

硒肥浓度对藤茶硒含量 及生长发育的影响

周成河¹ 许敏¹ 赖春垚² 郑小江^{1,2,*} 周光龙¹

(1.恩施职业技术学院,湖北恩施 445000;

2.湖北民族学院生物资源保护与利用湖北省重点实验室,湖北恩施 445000)

摘要:以多年生木质藤本植物藤茶为材料进行盆栽实验,探讨硒肥浓度对藤茶硒的吸收变化规律及生长发育的影响,优选出适宜的硒肥浓度,为富硒藤茶大规模栽培和开发利用提供依据。结果表明,一定浓度的硒肥对藤茶根、茎、叶的生长具有显著促进作用,并对藤茶的花序重量具有显著影响。随着硒的浓度升高,藤茶硒含量呈现整体升高的规律,硒浓度增大到一定程度时硒含量增加不显著。综合藤茶富硒规律及生长发育的影响可知,富硒藤茶的施硒浓度为5~10 mg/kg,在此浓度范围内硒对藤茶生长发育有积极影响且富硒含量较高。

关键词: 硒 浓度 藤茶 影响

The different concentration of selenium on selenium content and growth effect of *Ampelopsis grossedentata*

ZHOU Cheng-he¹ XU Min¹ DUN Chun-yao² ZHENG Xiao-jiang^{1,2,*} ZHOU Guang-long¹

(1.Enshi Vocational and Technical College, Enshi 445000, China;

2.Key Laboratory of Biologic Resources Protection and Utilization of Hubei Province, Enshi 445000, China)

Abstract: The perennial woody vines *Ampelopsis grossedentata* was used as materials for pot experiment to select the suitable concentration of selenium fertilizer by exploring selenium changes and growth of *Ampelopsis grossedentata* under the conditions of different concentrations of Selenium. This experiment aimed at providing the basis for the large-scale cultivation and utilization of selenium-rich *Ampelopsis grossedentata*. The main results was as follows: a certain concentration of selenium fertilizer had significant influence on promoting the root, stem and leaf growth and inflorescence weight. With the increase of concentration of selenium treatment, the selenium content of *Ampelopsis grossedentata* showed elevation overall. When selenium concentration increased to a certain extent, selenium content of *Ampelopsis grossedentata* was not significantly increased. Comprehensive selenium enrichment and growth of effect showed that selenium concentrations of selenium enriched *Ampelopsis grossedentata* was 5~10 mg/kg. This range of concentration of selenium on the growth and development had a positive impact and *Ampelopsis grossedentata* high selenium content.

Key words: selenium; concentration; *Ampelopsis grossedentata*; effect

中图分类号: TS272

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)02-0127-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.015

藤茶,即显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*)为葡萄科蛇葡萄属木质藤本植物,在我国湖北、湖南、贵州、广西等地的山区分布广泛,在土、苗等民族医药中具有重要地位^[1]。藤茶是目前世界上已知黄酮含量最高的一种植物,其营养成分、生物活性成分、毒理学研究都已较为清楚^[2]。藤茶中最为主要的生物活性成分是黄酮,有抗癌、降低血压、抗菌、抗氧化等药理作用^[3-9]。

研究证明,硒是人类生命活动中的必需微量元

素之一。我国推荐的硒供给量为50~200 μg/d^[10-15]。目前,开发富硒中药及农产品已经成为研究热点。本文主要研究硒对藤茶的生长发育及主要活性成分的影响,为藤茶的大规模富硒栽培和开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验材料 经湖北民族学院郑小江教授鉴定,

收稿日期: 2016-07-20

作者简介: 周成河(1964-),男,硕士研究生,研究方向:土壤与植物营养, E-mail: 242840939@qq.com。

* 通讯作者: 郑小江(1958-),男,教授,主要从事野生植物资源保护与利用方面的研究, E-mail: hbzxl23@126.com。

基金项目: 湖北省自然科学基金创新群体项目(2009CDA115);生物资源保护与利用湖北省重点实验室开放基金项目(PKLHB1525、1526);恩施州技术研发项目(2013、2014)。

为葡萄科蛇葡萄属显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* 材料采自恩施州来凤县大河镇种植基地 种植基质为珍珠岩;磷酸二氢铵、硝酸钾、四水合硝酸钙、六水合氯化镁、硼酸、四水合氯化锰、七水合硫酸锌、五水合硫酸铜、亚硒酸钠、四水合钼酸铵、Fe-EDTA、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、冰醋酸、高氯酸、甲醇、乙醇 均为分析纯。

AF-20A 型摇摆式粉碎机 温岭市林大机械有限公司; FA1004 型精密电子天平 上海精密科学仪器有限公司; KQ5200B 型超声波清洗器 江苏昆山市超声仪器有限公司; 101 型电热鼓风干燥箱 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 5417R 型台式冷冻高速离心机 湘仪离心机仪器有限公司; EPSON EU-88 型扫描仪 爱普生中国有限公司; 4510 型原子吸收光谱仪 上海仪电分析仪器有限公司; AFS-930d 型原子荧光光谱仪 北京吉天仪器有限公司。

1.2 培养液的配制

母液 A: 分别精密称取硝酸钾 60 g, 磷酸二氢铵 11 g, 六水合氯化镁 40 g, 置于烧杯中用纯水溶解 转入 1000 mL 容量瓶加水定容, 即得母液 A。

母液 B: 精密称取四水合硝酸钙 94.5 g 置于烧杯中用纯水溶解 转入 1000 mL 容量瓶加水定容, 即得母液 B。

母液 C: 分别精密称取四水合氯化锰 0.9 g, 硼酸 1.43 g, 七水合硫酸锌 0.11 g, 五水合硫酸铜 0.04 g, 四水合钼酸铵 0.0185 g, 置于烧杯中用纯水溶解 转入 500 mL 的容量瓶中加水定容, 即得母液 C。

母液 D: 精密称取 Fe-EDTA 粉末 11.311 g 置于烧杯中用纯水溶解 转入 500 mL 的容量瓶中加水定容, 即得母液 D 转入棕色瓶中 避光保存, 备用。

分别取上述配好的母液 A 250 mL, 母液 B 250 mL, 母液 C 50 mL, 母液 D 50 mL, 置于桶中再加入 50 L 纯水, 搅拌均匀, 即得实验用的培养液, 备用。

1.3 实验设计及材料处理

挑选苗高、茎粗、叶片数一致的藤茶幼苗若干组, 以珍珠岩为固体基质, 加上上述培养液进行培养, 再以不同浓度的硒肥每组为 3 个重复处理, 每个处理为 5 株, 进行培养待其长成植株。实验硒肥浓度梯度为 0、1、2、3、10、20、30、40、50、70、100 mg/kg。

每个处理施加 100 mL 营养液待其生长达到 100 d 后, 采集其根、茎、叶, 测定硒含量、根生长情况、叶面积、叶片数茎干重及花序重量。

1.4 测定方法

1.4.1 硒含量测定 将采集的藤茶叶片用纯水快速冲洗 3 次, 超纯水快速冲洗 2 次, 置于 60 °C 条件烘箱中烘干, 用粉碎机粉碎, 过 40 目筛, 密封储存备用。精确称取各组藤茶样品 2 g, 以《食品中硒的测定》(GB 5009.93-2010) 为依据, 用原子荧光法测定样品中的硒含量。

1.4.2 根生长状况测定 藤茶生长 100 d 后, 将根挖出洗净, 以吸水纸吸干根表面水分, 在实验台上将根系展开压平, 分别在扫描仪上进行扫描, 输出图片后

检查清晰度, 编号存储。再将图片数据导入 WinRHIZO 根分析系统, 进行扫描分析, 得出根的总长、总表面积、根系总体积、总根尖数和根平均直径^[16]。

1.4.3 茎生长状况测定 以藤茶的茎长为测定对象, 用不同浓度的硒肥处理后测量第一次茎的长度, 其后每隔 20 d 使用以游标卡尺校正过的测量线测定一次, 直至实验进行到 100 d 为止。按下式(1) 计算不同阶段茎的相对伸长量^[17]。

$$SIL_n = SL_n - SL_{n-19} \quad \text{式(1)}$$

式中: SIL_n 为第(n-19) d 到第 n d 植物茎的相对伸长量; SL_n 为第 n d 的茎长; SL_{n-19} 为前一次测量的茎长。

1.4.4 叶片数目测定 以藤茶的叶片为测定对象, 用不同浓度的硒肥处理后数出第一次每株上叶片的数目, 其后每隔 20 d 测定一次, 直至实验进行到 100 d 为止。按下式(2) 计算相对叶片数目增长量^[17]。

$$LIN_n = LN_n - LN_{n-19} \quad \text{式(2)}$$

式中: LIN_n 为第(n-19) d 到第 n d 植物叶片数目; LN_n 为第 n d 的叶片数目; LN_{n-19} 为前一次测量的叶片数目。

1.4.5 叶面积测定 藤茶生长 100 d 后, 将叶片采下, 在实验台上用半透明精密方格网纸将叶片展开压平, 分别在扫描仪上进行扫描, 输出图片后检查清晰度, 编号存储。以方格网法测出叶面积 S, 并以 WinRHIZO 根分析系统进行精度检验。

1.4.6 茎叶生物量测定 以藤茶的茎与叶为测定对象, 实验结束后, 将不同硒浓度条件下藤茶叶片和茎以纯水快速冲洗干净, 于 60 °C 条件下烘干。冷却后, 用分析天平测定重量 W。

1.4.7 开花状况测定 实验结束后, 将花序采摘烘干, 称取不同硒浓度下花序的重量 W_f ^[18]。

1.5 数据处理

采用 Microsoft Office Excel 2003 软件整理数据, 使用 Statistical Pack for the Social Science 17.0 统计软件进行数据处理及方差分析。

2 结果与分析

2.1 硒浓度对藤茶吸收硒的影响

如图 1 所示, 藤茶对硒的吸收与硒肥浓度有很大的相关性, 施加硒可促进藤茶中硒含量的增长。硒浓度在 0~5 mg/kg 范围内, 随着硒浓度的上升, 藤茶硒含量变化不明显; 硒浓度在 5~30 mg/kg 范围内, 随着硒浓度上升, 藤茶中硒含量与对照组相比表现为显著的增加 ($p < 0.05$)。在硒浓度为 30 mg/kg 时, 藤茶硒含量达到 56.8 mg/kg; 在硒浓度范围为 30~100 mg/kg 时, 随着硒浓度的上升, 藤茶硒含量增加缓慢。

硒浓度达到 5 mg/kg 后, 藤茶硒含量随着硒浓度的上升显著增加, 在硒处理浓度为 30~100 mg/kg 范围内, 较处理浓度为 30 mg/kg 时无显著上升。根据湖北省富硒食品硒含量分类标准可知, 茶叶富硒标准为 ≥ 0.01 mg/kg, 本实验施硒浓度超过 1 mg/kg 的实验组均达到富硒水平。

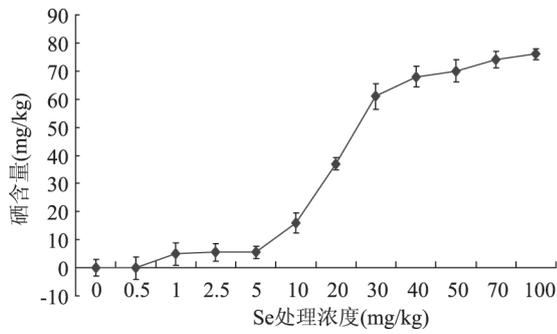


图1 硒浓度对藤茶硒含量的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of selenium on the selenium content of *Ampelopsis grossedentata*

2.2 硒浓度对藤茶根生长的影响

从图2可看出,当硒浓度在0~5 mg/kg范围时,硒对藤茶总根长和总表面积的增长均表现出促进作用,硒浓度为5 mg/kg时,促进作用最为显著,其后促进作用减弱;当硒浓度超过30 mg/kg后,随硒浓度的上升,藤茶总根长和总表面积无显著变化。

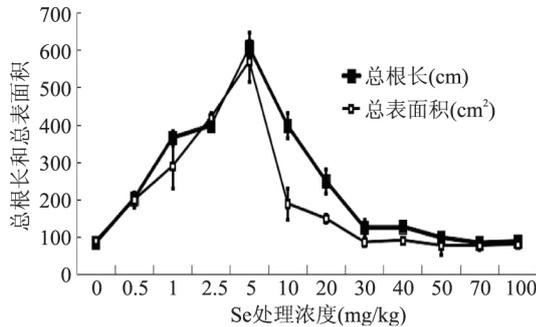


图2 硒浓度对单株藤茶根的总长和总表面积的影响

Fig.2 Effect of selenium concentration on plant

Ampelopsis grossedentata root length and total surface area

如图3所示,在0~20 mg/kg范围内,硒对藤茶根系总体积增长的具有促进作用,在硒浓度为5 mg/kg时,促进作用最显著,其后促进作用逐渐减弱;当浓度高于30 mg/kg后,主要表现为抑制作用,且在40 mg/kg时抑制作用最显著。

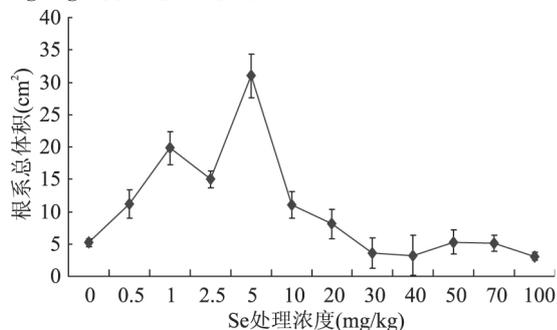


图3 硒浓度对根系总体积的影响

Fig.3 Total root volume under different selenium concentration

由图2、图3所得,硒对藤茶根生长的不同指标影响总体上一致性较强,对于根的总根长、根系表面积及根系总体积均一定范围下表现为促进作用。说明一定浓度硒促进藤茶根的初生生长过程,从而促

进藤茶根的总长的增加,而硒浓度高于阈值后促进作用则会减弱,甚至转为抑制,从而不再促进藤茶根总长的增加。随着根长度的增加被促进或抑制,根系的表面积和总体积的增加也就相应受到促进和抑制作用。

如图4所示,硒对藤茶总根尖数的增长表现为在一定硒浓度范围内促进,促进作用随着硒浓度上升先增强后减弱。在硒浓度0.5~20 mg/kg范围时,硒浓度对藤茶总根尖数的增长的影响达到了显著水平($p < 0.05$),且在硒浓度为5 mg/kg时为最大值,其后促进作用逐渐减弱,在硒浓度高于50 mg/kg后表现为抑制作用,但不显著。

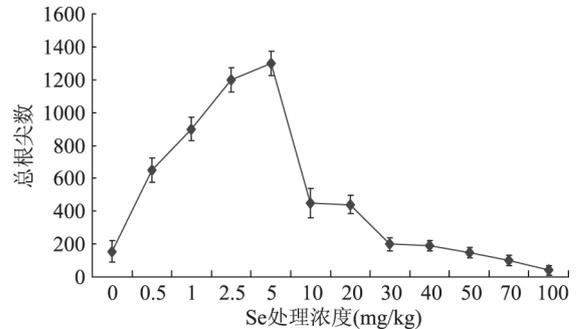


图4 硒浓度对藤茶总根尖数的影响

Fig.4 Effect of selenium concentration on the total number of root tip of *Ampelopsis grossedentata*

如图5所示,硒对藤茶根平均直径的影响主要表现为抑制其增粗,抑制作用在硒浓度为2.5 mg/kg后达到显著水平($p < 0.05$)。硒对藤茶根直径的影响说明硒对于藤茶根维管形成层细胞的平周分裂有明显影响,能抑制形成层细胞的分裂,从而抑制藤茶根的增粗。

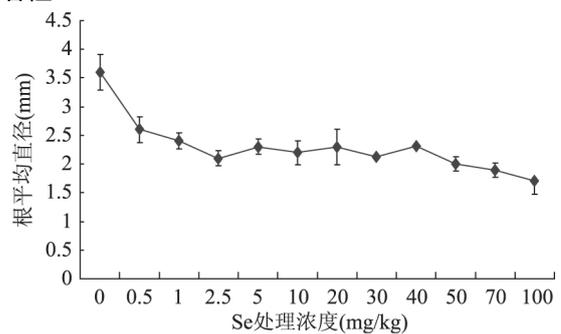


图5 硒浓度对藤茶根平均直径的影响

Fig.5 Effect of selenium concentration on the Average diameter of root of *Ampelopsis grossedentata*

硒在低浓度时对藤茶根的根尖数增长有促进作用,而在高浓度时即表现为抑制,对藤茶根直径的增长则表现出明显的抑制作用。这说明硒对于藤茶侧根的生长有影响,证明低浓度硒可以促进中柱鞘细胞分裂进而分化形成侧根,而高浓度硒则抑制这一过程。

2.3 硒浓度对藤茶茎生长的影响

如图6所示,硒对藤茶茎伸长的影响总体表现为随着硒浓度升高先促进后抑制,但影响水平不显著。在硒浓度为0.5~5 mg/kg范围内,硒对藤茶茎伸

长表现为促进作用,其中在硒浓度为0~1 mg/kg范围内,随着硒浓度上升,促进作用增强,在硒浓度为1 mg/kg时促进作用达到最强,茎长最长。硒浓度在1~5 mg/kg范围内,随硒浓度上升促进作用逐渐减弱。硒浓度在10~100 mg/kg内,表现为抑制藤茶茎的伸长。

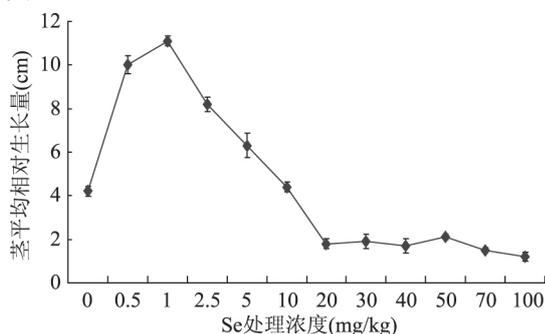


图6 硒浓度对藤茶茎平均相对生长量的影响

Fig.6 Average relative growth of stems with different Se concentration

2.4 硒浓度对藤茶叶片数的影响

如图7所示,不同硒浓度条件下硒对藤茶叶片数目增长的影响表现为随硒浓度的上升而先促进后抑制的规律。硒浓度在0.5~10 mg/kg范围内时,硒对藤茶叶片数目的增长表现为显著促进作用,促进作用强度随硒浓度上升而先增强后减弱。在硒浓度为1 mg/kg时促进作用最强,最高平均每株促进增长数目可达6片。硒浓度在2.5~10 mg/kg范围内,随着硒浓度上升促进作用逐渐减弱。硒浓度在20~100 mg/kg范围内时表现为抑制藤茶叶片数目的增长。抑制作用随硒浓度上升表现为逐渐增强的趋势。

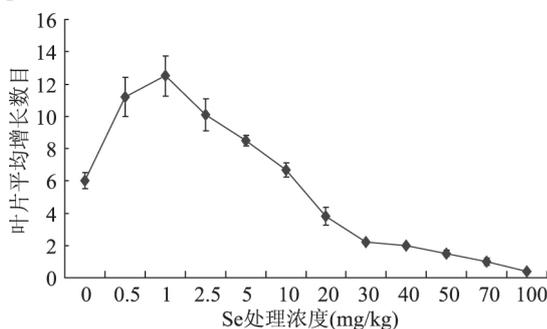


图7 硒浓度对藤茶叶片数的影响

Fig.7 Number of new leaves of *Ampelopsis grossedentata* in different growth stages under different concentrations of selenium

2.5 硒浓度对藤茶叶面积的影响

如图8所示,硒对藤茶叶面积增长表现出先抑制后促进再抑制的作用。硒浓度在0.5~5 mg/kg范围,抑制叶面积的增长,且抑制作用随硒浓度的上升而逐渐减弱。0.5 mg/kg时抑制作用最强,达到显著水平($p < 0.05$)。硒浓度为10 mg/kg时表现为促进,但未达到显著水平。硒浓度高于20 mg/kg后,表现为抑制作用,抑制强度随硒浓度上升而增强,硒浓度在20~100 mg/kg范围内抑制作用达到显著水平($p <$

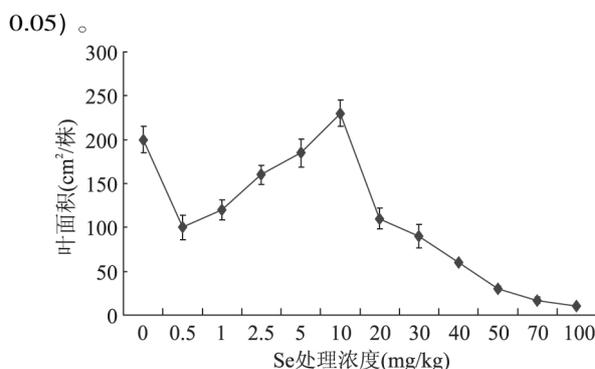


图8 硒浓度对藤茶叶面积的影响

Fig.8 *Ampelopsis grossedentata* leaf area under different selenium concentrations

硒对藤茶叶面积增长作用表现为随着浓度上升抑制作用先减弱后增强,这说明硒能够抑制藤茶叶片的正常生长。观察高硒浓度条件下的各组藤茶叶片其叶柄及复叶结构发育完整,对比叶片数目随硒浓度的变化规律二者有明显区别,这说明施加硒条件下藤茶叶原基能正常进行顶端生长形成叶轴,叶轴也能正常生长形成复叶结构,硒对藤茶叶片发育过程的影响也主要集中在叶片的居间生长阶段,低浓度的硒能够抑制叶肉细胞的垂周分裂,从而抑制叶面积的增大,随着硒浓度的上升对于叶肉细胞垂周分裂的影响逐渐减弱,使其对叶面积增加的影响减弱,而硒浓度达到一定水平后对植株产生迫害,再次抑制藤茶叶面积的增加。

2.6 硒浓度对藤茶茎叶生物量的影响

如图9所示,硒对于藤茶茎的生物量的增长表现出先抑制后促进再抑制的作用,硒浓度在0.5~5 mg/kg范围时,表现为抑制藤茶叶生物量的增长,抑制作用随着硒浓度上升而逐渐减弱;硒浓度为0.5 mg/kg时抑制作用最强,且达到显著水平($p < 0.05$)。硒浓度为10 mg/kg时,表现为促进作用,但效果不显著。硒浓度达到20 mg/kg后,表现为抑制作用,抑制强度随硒浓度的上升而增强,硒浓度在20~100 mg/kg范围内,抑制作用达到显著水平($p <$

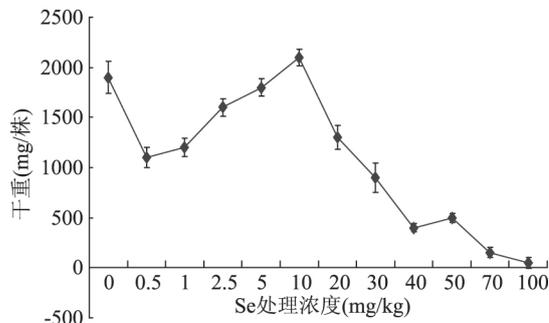


图9 硒浓度对藤茶茎干重的影响

Fig.9 Weight of dried *Ampelopsis grossedentata* stem under different selenium concentrations

2.7 硒浓度对藤茶开花的影响

硒对于藤茶开花有促进和抑制双重作用,与其浓度有关。图10所示,硒浓度在0.5~30 mg/kg内,

均观察到了藤茶的开花现象, 硒浓度超过 30 mg/kg 后, 对藤茶开花产生了强烈抑制作用, 使之不开花。

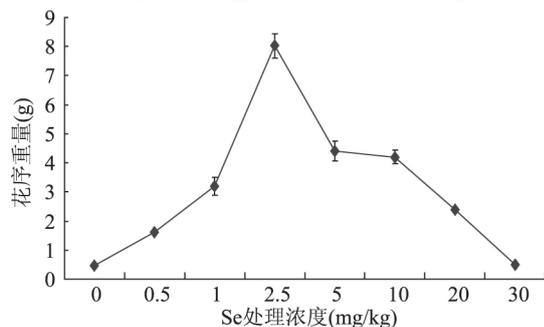


图 10 硒浓度对藤茶花序重量的影响

Fig.10 Weight of *Ampelopsis grossedentata* inflorescence under different selenium concentrations

对花序称重对比发现, 随着硒浓度的上升, 花序的重量呈现先增大后减小的趋势, 硒对藤茶花序重量增加的促进作用随着硒浓度的上升呈现先增强后减弱的趋势。硒浓度为 0~2.5 mg/kg 范围时, 促进作用逐渐增强; 硒浓度超过 2.5 mg/kg 后, 促进作用逐渐减弱。在硒浓度 0.5~20 mg/kg 范围时, 花序重量与未施硒相比均达到显著水平 ($p < 0.05$)。

3 结论

施加硒可促进藤茶中硒含量的增长。施加一定浓度的硒能促进藤茶根、茎、叶的生长, 并影响其开花。硒浓度为 0.5~20 mg/kg 时, 硒促进藤茶根的生长。硒浓度为 0.5~10 mg/kg 范围时, 硒促进藤茶茎及叶片数目的增长。在硒浓度为 0.5~10 mg/kg 时, 硒促进藤茶平均叶面积的增长。硒浓度在 10 mg/kg 时, 硒促进藤茶茎的生物量的增加。硒对藤茶的花期有延迟作用, 在硒浓度 0.5~20 mg/kg 时, 硒促进藤茶花序重量的增加。综合藤茶富硒规律及生长情况可知, 富硒藤茶的最佳施硒浓度为 5~10 mg/kg。

硒元素有很大的开发利用价值, 将其与地方特种经济植物相结合具有广阔发展空间, 对于山区扶贫开发和产业发展有重要意义。本实验结果和前人研究结论进行分析, 得出不同植物受硒影响区别很大, 因此有必要对有开发价值的植物分别实验, 弄清不同植物的最佳富硒浓度和受硒影响的规律; 本文实验条件控制严格, 土壤、气候等条件与自然环境有别, 在实际生产中还应继续实验, 以确定适合自然条件下藤茶最佳品质和生长发育状况的硒浓度。

参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 第二册. 北京: 科学出版社, 1976: 764-769.
[2] Zhou Y, Shu F, Liang X, et al. Ampelopsin induces cell growth

inhibition and apoptosis in breast cancer cells through ROS generation and endoplasmic reticulum stress pathway [J]. Plos One 2014, 9(2): 1279-1287.

[3] Liu B G, Du J Q, Zeng J, et al. Characterization and antioxidant activity of dihydromyricetin-lecithin complex [J]. Eur Food Res Technol 2009, 230: 325-331.

[4] Lee K H, Kim J H. Development and optimization of fractional precipitation for the pre-purification of (+)-dihydromyricetin [J]. Biotechnol. Bioprocess Eng 2008, 13: 274-278.

[5] Ma J, Yang H, Basile M J, et al. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three pouteria species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Agric Food Chem 2004, 52: 5873-5878.

[6] 中国营养学会. 中国居民膳食营养素参考摄入量[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000: 210-215.

[7] Reinhardt F, Drwxler H, Bickel A, et al. Neurotoxicity of long-term low-level exposure to carbon disulphide: results of questionnaire, clinical neurological examination and neuropathological testing [J]. Int Arch Occup Environ Health, 1997, 69(5): 332-338.

[8] 吐尔逊江. 硒与人体健康的研究进展[J]. 国外医学医学地理分册, 2013, 34(4): 222-224.

[9] 史景泉, 陈意生, 卞修武. 超微病理学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.

[10] 张琴. 微量元素硒抗氧化研究发展态势文献计量分析[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(26): 13164-13166.

[11] 田俊梅, 张丁, 付瑞娟, 等. 大豆硒蛋白与亚硒酸钠生物利用的比较研究[J]. 大豆科学, 2010, 29(3): 534-536.

[12] Chen J, Berry M J. Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases [J]. Journal of Neurochemistry, 2003, 86: 1-12.

[13] 杨建伯. 克山病病因研究的若干基础性背景[J]. 中华地方病学杂志, 2014, 33(3): 240-245.

[14] Adalova. Biological effects of selenium compounds with a particular attention to the ontogenetic development [J]. Physiological Research 2012, 61: S19-S34.

[15] Chao T, Xue G, Hong Z, et al. A new simple and sensitive fluorometric method for the determination of hydroxyl radical and its application [J]. Talanta 2002, 58: 661-667.

[16] 刘达, 涂路遥, 赵小虎, 等. 镉污染土壤施硒对植物生长及根际镉化学行为的影响[J]. 环境科学学报, 2016, 36(3): 999-1005.

[17] 谭一波, 赵仲. 叶面积指数的主要测定方法[J]. 中南林业科技大学生命科学与技术学院, 2008, 33(3): 45-48.

[18] 闫慧, 吴茜, 丁佳, 等. 不同降水及氮添加对浙江古田山4种树木幼苗光合生理生态特征与生物量的影响[J]. 生态学学报, 2013, 33(14): 4226-4236.

(上接第 126 页)

[13] 胡志芬, 孙仕萍. 折光计法测定酱油中可溶性无盐固形物的含量[J]. 化学分析计量, 2003, 12(3): 43-44.

[14] 陈敏, 蒋予健, 励建荣. 包装材料和 L-抗坏血酸对酿造酱

油色泽的影响[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 67-71.

[15] 屠康, 姜松, 朱文学. 食品物性学[M]. 南京: 东南大学出版社, 2006: 162-174.