

海藻提取液对黄瓜·番茄种子萌发和幼苗生长的影响

崔维香¹, 刘正一², 王明鹏³, 王学江⁴, 李峰⁴, 张焕春⁵, 孙亚东⁶, 秦松^{2*} (1. 浙江海洋大学国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 浙江舟山 316022; 2. 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东烟台 264003; 3. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 黑龙江哈尔滨 150090; 4. 五洲丰农业科技有限公司, 山东烟台 264003; 5. 烟台市农业科学研究院, 山东烟台 264003; 6. 鲁东大学农学院, 山东烟台 264003)

摘要 [目的]研究海藻发酵液和海藻碱提液对种子萌发和幼苗生长的影响。[方法]通过不同浓度的海藻发酵液和海藻碱提液对黄瓜和番茄种子的浸种试验,研究2种海藻提取液对黄瓜和番茄种子萌发的影响;通过不同浓度的海藻发酵液和海藻碱提液对黄瓜和番茄幼苗的水培试验,研究2种海藻提取液对黄瓜和番茄幼苗生长的影响。[结果]浸种试验结果显示:与对照组相比,海藻发酵液100倍处理组能显著提高番茄种子的发芽率和发芽势,海藻发酵液200倍处理组能显著提高黄瓜种子的发芽率和发芽势;海藻碱提液200倍和400倍处理组能显著提高黄瓜种子的发芽率和发芽势,海藻碱提液400倍处理组能显著提高番茄种子的发芽率和发芽势。水培试验结果显示:与对照组相比,海藻发酵液100倍和200倍处理组能显著增加黄瓜和番茄幼苗的根长、苗长、鲜质量、干质量、茎粗;海藻碱提液400倍处理组能显著增加黄瓜和番茄幼苗的根长、苗长、鲜质量、干质量、茎粗、根冠比。[结论]海藻发酵液和海藻碱提液均能促进黄瓜、番茄种子萌发和幼苗生长。

关键词 黄瓜;番茄;海藻发酵液;海藻碱提液;种子萌发;幼苗生长

中图分类号 S63 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)15-0028-06

Effects of Seaweed Extract on Seed Germination and Seedling Growth of Cucumber (*Cucumis sativus*) and Tomato (*Solanum lycopersicum*)

CUI Wei-xiang¹, LIU Zheng-yi², WANG Ming-peng³, QIN Song^{2*} et al (1. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022; 2. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, Shandong 264003; 3. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150090)

Abstract [Objective] To study the effects of seaweed fermentation extract and seaweed alkali extract on the seed germination and seedling growth of cucumber and tomato. [Method] Taking cucumber and tomato as research objects to study the effects of different concentrations of seaweed fermentation extract and seaweed alkali extract on seed germination rate by seed soaking experiment. Taking cucumber and tomato as research objects to study the effects of different concentrations of seaweed fermentation extract and seaweed alkali extract on seedling growth by hydroponic experiment. [Result] The results of seed soaking experiment showed that compared with the control, the treatment of seaweed fermentation extract 100 times dilution promoted seed germination rate and seed germination potential of tomato significantly, the treatment of seaweed fermentation extract 200 times dilution promoted seed germination rate and seed germination potential of cucumber significantly; the treatment of seaweed alkali extract 200 and 400 times dilution promoted seed germination rate and seed germination potential of cucumber significantly; the treatment of seaweed alkali extract 400 times dilution promoted seed germination rate and seed germination potential of tomato significantly. The results of hydroponic experiment showed that compared with the control, the treatment of seaweed fermentation extract 100 and 200 times dilution increased the root length, shoot height, fresh weight, dry weight, stem diameter of cucumber and tomato seedlings; the treatment of seaweed alkali extract 400 times dilution increased the root length, shoot height, fresh weight, dry weight, stem diameter and root-shoot ratio of cucumber and tomato seedlings. [Conclusion] Seaweed fermentation extract and seaweed alkali extract could promote the seed germination and seedling growth of cucumber and tomato.

Key words Cucumber; Tomato; Seaweed fermentation extract; Seaweed alkali extract; Seed germination; Seedling growth

海藻提取液是通过物理、化学或生物技术对海藻细胞壁进行破碎处理,提取得到的海藻内容物质,含有褐藻寡糖、氨基酸、高度不饱和脂肪酸、甘露醇、矿物质、维生素、甜菜碱、植物激素等多种植物生理活性物质^[1-2]及其他营养元素,特别是含有褐藻寡糖。褐藻寡糖(Alginate oligosaccharide)是海藻中的多糖经降解得到的一种低聚合度化合物,通常由3~10个单糖(Monosaccharide)分子通过糖苷键连接^[3],是海藻中特有的生物活性物质,作为一种新型植物生长调节剂在农业生产上也得到广泛应用。目前国内海藻肥企业所用的原

料大多以褐藻为主,包括昆布、泡叶藻、马尾藻、海带等^[4],以铜藻为原料进行海藻肥生产还鲜见报道。铜藻(*Sargassum horneri*)作为一种大型褐藻,广泛分布于我国沿海地区,资源较为丰富,含有褐藻酸、甘露醇、蛋白质、多糖等多种活性成分^[5-6]。刘雪梅等^[7]研究表明,马尾藻属的铜藻含有较高的激素含量,适合作为海藻肥的生产原料。

国内外研究者对海藻提取液的功效进行过相关研究,大多研究表明,海藻提取液不仅能够提高种子发芽率^[8-10]、促进农作物生长^[11-13]、增加农作物产量^[14-15]、改善果实品质^[16-17]、提高农作物的抗逆能力^[18-19],而且还能改良土壤性状^[20-22],提高植物对土壤中有效营养成分的利用率^[23]等。目前普遍认为寡糖作为一种生物信号分子,能够参与植物的生长调控活动,调控植物生长、发育和繁殖^[24-25],尤其是促进植物根系的生长。Iwasaki等^[26]分离各种聚合度的寡糖后,发现三糖、四糖、五糖及六糖具有较高的促根生长活性;Zhang等^[24]研究发现聚合度为2~4的褐藻寡糖能够促进小麦根系的生长,次年其研究不同种寡糖对水稻根系生长的影

基金项目 海洋公益性行业科研专项(201505022);中国科学院战略性先导性科技专项项目二“黑潮及其变异对中国近海生态系统的影响”(XDA11020403);海藻肥新产品开发及标准制订项目(Y449031011);山东省科技发展计划项目(2010GSF10208)。

作者简介 崔维香(1991—),女,山东临沂人,硕士研究生,研究方向:海藻生物资源利用。*通讯作者,教授,博士生导师,从事海岸带植物资源及应用、海洋微生物技术、海藻分子生物学和海洋藻类等研究。

收稿日期 2017-04-12

响,发现 20 mg/L 的褐藻寡糖对水稻根长和根系表面积具有显著的促进作用,且侧根、主根、根数量以及根鲜重分别较对照提高 4.1%、15.6%、43.8% 和 30.0%^[25];Guo 等^[27] 在应用海藻酸钠寡糖处理烟草幼苗试验中发现,0.5 mg/g 海藻酸钠寡糖处理烟草幼苗能极大地促进烟草幼苗生长;另有研究表明,寡糖处理能够提高多种植物种子的发芽率,促进幼苗生长^[28-30],并增强作物的抗逆能力^[31]。

笔者研究了以铜藻为生产原料通过微生物发酵法和化学碱提法 2 种工艺制备的海藻提取液在不同浓度处理下对黄瓜、番茄种子萌发及幼苗生长的影响,并探明最佳的使用浓度,为后续海藻肥的研发及产品定型提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料 该研究于 2016—2017 年在中国科学院烟台海岸带研究所进行。铜藻采自荣成海域,山东半岛;黄瓜种子(华农绿宝 F₁)和番茄种子(中蔬四号)均购于蔬菜种子站。

1.2 2 种海藻提取液的制备 将采收的新鲜铜藻用自来水清洗数次,直至将附着在铜藻表层的盐分、贝类、沙土等污物清洗干净,26 ℃ 晾晒 2~3 d,60 ℃ 烘 48 h 得到干的铜藻;用粉碎机将烘干的铜藻粉碎成铜藻细粉,然后将铜藻细粉与蒸馏水按照 1:20 (W/V) 的比例混合,即为混合液;调节混合液 pH 至适当范围(6.5~7.5),121 ℃ 灭菌 20 min,待混合液温度降至室温后,接入菌种海滨芽孢杆菌中^[32] 发酵 10~16 h,发酵结束后,离心取上清液,即为海藻发酵液;用 NaOH 溶液调节混合液 pH 至适当范围(11.0~13.0),密闭保压升温至 130 ℃,提取 6 h,待混合液温度降至 60 ℃ 后,搅拌混合液使其充分溶解,调节 pH 至适当范围(6.5~7.5),离心取上清液,即为海藻碱提液。

1.3 2 种海藻提取液中寡糖的检测 采用薄层层析法(TLC)检测 2 种铜藻提取液中的褐藻寡糖。采用 Silica Gel 60 F254 硅胶板,上样量为 2 μL,展开系统为正丁醇:甲酸:水=4:5:1 (V/V/V)^[33],显色剂为 10% 硫酸乙醇(V/V),在 110 ℃ 下显色 10 min,结果照相保存。

1.4 试验设计 浸种试验,共设 12 个处理组,分别是海藻发酵液和海藻碱提液稀释 100 倍、200 倍、400 倍、600 倍、800 倍,以纯水浸种(CK₁、CK₂) 作为对照组,试验重复 3 次。各处理分别取黄瓜种子 80 粒、番茄种子 50 粒,浸种 8 h 后将种子转移至铺有 2 层滤纸的培养皿中,试验组用 5 mL 不同浓度的海藻提取液湿润,对照组用同等体积的纯水保持湿润,保证种子间留有适当的间距,之后每天视蒸发量分别补充适当体积的海藻提取液稀释液和纯水,然后将种子置于(25 ± 1) ℃ 恒温培养箱内催芽 7 d,期间观察记录种子的萌发情况,并计算种子的发芽势和发芽率。种子发芽结束后,从各处理组中选取 5 棵发育基本一致的黄瓜和番茄幼苗,用白石(自来水浸泡 5 min,蒸馏水冲洗 3 次)固定根部,分别以不同处理浓度的 2 种海藻提取液作为营养液对黄瓜和番茄幼苗进行水培试验,以纯水培养作为对照组。光照培养箱白天/黑夜(28 ℃/12 h,20 ℃/12 h)条件下培养 14 d,期间观察

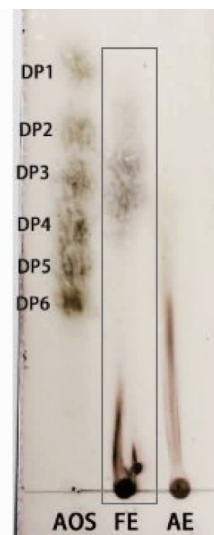
记录黄瓜和番茄幼苗的长势,测定相关指标。

1.5 测定项目及方法 测定项目包括发芽率、发芽势、根长、苗长、地上部(鲜质量)、地下部(鲜质量)、地上部(干质量)、地下部(干质量)、茎粗、根冠比,每 12 h 记录 1 次种子的发芽数(胚芽长度达到种子长度 1/2,即认为种子已经发芽),于第 3、5 天分别计算黄瓜种子和番茄种子的发芽势,第 5、7 天分别计算黄瓜种子和番茄种子的发芽率,苗长、根长用卷尺测量,茎粗用游标卡尺测量^[34]。

1.6 数据统计与分析 采用 SPSS 统计分析软件对数据进行差异显著性分析^[35],用 GraphPad Prism 5 和 Excel 2010 绘图。

2 结果与分析

2.1 2 种海藻提取液中褐藻寡糖的检测 薄层层析法是用以检测海藻低聚糖不同聚合度(DPs)最直观的方法。由图 1 可知,在海藻发酵液中检测到褐藻寡糖(DPs:2~4)^[32],而在海藻碱提液中未检测到褐藻寡糖。



注:AOS、FE、AE 分别代表褐藻寡糖标准品、海藻发酵液、海藻碱提液

Note: AOS, FE, AE represented alginate oligosaccharides standards, seaweed fermentation extract, seaweed alkali extract, respectively

图 1 褐藻寡糖薄板层析结果

Fig. 1 TLC chromatography of alginate oligosaccharides

2.2 2 种海藻提取液对黄瓜种子萌发的影响 由表 1 可知,利用海藻发酵液对黄瓜种子进行浸种,以 200 倍处理组的种子发芽率和发芽势最高,分别为 96.67% 和 88.33%,分别较对照组(CK₁) 提高 6.43% 和 8.61%,100 倍、400 倍、600 倍、800 倍处理组的种子发芽率依次为 95.42%、94.58%、94.17%、92.92%,分别较 CK₁ 提高 5.05%、4.13%、3.68%、2.30%,各处理组的种子发芽率增幅从大到小依次为 200 倍、100 倍、400 倍、600 倍、800 倍、CK₁;100 倍、400 倍、600 倍、800 倍处理组种子发芽势依次为 87.92%、85.83%、86.25%、85.42%,分别较 CK₁ 提高 8.10%、5.53%、6.05%、5.03%,各处理组的种子发芽势增幅从大到小依次为 200 倍、100 倍、600 倍、400 倍、800 倍、CK₁。

由表 2 可知,利用海藻碱提液对黄瓜种子进行浸种,以 400 倍处理组的种子发芽率和发芽势最高,分别为 96.25%

和 88.75%, 分别较对照组 (CK₂) 提高 5.97% 和 9.12%, 100 倍、200 倍、600 倍、800 倍处理组的种子发芽率依次为 92.08%、95.83%、93.33%、92.50%, 分别较 CK₂ 提高 1.38%、5.50%、2.75%、1.84%, 各处理组的种子发芽率增幅从大到小依次为 400 倍、200 倍、600 倍、800 倍、100 倍、CK₂; 100 倍、200 倍、600 倍、800 倍处理组的种子发芽势依次为 85.00%、87.50%、85.42%、83.75%, 分别较 CK₂ 提高 4.51%、7.59%、5.03%、2.98%, 各处理组的种子发芽势增幅从大到小依次为 400 倍、200 倍、600 倍、100 倍、800 倍、CK₂。

表 1 海藻发酵液不同浓度浸种对黄瓜种子发芽率和发芽势的影响
Table 1 Effects of seaweed fermentation extract concentration on the germination rate and germination potential of cucumber seeds

稀释倍数 Dilution ratio	发芽率 Germination rate	发芽势 Germination potential
CK ₁	90.83 d	81.33 d
800	92.92 c	85.42 c
600	94.17 bc	86.25 bc
400	94.58 bc	85.83 c
200	96.67 a	88.33 a
100	95.42 ab	87.92 ab

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different small letters in the same column represented significant difference ($P < 0.05$)

表 2 海藻碱提液不同浓度浸种对黄瓜种子发芽率和发芽势的影响
Table 2 Effects of seaweed alkali extract concentration on the germination rate and germination potential of cucumber seeds

稀释倍数 Dilution ratio	发芽率 Germination rate	发芽势 Germination potential
CK ₂	90.83 c	81.33 d
800	92.50 bc	83.75 c
600	93.33 b	85.42 bc
400	96.25 a	88.75 a
200	95.83 a	87.50 a
100	92.08 bc	85.00 bc

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different small letters in the same column represented significant difference ($P < 0.05$)

2.3 2 种海藻提取液对番茄种子萌发的影响 由表 3 可知, 利用海藻发酵液对番茄种子进行浸种, 以 100 倍处理组的种子发芽率和发芽势最高, 分别为 90.67% 和 84.67%, 分别较 CK₁ 提高 14.29% 和 17.60%, 200 倍、400 倍、600 倍处理组的种子发芽率依次为 86.67%、87.33%、85.32%, 分别较 CK₁ 提高 9.25%、10.08%、7.55%, 仅 800 倍处理组的种子发芽率较 CK₁ 降低, 各处理组的种子发芽率增幅从大到小依次为 100 倍、400 倍、200 倍、600 倍、CK₁、800 倍; 200 倍、400 倍、600 倍、800 倍处理组的种子发芽势依次为 78.67%、80.00%、76.00%、72.67%, 分别较 CK₁ 提高 9.26%、11.11%、5.56%、0.93%, 各处理组的种子发芽势增幅从大到小依次为 100 倍、400 倍、200 倍、600 倍、800 倍、CK₁。

由表 4 可知, 利用海藻碱提液对番茄种子进行浸种, 以 400 倍处理组的种子发芽率和发芽势最高, 分别为 89.33% 和 84.00%, 分别较 CK₂ 提高 12.61% 和 16.67%, 100 倍、200

倍、600 倍、800 倍处理组的种子发芽率依次为 86.00%、87.33%、85.33%、80.67%, 分别较 CK₂ 提高 8.41%、10.08%、7.56%、1.69%, 各处理的种子发芽率增幅从大到小依次为 400 倍、200 倍、100 倍、600 倍、800 倍、CK₂; 100 倍、200 倍、600 倍、800 倍处理组的种子发芽势依次为 78.00%、80.00%、80.00%、72.67%, 分别较 CK₂ 提高 8.33%、11.11%、11.11%、0.93%, 各处理组的种子发芽势增幅从大到小依次为 400 倍、200 倍 (600 倍)、100 倍、800 倍、CK₂。

表 3 海藻发酵液不同浓度浸种对番茄种子发芽率和发芽势的影响
Table 3 Effects of seaweed fermentation extract concentration on the germination rate and germination potential of tomato seeds

稀释倍数 Dilution ratio	发芽率 Germination rate	发芽势 Germination potential
CK ₁	79.33 d	72.00 d
800	78.00 d	72.67 d
600	85.32 c	76.00 c
400	87.33 b	80.00 b
200	86.67 b c	78.67 b
100	90.67 a	84.67 a

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different small letters in the same column represented significant difference ($P < 0.05$)

表 4 海藻碱提液不同浓度处理对番茄种子发芽率和发芽势的影响
Table 4 Effects of seaweed alkali extract concentration on the germination rate and germination potential of tomato seeds

稀释倍数 Dilution ratio	发芽率 Germination rate	发芽势 Germination potential
CK ₂	79.33 d	72.00 d
800	80.67 d	72.67 d
600	85.33 c	80.00 b
400	89.33 a	84.00 a
200	87.33 b	80.00 b
100	86.00 bc	78.00 c

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different small letters in the same column represented significant difference ($P < 0.05$)

2.4 2 种海藻提取液对黄瓜幼苗长势的影响 由图 2、3 可知, 与对照组相比, 海藻发酵液以 100 倍、200 倍处理组对黄瓜幼苗的根长和苗长具有显著的促进作用, 处理后黄瓜幼苗的根长和苗长明显好于 CK₁, 各处理组的根长增幅从大到小依次为 100 倍、200 倍、400 倍、600 倍、CK₁、800 倍, 各处理组苗长增幅从大到小依次为 100 倍、200 倍、400 倍、800 倍、600 倍、CK₁; 海藻碱提液以 400 倍处理组对黄瓜幼苗的根长和苗长具有显著的促进作用, 处理后黄瓜幼苗的根长和苗长明显好于 CK₂, 各处理组的根长增幅从大到小依次为 400 倍、200 倍、600 倍、800 倍、CK₂、100 倍, 各处理组苗长增幅从大到小依次为 400 倍、200 倍、100 倍、600 倍、800 倍、CK₂。

2.5 2 种海藻提取液对番茄幼苗长势的影响 由图 4、5 可知, 与对照组相比, 海藻发酵液以 100 倍和 200 倍处理组对番茄幼苗的根长和苗长具有显著的促进作用, 处理后番茄幼苗的根长和苗长明显好于 CK₁, 各处理组的根长增幅从大到小

依次为 200 倍、100 倍、400 倍、600 倍、800 倍、CK₁，苗长增幅从大到小依次为 100 倍、200 倍、600 倍、400 倍、800 倍、CK₁；海藻碱提液以 400 倍、600 倍和 800 倍处理组对番茄幼苗根长具有显著的促进作用，各处理组的根长增幅从大到小依次为 400 倍、600 倍、800 倍、100 倍、200 倍、CK₂，除 100 倍处理组对番茄幼苗苗长促生长效果不显著外，其他各处理组对番茄幼苗苗长均有显著的促生长效果，各处理组的苗长增幅从大到小依次为 600 倍、200 倍、800 倍、400 倍、100 倍、CK₂。

2.6 2 种海藻提取液对黄瓜幼苗农艺性状的影响 由表 5

可知，与对照组相比，海藻发酵液以 100 倍和 200 倍处理组的黄瓜幼苗根长、苗长、鲜质量、干质量、茎粗均显著增加，但根冠比下降，400 倍和 600 倍处理组的黄瓜幼苗各项生长指标也有一定的增加，仅 800 倍处理组的黄瓜幼苗各项生长指标无显著变化；海藻碱提液以 400 倍处理组的黄瓜幼苗根长、苗长、鲜质量、干质量、茎粗均显著增加，但根冠比下降，200 倍、600 倍和 800 倍处理组的黄瓜幼苗各生长指标也有所增加，100 倍处理组的黄瓜幼苗苗长和干质量显著增加，但其他生长指标无显著变化。

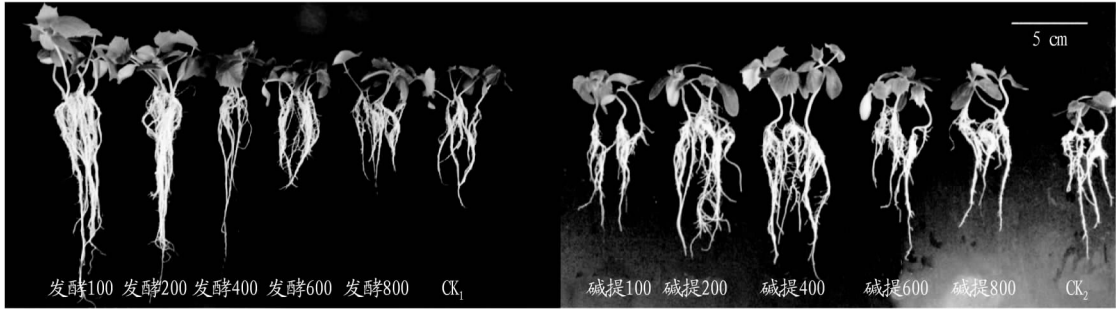
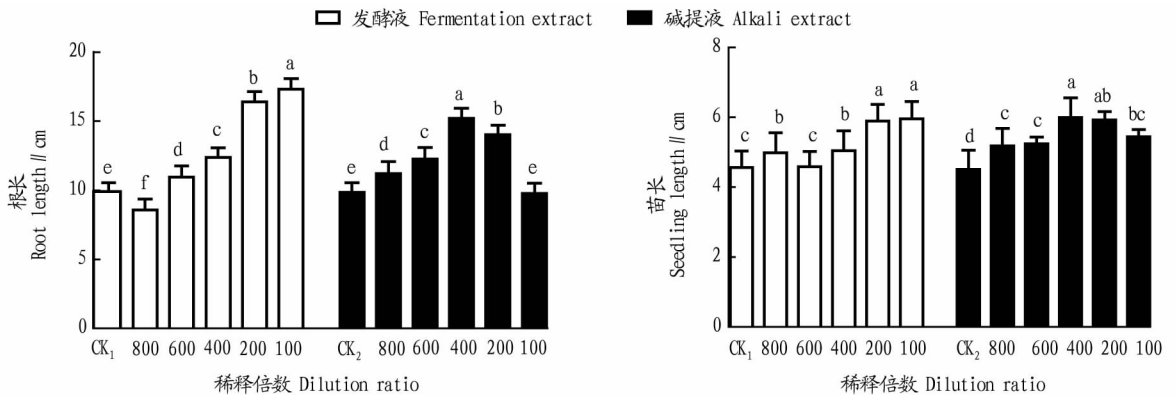


图 2 2 种海藻提取液不同浓度处理对黄瓜幼苗长势的影响

Fig. 2 Effects of concentration of two kinds of seaweed extract on the growth of cucumber



注：不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different small letters represented significant difference ($P < 0.05$)

图 3 2 种铜藻提取液不同浓度处理对黄瓜幼苗根长和苗长的影响

Fig. 3 Effects of concentration of two kinds of seaweed extract on the root length and seedling length of cucumber

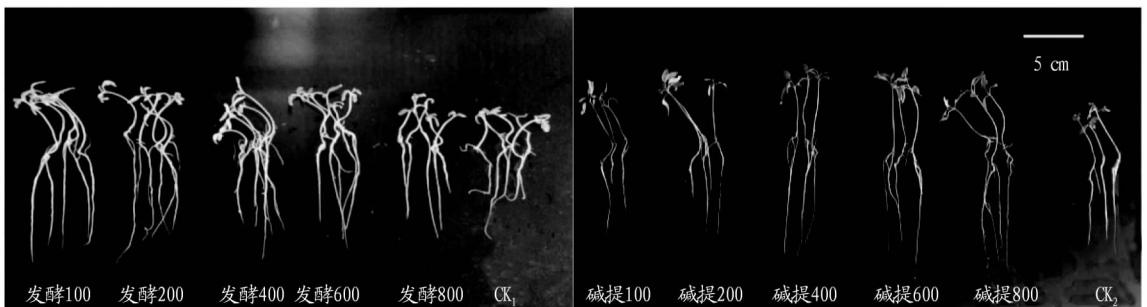


图 4 2 种海藻提取液不同浓度处理对番茄幼苗长势的影响

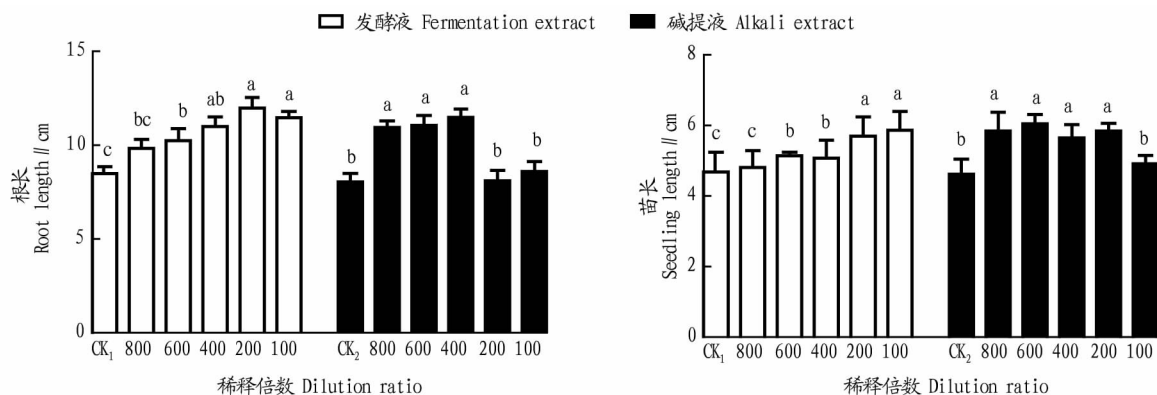
Fig. 4 Effects of concentration of two kinds of seaweed extract on the growth of tomato seedlings

2.7 2 种海藻提取液对番茄幼苗农艺性状的影响 由表 6 可知，与对照组相比，海藻发酵液以 100 倍和 200 倍处理组的番茄幼苗根长、苗长、鲜质量、干质量、茎粗、根冠比均显著增

加，400 倍和 600 倍处理组的番茄幼苗各项生长指标也有一定的增加，仅 800 倍处理组的番茄幼苗各项生长指标无显著变化；海藻碱提液以 400 倍、600 倍和 800 倍处理组的番茄幼

苗根长、苗长、鲜质量、干质量、茎粗、根冠比均显著增加,200倍处理组的番茄幼苗除了根冠比下降以外,其他生长指标也

均增加,仅100倍处理组的番茄幼苗各项生长指标无显著变化。



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different small letters represented significant difference ($P < 0.05$)

图5 2种铜藻提取液不同浓度处理对番茄幼苗根长和苗长的影响

Fig.5 Effects of concentration of two kinds of seaweed extract on the root length and seedling length of tomato

表5 2种海藻提取液不同浓度处理对黄瓜幼苗生长指标的影响

Table.5 Effects of concentration of two kinds of seaweed extract on the growth indexes of cucumber seedlings

海藻提取液 Seaweed extract	处理 Treatment	根长 Root length cm	苗长 Shoot height cm	鲜质量 Fresh weight//mg/株		干质量 Dry weight//mg/株		茎粗 Stem diameter cm	根冠比 Root- shoot ratio
				地上部 Overground	地下部 Underground	地上部 Overground	地下部 Underground		
发酵液 Fermentation extract (FE)	CK ₁	9.92 e	4.56 c	439.80 e	241.60 e	33.80 d	10.20 e	0.76 bc	0.548 7 c
	800	8.58 f	4.98 b	501.00 d	267.10 d	35.80 d	11.20 d	0.76 bc	0.533 0 c
	600	10.96 d	4.58 c	426.60 e	307.80 c	34.00 d	14.00 c	0.74 c	0.721 7 a
	400	12.38 c	5.04 b	526.60 c	256.00 de	41.80 c	13.20 c	0.74 c	0.485 3 d
	200	16.40 b	5.89 a	713.80 b	420.80 a	58.60 b	20.40 b	0.82 ab	0.589 0 b
	100	17.30 a	5.95 a	904.60 a	402.20 b	63.20 a	23.50 a	0.83 a	0.443 3 e
碱提液 Alkali extract (AE)	CK ₂	9.86 e	4.51 d	469.83 e	229.80 d	32.33 d	11.90 d	0.75 b	0.488 7 b
	800	11.21 d	5.18 c	614.93 c	289.93 c	40.77 c	14.73 c	0.77ab	0.471 0 b
	600	12.27 c	5.24 c	611.28 c	289.87 c	42.23 c	15.70 bc	0.78 ab	0.473 7 b
	400	15.20 a	5.99 a	901.95 a	405.43 b	60.77 a	21.53 a	0.83 a	0.449 0 c
	200	14.02 b	5.92 ab	705.84 b	426.17 a	53.37 b	22.30 a	0.80 ab	0.603 0 a
	100	9.78 e	5.44 bc	518.32 d	231.40 d	38.70 c	17.30 b	0.77 ab	0.446 0 c

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different small letters in the same column represented significant difference ($P < 0.05$)

3 讨论与结论

近年来,化肥在农业增产增收中发挥了重要的作用,但是,过度依赖化肥进行农业生产,不仅造成了资源浪费和严重的土壤退化,而且引起了一系列的食品安全问题。很多研究者志在寻找一种天然的有机肥料来代替或者部分代替化学肥料,从而减少化肥造成的污染,降低安全风险。海藻肥作为一种天然的有机肥料,含有多种营养元素及植物活性物质,在农业生产中发挥了积极有益的功效。Ganapathy等^[8]研究了从网石莼藻中提取得到的海藻提取物对印度黑吉豆种子萌发、幼苗生长和色素含量的影响,结果表明,海藻提取物能促进印度黑吉豆种子萌发、幼苗生长以及提高叶绿素含量。刘培京等^[36]曾报道海藻生物有机液肥能够提高蔬菜种子的发芽率并促进幼苗生长,其研究结果显示,海藻生物有机液肥稀释600倍处理黄瓜、番茄种子,能够显著提高种子

的发芽率,海藻生物有机液肥稀释400倍处理能够显著提高辣椒种子的发芽率。

该研究结果显示,采用2种海藻提取液对黄瓜和番茄种子浸种处理,均能够促进种子萌发,提高种子发芽率和发芽势,但种子的萌发具有显著的浓度依赖性,这一结果与其他海藻肥功效的相关报道一致^[37-38],其中,海藻发酵液200倍处理组能显著促进黄瓜种子的萌发,100倍处理组能显著促进番茄种子的萌发;海藻碱提液200倍和400倍处理组能显著促进黄瓜种子的萌发,400倍处理组能显著促进番茄种子的萌发。低浓度浸种能够促进种子萌发,高浓度浸种抑制种子萌发,产生这一结果可能是因为微生物发酵制备海藻提取液的方法相比化学碱提法的制备工艺反应条件更为温和,提取液中比较完整地保留了铜藻中的活性物质和营养成分。

表 6 2 种海藻提取液不同浓度处理对番茄幼苗生长指标的影响

Table 6 Effects of concentration of two kinds of seaweed extract on the growth indexes of tomato seedlings

海藻提取液 Seaweed extract	处理 Treatment	根长 Root length//cm	苗长 Shoot height//cm	鲜质量 Fresh weight//mg/株		单株干质量 Dry weight per plant mg/株	根冠比 Root-shoot ratio
				地上部 Overground	地下部 Underground		
发酵液 Fermentation extract (FE)	CK ₁	8.48 c	4.68 c	25.94 c	7.01 e	4.76 c	0.270 0 c
	800	9.82 bc	4.80 c	27.53 b	7.59 d	4.93 c	0.276 0 bc
	600	10.24 b	5.14 b	30.14 a	8.42 c	6.02 b	0.279 0 bc
	400	11.00 ab	5.07 b	28.32 b	8.09 c	6.14 ab	0.286 0 bc
	200	11.98 a	5.70 a	30.52 a	9.06 b	6.20 ab	0.297 0 ab
	100	11.47 a	5.86 a	30.87 a	9.66 a	6.39 a	0.313 0 a
碱提液 Alkale extract (AE)	CK ₂	8.04 b	4.62 b	25.10 c	6.66 c	4.68 d	0.265 0 cd
	800	10.94 a	5.84 a	29.61 a	8.50 b	6.23 bc	0.287 0 bc
	600	11.06 a	6.04 a	30.23 a	9.17 ab	7.27 a	0.304 0 ab
	400	11.49 a	5.65 a	29.30 a	9.55 a	6.73 ab	0.331 0 a
	200	8.10 b	5.84 a	30.32 a	7.29 c	6.80 ab	0.240 0 d
	100	8.59 b	4.91 b	27.73 b	7.31 c	5.61 c	0.264 0 cd

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Note:Different small letters in the same column represented significant difference($P < 0.05$)

另外,海藻发酵液 100 倍和 200 倍处理组、海藻碱提液 400 倍处理组能显著促进黄瓜和番茄幼苗的生长,处理后幼苗的根长、苗长、鲜质量、干质量、茎粗均显著增加,且海藻发酵液对黄瓜和番茄幼苗的促生长效果更佳,产生这一结果可能是因为海藻发酵液中含有褐藻寡糖^[32]。该研究结果能为以铜藻为生产原料的海藻肥的研发及产品定型提供参考。

参考文献

- [1] ZODAPE S T. Seaweeds as a biofertilizer[J]. Journal of scientific & industrial research,2001,60(5):378-382.
- [2] CRAIGIE J S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture[J]. Journal of applied phycology,2011,23(3):371-393.
- [3] 郭忠武,王来曦.糖化学研究进展[J].化学进展,1995,7(1):10-29.
- [4] HONG D D,HIEN H M,SON P N,et al. Seaweeds from Vietnam used for functional food,medicine and biofertilizer[J]. Journal of applied phycology,2007,19(6):817-826.
- [5] 中国科学院海洋研究所.中国经济海藻志[M].北京:科学出版社,1962.
- [6] NAKAZAWA S,KURODA H,ABE F,et al. Antitumor effect of water-extracts from marine algae(1)[J]. Japanese journal of chemotherapy,1974,22:1435-1442.
- [7] 刘雪梅,赵鹏,徐继林,等. LC-MS 同时测定大型海藻中 9 个植物激素[J]. 药物分析杂志,2012,32(10):1747-1752.
- [8] GANAPATHY S G,BALAMURUGAN M,THINAKARAN T,et al. Developmental changes in the germination,growth and chlorophyllase activity of *Vigan mungo* L. using seaweed extract of *Ulva reticulata* Forsskal. [J]. International research journal of pharmacy,2013,4(1):252-254.
- [9] ELSHEEKH M M,ELD E A. Effect of crude seaweed extracts on seed germination,seedling growth and some metabolic processes of *Vicia faba* L. [J]. Cytobios,2000,101(396):23-35.
- [10] CHITHRA K,ABRAHAM L S,THIRUGNANASAMBANDHAM R,et al. A comparative analysis of the effect of seaweed fertilizers (Liquid & Paste) and vermishash on seed germination of cyamopsis tetragonoloba [J]. Biosciences biotechnology research Asia,2016,13(2):1089-1093.
- [11] SRIDHAR S,RENGASAMY R. Effect of seaweed liquid fertilizer (slf) on the germination and growth of seedling of some agricultural crops[J]. International journal of recent scientific research,2011,2(12):287-291.
- [12] HERNÁNDEZ-HERRERA R M,SANTACRUZ-RUVALCABA F,RUIZ-LÓPEZ M A,et al. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) [J]. Journal of applied phycology,2014,26(1):619-628.
- [13] NEDUMARAN T,PERUMAL P. Effect of seaweed liquid fertilizer on the germination and growth of seedling of mangrove-*Rhizophora mucronata* Boir. [J]. Journal of phytology,2009(3):142-146.
- [14] RATHORE S S,CHAUDHARY D R,BORICHA G N,et al. Effect of seaweed extract on the growth,yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions[J]. South African journal of botany,2009,75(2):351-355.
- [15] PRAJAPATI A,PATEL C K,SINGH N,et al. Evaluation of seaweed extract on growth and yield of potato[J]. Environment & ecology,2016,34(2):605-608.
- [16] 刘刚,侯桂明,刘军,等.海藻肥对大棚洋西瓜产量和品质的影响[J].山东农业科学,2014(10):81-82.
- [17] THIRUMARAN G,ARUMUGAM M,ARUMUGAM R,et al. Effect of seaweed liquid fertilizer on growth and pigment concentration of *Cyamopsis tetragonoloba*(L)Taub[J]. American-Eurasian journal of agronomy,2009,2(2):50-56.
- [18] RENGASAMY K R R,R KULKARNI M G,PENDOTA S C,et al. Enhancing growth,phytochemical constituents and aphid resistance capacity in cabbage with foliar application of eckol-a biologically active phenolic molecule from brown seaweed [J]. New biotechnology,2016,33(2):273-279.
- [19] SULTANA V,EHTESHAMUL-HAQUE S,ARA J,et al. Comparative efficacy of brown,green and red seaweeds in the control of root infecting fungi and okra[J]. International journal of environmental science and technology,2005,2(2):129-132.
- [20] ROBERTS D A,PAUL N A,DWORJANYN S A,et al. Biochar from commercially cultivated seaweed for soil amelioration[J]. Scientific reports,2014,5:9665.
- [21] AITKEN J B,SENN T L. Seaweed products as a fertilizer and soil conditioner for horticultural crops[J]. Botanica marina,1965,8(1):144-147.
- [22] ILLERA-VIVES M,LABANDEIRA S S,BRITO L M,et al. Evaluation of compost from seaweed and fish waste as a fertilizer for horticultural use [J]. Scientia horticultrae,2015,186:101-107.
- [23] SAA S,OLIVOS-DEL RIO A,CASTRO S,et al. Foliar application of microbial and plant based biostimulants increases growth and potassium uptake in almond (*Prunus dulcis* [Mill.] D. A. Webb) [J]. Frontiers in plant science,2015,6(1):87.
- [24] ZHANG Y H,LIU H,YIN H,et al. Nitric oxide mediates alginate oligosaccharides-induced root development in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Plant physiology & biochemistry,2013,71(2):49-56.
- [25] ZHANG Y H,YIN H,ZHAO X M,DU Y G. Effects of alginate oligosaccharides on root development in *Oryza sativa* L. mediated by auxin signaling [J]. Carbohydrate polymers,2014,113(1):446-454.
- [26] IWASAKI K,MATSUBARA Y. Purification of alginate oligosaccharides with root growth-promoting activity toward lettuce[J]. Bioscience biotechnology & biochemistry,2000,64(5):1067-1070.
- [27] GUO W H,ZHAO X M,DU Y G. Effects of alginate oligosaccharides on growth and photosynthetic characters of tobacco seedlings[J]. Journal of Shenyang agricultural university,2008,39(6):648-651.
- [28] 郭卫华,赵小明,杜显光.壳寡糖对黄瓜种子萌发和幼苗生长及光合特性的影响[J].中国农学通报,2009,25(3):164-169.

(表 2),因此选用 10% 甲醇作为淋洗液。

2.4 洗脱液的选择 固相萃取过程中要选择合适的洗脱液,确保能将 C_{18} 填料上吸附的 MCs 最大程度地洗脱下来,同时不能将杂质同时洗脱,以确保 MCs 的提取率和纯度。一般采用甲醇或甲醇水溶液(70%~90%)来洗脱 SPE 上的目标化合物,但是由于 SPE 型号和填料不同,导致其洗脱效率也有所差异。甲醇是最常用的洗脱剂,对 MCs 的回收率均较高^[9-12]。

笔者对比分析了 70%、80%、90% 和 100% 甲醇的洗脱效率,结果表明,采用 90% 和 100% 甲醇洗脱时,会将一些杂质同时洗脱,对色谱峰造成严重干扰;采用 70% 和 80% 甲醇洗脱时,其洗脱的杂质相对较少,其中采用 80% 甲醇洗脱时,MCs 的回收率较高,因此,采用 80% 甲醇洗脱,减少杂质干扰。

3 结论

(1) AccuBOND II ODSMCs 具有较高的回收率,其中 MC-LR、MC-YR 和 MC-RR 的回收率分别达到 90.28%、82.47% 和 86.57%。甲醇是常用的淋洗液,其浓度越低,淋洗能力越差,10% 甲醇能去除大部分色素杂质,且 MCs 3 种异构体的流失率较小,是理想的除杂淋洗溶液。甲醇浓度越高,其洗脱能力越强,当采用 70% 和 80% 甲醇洗脱时,其洗脱的杂质相对较少,其中采用 80% 甲醇洗脱时,MCs 的回收率较高。

(2) 建立固相萃取提取净化 MCs 的方法:先后用 10 mL 甲醇和 20 mL 超纯水冲洗 SPE,将样品以 5 mL/min 左右的流速通过 SPE,待样品全部流出后,先后用 10 mL 10% 甲醇和

20 mL 超纯水淋洗 SPE,弃去全部流出液,用 5 mL 80% 甲醇洗脱 SPE 上的 MCs,将洗出液置于 40 °C 恒温水浴中,并用纯净氮气吹至浓缩体积为 0.8 mL,用甲醇定容至 1 mL,经 0.45 μm 膜过滤。

参考文献

- [1] 张明,李伟英,刘颖,等. 高效液相色谱法测定微囊藻毒素-LR 的方法改进[J]. 中国给水排水,2008,24(22):78-81.
- [2] 梁丽丽,吕爱君,曹艳秋,等. 水体中微囊藻毒素的检测方法研究进展[J]. 化学与生物工程,2009,26(12):12-15.
- [3] 赵起越,赵红帅,刘保献,等. 地表水中微囊藻毒素的检测分析方法[J]. 化学与生物工程,2015,32(7):9-14.
- [4] 张庭廷,张胜娟. 微囊藻毒素的危害及其分析方法研究进展[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版),2014,37(1):53-57.
- [5] 冯桂学,刘莉,王明泉,等. 在线固相萃取-液相色谱法测定水中 3 种微囊藻毒素[J]. 化学分析计量,2014,23(6):34-36.
- [6] 连丽丽,郭亭秀,吴玉清,等. 磁性固相萃取-液相色谱法测定环境水样中痕量的微囊藻毒素[J]. 化学分析,2015,43(12):1876-1881.
- [7] MERILUOTO J. Chromatography of microcystins[J]. Anal Chim Acta, 1997,352(1/2/3):277-298.
- [8] 张维昊,徐小清. 固相萃取高效液相色谱法测定水中痕量微囊藻毒素[J]. 分析化学,2001,29(5):522-525.
- [9] SHEN P P,SHI Q,HUA Z C,et al. Analysis of microcystins in cyanobacterial blooms and surface water samples from Meiliang Bay, Taihu, China[J]. Environ international,2003,29(5):641-647.
- [10] SPOOF L,MERILUOTO J. Rapid separation of microcystins and nodularin using a monolithic silica C18 column[J]. J Chromatogr A,2002,947(2):237-245.
- [11] FASTNER J,FLIEGER I,NEUMENN U. Optimised extraction of microcystins from field samples;A comparison of different solvents and procedure[J]. Wat Res,1998,32:3177-3181.
- [12] CHORUS I,BARTRAM J. Toxic cyanobacteria in water;A guide to their public health consequences, monitoring, and management[Z]. Geneva: World Health Organization,1999.
- [29] 马纯艳,卜宁,马连菊. 褐藻胶寡糖对高粱种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 沈阳师范大学学报(自然科学版),2010,28(1):79-82.
- [30] 袁建平,郭军艾,战丹丹. 壳寡糖对玉米种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(1):88-89.
- [31] LIU H,ZHANG Y H,YIN H,et al. Alginate oligosaccharides enhanced *Triticum aestivum* L. tolerance to drought stress[J]. Plant physiology & biochemistry,2013,62(1):33-40.
- [32] WANG M P,CHEN L,LIU Z Y,et al. Isolation of a novel alginate lyase-producing *Bacillus litoralis* strain and its potential to ferment *Sargassum horneri* for biofertilizer[J]. Microbiology open,2016,5(6):1038-1049.
- [33] 聂莹,张文靖,石波,等. 褐藻寡糖检测方法的建立[J]. 中国食物与营养,2012,18(8):29-33.
- [34] 刘淑芳,吕俊平,冯佳,等. 3 种微藻提取液浸种对黄瓜和番茄种子萌发的影响[J]. 山西农业科学,2016,44(7):941-944.
- [35] 孟祥浩,林琪,张玉梅,等. 盐胁迫对小麦萌发的影响及耐盐指标的筛选[J]. 华北农学报,2014,29(4):175-180.
- [36] 刘培京,王飞,张树清. 海藻生物有机液肥对蔬菜种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学,2013,41(34):407-411.
- [37] 武冬雪,韩晓弟,邵杰,等. 铜藻提取液对月见草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国林副特产,2008(5):19-21.
- [38] 郭艳玲,乔振杰,郭昌春,等. 海藻肥对蔬菜种子萌发的影响[J]. 安徽农学通报,2008,14(14):68-69.

(上接第 33 页)

科技论文写作规范——缩略语

采用国际上惯用的缩略语。如名词术语 DNA(脱氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)、ATP(三磷酸腺苷)、ABA(脱落酸)、ADP(二磷酸腺苷)、CK(对照)、CV(变异系数)、CMS(细胞质雄性不育性)、IAA(吲哚乙酸)、LD(致死剂量)、NAR(净同化率)、PMC(花粉母细胞)、LAI(叶面积指数)、LSD(最小显著差)、RGR(相对增长率),单位名缩略语 IRRI(国际水稻研究所)、FAO(联合国粮农组织)等。对于文中有些需要临时写成缩写的词(如表及图中由于篇幅关系以及文中经常出现的词而写起来又很长时),则可取各主要词首字母写成缩写,但需在第一次出现处写出全称,表及图中则用注解形式在下方注明,以便读者理解。