

## 锰有效性对大豆锰、铁和磷吸收及其分布的影响

严炜<sup>1,2</sup>, 刘国道<sup>1</sup>, 田江<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南儋州 571737; <sup>2</sup>华南农业大学资源与环境学院根系生物学研究中心, 广州 510642

**摘要:** 本文研究外源锰有效性对大豆生长和锰、铁、磷吸收及其分布影响的结果表明, 在锰缺乏和锰浓度超过 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的处理条件下, 大豆生长受到明显抑制。随着外源锰浓度增加, 大豆体内, 尤其在老叶中锰浓度显著增加。锰和铁之间存在一定的拮抗作用。缺锰和锰毒不影响大豆对磷的吸收。但是, 缺锰显著影响磷在老叶和新叶中的分配。

**关键词:** 锰缺乏; 锰毒害; 磷; 铁; 大豆

## Effects of Manganese Availability on Acquisition and Distribution of Manganese, Iron and Phosphorus in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]

YAN Wei<sup>1,2</sup>, LIU Guo-Dao<sup>1</sup>, TIAN Jiang<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Tropical Crops Genetic Resource Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan 571737, China;

<sup>2</sup>Root Biology Center, College of Natural Resources and Environment Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

**Abstract:** Effects of manganese availability on soybean (*Glycine max*) growth, acquisition of manganese, iron and phosphorus were investigated. The results showed that soybean growth was significantly inhibited when manganese was deficient or beyond 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  in the media. With increase of manganese concentration, more manganese was accumulated in plants, especially in old leaves. Antagonistic effects were observed between manganese and iron. Acquisition of phosphorus was not affected by manganese availability. However, distribution of phosphorus in old and young leaves was significantly influenced by manganese deficiency.

**Key words:** manganese deficiency; manganese toxicity; phosphorus; iron; soybean

锰是植物维持正常生命活动所必需的微量元素之一。培养介质中锰过量或缺乏, 导致叶绿素合成减少、光合作用受阻、活性氧累积和体内激素平衡受到破坏, 造成植物生长, 尤其是叶部和根尖分生区的生长受到明显的抑制(Santandrea等1998; 臧小平1999)。在长期的进化过程中, 植物形成了一系列适应锰毒害的机制, 包括抗氧化酶活性的提高、有机酸分泌的增加、锰在叶部质外体和液泡的分隔等(González等1998; Santandrea等2000; 徐圣友等2003; Fecht-Christoffers等2003)。最近的研究表明, 其它营养元素(如Ca、Mg、P、Fe和Si等)的有效性可以影响植物对锰毒害的抗性(Rogalla和Römheld2002; Hauck等2003; Sarkar等2004; Dou等2009)。由于Ca、Mg、Fe与Mn存在拮抗作用, 所以较高浓度的Ca、Mg和Fe可以抑制植物对Mn的吸收, 缓解Mn毒害对植物生长的抑制作用(臧小平1999; Hauck等2003; Dou等2009)。对马铃薯和黄瓜的研究表明, 提高植物对

P和Si的吸收可以降低植株体内锰活性, 从而提高植物抵御锰毒害的能力(Sarkar等2004; Dou等2009)。

大豆是重要的粮食、油料和饲料兼用作物。土壤缺锰和锰毒害是限制大豆生产的重要障碍因子之一(Heenan和Campbell1980)。但是, 关于外源锰有效性影响大豆生长以及大豆耐锰毒害的研究甚少。本研究以大豆品种‘华春3号’为材料, 研究了外源锰有效性对大豆生长和锰、铁、磷吸收和分布的影响, 探讨了锰缺乏和毒害抑制大豆生长的部分生理机制。

### 材料与方法

本次试验供试大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]品

收稿 2010-02-28 修定 2010-04-28

资助 华南农业大学校长基金(4200-K08172)。

\* 通讯作者(E-mail: jtian@scau.edu.cn; Tel: 020-85280156)。

种为‘华春3号’。种子经3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  消毒后, 播入石英砂中在  $25\text{ }^\circ\text{C}$  暗室催芽, 发芽后搬入大棚进行培养, 温度为  $25\text{ }^\circ\text{C}/18\text{ }^\circ\text{C}$  (昼/夜), 湿度为75%, 光照强度为  $800\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。待第1片三出复叶展开时选取生长一致的幼苗, 移栽至14 L 塑料盆中进行水培, 塑料盆长  $40\text{ cm}\times$  宽  $30\text{ cm}\times$  高  $12\text{ cm}$ 。水培营养液为1/2Hoagland溶液, 每7 d更换1次营养液, 每2 d用KOH或 $\text{H}_2\text{SO}_4$  调节pH值至5.8。

幼苗培养1周后, 待第2片三出复叶完全展开时, 对大豆幼苗进行锰处理, 即采用1/2Hoagland+硫酸锰( $\text{MnSO}_4$ )的营养液进行水培, 设7个锰浓度梯度, 分别为0、5、10、50、100、200和 $400\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。营养液pH值每天用KOH或 $\text{H}_2\text{SO}_4$  调至5.0。锰处理5 d后, 待锰浓度为 $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的大豆新叶(从上往下数第1片完全展开叶)出现黄褐色缺锰斑块(老叶无明显症状), 锰浓度 $50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的大豆老叶(从下往上数第1片完全展开叶)出现褐色斑点(新叶无明显症状)后(图1), 收获大豆植株, 测定各种指标。

大豆植株在 $75\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘至恒重后, 称取干重。老叶上锰氧化斑数目的测定采用方格法(Horst等1999), 即用 $1\text{ cm}^2$ 的透明薄膜在待测叶片前段、中段、后段各数3个方格的斑点数目, 取其平均值。植株地上部和根部锰、铁含量的测定采用电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)法。磷的测定采用钼锑抗比色法(Murphy和Riley 1962)。

## 结果与讨论

### 1 不同锰浓度处理对大豆生长的影响

外源锰有效性对大豆叶片的性状有着明显的影响。锰缺乏( $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )时大豆新叶出现黄褐色缺锰斑块。当外源锰浓度为 $50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 大豆老叶出现褐色斑点(图1)。外源锰有效性对大豆生长也具有明显的影响。在锰缺乏的处理条件下, 大豆地上部(除根以外的茎和叶部分)和根部干重受到明显的抑制(图2)。大豆地上部干重在锰浓度为 $5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最高, 当锰浓度为5、10、 $50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 大豆根部干重达到最高。大豆地上部干重在锰浓度为 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时即开始出现缓慢下降, 锰浓度为 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 与锰浓度为 $5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 相比, 干重出现显著下降, 而根部干重在锰浓度为 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时才显著下降, 显示大豆地上部生长对锰毒害的反应比根部敏感。

### 2 不同锰浓度处理下大豆老叶锰氧化斑数目的变化

植株老叶出现锰氧化斑是植物受锰毒害的症状之一。当锰浓度为0、5、 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 老叶没有发现明显锰氧化斑。但是, 当锰浓度为 $50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 老叶出现明显的锰氧化斑, 而且随着锰处理浓度的提高, 锰氧化斑数目显著增加, 在 $400\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Mn处理下达到69个 $\cdot\text{cm}^{-2}$ (图3)。而从图2看出, 锰浓度为 $50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时植株地上部和地下部的生物量并没有受到显著的抑制, 说明锰毒的症状表现与植株生物量的受抑制作用并不同步。此

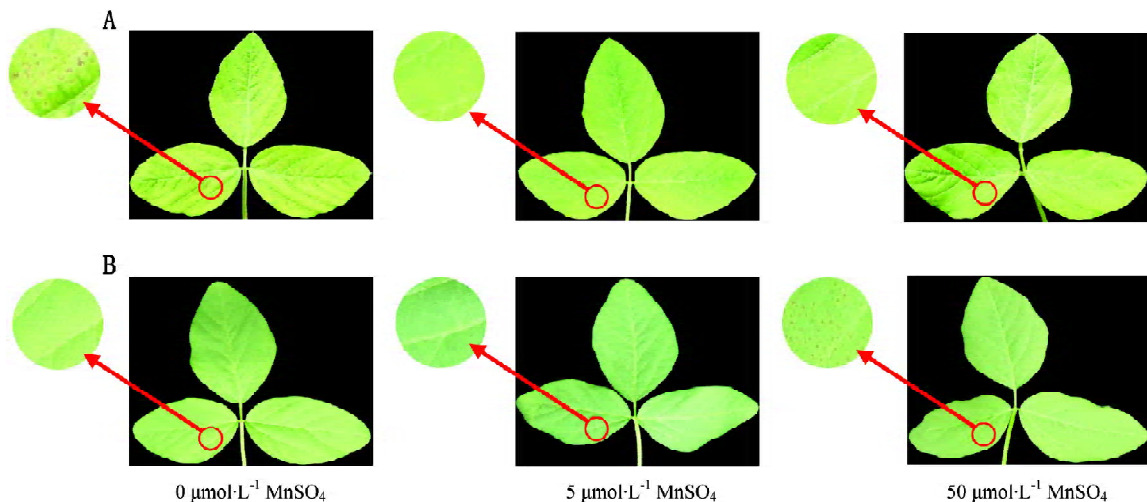


图1 大豆老叶和新叶在不同锰浓度处理下的性状

Fig.1 Characters of old and new soybean leaves at different manganese levels

A: 新叶; B: 老叶。

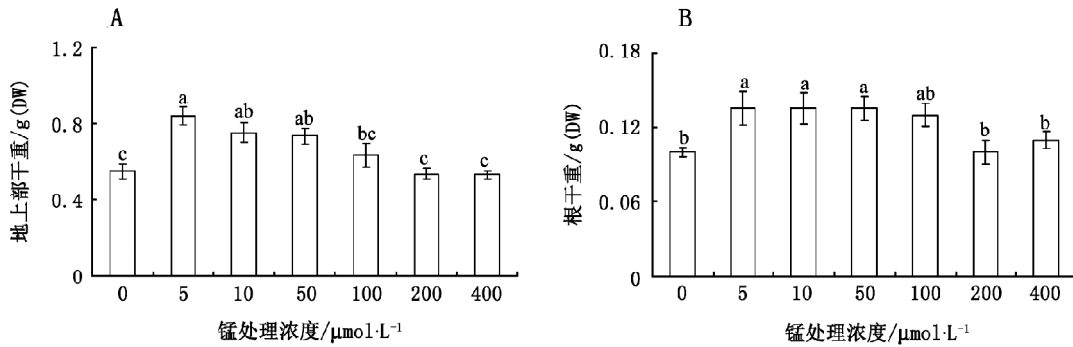


图2 不同锰浓度处理对大豆地上部和根部干重的影响

Fig.2 Effects of different manganese levels on dry weight of shoots and roots in soybean

A: 地上部; B: 根部。不同字母代表在0.05水平差异显著, 下图同此。

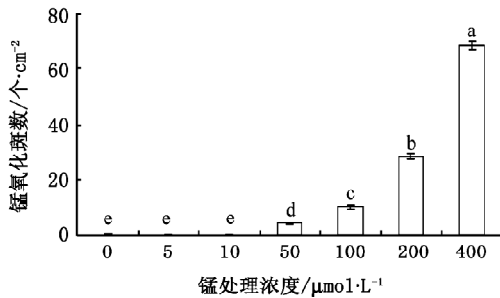


图3 不同锰浓度处理下大豆老叶锰氧化斑数

Fig.3 Amount of the oxydic speckles in old leaves of soybean at different manganese levels

外, 锰浓度为  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时植株体内锰浓度显著提高(表1)。这表明大豆‘华春3号’的锰毒临界处理浓度为  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 3 不同锰浓度处理对大豆地上部和根部锰、铁和磷浓度的影响

外源锰浓度显著影响植株地上部锰浓度、铁浓度以及锰铁比(表1)。当外源锰浓度为  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 其地上部锰浓度显著增加, 并且随着外源锰浓度的增加而显著提高。与锰浓度变化趋势不同, 植株地上部的铁浓度随着外源锰浓度的提高而降低, 尤其当锰浓度从  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  提高到  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  及从  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  提高到  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 其铁浓度分别降低了30%和28%, 说明锰与铁之间存在一定的拮抗作用, 这与前人的研究结果相符(莫尔维德特等1984; 邹邦基和何雪晖1985; Hauck等2003)。虽然锰浓度的提高显著增加了锰铁比(Mn/Fe), 但是对地上部磷的浓度没有明显的影响。

表1 不同锰浓度处理对地上部和根部锰、铁、磷浓度和锰铁比率的影响

Table 1 Concentrations of manganese, iron, phosphorus and the ratio of manganese to iron in the shoots and roots at different manganese levels

锰处理浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	地上部				根部			
	锰浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	铁浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	锰铁比	磷浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	锰浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	铁浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	锰铁比	磷浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)
0	$0.02\pm 0^e$	$0.47\pm 0.01^a$	$0.04\pm 0^e$	$7.87\pm 0.30^a$	$0.03\pm 0^f$	$2.08\pm 0.03^a$	$0.01\pm 0^f$	$12.78\pm 0.59^a$
5	$0.04\pm 0^e$	$0.33\pm 0.01^b$	$0.13\pm 0.01^e$	$7.91\pm 0.18^a$	$0.24\pm 0.01^{ef}$	$1.40\pm 0.08^b$	$0.17\pm 0.01^{ef}$	$11.81\pm 0.28^a$
10	$0.06\pm 0^e$	$0.32\pm 0.03^b$	$0.20\pm 0.01^e$	$7.45\pm 0.45^a$	$0.38\pm 0.03^e$	$1.31\pm 0.13^b$	$0.29\pm 0.02^e$	$12.15\pm 0.83^a$
50	$0.17\pm 0^d$	$0.23\pm 0.01^c$	$0.75\pm 0.02^d$	$7.76\pm 0.31^a$	$1.10\pm 0.09^d$	$1.49\pm 0.12^b$	$0.74\pm 0.04^d$	$13.25\pm 0.43^a$
100	$0.29\pm 0.02^c$	$0.24\pm 0.02^c$	$1.23\pm 0.06^c$	$7.95\pm 0.47^a$	$1.55\pm 0.24^c$	$1.43\pm 0.05^b$	$1.08\pm 0.06^c$	$12.05\pm 0.52^a$
200	$0.52\pm 0.01^b$	$0.26\pm 0.01^c$	$1.98\pm 0.07^b$	$8.54\pm 0.48^a$	$2.43\pm 0.37^b$	$1.35\pm 0.06^b$	$1.78\pm 0.05^b$	$12.89\pm 0.24^a$
400	$0.87\pm 0.03^a$	$0.27\pm 0.01^c$	$3.22\pm 0.10^a$	$8.64\pm 0.48^a$	$2.86\pm 0.07^a$	$1.41\pm 0.17^b$	$2.09\pm 0.20^a$	$11.72\pm 1.00^a$

表中同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 下表同此。

与地上部锰浓度、磷浓度和 Mn/Fe 变化相似, 外源锰浓度的增加显著提高根部锰浓度和 Mn/Fe。没有影响根部磷的浓度(表 1)。但地下部的铁浓度并没有出现显著差异, 而地上部铁浓度显著降低, 暗示了锰可能主要抑制了铁从地下部往地上部运输的过程。

#### 4 不同锰浓度处理对大豆老叶和新叶锰、铁和磷浓度的影响

进一步研究外源锰浓度为 0、5、50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时老叶和新叶中锰、铁、磷浓度及锰铁比率的变化结果(表 2)表明, 外源锰浓度的提高显著增加了老叶锰的浓度和 Mn/Fe。锰处理显著降低了老叶的铁浓度, 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  锰处理显著降低了老叶的磷浓度。

与老叶的变化趋势相似, 外源锰浓度的提高增加了新叶锰的浓度和 Mn/Fe, 并在 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  锰处理时与对照有显著提高。锰处理显著降低了新叶铁和磷的浓度(表 2)。但与老叶不同的是, 随着锰处理浓度的提高, 新叶铁和磷的浓度显著下降, 说明在

锰胁迫下, 新叶不仅受到锰的直接毒害作用, 而且还面临铁缺乏的胁迫。

锰在植株组织内分布不均和移动性差可能是造成缺锰与锰毒症状在新叶和老叶表现差异的重要原因。在缺锰处理下, 新叶锰浓度显著低于老叶, 缺锰时新叶先出现症状(图 1-A), 说明老叶中的锰难以移动到新叶维持其正常生长。在锰处理下, 锰毒症状首先在老叶上出现(图 1-B), 老叶的锰浓度也显著高于新叶(表 2)。说明了锰处理条件下, 老叶和新叶中锰的分配不均, 老叶过多的累积锰, 导致锰毒害的症状比新叶明显。此外, 在缺锰的处理下, 明显提高了叶部, 尤其是新叶磷浓度(表 2), 且缺锰时新叶磷的浓度是老叶的 1.9 倍, 说明缺锰可以影响磷在不同部位的分布。缺锰处理条件下, 新叶磷浓度的显著提高, 可能是新叶比老叶出现明显缺锰症状的原因之一。因为, 植株体内的磷酸盐有固定锰的作用, 磷浓度的提高降低了锰的有效性, 导致了锰缺乏的加重(Hauck 等 2002; Shao 和 Sun 2007)。

表 2 不同锰浓度处理下新叶和老叶的锰、铁、磷浓度及锰铁比率

Table 2 Concentrations of manganese, iron, phosphorus and the ratio of manganese to iron in the new and old leaves at different manganese levels

锰处理浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	老叶				新叶			
	锰浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	铁浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	锰铁比	磷浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	锰浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	铁浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	锰铁比	磷浓度 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)
0	0.02±0 <sup>c</sup>	0.29±0.01 <sup>a</sup>	0.06±0 <sup>c</sup>	5.18±0.34 <sup>a</sup>	0.01±0 <sup>b</sup>	0.27±0.02 <sup>a</sup>	0.04±0 <sup>b</sup>	9.76±0.48 <sup>a</sup>
5	0.06±0.02 <sup>b</sup>	0.22±0.02 <sup>b</sup>	0.28±0.09 <sup>b</sup>	4.56±0.11 <sup>ab</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>	0.18±0 <sup>b</sup>	0.21±0.07 <sup>b</sup>	5.69±0.50 <sup>b</sup>
50	0.34±0.01 <sup>a</sup>	0.24±0 <sup>b</sup>	1.38±0.04 <sup>a</sup>	4.33±0.13 <sup>b</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>c</sup>	2.05±0.17 <sup>a</sup>	5.81±0.63 <sup>b</sup>

#### 参考文献

莫尔维德特 JJ, 吉奥尔达诺 PW, 林赛 WL (1984). 农业中的微量元素. 北京: 农业出版社, 194~226

徐圣友, 姚青, 王贺, 张福锁, 于忠范, 姜学龄 (2003). 对锰害敏感性不同的两个苹果品种枝条中锰的积累与分布. 园艺学报, 30 (1): 19~22

臧小平 (1999). 土壤锰毒与植物锰的毒害. 土壤通报, 30 (3): 139~141

邹邦基, 何雪晖 (1985). 植物的营养. 北京: 农业出版社, 219~228

Dou CM, Fu XP, Chen XC, Shi JY, Chen YX (2009). Accumulation and interaction of calcium and manganese in *Phytolacca americana*. Plant Sci, 177 (6): 601~606

Fecht-Christoffers MM, Braun HP, Lemaitre-Guillier C, VanDorselaer

A, Horst WJ (2003). Effect of manganese toxicity on the proteome of the leaf apoplast in cowpea. Plant Physiol, 133 (4): 1935~1946

González A, Steffen KL, Lynch JP (1998). Light and excess manganese: implications for oxidative stress in common bean. Plant Physiol, 118 (2): 493~504

Hauck M, Paul A, Gross S, Raubuch M (2003). Manganese toxicity in epiphytic lichens: chlorophyll degradation and interaction with iron and phosphorus. Environ Exp Bot, 49 (2): 181~191

Hauck M, Paul A, Mulack C, Fritz E, Runge M (2002). Effects of manganese on the viability of vegetative diaspores of the epiphytic lichen *Hypogymnia physodes*. Environ Exp Bot, 47 (2): 127~142

- Heenan DP, Campbell LC (1980). Growth, yield components and seed composition of two soybean cultivars as affected by manganese supply. *Aust J Agric Res*, 31 (3): 471~476
- Horst WJ, Fecht M, Naumann A, Wissemeier AH, Maier P (1999). Physiology of manganese toxicity and tolerance in *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *J Plant Nutr Soil Sci*, 162 (3): 263~274
- Murphy J, Riley JP (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal Chim Acta*, 27 (27): 31~36
- Rogalla H, Römheld V (2002). Role of leaf apoplast in silicon-mediated manganese tolerance of *Cucumis sativus* L. *Plant Cell Environ*, 25 (4): 549~555
- Santandrea G, Pandolfini T, Bennici A (2000). A physiological characterization of Mn-tolerant tobacco plants selected by *in vitro* culture. *Plant Sci*, 150 (2): 163~170
- Santandrea G, Schiff S, Bennici A (1998). Effects of manganese on *Nicotiana* species cultivated *in vitro* and characterization of regenerated Mn-tolerant tobacco plants. *Plant Sci*, 132 (1): 71~82
- Sarkar D, Pandey SK, Sud KC, Chanemougasoundharam A (2004). *In vitro* characterization of manganese toxicity in relation to phosphorus nutrition in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Sci*, 167 (5): 977~986
- Shao ZZ, Sun FQ (2007). Intracellular sequestration of manganese and phosphorus in a metal-resistant fungus *Cladosporium cladosporioides* from deep-sea sediment. *Extremophiles*, 11 (3): 435~443