

基于正交实验的可溶性壳聚糖对 黄瓜幼苗生长的影响

殷和勤, 陈 宁

(青岛农业大学 园艺学院, 山东 青岛 266109)

摘 要:以黄瓜品种“鲁黄瓜三号”为试材,采用正交实验设计方法,研究了不同浓度的壳聚糖溶液以浸种和喷叶的不同处理方式对黄瓜幼苗生长的影响。结果表明:不同壳聚糖浓度处理均不同程度地促进了幼苗根系形态建成,增大了根系吸收面积,增强根系吸收养分的能力;同时提高了幼苗叶片中可溶性糖、可溶性蛋白质、叶绿素含量,提升了幼苗品质,最终提高穴盘幼苗质量。在试验范围内,0.3 mg/mL 浸种+1.0 mg/mL 喷叶处理(A₁B₃)最好,其壮苗指数最高,黄瓜苗根系长度及根系总体积也最大。0.3 mg/mL 浸种+0.5 mg/mL 喷叶处理(A₁B₂)次之,幼苗的株高、茎粗、根系总表面积最大,可溶性蛋白质含量和可溶性糖的含量也最高;综合各因素,该试验中培育黄瓜壮苗的浸种最适浓度为 0.3 mg/mL,喷叶适宜浓度在 0.5~1.0 mg/mL。

关键词:可溶性壳聚糖;黄瓜幼苗;生长;正交实验

中图分类号:S 642.204⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)11-0015-04

随着蔬菜产业的发展,穴盘育苗在蔬菜生产中发挥着重要的作用,培育优质壮苗成为蔬菜生产的一个重要环节。黄瓜是我国传统的三大蔬菜之一,在人们的生活有着重要的地位。壳聚糖作为一种环保型营养型保护剂,具有良好的生物相容性、生物官能团性和光谱抗菌性^[1],在种子处理、土壤改良^[2]、植物病害防治^[3-4]、调节植物生长^[5]、改善果实产量和品质^[6]等方面有着广泛的应用。已有研究表明^[7-11],壳聚糖包衣处理可提高幼苗的抗性;对幼苗叶处理,可提高幼苗的生物量,提高叶片可溶性蛋白质、可溶性总糖、总氨基酸和维生素 C 含

量,增强光合作用。然而,壳聚糖在育苗上筛选的浓度不一,且多停留在对种子进行浸种或者喷叶的单一层面上^[8-11],将二者结合筛选出适合黄瓜生长的适宜的浸种和喷叶浓度组合还鲜见研究报道,该试验以黄瓜为试材,基于二因素四水平开展正交实验,旨在筛选出黄瓜壮苗所需的最适浸种和喷叶浓度及其组合,为培育黄瓜穴盘壮苗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黄瓜品种为‘鲁黄瓜三号’,购于青岛市农业科学研究所。壳聚糖脱乙酰度大于 97%。育苗基质采用草炭、珍珠岩和蛭石,其混合体积比为 2:1:1。

1.2 试验方法

1.2.1 种子处理 试验于 2013 年 5—6 月在青岛农业大学连栋育苗温室中进行。种子内部消毒和外部消毒方法参考尚庆茂^[12]的种子消毒方法改进,先进行温汤浸种,再用高锰酸钾消毒并清洗干净,壳聚糖不同处理方

第一作者简介:殷和勤(1987-),男,硕士研究生,研究方向为设施园艺和蔬菜栽培生理。E-mail:705295879@qq.com.

责任作者:陈宁(1963-),男,博士,副教授,研究方向为设施园艺和蔬菜栽培生理。E-mail:chenningqd@163.com.

基金项目:山东省现代农业产业技术体系资助项目;山东省农业重大应用技术创新资助项目;青岛农业大学博士基金资助项目。

收稿日期:2015-02-05

and Shangzhou district at the end of May and December in 2013. The results showed that, trees with rootstock from 9 cm to 12 cm diameter displayed higher survival rate, branches length increment and rootstock diameter were positively correlated, grafting walnut was feasibly in ground, and rainfall had a great influence on the survival rate and growth of grafting walnut. This study provided a basis for improving the survival rate and growth of grafting walnut in production.

Keywords: walnut; grafting; survival rate; growth; rootstocks; site conditions; climatic factors

式和浓度的正交设计因素水平见表1。用NaOH溶液调节pH值使其达到6.5左右。分别用上述浓度的壳聚糖溶液浸泡,用蒸馏水作为对照,于28℃恒温暗箱催芽24 h。

表1 壳聚糖不同处理方式和浓度的正交设计因素水平

Table 1 Factor and level of orthogonal design of different chitosan contentment treatments

水平 Level	因子 Factor	
	A	B
	浸种处理 Seedling soaking/(mg·mL ⁻¹)	喷叶处理 Spraying treatment/(mg·mL ⁻¹)
1	0	0
2	0.1	0.5
3	0.2	1.0
4	0.3	1.5

1.2.2 穴盘消毒和播种 选择50孔聚乙烯吹塑穴盘,用0.1%高锰酸钾溶液浸泡20 min消毒。待其干燥后装好基质。挑选发芽趋于一致的黄瓜种子播种于穴盘。覆土后浇透水,使基质充分湿润。

1.2.3 喷叶处理 当黄瓜幼苗长到一叶一心时,用0.5、1.0、1.5 mg/mL的壳聚糖溶液及蒸馏水(CK)喷施黄瓜叶片的正反面,以不滴液为准。7 d后以上述方法再次用壳聚糖溶液对黄瓜幼苗进行喷叶处理,处理2次。

1.3 项目测定

用常规测量幼苗茎粗(子叶处)、株高(茎基部至生长点)、叶长和叶宽(第一片真叶)、地上部和地下部鲜重、

表2 不同壳聚糖浓度对黄瓜幼苗生长状态的影响

Table 2 Effect of different soluble chitosan concentrations on the root of cucumber seedling

处理 Treatment	茎粗 Stem diameter/cm	株高 Plant height/cm	叶面积 Leaf area/cm ²	壮苗指数 Sound seedling index	根冠比 Root-shoot ratio
A ₁ B ₁	0.23±0.0120i	3.80±0.40i	19.05±0.67e	11.64±0.47bcde	0.35±0.0047c
A ₁ B ₂	0.27±0.0140cdefg	6.86±0.30gh	22.40±0.68bcde	11.98±0.69abc	0.38±0.027abc
A ₁ B ₃	0.26±0.0170fgh	5.89±0.47h	20.95±1.05de	10.55±0.50cdefg	0.40±0.029abc
A ₁ B ₄	0.25±0.0100ghi	7.37±0.37efg	21.09±0.56cde	11.10±0.74cdefg	0.39±0.021abc
A ₂ B ₁	0.23±0.0044hi	6.62±0.07gh	22.40±0.15bcde	10.04±0.36efg	0.37±0.017bc
A ₂ B ₂	0.29±0.0034abc	8.49±0.59bcd	22.61±2.21bcd	11.15±0.59cdefg	0.40±0.025abc
A ₂ B ₃	0.29±0.0130abcd	7.18±0.70fg	20.60±1.25de	9.91±0.55fg	0.39±0.034abc
A ₂ B ₄	0.26±0.0045defg	6.41±0.36gh	20.81±0.59de	9.51±0.38g	0.37±0.017bc
A ₃ B ₁	0.26±0.0049efg	7.49±0.23defg	23.94±0.21abc	9.85±0.38fg	0.38±0.016abc
A ₃ B ₂	0.30±0.0017ab	8.34±0.52cde	23.84±0.79abcd	11.36±0.54cdef	0.38±0.020abc
A ₃ B ₃	0.29±0.0148abcde	8.08±0.32def	22.53±0.99bcd	10.80±0.76cdefg	0.38±0.023bc
A ₃ B ₄	0.29±0.0028ab	8.40±0.14cde	23.77±1.21abcd	11.78±0.14bcd	0.42±0.031abc
A ₄ B ₁	0.28±0.0005bcdef	7.49±0.26defg	26.63±0.10a	10.23±0.11defg	0.40±0.018abc
A ₄ B ₂	0.29±0.0016ab	9.23±0.33abc	26.79±1.03a	11.76±0.67bcd	0.45±0.046a
A ₄ B ₃	0.31±0.00301a	9.80±0.36a	24.54±1.44abc	13.59±0.26a	0.41±0.025abc
A ₄ B ₄	0.30±0.0018ab	9.51±0.13ab	25.37±0.33ab	13.23±0.37ab	0.43±0.032ab

2.2 不同壳聚糖浓度对黄瓜幼苗根系形态的影响

如表3所示,不同壳聚糖浓度浸种和喷叶对黄瓜穴盘苗根系形态的影响存在较大差异性,各处理幼苗

地上部和地下部干重。计算幼苗的根冠比(R/T),叶面积和壮苗指数^[13]。R/T=地下部干重/地上部干重;壮苗指数=[(茎粗/株高)+(根部干重/冠部干重)]×全株干重×100。叶绿素含量采用95%乙醇浸提分光光度法测定^[14]。可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝G-250法测定。可溶性糖含量采用蒽酮比色法^[15]测定。根系总长度、根系总表面积采用Epson Perfection 4990 PHOTO根系扫描仪进行扫描,并用根系形态学和结构分析应用系统WinRHIZO分析总根长、总表面积。

1.4 数据分析

试验所得数据利用Microsoft Excel软件进行整理并计算数据方差。通过DPS数据分析软件的L₁₆(4²)正交分析对数据的显著差异性进行分析,采用LSD检验法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同壳聚糖浓度对黄瓜幼苗生长状况的影响

由表2可知,在浸种处理中,壳聚糖浓度越大,黄瓜幼苗的茎粗、株高、叶面积呈现出递增趋势。在喷叶处理中,随着壳聚糖浓度的增大,黄瓜幼苗的茎粗、株高、叶面积则呈现出先增加后减少的趋势。各处理中,以A₄B₃处理的黄瓜苗株高、茎粗、壮苗指数最大,相比于对照分别提高了157.89%、34.78%、16.75%,叶面积和根冠比则以A₄B₂处理最大,分别比对照提高了40.63%和28.57%。在试验范围内,以A₄B₃处理培育黄瓜壮苗的效果最好,A₄B₂次之,即采用0.3 mg/mL的浸种处理,配合0.5~1.0 mg/mL的喷叶处理效果较好。

根系长度、根系表面积、根系总投影面积、根体积及根尖数均比对照有不同程度提高。随着浸种浓度的增加,根系的各项指标总体呈现出增加的趋势;随着喷叶

浓度的增大,根系的各项指标均呈现出先增加后减少的趋势。通过正交分析可知,浸种加喷叶处理显著促进了黄瓜幼苗根系的生长,其中根系长度、根系表面积、根系总投影面积及根尖数均在 A_4B_2 处达到最大

值,最大值比对照提高了 46.33%、41.67%、48.69%和 125.80%,且与对照相比差异均为极显著, A_4B_3 的根系总体积最大,相比于对照提高了 62.35%,其次为 A_4B_2 。

表 3 不同壳聚糖浓度对黄瓜幼苗根系形态的影响

Table 3 Effect of different soluble chitosan concentrations on the root of cucumber seedling

处理 Treatment	根系总长 Total root length/cm	总表面积 Total root area/cm ²	总投影面积 Total projected area/m ²	总体积 Total root volume/cm ³	根尖数 Total root tips/个
A_1B_1	438.96±6.87h	69.02±3.45e	21.69±0.38d	0.85±0.038e	648.50±17.50g
A_1B_2	469.14±16.14efgh	75.66±1.89cde	25.22±1.22bc	1.07±0.078bcd	860.75±39.39def
A_1B_3	458.85±1.92fgh	82.95±4.0bcd	26.40±1.27b	0.96±0.053de	836.00±3.00ef
A_1B_4	454.24±21.27gh	74.42±2.77cde	21.97±1.10cd	0.89±0.011e	776.33±23.25fg
A_2B_1	473.01±2.70efg	72.84±3.11de	24.00±0.80bcd	0.93±0.032de	789.75±58.66ef
A_2B_2	538.66±14.77cd	75.29±0.78cde	23.53±0.46bcd	1.00±0.066cde	879.00±28.21def
A_2B_3	475.34±3.70efg	76.17±6.43cde	24.24±2.05bcd	1.01±0.072cde	840.00±16.50ef
A_2B_4	455.25±12.04gh	85.60±3.79bc	25.16±0.11bc	1.14±0.024bc	785.67±19.34efg
A_3B_1	478.53±5.72efg	78.88±5.18cde	25.11±1.65bcd	0.95±0.063de	866.50±4.50def
A_3B_2	592.19±6.53b	94.34±2.05ab	30.03±0.65a	1.14±0.031bc	924.75±10.69de
A_3B_3	499.73±5.20de	73.67±1.18de	23.45±0.38bcd	0.95±0.023de	901.00±40.41def
A_3B_4	473.68±17.82efg	86.24±5.22abc	24.84±1.59bcd	1.17±0.036bc	878.33±27.30def
A_4B_1	490.51±13.72ef	76.88±3.46cde	25.01±0.95bcd	0.97±0.110de	988.33±21.11cd
A_4B_2	642.35±5.76a	97.78±4.20a	32.25±1.25a	1.21±0.080ab	1 464.33±31.42a
A_4B_3	561.50±12.53bc	97.53±0.76a	31.05±0.24a	1.38±0.046a	1 115.00±85.76bc
A_4B_4	540.40±5.02c	94.14±2.27ab	29.97±0.72a	1.19±0.017b	1 220.00±67.60b

2.3 不同壳聚糖浓度对黄瓜生理指标的影响

表 4 结果显示,相比于对照,各浸种浓度处理均增加了黄瓜叶片中叶绿素、可溶性蛋白质含量、可溶性糖的含量。其中喷叶处理呈现出先增加后减少的趋势,其中 A_1B_3 的叶绿素含量最高, A_1B_2 的可溶性蛋白质和可溶性糖的含量最高,但差异均不显著。在浸种处理中呈现出递增的趋势,它们的最大值均为 A_4B_1 ,且差异显著。正交分析可知, A_4B_1 处理的黄瓜苗叶绿素含量最高,比

对照增加了 24.44%,其次为 A_4B_3 。 A_4B_2 可溶性蛋白质和可溶性糖的含量最高,分别比对照增加了 49.53%和 206.9%,其次分别为 A_4B_4 和 A_4B_3 。因此,壳聚糖浸种和喷叶可显著提高叶片向植物体提供养分的能力,最佳处理为 A_4B_2 ,其次为 A_4B_3 ,即浸种浓度为 0.3 mg/mL,喷叶浓度为 0.5 mg/mL。

3 讨论与结论

壳聚糖具有植物生长调节剂和种苗处理剂的双重作用,可以抑制有害病菌对作物的侵染和繁殖、促进根茎的发育、调节作物生长、增加作物的抗性、提高作物的产量和品质^[1,9,16]。关于壳聚糖对农作物种子萌发及幼苗生长的影响,前人已做过不少研究。但是壳聚糖浸种和喷叶复合处理在育苗中的应用研究还较少。该研究从壳聚糖对种子和幼苗的作用机理进行分析认为,壳聚糖浸种处理后,可抑制部分有害病菌对作物的侵染,同时促进 mRNA 的重新合成,提高体内酶的活性,打破种子休眠,促进种子萌发,提高种子活力^[17]。壳聚糖还具有营养和调节的双重功能,喷叶处理后,一方面壳聚糖可以调节 NH_4^+ 同化关键酶和蔗糖代谢相关酶的活性,促进蛋白质和蔗糖的生物合成与积累^[18-20],从而为幼苗的形态建成提供原料和能量;另一方面壳聚糖有适当的稳定性和可降解性,降解后是优质的肥料,对幼苗起到营养的作用。由试验可知,壳聚糖处理后幼苗的形态指标和生理指标相比与对照均差异显著。壳聚糖提高了黄瓜幼苗的株高、茎粗和叶面积,促进了地上部分的生长,增大了幼苗根系吸收面积,增加了叶片中可溶性糖、

表 4 不同壳聚糖浓度对黄瓜幼苗生理指标的影响

Table 4 Effect of different soluble chitosan concentrations on physiological index of cucumber seedling

处理 Treatment	叶绿素含量 Chlorophyll content /(mg·g ⁻¹)	可溶性蛋白质含量 Soluble protein content /(mg·g ⁻¹)	可溶性糖含量 Soluble sugar content /%
A_1B_1	1.76±0.08g	12.68±0.98e	2.91±0.140f
A_1B_2	1.77±0.37g	14.37±0.28cde	3.43±0.200def
A_1B_3	1.91±0.29cdefg	12.91±0.93e	3.06±0.210def
A_1B_4	1.79±0.19fg	13.68±0.29de	2.97±0.370ef
A_2B_1	1.82±0.88efg	15.21±0.23bcde	3.54±0.950def
A_2B_2	2.00±0.73bc	18.12±0.55ab	4.46±0.760def
A_2B_3	1.96±0.63bcde	17.28±0.70abc	4.31±0.95cdef
A_2B_4	1.84±0.68defg	17.05±0.23abcd	3.95±0.290cdef
A_3B_1	1.95±0.07cde	16.97±0.47abcd	4.17±0.290cdef
A_3B_2	2.02±0.05bc	18.96±0.81a	4.72±0.070cd
A_3B_3	2.00±0.01bcd	18.96±0.90a	4.6±0.370cde
A_3B_4	2.02±0.06bc	18.12±0.99ab	5.26±0.230c
A_4B_1	1.94±0.29cdef	17.35±0.28abc	6.34±0.650b
A_4B_2	2.02±0.20bc	18.96±0.71a	8.98±0.100a
A_4B_3	2.12±0.11ab	18.27±0.33ab	7.53±0.800a
A_4B_4	2.19±0.01a	18.66±0.74ab	7.21±0.005a

叶绿素及可溶性蛋白质的含量,与前人的试验结果基本一致^[9-10,16],但在对黄瓜进行单一喷叶(浸种)处理的浓度上存在差异。可能与壳聚糖的种类和育苗的季节有关。

在试验范围内,浸种和喷叶复合处理显著提高了幼苗的各项生理指标,其中 A_4B_2 (0.3 mg/mL 浸种 + 0.5 mg/mL 喷叶处理)的株高、茎粗、根系总体积,叶片可溶性蛋白质和可溶性糖含量最高,根冠比也最大。 A_4B_4 (0.3 mg/mL 浸种 + 1.5 mg/mL 喷叶处理)的叶绿素含量最高。从叶面积、总根长、根系总表面积和根尖数进行分析, A_4B_3 (0.3 mg/mL 浸种 + 1.0 mg/mL 喷叶处理)的最好,壮苗指数也最高。综合各因素分析,最优组合为 A_4B_3 ,其次为 A_4B_2 。即培育黄瓜壮苗的浸种最适浓度为 0.3 mg/mL,喷叶适宜浓度在 0.5~1.0 mg/mL 之间。壳聚糖可增大幼苗根系吸收面积,促进幼苗根系形态建成,增强黄瓜幼苗吸收营养的能力;同时提高幼苗叶片养分含量,促进光合作用;提高幼苗的壮苗指数,促进幼苗整体生长,最终提高幼苗质量。

参考文献

- [1] 蒋小妹,莫海涛,苏海佳,等. 甲壳素及壳聚糖在农业领域方面的应用[J]. 中国农学通报,2013(6):170-174.
- [2] 蒋挺大. 甲壳素[M]. 北京:中国环境科学出版社,1996:429-455.
- [3] 湛江华,陈若霞,李斌. 壳聚糖控制黄瓜苗期猝倒病的效果研究[J]. 宁波农业科技,2009(3):10-12.
- [4] 李美芹. 壳聚糖抑制番茄叶霉病菌的活性与诱导抗性及其机理研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2007.
- [5] 盛家荣,农慧玲,张宽丽,等. 壳聚糖磷酸酯钾对植物生长的促进作用[J]. 湖北农业科学,2006(5):576-578.
- [6] 李玉奇,奥岩松. 壳聚糖的木酢液对黄瓜生长与产量及品质的影响[J]. 北方园艺,2011(1):16-19.
- [7] 陆长民,樊颖伦,吕山花,等. 壳聚糖对番茄种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 北方园艺,2009(5):79-80.
- [8] 舒英杰,时侠清,张子学,等. 壳聚糖对黄瓜种子萌发及幼苗抗冷性的效应[J]. 种子,2007(1):22-25.
- [9] 罗兵,徐朗莱,孙海燕. 壳聚糖对黄瓜品质和产量的影响[J]. 南京农业大学学报,2004(1):20-23.
- [10] 孙海燕,罗兵,徐朗莱. 壳聚糖浸种对黄瓜幼苗生长和果实品质的影响[J]. 安徽农业科学,2006(14):3329-3330.
- [11] 于仁竹,于贤昌,王桂红. 壳聚糖对黄瓜幼苗生长和生理特性的影响[J]. 西北农业学报,2003(4):102-104.
- [12] 尚庆茂. 尚庆茂博士“蔬菜集约化穴盘育苗技术”系列讲座. 第三讲. 蔬菜种子消毒技术[J]. 中国蔬菜,2011(5):40-42.
- [13] 张凯. 黄瓜穴盘苗成苗标准和质量指标研究[D]. 北京:中国农业大学,2005.
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [15] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,2006.
- [16] 于明革,杨洪强,刘高峰,等. 壳聚糖对黄瓜萌芽种子及幼苗生理生化特性的影响[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2004(1):47-50.
- [17] 杨桦,周祖基. 壳聚糖对种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 四川林业科技,2008(1):38-42.
- [18] 杨成华,方小平. 贵州原生木兰科植物资源与园林利用前景[J]. 贵州林业科技,2002(1):20-25.
- [19] 陈惠萍,徐朗莱. 壳聚糖调节植物生长发育及诱发植物抗病性研究进展[J]. 云南植物研究,2005(6):613-619.
- [20] 罗兵,徐朗莱,孙海燕. 壳聚糖对黄瓜幼苗叶片蔗糖代谢的影响[J]. 安徽农业科学,2006(2):205-206,208.

Effect of Soluble Chitosan on the Growth of Cucumber Seedling Based on Orthogonal Design Method

YIN He-qin, CHEN Ning

(Horticultural College, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Taking 'Lu cucumber No. 3' cucumber variety as material, the effect of soluble chitosan in different methods of seed soaking and leaf spraying on cucumber seedling's growth were studied by the method of orthogonal experiment design. The results showed that different concentrations of soluble chitosan, could promote root coordinational growth, increase the root absorbing area of cucumber seedling, enhance nutrients absorption ability; in the meantime, it enhanced chlorophyll content, soluble protein content, soluble sugar content, promoted the growth of the seedling, and finally improved the quality of cucumber seedling. Contrast with the control, A_4B_3 (0.3 mg/mL seed soaking + 1.0 mg/mL leaf spraying) was the best in plant height, stem diameter, the total volume of roots. A_4B_2 was the second (0.3 mg/mL seed soaking + 0.5 mg/mL leaf spraying), seedling plant height, stem diameter, total root surface area were the best, the contents of soluble protein and soluble sugar were the highest. In conclusion, the most proper concentration was seed soaking 0.3 mg/mL, leaf spraying between 0.5—1.0 mg/mL.

Keywords: soluble chitosan; cucumber seedling; growth; orthogonal design method