

纽荷尔脐橙微量元素缺乏症状及其叶片光合日变化特性

周高峰, 李碧娴, 林华珍, 管冠, 刘桂东*, 姚锋先, 钟八莲

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

摘要:【目的】研究纽荷尔脐橙主要微量元素缺乏的典型症状, 缺乏初期和后期的症状差异, 以及早期缺乏光合日变化的特性, 为快速营养诊断和有效消除缺素影响提供依据。【方法】以 2016 年 4 月嫁接的 1 年生枳砧 [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf] 纽荷尔脐橙 [*Citrus sinensis* (L.) Osb. CV. Newhall] 幼苗为材料, 进行了盆栽砂培试验。对照 (CK) 营养液为 1/2 Hoagland 营养液和全剂量 Arnon 营养液; 缺铁 (-Fe)、缺锰 (-Mn)、缺硼 (-B)、缺锌 (-Zn) 和缺铜 (-Cu) 处理为 1/2 Hoagland 营养液中分别不添加 Fe-EDTA、MnCl₂、H₃BO₃、ZnSO₄、CuSO₄。于培养 1 个月植株开始抽新梢时进行缺素处理, 连续处理 6 个月时 (初期), 观测新叶缺素症状, 并测定光合日变化规律; 之后再保留一次抽梢, 到 10 个月时 (后期), 观测次级新叶养分缺乏症状。【结果】缺 Fe 初期新叶呈黄绿色, 叶脉保持绿色, 呈细网状叶脉; 后期新叶完全失绿呈白色或淡黄色, 叶脉也呈白色。缺 Mn 初期新叶脉间现不规则浅色条带, 后期新叶呈黄色或灰白色, 叶脉间现不透明褐色斑点。缺 B 初期老叶叶脉轻微突起, 后期老叶叶脉严重爆裂同时伴有脉间轻微黄化, 新叶显著增厚变硬, 新芽簇生。缺 Zn 初期新叶呈现斑驳黄化, 后期新叶严重变窄变小, 甚至出现畸形症状。缺 Cu 初期新叶凹凸不平, 后期叶脉弯曲成弓状, 叶色变淡, 枝条细长而扭曲下垂。与对照相比, 总叶绿素含量则只在缺 Fe、缺 Mn 和缺 Zn 处理的新叶中显著下降, 且下降幅度为缺 Fe > 缺 Mn > 缺 Zn, 分别下降了 74.7%、31.9% 和 14.8%; 净光合速率 (P_n) 日峰值和日均值在缺 Fe、缺 Mn 和缺 Zn 处理的新叶和缺 B 处理的老叶中显著下降, 且缺 Zn 处理推迟了其在处理的新叶中出现峰值的时间; 蒸腾速率 (T) 日变化在缺 Fe 处理的新叶中其峰值被延后, 日均值则仅在缺 Fe 处理的新叶和缺 B 处理的老叶中显著下降, 降幅分别为 24.6% 和 41.6%; 胞间二氧化碳浓度 (C_i) 日变化受影响最显著的分别是缺 Fe 处理的新叶和缺 B 处理的老叶, 其他处理与对照比较差异不显著; 缺 Zn 新叶和缺 Mn、缺 B 老叶的气孔导度 (G_s) 日变化趋势被改变, 前者由双峰变单峰, 后者则相反。【结论】脐橙幼苗叶片在微量元素缺乏初期和后期的症状上存在较大差异; 缺 Fe、缺 Mn 和缺 Zn 处理改变了新叶和缺 B 处理改变了老叶的光合日变化趋势。

关键词: 脐橙; 微量元素缺乏症状; 光合日变化

Symptoms of micronutrient deficiency and diurnal changes of photosynthesis of 'Newhall' navel orange leaves

ZHOU Gao-feng, LI Bi-xian, LIN Hua-zhen, GUAN Guan, LIU Gui-dong*, YAO Feng-xian, ZHONG Ba-lian
(National Navel Orange Engineering Research Center, College of Life Sciences,
Gannan Normal University, Jiangxi 341000, China)

Abstract: 【Objectives】The study investigated the symptoms of micronutrients deficiency of navel orange [*Citrus sinensis* (L.) Osb. CV. Newhall] in early and later stages. The diurnal change of photosynthesis of leaves was also determined in the early stage of micronutrients deficiency, which would help understanding the symptom of deficiency. 【Methods】A sand culture pot experiment was conducted using the rootstock of trifoliolate orange *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. as the tested material. For the complete nutrition control, the nutrition solution was composed of 1/2 Hoagland nutrition solution and whole Arnon solution. For the treatments of -Fe, -Mn, -B, -Zn, and -Cu, the components of Fe-EDTA, MnCl₂, H₃BO₃, ZnSO₄ and CuSO₄ were removed off from the

收稿日期: 2018-11-03 接受日期: 2019-03-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960573, 31701871); 江西省重点研发计划项目 (20161BBF60069)。

联系方式: 周高峰 E-mail: zhougao428@163.com; * 通信作者 刘桂东 E-mail: lgd@gnnu.cn

Hoagland nutrition solution, respectively. Starting from the emergence of sprout of new branches, the navel orange seedlings were continuously treated for 6 months in nutrient deficient solution, and the early deficiency symptoms were observed. After another 4 months' treatment (a total of 10 months of growth period), the late deficient symptoms were observed. The chlorophyll contents and diurnal change of photosynthetic characteristic were measured during the observation of deficiency. **【 Results 】** At the 6th month, the new leaves under Fe deficiency treatment were yellowish green with green reticulated veins; at 10th month, the old leaves were pale yellow and veins were also white. The new leaves suffering from Mn deficiency had irregular light colored band, but the old leaves were yellow or gray white, with opaque brown spots in interveinals. For B deficiency, the veins of old leaves slightly protruded, and the new leaves were significantly thickened and hardened and the new buds were clustered; at the 10th month, corky split veins and slight yellowing were observed in the old leaves. For -Zn treatment, the new leaves were mottled at the 6 months, and became narrower, smaller and even malformed at the 10 month. At the 6 month of -Cu treatment, the new leaves were uneven, and at the 10th month, the new leaves were bent into shape of bow and the branches were slender and twisted. The total chlorophyll contents in new leaves under -Fe, -Mn and -Zn treatments were all decreased significantly, and the decline was in the order of -Fe > -Mn > -Zn, with decrement of 74.7%, 31.9% and 14.8%, respectively. The diurnal change of net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r), intercellular CO_2 concentration (C_i) and stomatal conductance (G_s) were significantly affected in the new leaves under -Fe and -Zn treatments and in the old leaves of -B treatment. **【 Conclusions 】** The symptoms of microelements (Fe, Mn, B, Zn and Cu) deficiency of 'Newhall' navel orange seedlings leaves were different in the early and late stages; the Fe, Mn and Zn deficiency changed the diurnal change of photosynthesis of new leaves and old leaves.

Key words: navel orange; micronutrient-deficiency symptom; diurnal change of photosynthesis

我国是世界重要的柑橘生产国之一, 其中脐橙在国内外柑橘生产中占有重要地位。我国脐橙主要集中在赣南—湘南—桂北一线以及长江三峡等地区, 这些地区地理和土壤条件一般较差, 甚至存在显著的缺素现象^[1-5]。柑橘微量元素缺乏通常发生在新开垦或土层较浅的脐橙园, 尤其是砂壤土和碱性土壤柑橘园^[6-7]。对柑橘微量元素缺乏的研究较多, 尤其是关于 Fe、B、Zn 等缺乏的研究^[8-10]。如目前种植面积和产量均居全国第一的赣南脐橙产区^[11-12], 其主栽的纽荷尔脐橙长期受到土壤缺 B 的影响, 缺 B 比例高达 87.1%^[4]。王男麒等^[13]对赣南地区 223 个代表性柑橘园进行背景土壤分析发现, 26.0% 背景土壤出现缺 Cu 现象。另外, 范玉兰等^[9]对 1405 个赣南脐橙园土壤样本进行有效 Cu 含量分布特征研究发现, 极缺和缺乏的脐橙园样本数为 331 个, 占样本总数的 23.6%。从叶片诊断角度, 凌丽俐等^[3]对赣南地区的 9 个县(市、区)121 个脐橙园的脐橙叶片微量元素进行了分析, 结果表明, 有 95.0% 的脐橙叶片 Zn 含量处于低量或缺乏水平; 赣县和会昌县脐橙园叶片 Cu 含量主要处于低量水平, 分别占 55.6% 和 100.0%; 信丰县脐橙果园则表现为叶片 Mn 缺乏, Mn 含量处于低量水平的县(市、区)还有南康市、章

贡区、大余县和会昌县。与其他果树一样, 纽荷尔脐橙叶片的光合能力是产量和品质形成的基础, 其干物质的 90% 以上来自于叶片的光合产物^[14]。而微量元素能直接或间接地参与光合作用, 其缺乏对叶片的光合特性会产生显著影响^[15]。其影响通常比叶面症状更早, 因此可以作为微量元素缺乏早期诊断的依据之一。

本研究以赣南脐橙主栽品种纽荷尔脐橙为试材, 通过砂培盆栽缺素试验, 研究目前在脐橙生产上常见的缺 Fe、Mn、B、Zn 和 Cu 现象。首先, 通过观察记录缺 Fe、Mn、B、Zn 和 Cu 在不同处理时间和植株不同部位的症状, 进一步明确纽荷尔脐橙缺素在不同阶段的症状。其次, 通过研究缺 Fe、Mn、B、Zn 和 Cu 条件下的光合特性, 找到早期缺素的特征曲线。通过以上两方面的工作, 以期为田间缺素症状的早期诊断提供理论和试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

试验于 2016 年 11 月至翌年 9 月在国家脐橙工程技术研究中心基地温室进行。以 2016 年 4 月嫁接

的 1 年生枳 [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] 砧纽荷尔脐橙 [*Citrus sinensis* (L.) Osb. CV. Newhall] 幼苗为材料。

选取生长在相同育苗基质中相对一致的纽荷尔脐橙幼苗, 每株小苗保留 1 个抽梢, 将该梢的叶片定义为老叶, 同时对植株根系进行重剪 (促进植株多发须根^[6])。然后, 用自来水清洗苗木除去根表面的污渍, 将植株移栽至装有 8 L 左右石英砂和珍珠岩 1 : 1 (v : v) 的黑色塑料盆中, 每盆一棵。用略有修改的 Hoagland No.2 营养液^[7]浇灌。营养液的配方如下: 6 mmol/L KNO_3 、4 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、1 mmol/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、2 mmol/L MgSO_4 、25 $\mu\text{mol/L}$ H_3BO_3 、9 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 、0.8 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 、0.3 $\mu\text{mol/L}$ CuSO_4 、0.01 $\mu\text{mol/L}$ H_2MoO_4 和 50 $\mu\text{mol/L}$ Fe-EDTA。大棚的温度控制在 22℃~28℃, 相对湿度为 50%~75%。每 2 天浇灌 1 次营养液, 每次均浇透, 即营养液有约 500 mL 从盆底流出。

试验设置 5 个处理和 1 个对照。对照 (CK), 1/2 剂量 Hoagland 和全剂量 Arnon 营养液栽培; 缺铁 (-Fe), 不添加 Fe-EDTA 的 1/2 剂量 Hoagland 和全剂量 Arnon 营养液栽培, 下同; 缺锰 (-Mn), 不添加 MnCl_2 , 添加相同浓度的 KCl; 缺硼 (-B), 不添加 H_3BO_3 ; 缺锌 (-Zn), 不添加 ZnSO_4 ; 缺铜 (-Cu), 不添加 CuSO_4 。每组重复 5 株。培养到 1 个月左右的时候植株开始抽新梢, 待新梢长势稳定后每株植株保留 2 个新梢, 将新梢的叶片定义为新叶; 处理 6 个月后再保留一次抽梢, 其叶定义为次级新叶。试验持续 10 个月。为了防止盐分在基质中累积, 每周用 10 L 去离子水浇灌植株, 而后用 3 L 营养液浇灌, 确保有过量溶液从盆底淋出^[8]。

1.2 测定方法

利用佳能 (Canon)EOS 6D (W) 数码单反相机, 对不同处理的纽荷尔脐橙症状叶片进行拍摄记录。处理 6 个月后, 选取各处理有症状的纽荷尔脐橙老叶和新叶各 6 片进行叶绿素含量的测定, 具体参考 Zhou 等^[9]的方法进行。

采用美国 LI-COR 公司生产的 LI-6400XT 便携式光合测定系统, 于 2017 年 4 月 22 日进行光合测定, 当天晴朗无云, 日出时间为 5:50:37, 日落时间为 18:46:56, 日照时长为 12 小时 56 分钟 16 秒。测量时间从 7:00 到 18:30, 每 1.5 或 2 小时测定 1 次。光合有效辐射 (PAR)、大气温度 (T_{air})、田间二氧化碳浓度 (C_a)、相对湿度 (RH)、净光合速率 (P_n)、蒸腾速率 (T_r)、胞间二氧化碳浓度 (C_i) 及气孔导度 (G_s) 等

参数由光合仪同步测定并记录, 所测定的叶片每株选取老叶 6 片, 新叶 6 片, 每个处理测定 4 株, 待 LI-6400XT 系统稳定之后, 每片叶读取 5 个瞬时各参数值, 取平均值。

1.3 统计分析

除非特别说明, 图表中的数据代表 4 株单独植株 (重复) 的平均值。采用统计学软件 SPSS 22.0 对所得数据进行环境因子之间相关性分析, 得到皮尔森相关系数, 并进行显著性检验。所有数据采用 SAS 软件进行分析, 运用 ANOVA 和 DONCAN 程序进行不同处理之间的差异显著性分析 (SAS 8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), 显著水平为 $P < 0.05$ 。所有数据使用 Sigmaplot 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 纽荷尔脐橙不同微量元素缺乏的症状

以枳砧纽荷尔脐橙为材料进行不同微量元素缺乏处理, 分别观察其在处理 6 个月和 10 个月后的地上部症状。如图 1 所示, 缺铁 (-Fe)6 个月后纽荷尔脐橙初级新叶先显症状, 叶片呈黄绿色, 叶脉保持绿色, 呈细网状叶脉; 10 个月后次级新叶完全失绿呈白色或淡黄色, 叶脉也呈白色。缺锰 (-Mn) 同样在初级新叶先显症状, 叶淡绿呈细小网纹, 脉间浅绿, 在主脉和侧脉间现不规则浅色条带; 10 个月时次级新叶呈黄色或灰白色, 叶脉间现不透明褐色斑点, 并停止生长。缺硼 (-B) 则是老叶先显症状, 处理 6 个月时老叶不黄化, 叶脉 (主脉和侧脉) 轻微突起, 触摸感较强; 10 个月后老叶叶脉严重爆裂同时伴有脉间轻微黄化, 初级新叶叶片显著增厚变硬, 初级新梢茎尖新芽簇生, 但均不能抽生次级新梢, 植株停止生长。缺锌 (-Zn) 处理 6 个月时初级新叶先显症状, 呈现斑驳黄化; 10 个月后次级新叶簇生、叶片严重变窄变小, 有的叶片甚至出现畸形症状。缺铜 (-Cu) 纽荷尔脐橙 6 个月后, 初级新叶先显轻微症状, 叶色深绿, 叶面凹凸不平; -Cu 处理 10 个月后次级新叶叶脉弯曲成弓状, 叶色变淡, 枝条细长而柔软, 扭曲下垂, 顶端易枯死。

2.2 不同微量元素缺乏处理对纽荷尔脐橙叶片光合色素含量的影响

如图 1-(I) 所示, 不同微量元素缺乏 6 个月, 纽荷尔脐橙老叶或初级新叶出现不同程度的失绿, 光合色素含量测定结果表明: 与对照 (CK) 相比, 老叶中的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素及类胡萝卜素的含量均无显著差异 (图 2)。在初级新叶中,



图 1 缺素培养 6 个月 (I) 和 10 个月 (II) 后纽荷尔脐橙叶片微量元素缺乏症状

Fig. 1 Symptoms of 'Newhall' navel orange leaves after 6 months (I) and 10 months (II) of nutrient deficient treatment

-Fe、-Mn 和 -Zn 显著降低了其叶绿素 a 的含量，但 -B、-Cu 无显著影响；对于叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量则只是在 -Fe 的条件下显著下降；总叶绿素含量则只在 -Fe、-Mn 和 -Zn 处理时显著下降，且下降幅度为 -Fe > -Mn > -Zn 处理；类胡萝卜素的含量则在 -Zn 处理时最高，-Fe 处理则显著下降 (图 2)。

2.3 不同微量元素缺乏对纽荷尔脐橙叶片光合日变化的影响

2.3.1 环境因子日变化 由图 3 可知，光合有效辐射 (PAR) 日变化呈单峰曲线，9:00—15:00 PAR 值均在 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 以上，13:00 时出现最高峰，达到 $1607 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。大气温度 (T_{air}) 的变化趋势与 PAR 相似，也成单峰曲线，7:00 时最低，然后急剧上升，13:00 时达到最高温度 33.9°C ，之后降低。 T_{air} 与前一时间点的 PAR 之间 $r=0.892$ ，相关性达到显著 ($P < 0.05$) 水平 (表 1)。

7:00 时田间 CO_2 浓度 (C_a) 出现最高值为 $447 \mu\text{mol}/\text{mol}$ ，随后不断下降，在 18:30 时略有回升。相

对湿度 (RH) 7:00 后急剧下降，13:00 达到最低值为 29.8%，然后呈缓慢回升趋势。 C_a 和 RH 的变化趋势均呈倒钟型，二者相关性分析 $r=0.898$ ，达到极显著 ($P < 0.01$) 水平。 C_a 和 RH 与 T_{air} 的相关性极显著， r 值分别为 -0.876 和 -0.997 ($P < 0.01$) (表 1)。

因此，在 4 个与纽荷尔脐橙光合作用相关的环境因子中，PAR 为驱动因子，在其他因子的变化中起主导作用 (表 1)。

2.3.2 净光合速率 (P_n) 日变化 图 4 结果显示，在纽荷尔脐橙 CK 的新叶和老叶中， P_n 日变化的趋势均为单峰曲线，峰值出现在 9:00 时，为 10.6 和 $8.7 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。微量元素缺乏处理后，-B 处理显著改变了老叶的 P_n 日变化的趋势，另外推迟了 -Zn 处理峰值出现的时间。在新叶的峰值 (9:00) 时，-Fe、-Mn 和 -Zn 处理显著降低了 P_n 的峰值，虽然此时对 -B 和 -Cu 处理的 P_n 无显著影响，但在 11:00 时有显著下降。在老叶的峰值 (9:00) 时，-B 处理显著降低了 P_n 的峰值。

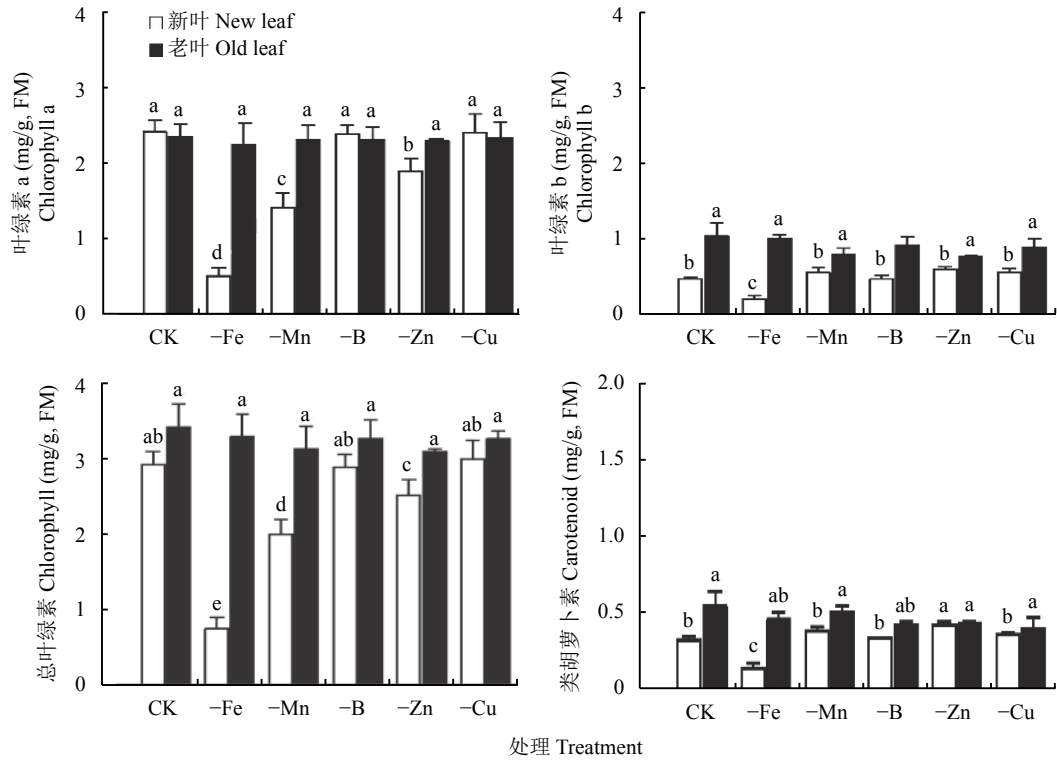


图 2 纽荷尔脐橙缺乏不同微量元素新、老叶片叶绿素及类胡萝卜素含量

Fig. 2 Chlorophylls and carotenoid contents in the new leaves and old leaves of 'Newhall' navel orange with micronutrients deficiencies

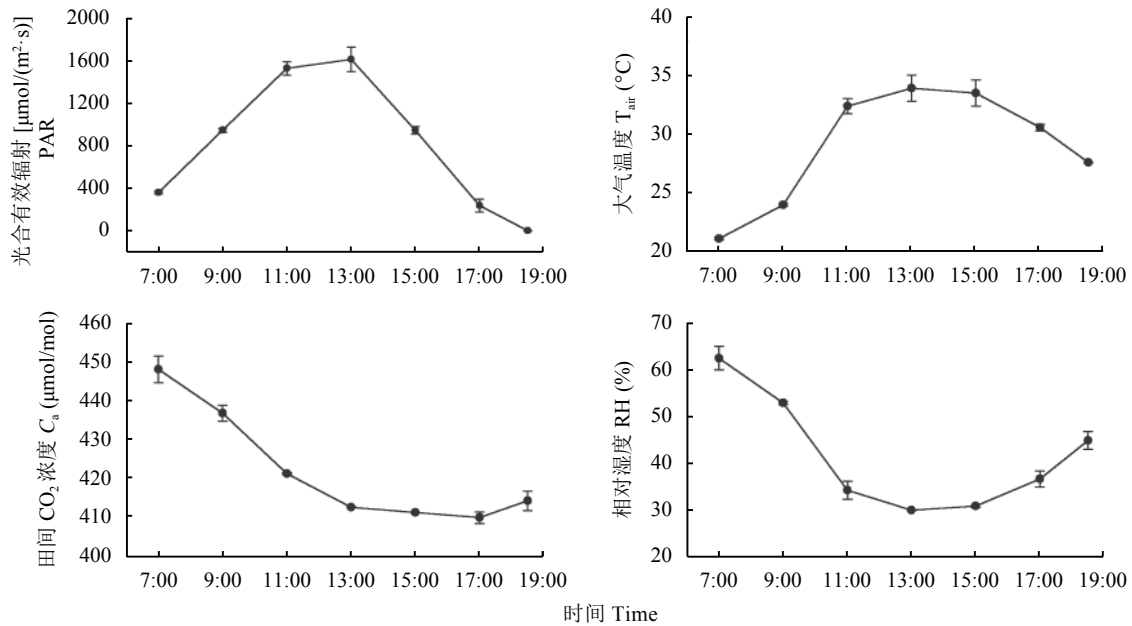


图 3 光合有效辐射、大气温度、田间二氧化碳浓度和相对湿度日变化

Fig. 3 Diurnal variation of photosynthetic active radiation (PAR), air temperature (T_{air}), field CO_2 concentration (C_a) and relative humidity (RH)

P_n 日均值结果显示, 与 CK 相比, -Fe、-Mn 和 -Zn 处理显著降低了新叶的 P_n 日均值, 降幅达 60.0%、24.5% 和 28.9%, 但对 -B 和 -Cu 处理新叶无

显著影响。在老叶中, 则是 -Fe 和 -B 处理显著降低了其 P_n 日均值, 降幅分别为 19.9% 和 85.9%, -B 处理纽荷尔脐橙老叶净光合速率已经接近停止 (表 2)。

表 1 环境因子之间相关分析
Table 1 Correlation analysis among environmental factors

因子 Factor	PAR [PAR'] [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	T_{air} ($^{\circ}\text{C}$)	C_a ($\mu\text{mol}/\text{mol}$)
大气温度 Air temperature (T_{air} , $^{\circ}\text{C}$)	0.538 ^{ns} [0.892*]		
田间 CO_2 浓度 Field CO_2 concentration (C_a , $\mu\text{mol}/\text{mol}$)	-0.109 ^{ns} [-0.552 ^{ns}]	-0.876**	
田间相对湿度 Air relative humidity (%)	-0.512 ^{ns} [-0.902*]	-0.997**	0.898**

注 (Note): PAR—光合有效辐射 Photosynthetic active radiation; PAR'—对应于 PAR 前一个数据采集的时间点的取值 PAR' is the PAR of previous data collecting time; *— $P < 0.05$; **— $P < 0.01$; ns—无显著性差异 Not significant difference.

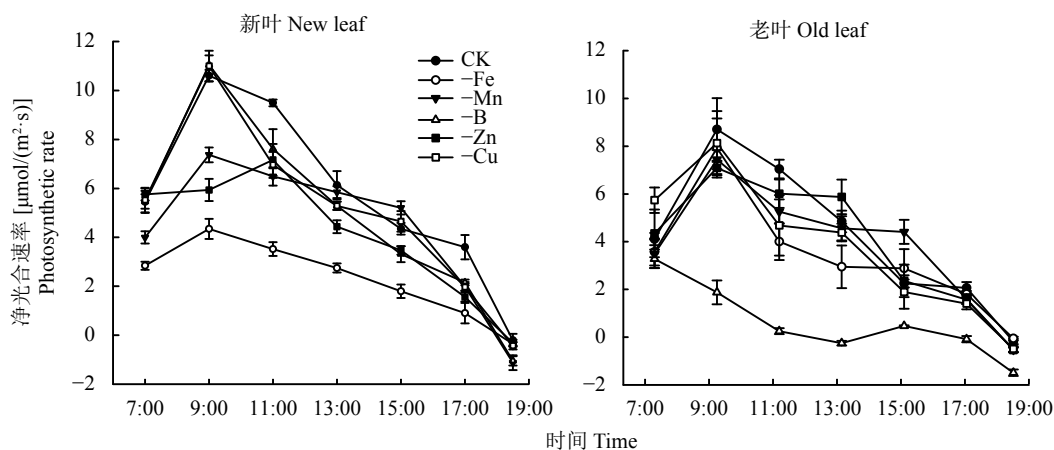


图 4 纽荷尔脐橙缺乏不同微量元素新、老叶片净光合速率 (P_n) 日变化

Fig. 4 Diurnal variation of net photosynthetic rate (P_n) in old leaves and new leaves of 'Newhall' navel orange with micronutrients deficiency

表 2 纽荷尔脐橙缺乏不同微量元素新、老叶片光合特性日均值比较

Table 2 Comparison of photosynthetic traits in new leaves and old leaves of 'Newhall' navel orange with micronutrients deficiency

处理 Treatment	叶片 Leaf	净光合速率 P_n [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	蒸腾速率 T_t [$\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	胞间 CO_2 浓度 C_i ($\mu\text{mol}/\text{mol}$)	气孔导度 G_s [$\text{H}_2\text{O mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]
CK	新 New	5.63 ± 1.38 a	1.26 ± 0.27 a	283 ± 28 b	70.9 ± 17.2 a
	老 Old	4.12 ± 1.16 A	0.89 ± 0.21 A	275 ± 29 B	57.4 ± 15.1 B
-Fe	新 New	2.25 ± 0.61 c	0.95 ± 0.19 b	336 ± 22 a	49.7 ± 10.3 b
	老 Old	3.30 ± 0.92 B	0.88 ± 0.21 A	273 ± 28 B	64.3 ± 18.9 A
-Mn	新 New	4.25 ± 1.12 b	1.29 ± 0.28 a	301 ± 27 ab	62.1 ± 12.8 ab
	老 Old	3.75 ± 0.98 AB	0.91 ± 0.21 A	274 ± 30 B	68.5 ± 17.3 A
-B	新 New	4.83 ± 1.47 ab	1.25 ± 0.31 a	296 ± 28 ab	63.3 ± 18.1 ab
	老 Old	0.58 ± 0.59 C	0.52 ± 0.08 B	372 ± 23 A	23.2 ± 5.3 C
-Zn	新 New	4.00 ± 1.00 b	1.09 ± 0.22 ab	303 ± 33 ab	55.5 ± 12.8 b
	老 Old	3.82 ± 1.05 AB	0.90 ± 0.21 A	269 ± 36 B	55.4 ± 16.2 B
-Cu	新 New	4.99 ± 1.37 ab	1.22 ± 0.23 a	316 ± 29 ab	75.2 ± 18.6 a
	老 Old	3.68 ± 1.11 AB	0.89 ± 0.21 A	302 ± 33 AB	52.3 ± 15.5 B

注 (Note): 同列数据后不同小写和大写字母分别代表新叶和老叶不同处理间光合特性日均值差异显著 ($P < 0.05$) Values followed by different small and capital letters in a column represent significant differences among treatments for the new and old leaves respectively ($P < 0.05$).

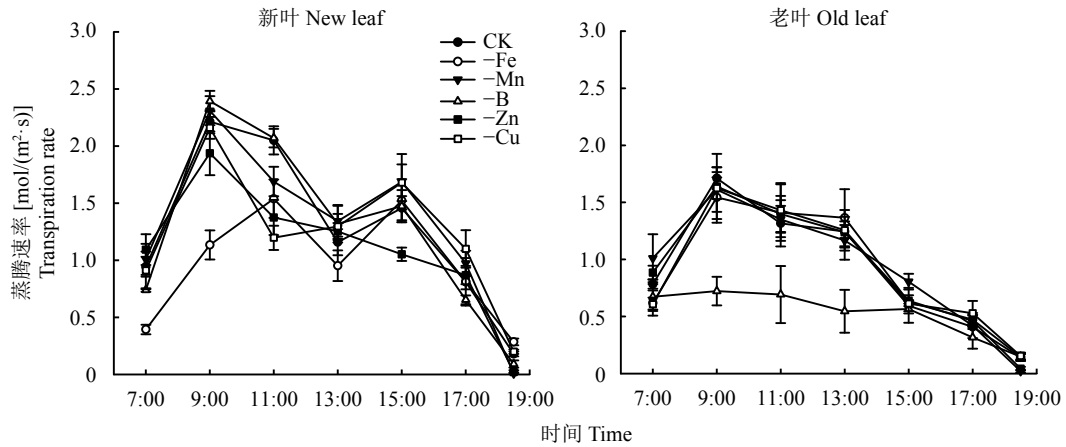


图 5 纽荷尔脐橙缺乏不同微量元素新、老叶片蒸腾速率 (T_r) 日变化

Fig. 5 Diurnal variation of transpiration rate (T_r) in old leaves and new leaves of 'Newhall' navel orange with micronutrients deficiency

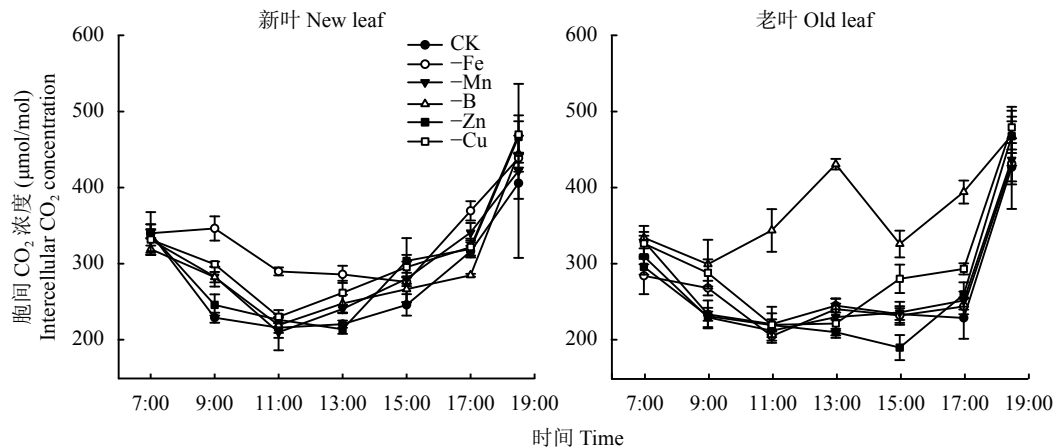


图 6 纽荷尔脐橙缺乏不同微量元素新、老叶片胞间 CO_2 浓度 (C_i) 日变化

Fig. 6 Diurnal variation of intercellular CO_2 concentration (C_i) in old leaves and new leaves of 'Newhall' navel orange with micronutrients deficiency

2.3.3 蒸腾速率 (T_r) 日变化 如图 5 所示, CK 及微量元素缺乏处理的纽荷尔脐橙的新叶 T_r 日变化的趋势均为双峰曲线, 除 -Fe 处理首峰出现在 11:00 时, 其他首峰均出现在 9:00 时, 次峰出现在 15:00; 老叶中除 -B 外均为单峰曲线, 但从 9:00 至 13:00 时变化较平缓。在新叶的首峰 (9:00) 时, T_r 值在 -Fe 和 -Zn 条件下被显著抑制, CK 9:00 至 11:00 时变化平缓, 但除 -B 处理外, 其他处理均在 11:00 时显著下降。-B 处理的老叶 T_r 值从测定开始到结束始终维持在较低水平, 且显著低于对照。其他处理的老叶 T_r 值则与对照无显著差异。

如表 2 所示, T_r 日均值仅在 -Fe 处理的新叶和 -B 处理的老叶中显著下降, 降幅分别为 24.6% 和 41.6%, 其他处理新叶和老叶与 CK 相比均无显著差异。

2.3.4 胞间二氧化碳浓度 (C_i) 日变化 从图 6 可知, 与田间 CO_2 浓度变化趋势相似 (图 3), 除 -B 处理的老叶外, 所有对照与处理的 C_i 日变化趋势均呈现先下降后升高的趋势, 并达到峰值。 C_i 值受影响最显著的分别是 -Fe 处理的新叶和 -B 处理的老叶, 其他处理与对照比较差异不显著。

纽荷尔脐橙 C_i 日均值仅在 -Fe 处理的新叶和 -B 处理的老叶中与 CK 相比显著升高, 升幅为 18.7% 和 35.3%, 其他处理均无显著差异。

2.3.5 气孔导度 (G_s) 日变化 图 7 结果显示, G_s 日变化在 CK 的新叶中呈双峰曲线, 老叶中则为单峰曲线, 首峰均出现在 9:00 时, 分别为 148 和 126 $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 新叶次峰出现在 15:00 时, 为 69 $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 且次峰值低于首峰值。微量元素缺乏

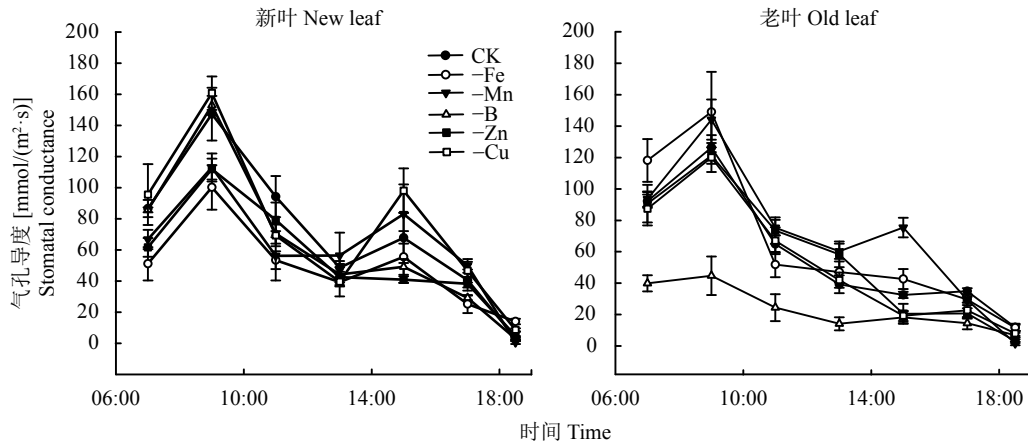


图7 纽荷尔脐橙缺乏不同微量元素新、老叶片气孔导度 (G_s) 日变化

Fig. 7 Diurnal variation of stomatal conductance (G_s) in old leaves and new leaves of 'Newhall' navel orange with micronutrients deficiency

处理后, 新叶中仅有 $-Zn$ 处理次峰消失, $-Mn$ 和 $-B$ 处理的老叶中则在15:00时出现了次峰。在新叶的首峰(9:00)时, 除 $-B$ 和 $-Cu$ 处理外其他处理的 G_s 值均显著低于对照, 而在次峰(15:00)时, 只有 $-Fe$ 、 $-B$ 和 $-Zn$ 处理的 G_s 值显著低于对照。在老叶的首峰(9:00)时, 只有 $-B$ 处理的 G_s 值显著低于对照。

新叶中 G_s 日均值在 $-Fe$ 和 $-Zn$ 处理时与对照相比显著下降, 下降幅度为29.9%和21.7%; 在老叶中 $-Fe$ 和 $-Zn$ 处理表现为显著上升, 但在 $-B$ 处理时表现为显著下降, 下降幅度达59.6%(表2)。

3 讨论

3.1 柑橘微量元素缺乏的症状

柑橘微量元素缺乏通常发生在新开垦或高地下水水位或高度沙化或钙化的柑橘园^[6-7]。Fe作为叶绿素合成中酶或辅酶的活化剂直接参与叶绿素的形成, 因此 $-Fe$ 最典型的症状就是新叶的退绿^[20]。本研究的结果表明, $-Fe$ 处理6个月后纽荷尔脐橙初级新叶先显症状, 叶片呈黄绿色, 叶脉保持绿色, 呈细网状叶脉; 10个月后次级新叶完全失绿呈白色或淡黄色, 叶脉也呈白色(图1)。这与前人在枳、香橙、红桔等柑橘类果树中的报道相似^[8, 21], 但本研究的结果能清晰明确地看到不同级别新叶的缺Fe症状及差异(图1)。Mn虽然不直接参与叶绿素的合成, 但是对维护叶绿体膜结构起着至关重要的作用^[22], 因此缺Mn柑橘叶片会在幼叶出现脉间失绿的症状, 但在田间通常出现症状较晚且容易被缺Fe或缺Zn的症状所掩盖^[7]。本研究通过砂培盆栽试验, 明确地观察到了这一症状, 且进一步获得缺Mn严重时的症状,

即次级新叶呈黄色或灰白色, 叶脉间现不透明褐色斑点(图1)。

关于柑橘缺B的研究较多且典型症状稳定, 主要表现为叶脉的爆裂和生长点的坏死(植株低矮)^[19, 21], 但本研究除观察到上述症状外, 还获得了初级新叶叶片显著增厚变硬、初级新梢茎尖新芽簇生但均不能抽生次级新梢的症状(图1), 类似症状在其他植物中也有报道, 但在柑橘中则鲜有报道。Zn是植物体内许多酶的组成成分和活化剂, 并能有效的促进光合作用。柑橘缺Zn在田间通常表现为斑驳失绿(mottle-leaf)^[7]。柑橘缺Zn的典型症状是除斑驳黄化外, 还有叶小而簇生呈莲丛状(rosette)、节间缩短、植株矮小; 如有结果则果实小而畸形, 果皮厚, 果肉木质化^[22-23]。本研究在纽荷尔脐橙 $-Zn$ 处理6个月时初级新叶便呈现典型的斑驳黄化, 在10个月后, 则观察到新叶簇生、叶片严重变窄变小, 有的叶片甚至出现畸形症状(图1)。柑橘缺Cu初期症状表现为叶片大、深绿色, 有的叶形不规则, 主脉弯曲, 腋芽易枯死^[24-25]。本研究发现纽荷尔脐橙缺Cu6个月后, 初级新叶先显轻微症状, 叶色深绿, 叶面凹凸不平; 缺Cu10个月后次级新叶叶脉弯曲成弓状, 叶色变淡, 枝条细长而柔软, 扭曲下垂, 顶端易枯死(图1), 这与前人的研究基本一致。

3.2 柑橘微量元素缺乏与光合特性的关系

微量元素缺乏影响柑橘叶绿素合成的同时对叶片光合作用也有显著影响。柑橘为 C_4 植物, 因此通常情况下柑橘的 P_n 日变化呈双峰曲线, 但受品种、砧木和外界环境条件的影响。如琯溪蜜柚净光合速率(P_n)的日变化的首峰出现在上午的8:00—10:00

时, 次峰出现在 14:00 时以后, 而在温州蜜柑中首峰出现在上午 10:00 时, 次峰出现在 13:00 时以后^[26-27], 且阴天时次峰会消失。作为纽荷尔脐橙优良芽变的桂脐一号, 在嫁接不同砧木时其 P_n 日变化呈现为单峰、双峰甚至多峰现象^[28]。本研究结果表明 P_n 日变化在对照的新叶和老叶中均呈单峰曲线, 峰值出现在上午 9:00 时, 但是微量元素缺乏处理后, 如 -B 处理显著改变了老叶的 P_n 日变化趋势, 另外 -Zn 处理推迟了峰值出现的时间 (图 4)。徐春丽等^[29]通过砂培进行缺 Zn 试验, 同样表明在缺 Zn 胁迫条件下“不知火”叶片的净光合速率 (P_n) 日变化呈单峰曲线, 对照则为双峰曲线。因此, 微量元素缺乏可以改变柑橘的 P_n 日变化的趋势。

许多研究表明微量元素能够直接或间接影响植物的光合特性^[30]。凌丽俐等^[31]研究表明, 早期的缺 Zn 和潜在的缺 Zn (低 Zn) 会明显降低柑橘的光合效率。另外徐春丽等^[29]报道缺 Zn 降低了柑橘叶片叶绿素、 P_n 、 T_r 和 G_s 。本试验结果同样表明, 纽荷尔脐橙幼苗在缺 Zn 条件下其叶片净光合速率、蒸腾速率和气孔导度在新叶中受到显著抑制 (图 4~图 7, 表 2)。虽然 B 不直接参与植物的光合作用, 但是在缺 B 条件下甜橙会在叶片中积累大量非结构物质的 CO_2 , 从而反馈抑制叶片的光合作用^[32]。

4 结论

纽荷尔脐橙微量元素缺乏前期和后期的症状有较大差异。缺 Fe 前期初级新叶呈黄绿色, 后期次级新叶完全失绿呈白色或淡黄色, 叶脉也呈白色; 缺 Mn 前期初级新叶脉间现不规则浅色条带, 后期次级新叶呈黄色或灰白色, 叶脉间现不透明褐色斑点; 缺 B 前期老叶叶脉轻微突起, 后期老叶叶脉严重爆裂同时伴有脉间轻微黄化, 初级新叶显著增厚变硬, 初级新梢茎尖新芽簇生; 缺 Zn 前期初级新叶斑驳黄化, 后期次级新叶簇生、叶片严重变窄变小; 缺 Cu 前期初级新叶叶面凹凸不平, 后期次级新叶叶脉弯曲成弓状, 叶色变淡, 枝条细长而柔软, 扭曲下垂, 顶端易枯死。叶片光合特性研究表明, -Fe、-Mn 和 -Zn 处理的新叶和 -B 处理的老叶有显著的峰值和变化趋势特征, 而 -Cu 处理的无显著特征。

参考文献:

[1] 肖家欣, 严翔, 彭抒昂, 等. 纽荷尔脐橙缺硼表现与其硼、糖含量年变化的关系[J]. 园艺学报, 2006, 33(2): 356-359.
Xiao J X, Yan X, Peng S A, et al. Relationship between boron deficiency occurrence and annual changes in contents of boron and

sugar of Newhall navel orange[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2006, 33(2): 356-359.

- [2] 凌丽俐, 彭良志, 淳长品, 等. 赣南纽荷尔脐橙叶片黄化与营养元素丰缺的相关性[J]. 中国农业科学, 2010, 43(17): 3602-3607.
Ling L L, Peng L Z, Chun C P, et al. Relationship between leaf yellowing degree and nutrimental elements levels in navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck) leaves in southern Jiangxi Province of China[J]. Scientia Agricultural Sinica, 2010, 43(17): 3602-3607.
- [3] 凌丽俐, 彭良志, 淳长品, 等. 赣南纽荷尔脐橙叶片微量元素含量状况[J]. 园艺学报, 2010, 37(9): 1388-1394.
Ling L L, Peng L Z, Chun C P, et al. Characteristics analysis of microelement contents in Newhall navel orange leaves in southern Jiangxi Province[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2010, 37(9): 1388-1394.
- [4] 王瑞东, 姜存仓, 刘桂东, 等. 赣南脐橙产区果园土壤有效硼含量的现状与分析[J]. 中国南方果树, 2011, 40(4): 1-3, 7.
Wang R D, Jiang C C, Liu G D, et al. Status and analysis on available boron content in soil of Gannan navel orange orchards[J]. South China Fruits, 2011, 40(4): 1-3, 7.
- [5] 范玉兰, 卢映琼, 李峰, 等. 赣南脐橙园土壤有效铜含量分布特征研究[J]. 果树学报, 2015, (1): 69-73.
Fan Y L, Lu Y Q, Li F, et al. Study on distribution of available copper content in soil of navel orange orchards in Southern Jiangxi Province[J]. Journal of Fruit Science, 2015, (1): 69-73.
- [6] Zekri M, Obreza T A. Essential micronutrients for citrus: functions, deficiency, symptoms and correction[A]. Futch S H. Nutrient management for optimum citrus tree growth and yield short courses[C]. University of Florida, 2003: 17-24.
- [7] Zekri M, Obreza T A. Plant nutrients for citrus trees[J]. Citrus and Vegetable Magazine, 2004, 68(10): 17-20.
- [8] 付丽娜. 柑橘不同砧木耐缺铁差异的机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2017.
Fu L N. Mechanisms of iron deficiency tolerance in different citrus rootstocks[D]. Wuhan: PhD Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2017.
- [9] Wang N N, Yang C Q, Pan Z Y, et al. Boron deficiency in woody plants: various responses and tolerance mechanisms[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 916.
- [10] 付行政, 彭良志, 邢飞, 等. 柑橘缺锌研究进展与展望[J]. 果树学报, 2014, 31(1): 132-139.
Fu X Z, Peng L Z, Xing F, et al. Zinc deficiency in citrus: current studies and future perspectives[J]. Journal of Fruit Science, 2014, 31(1): 132-139.
- [11] 尹小健. 赣南脐橙产业现代化路径分析[J]. 企业经济, 2012, 7: 130-133.
Yin X J. The analysis of modern path for Gannan navel orange industry[J]. Enterprise Economy, 2012, 7: 130-133.
- [12] 邓秀新. 现代农业与农业发展[J]. 华中农业大学学报(社会科学版), 2014, 33(1): 1-4.
Deng X X. Modern agriculture and agricultural development[J]. Journal of Huazhong Agricultural University (Social Sciences Edition), 2014, 33(1): 1-4.
- [13] 王男麒, 彭良志, 淳长品, 等. 赣南柑橘园背景土壤营养状况分析

- [J]. 中国南方果树, 2012, 41(5): 1-4.
- Wang N Q, Peng L Z, Chun C P, *et al.* Study on virgin soil nutrient status of citrus orchards in southern Jiangxi Province[J]. *South China Fruits*, 2012, 41(5): 1-4.
- [14] 简水仙, 李松伟, 邓烈, 等. 影响柑橘光合作用的内外因素研究综述[J]. 中国南方果树, 2011, 40(4): 32-36.
- Jian S X, Li S W, Deng L, *et al.* An overview of internal and external factors affecting citrus photosynthesis[J]. *South China Fruits*, 2011, 40(4): 32-36.
- [15] 张国军, 江虹, 郑丽芹, 等. Cu胁迫对脐橙幼苗光合特性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(1): 130-134.
- Zhang G J, Jiang H, Zheng L Q, *et al.* Effect of copper stress on photosynthesis of navel orange seedlings[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(1): 130-134.
- [16] Papadakis I E, Dimassi K N, Bosabalidis A M, *et al.* Boron toxicity in 'Clementine' mandarin plants grafted on two rootstocks[J]. *Plant Science*, 2004, 166: 539-547.
- [17] Hoagland D R, Arnon D I. The water-culture method for growing plants without soil[J]. *California Agricultural Experiment Station Circular*, 1950, 347: 1-32.
- [18] Beilaloui N, Brown P H. Cultivar differences in boron uptake and distribution in celery (*Apium graveolens*), tomato (*Lycopersicon esculentum*) and wheat (*Triticum aestivum*)[J]. *Plant and Soil*, 1998, 198: 153-158.
- [19] Zhou G F, Peng S A, Liu Y Z, *et al.* The physiological and nutritional responses of seven different citrus rootstock seedlings to boron deficiency[J]. *Trees*, 2014, 28: 295-307.
- [20] González-Mas M C, Llosa M J, Quijano A, *et al.* Rootstock effects on leaf photosynthesis in 'Navelina' trees grown in calcareous soil[J]. *Hortscience*, 2009, 44(2): 280-283.
- [21] 韩佳, 周高峰, 李娇虹, 等. 缺镁、铁、硼胁迫对4个柑橘砧木生长及养分吸收的影响[J]. 园艺学报, 2012, 39(11): 2105-2112.
- Han J, Zhou G F, Li Q H, *et al.* Effects of magnesium, iron, boron deficiency on the growth and nutrition absorption of four major citrus rootstocks[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39(11): 2105-2112.
- [22] Chapman H D. The mineral nutrition of citrus[A]. Reuther W, Batchelor L D, Webber H J. The citrus industry (vol. 2)[M]. Berkeley: University of California Division of Agricultural Science, 1968. 127-289.
- [23] Srivastava J N, Sharma P K, Dutta U, *et al.* Nutritional disorders of citrus and their management[A]. Awasthi L P. Recent advances in the diagnosis and management of plant diseases[M]. Springer India Press, 2015, 285-294.
- [24] 梁永元. 柑橘缺铜症诊断法[J]. 贵州农业科学, 1979, (3): 62-64.
- Liang Y Y. Diagnostics of citrus copper deficiency[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 1979, (3): 62-64.
- [25] 袁梦, 李有芳, 张超博, 等. 柑橘铜胁迫研究进展[J]. 果树学报, 2018, (3): 347-357.
- Yuan M, Li Y F, Zhang C B, *et al.* Review of citrus copper stress research[J]. *Journal of Fruit Science*, 2018, (3): 347-357.
- [26] 易干军, 姜小文, 霍合强, 等. 琯溪蜜柚光合特性的研究[J]. 园艺学报, 2003, 30(5): 519-524.
- Yi G J, Jiang X W, Huo H Q, *et al.* Studies on photosynthetic characteristics of Guanximiyu pomelo variety[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30(5): 519-524.
- [27] 胡利明, 夏仁学, 周开兵, 等. 不同砧木对温州蜜柑光合特性的影响[J]. 园艺学报, 2006, 3(5): 937-941.
- Hu L M, Xia R X, Zhou K B, *et al.* Effects of different rootstocks on the photosynthesis of satsuma mandarin[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 3(5): 937-941.
- [28] 梅正敏, 罗世杏, 伊华林, 等. 不同砧木嫁接对桂脐1号脐橙幼树生长及光合特性的影响[J]. 南方农业学报, 2014, 45(3): 434-441.
- Mei Z M, Luo S X, Yi H L, *et al.* Effects of different rootstocks on growth and photosynthetic characteristics of young Guiqi 1 navel orange trees[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2014, 45(3): 434-441.
- [29] 徐春丽, 肖家欣, 齐笑笑, 等. 锌胁迫对两种柑橘幼苗光合特性日变化及其相关性的影响[J]. 生物学杂志, 2010, 27(6): 42-45.
- Xu C L, Xiao J X, Qi X X, *et al.* Effect of Zn stress on photosynthetic characteristic and their correlation of the two varieties of citrus[J]. *Journal of Biology*, 2010, 27(6): 42-45.
- [30] Haensch R, Mendel R R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl)[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(3): 259-266.
- [31] 凌丽俐, 彭良志, 王男麒, 等. 缺锌对'不知火'杂柑叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国南方果树, 2012, 41(3): 72-75.
- Ling L L, Peng L Z, Wang N Q, *et al.* Effects of zinc deficiency on chlorophyll and fluorescence characteristics of citrus 'Shiranuhi'[J]. *South China Fruits*, 2012, 41(3): 72-75.
- [32] Lu Y B, Yang L T, Li Y, *et al.* Effects of boron deficiency on major metabolites, key enzymes and gas exchange in leaves and roots of *Citrus sinensis* seedlings[J]. *Tree Physiology*, 2014, 34(6): 608.