

不同种类的微藻肥对椰枣幼苗生长的影响

张 宁¹, 吴丰漫², 张婷芊², 徐中亮¹, 徐烽原³, 张 巍³, 程双红^{2*}, 符海泉^{1*}

1. 中国热带农业科学院椰子研究所/国家热带棕榈种质资源圃, 海南文昌 571300; 2. 云南农业大学热带作物学院, 云南普洱 665000; 3. 微资源(上海)生物技术有限公司, 上海 201203

摘 要: 椰枣作为外来引进作物, 国内缺乏栽培管理经验。选择合适的营养剂, 快速高效构建椰枣生根体系, 保障椰枣在田间定植期间根系对营养的充分吸收, 缩短椰枣的生长周期, 是我国椰枣产业发展的当务之急。为研究不同种类的微藻肥对 2 个品种 Mabroom、Sillege 椰枣幼苗生长的影响, 选用鲜微藻 (M_1)、发酵微藻液 (M_2)、微藻营养液 (M_3)、微藻循环液 (M_4) 对幼苗进行处理, 对椰枣幼苗生长及生理指标叶长、细胞膜的相对透性、丙二醛 (MDA)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 进行测定。结果表明: 在 M_3 和 M_4 处理后, Mabroom 幼苗叶长显著高于 CK, $M_4 > M_3$, M_3 和 M_4 能够促进 Mabroom 幼苗的生长; 叶片细胞的渗透调节能力强; CAT、POD 活性及 MDA 含量变化低于 CK。而在 M_1 、 M_2 处理后, Sillege 幼苗叶片伸长长度显著高于 CK, M_1 、 M_2 更适合 Sillege 幼苗的生长, $M_1 > M_2$; 叶片细胞的渗透调节能力高于 CK; CAT 活性变化低于 CK。该研究表明 M_3 和 M_4 在培养微藻的过程中, 可合成相关活性物质产生初级代谢产物, 此种生物活性物质被幼苗根系吸收, 促进了椰枣叶片的伸长生长, Mabroom 幼苗更适合施用微藻的次生代谢产物作为肥料, Sillege 椰枣幼苗更适合新鲜微藻和发酵后的微藻。

关键词: 椰枣; 微藻; 过氧化物; 丙二醛

中图分类号: S59 文献标志码: A

Effects of Different Microalgae Fertilizer on Growth of Date Palm Seedlings

ZHANG Ning¹, WU Fengman², ZHANG Tingqian², XU Zhongliang¹, XU Fengyuan³, ZHANG Wei³,
CHENG Shuanghong^{2*}, FU Haiquan^{1*}

1. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / National Tropical Palm Germplasm Reserve, Wenchang, Hainan 571300, China; 2. College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Pu'er, Yunnan 665000, China; 3. Micro Resources (Shanghai) Biotechnology Co., Ltd, Shanghai 201203, China

Abstract: As an imported crop, date palm lacks planting management experience in China. It is imperative for the development of Chinese date palm industry to select suitable nutrients, construct the date palm rooting system quickly and efficiently, ensure the full absorption of nutrients by the roots during the field planting period, and shorten the growth cycle of date palm. In order to study the effects of different microalgae fertilizer on the growth of date palm seedlings of “Mabroom” and “Sillege” varieties, fresh microalgae (M_1), fermented microalgae solution (M_2), microalgae nutrient solution (M_3) and microalgae circulation solution (M_4) were selected to treat the seedlings. The growth and physiological indexes (leaf length, relative permeability of cell membrane, malondialdehyde MDA, peroxidase POD, catalase CAT, glutathione reductase GR) of date palm seedlings were measured. The results showed that the leaf length of “Mabroom” seedlings was significantly higher than that of the control group after treatment with microalgae nutrient solution (M_3) and microalgae circulation solution (M_4), and the microalgae nutrient solution (M_3) and microalgae circulation solution (M_4) could promote the growth of “Mabroom” seedlings. The osmotic regulation ability of leaf cells was strong. The

收稿日期 2024-05-23; 修回日期 2024-07-08

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 323QN271); 云南省重大科技专项计划 (No. 202202AE090104); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630152024003)。

作者简介 张 宁 (1989—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 椰枣资源与生物育种。*通信作者 (Corresponding author): 程双红 (CHENG Shuanghong), E-mail: 1999033@ynau.edu.cn; 符海泉 (FU Haiquan), E-mail: haiquan.fu@163.com。

contents of catalase, peroxidase and malondialdehyde were lower than those of the control. After treatment with fresh microalgae (M_1) and fermented microalgae solution (M_2), the leaf elongation length of “Sillege” seedlings was significantly higher than that of the control, and fresh microalgae (M_1) and fermented microalgae solution (M_2) were more suitable for the growth of “Sillege” seedlings, with fresh microalgae (M_1) > fermented microalgae solution (M_2). The osmotic regulation ability of leaf cells was higher than that of the control. The change of catalase content was lower than that of the control. This study showed that during the cultivation of microalgae, the microalgae nutrient solution (M_3) and microalgae circulation solution (M_4) could synthesize related active substances to produce primary metabolites. Such bioactive substances were absorbed by seedling roots and promoted the elongation and growth of date palm leaves. The “Mabroom” seedlings were more suitable to apply the secondary metabolites of microalgae as fertilizer. “Sillege” date palm seedlings are more suitable for fresh and fermented microalgae.

Keywords: date palm; microalgae; peroxide; malondialdehyde

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.12.008

椰枣树 (*Phoenix dactylifera*) 是阿拉伯国家的重要木本粮食作物, 被誉为“阿拉伯民族之树”。椰枣树和椰枣在阿拉伯人民日常生活中扮演了极为重要的角色, 营养价值极高, 是阿拉伯一些国家重要的出口农作物, 在中东阿拉伯国家的生态和经济建设中发挥着重要作用^[1]。椰枣的杂合性与雌雄异株有关^[2], 种子繁殖产生的后代有一半是由开花前无法区分的雄树组成的, 它们不产生果实, 而且在后续繁殖中也会发生很大的变异, 而雌性植物产生的果实也多变, 通常质量较差^[3]。无性繁殖成为椰枣种苗繁育的主要手段, 无性繁殖技术包括 2 个方面: 母株分蘖苗繁殖和组织培养技术^[4]。其中分蘖苗繁殖是从母株上切割下分蘖苗, 然后复壮生根后田间定植^[5]。组织培养技术是取椰枣的器官组织通过体胚发生途径获得再生植株, 而后壮苗生根, 温室炼苗后田间定植^[6]。2 种技术手段都需要重新构建植株的根系, 确保获得健康根系为植株充分吸收营养提供保障, 传统的化肥不仅在幼嫩的苗期易对植物造成烧苗的危害, 而且容易影响土壤结构的稳定性、水分渗透力和养分组成。椰枣已成为热带农业的重要组成部分, 对促进农民增收和农业可持续发展具有重要意义, 然而, 中国的椰枣研究起步较晚, 种苗繁育技术还未完善, 椰枣幼苗生长过程中存在生长缓慢、易受害虫侵害等问题, 限制了椰枣产业发展^[7-8]。因此, 如何筛选出快速、高效构建椰枣生根体系的营养剂, 且保障植物根系的营养吸收, 缩短椰枣的生长周期成为目前我国的椰枣产业发展的当务之急。

微藻是一类广泛分布于海洋、淡水和陆地环境中的微小植物, 具有光合利用度高、营养丰富的特点, 微藻作为一种新型生物资源, 在食品、

饲料、化妆品、医药和能源等领域得到了广泛关注^[9-11]。微藻肥作为一种绿色、高效的生物肥料, 已经在农业生产中取得了良好的应用效果。在农业工程中藻类资源也具有广阔的应用前景。微藻具有品质可塑、固碳能力强、生长速率快、培养方式多样化 (光合自养、混养及异养)、生长周期短, 可工业化养殖等特点^[12-15]。藻类作为生物圈的重要组成部分, 广泛生长于水体和陆地环境中, 具有形态多样性和功能多样性, 藻类是土壤改良和作物增产的潜在绿色生物资源, 具有巨大的开发价值。微藻细胞含有大量营养元素, 如氮、磷和钾等, 可以作为椰枣育苗阶段有机缓释肥料, 改善土壤营养元素的化学剂量比, 为后期提高椰枣的产量和品质打下技术基础^[16]。

根据藻类资源对土壤和植物的不同作用机制, 其衍生出不同类型的产品。其中微藻作为生物肥料 (microalgae biofertilizer, MBF) 可提高土壤肥力, 即藻细胞通过光合作用和固氮作用, 提高土壤的氧气和有机质含量, 进而提高土壤微生物活力和改善微生物间的相互作用, 促进植物生长^[17], 可通过施加藻源颗粒或藻粉, 利用藻细胞自身营养物质改良土壤; 从藻类细胞中提取的生物刺激剂 (microalgae biostimulant, MBS) 可以促进种子萌发、植物生长, 提高植物的养分利用效率, 增强植物对环境胁迫的耐受性; 从藻类细胞中提取的海藻多糖可在农产品表面形成生物膜 (biofilm), 抑制微生物感染和生物氧化, 是潜在的农产品保鲜剂; 在土壤修复和污染治理方面, 也可以利用微藻的胞外聚合物 (extracellular polymeric substance, EPS) 增强土壤团聚体的稳定性, 实现荒漠化土壤的治理^[18]。土壤微藻具有固氮和固碳作用、释放生物活性物质 (如类胡萝

卜素、蛋白质、脂肪酸、植物激素等）及含有微量元素（Cu、Fe、Se、Mn、Zn）等生物特性，在养分投入量过多的条件下，施用微藻并不会提高番茄 / 黄瓜的产量，但可明显降低果实中硝酸盐含量，改善果实品质^[19]。蓝藻在对水稻作物的养分需求及环境胁迫方面发挥着有效作用，其中蓝藻作为生物肥料在改善水稻氮素需求和粉煤灰胁迫中发挥着重要的作用^[20]。在洋葱栽培的田间试验研究中发现微藻生物肥料对洋葱的产量有明显提高，可作为生物替代肥料产生可持续性和提高生产力^[21]。在番茄栽培管理上，微藻作为缓释肥料，改善土壤结构，增强植物抗逆性、促进根系生长和增殖、增强植物光合作用等优点^[22]。近年来，在我国有关微藻肥对植物生长的促进作用的研究越来越多，但关于微藻肥对椰枣幼苗生长影响的研究鲜见报道。为此，本研究选取鲜微藻（M₁）、发酵微藻液（M₂）、微藻营养液（M₃）、微藻循环液（M₄）4 种微藻肥，2 个品种 Mabroom、Sillege 椰枣幼苗为研究对象，探讨 4 种微藻肥对 2 个不同品种类型的椰枣幼苗生长指标和生理指标的影响，旨在为椰枣种苗繁育提供一种高效、环保的育苗方法，促进我国椰枣产业的可持续发展。

1 材料与方法

1.1 材料

试验在中国热带农业科学院椰子研究所光照培养实验室进行。椰枣种子品种 Mabroom、Sillege 均来自阿联酋。在培养皿中催芽至露白后，播种于含有泥炭、珍珠岩、蛭石和椰糠（体积比 4：3：2：1）的营养钵中，在光照培养室中培养，培养温度 28 ℃，6 个月后，选择生长健壮、长势一致的椰枣幼苗作为供试材料。微藻肥料 M₁（微藻养殖池里采收新鲜的藻）、M₂（新鲜微藻经过 30 d 密封发酵的培养液）、M₃（采收新鲜微藻后的培养液）、M₄（采收微藻后经过杂质过滤后进入第二轮循环使用的液体）均由上海微资源有限公司提供（表 1）。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 对供试材料作以下处理，分别以清水（CK）、M₁、M₂、M₃、M₄ 作为肥料，隔天处理 1 次，每次 200 mL，每周 3 次，7 d 为一个处理周期，共 6 个周期。每个处理 5 株，重复 3 次。

表 1 处理编号		
Tab. 1 Treatment number		
处理 Treatments	椰枣品种 Date palm varieties	藻肥种类 Types of algal fertilizer
MCK	Mabroom	CK
MM ₁		M ₁
MM ₂		M ₂
MM ₃		M ₃
MM ₄		M ₄
SCK	Sillege	CK
SM ₁		M ₁
SM ₂		M ₂
SM ₃		M ₃
SM ₄		M ₄

1.2.2 指标测定 每 7 d 统计苗期形态指标：叶长；测定叶片的电导率，计算细胞膜的相对透性；取样椰枣叶片，测定生理指标：丙二醛（MDA）、过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽还原酶（GR）。MDA、POD、CAT、GR 指标检测所使用的试剂盒为 96 样微板法，均采购自苏州格锐思生物科技有限公司，所用设备为赛默飞的酶联免疫检测仪。

42 d 后，从营养钵中取出完整的叶片，用石蜡切片技术对组织样本进行切片，番红固绿染色，观察细胞组织的形态结构；实验流程：脱蜡至水-固绿染色-番红染色-脱水封片-显微镜镜检；细胞结构特征：韧皮部性形成层芽尖根尖分生区等新生组织结构呈绿色，木质化木栓化结构呈红色。

1.3 数据处理

试验数据用 Excel 软件整理，用 SPSS 22 软件进行单因素、多因素方差分析、多重比较及显著性分析，用 R 语言（3.6.2）进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗生长指标的影响

由表 2 可以看出，不同种类的微藻肥料处理椰枣幼苗后，对 2 个品种的椰枣幼苗叶长均产生了不同程度的影响。随着处理时间的增加，2 个品种的椰枣叶长随之增加，MM₁、MM₂、MM₃、MM₄ 处理的叶长在 42 d 时均显著高于 MCK（P<0.05），其中 MM₄ 处理叶长在 42 d 时达到最长，为 62.5 cm；其次是 MM₃ 处理的叶长，在 42 d 时达到 60.4 cm，与 MCK 差异显著（P<0.05）。SM₁、

SM₂、SM₃、SM₄处理的叶长在 42 d 时均显著高于 SCK ($P<0.05$), 其中, SM₁ 和 SM₂ 长度分别达到 47.2、46.0 cm, 二者之间差异不显著; SM₃ 和 SM₄ 长度分别达到 44.5、43.0 cm, 二者之间差异不显著。由此可见, M₃ 和 M₄ 有利于促进 Mabroom 品种幼苗叶片的伸长, M₁ 和 M₂ 有利于促进 Sillege 品种幼苗叶片的伸长。

由表 3 可以看出, MCK、MM₁、MM₂ 处理下细胞膜相对透性随着处理时间的增加呈现先升高后降低的趋势, 每个相同时间段的数值与 MCK 差异显著 ($P<0.05$), MM₃ 处理下细胞膜相对透性在 7~14 d 出现升高趋势, 14~21 d 出现降低趋势, 21~28 d 出现升高趋势, 28~42 d 出现降低趋势; MM₄ 处理下细胞膜相对透性在

7~14 d 出现升高趋势, 14~28 d 出现降低趋势并趋于稳定, 35~42 d 出现降低趋势, 每个相同时间段的数值与 MCK 差异显著 ($P<0.05$), MM₁ 在 42 d 的细胞膜相对透性相比对照组增量最少; SM₁、SM₂ 的细胞膜相对透性出现先升高后降低并保持稳定趋势, SM₃、SM₄ 在 7~28 d 出现先升高后降低趋势, 在 35 d 出现明显升高, SM₂ 在 42 d 的细胞膜相对透性与 SCK 差异不显著。由此可见, M₁ 和 M₄ 对 Mabroom 品种幼苗叶片细胞损伤最小, M₁ 和 M₂ 对 Sillege 品种幼苗叶片细胞损伤最小。

2.2 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性的影响

由图 1 可知, Mabroom 品种幼苗经过藻肥处

表 2 不同藻类肥料处理对椰枣叶长的影响
Tab. 2 Effect of different algal fertilizer treatments on leaf length of date palm

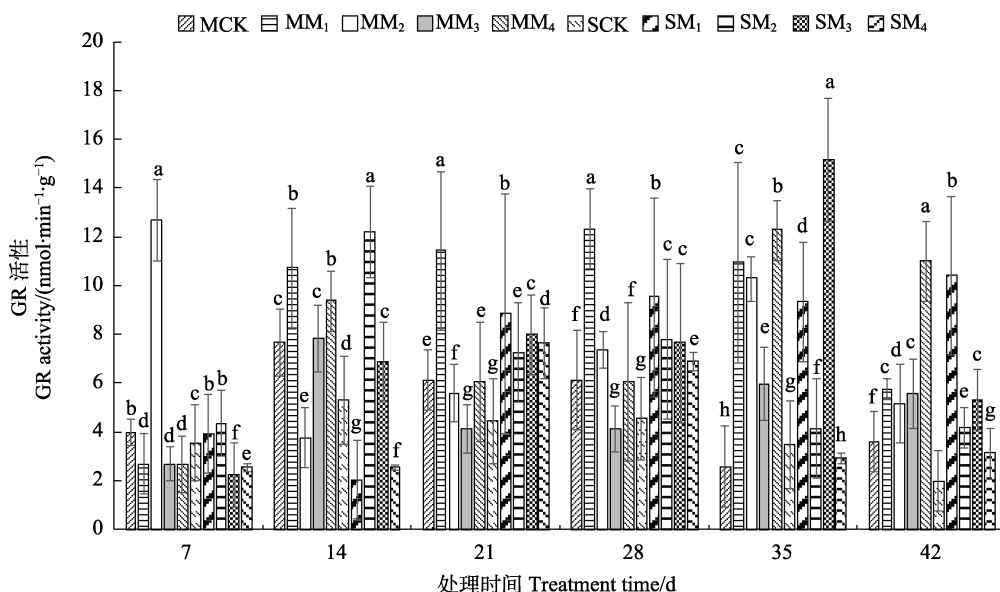
处理 Treatment	叶长 Length of leaf/cm					
	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d
MCK	40.5±1.63 ^e	42.3±1.87 ^c	42.5±3.58 ^c	43.3±1.28 ^c	45.8±3.79 ^e	48.2±5.02 ^e
MM ₁	48.0±2.87 ^a	49.2±2.56 ^a	51.9±2.28 ^a	52.7±3.56 ^b	53.2±2.75 ^d	54.1±3.45 ^d
MM ₂	45.0±3.43 ^c	47.3±2.90 ^b	49.6±5.65 ^b	52.2±2.78 ^b	56.0±4.58 ^b	58.0±4.01 ^c
MM ₃	47.0±2.98 ^b	49.1±3.54 ^a	51.5±2.32 ^a	53.5±1.79 ^a	57.0±2.69 ^a	60.4±3.25 ^b
MM ₄	44.1±1.78 ^d	49.0±2.21 ^a	50.1±1.89 ^b	52.1±5.43 ^b	54.5±1.09 ^c	62.5±1.54 ^a
SCK	35.0±1.67 ^g	36.0±4.58 ^f	37.4±3.32 ^g	37.9±5.45 ^f	39.6±1.56 ^h	40.3±4.56 ⁱ
SM ₁	34.5±4.32 ^h	38.5±1.68 ^d	40.0±3.34 ^d	40.7±4.31 ^d	43.6±3.25 ^f	47.2±1.69 ^f
SM ₂	32.9±2.58 ⁱ	35.6±2.35 ^g	39.8±1.67 ^e	40.5±2.34 ^d	43.5±4.09 ^f	46.0±3.47 ^f
SM ₃	35.8±2.14 ^g	36.5±2.43 ^f	38.5±2.76 ^f	40.4±1.89 ^d	42.3±2.58 ^g	44.5±6.31 ^h
SM ₄	36.5±5.67 ^f	37.6±2.21 ^e	38.0±4.39 ^f	39.5±2.78 ^e	40.5±1.65 ^h	43.0±4.57 ^h

注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

表 3 不同藻类肥料处理对椰枣叶片细胞膜相对透性的影响
Tab. 3 Effects of different algal fertilizer treatments on relative permeability of cell membrane of date palm leaves

处理 Treatment	细胞膜相对透性 Relative permeability of cell membrane/%					
	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d
MCK	26.6±4.01 ^g	33.2±3.06 ^e	35.2±3.31 ^c	37.7±2.78 ^b	30.4±1.56 ^f	27.6±0.76 ^g
MM ₁	31.7±3.45 ^c	32.9±4.09 ^f	40.0±2.32 ^b	34.6±1.46 ^d	32.7±0.52 ^d	28.9±1.36 ^f
MM ₂	38.9±2.38 ^a	39.5±3.21 ^a	43.4±3.18 ^a	38.2±0.89 ^a	35.3±2.43 ^c	31.3±2.89 ^c
MM ₃	32.2±3.67 ^b	36.8±4.52 ^c	32.9±3.21 ^e	34.3±1.54 ^d	32.3±3.45 ^d	30.6±4.76 ^d
MM ₄	27.6±2.89 ^f	37.5±1.98 ^b	34.8±4.67 ^b	34.6±5.45 ^d	39.3±5.53 ^b	29.2±2.09 ^e
SCK	29.5±3.89 ^e	34.9±2.31 ^d	33.9±3.21 ^d	30.4±2.56 ^f	31.8±6.41 ^e	28.2±4.43 ^f
SM ₁	26.4±3.87 ^g	39.9±2.17 ^a	33.6±5.61 ^d	30.3±2.49 ^f	29.9±4.42 ^f	30.9±3.57 ^d
SM ₂	30.9±4.45 ^d	34.9±3.41 ^d	31.8±3.78 ^f	38.8±2.31 ^a	31.8±3.15 ^e	28.9±7.60 ^f
SM ₃	31.2±2.21 ^c	37.0±4.87 ^b	33.6±1.78 ^d	35.4±5.41 ^c	40.5±5.13 ^a	32.7±4.47 ^b
SM ₄	29.8±2.98 ^e	35.6±2.12 ^c	31.2±4.32 ^f	31.9±2.47 ^e	39.6±2.54 ^b	33.9±2.56 ^a

注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 1 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性的影响

Fig. 1 Effects of different microalgae fertilizer treatments on glutathione reductase (GR) activity in date palm seedlings

理的第 7 天, MM₂ 处理的 GR 活性达到最高值, 较其他处理差异显著 ($P < 0.05$), 在处理的 14~28 d, MM₁ 处理后 GR 活性维持在较高水平, 在处理的 35~42 d, MM₄ 处理的 GR 值活性升高; Sillege 品种幼苗经过藻肥处理的 14 d, SM₂ 处理的 GR 值活性升高较其他处理差异显著 ($P < 0.05$), 处理 14~28 d, GR 活性出现降低趋势, 在处理的 35 d, SM₃ 处理的 GR 活性升至最高值, 在处理的 42 d, Sillege 品种幼苗的 GR 活性整体降低, SM₁ 处理的 GR 活性较其他处理高且差异显著 ($P < 0.05$)。由此可见, MM₁、MM₂ 处理可以在不同时间段内提高 Mabroom 品种椰枣幼苗 GR 活性, SM₂、SM₃ 处理在 14~35 d 可以提高 Sillege 品种幼苗的 GR 活性, 而 SM₁ 处理只能在 42 d 时提高 Sillege 品种幼苗的 GR 活性。

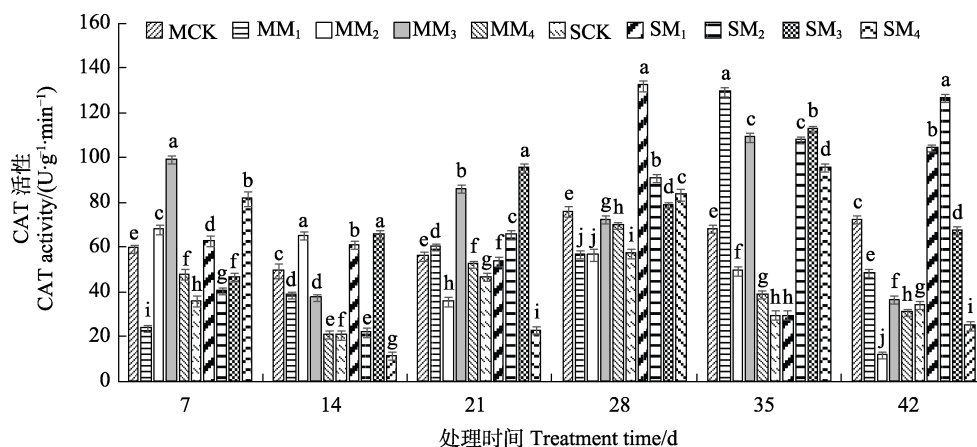
2.3 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

由图 2 可知, 在 7~35 d 处理中, CAT 活性呈先升高后降低再升高的趋势, 在 42 d 处理时呈现先降低后升高再降低的趋势。Mabroom 品种幼苗在 MM₃ 处理 7、21 d 时, CAT 活性达到最高, 与其他处理差异显著 ($P < 0.05$), MM₂ 处理 14 d 时, CAT 活性达到最高, MM₁ 处理 Mabroom 品种幼苗 35 d 时, CAT 活性达到最高, 42 d 时 CAT 活性降低至 MCK 以下, 与 MCK 差异显著 ($P < 0.05$);

Sillege 品种幼苗在处理 7 d 时, SM₄ 处理的 CAT 活性达到最高, 14~21 d 时, CAT 活性呈现下降趋势, 28~35 d 时 CAT 活性呈上升趋势, 42 d 时 CAT 活性下降, 显著低于 SCK ($P < 0.05$)。Sillege 品种幼苗在 SM₁ 处理下 7~21 d 与 SCK 的变化趋势基本保持一致, 呈现平稳趋势, 28 d 时, CAT 活性增加, 与其他处理差异显著 ($P < 0.05$), 35 d 时 CAT 活性低于 SCK, 42 d 时 CAT 活性升高, 显著高于 SCK ($P < 0.05$)。SM₂ 处理在 42 d 时 CAT 活性升高, 显著高于 SCK ($P < 0.05$)。由此可见, Mabroom 品种的椰枣幼苗在 MM₂ 和 MM₃ 处理的 7~14 d 即可产生敏感反应分泌过氧化氢, Sillege 品种的椰枣幼苗在 SM₄ 处理 7 d 时即可产生敏感反应分泌过氧化氢, Sillege 品种的椰枣幼苗对 SM₁ 和 SM₂ 的处理敏感反应延迟至 35~42 d。

2.4 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗过氧化物酶 (POD) 活性的影响

由图 3 可知, Mabroom 品种幼苗在 MCK、MM₁ 和 MM₄ 处理下, POD 活性呈现先降低后升高再降低的趋势, 其中 MM₁ 处理 POD 活性在 7~14 d 降低, 14~21 d 升高, 21~28 d 再降低, 28~35 d 再升高, 35~42 d 又降低, 与 MCK 的变化趋势一致, 而 MM₄ 处理在 35~42 d 后 POD 活性趋于稳定。藻肥 MM₂ 和 MM₃ 处理 Mabroom 品种椰枣幼苗 POD 活性呈现先升高后降低再升高的趋势, 其

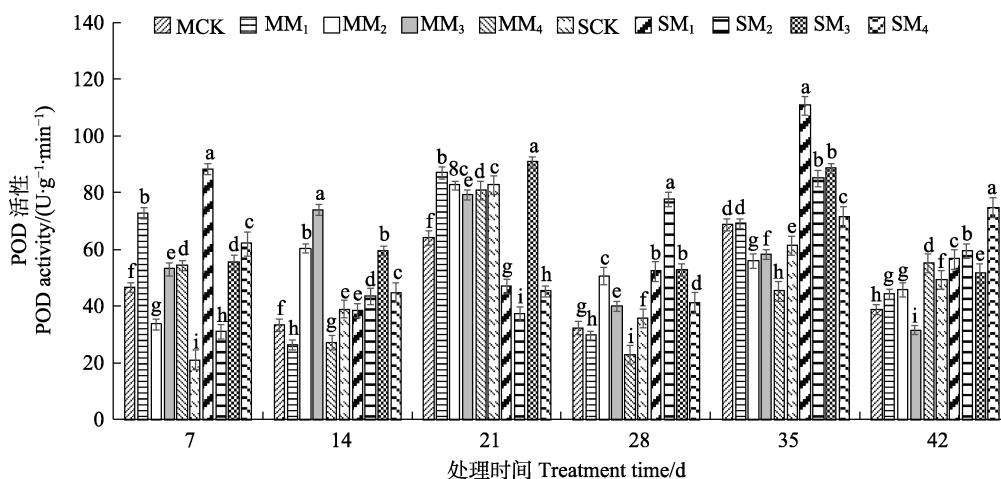


不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 2 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

Fig. 2 Effects of different microalgae fertilizer treatments on activity of catalase (CAT) in date palm seedlings



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 3 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗过氧化物酶 (POD) 活性的影响

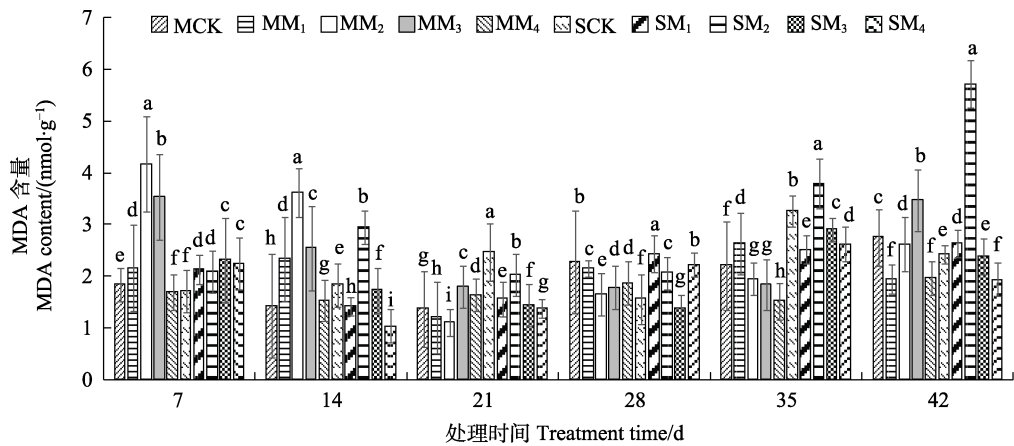
Fig. 3 Effects of different microalgae fertilizer treatments on activity of peroxidase (POD) in date palm seedlings

中 POD 活性在 7~21 d 升高, 21~28 d 降低, 28~35 d 再升高, 35~42 d 再降低, 与 MCK 变化趋势相反; Sillege 品种幼苗 POD 活性在 SMK、SM₂、SM₃ 的变化趋势相似, 呈先升高后降低趋势, 其中在 SM₂ 处理下, 7~35 d 的 POD 活性呈现升高趋势, 42 d 时出现降低, 而在 SM₃ 处理下 7~21 d 的 POD 活性升高, 21~28 d 的 POD 活性降低, 35 d 时短暂升高又降低至回归平稳。SM₁、SM₄ 的变化趋势与其相反, POD 活性呈先降低后升高趋势, 其中在 SM₁ 处理下, POD 活性在 7~14 d 急速下降, 而后 21~35 d 平稳上升, 在 42 d 时 POD 活性有所降低, 在 SM₄ 处理下, POD 活性在 7~14 d 略微下降, 14~42 d 处于快速升高期, 显著高于 SCK ($P < 0.05$)。由此可见, Mabroom 品种幼苗对 MM₂

和 MM₃ 处理更为敏感, 植株在此处理下可以快速产生大量过氧化物, Mabroom 品种幼苗对 MM₁ 和 MM₄ 处理出现短暂的敏感期, 即降低归于平稳; Sillege 品种幼苗对 SM₂ 和 SM₃ 的前期处理更为敏感, 对 SM₄ 处理的敏感度则主要表现在后期产生大量过氧化物。

2.5 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗丙二醛 (MDA) 含量的影响

由图 4 可知, Mabroom 品种幼苗在 MM₂、MM₃ 和 MM₄ 处理下, MDA 含量的变化趋势相似, 呈先降低后升高趋势, 7~21 d 降低, 21~28 d 平稳上升, 28~42 d 呈升高趋势, 在 MCK 处理下, MDA 含量在 7~21 d 平稳下降, 21~42 d 呈现升高趋势, 在 MM₁ 处理下, MDA 含量在 7~14 d 先升



不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 4 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗丙二醛（MDA）含量的影响

Fig. 4 Effects of different microalgae fertilizer treatments on malondialdehyde (MDA) content of date palm seedlings

高后在 21 d 时降低，21~35 d 进入快速升高期，42 d 时降至初期含量。Sillege 品种幼苗 MDA 含量在 SMK 的变化趋势 7~21 d 快速升高、28 d 时降低，35 d 时升高，而后降低至与 21 d 时持平，在藻肥 SM₁ 的处理下 MDA 含量呈先降低后平稳上升的趋势，在 SM₂ 处理下 MDA 含量变化呈现先快速升高后平稳上升，在 SM₃ 处理下 MDA 含量变化呈现先降低后 28 d 时开始升高，而后降低趋于平稳，SM₄ 处理下 MDA 含量变化呈现先降低后 14 d 开始升高，而后降低趋于平稳。由此可

见，Mabroom 品种幼苗对 MM₂ 和 MM₃ 的处理表现敏感，7 d 的 MDA 含量就达到最高值，膜脂过氧化程度最高，Sillege 品种幼苗对 SM₂ 处理后期更为敏感，35~42 d 的 MDA 含量升高，膜脂过氧化程度达到最高。SM₁、SM₃ 和 SM₄ 的膜脂化程度变化并不明显。

2.6 不同藻类肥料处理下椰枣幼苗 6 个性状指标的相关性和变异性分析

对不同藻类肥料处理下椰枣幼苗 6 个指标的相关分析（表 4）及变异性分析（表 5）发现，所

表 4 不同藻类肥料处理下椰枣幼苗 6 个指标的相关分析

Tab. 4 Correlation analysis of 6 indexes of date palm seedlings treated with different microalgae fertilizers

生理指标 Physiological index	MDA	GR	CAT	POD	细胞膜相对透性 Relative permeability of cell membrane	叶长 Length of leaf
MDA	1.000					
GR	0.195*	1.000				
CAT	0.326*	0.124*	1.000			
POD	0.100*	0.075	0.226*	1.000		
细胞膜相对透性	-0.154*	0.299*	0.005	0.120*	1.000	
叶长	0.090	0.239*	0.091	0.080	0.085	1.000

注：*表示显著相关（ $P<0.05$ ）。
Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$).

表 5 不同藻类肥料处理下椰枣幼苗 6 个指标的变异性分析

Tab. 5 Variability analysis of 6 indexes of date palm seedlings treated with different algae fertilizers

性状 Trait	最小值 Min	最大值 Max	极差 Range	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV/%
叶长	34.50	62.50	28.00	44.88	7.06	15.73
细胞膜相对透性	26.40	43.40	17.00	33.49	3.83	11.44
GR	1.00	17.00	16.00	6.42	3.68	57.32
CAT	9.09	135.89	126.80	60.71	29.83	49.14
POD	17.65	117.98	100.33	55.52	19.95	35.93
MDA	0.65	6.31	5.66	2.24	0.95	42.41

有性状均存在不同程度的相关性,其中 MDA 含量与 GR、CAT、POD 活性呈显著正相关,与细胞膜相对透性呈显著负相关,MDA 与 CAT 的相关系数达到 0.326;GR 活性与 CAT、细胞膜的相对透性和叶长呈显著正相关,与细胞膜相对透性的相关系数达到 0.299;CAT 活性与 POD 活性呈显著正相关,相关系数达到 0.226;POD 活性与细胞膜相对透性呈显著正相关,相关系数达到 0.120。

对不同藻类肥料处理下椰枣幼苗 6 个指标的变异性分析(表 5)发现,所有性状均存在变异情况,GR 的变异系数最大,达到 57.32,细胞膜相对透性的变异系数最小,仅为 11.44%,CAT 的

变异系数达到 49.14%,仅次于 GR 的变异系数。

2.7 不同藻类肥料处理对椰枣幼苗叶片的细胞形态结构的影响

由图 5 可以看出,椰枣幼苗经过番红固绿染色后,细胞呈现绿色部分居多,证明多数细胞具备分生能力,MM₄ 中细胞的绿色程度更深,说明 Mabroom 幼苗在 M₄ 的施用过程中,细胞分生能力更强,更有活力,其次是 MM₃,呈红色部分的木质化木栓化结构的细胞较少。由 SM₁、SM₂ 可以看出, Sillege 幼苗在 M₁ 和 M₂ 的施用过程中,减少了叶片组织细胞中的老化部分,增强了细胞活力。细胞形态结构特征与生理指标分析结果基本保持一致。

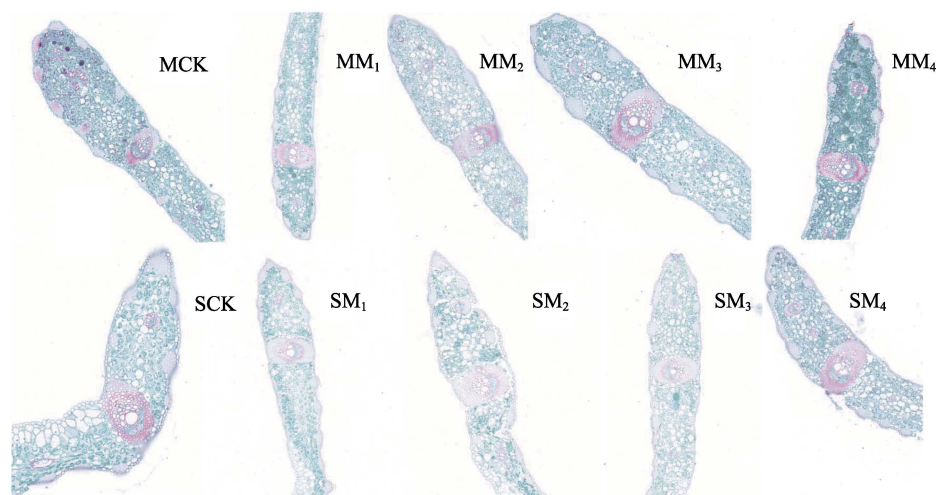


图 5 不同藻类肥料处理对椰枣叶片细胞形态特征的影响

Fig. 5 Effects of different microalgae fertilizer treatments on cell morphology of date palm leaves

3 讨论

我国是世界农业大国,也是化肥消费大国,对肥料有较大的需求,微藻作为一种生物肥料,具有巨大优势,发展空间广阔。刘淑芳等^[23]使用了混合蛋白核小球藻、卷曲鱼腥藻和四尾栅藻的生物肥料不仅可以促进黄瓜的生长,还能显著改善土壤品质,减少化肥的使用^[24]。王荣敏^[25]在研究蓝藻和绿藻组成的肥液对于桃子生长发育的影响中发现微藻肥可以有效增加果实质量和固形物含量的作用。FAHEED 等^[26]研究了小球藻对生菜的影响,经过藻液处理可以显著提高种子的发芽速率,在土壤中添加藻液也增加了幼苗的鲜质量、干质量和色素含量。GRZESIK 等^[27]通过使用蓝藻和绿藻改善玉米种子萌发、幼苗生长和代谢活性,结果表明,单株培养的微藻均能显著提高玉米幼

苗的生长,并强化了酶的代谢活性,而关于椰枣的生物肥料研究使用鲜有报道。

本研究以 2 个品种 Mabroom、Sillege 椰枣幼苗为研究对象,采用 4 种微藻肥 M₁、M₂、M₃、M₄ 处理,探讨不同微藻肥对椰枣品种幼苗生长生理指标的影响。MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一,能反映植物膜脂过氧化的程度,MDA 可以与蛋白质、核酸等生物大分子结合,形成稳定的复合物,从而保护这些分子免受氧化损伤,此外,MDA 还可以促进谷胱甘肽的合成,进一步增强细胞的抗氧化能力,可通过 MDA 了解膜脂过氧化的程度,以间接测定膜系统受损程度以及植物的抗逆性^[28]。在对 Mabroom 幼苗的结果分析中可知,M₂ 在对 Mabroom 幼苗的施用中,MDA 含量迅速积累升高,直到 21 d 才降低,显然在早期的

胁迫过程中发酵微藻对 Mabroom 幼苗造成了一定的伤害, 叶片的生长也受到影响, 发酵微藻肥在施肥至椰枣种植器皿中, 在高温高湿环境下仍旧继续发酵繁殖, 分泌碱性胞外物质来碱化周围环境, 造成土壤的 pH 升高^[29], 而 Mabroom 品种幼苗的耐受碱性胁迫的能力不强, 所以在 M₂ 中容易受到损伤; M₃ 和 M₄ 在培养微藻的过程中, 微藻可合成相关活性物质产生初级代谢产物, 此种生物活性物质被幼苗根系吸收, 促进了椰枣叶片的伸长生长, 降低了 CAT 和 POD 活性。由此可见 Mabroom 幼苗更适合施用微藻的次生代谢产物作为肥料。

在对 Sillege 幼苗的结果分析中可知, M₁ 藻类可富集水体中的氮磷等营养物质, 增加自身生物物质产量, 继而作为生物肥料, M₁ 在对 Sillege 椰枣幼苗施用, 丰富的氮磷含量, 促进了椰枣幼苗的叶片的伸长生长, 提高了幼苗内的 GR 活性, CAT 和 POD 活性降低, CAT 作为酶类清除剂, 是以铁卟啉为辅基的结合酶, 它可促使 H₂O₂ 分解为分子氧和水, 清除体内的过氧化氢, 从而使细胞免于遭受 H₂O₂ 的毒害, 是生物防御体系的关键酶之一。POD 是一种氧化还原性酶, 将光合作用的副产物乙醇酸氧化为乙醛酸和过氧化氢。细胞出现高浓度氧状态时, 也会通过过氧化物酶体的强氧化作用而得以有效调节, 以避免细胞遭受高浓度氧的损害。谷胱甘肽还原酶在氧化胁迫反应中对活性氧清除起关键作用, 可以维持细胞内充足的 GSH 水平。M₂ 是微藻经过高温密封发酵, 微藻中的多糖在高温密封发酵过程中可能会被微生物分解, 转化为单糖或其他低分子量的糖类, 微藻的蛋白质会发生水解, 生成氨基酸、多肽等更小分子量的物质, 此类物质有利于植物根系对营养的吸收^[30], 促进幼苗的生长, 增强了细胞膜的相对透性, 减轻了土壤基质中不利因素对幼苗的胁迫, Sillege 品种椰枣幼苗耐受盐碱胁迫能力更强, 更容易在高 pH 环境下生长。由此可见, Sillege 椰枣幼苗更适合新鲜微藻和发酵后的微藻。

综上所述, 不同微藻类型适应的椰枣品种幼苗种类有所不同, Mabroom 幼苗耐受碱性土壤能力有限, 更适合富含生物活性物质的微藻代谢产物作为肥料, 而 Sillege 椰枣幼苗耐受盐碱土壤能力强, 更适合富含小分子单糖或者小分子氨基酸的微藻原液或者发酵液作为肥料。此研究目前只做了

椰枣幼苗生长阶段所需肥料的微藻种类, 关于椰枣生殖生长阶段所需的种类还需进一步深入研究。

参考文献

- [1] ABEED N A A, TAAIN D A, HAMZA H A. Influence of pollen source in some qualitative characteristics of date palm fruits propagated by offshoots and tissue culture techniques[J]. Journal of Physics: Conference Series, 2020, 1660: 012002.
- [2] JAIN S M. Recent advances in date palm tissue culture and mutagenesis[J]. Acta Horticulturae, 2007, 736(736): 205-211.
- [3] EKE C R, AKOMEAH P, ASEMOTA O. Somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from apical meristem tissues from zebia and loko landraces[J]. African Journal of Biotechnology, 2005, 4(3): 244-246.
- [4] AL-KHATEEB A A. Role of cytokinen and auxin on the multiplication stage of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. sukry[J]. Biotechnology, 2006, 5(3): 349-352.
- [5] FKI L, MASMOUDI R, DRIRA N, RIVAL A. An optimised protocol for plant regeneration from embryogenic suspension cultures of date palm, *Phoenix dactylifera* L. cv. Deglet Nour[J]. Plant Cell Reports, 2003, 21(6): 517-524.
- [6] RAJU CHELLAPPAN S, ASLAM A, SHAJAHAN A. High-efficiency direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf base explants of turmeric (*Curcuma longa* L.)[J]. Plant Cell Tissue & Organ Culture, 2015, 122: 79-87.
- [7] DIAB M. *In vitro* propagation of the endangered date palm (*Phoenix dactylifera* L.) Ghazal cv. 1-effect of folic acid and biotin on callus formation and differentiation[J]. Agricultural and Food Sciences 2015, 15(3): 284-290.
- [8] 张宁, 王义, 刘心语, 符海泉, 李东霞, WALID B A, 王富有, 徐中亮. 外植体的种类及消毒方式对椰枣胚性愈伤组织诱导的影响[J]. 分子植物育种, 2022, 20(10): 3340-3346. ZHANG N, WANG Y, LIU X Y, FU H Q, LI D X, WALID B A, WANG F Y, XU Z L. Effects of explants types and disinfection methods on embryo callus induction of date palm[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(10): 3340-3346. (in Chinese)
- [9] 边建文, 崔岩, 杨宋琪, 孟宪刚, 罗光宏, 王振南. 微藻生物肥料的农业应用研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2020(5): 1-9. BIAN J W, CUI Y, YANG S Q, MENG X G, LUO G H, WANG Z N. Research progress in agricultural application of microalgae bio-fertilizer[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2020(5): 1-9. (in Chinese)
- [10] ETESAMI H, ALIKHANI H A. Co-inoculation with endo-

- phytic and rhizosphere bacteria allows reduced application rates of N-fertilizer for rice plant[J]. *Rhizosphere*, 2016(9): 10-21.
- [11] GITAU M M, FARKAS A, BALLA B, RDG V, GERGELY M. Strain-specific biostimulant effects of *Chlorella* and *Chlamydomonas* green microalgae on *Medicago truncatula*[J]. *Plants*, 2021, 10(6): 1060.
- [12] BUONO S, LANGELOTTI A L, MARTELLO A, RINNA F, FOGLIANO V. Functional Ingredients from microalgae[J]. *Food Function*, 2014, 5(8): 1669-1685.
- [13] EPPINK M H M, OLIVIERI G, REITH H, BERG C V D, WIJFELLS R H. From current algae products to future biorefinery practices: a review[J]. *Advances in Biochemical Engineering*, 2019, 166: 99-123.
- [14] 赵伟, 高保燕, 黄罗冬, 王飞飞, 张成武. 微藻及其生物活性成分在水产养殖中的营养价值、生理功能和抗病活性[J]. *饲料工业*, 2019, 40(8): 9-16.
- ZHAO W, GAO B Y, HUANG L D, WANG F F, ZHANG C W. Nutritional value, physiological function and disease resistance activity of microalgae and their bioactive components in aquaculture[J]. *Feed Industry*, 2019, 40(8): 9-16. (in Chinese)
- [15] 胡光荣, 范勇, 李福利. 微藻中的高附加值天然产物与挖掘策略[J]. *氨基酸和生物资源*, 2015, 37(4): 1-6.
- HU G R, FAN Y, LI F L. High valuable natural products in microalgae and discovery strategies[J]. *Biotic Resources*, 2015, 37(4): 1-6. (in Chinese)
- [16] ADESSI A, CARVALHO R C D, PHILIPPIS R D, BRANQUINHO C, SILVA J M D. Microbial extracellular polymeric substances improve water retention in dryland biological soil crusts[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 116: 67-69.
- [17] RENUKA N, GULDHE A, PRASNANNA R, SINGH P, BUX F. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(4): 1255-1273.
- [18] WANG J, ZHANG P, BAO J T, ZHAO J C, LI X R. Comparison of cyanobacterial communities in temperate deserts: a cue for artificial inoculation of biological soil crusts[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 745: 140970.
- [19] 蒋龙刚, 王丽英, 任燕利, 宋晓, 李建芬, 陈莉. 微藻用量对滴灌日光温室番茄/黄瓜土壤质量、产量及品质的影响[J]. *北方园艺*, 2022(20): 48-56.
- JIANG L G, WANG L Y, REN Y L, SONG X, LI J F, CHEN L. Effects of different microalga dosage on soil quality, fruit yield and quality of tomato/cucumber rotation system in drip irrigation on greenhouse[J]. *Northern Horticulture*, 2022(20): 48-56. (in Chinese)
- [20] TRIPATHI R D, DWIVEDI S, SHUKLA M K, MISHRA S, SRIVASTAVA S, SINGH R, RAI U N, GUPTA D K. Role of blue green algae biofertilizer in ameliorating the nitrogen demand and fly-ash stress to the growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) plants[J]. *Chemosphere*, 2008, 70(10): 1919-1929.
- [21] DINESHKUMAR R, SUBRMANIAN J, ARUMUGAM A, RASHEEQ A A, SAMPATHKUMAR P. Exploring the microalgae biofertilizer effect on onion cultivation by field experiment[J]. *Springer Netherlands*, 2020(1): 1810-1821.
- [22] GRUNERT O, COPPENS J, HENDE S V D, VANHOUTTEC I, BOONA N, HAESAERT G, GELDER L. The application of microalgae as a slow-release fertilizer: tomato cultivation as a model[C]. *International Tomato Conference*, April 13-15, 2016, Antwerp, Belgium.
- [23] 刘淑芳, 吕俊平, 冯佳, 刘琪, 郭珺, 焦晓燕, 谢树莲. 施用微藻对黄瓜生长及土壤质量的影响[J]. *山西农业科学*, 2016, 44(9): 1312-1315, 1319.
- LIU S F, LYU J P, FENG J, LIU Q, GUO J, JIAO X Y, XIE S L. Effect of microalgae application on the growth and soil quality of cucumber[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2016, 44(9): 1312-1315, 1319. (in Chinese)
- [24] 凌启鸿. 水稻精确定量栽培理论与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- LING Q H. Theory and technology of precise quantitative rice cultivation[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2007. (in Chinese)
- [25] 王荣敏. 施用微藻肥液对不同桃品种果实品质的影响[J]. *果树实用技术与信息*, 2019(2): 17-19.
- WANG R M. Effect of applying microalgae fertilizer solution on fruit quality of different peach varieties[J]. *Practical Techniques and Information on Fruit Trees*, 2019(2): 17-19. (in Chinese)
- [26] FAHEED F A, FATTAH Z A. Effect of *Chlorella vulgaris* biofertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant[J]. *Journal of Agriculture and Social Sciences*, 2008, 4(4): 165-169.
- [27] GRZESIK M, ROMANOWSKA-DUDA Z. Improvements in germination, growth, and metabolic activity of corn seedlings by grain conditioning and root application with cyanobacteria and microalgae[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2014, 23(4): 1147-1153.
- [28] LI R, TAO R, LING N, CHU G X. Chemical, organic and bio-fertilizer management practices effect on soil physico-chemical property and antagonistic bacteria abundance of a cotton field: implications for soil biological quality[J]. *Soil*

- and Tillage Research, 2017, 167: 30-38.
- [29] RANJAN K, PRIYA H, RAMAKRISHANA B, PRASANNA R, VENKATACHALAM S, THAPA S, TIWARI R, NAIN L, SINGH R, SHIVAY Y S. Cyanobacterial inoculation modifies the rhizosphere microbiome of rice planted to a tropical alluvial soil[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 108: 195-203.
- [30] 李健, 张学成, 胡鸿钧, 王广策. 微藻生物技术产业前景和研发策略分析[J]. 科学通报, 2012, 57(1): 23-31.
- LI J, ZHANG X C, HU H J, WANG G C. Prospects and research strategies for the microalgal industry[J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(1): 23-31. (in Chinese)