

## 脐橙缺钼症的诊断及光合生理响应

陆芑希<sup>1</sup>, 张峻<sup>1</sup>, 肖本木<sup>2</sup>, 衣萌<sup>1</sup>, 王平<sup>3</sup>, 李延<sup>1</sup>, 吴良泉<sup>1\*</sup>

1. 福建农林大学资源与环境学院/福建省土壤环境健康与调控重点实验室, 福建福州 350002; 2. 湖北省阳新县农业农村局, 湖北黄石 435000; 3. 福建农林大学园艺学院, 福建福州 350002

**摘要:** 开展脐橙钼缺乏症的诊断及光合生理响应研究, 为柑橘缺钼诊断和合理施用钼肥提供依据。通过田间调查结合形态诊断、叶片分析诊断以及钼酸铵喷施试验, 明确脐橙叶片的黄斑型黄化是缺钼引起, 采集不同程度缺钼的脐橙叶片, 研究缺钼胁迫对脐橙光合生理的影响。结果表明: 轻度黄化、重度黄化和正常叶片的氮、钾、镁、硼含量均处于柑橘营养适宜范围, 锌、钙含量三者间无显著差异, 但轻度黄化和重度黄化叶片的钼含量低于柑橘钼缺乏的临界值 (0.10 mg/kg), 且均显著低于正常叶片。喷施 0.05% 钼酸铵可矫治脐橙叶片的黄化症状, 进一步证实了缺钼是造成脐橙叶片黄化的原因。新叶出现近圆形、鲜黄色水渍状斑点或斑块, 叶扭曲、叶缘向上向内卷曲是诊断脐橙缺钼的主要特征。缺钼显著降低脐橙叶片的光合色素含量、RUBP 羧化酶活性、PS II 反应中心的潜在活性 ( $F_v/F_o$ )、最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ )、电子传递能力 (ETo/RC) 以及量子产额 (ETo/CSm), 明显提高热耗散系数 (Dlo/RC), 引起光合速率 ( $P_n$ ) 的降低, 叶片可溶性糖和蔗糖含量减少, 光合作用受到抑制。

**关键词:** 脐橙; 缺钼症状; 诊断; 光合生理

中图分类号: S666.4 文献标识码: A

## Diagnosis and Photosynthesis Response of Molybdenum Deficiency in Navel Orange (*Citrus sinensis* Osbeck)

LU Pengxi<sup>1</sup>, ZHANG Jun<sup>1</sup>, XIAO Benmu<sup>2</sup>, YI Meng<sup>1</sup>, WANG Ping<sup>3</sup>, LI Yan<sup>1</sup>, WU Liangquan<sup>1\*</sup>

1. College of Resources and Environmental Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University / Fujian Provincial Key Laboratory of Soil Environmental Health and Regulation, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Agriculture and Rural Bureau of Yangxin County, Huangshi, Hubei 435000, China; 3. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China

**Abstract:** In order to provide theoretical and practical basis for the effective molybdenum deficiency control measures and rational application of molybdenum fertilizer, field investigation, morphological diagnosis, leaf nutrients content determination and spraying test of ammonium molybdate were carried out in navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck). Further, navel orange leaves with different degrees of chlorosis were collected to measure photosynthetic pigment concentration, photosynthesis rate, chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic product concentration. For normal, slight chlorosis and severe chlorosis leaves, the concentration of nitrogen, potassium, magnesium and born were all in optimum range, zinc and calcium content were no significant difference. The molybdenum content of slight chlorosis and severe chlorosis leaves were lower than that of the threshold value of molybdenum deficiency (0.10 mg/kg), and decreased significantly than the normal leaves. Spraying 0.05% ammonium molybdate significantly reduced the symptoms of chlorosis, indicating that the yellowing leaves of navel oranges in the test orchard was caused by molybdenum deficiency. Molybdenum deficiency symptoms of navel orange were with nearly round and bright yellow waterlogged spots or patches on the new leaves, and the leaves were distorted with the edge leaf rolled up or inward. Photosynthetic pigment concentration, activity of RUBP carboxylase, potential activity ( $F_v/F_o$ ), maximum photochemical efficiency

收稿日期 2022-09-02; 修回日期 2022-10-12

基金项目 国家农业(柑橘)产业技术体系专项(No. CARS-26)。

作者简介 陆芑希(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 柑橘养分资源综合管理。\*通信作者(Corresponding author): 吴良泉(WU Liangquan), E-mail: liangquan01@163.com。

( $F_v/F_m$ ), electron transfer efficiency (ETo/RC) and quantum yield (ETo/CSm) of PS II reaction center decreased significantly with molybdenum deficiency, while the heat dissipation coefficient (DIO/RC) increased significantly. Molybdenum deficiency significantly decreased the photosynthetic rate ( $P_n$ ), soluble sugar and sucrose contents, indicating molybdenum deficiency will decrease the photosynthesis of navel orange.

**Keywords:** navel orange; molybdenum deficiency symptoms; diagnosis; photosynthetic physiology

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.10.014

钼是植物生长发育所必需的微量元素,其作用主要通过钼与蛋白质或蝶呤结合形成含钼辅因子(molybdenum cofactor, Moco)的钼酶来实现<sup>[1]</sup>。存在于高等植物体内的钼酶有硝酸盐还原酶(nitrate reductase, NR)、醛氧化酶(aldehyde oxidase, AO)、黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, XDH)、亚硫酸盐氧化酶(sulfite oxidase, SO)和线粒体氨脒还原蛋白(mitochondrial amidoxime reducing component, mARC)<sup>[2]</sup>。MENDEL等<sup>[3]</sup>研究发现,当Moco缺失时,烟草、大麦和水稻的NR、AO、XDH酶活性均丧失。小麦缺钼会降低*TaCnx1*转录,抑制Moco的生物合成,使NR、SO、AO、XDH酶活性显著降低<sup>[4]</sup>。钼酶调控植物体内氮、碳、激素和活性氧代谢等多种生理过程,与植物低温<sup>[5]</sup>、干旱<sup>[6]</sup>、盐害<sup>[7]</sup>等非生物胁迫的抗性均有关。柑橘是我国种植面积最大、产量最高的果树,2019年我国柑橘种植面积和产量分别为261.73万 $\text{hm}^2$ 和4584.5万t<sup>[8]</sup>。钼是柑橘生长发育所必需的营养元素,目前柑橘钼营养的研究集中于土壤、叶片钼含量测定和钼肥施用效果方面,陶梦铭等<sup>[9]</sup>对湖南、湖北柑橘主产区225个果园土壤有效钼含量的测定结果表明,橘园土壤有效钼的含量范围为0.002~1.326 mg/kg,土壤有效钼含量缺乏(<0.05 mg/kg)橘园的占比为23.5%,叶片钼含量缺乏(<0.05 mg/kg)的比例为20.4%。马小川等<sup>[10]</sup>测定了湖南省147个温州蜜柑园的土壤有效钼含量,结果显示,有11.5%的果园土壤有效钼含量缺乏(<0.05 mg/kg)。廖育林等<sup>[11]</sup>在河沙土发育椪柑园上的试验表明,与对照相比较,喷施钼酸铵处理的株产提高了11.8%,椪柑果实维生素C、全酸和可溶性固形物含量均有不同程度增加。文向荣<sup>[12]</sup>研究发现,谢花后喷施钼酸铵可提高柑橘的着果率、单果重和株产,增加果实的可溶性固形物含量、降低果皮厚度。上述研究表明,柑橘园土壤和树体存在钼素营养不足的问题,施钼可提高柑橘的产量和品质。由于柑橘树体的钼含量仅为微量元素铜、硼、锰、锌、

铁的1/100~1/800<sup>[13]</sup>,因此,缺钼症在柑橘生产上极为罕见,缺钼对柑橘光合生理的研究则未见报道。光合作用是决定柑橘产量和品质的基础,果树干物质的90.0%以上来自于叶片光合产物<sup>[14]</sup>,本研究通过田间调查,结合形态诊断、叶片分析诊断以及田间钼酸铵喷施试验,开展脐橙钼缺乏症状的诊断,研究缺钼对脐橙光合生理的影响,旨在为柑橘科学施用钼肥提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 脐橙叶片黄化症调查 2020年5月下旬,位于湖北省黄石市阳新县浮屠镇下李村沁园家庭农场(29°51'18"N, 115°2'49"E)的部分柑橘出现叶片黄化,该果园为2019年3月种植、以枸橘作为砧木的九月红脐橙园,土壤类型为山地红壤,柑橘沿缓坡地等高线种植,株行距为2 m×4 m,园地面积约3  $\text{hm}^2$ 。现场调查发现,园区内脐橙叶片黄化的现象呈零星发生,症状发生与否、症状严重程度与果树种植地形(坡度、坡向、坡位)的关系并无明显规律可循。现场咨询结合症状出现前2个月的农事记录查阅,显示该果园并未遭遇低温、干旱等不良气候,可以排除低温、干旱等不良气候的危害。全园柑橘的农事管理措施一致,所施用的肥料有尿素、水溶性肥料(N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O配比为8-4-45, Fe、Mn、Cu、B、Zn含量分别为260、320、75、100、230 mg/kg),喷施的农药有阿维菌素、噻螨酮、呋虫胺、咪鲜胺,从肥料、农药的使用方法和叶片黄化出现的时间分析,可以排除因肥料、农药不合理使用而造成肥害或药害的可能。

1.1.2 样品采集和测定 田间柑橘生理性病因诊断样品的采集参照本团队的方法<sup>[15]</sup>,于2020年6月在该片果园中选择叶色正常、轻度黄化(新叶黄化部分的面积<1/3)和重度黄化(新叶黄化部分的面积>1/3)的脐橙幼树各20株,对当年生春梢由上往下的第2片完全展开叶进行光合作用速

率、叶绿素荧光参数、光合色素和光合产物含量、RUBP 羧化酶活性的测定, 光合作用速率、叶绿素荧光参数测定重复 10 次, 其他项目重复 4 次。采集脐橙树体中部、东南西北中 5 个方位、当年生春梢从上往下第 1~3 片完全展开叶, 每株树采集 15 片叶, 每 4 株树的 60 片叶混合为 1 个样品, 20 株树合计采集 5 个样品, 即 5 次重复。样品经稀盐酸擦拭、去离子水洗净、烘干粉碎后用于养分含量测定。

**1.1.3 钼酸铵喷施试验** 2020 年 6 月选择重度黄化且生长一致的脐橙幼树为供试树体进行田间试验, 试验前采集距树干 10 cm 处 0~20 cm 土层的土壤混合样。经测定, 土壤基本理化性状为 pH 5.23、有机质 11.61 g/kg、碱解氮 331.02 mg/kg、有效磷 16.77 mg/kg、速效钾 337.81 mg/kg、交换性钙 620.00 mg/kg、交换性镁 50.15 mg/kg、有效锌 2.19 mg/kg、水溶性硼 0.95 mg/kg、有效钼 0.14 mg/kg。试验设置喷施 0.05% 钼酸铵 (分析纯试剂) 和喷施等量清水 2 个处理, 喷施 2 次, 每次间隔 7 d, 单株重复, 每个处理均重复 10 次。试验前和试验处理后第 15 天分别采集当年生春梢由上往下第 1~3 片完全展开叶用于钼含量的测定。

## 1.2 方法

**1.2.1 土壤和叶片养分含量** 参照《土壤农业化学分析方法》<sup>[16]</sup>, 采用电位法测定土壤 pH (水土比 2.5:1); 外加热、重铬酸钾氧化法测定有机质; 碱解扩散法测定碱解氮; 碳酸氢钠浸提、钼锑抗比色法测定有效磷; 醋酸铵浸提、火焰光度法测定速效钾; 醋酸铵浸提、原子吸收分光光度法测定交换性钙、交换性镁; 姜黄素比色测定土壤有效硼。叶片氮采用硫酸-过氧化氢消煮、微量滴定法测定; 钾、钙、镁、锌用盐酸浸提、原子吸收分光光度法测定; 硼用姜黄素比色法测定。土壤有效钼用草酸-草酸铵浸提、ICP-MS 测定<sup>[17]</sup>, 叶片钼含量用硝酸-盐酸-氢氟酸-高氯酸消解、ICP-MS 测定<sup>[18]</sup>。为保证测定结果的准确性, 测定过程中采用国家标准样品 (柑橘叶片 GBW10020, 红壤 GBW07416a) 进行质量控制, 叶片养分含量均以干重为单位表示。

**1.2.2 光合速率** 采用 CIRAS-2 型便携式光合仪 (英国 PP Systems 公司生产) 测定净光合速率 ( $P_n$ ), 测定时间为 8:00~12:00, 通过内置可调 CO<sub>2</sub> 供气系统和人工光源, 将测定条件设置为 CO<sub>2</sub> 浓度 ( $C_a$ ) 350±10 μL/L, 有效光合辐射

(PAR) 1000 μmol/(m<sup>2</sup>·s), 仪器同时读取气孔导度 ( $G_s$ ) 和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 ( $C_i$ )。

**1.2.3 光合色素含量** 采用混合提取剂提取<sup>[19]</sup>、UV-1801 型紫外分光光度计测定叶绿素 a (Chla)、叶绿素 b (Chlb) 和类胡萝卜素 (Car) 的含量, 为避免叶片样品因水分含量不同而带来的误差, 光合色素含量以叶面积为单位 (μg/cm<sup>2</sup>) 表示。

**1.2.4 叶绿素荧光参数** 采用便携式植物效率分析仪 (Handy PEA, 英国 Hansatech 公司生产) 测定。

**1.2.5 光合产物含量** 采用蒽酮比色法<sup>[20]</sup>测定叶片可溶性糖、蔗糖和淀粉含量。

**1.2.6 RUBP 羧化酶活性** 用苏州科铭生物技术有限公司生产的二磷酸核酮糖羧化酶 (Rubisco) 试剂盒测定, 测定方法按试剂盒说明书, RUBP 羧化酶活性单位为每分钟、每毫克蛋白氧化 1 nmol NADH 的量来表示。

## 1.3 数据处理

采用 SPSS 19.0 单因素方差分析, Duncan's 多重检验方法分析试验数据。

## 2 结果与分析

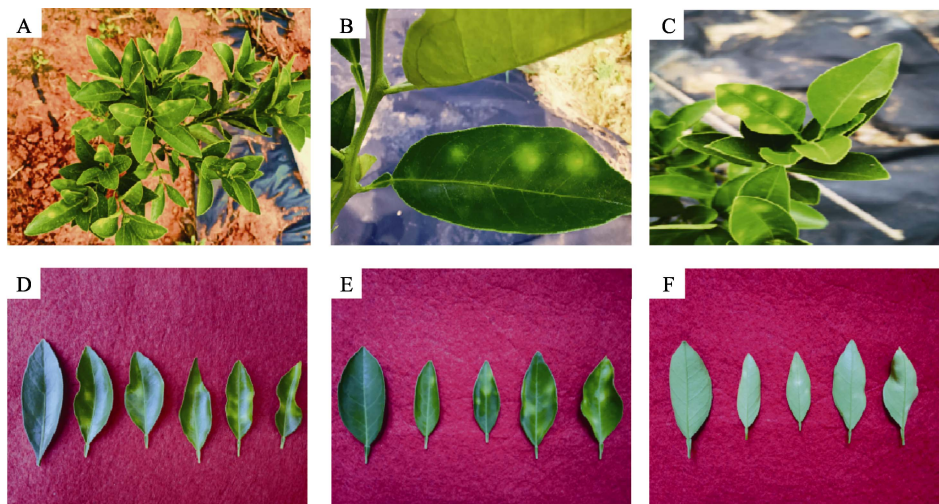
### 2.1 脐橙叶片黄化的病因诊断

**2.1.1 形态诊断** 九月红脐橙叶片黄化时间开始于 2020 年 5 月底, 黄化症状始见于当年抽生春梢的新叶 (图 1A), 黄化部位多见于叶片中脉两侧, 开始时症状表现为叶脉间出现圆形或椭圆形色泽鲜黄的水渍状小圆斑 (图 1B), 随着症状的发展, 黄斑变大、颜色加深, 相邻黄斑融合形成黄色斑块, 黄化部位的叶色除叶肉褪绿外, 叶脉也褪绿 (图 1C)。症状叶在黄化部位或近黄化部位处发生扭曲, 叶缘向上、向内抱合, 黄化叶片变小、变薄 (图 1D), 症状叶不易脱落。

迄今, 田间柑橘可见缺钼症状的文献仅见 STEWART 等<sup>[21]</sup>的报道, 九月红脐橙的黄斑表现形式与 STEWART 等描述的缺钼“黄斑病”一致, 所不同的是, 九月红脐橙症状叶的叶背上未见有褐色胶状物质, 而 STEWART 等的报道中则没有柑橘缺钼后叶片扭曲、抱合的症状。九月红脐橙叶片的症状特征与柑橘缺钙的新叶叶尖黄化、缺硫的新叶均匀黄化、缺锌缺锰的斑驳状黄化、缺铁的“脉间失绿、漂白”、缺硼的“叶脉开裂、黄化”<sup>[22]</sup>有明显不同, 也与具有相似黄化症状的柑橘始叶螨 (黄蜘蛛) 危害和脂点黄斑病有明显区

别，始叶螨（黄蜘蛛）危害会造成叶背凹陷、叶面凸起，脂点黄斑病会导致叶片出现疱疹状突起<sup>[23]</sup>，与九月红脐橙症状叶的叶面和叶背表面整洁、光滑（图 1E、图 1F），加之，症状出现前果园有喷施可

防治始叶螨（黄蜘蛛）危害的阿维菌素、噻螨酮，喷施可防治脂点黄斑病的咪鲜胺，因此，可以排除这 2 种病虫害危害的可能。形态诊断可初步判断九月红脐橙叶片黄化的病因是缺钼。



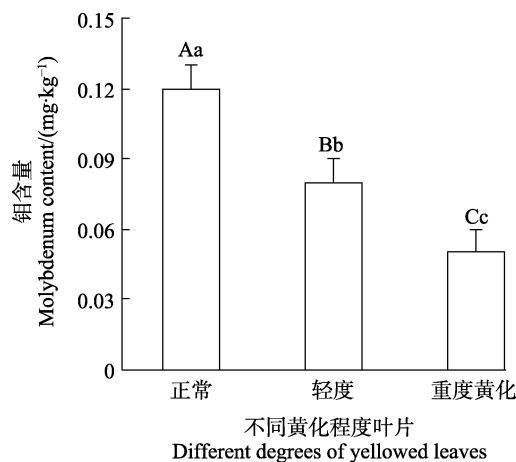
A: 整株黄化脐橙; B: 水渍状黄斑; C: 黄色斑块; D: 叶片卷曲和抱合; E: 症状叶的叶面; F: 症状叶的叶背。  
A: Whole yellowed navel orange; B: Water-stained yellow spot; C: Yellow patch; D: Leaf distorted with the leaf edge rolled up; E: Leaf surface of symptom leaf; F: Leaf back of symptom leaf.

图 1 脐橙叶片的黄化症状

Fig. 1 Chlorosis symptoms of navel orange leaves

2.1.2 叶片分析诊断 如图 2 所示，脐橙叶片钼含量随黄化程度的加重而降低，正常、轻度黄化、重度黄化叶片的钼含量的平均值分别为 0.12、0.08、0.05 mg/kg，其中轻度黄化、重度黄化叶片的钼含量分别较正常叶片降低了 33.3%、58.3%，差异均达极显著。一般认为，叶片钼含量低于 0.10 mg/kg 会造成柑橘钼的缺乏<sup>[24]</sup>，而黄化脐橙叶片的钼含量均低于此值。

氮、钾、钙、镁、锌和硼的缺乏也会导致柑橘叶片黄化，测定结果表明（图 3），正常、轻度黄化、重度黄化叶片的氮、钾、镁和硼含量分别为 2.92~3.08%、1.77~1.83%、0.26~0.31%和 37.00~47.23 mg/kg，均处于柑橘生长适宜养分含量范围<sup>[25]</sup>。叶片钾、钙、硼、锌含量在 3 种叶片间均无显著差异；氮、镁含量表现为轻度黄化、重度黄化叶片显著高于正常叶片，其原因可能与后者干物质积累较多所致的“稀释效应”有关；正常、轻度黄化、重度黄化叶片的钙含量（2.13%~2.29%）均处于缺乏水平（Ca<2.5%），锌含量（18.30~18.61 mg/kg）均处于缺乏水平（Zn<20 mg/kg）<sup>[25]</sup>，但样品之间无明显差异，说明脐橙叶片黄化不是上述元素缺乏所致。

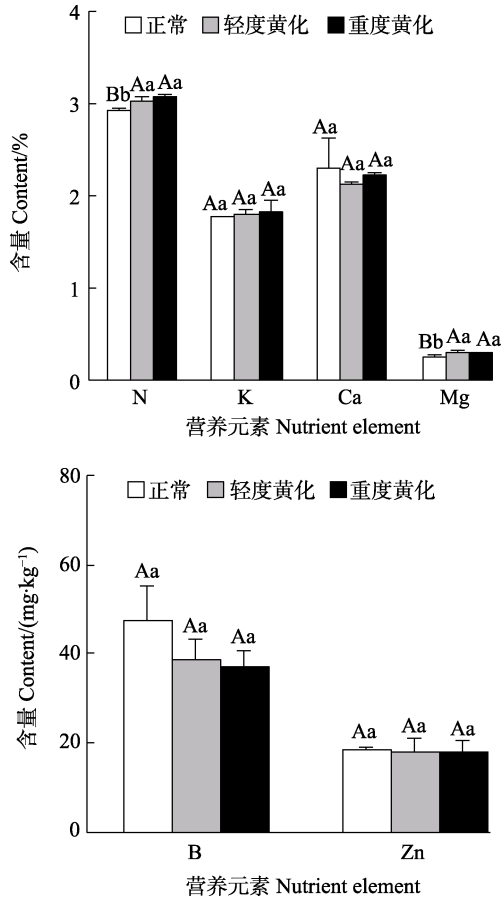


不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P<0.01$ )。Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P<0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P<0.01$ ).

图 2 不同黄化程度脐橙叶片的钼含量

Fig. 2 Molybdenum content in navel orange leaves with different degrees of chlorosis

2.1.3 施肥诊断 参照庄伊美<sup>[25]</sup>的柑橘土壤养分分级标准，试验地土壤的有效钼含量属于低量水平（<0.15 mg/kg）。田间观察发现，喷施 0.05% 钼酸铵可使脐橙叶片黄化症状明显减轻，这与 STEWART 等<sup>[21]</sup>的研究结论一致，处理后第 15 天



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

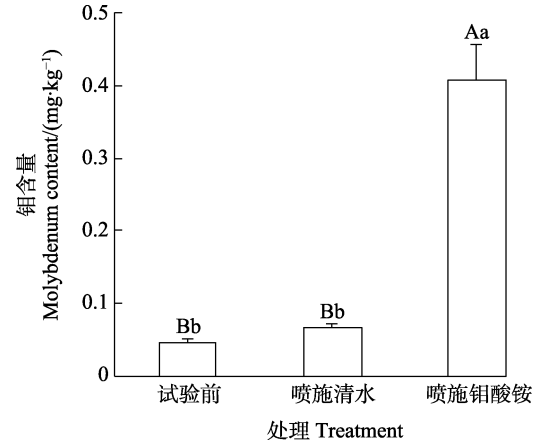
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P < 0.01$ ).

图 3 不同黄化程度脐橙叶片的氮、钾、钙、镁、硼和锌含量

Fig. 3 N, K, Ca, Mg, B and Zn content in navel orange leaves with different degrees of chlorosis

的采样分析结果表明 (图 4)，喷施钼酸铵处理的叶片钼含量 (0.408 mg/kg) 较试验前 (0.046 mg/kg) 提高 787.0%，较喷施清水处理 (0.066 mg/kg) 提高 518.2%，差异均达极显著水平。喷施清水处理的叶片钼含量与试验前并无显著差异，可排除喷

施钼酸铵处理的柑橘因气温升高，带来土壤供钼能力和柑橘根系钼吸收能力提高，而使叶片黄化症状“自愈”的可能。2021 年 6 月对试验果树进行再次观察，发现喷施钼酸铵处理的叶色正常，而喷施清水处理的春梢新叶仍有缺钼黄化症，这一方面证明九月红脐橙的黄化症为缺钼所致，另一方面说明喷施钼肥具有较长的后效。



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P < 0.01$ ).

图 4 喷施钼酸铵对脐橙叶片钼含量的影响

Fig. 4 Effect of ammonium molybdate spraying on molybdenum content of navel orange leaves

## 2.2 缺钼对脐橙光合生理的影响

2.2.1 光合色素含量 缺钼导致脐橙叶片光合色素含量降低 (表 1)，与正常叶片相比较，轻度黄化和重度黄化叶片的 Chla、Chlb、Chl(a+b) 和 Car 含量分别降低 44.1%、47.8%、37.3%、44.9% 和 63.6%、65.4%、56.2%、64.0%，差异均达极显著。轻度黄化和重度黄化叶片的 Chla/b 比值较正常叶片分别提高 10.0% 和 6.2%，表明缺钼对脐橙叶片 Chlb 的影响大于 Chla。

2.2.2 叶绿素荧光参数 T<sub>Ro</sub>/R<sub>C</sub>、E<sub>To</sub>/R<sub>C</sub>、

表 1 缺钼对脐橙叶片光合色素含量的影响

Tab. 1 Effect of molybdenum deficiency on photosynthetic pigments content of navel orange leaves

黄化程度 Degree of chlorosis	光合色素含量 Photosynthetic pigments/( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ )				
	Chla	Chlb	Car	Chl(a+b)	Chl(a/b)
正常	43.37±1.88 <sup>Aa</sup>	11.65±0.85 <sup>Aa</sup>	11.94±0.61 <sup>Aa</sup>	55.03±2.71 <sup>Aa</sup>	3.68±0.09 <sup>Bb</sup>
轻度	24.25±3.26 <sup>Bb</sup>	6.08±0.71 <sup>Bb</sup>	7.48±0.82 <sup>Bb</sup>	30.33±3.96 <sup>Bb</sup>	4.05±0.05 <sup>Aa</sup>
重度	15.77±1.77 <sup>Cc</sup>	4.03±0.41 <sup>Cc</sup>	5.23±0.54 <sup>Cc</sup>	19.80±2.19 <sup>Cc</sup>	3.91±0.08 <sup>Aa</sup>

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ( $P < 0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P < 0.01$ ).

$F_v/F_o$ 、 $F_v/F_m$ 、 $ET_o/CS_m$  分别反映 PSII 捕获电子、传递电子的能力、PSII 潜在活性、最大光化学效率和电子传递的量子产额<sup>[26]</sup>，由表 2 可知，轻度黄化叶片的  $TR_o/RC$ 、 $ET_o/RC$  较正常叶片无显著差异， $F_v/F_o$ 、 $F_v/F_m$ 、 $ET_o/CS_m$  均显著或极显著降低，反应中心的热耗散系数  $DI_o/RC$  显著提高；

除  $TR_o/RC$  外，重度黄化叶片的  $ET_o/RC$ 、 $F_v/F_o$ 、 $F_v/F_m$ 、 $ET_o/CS_m$  均显著或极显著低于正常叶片， $DI_o/RC$  较正常叶片极显著提高，说明缺钼会使脐橙叶片 PSII 反应中心的电子传递受抑、光化学效率降低，吸收的光能更多以热耗散的形式损失，导致光能转化效率的下降。

表 2 缺钼对脐橙叶片叶绿素荧光参数的影响

Tab. 2 Effect of molybdenum deficiency on chlorophyll fluorescence parameters of navel orange leaves

黄化程度 Degree of chlorosis	$TR_o/RC$	$ET_o/RC$	$F_v/F_o$	$F_v/F_m$	$DI_o/RC$	$ET_o/CS_m$
正常	1.84±0.10 <sup>Aa</sup>	0.85±0.03 <sup>Aa</sup>	4.80±0.23 <sup>Aa</sup>	0.83±0.01 <sup>Aa</sup>	0.38±0.04 <sup>Bc</sup>	970.00±127.36 <sup>Aa</sup>
轻度	2.03±0.20 <sup>Aa</sup>	0.78±0.05 <sup>Aab</sup>	3.31±0.49 <sup>Bb</sup>	0.77±0.01 <sup>Bb</sup>	0.59±0.10 <sup>Bb</sup>	675.00±6.24 <sup>Bb</sup>
重度	2.04±0.15 <sup>Aa</sup>	0.74±0.05 <sup>Ab</sup>	2.24±0.19 <sup>Cc</sup>	0.69±0.02 <sup>Bc</sup>	0.92±0.11 <sup>Aa</sup>	529.00±78.62 <sup>Bb</sup>

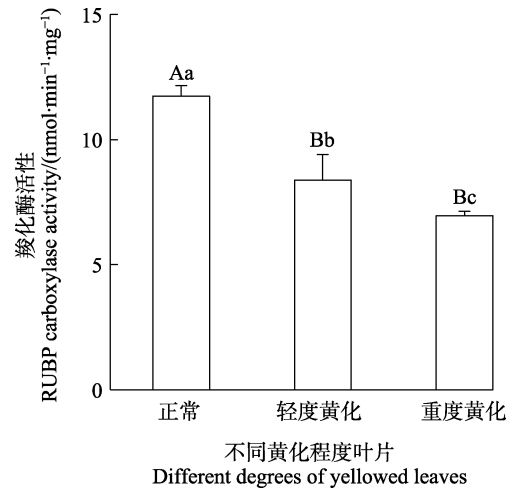
注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P<0.01$ )。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ( $P<0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P<0.01$ ).

2.2.3 RUBP 羧化酶活性 脐橙叶片 RUBP 羧化酶活性随缺钼程度的增加而降低 (图 5)，与正常叶片相比较，轻度黄化和重度黄化叶片的 RUBP 羧化酶活性分别降低 28.6%、40.7%，差异均达极显著。

2.2.4 光合作用速率 缺钼导致脐橙叶片的  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  降低， $C_i$  升高 (表 3)。与正常脐橙叶片相比较，轻度黄化叶片和重度黄化叶片的  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  分别降低了 52.8%、28.6%、46.8% 和 67.4%、49.2%、60.0%， $C_i$  分别提高 22.8% 和 49.0%，差异均达显著或极显著。 $G_s$  降低、 $C_i$  提高表明缺钼导致脐橙叶片光合速率降低的原因既有气孔因素又有非气孔因素。

2.2.5 光合产物含量 与正常叶片相比较，轻度黄化和重度黄化叶片的可溶性糖、蔗糖含量分别下降 22.6%、39.1% 和 30.7%、36.3%，差异均达显著水平 (图 6)。轻度缺钼叶片的淀粉含量与正常叶片无显著差异，而重度缺钼叶片的淀粉含量



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P<0.01$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P<0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P<0.01$ ).

图 5 缺钼对脐橙叶片 RUBP 羧化酶活力的影响

Fig. 5 Effect of molybdenum deficiency on the activity of RUBP carboxylase in navel orange leaves

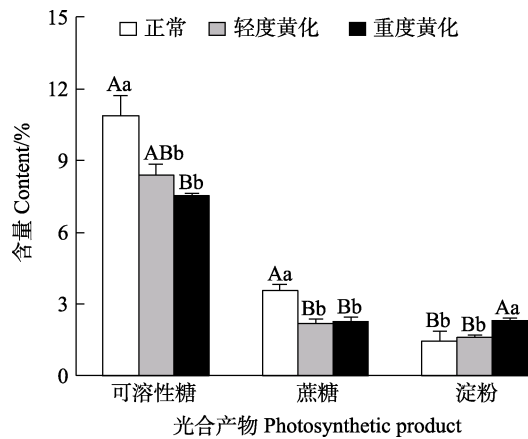
表 3 缺钼对脐橙叶片光合作用的影响

Tab. 3 Effect of molybdenum deficiency on photosynthesis rate of navel orange leaves

黄化程度 Degree of chlorosis	$P_n/(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1})$	$G_s/(\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1})$	$C_i/(\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1})$	$T_r/(\text{mmol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1})$
正常	7.27±0.25 <sup>Aa</sup>	79.33±9.29 <sup>Aa</sup>	274.33±22.81 <sup>Cc</sup>	2.50±0.36 <sup>Aa</sup>
轻度	3.43±0.15 <sup>Bb</sup>	56.67±11.59 <sup>ABb</sup>	337.00±6.24 <sup>Bb</sup>	1.33±0.25 <sup>Bb</sup>
重度	2.37±0.21 <sup>Cc</sup>	40.33±6.66 <sup>Bb</sup>	408.67±6.11 <sup>Aa</sup>	1.00±0.36 <sup>Bb</sup>

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P<0.01$ )。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ( $P<0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P<0.01$ ).



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P < 0.01$ ).

图 6 缺钼对脐橙叶片光合产物含量的影响

Fig. 6 Effect of molybdenum deficiency on photosynthetic product content in navel orange leaves

较正常叶片提高了 59.3%, 差异极显著。武丽等<sup>[27]</sup>的研究结果显示, 缺钼处理第 20 天的烟草叶片淀粉酶活性与施钼处理无明显差异, 第 30 天时则较施钼处理降低了 8.2%, 差异达显著水平, 说明缺钼降低淀粉转化为单糖的能力。

### 3 讨论

有缺钼症状的葡萄柚、脐橙叶片钼含量变幅仅为 0.03~0.08 mg/kg<sup>[21]</sup>, 而叶片钼含量  $\geq 0.10$  mg/kg 则表示柑橘钼营养充足<sup>[24]</sup>, 说明柑橘钼缺乏和适宜含量的变幅很窄, 这是柑橘缺钼症在生产上极为罕见、迄今国内尚未有柑橘缺钼症状报道的原因。发生在九月红脐橙上的缺钼症状与 STEWART 等<sup>[21]</sup>描述的“黄斑病”症状一致, 但前者未见叶背有褐色胶状物质, 后者则没有叶片扭曲、抱合的症状, 这或许与柑橘品种、症状严重程度等的不同有关。有研究表明, 土壤钼的生物有效性受土壤 pH、有机质、质地、磷及硫含量等多种因素影响<sup>[26-27]</sup>, 因此, 对于土壤含量和柑橘需要量都极少的钼元素而言, 柑橘园局部土壤理化性质的差异会影响土壤钼的生物有效性, 这可能是调查果园缺钼症状呈现零星发生的原因。除形态诊断技术外, 本研究采用的叶片分析诊断和施肥诊断结果也进一步证实, 发生在九月红脐橙新叶的水渍状黄斑、叶抱合症状为缺钼所致。本研究结果表明, 缺钼导致脐橙叶片光合速率降低, 其原因既有气孔因素 ( $G_s$  降低) 也有非

气孔因素 ( $C_i$  提高)。缺钼造成柑橘光合作用下降的非气孔因素可能为: (1) 光合色素含量降低、RUBP 酶活性下降, 使光合固定  $CO_2$  的能力减弱。 $\delta$ -氨基酮戊酸 (ALA) 是叶绿素的前体<sup>[28]</sup>, ALA 形成受 ALA 脱水酶 (ALAD) 和胆色素原脱氨酶 (PBGD) 调控<sup>[29]</sup>, 缺钼导致亚硫酸盐氧化酶活性降低, 抑制了含巯基的 ALAD 和 PBGD 的合成, 导致叶绿素合成受阻<sup>[30]</sup>, RUBP 羧化酶催化 1, 5-二磷酸核酮糖和  $CO_2$  生成磷酸甘油酸, 是光合碳同化的限速酶<sup>[31]</sup>。缺钼胁迫导致合成 RUBP 羧化酶大亚基的蛋白表达量下降和酶合成受阻<sup>[31]</sup>, 可能是 RUBP 羧化酶活性降低的原因。(2) 叶绿体类囊体膜结构受损。由膜脂、蛋白和光合色素等组成的叶绿体类囊体膜是植物光合作用的场所, 缺钼一方面通过抑制无机态磷向有机态磷的转化、降低蛋白质的合成影响叶绿体类囊体膜的形成<sup>[32]</sup>; 另一方面, 缺钼降低了类胡萝卜素 (CAR) 的含量, 以及嘌呤代谢中由黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 催化产生的酰胺 (Ureides) 的含量, 已有研究表明, CAR<sup>[33]</sup>、Ureides<sup>[34]</sup> 是活性氧的清除剂, 其含量降低会增加自由基对膜脂的损伤, 破坏叶绿体类囊体膜的结构<sup>[27]</sup>。(3) 光合同化力下降。缺钼胁迫下, 脐橙叶片 PSII 反应中心潜在活性 ( $F_v/F_o$ )、最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ )、电子传递能力 (ETo/RC) 以及量子产额 (ETo/CSm) 降低, 由于光合电子传递是与合成 ATP 的光磷酸化相偶联, 而且非环式电子传递又是以  $NADP^+$  为最终电子受体, 因此, 光能转化效率降低使缺钼脐橙不能合成更多 ATP 和 NADPH 用于光合作用的碳同化。

### 4 结论

早春新梢新叶出现近圆形、鲜黄色水渍状斑点或斑块, 叶扭曲、叶缘向上向内卷曲是诊断脐橙缺钼的主要特征。缺钼会导致脐橙光合色素含量、光能利用率和电子传递效率降低, 光合作用受到抑制, 柑橘生产过程中应重视含钼肥料的施用。有关引发柑橘缺钼的条件、柑橘不同品种以及不同砧穗组合的土壤和叶片钼营养诊断标准还有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 郜怀峰, 张亚飞, 王国栋, 孙希武, 贺月, 彭福田, 肖元松. 钼在桃树干旱胁迫响应中的作用解析[J]. 植物学报, 2019,

- 54(2): 227-236.
- GAO H F, ZHANG Y F, WANG G D, SUN X W, HE Y, PENG F T, XIAO Y S. The effect of molybdenum on drought stress response in peach[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2019, 54(2): 227-236. (in Chinese)
- [2] 刘利, 孙明岳, 张蕊, 杨超, 李玲, 高东升, 付喜玲. 草莓钼转运蛋白基因 *MOT1* 的克隆与表达以及对氮代谢的影响[J]. 植物生理学报, 2017, 53(4): 545-554.
- LIU L, SUN M Y, ZHANG R, YANG C, LI L, GAO D S, FU X L. Molecular cloning, expression analysis and its effect on nitrogen metabolism of molybdenum transporter gene *MOT1* in strawberry (*Fragaria × ananassa*)[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(4): 545-554. (in Chinese)
- [3] MENDEL R R. Release of molybdenum co-factor from nitrate reductase and xanthine oxidase by heat treatment[J]. Phytochemistry, 1983, 22(4): 817-819.
- [4] NIE Z J, HU C X, TAN Q L, SUN X C. Gene expression related to molybdenum enzyme biosynthesis in response to molybdenum deficiency in winter wheat[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2016, 16(4): 979-990.
- [5] 郝怀峰, 彭福田, 肖元松, 张亚飞, 王国栋, 孙希武, 贺月. 钼对桃树叶片低温伤害的缓解作用[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(7): 1211-1221.
- GAO H F, PENG F T, XIAO Y S, ZHANG Y F, WANG G D, SUN X W, HE Y. Physiological and biological mechanisms of molybdenum on alleviating chilling stress of peach leaves[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25(7): 1211-1221. (in Chinese)
- [6] GHAFARIAN A H, ZARGHAMI R, ZAND B, BAYAT V. Wheat performance as affected by foliar application of molybdenum (Mo) under drought stress condition[J]. International Journal of Agronomy and Plant Production, 2013, 4(11): 3050-3056.
- [7] BABENKO O N, BRYCHKOVA G, SAGI M, ALIKULOV Z A. Molybdenum application enhances adaptation of crested wheatgrass to salinity stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2015, 37: 14.
- [8] 中国国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2020: 385-389.
- National Bureau of Statistics, China. China statistical yearbook[M]. Beijing: China Statistics Press, 2020: 385-389. (in Chinese)
- [9] 陶梦铭, 应虹, 孙强, 谭启玲, 李翠, 胡承孝. 湖北与湖南柑橘园土壤及树体养分状况[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(13): 3289-3292.
- TAO M M, YING H, SUN Q, TAN Q L, LI C, HU C X. Soil and plant nutrient status of citrus orchard in Hubei and Hunan province[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(13): 3289-3292. (in Chinese)
- [10] 马小川, 卢晓鹏, 张子木, 熊江, 潘斌, 刘恋, 李泽航, 唐超兰, 谢深喜. 湖南省不同纬度温州蜜柑园土壤和叶片营养及果实品质分析[J]. 果树学报, 2018, 35(4): 423-432.
- MA X C, LU X P, ZHANG Z M, XIONG J, PAN B, LIU L, LI Z H, TANG C L, XIE S X. Analyses of the soil and tree nutrition and fruit quality of satsuma mandarin in orchards at different latitudes in Hunan province[J]. Journal of Fruit Science, 2018, 35(4): 423-432. (in Chinese)
- [11] 廖育林, 郑圣先, 戴平安, 聂军, 易国英. 钾镁锌硼钼肥对椪柑产量和品质的影响[J]. 土壤通报, 2007, 38(6): 1158-1161.
- LIAO Y L, ZHENG S X, DAI P A, NIE J, YI G Y. Effect of potassium, magnesium, zinc, boron and molybdeum application on fruit yield and quality of Poon-Kan[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2007, 38(6): 1158-1161. (in Chinese)
- [12] 文向荣. 红壤柑桔园喷布钼酸铵能提高果实产量和品质[J]. 中国柑桔, 1988, 17(1): 39.
- WEN X R. Spraying ammonium molybdate in red soil citrus orchard can improve fruit yield and quality[J]. South China Fruits, 1988, 17(1): 39. (in Chinese)
- [13] MATTOS D J, QUAGGIO J A, CANTARELLA H, ALVA A K. Nutrient content of biomass components of Hamlin sweet orange trees[J]. Scientia Agricola, 2003, 60(1): 155-160.
- [14] 简水仙, 李松伟, 邓烈, 郑永强, 易时来, 谢让金, 何绍兰. 影响柑桔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, ZHENG Y Q, YI S L, XIE R J, HE S L. Progress of internal and external factors influencing photosynthesis of citrus[J]. South China Fruits, 2011, 40(4): 32-36. (in Chinese)
- [15] 张峻, 林伟杰, 李歆博, 占园园, 张生才, 李延. 椪柑叶片硼毒害症状及光合生理响应研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(10): 1879-1886.
- ZHANG J, LIN W J, LI X B, ZHAN Y Y, ZHANG S C, LI Y. Symposium of boron toxicity and photosynthesis response study in leaves of Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco)[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2020, 26(10): 1879-1886. (in Chinese)
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 13-212.
- LU R K. Analytical methods of soil and agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000:13-212. (in Chinese)
- [17] 国家林业局. 森林土壤有效钼的测定: LY/T 1259—1999[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- State Forestry Administration. Determination of available molybdenum in forest soil: LY/T 1259—1999[S]. Beijing:

- Standards Press of China, 1999. (in Chinese)
- [18] 中华人民共和国国土资源部. 生态地球化学评价动植物样品分析方法 第 1 部分: 锂、硼、钒等 19 个元素量的测定 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法: DZ/T 0253. 1—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.  
Ministry of Land and Resources of the People's Republic of China. Analytic methods for biologic samples in eco-geochemistry assessment—part 1: determination of the content of 19 elements including lithium, boron, vanadium, etc.—inductively coupled plasma mass spectrometry: DZ/T 0253.1—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014. (in Chinese)
- [19] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 65-68  
HAO J J, KANG Z L, YU Y. Plant physiology experiment technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 65-68. (in Chinese)
- [20] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 高等教育出版社, 2003: 127-132.  
ZHANG Z L, QU W J. Plant physiology experiment guidance[M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2003: 127-132. (in Chinese)
- [21] STEWART I, LEONARD C D. Molybdenum deficiency in florida citrus[J]. Nature, 1952, 170: 714-715.
- [22] OBREZA T A, MORGAN K T. Nutrition of Florida citrus trees[M]. 2nd ed. Florida: University of Florida, 2008: 90-96.
- [23] 蔡明段, 易干军, 彭成绩. 柑橘病虫害原色图鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011: 28-30, 86  
CAI M D, YI G J, PENG C J. Illustrated handbook of citrus diseases and insect pests[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011: 28-30, 86. (in Chinese)
- [24] REUTHER B W, EMBLETON T W, JONES W W. Mineral nutrition of tree crops[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1958, 9: 175-206.
- [25] 庄伊美. 柑桔营养与施肥[J]. 福建果树, 1992(4): 32-37.  
ZHUANG Y M. Nutrition and fertilization for citrus[J]. Fujian Fruits, 1992(4): 32-37. (in Chinese)
- [26] Gupta U C. Molybdenum in agriculture: soil and plant factors affecting molybdenum uptake by plants[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1997: 71-79.
- [27] 武丽, 李章海, 叶文玲, 黄义德. 钼胁迫对烟草光合荧光参数和叶绿体超微结构的影响[J]. 农业机械学报, 2014, 45(8): 262-268.  
WU L, LI Z H, YE W L, HUANG Y D. Effects of photosynthetic fluorescence parameters and chloroplast ultrastructure of tobacco under molybdenum stress[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(8): 262-268. (in Chinese)
- [28] PORRA R J. Recent progress in porphyrin and chlorophyll biosynthesis[J]. Photochemistry and Photobiology, 1997, 65(3): 492-516.
- [29] PADMAJA K, PRASAD D D, PRASAD A R. Selenium as a novel regulator of porphyrin biosynthesis in germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*)[J]. Biochemistry International, 1990, 22(3): 441-446.
- [30] 孙学成, 胡承孝. 高等植物含钼酶与钼营养[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(3): 395-399.  
SUN X C, HU C X. Molybdoenzymes and molybdenum nutrition in higher plants[J]. Plant Physiology Communications, 2005, 41(3): 395-399. (in Chinese)
- [31] 孙学成. 钼提高冬小麦抗寒力的生理基础及分子机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.  
SUN X C. Study on physiological basis and molecular mechanism of cold resistance enhanced by molybdenum application in winter wheat[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [32] 刘鹏, 杨玉爱. 钼、硼对大豆叶片膜脂过氧化及体内保护系统的影响[J]. 植物学报, 2000, 42(5): 461-466.  
LIU P, YANG Y A. Effects of molybdenum and boron on membrane lipid peroxidation and endogenous protective systems of soybean leaves[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2000, 42(5): 461-466. (in Chinese)
- [33] 韩雅珊. 类胡萝卜素的功能研究进展[J]. 中国农业大学学报, 1999, 4(1): 5-9.  
HAN Y S. Advances of the function of beta-carotene and carotenoid[J]. Journal of China Agricultural University, 1999, 4(1): 5-9. (in Chinese)
- [34] BRYCHKOVA G, ALIKULOV Z, FLUHR R, SAGI M. A critical role for ureides in dark and senescence-induced purine remobilization is unmasked in the *Atxdh1 Arabidopsis* mutant[J]. The Plant Journal, 2008, 54: 496-509.