文章编号:1000-7601(2015)04-0166-07

doi:10.7606/j.issn.1000-7601.2015.04.26

# 锰胁迫对大豆氮素吸收利用的影响

金喜军,曲春媛,赵云娜,栗文霞,张玉先 (黑龙江八一农垦大学农学院,黑龙江大庆163319)

摘 要:采用砂培与同位素标记的方法,以最适锰浓度为对照,设置重度锰缺乏(对照浓度的 1/25,SI 表示)、 中度锰缺乏(对照浓度的1/5,S2表示)、中度锰过量(对照浓度的5倍,S3表示)、重度锰过量(对照浓度的25倍,S4 表示)4个不同锰胁迫处理,研究了锰胁迫对大豆矿质氮积累的影响。结果表明:不同锰胁迫处理对除苗期外其他 时期大豆叶片硝酸还原酶(NR)起显著抑制作用,减小幅度范围 15.26%~53.10%,并且抑制作用随胁迫程度的加 深而加重;不同锰胁迫处理降低了苗期和成熟期叶、茎、根和成熟期荚果中硝态氮含量,而对其他时期则存在一定 促进作用;不同锰胁迫处理降低了苗期至鼓粒期大豆各营养器官和成熟期根中氮素含量,而增加了成熟期叶和茎 中氮素含量;锰胁迫处理对结荚期和鼓粒期荚果氮素含量无影响,但显著降低了成熟期荚果氮素含量;不同锰胁迫 处理均对苗期和成熟期叶部矿质氮积累无影响,但显著抑制了盛花期至鼓粒期矿质氮积累,S4处理减小幅度最大, 为 37.34%;不同锰胁迫处理未影响苗期和盛花期茎、根部矿质氮的积累,但显著抑制了结荚期至成熟期的积累;锰 胁迫显著抑制了荚果和全株矿质氮的积累,成熟期 S1、S2、S3 和 S4 处理荚果和全株矿质氮积累量分别较对照减少 了 40.93%、22.85%、26.83%和 42.15%,以及 34.27%、18.38%、22.05%和 34.19%。综合分析表明,锰缺乏和锰过 量胁迫均明显影响大豆矿质氮的同化和积累,抑制作用随胁迫程度的加深而加重。

关键词: 锰胁迫;大豆;矿质氮;硝酸还原酶;硝态氮含量

中图分类号: S565.1 文献标志码: A

## Effects of manganese stress on assimilation of mineral nitrogen in soybean

JIN Xi-jun, OU Chun-Yuan, ZHAO Yun-na, LI Wen-xia, ZHANG Yu-xian

(College of Agronomy, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

Abstract: To investigate the effects of manganese on assimilation of nitrogen in soybean, sand culture method with <sup>15</sup>N tracer technique was employed in this study, using optimal Mn concentration as a control to evaluate the results from four manganese stress treatments including 2 manganese deficiency treatments (including serious stress and light stress which were 1/25 (S1) and 1/5 (S2) of optimal Mn concentration respectively) and 2 excess stress treatments (including serious stress and light stress which were 5 (S3) and 25 (S4) times of optimal Mn concentration respectively). The results showed that manganese stress had no significant effects on the activities of NR at seedling stage, but showed significant inhibitory effects at the other growth stages (P < 0.01) with decreasing rates at 15.26% ~ 53.10%. The higher the stress level was, the more severe the inhibitory effects were. Different manganese stresses inhibited NO<sub>3</sub> - N content in leaves, stems and roots at seedling and mature stage and in pods at mature stage, and caused promotion effects at other stages. N contents in vegetative organs during the period from seedling to seed filling stage and in toots at mature stage were inhibited by manganese stress, and were promoted in leaves and root at mature stage. Manganese stress had no significant effects on N contents in pod at pod beginning and seed filling stages, but decreased the N level significantly at mature stage. Manganese stress had no significant effect on mineral nitrogen accumulation in leaves at seedling and mature stages, but inhibited that at full flowering and seed filling stages, with a maximal decreasing rate by S4 at 37.34%. Mineral nitrogen accumulation in stems and roots were not affected by different manganese stress during the period from pod bearing and mature stages. Mineral nitrogen accumulations in pod and the whole plant were also inhibited by man-

通信作者:张玉先(1968—),男,辽宁东沟人,教授,主要研究方向为大豆栽培。E-mail: zyx lxy@126.com。

收稿日期:2014-07-17

基金项目:国家自然科学基金项目(204134008);黑龙江八一农垦大学博士启动基金(XYB2013-03);黑龙江八一农垦大学作物学科学 技术骨干科研启动金项目(ZWXODJ-4)。

作者简介:金喜军(1979—),男,黑龙江嫩江人,博士,助理研究员,研究方向为作物栽培生理。E-mail: shaoxiang1979@163.com。

ganese stress, displaying decreasing rates by S1, S2, S3 and S4 at mature stages as 40.93%, 22.85%, 26.83% and 42.15%, and 34.27%, 18.38%, 22.05% and 34.19%, respectively. The result indicated that assimilation and accumulation of mineral nitrogen were inhibited by deficient and excessive manganese significantly, and inhibitory effects became increased with the increases of stress levels.

Keywords: manganese stress; soybean; mineral nitrogen; NR; NO3 - N content

氮素营养与作物生长发育密切相关,并最终决 定产量和品质<sup>[1]</sup>。大豆是需氮量较多的作物之一, 同时氮素来源较禾本科复杂,包括矿质氮(土壤氮和 肥料氮)和根瘤固氮<sup>[2]</sup>,其中根瘤固氮贡献率为 58.7%,为主要氮素来源<sup>[3]</sup>。然而,矿质氮不仅可以 弥补根瘤固氮在苗期的空白,对于大豆生长发育至 关重要,还与根瘤固氮一样是鼓粒期间籽粒氮素积 累不可缺少的部分<sup>[4]</sup>。实际生产也证实,矿质氮的 施用是获得高产的必要措施之一<sup>[5-7]</sup>。锰与大豆氮 素同化密切相关,包括参与硝态氮的同化<sup>[8]</sup>,并影响 大豆根瘤的形成和固氮酶活性<sup>[9]</sup>。因此,锰素营养 状况必然影响大豆氮素同化和积累。

黑龙江省大豆种植面积和产量均居全国首位, 是我国最主要大豆供应地区<sup>[10]</sup>,对于我国粮食安全 至关重要。然而,由于自然条件如土壤 pH 值和氧 化还原电势<sup>[11-14]</sup>、土壤含水量<sup>[15-16]</sup>、有机质含 量<sup>[17]</sup>等,以及土壤管理措施如耕作和灌溉等因素均 会影响土壤中有效锰的数量,导致土壤中有效锰缺 乏或过量,进而影响大豆氮素同化。而实际生产中, 该地区对锰肥施用重视程度不够。本试验以最适锰 浓度为对照,设置不同程度锰缺乏和锰过量浓度处 理,研究锰胁迫对大豆矿质氮同化关键酶 NR 活性 和矿质氮积累的影响,以期为大豆实际生产提供理 论指导。

## 1 材料与方法

## 1.1 试验材料

采用砂培结合<sup>15</sup>N标记的方式培养大豆,所用 塑料桶直径0.38m,高0.30m,桶底钻1cm直径小 孔,并铺一层纱网防止沙子漏出。江沙先通过筛网 去除杂质和大块石子和颗粒,然后用自来水冲洗干 净,在装桶前用蒸馏水冲洗3遍。供试大豆品种为 东农48,由东北农业大学大豆研究所提供。

每桶播种 8 粒种子,至真叶期定苗 4 株,同时开始每天淋浇 500 ml 营养液,营养液成分参考金喜军<sup>[17]</sup>的方法,<sup>15</sup>N标记的(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与营养液其他成分一同施入,直至成熟。至 V2 期进行根瘤菌接种, 具体是将取自上一年同品种大豆田内、冷冻的根瘤研碎,按照 5 g·L<sup>-1</sup>的浓度混入营养液中,一同淋浇大豆幼苗,持续 5 d。

## 1.2 试验处理

以 Hoaland 营养液中锰浓度为对照(经过本实 验室长期试验确认最佳浓度为 MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1.360 mg·L<sup>-1</sup>),分别设置重度锰缺乏处理 S1(对照浓度的 1/25,MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 为 0.054 mg·L<sup>-1</sup>)、中度锰缺乏处理 S2(对照浓度的 1/5,MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 为 0.272 mg·L<sup>-1</sup>)、 中度锰过量处理 S3(对照浓度的 5 倍MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O,为 6.800 mg·L<sup>-1</sup>)以及重度锰过量处理 S4(对照浓度的 25 倍,MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 为 34.000 mg·L<sup>-1</sup>)。

## 1.3 取样

分别在苗期(V<sub>4</sub>)、盛花期(R<sub>2</sub>)、结荚期(R<sub>4</sub>)、鼓 粒期(R<sub>6</sub>)、成熟期(R<sub>8</sub>)取样,选择晴天上午 9:00 进 行,每个处理每次取样 6 盆。地上部自子叶痕处剪 断,按照叶(包括叶片和叶柄)、茎、荚果进行分解。 根部先由自来水洗净,再用蒸馏水洗 3 遍,滤纸吸 干。用于酶活性测定的样品用锡纸包好,放入液氮 中冷冻,而后转移到 – 80℃冰箱中保存待用。用于 氮素含量和<sup>15</sup>N 丰度测定的样品,放入烘箱 105℃杀 青 30 min 后,恒温 80℃烘干至恒重。根部先用自来 水洗净,再用蒸馏水洗 3 遍,滤纸吸干后同样放入烘 箱中杀青烘干至恒重。

## 1.4 指标测定

硝酸还原酶(NR)活性的测定参照 Gangwar 和 Sing 的方法<sup>[18]</sup>;硝态氮含量的测定参照 Gataldo 的方 法<sup>[19]</sup>;氮素含量采用步琦 B – 324 凯氏定氮仪和 K -435 滴定仪测定;<sup>15</sup>N 丰度测定采用 MAT2251 型质 谱仪测定。

## 1.5 数据分析

氮素积累量 = 干物质积累量 × 氮素含量;矿质 氮积累量 = (标记样品的<sup>15</sup>N 丰度 – 自然界<sup>15</sup>N 丰 度):标记<sup>15</sup>N 丰度 × 氮素积累。

采用 SPSS 16.0 进行数据分析。

## 2 结果与分析

## 2.1 锰胁迫对 NR 活性的影响

如表1所示,不同程度锰胁迫处理对 NR 活性 的影响均随生育进程表现出相同的变化趋势,即自 苗期至盛花期逐渐升高,而后快速降低,于鼓粒期达 到最小值。

表 1 猛胁迫对叶片 NR 活性的影响/( $\mu g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ )

Table 1	Effects of	manganese	stresses	on	NR	activities	of	leaf
---------	------------	-----------	----------	----	----	------------	----	------

处理 Treatments	苗期 V4	相对增加率 RIR/%	盛花期 R2	相对增加率 RIR/%	结荚期 R4	相对增加率 RIR/%	鼓粒期 R6	相对增加率 RIR/%
S1	$79.77 \pm 3.23 \mathrm{c}$	-0.78	$98.60\pm6.86\mathrm{c}$	- 26.33	$28.31 \pm 1.40a$	- 53.10	$10.45\pm0.44\mathrm{ab}$	- 45.48
S2	$86.99 \pm 0.92 \mathrm{e}$	8.21	$113.41\pm3.11\mathrm{d}$	- 15.26	$43.49 \pm 3.33 \mathrm{c}$	- 27.95	$12.14 \pm 1.10 \mathrm{c}$	- 36.64
СК	$80.39 \pm 3.72 \mathrm{d}$	—	$133.83 \pm 4.67 \mathrm{e}$	—	$60.36 \pm 1.98 \mathrm{d}$	_	$19.17\pm0.59\mathrm{d}$	_
S3	$72.25\pm2.24\mathrm{b}$	- 10.13	$88.00\pm2.27\mathrm{b}$	- 34.24	$35.36 \pm 2.12 \mathrm{b}$	- 41.42	$10.82\pm0.60\mathrm{b}$	- 43.57
S4	$57.48 \pm 3.70 \mathrm{a}$	- 28.51	$78.93 \pm 2.38a$	- 41.02	$32.86 \pm 1.41\mathrm{b}$	- 45.56	$9.50 \pm 0.49a$	- 50.45

注:平均值±标准误;不同小写字母表示差异达5%显著水平;RIR - Relative increasing ratio;下同。

Note: Means ± standard error; different letters means significantly different at 5% probability levels; RIR - Relative increasing ratio, and hereinafter.

除苗期外,不同程度锰胁迫处理叶片 NR 活性 均较对照明显下降,并且下降幅度随胁迫程度的加 重而加大,下降幅度范围 15.26%~53.10%。结荚 期(R4)以前,锰缺乏处理(S1和 S2)叶片 NR 活性较 锰过量处理(S3和 T4)高,结荚期(R4)以后,轻度锰 缺乏处理(S2)依然较其他胁迫处理高。以上数据表 明,锰过量胁迫对生育前中期大豆叶片 NR 的抑制 作用较锰缺乏胁迫明显,可能是由于生育前期大豆 对锰需求量不大,籽粒中储存的锰在一定程度上能 够满足大豆对锰的部分需求。而在生育中后期,锰 毒害作用日益严重,NR活性受抑制程度加重。

## 2.2 锰胁迫对硝态氮含量的影响

比较不同锰胁迫处理大豆叶硝态氮含量可知 (表 2),苗期锰缺乏胁迫处理(S1和 S2)和重度锰过 量胁迫处理(S4)显著低于对照和中度锰过量胁迫处 理。在盛花期和结荚期则表现为重度锰缺乏处理 (S1)显著高于其他胁迫处理和对照,其他胁迫处理 和对照之间无显著差异。鼓粒期各胁迫处理和对照 间无差异,成熟期则表现为所有胁迫处理均低于对 照,其中锰缺乏处理(S1和 S2)达到显著差异水平。

表 2 锰胁迫对硝态氮含量的影响/ $(mg\cdot kg^{-1}DW)$ 

Table 2 Effects of manganese stresses on content of $NO_3^ N$										
处理 Treatments	部位 Organs	苗期 V4	盛花期 R2	结荚期 R4	鼓粒期 R6	成熟期 R8				
S1		$6.02 \pm 0.42a$	$5.19\pm0.05\mathrm{b}$	$5.02\pm0.05\mathrm{b}$	$4.34 \pm 0.10a$	$9.32\pm0.16\mathrm{b}$				
S2		$7.20\pm0.72\mathrm{b}$	$5.02 \pm 0.37a$	$4.40 \pm 0.16a$	$4.14 \pm 0.52a$	$8.43 \pm 0.16a$				
СК	叶 Leaf	$11.57\pm0.42\mathrm{c}$	$4.29\pm0.10a$	$4.55 \pm 0.31a$	$4.03 \pm 0.11a$	$11.15\pm0.63\mathrm{d}$				
S3	Letu	$11.42\pm0.78\mathrm{c}$	$4.22 \pm 0.52a$	$4.19 \pm 0.05 a$	$4.29 \pm 0.16a$	$10.24\pm0.73\mathrm{c}$				
S4		$6.23 \pm 0.54 \mathrm{ab}$	$4.92\pm0.37a$	$4.56\pm0.32a$	$4.62\pm0.47a$	$10.53\pm0.04\mathrm{cd}$				
S1		$10.00 \pm 0.52a$	$3.30 \pm 0.10a$	$2.24 \pm 0.08a$	$1.78\pm0.05\mathrm{b}$	$1.05\pm0.16\mathrm{b}$				
S2		$11.20\pm0.26\mathrm{ab}$	$3.77 \pm 0.37a$	$2.25 \pm 0.21a$	$1.89\pm0.11\mathrm{b}$	$0.78\pm0.21\mathrm{ab}$				
СК	茎 Stem	$15.86 \pm 2.51 \mathrm{c}$	$4.34 \pm 0.21a$	$2.20 \pm 0.06a$	$1.03 \pm 0.08a$	$0.68 \pm 0.11a$				
S3	otom	$13.16\pm0.54\mathrm{b}$	$5.76\pm0.58\mathrm{b}$	$3.30\pm0.63\mathrm{b}$	$0.94 \pm 0.06a$	$1.73\pm0.31\mathrm{c}$				
S4		$11.78 \pm 1.78 \mathrm{ab}$	$6.59 \pm 1.10 \mathrm{b}$	$2.30\pm0.05\mathrm{aA}$	$0.95 \pm 0.05 a$	$1.05\pm0.05\mathrm{b}$				
S1		$4.43 \pm 0.23a$	$2.25 \pm 0.10a$	$1.35\pm0.11\mathrm{c}$	$1.35 \pm 0.10a$	12.09 ± 12.09a				
S2		$4.44 \pm 0.30a$	$2.53\pm0.03\mathrm{b}$	$1.20 \pm 0.32a$	$1.20 \pm 0.32a$	$11.27 \pm 11.27 a$				
СК	根 Boot	$5.48 \pm 0.49 \mathrm{b}$	$3.51\pm0.21\mathrm{c}$	$1.21\pm0.11\mathrm{bc}$	$1.21 \pm 0.11a$	$17.33 \pm 17.33\mathrm{b}$				
S3	1001	$5.32\pm0.26\mathrm{b}$	$3.56\pm0.05\mathrm{c}$	$1.94 \pm 0.03$ ab	$1.94\pm0.04\mathrm{b}$	$11.99 \pm 11.99a$				
S4		$4.49\pm0.40a$	$2.14\pm0.10a$	$1.15\pm0.15\mathrm{c}$	$1.15 \pm 0.16a$	$11.83 \pm 11.83 \mathrm{a}$				
S1		—	—	$6.86\pm0.10\mathrm{c}$	$4.45 \pm 0.31a$	$6.04\pm0.63\mathrm{d}$				
S2	-11-	_	—	$5.55 \pm 0.05a$	$5.55 \pm 0.37a$	$5.26\pm0.58\mathrm{bc}$				
СК	荚 Pod	_	—	$6.49\pm0.05\mathrm{bc}$	$4.56 \pm 0.11a$	$3.88 \pm 0.25a$				
S3	104	—	—	$6.02\pm0.21\mathrm{ab}$	$4.08\pm0.05a$	$4.58\pm0.31\mathrm{ab}$				
S4		—	—	$6.80\pm0.47\mathrm{c}$	$4.12 \pm 0.24$ a	$5.62\pm0.10\mathrm{cd}$				

苗期所有胁迫处理茎硝态氮含量均显著低于对 照,自盛花期至成熟期表现为中度锰过量胁迫处理 (S3)显著高于其他处理和对照。

苗期和盛花期,除中度锰过量胁迫处理(S3)外 其他胁迫处理根硝态氮含量显著低于对照。结荚期 则表现为两个重度胁迫处理(S1和S4)略高于对照, 并显著高于两个中度胁迫处理(S2和S3)。鼓粒期 中度锰过量胁迫处理(S3)显著高于其他处理和对 照,其他处理与对照间无显著差异。至成熟期,所有 锰胁迫处理均显著低于对照。

结荚期两个重度胁迫处理(S1和S4)荚果硝态 氮含量均高于对照,并显著高于两个中度胁迫处理 (S2和S3)。鼓粒期各胁迫处理与对照之间无显著 差异。至成熟期,不同锰胁迫处理均显著高于对照, 并且荚果硝态氮含量随胁迫程度的加重而增大。

## 2.3 锰胁迫对氮素含量的影响

比较不同锰胁迫处理对大豆叶氮素含量的影响 可知(表 3),苗期重度锰缺乏处理(S1)显著低于对 照和其他胁迫处理,其他胁迫处理与对照在数值上 略有差别,但未达到显著水平。自盛花期至鼓粒期, 均表现为胁迫处理在数值上小于对照,并且差值随 着胁迫程度的加重而加大。成熟期,则表现为各胁 迫处理均大于对照。

与叶相同,茎氮素含量在数值上也大体表现为 苗期至鼓粒期对照较各胁迫处理高或接近,至成熟 期则低于各胁迫处理。

苗期根氮素含量在各胁迫处理和对照间无显著 差异,自盛花期至成熟期则大体表现为对照较各胁 迫处理高或接近。

结荚期和鼓粒期,荚果氮素含量在各锰胁迫处 理和对照之间无显著差异,至成熟期则表现为不同 程度锰胁迫处理低于对照,并且中度锰胁迫处理 (S3)显著低于对照。

#### 2.4 锰胁迫对矿质氮积累的影响

如表 4 所示,比较各时期不同程度锰胁迫处理 和对照叶部矿质氮积累可知,锰胁迫并未抑制苗期 叶片矿质氮的积累。自盛花期至鼓粒期,不同程度 锰胁迫处理明显抑制叶部矿质氮的积累,达到显著 差异。成熟期,重度锰过量处理略高于对照和其他 胁迫处理,可能由于锰过量限制了氮素由叶片向籽 粒的转移。

表 3 锰胁迫对氮素含量的影响/% Table 3 Effects of manganese stresses on content of N

			e			
处理 Treatments	部位 Organs	苗期 V4	盛花期 R2	结荚期 R4	鼓粒期 R6	成熟期 R8
S1		$3.27 \pm 0.21a$	$3.33 \pm 0.33a$	$2.61 \pm 0.14 \mathrm{ab}$	$2.03 \pm 0.15$ ab	$1.46\pm0.12\mathrm{b}$
S2		$3.66\pm0.20\mathrm{b}$	$3.41 \pm 0.22a$	$2.74\pm0.24 ab$	$2.23\pm0.03\mathrm{bc}$	$1.45\pm0.09\mathrm{b}$
СК	µ† Leaf	$3.69\pm0.17\mathrm{b}$	$3.57 \pm 0.20a$	$2.85\pm0.18\mathrm{b}$	$2.38\pm0.16\mathrm{c}$	$1.21 \pm 0.09a$
S3	Licui	$3.89 \pm 0.22 \mathrm{b}$	$3.26 \pm 0.25a$	$2.81 \pm 0.04 \mathrm{b}$	$2.32\pm0.17\mathrm{c}$	$1.51\pm0.10\mathrm{bc}$
S4		$3.59\pm0.23\mathrm{ab}$	$3.08\pm0.28a$	$2.49\pm0.12a$	$1.91\pm0.12a$	$1.67\pm0.08\mathrm{c}$
S1		$1.74\pm0.10\mathrm{ab}$	$1.55 \pm 0.09a$	$1.58 \pm 0.07a$	$0.86 \pm 0.06a$	$0.54 \pm 0.02a$
S2		$1.89\pm0.19\mathrm{b}$	$1.59\pm0.10\mathrm{ab}$	$1.57\pm0.09a$	$1.04\pm0.08\mathrm{bc}$	$0.63\pm0.04\mathrm{b}$
СК	茎 Stem	$1.86\pm0.16\mathrm{b}$	$1.81\pm0.06\mathrm{b}$	$1.86\pm0.03\mathrm{b}$	$1.10\pm0.07\mathrm{c}$	$0.55 \pm 0.03a$
S3	Stem	$1.90\pm0.02\mathrm{b}$	$1.64 \pm 0.11$ ab	$1.83\pm0.13\mathrm{b}$	$1.06\pm0.05\mathrm{bc}$	$0.66\pm0.03\mathrm{b}$
S4		$1.61 \pm 0.12a$	$1.55 \pm 0.02a$	$1.42 \pm 0.09a$	$0.97\pm0.07\mathrm{ab}$	$0.59\pm0.04\mathrm{ab}$
S1		$1.62 \pm 0.02a$	$1.93\pm0.13\mathrm{c}$	$1.79 \pm 0.13$ ab	$1.43 \pm 0.09a$	$1.77\pm0.10\mathrm{bc}$
S2		$1.63 \pm 0.11a$	$1.66\pm0.13\mathrm{b}$	$1.65 \pm 0.11a$	$1.48\pm0.07a$	$1.45 \pm 0.11a$
СК	根 Boot	$1.65 \pm 0.14a$	$2.04\pm0.18\mathrm{c}$	$1.82\pm0.03\mathrm{ab}$	$1.72\pm0.08\mathrm{b}$	$1.95\pm0.03\mathrm{c}$
S3	1000	$1.63 \pm 0.02a$	$1.61\pm0.11\mathrm{b}$	$1.86\pm0.13\mathrm{b}$	$1.39\pm0.09a$	$1.70\pm0.12\mathrm{b}$
<del>S</del> 4		$1.65\pm0.09a$	$1.31 \pm 0.11a$	$1.83\pm0.10\mathrm{ab}$	$1.48\pm0.02a$	$1.73\pm0.11\mathrm{b}$
S1		_	_	$3.50 \pm 0.27a$	$4.45 \pm 0.39a$	$5.83 \pm 0.39$ ab
S2		—		$3.68 \pm 0.24a$	$4.45\pm0.07a$	$5.87 \pm 0.42 \mathrm{ab}$
СК	荚 Pod	—	_	$3.58 \pm 0.17a$	$4.20 \pm 0.20a$	$6.42\pm0.40\mathrm{b}$
S3	1.00	—	_	$3.54 \pm 0.27a$	$4.55 \pm 0.07 a$	$5.32 \pm 0.38a$
S4		—		$3.63 \pm 0.23a$	$4.30 \pm 0.37 a$	$6.11 \pm 0.08 \mathrm{b}$

表 4 锰胁迫对矿质氮积累的影响/(mg·株<sup>-1</sup>)

Table 4 Effects of manganese stresses on mineral nitrogen accumulation/(mg·plant<sup>-1</sup>)

处理 Treatments	部位 Organs	苗期 V4	相对增加率 RIR/%	些 盛花期 R2	相对增加率 RIR/%	结荚期 R4	相对增加率 RIR/%	鼓粒期 R6	相对增加率 RIR/%	成熟期 R8	相对增加率 RIR/%
S1		50.90 ± 2.83a	12.94	$92.05 \pm 3.49 \mathrm{b}$	- 17.08	$74.04 \pm 5.83a$	- 23.55	59.19±1.09a	- 23.75	36.47 ± 2.45a	4.80
S2		$47.19 \pm 0.54 \mathrm{a}$	4.70	$110.29 \pm 1.88 \mathrm{c}$	-0.64	$85.63 \pm 4.50 \mathrm{b}$	- 11.59	$72.15\pm9.41\mathrm{b}$	-7.05	40.66 ± 3.30a	16.83
СК	叶 Leaf	$45.07 \pm 3.37a$	—	$111.01\pm3.26\mathrm{d}$	—	$96.86 \pm 5.01 \mathrm{c}$	—	$77.63 \pm 2.36 \mathrm{c}$	—	$34.80 \pm 4.16a$	—
S3	Loui	$52.88 \pm 7.18 \mathrm{b}$	17.34	$92.64 \pm 2.60 \mathrm{b}$	- 16.54	$77.62 \pm 2.74a$	- 19.86	$64.90\pm6.37\mathrm{b}$	- 16.39	37.49 ± 2.17al	7.73
S4		$49.25 \pm 2.47 \mathrm{a}$	9.28	$74.75 \pm 4.89a$	- 32.66	$80.72 \pm 7.40 a$	- 16.66	48.64 ± 1.19a	- 37.34	41.53±5.37 k	19.35
S1		$9.13 \pm 0.46 \mathrm{b}$	5.51	$23.48 \pm 0.47 \mathrm{b}$	4.09	25.84 ± 2.16a	- 12.27	$18.62 \pm 0.97a$	- 21.25	10.59±1.14a	- 10.64
S2		$8.13\pm0.81\mathrm{b}$	-6.02	$22.09\pm0.78\mathrm{b}$	-2.04	28.41 ± 1.65ab	- 3.54	$23.75 \pm 2.55 \mathrm{d}$	0.45	$13.35 \pm 1.06 \mathrm{c}$	12.58
CK	茎 Stem	8.65±0.58ab	. —	$22.55\pm0.89\mathrm{b}$	—	$29.45 \pm 2.26 \mathrm{bc}$	—	$23.64\pm0.74\mathrm{d}$	—	$11.85\pm0.38\mathrm{b}$	· —
S3	Stem	$8.28\pm0.37\mathrm{b}$	- 4.24	$21.66 \pm 1.17 \mathrm{b}$	- 3.96	$34.29 \pm 1.27 \mathrm{c}$	16.42	$20.67 \pm 1.09 \mathrm{c}$	- 12.55	12.65±1.05 k	oc 6.70
S4		$7.39 \pm 0.25a$	- 14.57	$18.35 \pm 1.50a$	- 18.62	$32.36 \pm 3.03 \mathrm{bc}$	9.86	$20.41 \pm 0.40 \mathrm{b}$	- 13.67	10.40 ± 1.03al	0 - 12.23
S1		$10.98\pm0.24\mathrm{b}$	3.74	$22.60 \pm 1.67 \mathrm{b}$	25.38	20.42±1.86a	- 19.94	$15.40 \pm 1.41a$	- 35.43	$14.74 \pm 1.28 \mathrm{b}$	- 1.02
S2		$8.33 \pm 0.46a$	- 21.26	$22.44 \pm 1.52 \mathrm{b}$	24.51	$20.55 \pm 1.86a$	- 19.41	$19.63 \pm 1.17 \mathrm{c}$	- 17.71	$10.57 \pm 0.45a$	- 29.03
СК	根 Boot	$10.58\pm0.51\mathrm{b}$	—	$18.02 \pm 1.30a$	—	$25.50\pm0.74\mathrm{b}$	—	$23.86 \pm 1.04 \mathrm{c}$	—	$14.90 \pm 1.30 \mathrm{b}$	—
S3	1001	8.66±1.11a	- 18.21	$21.94 \pm 1.41\mathrm{b}$	21.72	$24.95 \pm 2.45 \mathrm{b}$	-2.15	$17.91 \pm 1.47 \mathrm{bc}$	- 24.92	$13.16 \pm 1.08 \mathrm{b}$	- 11.68
S4		8.95 ± 1.25a	- 15.41	$21.76 \pm 1.57b$	20.75	$18.04 \pm 1.12a$	- 29.25	17.15 ± 1.25ab	- 28.13	$14.09\pm0.97\mathrm{b}$	-5.43
S1		—	_	—	_	62.86±4.79a	2.38	147.37 ± 14.58a	- 25.84	189.46±8.83a	- 40.93
S2		—	—	—	—	$78.31 \pm 3.64 \mathrm{b}$	27.55	$190.53 \pm 9.96 \mathrm{b}$	-4.13	247.44 ± 13.53	o – 22.85
СК	荚 Pod	—	—	—	_	$61.39 \pm 3.21a$	—	$198.73\pm3.05\mathrm{c}$	—	320.72 ± 15.55	e —
S3	Tou	—	—	—	_	$65.92 \pm 7.80 \mathrm{a}$	7.36	$175.76\pm7.08\mathrm{b}$	- 11.56	234.68 ± 12.03	o – 26.83
S4		_	_	_	—	$58.75 \pm 2.40a$	- 4.31	151.90 ± 11.02a	- 23.57	$185.53 \pm 8.94a$	- 42.15
S1		71.01 ± 3.54a	10.43	$138.12\pm5.63\mathrm{b}$	- 8.88	183.16±14.63a	- 14.09	240.58 ± 18.06a	- 25.71	251.26 ± 4.87a	- 34.27
S2	全株	63.65 ± 1.82a	- 1.02	$154.82 \pm 4.29 \mathrm{c}$	2.14	$212.90 \pm 11.64 \mathrm{b}$	c – 0.14	$306.06 \pm 23.08\mathrm{b}$	c – 5.50	$312.01 \pm 4.93 \mathrm{c}$	- 18.38
CK	Whole	$64.30 \pm 4.46a$	_	$151.58 \pm 4.45 \mathrm{c}$	—	213.21 ± 10.62c	d —	323.86±7.19cd	—	$382.26\pm5.84\mathrm{d}$	_
S3	plant	$69.82 \pm 8.65a$	8.58	$136.24\pm5.18\mathrm{b}$	- 10.12	$202.77 \pm 14.26 \mathrm{b}$	-4.89	279.24 ± 16.01b	- 13.78	$297.97 \pm 4.30\mathrm{b}$	- 22.05
S4		$65.60 \pm 3.98a$	2.01	114.87 ± 7.95a	- 24.22	189.87 ± 13.95a	- 10.95	238.10±13.86a	- 26.48	251.55 ± 7.36a	- 34.19

苗期重度锰过量胁迫(S4)茎部矿质氮积累略低 于对照,而其他胁迫处理则略高于对照,但均未达到 显著差异。盛花期重度锰过量胁迫(S4)显著低于对 照和其他胁迫处理,而其他胁迫处理与对照无显著 差异。自结荚期至成熟期,不同程度锰胁迫处理均 对茎部矿质氮积累起抑制作用,尤其重度锰缺乏 (S1)的限制作用最大。

与对照相比,锰胁迫并未对盛花期根部矿质氮 积累起限制作用,但明显抑制了结荚期和鼓粒期根 部矿质氮积累。至成熟期,仅中度锰缺乏处理明显 低于对照外,其他胁迫处理与对照无显著差异。

不同锰胁迫处理对结荚期荚果矿质氮的积累无影响,但显著抑制了鼓粒期和成熟期荚果矿质氮的积累,并且这种抑制作用随胁迫程度的加重而加重。 至成熟期,S1、S2、S3和S4荚果矿质氮积累量分别 较对照减少了40.93%、22.85%、26.83%和 42.15%。 不同程度锰胁迫处理并未抑制苗期全株矿质氮的积累,但明显抑制了自盛花期至成熟期大豆全株 矿质氮的积累,并且这种抑制作用随胁迫程度的加 重而加重。至成熟期,S1、S2、S3和S4全株矿质氮 积累量分别较对照减少了 34.27%、18.38%、 22.05%和34.19%。

## 3 讨 论

锰作为作物生长发育必需元素之一,参与包括 ATP、蛋白质、脂肪酸合成以及光合作用等多种重要 生理过程<sup>[18-20]</sup>,同时也与硝态氮的同化密切相 关<sup>[21]</sup>,一定范围内的锰浓度是保证作物正常生长的 基础,超过这一范围便出现胁迫现象。本试验数据 显示,除苗期外锰胁迫处理显著降低了其他生育时 期大豆叶片 NR 活性,究其原因,可能是由于锰胁迫 限制了根系对硝态氮的吸收,导致叶片中硝态氮含 量减小<sup>[22-23]</sup>,无法诱导 NR 活性的提高<sup>[24]</sup>。另外, 硝态氮的同化依赖于光呼吸作用[25],锰缺乏和锰过 量均会限制光合产物的形成<sup>[26-27]</sup>,进而影响光呼 吸作用,间接影响硝态氮的同化。硝态氮作为土壤 中可被大豆直接吸收利用的主要无机氮形式之 一<sup>[28]</sup>,对植物无毒害作用<sup>[29]</sup>,主要在根和叶中被还 原,对于大豆营养生长期氮代谢至关重要<sup>[30]</sup>。理论 上认为高硝酸还原酶活性会导致硝态氮含量的降 低,但本试验数据显示锰胁迫不同程度地减小了苗 期叶、茎、根中硝态氮含量,这与硝酸还原酶活性同 步,这可能与根系吸收能力、大豆植株避免产生过多 氨造成毒害而进行的调节有关。至成熟期,各胁迫 处理叶和根中硝态氮含量显著低于对照,可能是由 于成熟期所有胁迫处理和对照叶和根中硝态氮同化 能力均大幅度下降,而对照依然保持较高的根系活 力,吸收较多硝态氮所致。同时值得注意的是,本试 验测得大豆植株各器官硝态氮含量并未随生育进程 的推进一直呈下降趋势,与前人报道<sup>[31-32]</sup>不同,这 是由于大豆植株硝态氮含量的降低并不是大豆本身 的生理特性,而是由于外界可利用硝态氮数量减少 所致,本试验采用砂培淋浇营养液的方式,不存在硝 态氮供应不足的问题。

本试验数据显示,锰胁迫并未抑制苗期大豆不 同器官和全株矿质氮的积累,这可能是由于矿质氮 是大豆生育期前期主要氮源[33],本试验设置的锰过 量胁迫浓度未对苗期大豆根系产生明显影响,另一 方面大豆种子中存在一定量的锰,可在一定程度上 缓解锰缺乏的不利影响,因而并未影响生育前期大 豆对肥料氮的吸收。而自盛花期开始至鼓粒期,随 着锰胁迫累计效果的出现,即锰缺乏与大豆植株对 锰需求量大幅度增加之间的矛盾日渐加大,而锰过 量胁迫导致大豆植株体内锰不断积累,最终导致锰 毒害的发生,致使各器官和全株矿质氮的积累减少。 籽粒中大约90%的氮素来源于根瘤固氮[34],本试验 数据显示鼓粒期间营养器官中的矿质氮素发生了向 籽粒转移的现象,并导致营养器官中矿质氮的积累 量减少。但与对照相比,成熟期锰胁迫处理叶片中 矿质氮积累量高于对照,这可能是由于锰胁迫降低 了叶片中含氮化合物的流动性,阻碍了矿质氮向籽 粒的转移。

#### 参考文献:

 Kumudini S V, Pallikonda P K, Steele C. Photoperiod and E – genes influence the duration of the reproductive phase in soybean[J]. Crop Sci., 2007,47:1510-15171.

- [2] Kumaga F K, Ofori K. Response of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) to bradyrhizobia inoculation and phosphorus application[J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2004,6(2):1560-8530.
- [3] 龚振平,金喜军,马春梅,等.春大豆对不同来源氮素吸收利用 的研究[J].土壤通报,2010,41(5):1138-1141.
- [4] 金喜军,马春梅,龚振平,等.大豆鼓粒期对肥料氮的吸收与分 配研究[J].植物营养与肥料学报,2010,16(2):395-399.
- [5] Farzaneh S, Ali E, Kamel S, et al. Soybean response to nitrogen fertilizer under water deficit conditions[J]. African Journal of Biotechnology, 2011,10(16):3112-3120.
- [6] 董守坤,龚振平,祖 伟.氮素营养水平对大豆氮素积累及产量 的影响[J].植物营养与肥料学报,2010,16(1):65-70.
- [7] 邸 伟,金喜军,马春梅,等.施氮水平对大豆氮素积累与产量 影的研究[J].核农学报,2010,24(3):612-617.
- [8] Ducic T, Polle A. Transport and detoxification of manganese and copper in plants[J]. Braz Journal of Plant Physiol, 2005, 17(1):103-112.
- [10] 严 君,韩晓增,丁 娇,等.东北黑土区大豆生长、结瘤及产量对氮、磷的响应[J].植物营养与肥料学报,2014,20(2):318-325.
- [11] Porter G, Bajita-Locke J, Hue N, et al. Manganese solubility and phytotoxicity affected by soil moisture, oxygen levels, and green manure additions[J]. Comm. Soil Sci, Plant. Anal, 2004, 35(1-2): 99-116.
- [12] Kogelmann W, Sharpe W. Soil acidity and manganese in declining and nondeclining sugar maple stands in Pennsylvania [J]. J. Environ. Qual, 2006,35(2):433-441.
- [13] Watmough S, Eimer M, Dillon P. Manganese cycling in central Ontario forests: Response to soil acidification [J]. Appl. Geochem, 2007,22(6):1241-1247.
- [14] Gherardi M, Rengel Z. The effect of manganese supply on exudation of carboxylates by roots of lucerne (*Medicago sativa*)[J]. Plant Soil, 2004,260(1-2):271-282.
- [15] Sparrow L, Uren N. Oxidation and reduction of Mn in acidic soils: effect of temperature and soil pH[J]. Soil Biol, Biochem, 1987, 19 (2):143-148.
- [16] Conyers M, Uren N, Helyar K, et al. Temporal variation in soil acidity[J]. Aust. J. Soil Res, 1997, 35(5):1115-1130.
- [17] Emilene Andrade, Mário Miyazawa, Marcos A. Pavan, et al. Effect of organic matter on manganese solubility [J]. Braz. arch. biol. technol, 2002,45(1):17-20.
- [18] Pfeffer P E, Tu S, Gerasimowicz W V, et al. In vivo 31P NMR studies of corn root tissue and its uptake of toxic metals[J]. Plant Physiol, 1986,80(1):77-84.
- [19] Scott N. Mogel, Bruce A. McFadden. Chemilum in escence of the manganese(2 + ) – activated ribulose – 1,5 – bisphosphate oxygenase reaction: evidence for singlet oxygen production[J]. Biochemistry, 1990,29(36):8333-8337.

- [20] Ness P J, Woolhouse H W. RNA synthesis in Phaseolus chloroplasts. 1. Ribonucleic acid synthesis and senescing leaves [J]. J Exp Bot, 1980,31(1):223-233.
- [21] Ducic T, Polle A. Transport and detoxification of manganese and copper in plants[J]. Braz. J. Plant Physiol, 2005, 17(1):103-112.
- [22] Shimon Rachmilevitch, Asaph B. Cousins, Arnold J. Bloom. Nitrate assimilation in plant shoots depends on photorespiration[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the Unite States of the Anerican, 2004, 101(31): 11506-11510.
- [23] Li Q, Chen LS, Jiang HX, et al. Effects of manganese-excess on CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose – 1, 5 – bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport of leaves, and antioxidant systems of leaves and roots in Citrus grandis seedlings [J]. BMC Plant Biol, 2010, 10:42.
- [24] Sidsel B S, Pai P, Kristian H L, et al. Latent manganese deficiency in barley can be diagnosed and remediated on the basis of chlorophyll a fluorescence measurements [J]. Plant Soil, 2013, 372 (4):417-429.
- [25] 金喜军,龚振平,马春梅,等.大豆植株苗期至结荚初期对肥料 氮的吸收与分配[J].核农学报,2012,26(5):0809-0814.
- [26] Gangwar S, Singh VP. Indole acetic acid differently changes growth and nitrogen metabolism in Pisum sativum L. seedlings under chromi-

## (上接第97页)

- [3] 程一松,胡春胜,王 成,等.养分胁迫下的夏玉米生理反应与 光谱特征[J].资源科学,2001,23(6):54-58.
- [4] 王纪华,黄文江,赵春江,等.利用光谱反射率估算叶片生化组 分和籽粒品质指标研究[J].遥感学报,2003,7(4):277-284.
- [5] 丛利民,李国志,王登科,等.光谱角技术在多光谱遥感蚀变异 常提取工作中的应用[J].化工矿产地质,2009,31(4):242-246.
- [6] 姚佛军,杨建民,张玉君,等.光谱角制图法与谱线平行分类法
  若干问题的探讨——以 ETM 数据为例[J].遥感应用,2009,1:
  20-22.
- [7] 樊彦国,李翔宇,张 磊,等.基于多波段分析的无阈值自动光 谱角制图分类法[J].地理与地理信息科学,2010,26(2):38-41.
- [8] 谌德荣,孙 波,陶 鹏,等.基于核光谱角余弦的高光谱图像 空间邻域聚类方法[J].电子学报,2008,10:1992-1995.
- [9] 陈 亮,刘代志,黄世奇.基于光谱角匹配预测的高光谱图像无 损压缩[J].地球物理报,2007,50(6):1894-1898.
- [10] 王纪华,王之杰,黄文江,等.冬小麦冠层氮素的垂直分布及光 谱响应[J].遥感学报,2004,8(4):309-316.
- [11] 浦瑞良,宫 鹏.高光谱遥感及其应用[M].北京:高等教育出版社,2000.

um(VI) phytotoxicty: Implication of oxidative stress [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 129(2): 321-328.

- [27] Gataldo D A, Harsoon M, Schrader L E. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue[J]. Commun Soil Sci and Plant Anal, 1975,6(1):47-49.
- [28] 王金陵.大豆[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1982.
- [29] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants[M]. London, UK: Academic Press, Inc, 1986.
- [30] Gadimov A G, Safaraliev P M. Changes in nitrogen status of soybean under influence of symbiotically fixed and bound nitrogen[J]. Tr J of Agriculture and Forestry, 1999, 23:389-392.
- [31] Wilkinson JQ, Crawford NM. Identification and characterization of a chlorate – resistant mutant of Arabidopsis thaliana with mutations in both nitrate reductase structural genes NIAl and NIAZ[J]. Mol Gen Genet, 1993,239(1-2):289-297.
- [32] 王 芳,刘 鹏,朱靖文.镁对大豆根系活力叶绿素含量和膜 透性的影响[J].农业环境科学学报,2004,23(2):235-239.
- [33] 唐巧玉,吴永尧,周大寨,等.硒对大豆根系活力的影响[J].河 南农业科学,2005,7:42-44.
- [34] Adriano T, Mastrodomenico and Larry C. Purcell. Soybean nitrogen fixation and nitrogen remobilization during reproductive development [J]. Crop Sci, 2012,52(3):1281-1289.
- [12] 薛利红,罗卫红,曹卫星.作物水分和氮素光谱诊断研究进展 [J].遥感学报,2003,7(1):73-80.
- [13] Chubachi N R, Asanol Oikava T. The diagnosis of nitrogen of rice plants using chlorophyll meter[J]. Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 1986, 57: 109-193.
- [14] Campbell R J, Mobley K N, Marini R P. Growing conditions alter the relationship between SPAD2501 values and apple leaf chlorophyll [J]. Horticulture Science, 1990, 25: 330-331.
- [15] 牛 铮,陈永华,隋洪智,等.叶片化学组分成像光谱遥感探测 机理分析[J].遥感学报,2000,4(2):125-129.
- [16] 刁万英,李少昆,王克如,等.基于高光谱的膜下滴灌小麦氮素 营养评价研究[J].光谱学与光谱分析,2012,32(5):1362-1366.
- Xiu liang Jin, Wan ying Diao, Chun hua Xiao, et al. Estimation of wheat agronomic parameters using newspectral indices [J].
  PLOS ONE, 2013, 8(8):72736.
- [18] 梁 亮,杨敏华,张连蓬,等.小麦叶面积指数的高光谱反演[J].光谱学与光谱分析,2011,31(6):1658-1662.
- [19] 冯 伟,朱 艳,姚 霞,等.基于高光谱遥感的小麦叶干重和 叶面积指数监测[J].植物生态学报,2009,33(1):34-44.