粒体的数量及内嵴密度均有降低的趋势;而 CK 与低浓度的硒肥处理(S_{0.5}和 S₁)降低了线粒体的外膜稳定

性。可见,施用的适量硒肥($S_{1.5}$ 和 S_1)处理能有效地降低圆叶决明叶肉细胞的线粒体数量及其内嵴密度,从而有效地缓解了由于某些缺素胁迫引起叶肉细胞的过度能量消耗,维持植株的正常生长。

从施用硒肥对圆叶决明叶肉细胞细胞壁和细胞膜超显微结构影响的透射电镜图(图 7)可以看出,与对照(CK)处理相比,施用适量的硒肥($S_{1.5}$ 和 S_1)处理有利于促进叶肉细胞细胞壁和细胞膜结构的稳定性,防止初生壁与细胞膜物质形成的囊泡状聚集物的沉积,低($S_{0.5}$)、高(S_2)浓度的硒肥处理均不利于二者的稳定性。

3 讨论与结论

3.1 施用硒肥与牧草生长及产量的关系

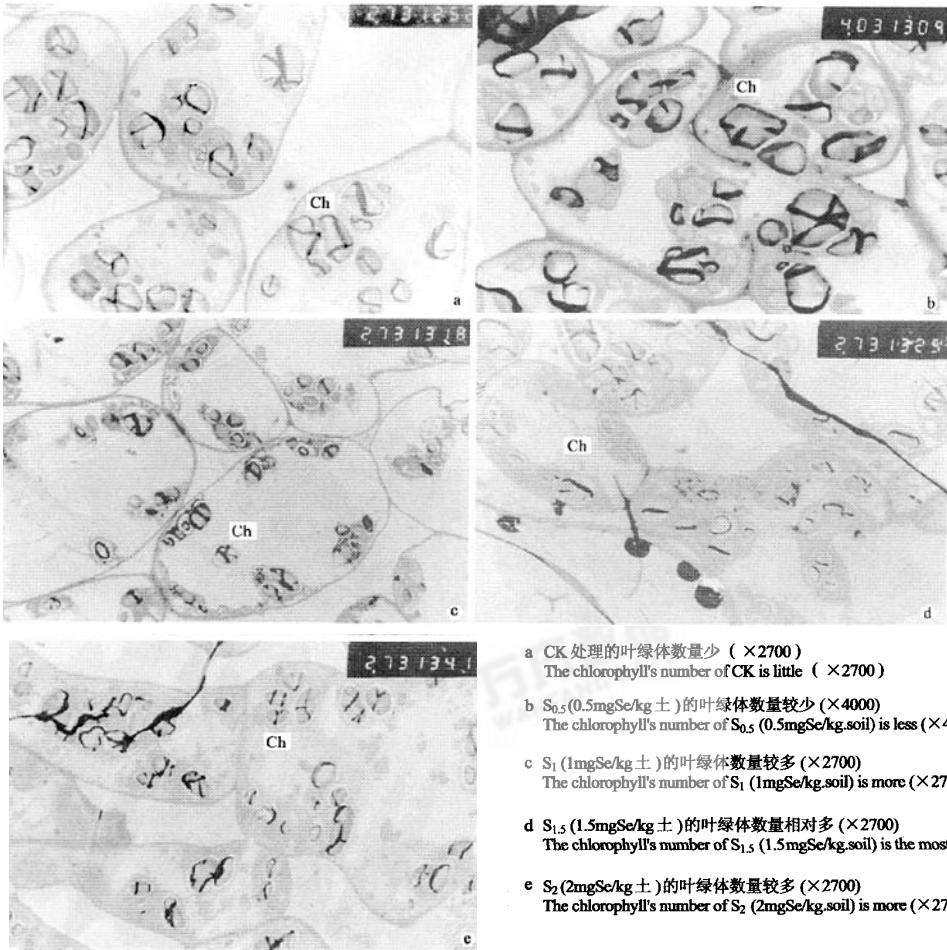


图 4 施硒对圆叶决明叶肉细胞叶绿体(Ch)形态影响的透射电镜图

Fig. 4 Observation on chloroplast (Ch) of *Chamaecrista rotundifolia*'s leaf by perspective electron microscope (Treatment of applying selenium)

硒是一种稀有准金属元素。1932 年,在植物中检测出了硒^[7]。1957 年,确证硒为高等动物必需的微量元素^[8]。自 20 世纪 70 年代发现硒谷胱甘肽过氧化物酶后,硒在生命活动中的各种重要功能逐步被人们所认识。硒为植物所必需的实验证据也日趋增多,有人认为硒极可能是继镍之后又一个新的植物必需元素^[9]。硒在植物体内的浓度为 0.004~0.2mg/kg,被认为是有益元素,

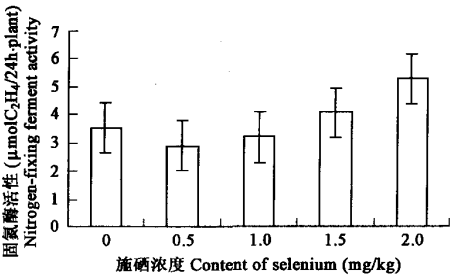


图 3 施硒对圆叶决明根瘤固氮酶活的影响

Fig. 3 Effect of applying selenium on the root nodule's Nitrogen-fixing Ferment Activity of *Chamaecrista rotundifolia*.

但硒是否为植物必需元素目前尚无定论^[10]。已有的研究结果表明,硒符合必需元素对生物体效应的 Bertrand 生物剂量规律,即低浓度时,对植物的生长有促进效应,过量则对植物构成毒害^[11]。施用硒肥对牧草植株茎、叶及草产量的影响研究报道很少。Courtts 等研究结果表明^[12],施用硒肥对禾草/三叶草草场草产量无影响。Hartikainen 等研究表明^[13],硒在黑麦草中发挥着双重功效,在低浓度下,它做为氧化抑制剂,而在高浓度下,它做为氧化促进剂,提高脂类过氧化产物的积累,氧化抑制效果是与谷胱甘肽氧化酶活性的增强相关,而与超氧化物歧化酶和 α -生育酚无关。在第 2 次收割时,由于添加适量的 Se 而减少了的脂类过氧化物与促进植株生长结果相一致。添加 Se 浓度为 10mg/kg 时,由于产生的氧化胁迫而引起草产量的急剧下降,结果显示 Se 中毒可能归因于 Se 的促氧化作用。而华路研究表明^[14],施锌、硒对黑麦草和白三叶的生长作用不明显,这可能是供试的山地黄棕壤的速效态硒含量(为 0.36 mg/kg)较高所致。本研究结果表明,适量的施用硒肥能在一定程度上促进田间种植的圆叶决明植株茎、叶及根部的生长,施用硒肥(0.5~2mg Se/kg 土)能提高圆叶决明植株株高、分枝数和植株干重,与对照相比,提高幅度分别为 11.71%~18.97%、0.55%~22.61%和 52.9%~144.9%。因此,对种植在我国南方红壤上的牧草可合理地施用硒肥,以利于牧草的生长及草产量的提高。

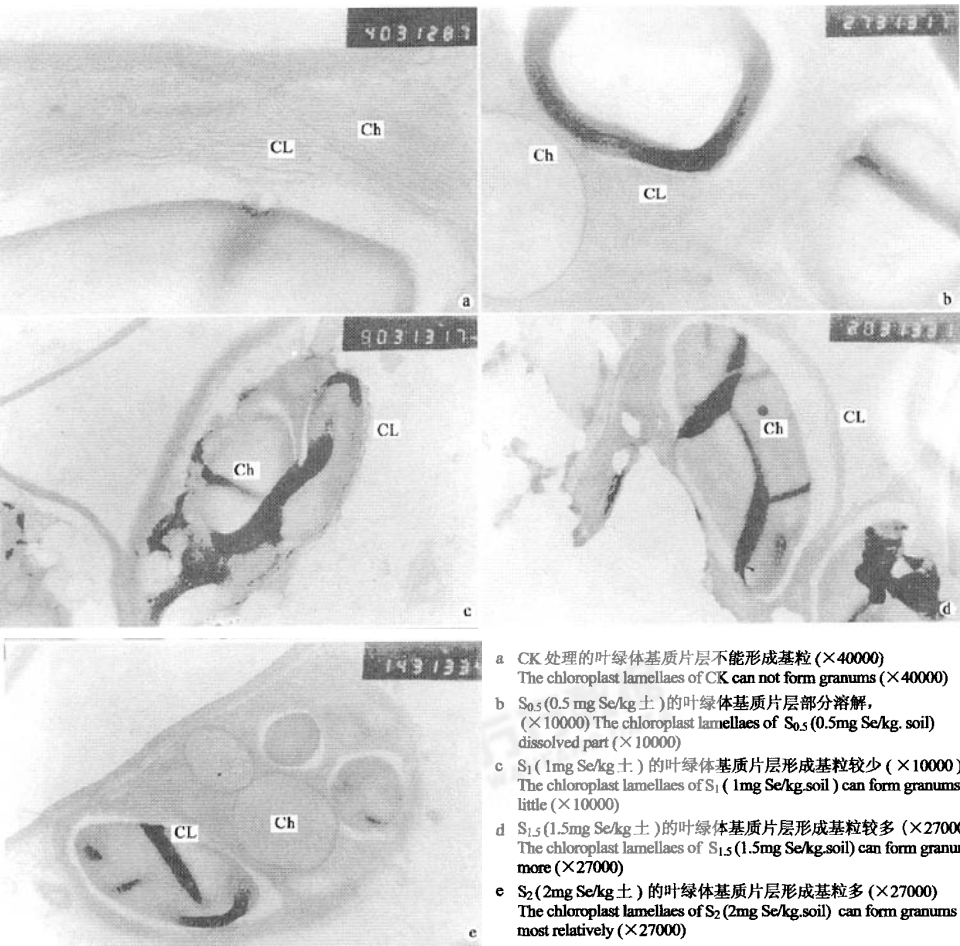


图 5 施硒对圆叶决明叶肉细胞叶绿体(Ch)及基质片层(CL)影响的透射电镜图

Fig. 5 Observation on chloroplast (Ch)and chloroplast lamellae (CL)of *Chamaecrista rotundifolia*'s leaf by perspective electron microscope (Treatment of applying selenium)

适量地施用硒肥对牧草的生长具有促进作用,这可能与硒的植物学生理功能有关。已有的研究表明:①硒具有促进植物幼苗生长的作用。适量硒可提高叶片的叶绿素含量,增强植物的光合作用,还可提高植物组织中可溶性蛋白质的含量,这是施硒促进植物生长的基础^[15]。②硒具有生物抗氧化作用。硒作为 GPH-Px 的组成成分,可清除植物体代谢和次生代谢过程中及环境胁迫条件下的自由基。③硒参加植物新陈代谢。在一些植物体内硒可以部分地取代巯基(—SH)中的硫,以 3 种硒代含硫氨基酸

(Se-Met,Cyse-Cyt)的形式参与蛋白质的合成,从而对植物的氮代谢、硫代谢、氨基酸代谢产生影响。Anderson 等提出硒可能是植物体内一种 tRNA 核糖核酸链的必要组分,而且已经有人证实植物体内确曾存在这种具有硒代半胱氨酸残基的 tRNA,其主要生理功能是转运氨基酸用于蛋白质的合成^[16,17]。我国克山病、大骨节病防治实践的结果均证实,施用亚硒酸钠可使病区小麦籽粒中多种氨基酸含量,尤其是胱氨酸的含量增加^[16]。此外,硒可能通过生物抗氧化酶系统参予高等植物的代谢过程。如 B. H. Ng 等^[18]提出,硒是植物磷酸和葡糖还原酶的组成成分。④硒具有养分及离子平衡作用。硒在植物体内应和其它养分或离子保持一定比例,才有利于植物的新陈代谢和生长发育。

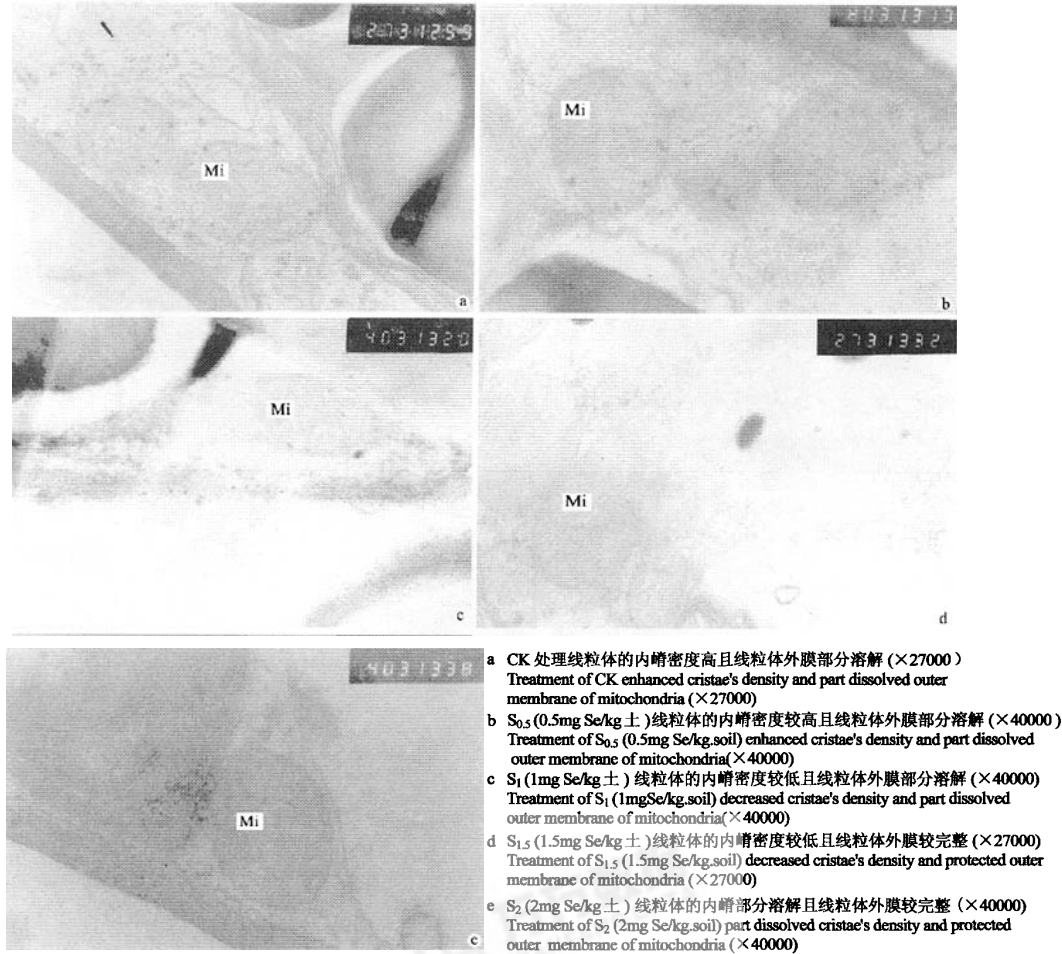


图 6 施硒对圆叶决明叶肉细胞线粒体(Mi)影响的透射电镜图

Fig. 6 Observation on mitochondria (Mi)of *Chamaecrista rotundifolia*'s leaf by perspective electron microscope (Treatment of applying selenium)

3.2 施用硒肥与牧草硝酸还原酶活性和固氮能力的关系

关于施用硒肥与豆科牧草圆叶决明硝酸还原酶或固氮酶活性的相关研究尚未见详细报道。本研究结果表明,施硒(0.5~2mg Se/kg 土)能比 CK 处理提高圆叶决明叶片硝酸还原酶活性 61.5%~281.5%,其中以施用 1mg Se/kg 土的效果相对最好;而对根瘤固氮酶活性的影响因施硒量的不同而异,其中,施用 2mg Se/kg 土的效果最好,比 CK 处理提高固氮酶活性 49.41%。施硒(0.075~0.3kg Se/hm²)处理与对照处理相比能提高田间种植圆叶决明根瘤的固氮酶活性 665.0%~1417.9%。关于合理施用硒肥能提高圆叶决明叶片硝酸还原酶活性和根瘤固氮酶活性的原因可能与硒在植物体内的促进植物生长及其生物抗氧化作用相关,也于硒元素参加植物新陈代谢等生理功能有关。

3.3 施用硒肥与牧草细胞超显微结构的关系

关于硒与植物细胞超显微结构的关系报道较少。丁颖等研究了重茬胁迫下硒对大豆叶绿体超微结构的影响,结果表明^[19],

与施硒 0.35mg/kg(以 Na_2SeO_3 计,下同)处理相比,对照(未加硒)处理的大豆叶片中叶绿体肿胀,没有明显的轮廓,被膜发生破损,片层结构不清晰,而且脂体小球数目较多,这是由于叶绿体中大部分类囊体发生降解后,产生的脂类物质以脂体小球的形式贮存起来,不能进一步参与类囊体的合成,因此导致基粒片层和间质片层数目的骤减和脂体球数目的增多;而前者的叶绿体膜、细胞膜和细胞壁完好,叶绿体片层结构排列方向一致,基粒片层规则地堆叠成基粒,脂体小球数目少。硒对植物细胞超显微结构的影响可能与其在植物体内的生理功能有关。硒是高等植物体内胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的重要组分,此酶可清除高等植物体内由于环境胁迫所产生的大量自由基,减缓自由基引发的膜脂过氧化对细胞膜系统所造成的损伤^[20]。

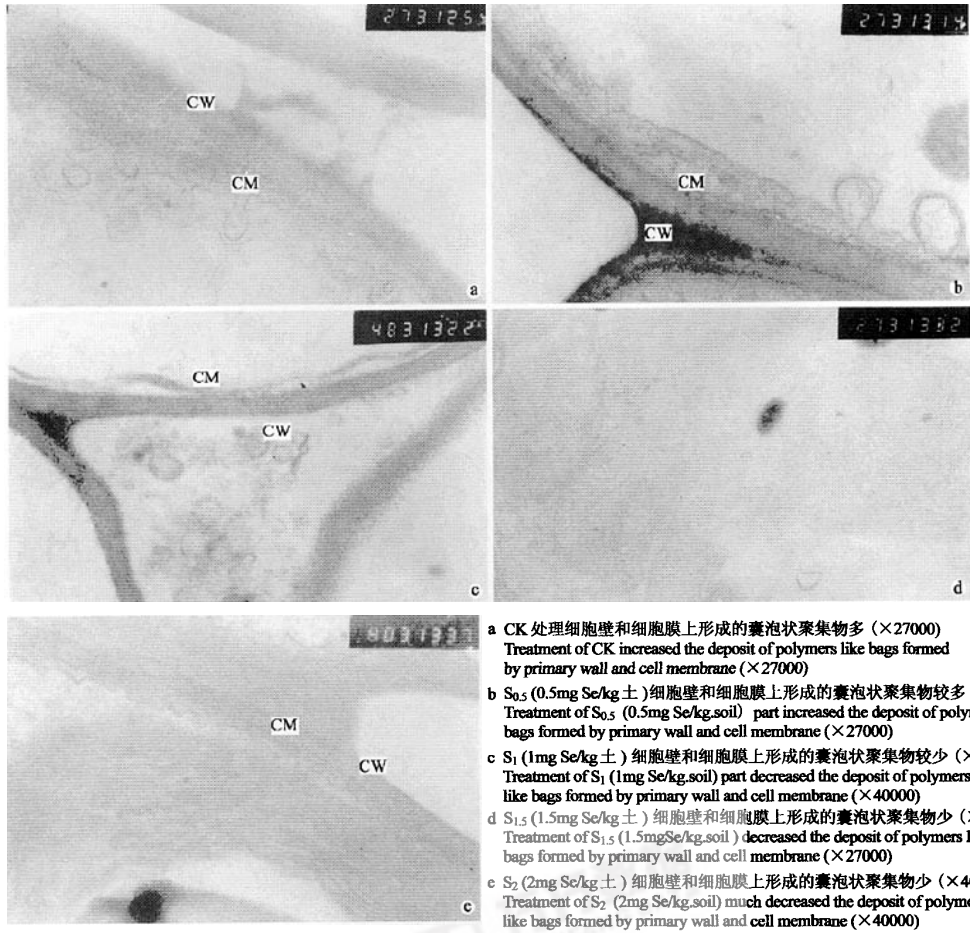


图 7 施硒对圆叶决明叶肉细胞细胞壁(CW)和细胞膜(CM)影响的透射电镜图

Fig. 7 Observation on cell wall (CW) and cell membrane (CM) of *Chamaecrista rotundifolia*'s leaf by perspective electron microscope (Treatment of applying selenium)

References:

[1] Ying Z Y, Huang Y B, Zhang M H, et al. Suitability of 40 accessions of *Chamaecrista* spp. in hilly red soil in north Fujian. *Journal of Fujian Agricultural University*, 2000,29(2): 233~237.

[2] Liu X D, "Four buddha's warrior attendants" of guarding and resisting cancer: selenium, iron, iodine and molybdenum. *China Machine Daily*, Dec,3rd, 2001.

[3] Weng B Q, Huang D F. Research Progress in Element Characteristic of Boron, Selenium in Red Soil in South China and Effects of Reasonably Applying on the Growth of Forage Grass. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004,15(6):1088~1094.

[4] Rao H, Yin T G. Detecting of selenium in forage by hydride arising-atomic fluorescence. *Jiangxi Forage*, 2002,(4):19~20.

[5] Zhou S, Zhen X M. Analyzing method of Nitrate Reductase Activity in body. *Plant Physiology Communication*, 1985,(1):47~49.

[6] Wu J, Li C J, Jiang R F, et al. Effects of boron-deficiency on soybean growth and nitrogenase activity. *Acta Agricultural Boreali-Sinica*,

1999, **14**(2):96~101.

- [7] Zhou B J. Microelement nutrition of plant. In: Liu Z ed. *Agricultural Chemistry of Microelement*. Beijing: Agriculture Press, 1991:48~49.
- [8] Qi R H. Life's element. In: Wang K ed. *Microelement of Life Science*. Beijing: China Measure Press, 1991. 1~3.
- [9] Shang Q M, Li P L. Physiology action of selenium in altitude plant. *Plant Physiology Communications*. 1998, **34**(4):284~287.
- [10] Liu Z. Microelement in Chinese Soil. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1996. 330~332.
- [11] Qiao A M, Lin X J. Relationship between selenium and plant. *Journal of Zhongkai Agrotechnical College*. 2003, **16**(3):67~73.
- [12] Coutts G, Atkin D, Cooke S. Application of selenium prills to improve the selenium supply to a grass/clover sward. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1990, **21**:11~12, 951~963.
- [13] Hartikainen H, Xue T L, Piironen V, *et al.* Selenium concentration of fescue and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil*, 2000, **225**:1~2, 193~200.
- [14] Hua L, Wei D P, Bai L Y, *et al.* Effect of application of nitrogen, zinc and selenium on fixation of nitrogen and transfer of nitrogen fixed in white clover. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, **14**(4):573~576.
- [15] Agricultural Institute of China. Collections of annual meeting's papers of first youth agricultural sciences. Beijing: Chinese science and technology press, 1992. 68~72.
- [16] Li J Y. Effect of applying selenium to increase its' content in food on the prevention and cure of Big Bone season. *Chinese Journal of Endemiology*, 1991, **10**:69~75.
- [17] Wang K. Microelements in Life Science. Beijing: China Metrology Press, 1991. 189~248.
- [18] Ng B H, Anderson J W. Evaluation of Environmental Impacts of Outer Continental Shelf Petroleum Development in the Pacific Northwest and Alaska. *Phylochemistry*, 1979, **18**: 537~580.
- [19] YU Y, LIU Y Y, LUO S G, *et al.* Effect of selenium on soybean chloroplast ultra-structure and microelement content of soybean leave under continuous cropping stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, **14**(4):573~576.
- [20] WU J, LIU X F, XU H S, *et al.* Function of selenium in plant. *Plant Physiology Communication*, 1999, **35**(5):417~423

参考文献:

- [1] 应朝阳, 黄毅斌, 张明辉, 等. 40 个决明品系牧草在闽北红壤山地的适应性. *福建农业学报*, 2000, **29**(2): 233~237.
- [2] 刘晓获. 抗癌抗癌“四大金刚”: 硒、铁、碘、钼. *中国中医药报*, 2001, 12 月 3 日.
- [3] 翁伯琦, 黄东风. 我国红壤区土壤钼、硼、硒元素特征及其合理施用对牧草生长影响的研究进展. *应用生态学报*, 2004, **15**(6):1088~1094.
- [4] 饶辉, 尹藤桂. 氢化物发生-原子荧光法测定饲料中的硒. *江西饲料*, 2002, (4):19~20.
- [5] 周树, 郑相穆. 硝酸还原酶体内分析方法的探讨. *植物生理学通讯*, 1985, (1):47~49.
- [6] 吴静, 李春俭, 江荣风, 等. 缺硼对大豆植株生长和根瘤固氮活性的影响. *华北农学报*, 1999, **14**(2):96~101.
- [7] 邹帮基. 植物的微量元素营养. 见: 刘铮主编. *微量元素的农业化学*. 北京: 农业出版社, 1991. 48~49.
- [8] 启任寰. 生命元素. 见: 王夔主编. *生命科学中的微量元素*. 北京: 中国计量出版社, 1991. 1~3.
- [9] 尚庆茂, 李平兰. 硒在高等植物中的生理作用. *植物生理学通讯*, 1998, **34**(4):284~287.
- [10] 刘铮. *中国土壤微量元素*. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996. 330~332.
- [11] 乔爱民, 林雪娟. 硒与植物的关系. *仲恺农业技术学院学报*, 2003, **16**(3):67~73.
- [14] 华珞, 韦东普, 白玲玉, 等. 氮锌硒肥配合施用对白三叶固氮作用与氮转移的影响. *生态学报*, 2001, **21**(4):579~583.
- [15] 中国农学会编. *全国首届青年农学学术年会论文集*. 北京: 中国科学技术出版社, 1992. 68~72.
- [16] 李继云. 土壤施硒肥增加粮食硒含量防治大骨节病效果的研究. *中国地方病学杂志*, 1991, **10**:69~75.
- [17] 王夔主编. *生命科学中的微量元素(上卷)*. 北京: 中国计量出版社, 1991. 189~248.
- [19] 于颖, 刘元英, 罗盛国, 等. 重茬胁迫下硒对大豆叶绿体超微结构和叶片中微量元素含量的影响. *应用生态学报*, 2003, **14**(4):573~576.
- [20] 吴军, 刘秀芳, 徐汉生. 硒在植物生命活动中的作用. *植物生理学通讯*, 1999, **35**(5):417~423.