缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗的影响

孟文娜^{1a}, 贾 悦^{1b}, 张 毓^{1b}, 胡 静², 丁安萍^{1b}, 陈桂红^{1b}, 谭明普^{1a,①}, 向增旭^{1b,①}
(1. 南京农业大学: a. 生命科学学院, b. 园艺学院, 江苏 南京 210095; 2. 威海市农业科学院, 山东 威海 264200)

摘要:为探究12种必需矿质元素(包括 N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo)对铁皮石斛(Dendrobium officinale Kimura et Migo)生长及生理指标的影响,以铁皮石斛3个月组培苗为材料,以 MS 培养基为基础设置全营养对照(CK)、单一缺素处理和缺素恢复处理,分析各处理条件下铁皮石斛的表型特征和生理变化。结果显示:缺 N, P, Ca, Cu, Zn 处理组铁皮石斛组培苗缺素症状明显,整株的生长状态及叶片和假鳞茎的解剖结构均受到影响;除 Zn 外,其他元素缺素恢复处理后症状均得到明显改善。缺 N, K, Ca, S, Zn 处理组假鳞茎长及缺 N, Ca 处理组的叶片数 受抑制明显。除 P 外,其他元素缺素处理组叶片叶绿素含量明显降低,多数缺素恢复处理组叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 含量较缺素处理组极显著(P<0.01)或显著(P<0.05)升高;缺 Fe 处理组的叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量的比值明显降低,恢复处理后接近于 CK。除 Fe 外,其他微量元素缺素处理对叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性抑制明显,而缺大量元素处理组的 SOD 活性均不同程度升高;缺 P 处理组的过氧化物酶(POD)活性明显降低,而缺 N, Mg, S, Mn, Zn, Cu 处理组的 POD 活性明显升高,除 Mn 外,其他元素缺素恢复处理组的 POD 活性均升高。缺 N, P 可大幅提高叶片可溶性糖含量,缺 N, Mn, Cu 可大幅提高叶片可溶性蛋白质含量。缺 N, Cu 处理组假鳞茎多糖含量大幅高于 CK, Ca, Mo 缺素恢复处理组假鳞茎多糖含量较缺素处理组极显著升高;缺 Mg 处理组假鳞茎总黄酮含量大幅高于 CK。综上,在保证铁皮石斛假鳞茎总黄酮含量。

关键词: 铁皮石斛; 缺素; 假鳞茎; 多糖; 总黄酮

中图分类号: Q945.1; R282.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)04-0039-11 DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.04.05

Effects of element deficiency and deficiency recovery on tissue culture seedlings of *Dendrobium officinale* MENG Wenna^{1a}, JIA Yue^{1b}, ZHANG Yu^{1b}, HU Jing², DING Anping^{1b}, CHEN Guihong^{1b}, TAN Mingpu^{1a,①}, XIANG Zengxu^{1b,①} (1. Nanjing Agricultural University: a. College of Life Sciences, b. College of Horticulture, Nanjing 210095, China; 2. Weihai Academy of Agricultural Sciences, Weihai 264200, China), *J. Plant Resour.* & Environ., 2024, 33(4): 39–49

Abstract: To investigate the effects of 12 essential mineral elements (including N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo) on the growth and physiological indexes of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo, three-month-old tissue culture seedlings of *D. officinale* were taken as the materials, different treatments namely the control with total nutrition (CK), single element deficiency treatment, and deficiency recovery treatment were set based on MS medium, and the variations of phenotypic characteristics and physiology of *D. officinale* under each treatment condition were analyzed. The results show that the tissue culture seedlings of *D. officinale* in the N, P, Ca, Cu, and Zn deficiency treatment groups exhibit evident symptoms of element deficiency, and the growth status of the whole plant as well as the anatomical structures of the leaves and pseudobulbs are affected; except for Zn, the symptoms of deficiency in the other elements show obvious improvement after the recovery treatment. The pseudobulb

收稿日期: 2024-01-12

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-21)

作者简介: 孟文娜(2000—),女,山东济宁人,硕士研究生,研究方向为植物逆境与分子生物学。

^①通信作者 E-mail: tempo@ njau.edu.cn; zxxiang@ njau.edu.cn

引用格式: 孟文娜, 贾 悦, 张 毓, 等. 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(4): 39-49.

length in the N, K, Ca, S, and Zn deficiency treatment groups, as well as the leaf number in the N and Ca deficiency treatment groups, are evidently inhibited. Except for P, the chlorophyll contents in the leaves of the other elements deficiency treatment groups obviously decrease, and the contents of chlorophyll a and chlorophyll b in the leaves of most deficiency recovery treatment groups extremely significantly (P < 0.01) or significantly (P < 0.05) increase compared with the element deficiency treatment groups; the ratio of chlorophyll a content to chlorophyll b content in the Fe deficiency treatment group obviously decreases, and is close to CK after the recovery treatment. Except for Fe, the superoxide dismutase (SOD) activities in the leaves of the other microelement deficiency treatment groups are obviously inhibited, while the SOD activities in the macroelement deficiency treatment groups increase to different degrees; the peroxidase (POD) activity in the P deficiency treatment group obviously decreases, while the POD activities in the N, Mg, S, Mn, Zn, and Cu deficiency treatment groups obviously increase, and except for Mn, the POD activities in the other elements deficiency recovery treatment groups all increase. N and P deficiency can greatly increase the soluble sugar content in leaves, while N, Mn, and Cu deficiency can greatly increase the soluble protein content in leaves. The polysaccharide contents in pseudobulbs of N and Cu deficiency treatment groups are greatly higher than that in CK, and the polysaccharide contents in pseudobulbs of Ca and Mo deficiency recovery treatment groups extremely significantly increase compared with the element deficiency treatment groups; the total flavonoids content in pseudobulbs of Mg deficiency treatment group is greatly higher than that in CK. In conclusion, when ensuring the normal growth of D. officinale, the polysaccharide content in pseudobulbs of D. officinale can be increased through the deficiency recovery of Ca and Mo; the total flavonoids content in pseudobulbs of D. officinale can be increased through appropriate Mg deficiency treatment.

Key words: Dendrobium officinale Kimura et Migo; element deficiency; pseudobulb; polysaccharide; total flavonoids

铁皮石斛(Dendrobium officinale Kimura et Migo) 为兰科(Orchidaceae)石斛属(Dendrobium Sw.)多年 生附生植物,药食两用,主要分布于云南东南部、广西 西北部、福建西部、浙江东部等^[1]。铁皮石斛含有多 种化合物^[2],多糖、生物碱和黄酮类化合物被认为是 铁皮石斛的主要生物活性成分^[3]。研究表明:铁皮 石斛具有增强免疫力^[4]、抗衰老^[5]、抗肿瘤^[6]、降血 糖^[7]等作用,具有很高的药用价值。

土壤中的大量元素 N、P、K、Ca、Mg 以及微量元素 Fe、Mn、Cu、Zn、B 等是植物生长所必需的营养元素,也是磷脂、酶、原生质、细胞核、叶绿素以及核酸等的组成部分。这些矿质元素在植物生命活动中扮演着不可或缺的角色,参与调节植物光合作用、呼吸作用及生物合成过程^[8-11]。研究表明:不同药用植物对矿质元素的需求不同,当某种矿质元素不足时,药用植物会表现出特有的缺素症状,产量和品质降低^[12-13]。自然条件下铁皮石斛多生长于悬崖峭壁,长期适应贫瘠的岩石造就了铁皮石斛独一无二的药理功效,更成就了其特异的抗逆性和独特的需肥特性,既对营养有需求以满足植株生长的需要,又要限量以保持一定的应激条件,促进活性成分的合成与积累^[14-15]。

营养诊断指以植物形态、生理、生化等指标为根据判断植物的营养状况,主要包括形态诊断和营养元素化学诊断^[16]。冯光泉等^[17]经过1年的缺素观察,提出N、K、Ca、Mg为三七[Panax notoginseng (Burk.) F. H. Chen ex C. H. Chow]的主要特征元素,在缺乏这4种元素时三七生长严重受阻。廉家敏等^[18]发现不同微量元素缺乏对党参[Codonopsis pilosula (Franch.) Nannf.]幼苗N、P、K含量有不同影响,党参幼苗对缺Fe和Zn较敏感,而对缺Mn和Cu耐性较高。李成等^[19]对高粱[Sorghum bicolor (Linn.) Moench]幼苗进行了11种元素(N、P、K、Ca、Mg、Fe、Mn、B、Cu、Zn、Mo)的缺素处理,结果表明缺N、P、K、Ca、Mg、Fe的幼苗受影响更为明显。

目前,铁皮石斛种植主要以经验施肥为主,缺乏理论指导。关于其营养生理诊断的研究也比较少,Liu 等[20]探究了缺P对铁皮石斛生长和代谢物合成的影响,Wu等[21]进行了低N胁迫下铁皮石斛的生理和转录组分析。然而,目前尚未见系统性研究多种必需元素缺乏对铁皮石斛影响的报道。为更全面地了解铁皮石斛在不同元素缺乏情况下的生长和生理变化,本研究以铁皮石斛组培苗为研究对象,探究了12种必需矿质元素对铁皮石斛生长发育及营养物质

积累的影响,以期为铁皮石斛营养生理诊断及合理使 用肥料提供理论依据,为提高铁皮石斛药材品质及促 进铁皮石斛产业持续健康发展提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为铁皮石斛 3 个月的组培苗,由南京农业大学中药材设施栽培科创课题组提供,培养于组培室,培养条件为温度(23±2) $^{\circ}$,空气相对湿度(70±5)%,光照度 2 000~2 500 lx,光照时间 12 h·d⁻¹。

1.2 方法

1.2.1 缺素及缺素恢复处理 以 MS 培养基为全营 养对照,参考文献[22]并稍加改动,以 MS 培养基为 基础制定并配制各单一元素缺素培养基。各处理营 养液配方见附表 1。

各处理营养液的施用量根据前期预实验总结而来,酸碱度为pH 5.8 至pH 6.0。实验首先设置 13 个处理组:全营养(CK)及缺 N、P、K、Ca、Mg、S、Fe、Mn、Cu、Zn、B 和 Mo 处理。每个处理 12 个组培瓶(即 12 个重复),每瓶 5~6 丛苗,每丛 3~4 株。缺素处理培养 2 个月后,各处理组中的一半幼苗继续缺素处理,另一半幼苗转移到全营养培养基中进行缺素恢复处理,继续培养 2 个月后,每个组培瓶随机选择 5 个单株进行形态观察及各项指标测定,结果取平均值;每个处理 3 次重复。

- 1.2.2 植株形态特征观测 处理结束后拍照记录各处理组的形态特征,并使用 ML31 光学显微镜(广州市明美光电技术有限公司)观察叶片和假鳞茎的横切面。用精度 0.1 cm 的直尺测量假鳞茎长(从茎基部到茎顶端生长点的长度),统计每株的叶片数。
- 1.2.3 叶绿素含量测定 取组培苗从上至下第 3~5 位叶片,去除主叶脉后切碎,混匀后准确称取 0.1 g,加入无水乙醇 2.5 mL,4 $^{\circ}$ 避光过夜,待样品变白后使用 UV-2000 紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司)分别测定波长 663 和 645 nm 下的吸光度,计算叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量及叶绿素 a含量与叶绿素 b含量的比值 [23]。
- 1.2.4 抗氧化酶活性测定 取组培苗从上至下第 3~5 位叶片,采用氮蓝四唑光化还原法测定超氧化物 歧化酶(SOD)活性^[24],采用愈创木酚法测定过氧化 物酶(POD)活性^[24]。

- 1.2.5 可溶性糖和可溶性蛋白质含量测定 取组培苗从上至下第 3~5 位叶片,采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量^[25],采用考马斯亮蓝染色法测定可溶性蛋白质含量^[26]。
- 1.2.6 多糖含量测定 取组培苗假鳞茎干样,采用水提醇沉法提取多糖,采用苯酚-硫酸比色法测定多糖含量^[27]。
- 1.2.7 总黄酮含量测定 取组培苗假鳞茎干样,采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法测定总黄酮含量,用芦丁标准品配置系列浓度的标准溶液,基于吸光度与芦丁相应浓度的线性关系计算总黄酮含量^[28]。

1.3 数据处理与分析

使用 EXCEL 2016 软件进行数据统计,使用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和 多重比较(最小显著差异法),使用 GraphPad Prism 8.4.2 软件制图。

2 结果和分析

2.1 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗表型的影响2.1.1 对各部位形态特征的影响 缺素及缺素恢复

对铁皮石斛组培苗形态特征的影响见图 1。结果显 示:缺N、P、Ca处理组铁皮石斛植株生长受到明显抑 制。缺 N 处理组叶片黄化脱落、茎细弱;缺 P 处理组 叶片暗绿,或有紫红色,植株生长不一致;缺 Ca 处理 组叶片失绿,新的丛生芽腐烂死亡,生长状况不一致; N、P、Ca 缺素恢复后,植株生长得到明显改善,叶片 失绿症状解除,几乎无黄叶,植株密集,假鳞茎伸长, 植株生长良好。缺 K、Mg、S 处理组铁皮石斛症状较 轻,但仍存在叶片失绿、假鳞茎伸长受抑制的现象,缺 素恢复处理组植株生长得到明显改善。全营养对照 组(CK)铁皮石斛组培苗假鳞茎、叶片横切面构造为 上、下表皮均为1层椭圆形细胞,基本薄壁组织细胞 大小不一,细胞内存在叶绿素,茎中维管束细胞略排 成3~4圈。缺N处理组叶肉组织松散,缺P处理组 叶片表皮细胞周围出现紫色的花青素积累。此外,构 成叶片的薄壁细胞厚度变异较大,缺P、Mg处理组叶 片均变薄,缺 Mg 处理组细胞壁变厚,推测维管形成 层可能发生木质化;缺 Fe 处理组叶片失绿,其他组织 生长受影响较小;缺 Mn 处理组部分叶尖变黄,生长 点坏死;缺B、Zn处理组植株生长不一致,株高受到 抑制,缺 B 处理组茎节间缩短,细胞壁增厚,维管束



CK: 全营养对照 The control with total nutrition. 每个小图中左边为缺素处理,右边为缺素恢复处理 The left shows element deficiency treatment, and the right shows deficiency recovery treatment in each small figure. 箭头示花青素 The arrow shows anthocyanidin.

图 1 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗各部位形态特征的影响

Fig. 1 Effects of element deficiency and deficiency recovery on morphological characteristics of each part of tissue culture seedlings of Dendrobium officinale Kimura et Migo

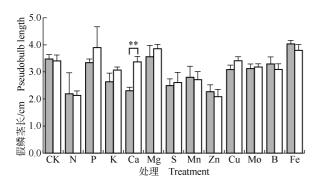
细胞畸形;缺 Cu 处理组叶色变白,新的丛生芽褐化 死亡,组织坏死,生长受到明显抑制。Fe、Cu 缺素恢复后叶片颜色明显变深,除 Zn 外,其他微量元素缺素恢复后症状均得到明显改善。

2.1.2 对假鳞茎长和叶片数的影响 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗假鳞茎长和叶片数的影响见图 2。结果显示:除 Mg、Fe 外,其他元素缺素处理组假鳞茎长均受到抑制,其中,缺 N、K、Ca、S、Zn 处理组

假鳞茎长受抑制明显。缺素处理对叶片数影响较小, 仅缺 N 和 Ca 处理组的叶片数较 CK 明显减少。此 外,仅 Ca 的缺素恢复处理组假鳞茎长和叶片数较缺 素处理组极显著(*P*<0.01)增加。

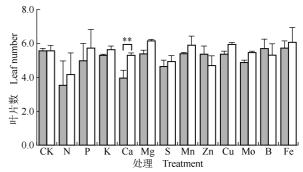
2.2 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗叶片叶绿素 含量的影响

结果(图 3)显示:除 P 外,其他元素缺素处理组 铁皮石斛组培苗叶片叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素



处理

Treatment



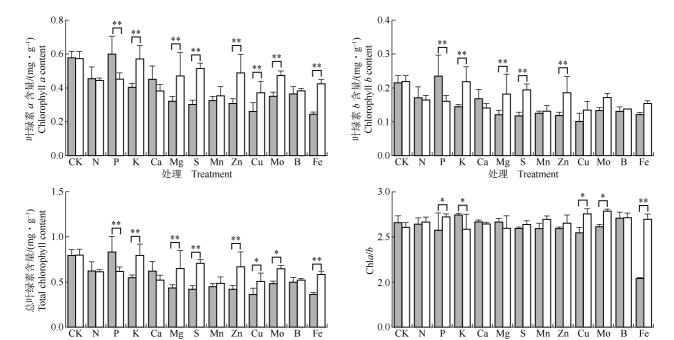
处理

Treatment

■: 缺素 Element deficiency; □: 缺素恢复 Deficiency recovery. CK: 全营养对照 The control with total nutrition. **: P<0.01.

图 2 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗假鳞茎长和叶片数的影响

Fig. 2 Effects of elements deficiency and deficiency recovery on pseudobulb length and leaf number of tissue culture seedlings of Dendrobium officinale Kimura et Migo



■: 缺素 Element deficiency; □: 缺素恢复 Deficiency recovery. Chla/b: 叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量的比值 Ratio of chlorophyll a content to chlorophyll b content. CK: 全营养对照 The control with total nutrition. *: P<0.05; **: P<0.01.

图 3 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗叶片叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effects of element deficiency and deficiency recovery on chlorophyll contents in leaves of tissue culture seedlings of Dendrobium officinale Kimura et Migo

含量均低于全营养对照组(CK),且 N、Ca 缺素恢复后,叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量也较难恢复。其中,缺 Fe 处理组的叶绿素 a 含量(0.25 mg·g⁻¹)和总叶绿素含量(0.37 mg·g⁻¹)及缺 Cu 处理组的叶绿素 b 含量(0.10 mg·g⁻¹)最低。K、Mg、S、Zn 缺素恢复后叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量均极显著(P<0.01)增加。缺 Fe 处理组叶片 Chla/b(叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量的比值)明显低于其他处理组,但缺素恢复处理后 Chla/b 接近于 CK;其他处理组 Chla/b 相近且接近于 CK。

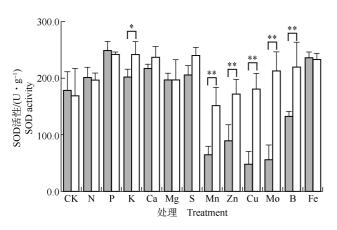
2.3 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗叶片抗氧化 酶活性的影响

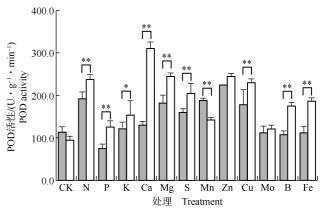
结果(图 4)显示:相较于全营养对照组(CK),大

量元素缺素处理组铁皮石斛组培苗叶片 SOD 活性均有所提高, K、Ca、S 缺素恢复后 SOD 活性持续提高。除 Fe 外, 其他 5 种微量元素缺素处理组 SOD 活性均低于 CK, 且缺素恢复后 SOD 活性极显著(P<0.01) 升高。缺 P 处理组 POD 活性较 CK 有所降低, 其他缺素处理组 POD 活性均高于或接近于 CK。所有元素缺素恢复后 POD 活性均高于 CK, 除 Mn 外, 其他元素缺素恢复后 POD 活性均升高。

2.4 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗叶片可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响

结果(图 5)显示:缺 N、P 处理组铁皮石斛组培苗叶片可溶性糖含量大幅高于全营养对照组(CK),缺 Mg、Fe 处理组可溶性糖含量低于 CK,其他缺素处

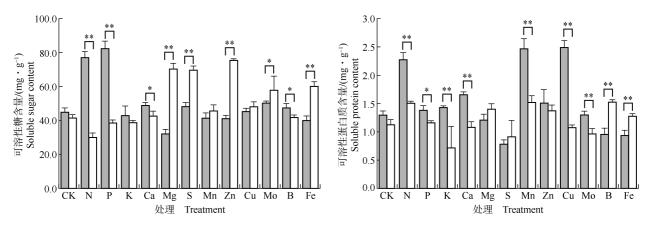




■: 缺素 Element deficiency; □: 缺素恢复 Deficiency recovery. SOD: 超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase; POD: 过氧化物酶 Peroxidase; CK: 全营养对照 The control with total nutrition. *: P<0.05; **: P<0.01.

图 4 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗叶片抗氧化酶活性的影响

Fig. 4 Effects of element deficiency and deficiency recovery on activities of antioxidant enzymes in leaves of tissue culture seedlings of Dendrobium officinale Kimura et Migo



■: 缺素 Element deficiency; □: 缺素恢复 Deficiency recovery. CK: 全营养对照 The control with total nutrition. *: P<0.05; **: P<0.01.

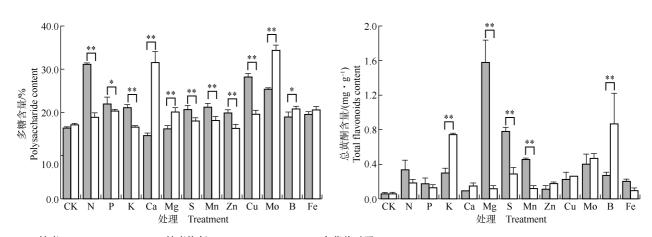
图 5 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗叶片可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 5 Effects of element deficiency and deficiency recovery on soluble sugar and soluble protein contents in leaves of tissue culture seedlings of Dendrobium officinale Kimura et Migo

理组可溶性糖含量接近于 CK。缺 N、P、Ca、B 处理组可溶性糖含量极显著 (P<0.01) 或显著 (P<0.05) 高于缺素恢复处理组,Mg、S、Zn、Mo、Fe 缺素恢复处理组可溶性糖含量极显著高于缺素处理组。缺 N、Mn、Cu处理组可溶性蛋白质含量大幅高于 CK,而缺 S、B、Fe处理组可溶性蛋白质含量明显低于 CK。 N、P、K、Ca、Mn、Cu、Mo 缺素处理组可溶性蛋白质含量显著或极显著高于缺素恢复处理组可溶性蛋白质含量极显著高于缺素恢复处理组可溶性蛋白质含量极显著高于缺素处理组。

2.5 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗假鳞茎多糖和总黄酮含量的影响

结果(图 6)显示:除缺 Ca、Mg 处理组外,其他缺素处理组铁皮石斛组培苗假鳞茎多糖含量均高于全营养对照组(CK),其中缺 N、Cu 处理组多糖含量大幅高于 CK,Ca、Mg、Mo 缺素恢复处理组多糖含量极显著(P<0.01)高于缺素处理组,N、K、S、Mn、Zn、Cu缺素恢复处理组多糖含量极显著低于缺素处理组,但接近于 CK。



■: 缺素 Element deficiency; □: 缺素恢复 Deficiency recovery. CK: 全营养对照 The control with total nutrition. *: P<0.05; **: P<0.01.

图 6 缺素及缺素恢复对铁皮石斛组培苗假鳞茎多糖及总黄酮含量的影响 Fig. 6 Effects of element deficiency and deficiency recovery on polysaccharide and total flavonoids contents in pseudobulbs of tissue culture seedlings of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo

与 CK 相比,缺素处理均不同程度提高了假鳞茎的总黄酮含量,缺 Mg 处理组总黄酮含量大幅升高; Mg、S、Mn 缺素处理组总黄酮含量极显著高于缺素恢复处理组,而 K、B 缺素恢复处理组总黄酮含量极显著高于缺素处理组。

3 讨论和结论

植物生长发育需要多种必要的营养元素,体内某种元素的缺乏会影响其生理代谢过程,使植株地上部分和地下部分表现出相应症状^[16]。缺素胁迫对铁皮石斛的表型及生长均具有显著影响,使其呈现明显的缺素症状。本研究中缺大量元素 N、P、Ca 对铁皮石斛组培苗生长的抑制作用较其他营养元素更为明显,表现为植株矮小、叶片失绿,且缺 N和 Ca 假鳞茎长和叶片数 受抑制明显。这与春石斛(Dendrobium spp.)在缺 N、P、Ca 条件下生长受阻更为明显的结果

相一致[29],也与葡萄(Vitis vinifera Linn.)缺P条件下 症状相同^[30]。N 是植物生长发育过程中需求量最大 的矿质营养元素之一[31],而 P、Ca 是植株细胞的组成 成分,且 P 是磷脂的主要组成成分,参与细胞膜的构 成[32],N、P、Ca 缺乏会阻碍新细胞的形成。缺 N 恢 复处理后,铁皮石斛组培苗的假鳞茎长和叶片数无法 恢复。缺微量元素 Cu 和 Zn 对铁皮石斛组培苗的生 长也有明显抑制作用,缺 Zn 更是对铁皮石斛组培苗 生长造成了不可逆转的伤害。植物缺乏 Cu 时,苯丙 氨酸解氨酶、吲哚乙酸氧化酶和多酚氧化酶等活性降 低,导致细胞壁木质素合成受阻,进而影响细胞壁的 形成,从而对植物生长造成不良影响[33];此外,Cu 缺 乏也会导致植物叶片栅栏组织退化,发生萎蔫。缺 Zn 会导致介导细胞凋亡的半胱氨酸蛋白酶 3 活性升 高,从而叶片表现脉间失绿、枯萎黄化[34]。综上,铁 皮石斛组培苗的生长对 N、P、Ca、Cu、Zn 较为敏感,尤 其是对 N 和 Zn。

叶绿素在光合作用中发挥着重要的作用,其含量 影响药用植物的生长发育[35-36]。本研究中,缺 Fe 处 理组铁皮石斛组培苗叶片叶绿素 a 含量、总叶绿素含 量和叶绿素 a 与叶绿素 b 含量的比值及缺 Cu 处理组 叶绿素 b 含量均最低。这是因为 Fe 、Cu 影响着叶绿 素生物合成。植物叶片中80%以上的Fe集中于叶绿 体[37].亚铁原叶啉或吡咯环是叶绿素合成的前体物 质[38]。适量施 Cu 可以刺激叶绿素合成,增加天线色 素的含量,吸收较多的光能,提高光能传递效率和光 合效率[39]。Fe、Cu 缺素恢复后铁皮石斛组培苗叶片 叶绿素含量有所提高,而 N、Ca 缺素处理经过一段时 间的营养恢复后,铁皮石斛组培苗叶片叶绿素含量较 难增加。这与菘蓝(Isatis tinctoria Linn.)光合色素的 含量在缺 N 恢复情况下仍呈现下降趋势[40]一致,但 具体机制还需进一步研究。由此可见,铁皮石斛组培 苗叶片叶绿素合成受 Fe 和 Cu 影响最大,但 N 和 Ca 对叶绿素含量的影响是不可逆的。

植物在逆境条件下会发生膜脂过氧化,产生过量 的自由基,进而引起保护酶系统 SOD、POD 和过氧化 氢酶(CAT)活性的变化[41]。本研究发现缺大量元素 处理组铁皮石斛组培苗叶片的 SOD 活性均不同程度 升高,缺N、Mg、S、Mn、Zn、Cu处理组铁皮石斛组培苗 叶片的 POD 活性也明显升高,这与党参[Codonopsis pilosula (Franch.) Nannf.) [18] 和鱼腥草(Houttuynia cordata Thunb.)[42]缺素研究结果较为吻合。同时,本 研究发现,缺P处理组铁皮石斛组培苗叶片的POD 活性明显降低,缺 Mg 处理组铁皮石斛组培苗叶片的 POD 活性明显升高;然而有研究表明缺 P 显著提高 了水稻(Oryza sativa Linn.)根系的 POD 活性[43],缺 Mg 降低了烟草(Nicotiana tabacum Linn.)叶片的 POD 活性[4]。造成这一差异可能与实验材料不同有关, 也可能与测定时期不同有关,具体原因需进一步系统 研究。

可溶性糖和可溶性蛋白质含量与植物代谢、衰老以及维持细胞渗透压等密切相关^[45-46]。本研究发现,缺 N、P 处理后铁皮石斛组培苗叶片可溶性糖含量大幅升高。这与低氮环境下藜麦(Chenopodium quinoa Willd.)能够积累大量可溶性糖的结果一致^[47],也与低磷环境下麻竹(Dendrocalamus latiflorus Munro)幼叶可溶性糖含量升高的结果吻合^[48]。这是由于植物在受到缺素胁迫时会形成一系列适应机制,如增强糖代谢,叶片中相关糖转运基因的表达会在营

养短缺时上调[49];有研究表明长期缺氮胁迫促进了 蔗糖合成途径中一些基因的表达,并降低了参与蔗糖 分解的相关基因的表达[50]。梁艳红等[51]研究表明 低浓度 Mn 可使红锥(Castanopsis hystrix Hook. f. et Thomson ex A. DC.) 叶片可溶性蛋白质含量有所提 高,并且已有报道表明长期缺 N 促进了植物中谷氨 酸积累相关基因的表达[50]。本研究中缺 N、Mn、Cu 可大幅提高铁皮石斛组培苗叶片可溶性蛋白质含量, 可能是由于铁皮石斛为应对元素缺乏,激活了蛋白质 合成途径中相关基因的表达,从而增加了可溶性蛋白 质合成。此外,本研究中缺S、B、Fe 处理降低了铁皮 石斛组培苗叶片可溶性蛋白质的含量,这与庄团达 等[52]、徐莹[53]、刘磊超等[54]研究结果一致。S 在植 物生长发育和代谢调控过程中发挥重要作用[55],缺 S导致半胱氨酸和铁硫中心等含硫蛋白合成受 阻[56];B 在植物体内参与蛋白质合成,缺 B 胁迫下细 胞壁增厚,影响蛋白质的合成和积累[57];Fe 是蛋白 质合成的重要成分,能够通过调节相关酶的活性,促 进氮代谢产物转化和氨基酸合成[58]。

矿质元素不仅影响植物的生长发育,还通过参与 药用植物的初生代谢和次生代谢过程,对其有效成分 含量及药效产生重要影响。在正常营养条件下,铁皮 石斛将营养用于自身的生长,株高、茎粗和叶面积增 长迅速,而在寡氮胁迫下,铁皮石斛可能将吸收的营 养储存起来,因此生长受到抑制,而多糖含量增 加[59]。本研究发现,大部分缺素处理可提高铁皮石 斛组培苗假鳞茎多糖含量,尤其是缺 N、Cu 大幅提高 了假鳞茎多糖含量;此外,Ca、Mo 缺素恢复处理也可 使铁皮石斛假鳞茎多糖含量大幅提高。由于铁皮石 斛在缺 N 和 Cu 条件下植株生长受到明显抑制,因 此,可通过 Ca、Mo 缺素恢复处理的方式来提高铁皮 石斛假鳞茎中的多糖含量。药用植物存在"逆境效 应",在缺素等逆境条件下,植物体内的次生代谢产 物如黄酮类化合物会大量积累,该类化合物不仅具有 很高的药用价值,还具有活性氧清除能力,能够提高 植物的抗逆性[60-61]。本研究中,缺素处理均不同程 度地提高了铁皮石斛组培苗假鳞茎总黄酮含量,尤其 是缺 Mg 处理后总黄酮含量大幅提高,且缺 Mg 处理 并未对铁皮石斛组培苗的生长造成较大且不可逆的 影响,因此,可通过适量缺 Mg 处理来获得高总黄酮 含量的铁皮石斛。

参考文献:

- [1] 罗在柒, 龙启德, 姜运力, 等. 全国石斛产业现状及贵州发展石斛产业的思考[J]. 贵州林业科技, 2021, 49(1): 42-47.
- [2] CHEN W H, LU J M, ZHANG J H, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and quality control of *Dendrobium* officinale Kimura et. Migo [J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 726528.
- [3] WANG Z J, JIANG W M, LIU Y Y, et al. Putative genes in alkaloid biosynthesis identified in *Dendrobium officinale* by correlating the contents of major bioactive metabolites with genes expression between Protocorm-like bodies and leaves [J]. BMC Genomics, 2021, 22: 579.
- [4] LI M X, YUE H, WANG Y Q, et al. Intestinal microbes derived butyrate is related to the immunomodulatory activities of *Dendrobium* officinale polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 149; 717-723.
- [5] 黄少杰, 陈宏著, 钟淳菲, 等. 铁皮石斛叶多糖对秀丽隐杆线虫体内抗衰老作用[J]. 食品科学, 2022, 43(21): 203-208.
- [6] ZHAO M L, SUN Y Y, GAO Z, et al. Gigantol attenuates the metastasis of human bladder cancer cells, possibly through Wnt/ EMT signaling [J]. Onco Targets and Therapy, 2020, 13: 11337-11346.
- [7] ZENG J, LI D N, LI Z B, et al. *Dendrobium officinale* attenuates myocardial fibrosis *via* inhibiting EMT signaling pathway in HFD/ STZ-induced diabetic mice [J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2020, 43(5); 864-872.
- [8] 李焕忠, 张吉立. 5 种微量元素对紫叶矮樱叶绿素 a 含量影响的研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(16): 242-245.
- [9] 陈 晨, 贾丽丽, 陈雪琼, 等. 不同浓度氮、磷、钾对水培芹菜生长及叶绿素含量的影响[J]. 蔬菜, 2022(10): 31-37.
- [10] 王平荣, 张帆涛, 高家旭, 等. 高等植物叶绿素生物合成的研究进展[J]. 西北植物学报, 2009, 29(3): 629-636.
- [11] 张其德. 矿质元素与植物光合作用[J]. 植物杂志, 1989(1): 34-36.
- [12] 付立忠,赵利梅,吕惠卿,等. 氮素水平对三叶青生长和茎叶 化学成分含量及抗氧化活性的影响[J]. 中国中药杂志,2019,44(4):696-702.
- [13] 张丽霞,彭建明,马 洁. 植物营养缺素研究进展[J]. 中国农 学通报, 2010, 26(8): 157-163.
- [14] 管成林,王巧丽,胡秀芳.不同肥料对铁皮石斛生长、抗氧化酶活性及多糖积累的影响[J].浙江理工大学学报(自然科学版),2016,35(6):933-938.
- [15] 周玉飞, 康专苗, 彭竹晶. 珍稀濒危铁皮石斛的研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(4): 1629-1635.
- [16] 南雄雄,杨 柳,李文慧,等. 缺素条件下枸杞植株生长及营养元素吸收利用互作效应[J]. 中国土壤与肥料,2023(11):202-212.
- [17] 冯光泉,金 航,陈中坚,等.不同营养元素对三七生长的影响研究[J].现代中药研究与实践,2003(增刊1):18-21.
- [18] 廉家敏,陈 实,王 立,等.微量元素缺乏对党参幼苗表观

- 特征和生长的影响及部分生理特性测定[J]. 种子, 2022, 41 (5): 36-41.
- [19] 李 成, 史芝文. 高梁缺素症状的研究[J]. 农业与技术, 2004, 24(1): 18-21, 33.
- [20] LIU L, XIANG H X, SHEN H M, et al. Effects of low phosphorus stress on the main active ingredients and antioxidant activities of *Dendrobium officinale* [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 173; 114095.
- [21] WU H T, LI J, PU Q, et al. Physiological and transcriptome analysis of *Dendrobium officinale* under low nitrogen stress [J]. Functional Plant Biology, 2023, 50(4): 314-334.
- [22] 蔡祖国,李桂荣,姜立娜,等. MS 培养基配方研究[J]. 现代 农业科技, 2022(8): 125-127.
- [23] 陈天笑, 白晓刚, 张志威, 等. 不同种源顶果木幼苗生长、光合和叶绿素荧光特性比较[J]. 生态学杂志, 2023, 42(11): 2561-2568.
- [24] 张晓兰. 薄皮甜瓜 *CmMAPK3* 和 *CmMAPK7* 在抗白粉病中的作用[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020: 18.
- [25] 刘本帅,于立河,于 崧,等.中性盐和碱性盐胁迫对芸豆可溶性糖及钾钠离子含量的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报,2022,34(1):13-17,78.
- [26] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [27] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 295.
- [28] 孙凤婷, 许振岚, 朱作艺, 等. 铁皮石斛的黄酮类成分测定及 其生物可及性研究[J]. 浙江农业学报, 2023, 35(11): 2710-2719.
- [29] 李 丽. 基质与营养液对春石斛生长发育的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 121-122.
- [30] 于瑞军. 葡萄缺素症状及霜霉病的防治[J]. 现代农业研究, 2021, 27(4): 119-120.
- [31] 闫志蕊,乌 恩,包庆格乐,等.不同营养元素缺乏对黄豆幼苗特征的影响[J].现代园艺,2022,45(14):10-12.
- [32] 吴月嫦,谢深喜. P、K、Ca 缺失对枇杷幼苗生长发育及生理特性的影响[J]. 果树学报,2006,23(1):55-58.
- [33] 袁 梦, 李有芳, 张超博, 等. 柑橘铜胁迫研究进展[J]. 果树 学报, 2018, 35(3): 347-357.
- [34] 王盛锋,汪 洪. 缺锌胁迫下玉米叶片出现类似细胞凋亡现象 [J]. 植物营养与肥料学报, 2023, 29(8): 1423-1434.
- [35] WALI M, GUNSE B, LLUGANY M, et al. High salinity helps the halophyte *Sesuvium portulacastrum* in defense against Cd toxicity by maintaining redox balance and photosynthesis [J]. Planta, 2016, 244(2): 333-346.
- [36] 张云风,郭宝林,杨相波,等.水培条件下氮素对拟巫山淫羊 藿产量和黄酮类成分的影响[J].中国中药杂志,2017,42 (23):4574-4581.
- [37] FINAZZI G, PETROUTSOS D, TOMIZIOLI M, et al. Ions

- channels/transporters and chloroplast regulation [J]. Cell Calcium, 2015, 58(1): 86-97.
- [38] 方啸宇,徐文清,李少楠,等. '阳光玫瑰' 葡萄 9 种缺素症的 观察与分析[J]. 南京农业大学学报,2024,47(3):435-442.
- [39] 张文韬, 黄保健, 郭世荣, 等. 铜对空心菜光合作用及保护酶活性的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(2): 303-307.
- [40] 施晟璐. 缺氮和复氮处理对苗期菘蓝生长及代谢的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2019: 64-65.
- [41] 苏中军, 于龙凤, 安福全. 不同缺素培养对玉米叶片脂质过氧 化及保护酶活性的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2009(2): 62-64
- [42] 丁 倩, 罗世琼, 杨占南, 等. 矿质元素缺失对鱼腥草幼苗生理特征及次生代谢组分的影响[J]. 生态学杂志, 2022, 41 (8): 1594-1601.
- [43] 黄文方,于 浩,管 航,等. 缺磷对水稻幼苗活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(3): 27-29.
- [44] 王佩云,李 璐,陈照峰,等. 钙、镁、铁亏缺对烟草生长和生理指标的影响[J]. 湖南农业科学, 2022(10): 21-24.
- [45] RADY M M, TAHA R S, MAHDI A H A. Proline enhances growth, productivity and anatomy of two varieties of *Lupinus termis* L. grown under salt stress[J]. South African Journal of Botany, 2016, 102; 221-227.
- [46] 李金鹏, 王克凤, 董 然, 等. 缺素对彩叶金鹰玉簪叶片生理特性的影响[J/OL]. 分子植物育种, (2021-12-16) [2024-05-31]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211216.1013.005.html.
- [47] 郭红霞, 王创云, 邓 妍, 等. 藜麦对低氮胁迫的响应研究 [J]. 作物杂志, 2023(3): 221-229.
- [48] 江瑞熠,朱梦恬,杨 靖,等.低磷胁迫对麻竹幼苗叶片非结构性碳水化合物及抗氧化保护酶系统的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2024,53(1):56-61.

- [49] CAI J, CHEN L, QU H G, et al. Alteration of nutrient allocation and transporter genes expression in rice under N, P, K, and Mg deficiencies [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2012, 34: 939-946.
- [50] 杨凝眉. 甘蓝型油菜响应缺氮胁迫的基因表达谱及共表达网络分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019: 36-37.
- [51] 梁艳红, 滕维超. 锰胁迫对红锥幼苗生长和生理指标的影响 [J]. 广西林业科学, 2021, 50(6): 685-689.
- [52] 庄团达, 黄碧阳, 康 娟, 等. 缺素对落葵叶片生理指标及抗逆性的影响[J]. 亚热带农业研究, 2016, 12(4): 242-247.
- [53] 徐 莹. 硫素胁迫对烟草生长和生理过程的影响研究[D]. 福州:福建农林大学, 2011: 19.
- [54] 刘磊超,姜存仓,刘桂东,等. 低硼胁迫对柑橘枳橙砧木生长及营养生理的影响[J]. 华中农业大学学报,2015,34(3):64-68.
- [55] 孙雪梅,杨志敏.植物的硫同化及其相关酶活性在镉胁迫下的调节[J].植物生理与分子生物学学报,2006,32(1):9-16.
- [56] 张 野,杨 楠,刘 洋,等.2种黄芪幼苗对缺硫胁迫的生理响应机制[J].植物研究,2020,40(4):496-504.
- [57] 金 天,徐月美,邝冠翎,等. 缺硼胁迫对枳幼苗根系生长及 线粒体功能的影响[J]. 园艺学报, 2024, 51(1): 121-132.
- [58] 李 烨. 浅谈土壤植物营养与农业持续发展[J]. 现代园艺, 2020, 43(14): 29-31.
- [59] 米春意. 铁皮石斛与固氮菌协同适应寡氮胁迫的分子生态机制研究[D]. 杭州; 浙江理工大学, 2019; 23-28.
- [60] 葛诗蓓, 张学宁, 韩文炎, 等. 植物类黄酮的生物合成及其抗 逆作用机制研究进展[J]. 园艺学报, 2023, 50(1): 209-224.
- [61] LANDI M, TATTINI M, GOULD K S. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions [J]. Environmental and Experimental Botany, 2015, 119: 4-17.

(责任编辑:吴芯夷)

附表 1 铁皮石斛全营养对照(CK)及缺素处理的营养液配方 Supplementary table 1 Nutrient solution formula for the control with total nutrition (CK) and element deficiency treatments of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo

缺素处理 Element	大量元素浓度/(mmol⋅L ⁻¹) Macroelement concentration										
deficiency treatment	NH ₄ Cl	$NaNO_3$	KNO_3	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	$\mathrm{KH_{2}PO_{4}}$	KCl	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	$(\mathrm{NH_4})_{2}\mathrm{SO_4}$	
CK	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50	1.25					
N				2.99	1.50	1.25	18.80				
P	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50		1.25				
K	20.61	39.41		2.99	1.50				1.25		
Ca	20.61	20.61	18.80		1.50	1.25					
Mg	17.61	20.61	18.80	2.99		1.25				1.50	
S	20.61	20.61	18.80	2.99		1.25		1.50			
Fe	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50	1.25					
Mn	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50	1.25					
Cu	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50	1.25					
Zn	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50	1.25					
В	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50	1.25					
Mo	20.61	20.61	18.80	2.99	1.50	1.25					

续附表 1 Supplementary table 1 (Continued)

缺素处理 Element	微量元素浓度/(μmol·L ⁻¹) Microelement concentration									
deficiency treatment	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	Na ₂ -EDTA	H_3BO_3	$MnSO_4 \cdot H_2O$	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	MoO_3	KI	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	
CK	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
N	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
P	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
K	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
Ca	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
Mg	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
S	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
Fe			100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
Mn	100.00	100.00	100.00		30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
Cu	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00		1.18	5.00	0.10	
Zn	100.00	100.00	100.00	100.00		0.10	1.18	5.00	0.10	
В	100.00	100.00		100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10	
Mo	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10		5.00	0.10	

(上接第 38 页 Continued from page 38)

- [12] 胡蓝方,李艳梅,沈 甜,等. 攀枝花钒钛磁铁尾矿土壤中苜蓿根瘤菌的多样性与促生效应[J]. 四川农业大学学报, 2019, 37(4):504-510.
- [13] 鲁一薇,崔纪菡,郭 帅,等. 缺氮胁迫对谷子幼苗生长发育的影响[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(3): 18-25.
- [14] 陈小芳,于德花,宁 凯,等. 盐胁迫下苜蓿种质资源萌发特性综合评价[J]. 草地学报,2017,25(5):1115-1125.
- [15] 王 新, 贾永锋. 紫花苜蓿对土壤重金属富集及污染修复的潜力[J]. 土壤通报, 2009, 40(4): 932-935.
- [16] 李亚静,郭振清,杨 敏,等. 施氮量对强筋小麦氮素积累和 氮肥农学利用效率的影响[J]. 麦类作物学报,2020,40(3):343-350.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 270.
- [18] 彭莉润,谢昶琰,刘慧冉,等.不同梨砧木幼苗钾营养效率的 差异[J]. 南京农业大学学报, 2018, 41(3): 465-472.
- [19] 康占军, 岑 静, 宋明义, 等. 浙北水稻植株中硒及重金属元素分布特征[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(7): 349-351.
- [20] 黑泽文,向慧敏,章家恩,等. 豆科植物修复土壤重金属污染研究进展[J]. 生态科学, 2019, 38(3): 218-224.
- [21] PACHECO-INSAUSTI M C, PONCE I T, QUIÑONES M A, et al. Effects of inoculation with stress-tolerant rhizobia on the response of alfalfa (*Medicago sativa L.*) to combined salinity and cadmium stress[J]. Plants, 2023, 12; 3972.
- [22] 马占强, 赵龙飞, 王 莉, 等. 铜胁迫对苜蓿中华根瘤菌抗氧 化酶系的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(6): 1058-1063.
- [23] 韦革宏, 马占强. 根瘤菌-豆科植物共生体系在重金属污染环境修复中的地位、应用及潜力[J]. 微生物学报, 2010, 50 (11): 1421-1430.

- [24] MANOJ S R, KARTHIK C, KADIRVELU K, et al. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria; a review [J]. Journal of Environment Management, 2020, 254; 109779.
- [25] CHEN J, LIU Y Q, YAN X W, et al. Rhizobium inoculation enhances copper tolerance by affecting copper uptake and regulating the ascorbate-glutathione cycle and phytochelatin biosynthesisrelated gene expression in *Medicago sativa* seedlings [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 162; 312-323.
- [26] 黄益宗, 郝晓伟, 雷 鸣, 等. 重金属污染土壤修复技术及其修复实践[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 409-417.
- [27] HERRIDGE D F, PEOPLES M B, BODDEY R M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems [J]. Plant Soil, 2008, 311; 1-18.
- [28] 张春雨,王海娟,王宏镔.赤霉素介导下植物对重金属的耐性机理[J].生态与农村环境学报,2020,36(2):137-144.
- [29] WANG D, YANG S, TANG F, et al. Symbiosis specificity in the legume-rhizobial mutualism [J]. Cellular Microbiology, 2012, 14 (3): 334-342.
- [30] HU Y F, QIAN C, ZHAO X, et al. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on the growth and phosphorus allocation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2024, 24: 343-353.
- [31] 师尚礼,曹致中,赵桂琴. 苜蓿根瘤菌有效性及其影响因子分析[J]. 草地学报,2007,15(3):221-226.
- [32] 安志装,王校常,施卫明,等.重金属与营养元素交互作用的植物生理效应[J].土壤与环境,2002,11(4):392-396.
- [33] 赵长风,王 椰,段土鑫,等. 铬胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生理响应的主成分分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50 (19): 176-182.

(责任编辑: 佟金凤)