

脐橙幼苗新老叶片养分含量对大、中量元素短期缺乏的差异性响应

张圆圆¹, 马金龙¹, 管冠^{1,2}, 姚锋先^{1,2}, 周高峰^{1,2}, 刘桂东^{1,2*}

(1 赣南师范大学生命科学学院, 江西赣州 341000; 2 国家脐橙工程技术研究中心, 江西赣州 341000)

摘要:【目的】对比大、中量养分短期缺乏下脐橙新、老叶片中 11 种必需元素含量及变化, 并分析缺素导致的营养元素间的相互影响。【方法】以一年生枳砧纽荷尔脐橙幼苗为试材进行了砂培试验。以完全营养液为对照 (CK), 设置缺氮 (-N)、缺磷 (-P)、缺钾 (-K)、缺钙 (-Ca) 和缺镁 (-Mg) 处理, 测定不同处理脐橙叶片 (老叶和新叶) 生长指标及矿质元素含量。【结果】所有缺素处理均导致叶片叶绿素含量降低, 生物量减少, 以缺氮处理最为显著。缺氮降低了叶片 N、Ca、Cu、Mo 含量; 缺磷降低了叶片 P、K、Mo 含量; 缺钾降低了叶片 K 含量; 缺钙降低了叶片 N、Cu、Zn、Mo 含量但增加了 P 含量; 缺镁降低了叶片 Ca、Mg、Zn、Mo 含量但增加了 K 含量。以必需矿质元素为变量分别对各处理老叶和新叶进行主成分分析, 老叶中第一主成分 (PC1) 明显将缺钾处理与其他处理区分开, 与对照相比, 缺钾老叶离子组成变化为 N (-3%)、P (+1%)、K (-71%)、Ca (+11%)、Mg (+39%)、B (+16%)、Mn (+11%)、Fe (+32%)、Cu (-7%)、Zn (+14%)、Mo (-63%); 新叶中 PC1 明显将缺氮处理与其他处理区分开, 缺氮新叶离子组成变化为 N (-53%)、P (+8%)、K (+7%)、Ca (-14%)、Mg (+11%)、B (+55%)、Mn (+51%)、Fe (-14%)、Cu (-57%)、Zn (+4%)、Mo (-25%)。老叶和新叶中元素含量呈正相关的元素是 N-Cu、N-Ca、Mg-Mn 和 Cu-Mo, 呈负相关的是 K-Zn。【结论】脐橙幼苗老叶对钾的短期缺乏反应最敏感, 缺钾会显著降低老叶中 K 和 Mo 含量并增加 Mg 和 Fe 含量, 而新叶对氮素的短期缺乏最敏感, 缺氮显著降低新叶中 N、Ca、Cu 和 Mo 含量。短期缺少 P、Ca 和 Mg 对脐橙幼苗叶片中的养分含量影响较小。

关键词: 脐橙; 叶片离子组成; 大量元素缺乏; 中量元素缺乏; 营养元素含量

Differential response of nutrient content of new and old leaves of young navel orange to short-term deficiency of macroelements and secondary elements

ZHANG Yuan-yuan¹, MA Jin-long¹, GUAN Guan^{1,2}, YAO Feng-xian^{1,2}, ZHOU Gao-feng^{1,2}, LIU Gui-dong^{1,2*}

(1 College of Life Sciences, Gannan Normal University, Ganzhou, Jiangxi 341000, China;

2 National Navel Orange Engineering Research Center, Ganzhou, Jiangxi 341000, China)

Abstract: 【Objectives】We compared the changes in the essential elements of young navel orange leaves to short-term deficiency of elements. 【Methods】Sand culture method was used for the research, with one-year-old young Newhall navel orange as test materials. The experiment included complete nutrient solution (control), N, P, K, Ca and Mg deficiency treatments. The growth and element contents of old and new leaves were measured. 【Results】The leaf chlorophyll content and biomass decreased in all deficiency treatments. N deficiency decreased the leaf N, Ca, Cu and Mo contents, P deficiency decreased the leaf P, K and Mo contents, and K deficiency reduced the leaf K content. Ca deficiency decreased the leaf N, Cu, Zn and Mo content, but increased P content. Mg deficiency decreased the leaf Ca, Mg, Zn and Mo contents, but increased K content. Taking essential mineral elements as variables, principal component analysis was conducted on old and new leaves under each treatment, and the first principal component (PC1) of old leaves obviously distinguished K

收稿日期: 2022-05-31 接受日期: 2022-11-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32160746); 江西省自然科学基金项目 (2021ACB205008)。

联系方式: 张圆圆 E-mail: 1925304152@qq.com; * 通信作者 刘桂东 E-mail: liuguidong@gnnu.edu.cn

deficiency treatment from other treatments. Compared with the control, the changes of ion composition in K-deficient old leaves were N (−3%), P (+1%), K (−71%), Ca (+11%), Mg (+39%), B (+16%), Mn (+11%), Fe (+32%), Cu (−7%), Zn (+14%) and Mo (−63%). In new leaves, PC1 clearly distinguished N deficiency treatment from other treatments. The changes in ion composition of N-deficient new leaves were N (−53%), P (+8%), K (+7%), Ca (−14%), Mg (+11%), B (+55%), Mn (+51%), Fe (−14%), Cu (−57%), Zn (+4%) and Mo (−25%). N-Cu, N-Ca, Mg-Mn and Cu-Mo content between the old and new leaves were correlated positively, and the K-Zn correlated negatively. 【Conclusions】 The old leaves of young navel orange trees were sensitive to K nutrition, short-term K deficiency decreased the contents of K and Mo and increased the contents of Mg and Fe. The new leaves were sensitive to N nutrition, as short-term N deficiency decreased N, Ca, Cu and Mo contents. Both the new and old leaves were not sensitive to P, Ca and Mg deficiencies in short period.

Key words: navel orange; ion composition in leaf; macroelement deficiency; secondary element deficiency; nutrient content

矿质元素缺乏是影响柑橘产量与品质的重要因素之一^[1]。多年生果树叶片营养诊断是快速发现潜在缺素状况并进行科学施肥的重要依据^[2]。由于元素之间存在一定的互作关系,某一元素缺乏后可能引起植株元素组成的变化。另外,由于植物对某些元素(如铁和磷)的自稳态调控,导致即使外界环境中这些元素发生较大变化,植物地上部该元素含量变化也不明显^[3]。基于上述原因,在进行叶片营养诊断时单独测定某一种元素可能存在误判。因此,从离子互作及平衡的角度开展不同缺素条件下柑橘叶片离子组成差异性响应的研究,对柑橘营养诊断与养分平衡管理具有现实的指导意义。

植物体内离子组成一般处于稳定状态,当植物受到气候变化以及非生物胁迫,如盐碱、干旱、元素缺乏等,植物体内离子组成则会发生变化,以维持矿质元素之间的平衡关系^[4]。因此,预测植物不同的离子组成与它们所处的不同外部环境有关^[5],可以将植物离子组成作为反映植物生理状态的一个指标^[6],例如 Baxter 等^[3]通过离子组成测定成功对缺铁和缺磷拟南芥进行了营养诊断。廖欢等^[7]在盐碱胁迫条件下发现不同品种的棉花植株均吸收较多的 Na,导致植株根、茎、叶中的 N、P、K、Ca、Mg 等离子平衡遭到严重破坏,进而影响植株的生长及叶片叶绿素含量。锌过量降低茶树根系对 P、S、Al 的吸收,且使根、叶中的 Cu 和 Zn 含量下降^[8]。缺硼导致油菜地上部中 Cu、Fe、Mg、P 和 Zn 含量显著增加^[9];高硼对脐橙幼苗根和叶中 B、Mn、Fe、Cu、Zn、Mo 等元素含量产生显著影响^[10]。另外,低磷降低油菜中 Ca、Cu、K 和 P 含量,且促进 B、Fe、Na、Zn 往地上部分配^[11]。元素丰缺不仅对植物体内养分

元素含量和离子组成产生影响,对元素间互作关系也有一定的影响。发现不同形态砷胁迫的水稻中 Mg 和 Mn 以及 P 和 Fe 之间存在较强的相关性,砷胁迫抑制了根系中 K、Zn、Sr 的积累而增加了 Fe 和 Ba 的积累^[12]。磷缺乏导致雌雄青杨离子组差异表现出组织特异性,根和叶片中元素含量也发生显著变化。元素间关系表现为 S、Mg 和 Ca 具有类似的正相关性, Mn、Zn、Fe 和 Ca 之间具有类似的负相关性, P、K 和 Na 之间也具有类似的负相关性^[13]。综上,单一元素胁迫会导致植株离子组成发生明显变化,而离子组成对于研究植株体内离子互作与相关性具有重要意义,但在果树上关于元素缺乏对植株叶片离子组成影响的报道较少。目前尚不明确在柑橘不同叶龄叶片中是否存在元素之间的互作关系,不同元素缺乏后必需矿质元素组成是否存在差异性响应。

柑橘的生长发育依赖于必需矿质营养元素之间的平衡^[14],元素的缺乏或过量均会抑制柑橘的生长发育,进而影响最终的产量和品质^[15-16]。尽管元素缺乏对柑橘生长发育影响的报道较多,但多集中于生理代谢指标和对产量及品质的影响,幼树期短时间缺乏必需大量元素对植株生长的影响程度及其与元素组成间的关系研究较少。因此,本研究以纽荷尔脐橙幼苗为试材,设置缺氮、缺磷、缺钾、缺钙和缺镁处理,进行相对短时间处理(12周),通过测定不同叶龄叶片的离子组成并结合多元统计分析,来揭示大量元素缺乏在短时间内对脐橙幼苗生长的影响程度,不同元素缺乏后在离子组成水平上的差异性响应及不同叶龄叶片的离子组成差异,旨在为脐橙幼苗时期平衡施肥管理提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在赣南师范大学盆栽场进行了砂培试验, 供试材料为 2020 年 7 月份嫁接的枳 [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] 砧纽荷兰脐橙 (*Citrus sinensis* Osbeck 'Newhall') 幼苗。选取砧木粗度 (直径 6~8 mm) 及高度 (14~16 cm) 相对一致且生长良好的嫁接苗, 洗净附土, 重剪地上部和根部, 地上部只留一个梢, 根部稍作修剪后于 2021 年 4 月 19 日移栽至盛有 7.5 L 石英砂的不透光塑料盆中, 用黑色的板子在盆上遮挡, 以防太阳直射, 在大棚中避雨栽培。

1.2 试验设计

幼苗移栽后仅供应蒸馏水进行炼苗, 3 天后开始进行处理。试验共设置 6 个处理: 全量营养对照 (CK)、缺氮 (-N)、缺磷 (-P)、缺钾 (-K)、缺钙 (-Ca)、缺镁 (-Mg), 每个处理 4 个重复, 每个重复 2 株。对照和缺素营养液参考 Hoagland 等^[17]配方, 用 1/4 浓度的大量元素和 1/2 浓度的微量元素培养 3 周后, 用 1/2 浓度的大量元素和全浓度微量元素营养液培养。

1.3 相对叶绿素含量测定

使用便携式叶绿素测定仪 (SPAD-502Plus, JPN), 每周分别测量一次老叶 (缺素处理前保留的叶片, 从第 2 周开始测定) 和新叶 (缺素处理后新抽出的叶片, 从第 6 周开始) 相对叶绿素含量。每处理测量 8 株, 每株老叶测量的是移栽前保留叶片从上往下数第 3、4 片, 新叶第一次测量时选择完全展开的叶片两片, 对叶片进行标记, 之后长期监测; 每片测 4

个点, 最后取平均值。

1.4 测量指标与方法

培养 12 周后收样, 将叶片分为老叶 (缺素处理前保留的叶片) 和新叶 (缺素处理后新抽出的叶片, 叶龄约为 2 个月), 用超纯水清洗干净, 擦干后称取鲜重, 然后置于 105℃ 烘箱中杀青 15 min, 75℃ 烘干至恒重, 称取干重。将烘干后的样品磨碎, 贮藏于密封袋备用。每份粉碎干样称取 0.20 g 左右, 先在电炉上碳化直至无黑烟, 随后放入马弗炉中 500℃ 灰化 6 h, 用 10 mL 5% HNO₃ 溶解, 用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS, Agilent 7900, USA) 测定 P、K、Ca、Mg、B、Mn、Fe、Cu、Zn、Mo 等元素的含量。全氮采用 H₂SO₄-H₂O₂ 消煮, 全自动智能化学分析仪 (Smartchem200, FR) 测定氮含量。

1.5 数据处理与分析

叶片元素含量用相对含量表示, 即各处理元素含量与相应的对照植株元素含量的比值, 可以更直观的表征缺素对叶片元素含量的影响程度。采用 Excel 2019 软件对数据进行处理和绘图, 采用 SPSS 21 统计分析软件对数据进行差异显著性检验 (最小显著差异法) 和相关性分析 (皮尔逊相关系数法), 用 origin 2019 对数据进行主成分分析, 绘制热图。

2 结果与分析

2.1 营养液氮、磷、钾、钙、镁缺乏对脐橙幼苗生物量的影响

与对照相比, N、P、K、Ca、Mg 缺乏使脐橙幼苗整株总生物量依次显著降低 43.2%、38.4%、33.5%、26.7%、15.7% (图 1), 以氮缺乏下降最多而

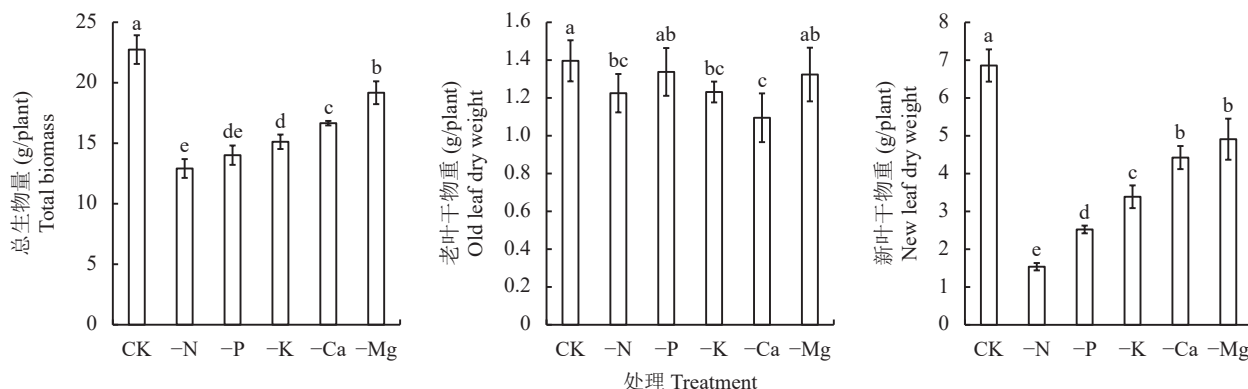


图 1 不同处理脐橙幼苗和叶片干物重

Fig. 1 Dry matter weight of navel orange seedling and leaves under different treatments

注: 柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

镁缺乏下降最少; N、P、K、Ca、Mg 缺乏使脐橙幼苗新叶生物量较对照依次下降 77.6%、63.3%、50.6%、35.6%、28.4%, 且以氮缺乏下降最多而镁缺乏下降最少, 而老叶依次下降 12.2%、4.2%、11.8%、21.5%、5.2%, 且以钙缺乏下降最多而磷、镁缺乏下降最少。因此, N、P、K、Ca、Mg 缺乏均显著抑制脐橙幼苗生长, 其中抑制作用以氮缺乏较大而镁缺乏较小, 对新叶的影响较大而对老叶的影响较小。

2.2 氮、磷、钾、钙、镁缺乏对老叶和新叶相对叶绿素含量动态变化的影响

与对照相比, N、P、K、Ca、Mg 缺乏 2 周使老叶相对叶绿素含量均出现降低的趋势, 随后各处理(包括对照)老叶相对叶绿素含量随时间均呈现持续下降的趋势, 其中以缺氮下降的幅度最为显著(图 2)。培养到 3~4 周时, 各处理植株开始抽新梢, 因此在第 6 周时新叶已经展开, 此时开始测定新叶的相对叶绿素含量。缺氮处理新叶相对叶绿素含量前期相对稳定, 从第 7 周开始即随时间逐渐下降; 而磷、钾、钙、镁缺乏的新叶相对叶绿素含量则随时间呈上升趋势(除缺磷在最后出现下降), 但均低于对照(图 2)。结果表明, N、P、K、Ca、Mg 缺乏均影响脐橙幼苗叶片相对叶绿素含量, 其中缺氮对老叶和新叶均影响最大, 缺镁对老叶影响较大而对新叶影响较小。

2.3 氮、磷、钾、钙、镁缺乏对老叶和新叶元素相对含量的影响

与对照相比, 缺氮处理老叶 P 和 Fe 含量增加, N、Ca、Mg、Cu 和 Mo 含量降低(表 1); 而缺氮新叶 B 和 Mn 含量增加, N、Ca、Fe、Cu 和 Mo 含量降低(表 2)。缺磷处理老叶 Mn 和 Fe 含量增加, P、

K、Mg 和 Mo 含量降低; 缺磷新叶 B 含量增加, P、K、Ca、Fe、Cu 和 Mo 含量降低。缺钾处理老叶 Ca、Mg、B、Mn、Fe 和 Zn 含量增加, K 和 Mo 含量降低; 缺钾新叶 P、K、Mg、Mn 和 Fe 含量降低。缺钙处理老叶 P 含量增加, N、K、Cu、Zn 和 Mo 含量降低; 缺钙新叶 P、Mg 和 B 含量增加; N、Ca、Fe、Cu、Zn 和 Mo 含量降低。缺镁处理老叶 K 含量增加, Ca、Mg、Zn 和 Mo 含量降低; 缺镁新叶 K 和 B 含量增加, Ca、Mg、Cu、Zn 和 Mo 含量降低。

2.4 老叶和新叶中必需矿质元素的相关性

分别对脐橙幼苗老叶和新叶必需矿质元素进行皮尔逊相关性分析(图 3)。结果显示, 老叶中呈显著正相关的元素有 12 对, 呈显著负相关的元素有 10 对(图 3a); 新叶中呈显著正相关的元素有 10 对, 呈显著负相关的元素有 8 对(图 3b); 与老叶相比, 新叶中元素相关性的对数更少, 说明氮、磷、钾、钙、镁缺乏可能引起新叶元素间关系变的更为复杂。老叶和新叶中元素相关性表现一致且均为正相关的是 N-Cu、N-Ca、Mg-Mn 和 Cu-Mo, 均为负相关的是 K-Zn。在老叶和新叶中元素相关性表现不一致的是 K-Fe 和 K-B, 老叶中为负相关而新叶中为正相关。

同一元素在老叶和新叶间相关性结果(图 4)显示, N、P、K、Ca、Mg 在老叶和新叶间均呈显著正相关, 其中 N、P、K 的相关性更强。微量元素 Zn 在老叶和新叶间呈显著正相关, 而 Fe 在老叶和新叶间呈显著负相关, 其余微量元素在老叶和新叶间相关性较弱。

2.5 必需矿质元素的多元统计分析

依据必需矿质元素组成对不同处理叶片分别进

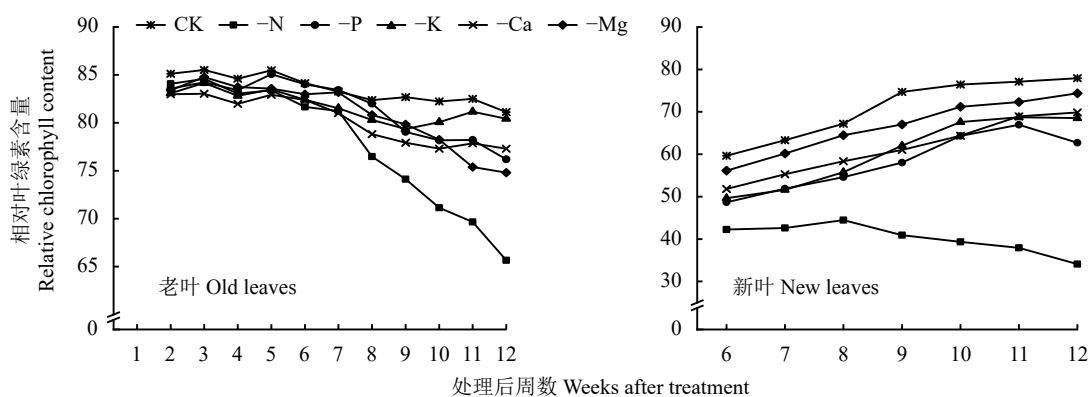


图 2 不同处理老叶和新叶相对叶绿素含量动态变化

Fig. 2 Changes in relative chlorophyll contents in old and new leaves under different treatments

表 1 老叶各处理元素含量与对照相应元素含量的比值
Table 1 The ratio of the element concentration of each treatment to the corresponding element concentration of the control in the old leaves

元素 Element	CK	-N	-P	-K	-Ca	-Mg
N	1 ab	0.71 d	1.06 a	0.97 b	0.81 c	0.96 b
P	1 b	1.17 a	0.69 c	1.01 b	1.28 a	1.02 b
K	1 b	1.05 ab	0.73 d	0.29 e	0.84 c	1.11 a
Ca	1 b	0.90 c	0.95 bc	1.11 a	0.96 bc	0.91 c
Mg	1 b	0.79 c	0.85 c	1.39 a	0.99 b	0.46 d
B	1 bc	1.08 ab	1.08 ab	1.16 a	1.08 ab	0.91 c
Mn	1 b	1.03 ab	1.13 a	1.11 a	0.98 b	0.95 b
Fe	1 c	1.15 b	1.19 ab	1.32 a	1.11 bc	1.13 bc
Cu	1 a	0.88 b	0.98 a	0.93 ab	0.68 c	0.93 ab
Zn	1 b	1.08 ab	1.03 b	1.14 a	0.78 c	0.76 c
Mo	1 a	0.76 b	0.78 b	0.37 c	0.36 c	0.42 c

注: 同行数据后不同小写字母代表同一元素不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Values followed by different small letters in a row indicate significant difference among treatments for the same element ($P<0.05$).

表 2 新叶各处理元素含量与对照相应元素含量的比值
Table 2 The ratio of the element concentration of each treatment to the corresponding element concentration of the control in the new leaves

元素 Element	CK	-N	-P	-K	-Ca	-Mg
N	1 a	0.47 c	1 a	0.92 ab	0.86 b	0.96 a
P	1 bc	1.08 b	0.44 e	0.82 d	1.20 a	0.93 c
K	1 b	1.07 b	0.78 c	0.24 d	1.06 b	1.19 a
Ca	1 a	0.86 b	0.75 c	0.96 a	0.73 c	0.80 bc
Mg	1 bc	1.11 ab	0.93 c	0.78 d	1.19 a	0.39 e
B	1 c	1.55 a	1.26 b	0.97 c	1.20 b	1.20 b
Mn	1 bc	1.51 a	1.04 b	0.83 d	0.87 cd	0.89 bcd
Fe	1 a	0.86 b	0.88 b	0.84 b	0.85 b	1.03 a
Cu	1 a	0.43 e	0.62 d	0.93 ab	0.82 c	0.86 bc
Zn	1 a	1.04 a	0.98 a	1.04 a	0.78 b	0.84 b
Mo	1 a	0.75 b	0.84 b	1.08 a	0.79 b	0.84 b

注: 同行数据后不同小写字母代表同一元素不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Values followed by different small letters in a row indicate significant difference among treatments for the same element ($P<0.05$).

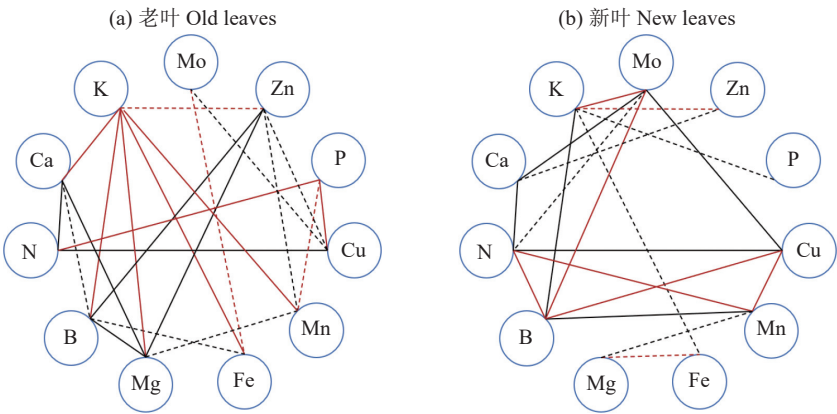


图 3 叶中必需矿质元素的离子相关性网络
Fig. 3 Ion correlation network of the essential mineral elements in the leaves

注: 黑色表示正相关, 红色表示负相关, 虚线表示在 0.05 水平相关, 实线表示在 0.01 水平相关。
Note: Black indicates positive correlation, red indicates negative correlation, dotted line indicates correlation at 0.05 level, solid line indicates correlation at 0.01 level.

行层级聚类 and 主成分分析, 聚类结果显示老叶和新叶被明显分成两个大类, 每个大类可分为若干个亚类, 可区别出氮、磷、钾、钙、镁缺乏等各处理 (图 5); 主成分分析结果也显示, 第一主成分 (PC1) 能够解释总体数据 55.4% 的变异, 明显将老叶和新叶区分开 (图 6a, b, c)。主成分载荷及元素聚类结果均显示, 必需矿质元素被分成了 3 组 (类), 组 I 包括 N、Cu, 组 II 包括 P、K、Mg、Mo, 组 III 包括

Ca、Mn、Fe、Zn、B (图 6d)。组 II 和组 III 的元素明显区分开老叶和新叶, 组 I 的元素 N 和 Cu 使缺氮的新叶明显区别于其他处理。
为进一步明确氮、磷、钾、钙、镁缺乏的离子组成差异, 分别对老叶和新叶必需矿质元素进行主成分分析。得分图显示无论老叶还是新叶, 都能明显区分开氮、磷、钾、钙、镁缺乏与对照等各处理; 老叶中第一主成分 (PC1) 能够解释总体数据

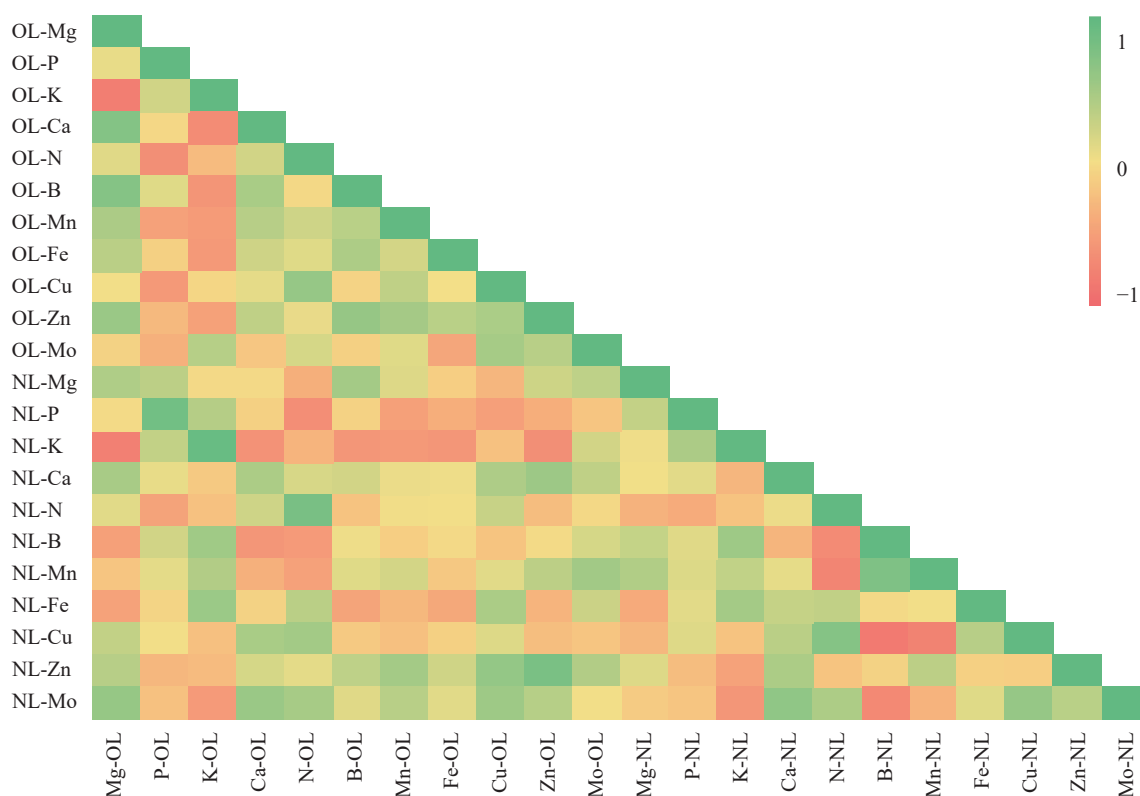


图4 必需矿质元素在老叶和新叶间的相关性

Fig. 4 Correlation of the essential mineral elements in old leaves versus new leaves

注：OL—老叶；NL—新叶。绿色为正相关，红色为负相关，颜色越深则表示相关性越强。

Note: OL—Old leaves; NL—New leaves. Green color represents positive correlation, red color represents negative correlation, and the darker the color, the stronger the correlation.

38.1% 的变异，非常明显将缺钾处理与其他处理区分开，缺钾对老叶 K、Mo、Fe、Mg 影响程度较大；新叶中 PC1 解释了总体数据 38.8% 的变异，非常明显将缺氮处理与其他处理区分开，缺氮对新叶 N、Cu、B、Mn 影响程度较大。上述结果表明，老叶和新叶必需矿质元素离子组成存在明显差异，且氮、磷、钾、钙、镁缺乏导致叶片离子组成出现差异性响应。

3 讨论

3.1 氮、磷、钾、钙、镁缺乏在短时间内对脐橙幼苗生长的影响程度存在差异

氮、磷、钾、钙、镁缺乏均显著抑制脐橙幼苗生长，对新叶影响较大而对老叶影响较小，可能与老叶是在缺素胁迫前就已发育成熟，而新叶是在胁迫处理之后才长出有关。从整株生物量积累来看，缺氮对脐橙幼苗生长发育的影响程度最大，其次是缺磷，然后是缺钾，这与鲁剑巍等^[15]的研究结果一致。氮是构成叶绿素和蛋白质等生物大分子的结构成分，缺氮严重影响叶绿素的生物合成^[18]。对温州蜜柑的研究表明，叶绿素含量与叶片氮含量呈显著正

相关关系^[19]。本试验中缺氮显著降低了老叶和新叶中的氮含量(表1和表2)，从而严重抑制叶绿素的合成(图2)，进而影响叶片的光合作用，导致干物质积累受到明显抑制(图1)。相较于其他缺素处理，缺镁对脐橙幼苗新叶及整株生物量影响最小，这与 Courbet 等^[20]在油菜和小麦上的研究结果一致，短时间镁胁迫对植株生物量影响较小，可能与缺镁导致新叶叶绿素的下降程度较小有关(图2)。以上结果说明，大量元素缺乏在短时间内对脐橙幼苗生长及叶绿素含量的影响程度存在差异，缺氮对脐橙幼苗生长及叶绿素含量的影响程度最大，这也支持了生产上在苗期管理时重视氮肥施用的观点。其他元素缺乏对脐橙幼苗干物重的影响程度虽然低于缺氮，但均影响了叶绿素的含量，最终也会较大程度上影响光合产物的形成。因此，脐橙苗期管理在重视氮肥的基础上注意各养分的平衡供应，这是建立丰产果园的基础。

3.2 氮、磷、钾、钙、镁缺乏改变了脐橙幼苗叶片的离子组成

聚类及主成分分析结果均表明，脐橙幼苗老叶

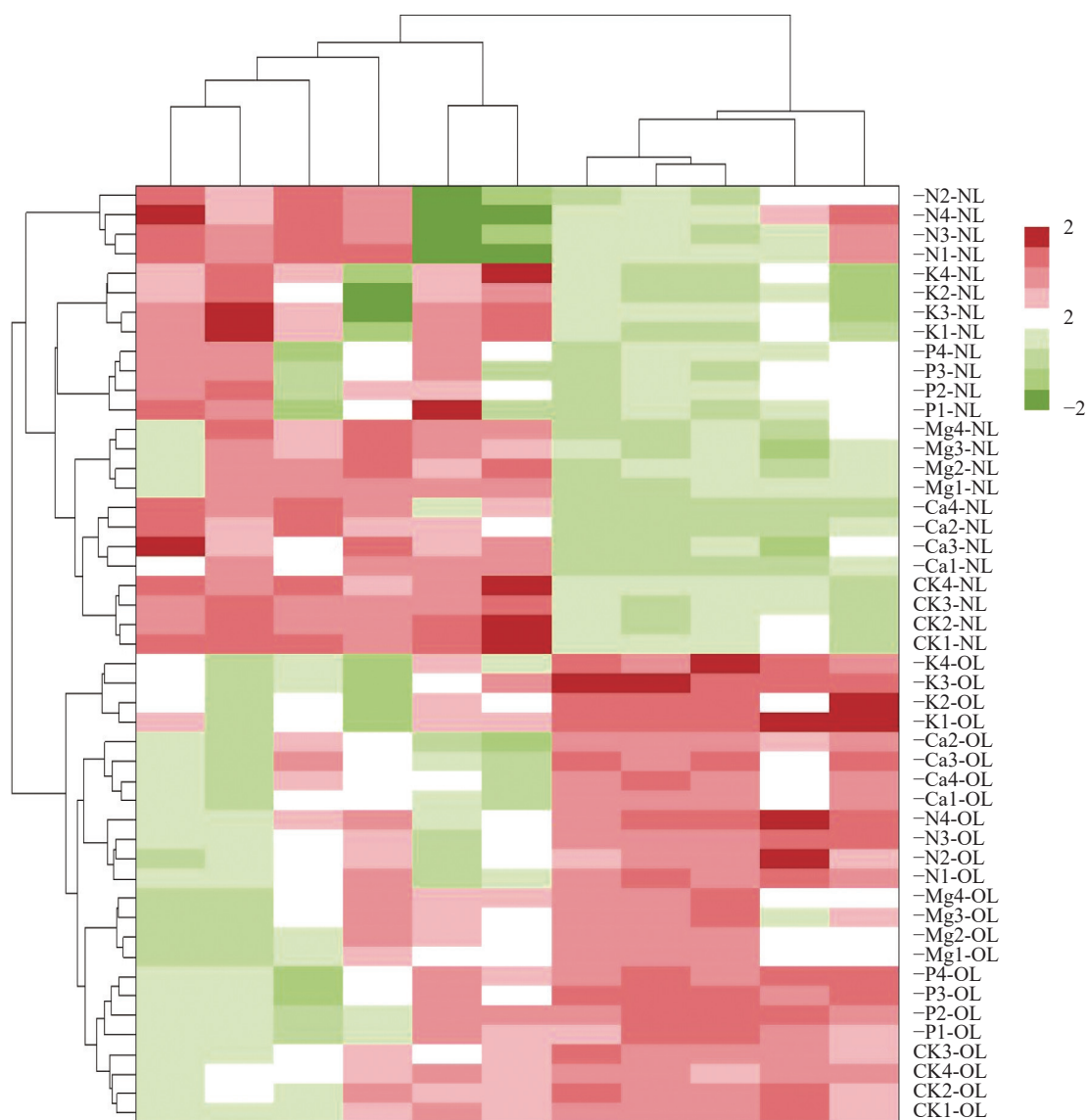


图 5 不同处理叶片必需矿质元素热图分析

Fig. 5 Heatmap analysis of the essential mineral elements in leaves under different treatments

注: CK—对照; -N—缺氮; -P—缺磷; -K—缺钾; -Ca—缺钙; -Mg—缺镁; OL—老叶; NL—新叶; 1~4 代表 4 个重复。
Note: CK—Control; -N—N deficiency; -P—P deficiency; -K—K deficiency; -Ca—Ca deficiency; -Mg—Mg deficiency; OL—Old leaves; NL—New leaves; 1-4 indicate four replicates.

和新叶必需矿质元素的离子组成存在明显差异。由于元素在植物体内的移动不同, 移动性强的元素在新叶中含量相对较高, 而移动性弱的元素在老叶中含量相对较高, 元素移动特性是导致老叶和新叶离子组成存在差异的主要原因^[21-22]。氮、磷、钾、钙、镁缺乏导致叶片离子组成出现差异性响应。缺钾对老叶离子组成影响较大, 使老叶 8 种元素含量与对照相比发生显著变化, Ca、Mg、B、Mn、Fe 和 Zn 含量增加, K 和 Mo 含量降低。由于钾在植物体内移动性较强, 缺钾后老叶中的钾被转移, 导致钾含量显著降低。而钾在植物体内具有维持电性平衡和渗

透调节的功能^[23], 因此缺钾导致老叶离子稳态发生较大变化。缺氮对新叶离子组成影响较大, 使新叶 N、Ca、Fe、Cu 和 Mo 含量降低, B 和 Mn 含量增加, 原因可能在于缺氮植株在胁迫处理 7 周以后, 叶片黄化且不再抽出新梢, 新叶生长受到明显抑制, 导致新叶离子稳态发生较大变化。当然, 换一个角度来看, 也有可能存在这种情况, 即缺氮对新叶离子组成影响较大, 从而严重影响了新叶的生长发育, 导致缺氮对新叶生物量影响最大, 但是具体内在调控机制尚需深入研究。此外, 还发现缺钙时 Ca 含量在新叶中降低, 老叶中没有变化, 而 N、

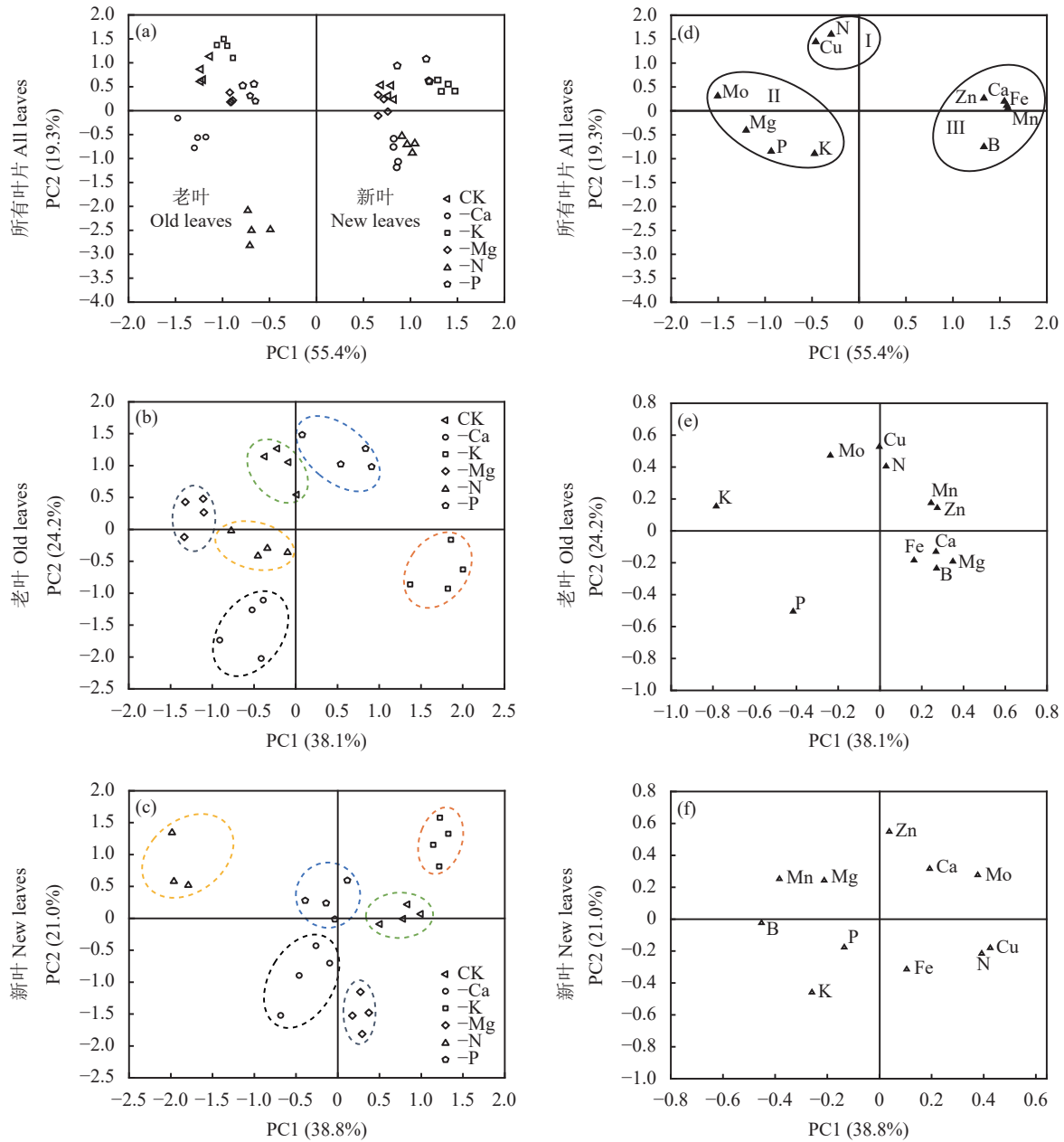


图 6 不同处理叶片必需矿质元素主成分分析得分图 (a~c) 与载荷图 (d~f)

Fig. 6 The score plot (a~c) and loading plot (d~f) from principal component analysis of the essential mineral elements in leaves under different treatments

注: (a)、(b) 和 (c) 分别为全部叶片、老叶和新叶得分图, (d)、(e)、(f) 分别为全部叶片、老叶和新叶载荷图。

Note: (a), (b) and (c) are the score plots of all, old and new leaves, and (d), (e) and (f) are the loading plots of all, old and new leaves.

Cu、Zn、Mo 含量在老叶和新叶中均降低; 缺氮处理老叶和新叶 N、Ca、Cu、Mo 含量也均降低。上述结果表明 N 和 Ca 之间关系紧密, 氮和钙缺乏均会导致脐橙叶片 N、Cu 和 Mo 含量的降低, 说明 N 和 Ca 之间可能存在一定的协同作用^[24], 与元素间相关关系的分析结果一致 (图 3)。缺镁导致老叶和新叶中 Ca、Mg、Zn、Mo 含量均降低, 但 K 含量在老叶和新叶中均增加; 缺磷不仅使脐橙幼苗新叶和老叶

中 P 含量降低, 也使 K 和 Mo 的含量显著降低。综上, 某一元素缺乏时不仅导致该元素在叶片中的含量降低, 也会导致其他元素含量发生明显变化。因此在进行叶片营养诊断时发现某一元素含量低, 可能是因为缺乏该元素, 也可能是由于其他元素缺乏而引起的该元素含量降低, 所以在对植物进行叶片营养诊断时需考虑上述原因, 在必要时进行离子组成整体分析, 这在实践中对柑橘缺素营养诊断及平

衡施肥具有一定的指导意义。

3.3 氮、磷、钾、钙、镁缺乏后叶片必需矿质元素间的互作关系

从元素含量来看, 缺氮和缺钙处理均使老叶和新叶 N、Cu 含量同时降低; 从聚类分析和主成分分析结果来看, N 和 Cu 被聚类在一起; 从相关性来看 N-Cu 呈极显著正相关 (图 3), 说明脐橙幼苗叶片中 N-Cu 存在较强的协同作用。由于 Cu 与有机分子有强烈配位作用, 而木质部汁液中含有适量的含氮有机物可与 Cu^{2+} 配位, 降低了 Cu^{2+} 被导管细胞壁的吸附, 因此含氮有机物促进了 Cu 向上运输^[25]。在番茄^[26]、拟南芥^[27]、桤柑^[16]、烟草^[28]上也发现 N 与 Cu 在叶片中的浓度密切相关。Ca 与 P 之间的拮抗作用在番茄^[29]和水稻^[30]上已被证实, 本试验缺钙时老叶和新叶 P 含量均增加; 但是缺磷处理中 Ca 含量反而降低, 推测 Ca 与 P 之间的拮抗作用并不是双向的。缺磷处理 K 含量降低, 与玉米^[31]和水稻^[32]中的研究结果一致, 即低磷处理使植株对 K 的吸收量减少。缺钾处理老叶 Mg 含量增加, 新叶 Mg 含量降低; 而缺镁处理老叶和新叶 K 含量均增加, 同时 K 与 Mg 之间的拮抗作用被较多研究证实^[33]。本结果表明 K 与 Mg 之间的拮抗作用不是双向的, 缺镁促进 K 元素吸收, 而缺钾则可能抑制 Mg 的转运。前人研究发现 Ca 与 Mg 存在拮抗关系^[34], 与本研究缺钙使新叶 Mg 含量增加的结果一致。Ca 与 N 之间的协同作用在较多研究中也已被证实, 与本试验缺氮处理 Ca 含量降低, 缺钙处理 N 含量降低结果一致。综上, 脐橙幼苗叶片不同元素之间存在不同的互作关系, 不同的元素缺乏导致离子组成出现差异性响应。因此, 在进行基于离子组水平的叶片营养诊断时, 也需考虑叶龄以及元素间的互作关系。

4 结论

氮、磷、钾、钙、镁缺乏均导致脐橙叶片叶绿素含量降低, 植株生长受到抑制, 生物量减少, 其中以缺氮处理影响最为显著。脐橙幼苗各处理老叶和新叶离子组成差异明显, Ca、Mn、Fe、Zn、B 在老叶中含量相对较高, 而 P、K、Mg、Mo 在新叶中含量相对较高, 缺钾对老叶必需矿质元素离子组成影响相对较大, 而缺氮对新叶离子组成影响相对较大。氮、磷、钾、钙、镁缺乏改变了脐橙幼苗叶片必需矿质元素的离子组成, 可能引起新叶元素间的关系更为复杂。

参考文献:

- [1] 刘桂东, 姜存仓, 王运华, 等. 柑橘对不同矿质营养元素效应的研究进展[J]. 土壤通报, 2010, 41(6): 1518–1523.
Liu G D, Jiang C C, Wang Y H, *et al.* A review on effects of mineral nutrients on citrus[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2010, 41(6): 1518–1523.
- [2] Alva A K, Paramasivam S, Obreza T A, *et al.* Nitrogen best management practice for citrus trees: I. Fruit yield, quality, and leaf nutritional status[J]. *Scientia Horticulturae*, 2006, 107(3): 233–244.
- [3] Baxter I R, Vitek O, Lahner B, *et al.* The leaf ionome as a multivariable system to detect a plant's physiological status[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(33): 12081–12086.
- [4] 周高峰, 李碧娴, 付燕玲, 等. ‘南丰蜜橘’ 缺铁、锰、锌的症状及其光合特性和营养状况研究[J]. *园艺学报*, 2019, 46(4): 691–700.
Zhou G F, Li B X, Fu Y L, *et al.* Effects of iron, manganese and zinc deficiency on the symptom, photosynthetic characteristics and nutrient status of ‘Nanfeng’ Tangerine[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, 46(4): 691–700.
- [5] Baxter I. Ionomics: The functional genomics of elements[J]. *Briefings in Functional Genomics*, 2010, 9(2): 149–156.
- [6] Pii Y, Cesco S, Mimmo T. Shoot ionome to predict the synergism and antagonism between nutrients as affected by substrate and physiological status[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 94: 48–56.
- [7] 廖欢, 侯振安. 盐碱胁迫对不同棉花品种生长及离子组含量分布的影响[J]. *新疆农业科学*, 2020, 57(2): 219–232.
Liao H, Hou Z A. Effects of saline-alkali stress on growth and ion group content distribution of different cotton varieties[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2020, 57(2): 219–232.
- [8] Zhang Y F, Wang Y, Ding Z T, *et al.* Zinc stress affects ionome and metabolome in tea plants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 111: 318–328.
- [9] 刘佳. 甘蓝型油菜硼营养及离子组遗传学研究[D]. 湖北武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2009.
Liu J. Genetic analysis of boron nutrition and ionome in *Brassica napus*[D]. Wuhan, Hubei: PhD Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2009.
- [10] 陈彬, 胡萍, 刘桂东, 等. 高硼胁迫对组荷尔脐橙幼苗离子组的影响[J]. *肥料与健康*, 2020, 47(4): 8–13.
Chen B, Hu P, Liu G D, *et al.* Effect of high boron stress on ionome of newhall navel orange seedlings[J]. *Fertilizer and Health*, 2020, 47(4): 8–13.
- [11] 汪威. 甘蓝型油菜磷高效QTL qPRL-C06的定位及离子组对低磷胁迫的响应[D]. 湖北武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2021.
Wang W. Genetic mapping of QTL qPRL-C06 for phosphorus efficiency and response of ionome to phosphorus deficiency in *Brassica napus*[D]. Wuhan, Hubei: PhD Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2021.
- [12] Du F, Liu P, Wang K, *et al.* Ionomics responses of rice plants to the stresses of different arsenic species in hydroponics[J]. *Chemosphere*, 2020, 243: 125398.
- [13] 唐铎腾, 周荣, 张胜. 雌雄青杨幼苗对磷缺乏差异响应的离子组学

- 研究[J]. 山地学报, 2017, 35(5): 669–676.
- Tang D T, Zhou R, Zhang S. Ionomie study on *Populus cathayana* males and females responding to phosphorus deficiency[J]. Mountain Research, 2017, 35(5): 669–676.
- [14] Williams L, Salt D E. The plant ionome coming into focus[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(3): 247–249.
- [15] 鲁剑巍, 陈防, 王运华, 等. 氮磷钾肥对红壤地区幼龄柑橘生长发育和果实产量及品质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(4): 413–418.
- Lu J W, Chen F, Wang Y H, *et al.* Effect of N, P, K fertilization on young citrus tree growth, fruit yield and quality in area of red soil[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2004, 10(4): 413–418.
- [16] 李菲菲, 黄成能, 谢深喜, 等. 施氮过量对椴柑园土壤和树体矿质养分及果实品质的影响[J]. 南方农业学报, 2018, 49(4): 748–756.
- Li F F, Huang C N, Xie S X, *et al.* Effect of excessive nitrogen application on orchard soil and tree mineral nutrients and fruit quality of ponkan[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(4): 748–756.
- [17] Hoagland D R, Arnon D I. The water culture method for growing plants without soil[J]. California Agricultural Experiment Station Circular, 1950, 347(2): 32.
- [18] Bondada B R, Syvertsen J P. Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status [J]. *Tree Physiology*, 2003, 23(8): 553–559.
- [19] 曾伟男, 谭启玲, 胡承孝, 等. 不同氮水平对温州蜜柑产量、叶绿素及碳氮代谢物的影响[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(3): 539–542.
- Zeng W N, Tan Q L, Hu C X, *et al.* Effects of different nitrogen levels on production, chlorophyll, carbon and nitrogen metabolites of satsuma mandarin[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, 54(3): 539–542.
- [20] Courbet G, D'Orsi A, Lornac A, *et al.* Specificity and plasticity of the functional ionome of *Brassica napus* and *Triticum aestivum* subjected to macronutrient deprivation[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 641648.
- [21] 刘桂东, 胡萍, 曾钰, 等. 脐橙叶片矿质营养元素含量的分区分布特征[J]. 园艺学报, 2019, 46(1): 47–56.
- Liu G D, Hu P, Zeng Y, *et al.* Mineral nutrients distribution in leaf different parts in navel orange plant[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, 46(1): 47–56.
- [22] 张绩, 李俊杰, 万连杰, 等. 施钾水平对纽荷尔脐橙养分、产量和品质的影响[J]. 中国农业科学, 2020, 53(20): 4271–4286.
- Zhang J, Li J J, Wan L J, *et al.* Effects of potassium application levels on nutrient, yield and quality of Newhall navel orange[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(20): 4271–4286.
- [23] Trubart R, Cortin A J, Vilagrosa A. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.) [J]. *Trees*, 2006, 20(3): 334–339.
- [24] 李中勇, 张媛, 韩龙慧, 徐继忠. 氮钙互作对设施栽培油桃叶片光合特性及叶绿素荧光参数的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(4): 893–900.
- Li Z Y, Zhang Y, Han L H, Xu J Z. Effects of nitrogen and calcium interaction on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of nectarine leaves in facility cultivation[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2013, 19(4): 893–900.
- [25] Liao M T, Hedley M J, Woolley D J, *et al.* Copper uptake and translocation in chicory (*Cichorium intybus* L. cv Grasslands Puna) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv Rondo) plants grown in NFT system. II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport[J]. *Plant and Soil*, 2000, 223(1–2): 245–254.
- [26] Pich A, Scholz G. Translocation of copper and other micronutrients in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.): Nicotianamine-stimulated copper transport in the xylem[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1996, 47(1): 41–47.
- [27] Murphy A S, Eisinger W R, Shaff J E, *et al.* Early copper-induced leakage of K^+ from arabidopsis seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux[J]. *Plant Physiology*, 1999, 121(4): 1375–1382.
- [28] Takahashi M, Terada Y, Nakai I, *et al.* Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development [J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(6): 1263–1280.
- [29] 陈明昌, 许仙菊, 张强, 等. 磷、钾与钙配合对保护地番茄钙吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(2): 236–242.
- Chen M C, Xu X J, Zhang Q, *et al.* Effects of the phosphorus, potassium cooperated with calcium on Ca absorption of tomato in greenhouse[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2005, 11(2): 236–242.
- [30] 赵宁春, 张其芳, 程方民, 等. 氮、磷、锌营养对水稻籽粒植酸含量的影响及与几种矿质元素间的相关性[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(2): 185–190.
- Zhao N C, Zhang Q F, Cheng F M, *et al.* Effects of nitrogen, phosphorus and zinc supply levels on grain phytic acid content and its correlation with several mineral nutrients in rice grains[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2007, 21(2): 185–190.
- [31] 李绍长. 玉米不同基因型的磷效率差异及其机理研究[D]. 山东泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2003.
- Li S C. Studies on the phosphorus efficiency and mechanism of its discrepancy among maize (*Zea mays* L.) genotypes[D]. Taian, Shandong: PhD Dissertation of Shandong Agricultural University. 2003.
- [32] 郭再华, 贺立源, 徐才国. 磷水平对不同耐低磷水稻苗根系生长及氮、磷、钾吸收的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(4): 449–452.
- Guo Z H, He L Y, Xu C G. Effect of phosphorus level on root growth and N, P, K uptake of rice with different P efficiencies at seedlings stage[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006, 12(4): 449–452.
- [33] Ding Y C, Chang C R, Luo W, *et al.* High potassium aggravates the oxidative stress induced by magnesium deficiency in rice leaves[J]. *Pedosphere*, 2008, 18(3): 316–327.
- [34] Zharare G E, Asher C J, Blamey F P C. Magnesium antagonizes pod-zone calcium and zinc uptake by developing peanut pods[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2010, 34(1): 1–11.