

# 海藻提取物的抗旱性研究

孙杰<sup>1,2</sup>, 韩丽君<sup>1</sup>, 史大永<sup>1</sup>, 袁兆慧<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

**摘要:** 对不同提取方法获得的海藻提取物在黄瓜叶面上进行喷施效果试验, 测定土壤绝对含水量, 抗旱系数, 叶片相对含水量, 叶片自由水、束缚水含量, 相对电导率, 脯氨酸含量等指标, 采用隶属值法进行数据分析, 结果表明在 9 种海藻提取物中, A<sub>2</sub>(20% 海藻提取液) 和 A<sub>7</sub>(50% 海藻提取液) 组增强作物抗旱性最强, 具有作为开发研究的可能性。

**关键词:** 海藻提取物; 抗旱; 效果

中图分类号: S143.8

文献标识码: A

文章编号: 1006-3096(2006)06-0040-06

海藻植物生长剂作为一种新型的无公害肥料, 其提高作物品质、增加抗逆性和显著增产的作用已被实验证明<sup>[1]</sup>。作者在海藻化学研究的基础上<sup>[2-6]</sup>, 进行了海带(*Laminaria japonica*) 中具有保持细胞内水分子平衡作用的生物活性物质的提取, 所得提取物的主要成分为: 甜菜碱、细胞激动素、植物生长素、海藻多酚、可溶性小分子和海藻多糖。将海带提取物应用到经济作物黄瓜的抗旱性研究中, 分别测定了海藻提取物对黄瓜的抗旱系数, 叶片自由水、束缚水含量, 相对电导率<sup>[4,7]</sup>, 脯氨酸含量<sup>[8]</sup>以及土壤绝对含水量<sup>[9]</sup>等与抗旱性有一定相关性的生理指标, 同时采用隶属值法进行了数据分析, 获得了对增强作物抗旱性最显著的海藻提取物强化体系。结果表明不同海藻提取物对旱作农业和坡岭地的农作物, 特别是对黄瓜有明显的抗旱作用, 为生产应用提供了科学依据。

## 1 实验材料

### 1.1 供试作物

选取对水分供应敏感的蔬菜黄瓜作为实验对象, 供试品种为甘肃省农业科学院蔬菜研究所选育的甘丰 11 号。

### 1.2 栽培盆及规格

普通盆规格: 15 cm × 15 cm。

### 1.3 栽培基质

每立方米菇渣 泥炭 水洗沙 羊粪(3: 2: 3: 2)

加 25 kg 生物有机肥。消毒剂采用移栽灵, 用量为 150 mL/m<sup>3</sup>, 配成 500 倍液均匀喷洒在基质上拌匀, 然后覆膜 3 d, 装盆备用。

## 2 实验方法

本实验设 10 个处理, 编号分别为 A<sub>1</sub>(10% 海藻提取液, 下同), A<sub>2</sub>(20%), A<sub>3</sub>(25%), A<sub>4</sub>(30%), A<sub>5</sub>(40%), A<sub>6</sub>(45%), A<sub>7</sub>(50%), A<sub>8</sub>(70%), A<sub>9</sub>(CK<sub>1</sub>), A<sub>10</sub>(CK<sub>2</sub>), A<sub>1</sub>~A<sub>8</sub> 为自配, A<sub>9</sub> 为 KELPAK(国际市场最为畅销的海藻植物生长剂), A<sub>10</sub> 为清水。重复 3 次, 每重复 5 盆, 完全随机分组排列。1 叶 1 心期开始叶面喷施 1 000 倍相对应处理不同的海藻提取物溶液, 每隔 7 d 一次, 连续 3 次, 以 KELPAK 为阳性对照, 以清水为空白对照。

采用 15 cm × 15 cm 普通盆直播盆栽, 在幼苗三叶一心期进行模拟干旱处理, 处理前使每盆基质含水量达到饱和, 然后控水, 当盆内基质含水量达到 7.0% (由预备实验确定的 50% 植株发生中度萎蔫时的基质绝对含水量) 左右时, 调查各处理的相关指标。

收稿日期: 2004-09-01; 修回日期: 2005-12-20

基金项目: 国家自然科学基金重点基金资助项目(30530080)

作者简介: 孙杰(1974), 女, 山东省烟台市人, 在读博士生, 研究方向为海藻和海洋药物; 韩丽君, 通讯作者, 电话: 0532-82898719, E-mail: lijunhan2001@yahoo.com

### 3 实验测定指标及方法

测定的指标为:土壤绝对含水量,抗旱系数,叶片相对含水量,叶片自由水、束缚水含量,细胞质膜相对透性(相对电导率),脯氨酸含量。

#### 3.1 土壤含水量测定

取 15cm 深处的土壤样品,称质量记作  $M_0$ ,放入铝盆中,然后放入烘箱在 105℃ 温度下烘 5 h 至恒质量,取出后自然冷却,再称烘干土质量,记作  $M_1$

$$\text{土壤绝对含水量}(\%) = [(M_0 - M_1) / M_0] \times 100$$

#### 3.2 抗旱系数测定

根据黄瓜植株表现出的萎蔫程度,按照以下分级标准对各重复分株进行调查统计。

0级:植株生长正常,无萎蔫现象;

1级:植株生长基本正常,只有 1~2 片叶表现轻微萎蔫;

2级:植株明显萎蔫,3 片以上叶均萎蔫,但叶柄尚坚挺未下垂,生长点及周围幼叶尚保持伸展状;

3级:植株严重受害,叶柄萎蔫下垂,生长点蜷缩、周围小叶边缘变干成绿状,恢复困难。

将统计结果按以下公式计算抗旱系数:

$$\text{抗旱系数}(\%) = [1 - \sum(\text{各级株数} \times \text{相应级数}) / 15] \times 100$$

#### 3.3 叶片组织相对含水量、自由水、束缚水量测定

采集不同处理植株的叶片,用打孔器钻取小圆片 50 片,立即放入称量瓶中,盖紧瓶盖,称质量记作  $W_1$ ;然后浸入水中至预备实验确定的黄瓜叶片吸收水分至饱和含水量所需时间,取出后用滤纸吸去表面水液立即称质量记作  $W_i$ ;然后放入烘箱于 105℃ 下烘 10min 以杀死植物组织,再于 80~90℃ 温度下烘至恒质量,取出后自然冷却,再称烘干质量,记作  $W_d$ 。称量瓶质量记作  $W_0$ 。

$$\text{叶片组织的总含水量}(\%) = [(W_1 - W_d) / (W_1 - W_0)] \times 100$$

$$\text{叶片的相对含水量}(\%) = [(W_i - W_d) / (W_1 - W_d)] \times 100$$

植物组织中自由水含量的测定方法:用打孔器取样后立即称质量,记取小圆片 50 片,立即放入称量

瓶中,盖紧瓶盖,称质量记作  $W_1$ ,然后加入 60%~65% 的蔗糖溶液 5 mL 左右,称质量记作  $W_i$ ,置于暗处 4~6 h,其间不时摇动。到预定时间后,充分摇动。用折射仪测糖溶液浓度,记作  $C_2$ ,称量瓶质量记作  $W_0$ ,原糖溶液浓度记作  $C_1$ 。

$$\text{叶片组织中自由水含量}(\%) = \frac{(W_i - W_1) \times (C_1 - C_2)}{(W_1 - W_0) \times C_2} \times 100$$

$$\text{叶片组织中束缚水含量}(\%) = \text{叶片总含水量}(\%) - \text{叶片自由水含量}(\%)$$

#### 3.4 细胞质膜相对透性(相对电导率)测定

采集不同处理植株的叶片,准确称取样品 0.1 g。剪成 0.1 cm 的小段,分别置于已编号的试管中。每个试管中加入 25 mL 无离子水,放入 32℃ 恒温箱中,浸提 2 h 后,测定电导度  $N_0$ ,测定完后,经 10 min 沸水浴,冷却后,测定各溶液的电导度  $N_1$ 。

计算方法:测定数据校正至 25℃ 下的电导度,再以  $(N_0/N_1) \times 100\%$  计算出相对电导率。

#### 3.5 脯氨酸含量测定

游离脯氨酸的提取:采集不同处理植株的叶片,准确称取样品 0.1 g。将称好的样品放入具塞的试管中,加入 5 mL 磺基水杨酸(13%),加塞并将试管浸入沸水浴中 15 min,经常摇动,冷却后离心 10 min (3000 r/min),取上清液备用。

脯氨酸含量测定:清洗仪器与材料,待提取步骤完成后,冷却,取 2 mL 提取液加入试管,各加入 2 mL 冰醋酸和 2 mL 酸性茚三酮,放入沸水浴中 30 min。冷却后,各加入 5 mL 甲苯,充分振荡,静置分层。取甲苯层在 520 nm 下比色(以甲苯为对照),在标准曲线下,查出脯氨酸的含量。

$$\text{叶片中脯氨酸含量}(\times 10^{-2} \text{mg/g}) = \frac{C \times V \div A}{W \times 10}$$

式中:  $C$  为提取液中脯氨酸含量( $\times 10^2 \text{mg/g}$ );  $V$  为提取液总体积 (mL);  $A$  为测定时提取液体积 (mL);  $W$  为样品质量(g)。

## 4 实验结果分析

### 4.1 土壤含水量

测定结果见表 1,各处理土壤含水量在 6.84~7.21 之间,总体平均值为 7.04,各处理间无显著差异。

表 1 不同处理抗旱系数对海藻肥抗旱效果的排序

Tab. 1 The anti-drought effect of seaweed extract with different coefficients

编号	土壤含水量 (%)	±CK <sub>1</sub>	±CK <sub>2</sub>	抗旱系数 (%)	±CK <sub>1</sub>	±CK <sub>2</sub>	抗旱性能排序
A <sub>1</sub>	7.10	0.13	0.11	65.20	18.53	29.65	2
A <sub>2</sub>	7.01	0.04	0.02	73.33	26.66	37.78	1
A <sub>3</sub>	7.21	0.24	0.22	53.33	6.66	17.78	4
A <sub>4</sub>	7.17	0.20	0.18	44.45	-2.22	8.90	7
A <sub>5</sub>	6.95	-0.02	-0.04	42.22	-4.45	6.67	8
A <sub>6</sub>	6.84	-0.13	-0.15	42.22	-4.45	6.67	8
A <sub>7</sub>	7.12	0.15	0.13	61.30	14.63	25.75	3
A <sub>8</sub>	7.06	0.09	0.07	48.89	2.22	13.34	5
A <sub>9</sub>	6.67	0.00	-0.02	46.67	0.00	11.12	6
A <sub>10</sub>	6.99	0.02	0.00	35.55	-11.1	0.00	9

注: ±CK<sub>1</sub>、±CK<sub>2</sub> 分别表示 A<sub>1</sub>~ A<sub>10</sub> 的土壤含水量 (%) 和抗旱系数 (%) 与 CK<sub>1</sub>(A<sub>9</sub>)、CK<sub>2</sub>(A<sub>10</sub>) 的差值

#### 4.2 抗旱系数

在基本相同的土壤水分条件下, 植株地上部分的萎蔫程度很好地说明了作物对水分胁迫的耐受性和适应性。据表 1, 在 10 个处理中, 以 A<sub>2</sub> 的抗旱系数最高, 为 73.33%, 比 A<sub>10</sub>(CK<sub>2</sub>) 高 37.78 个百分点, 比 A<sub>9</sub> 高 26.66 个百分点, 比除 A<sub>1</sub> 之外的其它处理均有极显著差异。接下来依次 A<sub>1</sub>、A<sub>7</sub>, 分别比 A<sub>10</sub>

高 29.65 个百分点、25.75 个百分点, 分别比 A<sub>9</sub> 高 18.53 个百分点、14.63 个百分点。

#### 4.3 其它相关指标

将其它各项指标与抗旱系数进行相关性分析, 结果见表 2。

表 2 其它各项指标与抗旱系数的相关性

Tab. 2 Correlation between anti-drought coefficient and other indexes

指标	相对电导率	脯氨酸含量 (× 10 <sup>2</sup> mg/g)	相对含水量	束缚水含量 (%)	自由水含量 / 束缚水含量
相关系数	0.9167**	0.3906	0.7838**	0.4741*	0.5170*

\*\* 表示在 P < 0.01 水平上显著, \* 表示在 P < 0.05 水平上显著。

##### 4.3.1 相对含水量

相对含水量常用以表示植物在遭受水分胁迫后的水分状况, 表示相对含水量植物叶片的持水能力。一般认为, 在同样的干旱胁迫下, 相对含水量下降幅度愈大则品种的抗旱性能愈差。实验结果分析表明

叶片相对含水量与抗旱系数为极显著的正相关 ( $r = 0.7838 > P_{0.01} = 0.537$ )。从表 3 可见, 处理 A<sub>2</sub>、A<sub>7</sub> 的叶片相对含水量居第一、第二位, 具有明显提高黄爪幼苗抗旱性的作用。

表 3 其它生理指标的测定结果

Tab. 3 The results of other physiologic indexes

编号	相对电导率	相对含水量	束缚水含量 (%)	自由水含量/束缚水含量	脯氨酸含量 ( $\times 10^{-2}$ mg/g)
A <sub>1</sub>	62.70	81.57	13.71	4.22	5.00
A <sub>2</sub>	60.20	88.75	22.08	3.02	8.19
A <sub>3</sub>	72.87	80.03	14.14	4.66	7.35
A <sub>4</sub>	69.51	76.00	12.81	5.67	6.69
A <sub>5</sub>	71.29	74.00	16.60	3.59	6.34
A <sub>6</sub>	73.20	83.57	17.25	3.85	6.54
A <sub>7</sub>	64.30	85.00	26.28	2.21	6.85
A <sub>8</sub>	68.65	83.55	23.11	2.62	5.90
A <sub>9</sub>	72.43	79.50	15.85	4.19	6.23
A <sub>10</sub>	74.30	77.20	12.73	5.59	5.67

4.3.2 相对电导率

原生质膜是对水分变化最敏感的部位,水分胁迫会造成原生质膜的损伤,使质膜稳定性降低,透性增大,细胞内含物被动外渗,使外溶的离子增多,电导率升高。水分胁迫愈严重,质膜损伤愈严重,电导率值则愈大。因此,测定组织浸提液的电导率可反映质膜的损伤程度,从而鉴定出作物的抗旱能力<sup>[7]</sup>。试验结果分析表明相对电导率与抗旱系数为极显著的负相关( $r = 0.9167 < P_{0.01}$ ),从表 3 可见,处理 A<sub>2</sub>、A<sub>7</sub>、A<sub>1</sub> 的叶片相对电导率较低,说明在水分胁迫下,叶片受害程度轻,抗旱性好。

4.3.3 叶片自由水、束缚水含量

自由水和束缚水含量与植物生长及抗逆性有密

切关系。一般认为,自由水、束缚水值较低时,说明植物组织细胞原生质呈凝胶状态,抗逆性强,反之则抗逆性弱。本试验中叶片束缚水含量与抗旱系数为显著的正相关( $r = 0.1741 > P_{0.05} = 0.123$ ),自由水/束缚水与抗旱系数为显著的负相关( $r = 0.5170 < P_{0.05}$ ),本试验中 A<sub>2</sub>、A<sub>7</sub>、A<sub>1</sub> 的自由水/束缚水值显著低于 CK<sub>1</sub>、CK<sub>2</sub>,说明有较强提高黄瓜抗旱性的作用。

4.3.4 脯氨酸含量

关于游离脯氨酸积累量能否作为作物的一个抗旱性鉴定指标,有两种不同的观点。在本试验中脯氨酸含量与抗旱性无显著相关( $r = 0.3906 < P_{0.05}$ )。

以上所测 A<sub>1</sub>~ A<sub>10</sub> 的几个生理指标的数值及其与抗旱性的关系如图 1 所示。

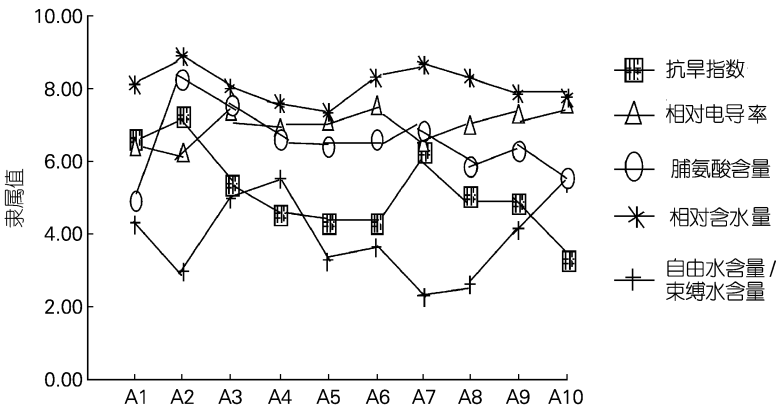


图 1 生理指标值及其与抗旱性的关系

抗旱指数、相对电导率、相对含水量取其值的  $\frac{1}{10}$  作图

Fig. 1 The physiologic indexes and their relation to anti drought

4.4 农艺形态生理生化指标的综合评价

作物抗旱性是由多基因控制的性状或多种因素相互作用的结果,因而以某一项指标评价黄瓜的抗旱性虽有一定相关,但不能反应整体生理生态机制,而对某一指标,又不能等量齐观,为此,作者采用了模糊数学中隶属函数的方法,对供试要品的农艺性状及生理生化指标进行综合评定,计算方法如下:

A: 采用公式(1)和公式(2)分别计算与抗旱性呈正相关和负相关的指标隶属值:

$$R(X_{ij}) = (X_{ij} - X_{j,\min}) / (X_{j,\max} - X_{j,\min}) \quad (1)$$

$$R(X_{ij}) = 1 - (X_{ij} - X_{j,\min}) / (X_{j,\max} - X_{j,\min}) \quad (2)$$

$X_{ij}$  为  $i$  处理  $j$  性状值;  $X_{j,\min}$  为  $j$  性状中最小值;  $X_{j,\max}$  为  $j$  性状中最大值;  $R(X_{ij})$  为  $i$  处理  $j$  性状

表 4 各处理相关指标的隶属值

Tab. 4 The value of indexes

编号	抗旱系	相对电	相对含	束缚水	自由/束	隶属值	隶属值	隶属值	抗旱性
	数隶属值	导率隶属值	水量隶属值	隶属值	缚隶属值	和	平均值	与 CK <sub>1</sub> 的相对偏差 (%)	
A <sub>1</sub>	0.78	0.82	0.51	0.07	0.42	2.61	0.52	80.15	中抗
A <sub>2</sub>	1.00	1.00	1.00	0.69	0.77	4.46	0.89	207.29	强抗
A <sub>3</sub>	0.47	0.10	0.41	0.10	0.29	1.38	0.28	-5.06	不抗
A <sub>4</sub>	0.24	0.34	0.14	0.01	0.00	0.72	0.14	-50.58	不抗
A <sub>5</sub>	0.18	0.21	0.00	0.29	0.60	1.28	0.26	-11.85	不抗
A <sub>6</sub>	0.18	0.08	0.65	0.33	0.53	1.76	0.35	21.63	弱抗
A <sub>7</sub>	0.68	0.71	0.75	1.00	1.00	4.14	0.83	185.24	强抗
A <sub>8</sub>	0.35	0.40	0.65	0.77	0.88	3.05	0.61	110.37	中抗
A <sub>9</sub>	0.29	0.13	0.37	0.23	0.43	1.46	0.29	0.51	不抗
A <sub>10</sub>	0.00	0.00	0.22	0.00	0.02	0.24	0.05	-83.48	不抗

5 结论

抗旱性是一种受多种因素影响的复杂的数量遗传性状。作物在特定地区的抗旱性表现是由自身的生理抗性和结构特性以及生长发育进程的节奏与农业气候因素相配合的程度决定的。不同品种对某一具体指标的抗旱性反应均不一定相同。因此,用单一指标难以全面准确地反映抗旱性强弱。

本研究选择测定抗旱系数、相对电导率、叶片相对含水量、脯氨酸含量、自由水含量/束缚水含量等 5 项性质不同但与抗旱性均有一定相关性的生理指标,并采用隶属函数值法进行数据处理分析,既消除了个别指标带来的片面性,又由于函数值是 [0, 1] 闭区间上的纯数,使各品种抗旱性差异具有可比性。

实验结果表明,各处理相关测定指标隶属函数值与抗旱系数呈极显著正相关( $r = 0.8471$ ),与作物抗旱性密切相关,可作为海藻提取物提高黄瓜抗旱性能的分级评价指数。由此得出在被试的 A<sub>1</sub>~A<sub>9</sub> 9 种海藻提取物中,以 A<sub>2</sub>, A<sub>7</sub> 增强作物抗旱性的能力

的抗旱隶属值。

B: 将处理所有性状的抗旱隶属值进行累加,并求得平均值:

$$X_i = \sum R(X_{ij}) / n,$$

$X_i$  大者抗旱性强,并规定抗旱程度的指标为: 当  $X_i \geq 0.70$  为强抗,  $0.40 \leq X_i < 0.70$  为中抗,  $0.30 \leq X_i < 0.40$  为弱抗, 当  $X_i < 0.30$  为不抗。

依照隶属函数值法,列出各处理抗旱性强弱的位次(表 4),其中 A<sub>2</sub>、A<sub>7</sub> 为强抗, A<sub>8</sub>、A<sub>1</sub> 为中抗。将各指标隶属值的和与抗旱系数进行相关性分析为极显著相关( $r = 0.8471 > P_{0.01}$ ),说明采用隶属函数法对黄瓜的各处理抗旱表现进行综合评价是切实可行的。

最强, A<sub>1</sub> 次之,可作为理想的抗旱性海藻天然肥料主体成分。

参考文献:

[1] 姜学玲,徐维华,于忠范. 叶面喷施美奇天然海藻肥对黄瓜的影响[J]. 山东蔬菜, 2000, 4: 32-33.

[2] 赵博生,衣艳军,刘家尧. 外源甜菜碱对干旱及盐胁迫下的小麦幼苗生长和光合功能的改善[J]. 植物学通报, 2001, 18(3): 378-380.

[3] 贾庚祥,朱至清,李银心. 甜菜碱与植物耐盐基因工程[J]. 植物学通报, 2002, 19(3): 272-279.

[4] 卢万芳. 甜菜碱处理种子对小麦和玉米幼苗抗盐性的效应[J]. 曲阜师范大学学报, 1997, 7: 83-86.

[5] Rajashekar C B, Zhou H, Marcum K B, et al. Glycine betaine accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (Fragaria X ananassa Duch) plants[J]. Plant Science, 1999, 148: 175-183.

[6] Xing Weibing, Rajashekar C B. Alleviation of water stress in beans by exogenous glycine betaine[J]. Plant Science, 1999, 148: 185-195.

- [7] 王洪春. 植物抗性生理[J]. 植物生理学通讯, 1981, 6: 72-81. 4: 66-69.
- [8] 刘家尧, 衣艳军, 赵可夫, 等. 甜菜碱的测定技术及其在植物抗盐生理中的作用[J]. 曲阜师范大学学报, 1994, [9] 高秀萍, 闫继耀, 刘恩科, 等. 水分胁迫下梨、枣和葡萄叶片中甜菜碱含量的变化[J]. 园艺学报, 2002, 29(3): 268-270.

## The studies on anti drought of seaweed extracts

SUN Jie<sup>1,2</sup>, HAN Lirjun<sup>1</sup>, SHI Da-yong<sup>1</sup>, YUAN Zhao-hui<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Received:** Sept. , 1, 2004

**Key words:** Seaweed extracts; anti drought; effect

**Abstract:** Seaweed extracts obtained by different extracting methods were sprayed to leaves of cucumber and measured the coefficient of anti drought, the relative water content of leaves, the free water content of leaves, the restricted water content of leaves, the relative conductance, the content of proline and the absolute water content of the soil. The data obtained were analyzed by maths function method. The results show that the most strong seaweed extracts with the ability of anti drought are A<sub>2</sub> and A<sub>7</sub> among 10 samples. The seaweed extracts with the ability of anti drought can be considered to be main ingredients of seaweed plant promoter.

( 本文编辑: 张培新)