

锰毒及植物耐性机理研究进展

任立民^{1,2}, 刘 鹏^{1,*}

(1. 浙江师范大学植物学实验室, 金华 321004; 2. 广西大学农学院, 南宁 530004)

摘要 综述了近些年国内外关于锰毒及植物耐锰机理的研究成果, 并指出了存在的问题和发展前景。锰毒是酸性土壤上限制作物产量的重要因子, 国内外针对锰毒及植物耐受机制进行了相关研究, 但进展较为缓慢。锰对植物的毒害效应体现在不同的细胞组织及生理生化水平上, 不同植物耐受锰的机理也存在差异性, 但大都集中在有机酸的螯合解毒、内部积累、外部排斥及氧化等方面。某些锰胁迫所诱导的基因也被筛选出来, 并且部分生物学功能得以鉴定。此外, 锰与其他营养元素间的协同或拮抗作用也得以阐述, 伴随锰超富集植物-商陆在中国的发现, 对锰毒及植物耐性机理的深入研究和探讨, 将会对植物修复技术的开展产生理论和实践意义。

关键词 锰毒; 耐性机制; 植物修复; 超富集植物

文章编号: 1000-0933 (2007) 01-0357-11 中图分类号: Q948.5142 X171 文献标识码: A

Review of manganese toxicity & the mechanisms of plant tolerance

Ren Limin^{1,2}, Liu Peng^{1,*}

1 Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

2 College of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530005, China

Acta Ecologica Sinica 2007, 27 (1): 0357 ~ 0367.

Abstract: Heavy metals, persistent contaminants in the environment, have been increased due to human activities such as industry, agriculture and mining. Manganese (Mn), an essential trace element for plants in which it is involved in redox reactions as a cofactor for many enzymes, represents an important factor in environmental contamination. Excess Mn can lead to toxicity conditions in natural and agricultural sites. Manganese toxicity is one of the most severe growth limiting factors in acid soil which account for 21% of the total arable lands in China.

The physiological mechanisms of Mn toxicity are still not fully understood. Excess Mn has various phytotoxic effects, including reduction of growth, photosynthesis and chlorophyll content, inhibition of enzyme activities and damage to chloroplasts. Moreover, Mn critical toxicity content varies widely with the plant species, age and soil nutrient balance. Generally, high Mn level has direct cytotoxic effects such as extensive cytoplasmic injuries and plasma membrane ruptures in the outer root cap and meristematic cells. Many reports suggested that excessive Mn might cause the induction of oxidative stress. In this case, as a consequence of the uptake of toxic concentrations of Mn, several defense enzymes such as SOD, POD and CAT are induced in the chloroplasts and cytosol as protection against oxidative stress.

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (30540056); 浙江省自然科学基金资助项目 (504135)

收稿日期 2005-11-21; 修订日期 2006-04-07

作者简介 任立民 (1975 ~), 男, 山东东营人, 硕士生, 主要从事植物生理生态和植物营养研究. E-mail: rlmin0@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: pliu99@vip.sina.com

致谢 英国卡迪夫大学 (Cardiff University) 的 Y. S. Yang 教授润色英文摘要, 特此致谢!

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30540056); the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. 504135)

Received date 2005-11-21; **Accepted date** 2006-04-07

Biography Ren Limin, Master candidate, mainly engaged in plant physiological ecology and plant nutrition. E-mail: rlmin0@163.com

The physiological , genetic and molecular mechanisms of Mn-tolerance in plants are not yet clear. The degree of tolerance varies widely in different species and environments. Some reports suggested that some low molecular weight organic acids may play an important role in accumulation of Mn in plants whereas some other studies have not found any clear relationship between them. It is generally accepted that a protective mechanism for Mn-tolerance in plants is probably constituted by a compartmentalization process which can segregate excess Mn from the key metabolic reactions. On the other hand , excess Mn seems to cause a more active extracellular POD covalently bound to the wall , which is considered to be involved in lignification processes. Some manganese-trafficking genes have been identified which are involved in sequestering free manganese ions in the cytoplasm.

The more significant part of Mn-toxicity is its interactions with other mineral elements in particular with P , Ca and Fe. The application of P or Ca can be beneficial in the detoxification of manganese whereas Mn seems to interfere with Fe metabolism.

Although many accomplishments have been achieved , many others remain unsolved. Various hypotheses have been proposed to explain the survival of plants in manganese contaminated environments , including the exclusion , avoidance and compartmentalization of metals , but no final conclusion was obtained. To date , more than 450 species of metal hyperaccumulator plants have been reported in the literature , of which more than 330 are nickel hyperaccumulators. The number of hyperaccumulators for manganese is low and their distribution is restricted in their distribution in some specific localities in the world. With the discovery of the plant *Phytolacca acinosa* Roxb , the first Mn hyperaccumulator in China , increasing research and development work on this plant should therefore be conducted in accordance with the situation that phytoremediation has become a topical research field in the last decade. Future emphasis should be laid on clarifying the patterns of absorption , migration , manganese-chelating , accumulation , compartmentalization , toxicity and detoxification , which can make phytoremediation practical.

Key Words : manganese toxicity ; mechanism of tolerance ; phytoremediation ; hyperaccumulator

随着人口增长和工业的发展 ,废渣废水的排放及矿山废弃地的增加 ,加之各种化学物质在人类活动中的广泛使用 ,重金属污染越来越成为作物生产的限制因子。土壤被重金属污染后 ,不仅影响作物的产量和品质 ,并且可以通过食物链影响人类健康。而且由于重金属在土壤中不易于移动 ,污染土壤的治理变得十分困难 ,其中 ,锰作为一种分布极其广泛的重金属 ,也越来越引起科学家们的注意。

锰是植物生长所必须的微量元素 ,它直接参与植物光合作用中电子传递系统的氧化还原过程及 PSII 系统中水的光解^[1-2] ;同时 ,锰是超氧化物歧化酶 (SOD)的重要组成部分 ,对维持叶绿体膜正常的结构有重要的作用^[3-5] ,但过量的锰同样污染土壤 ,造成对植物的胁迫。在世界许多地方 ,锰毒成为酸性土壤中限制作物产量的重要因素^[6]。锰的来源和分布非常广泛 ,地壳平均含 Mn 1000mg/ kg^[7] ,几乎所有的岩石都含有锰 ,通过风化作用 ,锰从原生矿物中释放出来 ,与 O₂、CO₂⁻³ 和 SiO₂ 结合 ,形成 MnO₂、Mn₃O₄、MnOOH、MnCO₃ 和 MnSiO₃ 等次生矿物 ,另外 ,全世界平均每年排放 Mn 为 1500 万 t^[8]。这些次生矿物和工业排放的锰在酸性土壤条件 (pH < 5. 5) 下 ,会以可溶性锰的形态进入土壤溶液 ,导致植物遭受锰的毒害。我国酸性土壤占全国耕地面积的 21%^[9] ,除了铝毒对作物生产影响最大外 ,锰毒则是酸性土壤上仅次于铝毒的限制因素^[10]。

因此 ,如何控制和减轻锰毒对环境的污染和危害已成为一个日益突出的问题。而常规的污染土壤修复方法 ,如客土换土法、淋洗法、热处理、固化等 ,由于其技术要求高或经济成本昂贵或对土壤结构破坏严重等原因 ,大规模推广存在许多问题^[11]。1983 年美国科学家 Chaney^[12]提出利用超富集植物清除重金属污染土壤的设想 ,沈振国和陈怀满也提出对污染环境整治的重要手段之一是植物修复^[13]。对于修复植物来说 ,除本身的生长特性如植株大小、生长速率等外 ,植物对重金属的富集系数和忍耐能力是决定植物能否适用于植物修复技术的主要因素。目前 ,国内外从各个侧面分别对锰营养进行了研究 ,主要包括锰的化学行为、生物有效

性、土壤及植物锰的临界指标、植物对锰的吸收和利用、锰对植物的生理功能等,但对锰毒的研究仍处于初级阶段,尤其对植物耐性机理的研究还相当薄弱,这主要受植物材料筛选困难、锰化学行为复杂等因素的限制。薛生国等人通过 2000 年以来的实地调查,在中国首次发现了能从土壤中大量富集锰的特殊植物——商陆 (*Phytolacca acinosa* Roxb),这一发现为锰毒的深入研究及植物修复技术的应用提供了可能。本文系统地分析、回顾了当今国内外的研究动态,对今后植物耐锰基因品种的选育及锰超富集植物修复技术的商业化进程进行了评述。

1 锰在土壤中的形态及锰毒症状

锰在土壤中主要有以下几种形态^[4]:有机态锰、矿物态锰及含锰无机盐、水溶态锰、交换态锰。对植物有效的锰可分为 3 类,即水溶性锰、交换态锰和易还原态锰,前两种形态的锰都以 Mn^{2+} 的状态存在,而后者是价数较高的氧化锰中易还原成植物有效 Mn^{2+} 的部分,三者的总和称为活性锰。一般用活性锰作为土壤中可给态锰的指标。也有人认为并不是全部易还原态锰都对植物有效,有效部分只占 1/20 左右,即有效态锰 = 水溶态锰 + 交换态锰 + 1/20 易还原态锰^[5]。

土壤中锰的各个形态之间可以互相转化,但由于土壤环境尤其根际环境是一个复杂的生态系统,影响锰价态变化的因素与 pH 值、Eh 值(氧化还原电位)、含水量(湿度)、微生物、有机质、土壤质地、浸水时间等都有关系,其中 pH 值和 Eh 值的影响最为显著。pH 6~6.5 为锰氧化还原的临界值, pH < 6 时有利 Mn 的还原, pH > 6.5 时则有利 Mn 的氧化;同时,当土壤中的 Eh < 500 mV 时, Mn^{4+} 会被还原成 Mn^{2+} ,增加锰的活性^[6]。Oloma^[7]认为在 pH 6~8 时,不溶态锰转化为可溶态锰的反应与 pH 值和 Eh 值均有关。但当 pH 值为 5 或更低时, Eh 值的影响被 pH 值的影响所掩盖而变得不十分明显。

锰毒由于植物种类、营养物质及土壤环境的不同其表现也不同。Kitao 在日本白桦 (*Betula platyphylla* var. *japonica*) 试验中还发现^[8],锰毒害程度与叶的年龄以及锰的分布和浓度有关。锰毒典型症状类似缺铁,一般在老叶上出现褐斑^[6]。这种坏死的褐斑已被作为锰毒指示性标志来检测植物受锰毒害的程度^[9]。对许多酸性土壤中的植物来说,锰毒比锰缺乏更加常见^[20]。除了工业因素(酸雨沉降等),土壤经多次种植作物后,根际环境也会偏向于酸化,这同样促进了锰离子的释放,造成锰毒的危害。朱端卫等人通过试验发现^[21],在不断轮作的土壤上种植的油菜 (*Brassica campestris* L.) 其幼苗生长往往比较缓慢,植株新叶黄化,成熟叶片失绿明显,严重者边缘皱缩向下卷曲成勺状,并有褐色斑点。经分析,土壤中交换性锰明显增加,从而造成油菜对锰吸收过量。在危害部位上,曾琦等人发现^[22],油菜锰毒害症状首先出现于叶片,然后逐渐向其它部位发展即锰毒首先抑制植物地上部生长,随着锰毒害程度加剧,根系生长也相应受到明显伤害,而植物在其它重金属毒害时,根系才是最直接、最严重的受害器官之一,也就是说,在危害部位上,锰有别于其他重金属。

2 锰毒害植物的生理生化过程

在细胞组织水平上,根尖分生区是锰毒危害的主要部位,锰对细胞的直接伤害是细胞质受损,根冠细胞和分生细胞质膜破裂^[23],同时,膜受伤害或变性的指标可以通过质膜透性来反映。在大豆 (*Glycine max* Merrill) 水培实验中^[24],锰毒使植物细胞原生质膜中的不饱和脂肪酸发生过氧化作用产生丙二醛,大大增强了质膜透性,结果导致植物体内一系列生理生化过程失调。此外,锰毒还可造成中期染色体粘连,影响纺锤丝形成,最终影响有丝分裂的顺利进行^[25]。

在生理生化代谢上,锰毒的影响是多元化的。过量 Mn 条件下,叶片输导组织坏死,蛋白质合成受阻,而叶绿体蛋白的合成受阻更显著^[7],叶绿素 a、b 的含量均显著下降^[26-27],同时还伴随光合速率和呼吸速率的减弱^[28]。还有实验认为^[29],锰由于离子半径、电荷性质及配位化学性质等方面与 Ca^{2+} 有相似之处,能够在一定程度上取代 Ca^{2+} ,在钙调素 (CaM) 中与 Ca^{2+} 产生竞争结合,使 CaM 构象发生改变,并产生相近的生物反应,进而影响 CaM 的正常生理功能的发挥。

目前,对锰毒研究较多的是植物代谢过程中保护酶活性的影响。正常条件下,植物体内活性氧自由基的产生和清除处于相对动态平衡中,植物体内清除氧化自由基主要由 SOD (Superoxide dismutase)、POD

(Peroxidase) 和 CAT (Catalase) 等酶系统和抗氧化物质来完成。锰对细胞膜的伤害,可能破坏了细胞内保护酶系统代谢作用的原有区域性,锰还可能直接取代某些酶中活性的微量元素而使酶活性发生变化甚至受到破坏,三者活性变化依品种和抗性不同而不同,并且受限于一一定的锰浓度范围^[21-22-24]。

对于 SOD 的研究,Bueno 等人^[30]在烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 试验中发现,在包括 Mn 在内的各金属离子处理下,Mn-SOD 在植物体内没有被发现,而 Cu/Zn-SOD 和 Fe-SOD 都在植物体存在。对于这种特异 SOD 的表达,一种假说认为:由于不同胁迫因子使各个亚细胞遭受不同程度的氧化胁迫,而不同的亚细胞器又存在种类特异的 SOD 作为抗氧化保护剂,所以氧化胁迫的程度不同则导致了各种 SOD 表达的差异^[31]。由于 Mn-SOD 一般存在于真核细胞线粒体中,根据这种假说,在锰及其他外界胁迫下,植物线粒体遭受的氧化胁迫的程度可能比其他亚细胞低得多,从而在以上试验中没有被检测出来。

对于 SOD、POD、CAT 之间的关系,相关研究较多,但均未进行深层次的探讨。大豆试验中^[24],在非致死的锰浓度下,POD、CAT 活性随着锰浓度的增加而出现同步增长趋势,当锰达到一定浓度时,两者活性便开始下降,也就是说,POD、CAT 的活性会随着锰浓度的升高而表现一定的峰值变化,最终 POD、CAT 活性达到阈值后开始下降,导致大量活性氧自由基产生,植物开始出现锰毒症状。然而,在油菜试验中^[22]却发现,在不断增加锰浓度的情况下,虽然 POD 活性和前述一样不断升高,但 CAT 活性却持续下降,两者呈相反的增长趋势。同样,Bueno 等人在烟草试验中还进一步发现^[30],细胞 SOD 和 CAT 的活性也呈相反的变化。CAT 的这种变化可能与植物对锰胁迫所产生的分子应答有关。Ganesan 和 Thomas 报道,水稻 (*Oryza sativa* L.) 在水杨酸胁迫条件下,叶内 SOD 活性未发生明显变化,CAT 活性则受到明显抑制,进而导致水稻叶片 H_2O_2 的积累^[32]。他们进一步认为水杨酸是植物对生物或非生物胁迫产生应答的分子信号。水杨酸的产生,一方面诱导抗病蛋白的表达,另一方面通过对 CAT 活性的抑制,导致 H_2O_2 在细胞表面的积累,这种细胞表达 H_2O_2 的积累又诱导细胞壁蛋白质的交联,从而使细胞壁加厚、加强,进而阻止病原微生物的进一步侵染^[33]。和上述机制相类似,Mn 胁迫也可能通过导致植物体内水杨酸的产生,而致使水稻叶片 CAT 活性受到抑制。其次,Mn 胁迫对 CAT 活性的抑制还可能与 CAT 分子构型的改变有关。CAT 是一个含 Fe^{3+} 的金属酶,Mn 可能会取代 CAT 分子中的铁离子或通过自由基的积累间接引起 CAT 分子空间构型的改变,进而导致对 CAT 活性抑制的放大作用。由于三大酶系统在结构和化学反应上比较复杂,它们之间的相互关联还有待于进一步研究。

3 植物对锰毒的耐性机制

植物对锰毒的耐性程度是相对的,由于锰浓度不同,植物种类不同,土壤环境不同,耐性强弱也就存在着差异。Baker^[34]指出,耐性具有两条基本途径,一是金属排斥性,即重金属被植物吸收后又被排出体外,或者重金属在植物体内的运输受到阻碍;另一途径是积累金属,但可自身解毒,即重金属在植物体内以不具生物活性的解毒形式存在,如结合到细胞壁上、离子主动运输进入液泡、与有机酸或某些蛋白质的络合等。目前,关于植物对锰毒的耐性机制仍然不清楚,虽然已有的研究提出了不少假设,但尚未形成统一论,科学家们通过以往对其他重金属的研究,试图寻找植物在锰毒与其他金属毒害时是否存在着共同的耐性机制。

3.1 有机化合物螯合作用

植物响应环境胁迫最直接和最明显的反应,往往是根系分泌的有机化合物在组成和含量上的变化。这些有机化合物包括有机酸、氨基酸、肌醇六磷酸盐、多肽和蛋白质等,由细胞主动释放或被动渗漏到根际环境中。这些特殊的有机物(特别是有机酸)通过螯合重金属或酸化根际来促进土壤重金属的溶解和根系的吸收^[35]。其中,有机物对金属的螯合作用一般通过两种方式实现,一种是外部解毒即有机化合物进入根际后能与金属形成稳定的复合体,阻止锰进入共质体,达到体外解除锰毒的目的;另一种属于内部解毒即有机物与金属在植物体内结合形成更为稳定的络合物,消除锰对植物的毒害。这两种表现形式在大多数重金属耐性机制上得到了普遍的认可。而对于耐锰植物,该领域内的研究还缺乏更多的直接的证据支持。Merckx 等^[36]应用示踪技术在玉米 (*Zea mays* L.) 根际土壤中加入 ^{65}Zn 和 ^{54}Mn ,6 周后发现 Mn 的络合量是加入总量的 6%。Bidwell 等^[37]对 *Austromyrtus bidwillii* 研究发现植物体内 40% 的锰以水溶态形式存在,同时测得叶片提取物中的有机

酸的总量为 $123 \times 10^3 \text{ mg kg}^{-1}$, 这意味着锰可能与有机酸等水溶性化合物结合。以上两试验都说明了锰可能与有机物结合, 但却没有揭示到底是哪些有机物在与锰螯合中起着具体作用。

王晓萍^[8]和 Mench 等^[9]认为植物根系分泌出的柠檬酸和其它有机酸, 能增加 Mn 在土壤中的移动性和可给性, 对锰具有活化作用, 并指出柠檬酸、草酸、酒石酸、苹果酸的活化作用较强。然而也有试验证明柠檬酸和苹果酸对 Mn 没有活化作用^[40]。

为了验证各有机物质的活化作用大小, Hue 对 16 种有机物质进行了对比试验^[20], 结果发现, 鞣酸 (Tannic)、五倍子酸 (Gallic)、苯磷二酚 (Catechol) 在 pH4.5 条件下溶解土壤中的 Mn 效果最好, 抗坏血酸 (Ascorbate, ASC) 也表现较好的效果。由于抗坏血酸是一种普遍存在于植物组织的高丰度小分子物质, 在植物抗氧化胁迫中具有重要作用, 所以也更具有研究价值。Fecht-Christoffers^[41]在豇豆 (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) 叶片的试验中^[33], 进一步证实了质外体中抗坏血酸水平的维持有利于增强锰毒的耐性。此外, Doncheva 对琥珀酸 (Succinate) 进行了研究^[26], 通过对大豆外施琥珀酸处理后发现, 根部对高浓度锰的吸收增加, 茎叶的含量相应减少, 说明琥珀酸对锰还是有亲和力, 或对过量的锰起着某种络合作用, 但这种作用比较微弱, 因为结果显示, 外施琥珀酸对锰毒症状并没有减轻。

总之, 锰诱导有机物分泌的机制并不明朗, 甚至在黑麦 (*Secale cereale* L.) 多元素综合试验中^[42]发现锰毒不能诱导根释放有机酸。对于耐性植物在锰毒胁迫下是否能释放有机酸、有机酸是否能螯合锰以及络合物在植物体内以什么样的状态存在均需要深入研究。

3.2 氧化、外排与积累

植物在锰毒害时, 有时通过将锰氧化成非有效态而限制过量锰的吸收和运输, 这在一些渍水条件下生长的植物上表现尤为明显, 这些植物的根系往往通过释放氧气以及分泌氧化性物质等途径而具有氧化根际的能力。在水稻试验中发现^[43], 水稻根能将二价锰离子氧化成非有效性的四价锰化合物, 而限制了锰的吸收。也有不少报道认为, 根际的氧化作用可以使淹水土壤中大量存在的 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 在根表面及根质外体被氧化形成明显可见的红色铁、锰氧化物胶膜^[44], 而且这种胶膜会随着 Fe、Mn 用量的增加而变厚, 对阻止 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 的过量吸收起着重要作用。另外, 根系微生物在锰的氧化还原过程中起着重要作用, 通过利用 Mn^{2+} 氧化反应中自由能的释放来维持其正常生长^[45]。在大豆锰处理试验中^[46], 含菌根的植株在一定天数后会减轻锰毒症状, 这是因为过量的锰刺激了氧化菌的活性而抑制了还原菌的活性, 从而减少了锰的吸收, 增强了耐性。但各种微生物氧化锰的过程中是否会产生酶或其他物质作为必不可少的中间环节? 目前仍不清楚。

实际上, 有不少植物在锰毒胁迫下, 不排斥锰的吸收, 而是通过内部机制来增强对锰毒的耐性。薛生国等人通过对超富集植物商陆研究后发现^[47], 锰在商陆地上部分和根系的分布也存在显著差异, 植株吸收的 Mn 有 87% ~ 95% 分布在地上部, 说明该植物根系吸收的 Mn 有很强的向地上部运输的能力。这与重金属的积累与分布有关, 通过被区域化分布, 锰从关键代谢中被隔离。在富士和乔纳金两个粗皮病抗性不同苹果 (*Malus pumila* Mill) 品种对锰的吸收试验中^[48], 抗性品种的锰通常在体内均匀分布, 并积累在非代谢区域如液泡中。液泡隔离一直是植物耐重金属毒性的重要机制之一^[49, 50]。

而 Santandrea 等人在烟草试验中发现^[51], 锰在叶肉中被发现, 通过进一步观察, 发现叶肉细胞间隙, 或叶表皮的外细胞壁是锰积累的主要区域, 而在液泡中却没有发现。同样, 在耐锰性强的豇豆叶片中也发现^[52], 过量锰的供应引起叶片细胞壁中可见的褐色沉积物-氧化锰和氧化苯酚类物质的形成, 这说明, 锰在细胞中积累的部位除了常规认为的液泡外, 还有可能在细胞壁中积累。Bidwell 通过锰的盐酸提取态还发现, 可能相当一部分锰与细胞壁结合 (取代钙的作用) 或者以别的不溶态形式存在^[37]。除了液泡和细胞壁积累外, 在地衣植物中, 耐性植株往往将锰以磷酸盐的形态固化在子囊盘中^[53]。

锰除了被积累外, 还可能被转化成其他形态而排除体外, Lytle 等研究表明锰在 *Potamogeton pectinatus* L. 体内, 首先以 $[\text{Mn}^{2+} (\text{H}_2\text{O})_6]$ 形式存在于有限的部位, 当特定位置填满后 Mn^{2+} 被氧化成 Mn^{3+} 贮存在植物体内, 通过衰老机制排出体外^[54]。

3.3 细胞木质化

耐性植物在锰毒害时其保护酶活性能得以维持或者说受影响非常小,不象敏感型植物那样表现出明显的峰值变化,但有些耐性植物在锰毒胁迫时,POD 活性却显著增强。Fecht-Christoffers 通过对耐锰性强的豇豆叶片研究发现^[41],过量的锰诱导了 POD 活性的提高。同样,Santandre 通过烟草试验发现^[51],在高浓度锰培养下,耐性植株的 POD 活性大大增强,其他酶活性无显著变化。不少报道证实,POD 参与了细胞木质化的形成^[55~57],尤其在维管组织中木质素的沉积和木栓质的合成方面起着重要作用^[58]。木质素为植物次生代谢的产物,属酚类化合物,是构成细胞壁次生结构的主要成分。在以上两个试验中,耐性强的豇豆叶片发现了酚类物质的存在,耐性烟草的细胞木栓化程度明显加强,两者都说明 POD 与木质素形成有关,但没有揭示这一过程是否在耐性机制方面也发挥作用。曾有试验证明,植物在 Cu 毒害时,由于 Cu 大部分以离子形式络合到细胞壁物质如木质素、纤维素上^[59],因而通过细胞壁的金属沉淀作用,避免了过量的 Cu 进入原生质体影响细胞代谢,使植物对 Cu 害表现出一定的耐性,但锰是否也以离子形式络合到木质素当中,现在还没有相关研究。

3.4 ZIP、Nramp、CDF、CAX2、MCF 等基因家族的作用

目前对锰诱导耐性基因的表达方面的研究还较薄弱,在已筛选的数量有限的编码酶基因中,部分生物学功能已得到确认。

在参与金属离子吸收的转运体蛋白中,特别引人注意的是称之为“ZIP”的蛋白质(Zinc Regulated Protein/Iron Regulated Protein, ZRT/IRT 相关的蛋白)及相关基因^[60~62]。ZIP 基因家族分布非常广泛,在真菌、动物、植物等真核细胞中均发现 ZIP 基因家族成员。ZIP 基因编码的蛋白一般具有 8 个跨膜区,C2 端和 N2 端的氨基酸均位于细胞膜外。此家族包含至少 25 个成员,其中,Irt1 (Iron regulated transporter)已在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中获得,在酵母菌株中表达时,可以编码金属转运蛋白,通过运输锰来增强耐性^[63]。同时,在豆类植物中发现了与 ZIP 家族相似的 MiZIP,其表达也能增强锰的耐性^[64],但机理仍需进一步研究。细胞膜上另一类与金属离子转运有关的蛋白由 Nramp 基因家族(Natural resistance associated macrophage proteins)所编码。与 ZIP 基因家族不同,Nramp 基因家族编码的蛋白一般具有 12 个跨膜区,其中,SMF1 能对锰离子进行跨膜运输,从而减轻锰毒^[65]。

除了细胞膜外,液泡膜上也存在一类转运蛋白,通过将锰离子转运到液泡中积累来增强耐性,比较典型的是 CDF (Cation diffuse facilitator)蛋白。植物有许多基因编码 CDF 蛋白,这类蛋白可以在细胞内吸收积累金属离子,也可将金属离子排出细胞外。曾有报道,CDF 蛋白的作用可以增强植物器官对 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 的耐性,但大多数蛋白运输机制和运输动力目前还不太清楚,Delhaize 等人在酵母菌株上发现有 4 个相关的 cDNA 编码 CDF 膜上运输蛋白,其中在液泡膜上发现有一个 shMTP1 可以将锰离子积累在液泡内,过量表达则显著增强耐锰性^[66]。同样,CAX (Cation exchanger)家族也可以通过此机制来增强植物耐性,但目前只发现 CAX2 是唯一将锰离子运送到液泡中的一员。CAX2 从酵母菌株上分离出来,在烟草上过度表达时,积累了更多的 Ca^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Mn^{2+} ,并且对浓度不断升高的锰具有较高耐性^[67]。

以上这些基因并非由锰胁迫特异性诱导,如 Irt1 也可以由缺铁胁迫所诱导^[68~69],这说明不同的胁迫诱导途径很可能存在一个由共同基因调控的机制。此外,锰胁迫诱导的基因并不都是与耐性直接有关的基因,表明植物在锰毒胁迫时也可能通过不同的抗性机制(如直接或间接的抗氧化机制)来抵抗锰的毒害。Luk 等人^[70]通过对酵母基因扫描发现,在高浓度锰供应下,MTM1 (Manganese trafficking factor for mitochondrial SOD2)作为 MCF (Mitochondrial carrier family)中的一员能运输锰,对于线粒体中 SOD2 (含锰元素)的合成起着重要作用,通过增强 SOD2 的活性来提高耐性,并且还发现,MTM1 在其他胞质中无相关反应,只是在线粒体中发挥作用。

除了以上几个典型的基因家族和转运体蛋白,在内质网中还发现,ECA1 蛋白作为钙锰离子泵起着非常重要的作用^[71],ECA1 能将钙离子和锰离子泵到内质网,通过调节钙和锰的动态平衡来增强耐性,使植物在钙缺乏和锰毒的情况下均能维持正常生长。

4 锰毒与其它营养元素的关系

目前,国内外对于土壤-植物系统中元素的交互作用研究较多,这关系到植物根系对元素的吸收、体内迁移、分布、积累及生理活性。对于锰的研究则集中表现在锰与其他元素间的拮抗或协同作用上,并试图探讨如何通过这些作用来矫正锰毒,进而达到改良土壤的目的。在实际生产和应用中,对于锰毒影响较大的主要是磷、钙、铁 3 种元素。

施 P 可增加 Mn 的有效性^[72],并且在 pH4.0 时,对 Mn 毒的减轻有显著效果^[61],即 P 能促进植物对 Mn 的吸收,但却不造成 Mn 对植物的毒性。这可能是因为 P 肥用量的增加,可以促进作物根系的生长发育,增加了作物根系的活力,从而增加分泌有机酸的量,活化了土壤中的锰,并以络合态的形态被植物吸收;另一方面也可能通过增加根系在土壤中的残留量来增强土壤微生物的活性,进而增加了对土壤 Mn 元素的活化作用。与此同时,在马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 试验中发现^[73],当 Mn 达到一个非常高的浓度后,即使在外部高水平供 P 的情况下,植物照样会产生锰毒。也就是说, P 对 Mn 毒的减轻作用有一个临界值。

除了 P 元素外, Ca 也能有效地减轻锰毒,施用石灰被证明是一种克服锰毒的较实用的途径^[74]。在保护地栽培土壤矫正锰毒的对比试验中,施石灰法被证明效果最好^[75]。在已酸化的红壤、棕红壤和黄褐土上,施用碳酸钙同样减轻了锰毒^[76]。这可能因为:一方面碳酸钙降低了土壤酸度,土壤有效态锰随 pH 值上升而降低;另一方面,石灰性土壤对锰的强烈吸附亦是减缓其毒性的重要因素。由于中、酸性土壤交换态锰是作物锰毒的直接来源^[21],施用碳酸钙能较好地钝化土壤锰的活性,使交换态锰在较短时间内向碳酸钙结合态这种中间形态转化,从而缓解或克服直接影响作物生长的交换态锰的毒害作用^[77]。但过量施用碳酸钙也会对植物和土壤造成不利影响,朱端卫等发现^[78],施硼可以减少以上弊端,并且碳酸钙-硼配施对锰毒缓解效果优于碳酸钙单施。

在微量元素的研究中,铁锰之间的关系最为密切,两者之间表现为拮抗作用^[21,79]。试验证明,过量 Mn 能引起细胞内 Fe 的缺失^[27],同样,施用铁肥也能显著降低植物对锰的吸收和运转^[80]。在水稻水培试验中发现^[81],过量的锰处理增加了铁在水稻根系的沉积,减少了铁向地上部的运输。目前普遍的解释是:锰毒胁迫降低了根系铁还原酶的活性,由于二价铁是植物根系吸收的主要形态,根系还原酶活性的降低也就减少了植物根系对铁的吸收。然而,Alcantara 等在黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 幼苗试验中^[82],用大于 20mol/L 的高浓度锰进行处理时,根系 Fe (III) 还原酶的活性几乎不受影响。还有一种解释是:由于土壤 Mn 氧化还原的临界 Eh 值 (在 +300 ~ +700 mv 之间) 比 Fe 高得多 (Fe 氧化还原临界 Eh 值在 +300 ~ +100 mv 之间)^[22],在水稻根际 Fe^{2+} 较 Mn^{2+} 容易被氧化^[83],即两者共存的情况下, Fe^{2+} 更易被氧化而沉积于植物根系表面。对于铁锰之间的关系,黎晓峰则认为^[84],土壤有效铁/锰比低,会使水稻积累过量的锰,减少铁的吸收量,降低铁的活性及活性铁含量水平,使水稻受到缺铁胁迫,因此,维持铁锰平衡对植物的生长有利。有资料显示,植物中适宜的铁锰比是 1.5 ~ 2.5^[75]。铁锰之间在吸收动力学上的影响机制还需进一步研究。

由于土壤根际环境的复杂性,以上各元素与锰的相互关系也不是绝对的,因此要系统地进行综合分析。如生长在渍水土壤中的一些植物如水稻等,其根系往往形成明显可见的棕红色铁锰氧化物胶膜。曾祥忠等人认为^[85],在高量 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 供应下,这种胶膜由于其特有的电化学性质,即离子间的吸附—解吸附反应,会对水稻对 P 的吸收起抑制作用,并且这种抑制与铁胶膜数量呈正相关,而与锰胶膜无明显关系。换句话说,由于不可忽视的铁胶膜的存在,植物在外界供 P 的情况下,同样不能减轻锰毒,这会与前面表述不一。

5 结语

目前,植物修复技术以其潜在的廉价、高效、环保的优势正得到广泛关注,但由于锰超富集植物筛选上的困难和方法的限制,加上土壤中锰化学行为的复杂性,植物对锰的修复技术仍处于摸索阶段,该技术的开展有赖于植物对锰毒响应机制的揭示,并且需要大量的有力的实验证据作为支撑。

国际上对于锰毒化学行为的研究还处于初始阶段,国内在这方面的研究还相对滞后,人们对锰毒的一些机制已经有所认识,但大多数研究还未证实其准确性,况且,一些非特异反应机制是植物适应锰和其他外界胁

迫的普遍机制,因此,对锰毒的生物学基础仍需广泛而深入的系统研究。锰对植物各个水平上的毒害机制既有差异,又有联系,因此,我们不能仅从某一方面进行孤立的研究,而应充分运用现代生物技术,由表及里,由细胞到个体进行比较全面的研究和论证。不同植物及同一植物的不同品种在锰胁迫响应机制上表现出很大的差异,研究者们也提出了众多机理,但由于锰毒及植物耐受机制的复杂性,至今还没有哪一个机理能够得到普遍的认可。同时,由于研究对象的限制,每一个实验结果都有它的局限性,因而所提出的机理还不能对耐受性机制做出规律性的阐释。虽然某些锰诱导基因得到了分离,但其遗传特性的揭示还需要更多证据的支持,并且还有待于其生物学功能的鉴定。在矫正土壤锰毒方面,传统做法一贯利用其他元素(如Ca)与Mn的相互作用来进行化学防治,但通过基因工程培育出耐锰的作物品种更是一条有效的途径。

在植物修复技术越来越成为当今治理重金属污染的热点时,探讨锰毒机制及植物耐性机制的任务愈加迫切,国际上有关植物吸收重金属的生理生化及分子机制研究只是集中在Zn、Ni、Cd、As、Cu等元素上,对于超富集植物,也以遏蓝菜属(*Thlaspi* L.)为主,而对其它重金属尤其锰超富集的生理机理研究一直没有突破,锰超富集植物也仅发现11种,且多数种类属于木本植物,不易进一步试验研究。商陆在中国的发现,为各项研究的深入开展提供了可能。今后应在以下领域进行深入探讨:植物细胞如何感受锰信号的刺激,胞内信号分子传导的机制是怎样的,植物体内的保护酶系统在锰毒胁迫时如何相互配合、制约、协同作用从而形成响应机制,耐性植物根系在感受锰信号后是否能调控有机酸的合成与分泌,锰离子吸收、转化的途径,锰在植物体内的主要存在和运输形态,锰在植物体内的区域化分布,进入液泡的途径是什么,锰吸收与能量代谢和环境因子的关系,浓度临界值,元素相互影响的吸收动力学,基因表达调控及抗性基因功能鉴定,锰的超富集植物的筛选与驯化等等。这些研究的深入开展可为今后耐锰转基因技术及植物修复技术的实际应用提供更充足的理论依据。

References :

[1] Clairmont K B , Hagar W G , Davis E A. Manganese toxicity to chloryphyll synthesis in tobacco callus. *Plant Physiol.* ,1986 ,80 (1) :291 —293.

[2] Gonzalez A , Steffen K L , Lynch J P. Light and excess manganese. *Plant Physiol.* ,1998 ,118 :493 —504.

[3] Burnell J N. The biochemistry of manganese in plants. In :Graham R D , Hannam R J , Uren N C , eds. *Manganese in Soils and Plants*. Dordrecht : Kluwer Academic ,1988. 125 —137.

[4] Mukhopadhyay M J , Sharma A. Manganese in cell metabolism of higher plants. *Bot. Rev.* ,1991 ,57 (2) :117 —149

[5] Cao G , Liang M Z. Manganese-trace element necessary for plants at the balance growth system. *Soil Fert.* ,2004 , (1) :2 —3.

[6] El-Jaoual T , Cox D A. Manganese toxicity in plants. *J. Plant Nutr* ,1998 ,21 (2) :353 —386.

[7] Zang X P. Manganese toxicity of soil and manganese toxicity of plant ,Chin. *J. Soil Sci* ,1999 ,30 (3) :139 —141.

[8] Zhou Z Y. Heavy metals pollution & control of the Chinese vegetable. *Resource ,Eco-environment Network Research Development* ,1999 ,10 (3) :21 —27.

[9] Xiong Y , Li Q K. *China Soils*. Beijing :Science Press ,1987. 39.

[10] Foy C D. Physiological effects of hydrogen , aluminium and manganese toxicities in acid soils , in soil acidity and liming. *Agron. Mon.* ,1984 ,12 :57 —97.

[11] Li Y T , Wu Q T. Remedial methods of soil contamination. *Agro-environ Prot.* ,1997 ,16 (3) :118 —122.

[12] Chaney R L. Plant uptake of inorganic waste constituents. In :Parr J F , eds. *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Park Ridge :Noyes Data Corporation , New Jersey , USA ,1983. 50 —76.

[13] Shen Z G , Chen H M. Phytoremediation & hyperaccumulating plants of heavy metals. In :Feng F , Zhang F S , Yang X Q , eds. *Studies on Plant Nutrition-Progress and Overview*. Beijing :China Agricultural University Press ,2000. 216 —229.

[14] Liu W D. Trace element nutrition & application. Beijing :Chinese Agriculture Press ,1995. 65 —78.

[15] Liu Z. Manganese research development in soils and plants. *Prog. Soil Sci.* ,1991 ,19 (6) :1 —6.

[16] Liao J F. The content of manganese in vegetable from Pearl River Delta. *Guangdong Trace Elem. Sci.* ,2000 ,7 (5) :56 —58.

[17] Oloma M O. Effect of flooding on Eh , pH and concentration of iron and manganese in several Manitoba soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* ,1973 ,37 :220 —224.

[18] Kitao M , Lei T T , Nakamura T , *et al.* Manganese toxicity as indicated by visible foliar symptoms of Japanese white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*). *Environ. Pollut.* ,2001 ,111 :89 —94.

[19] Horst W J , Maier P , Fecht M , *et al.* The physiology of manganese toxicity and tolerance in *Vigna unguiculata*. *Plant Nutr. Soil Sci.* ,1999 ,162

3) :263—274.

[20] Hue N V , Vega S , Silva J A. Manganese toxicity in a Hawaiian Oxisol affected by soil pH and organic amendments. Soil Sci. Soc. Am. J. ,2001 , 65 :153—160.

[21] Zhu D W , Cheng R X , Liu J F , *et al.* Study on relationship between soil acidification and manganese toxicity to rape. Trop. Sub. Soil Sci. , 1998 , 7 (4) :280—283.

[22] Zeng Q , Geng M J , Zhang Z J , *et al.* Effects of Mn toxicity on the content of Mn , Ca , Fe and the Activities of POD and CAT in *Brassica napus* L. at seedling stage. J. Huazhong Agric. Univ. ,2004 , 23 (3) :300—303.

[23] Santandrea G , Tani C , Bennici A. Cytological and ultrastructural response of *Nicotiana tabacum* L. roots to manganese stress. Plant Biosyst. 1998 , 132 :197—206.

[24] Hu L , Shi Y H , Liu P , *et al.* Effect of manganese on membrane lipid , activities of POD and CAT of soybean. J. Jinhua Col. Prof. Techn. , 2003 , (1) :29—32.

[25] Santandrea G , Schiff S , Bennici A. Effects of manganese on *Nicotiana* species cultivated in vitro and characterization of regenerated Mn-tolerant tobacco plants. Plant Sci. ,1998 , 132 :71—82.

[26] Doncheva S , Georgieva K , Vassileva V , *et al.* Effects of succinate on manganese toxicity in pea plants. J. Plant Nutr. ,2005 , 28 (1) :47—62.

[27] Hauck M , Paul A , Gross S , *et al.* Manganese toxicity in epiphytic lichens :chlorophyll degradation and interaction with iron and phosphorus. Environ. Exp. Bot. ,2003 , 49 :181—191.

[28] Macfie S M , Taylor G J. The effects of excess manganese on photosynthetic rate and concentration of chlorophyll in *Triticum aestivum* grown in solution culture. Physiol. Plant ,1992 , 85 (3) :467—475.

[29] Xiao F J , Zhang X J. Recent advance of research on the interaction between trace element Al Mg Zn Mn and Calmodulin. J. Hebei Acad. Sci. , 2003 , 20 (3) :163—167.

[30] Bueno P , Piqueras A. Effect of transition metals on stress , lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in tobacco cell cultures. Plant Growth Regul. ,2002 , 36 :161—167.

[31] Tsang E W T , Bowler C , Herouart D , *et al.* Differential regulation of superoxide dismutase in plants exposed to environmental stress. Plant Cell , 1991 , 3 (8) :783—792.

[32] Ganesan V , Thomas G. Salicylic acid response in rice :influence of salicylic acid on H₂O₂ accumulation and oxidative stress. Plant Sci. ,2001 , 160 (6) :1095—1106.

[33] Ros Barcelo A. The generation of H₂O₂ in the xylem of *Zinnia elegans* is mediated by an NADPH-oxidase-like enzyme. Planta ,1998 , 207 :207—216.

[34] Baker A J M. Metal tolerance. New Phytologist ,1987 , 106 :93—111.

[35] Jones D L , Darrah P R , Kochian L V. Critical evaluation of organic acid mediated iron dissolution in the rhizosphere and its potential role in root iron uptake. Plant Soil ,1996 , 180 :57—66.

[36] Merckx R , Vanginkel J H , Sinnaeve J , *et al.* Plant-induced changes in the rhizosphere of maize and wheat II . Complexation of cobalt , Zinc , and manganese in the rhizosphere of maize and wheat. Plant Soil ,1986 , 96 :95—108.

[37] Bidwell S D , Woodrow I E , Batianoff G N , *et al.* Hyperaccumulation of manganese in the rainforest tree *Austromyrtus bidwillii* (Myrtaceae) from Queensland , Australia. Funct. Plant Biol. ,2002 , 29 (7) :899—905

[38] Wang X P. Study on the organic acids excreted by tea roots. J. Tea Sci. ,1994 , 14 (1) :17—22.

[39] Mench M , Martin E. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L , *Nicotiana tabacum* L and *Nicotiana rustica* L. Plant Soil ,1991 , 132 (2) :187—196.

[40] Jones D L , Darrah P R. Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. Pland Soil ,1994 , 166 :247—257.

[41] Fecht-Christoffers M M , Horst W J. Does apoplastic ascorbic acid enhance manganese tolerance of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* ?J. Plant Nutr. Soil Sci. 2005 , 168 :590—599.

[42] Li X F , Ma J F , Matsumoto H. Aluminum-induced secretion of both citrate and malate in rye. Plant Soil ,2002 , 242 :235—243.

[43] Engler R M , Patrick W H. Stability of sulfides of manganese , iron , zinc , copper and mercury in flooded and nonflooded soils. Soil Sci. ,1975 , 119 (3) :217—221.

[44] Conlin T S S , Crowder A A. Location of radial oxygen loss and zones of potential in iron uptake in a grass and two non-grass emergent species. Can. J. Bot. ,1989 , 67 :717—722.

[45] Lovley D R. Microbial reduction of iron , manganese , and other metals. Adv. Agron. ,1995 , 54 :175—231.

[46] Nogueira M A , Magalhaes G C , Cardoso E J B N. Manganese toxicity in mycorrhizal and phosphorus-fertilized soybean plants. J. Plant Nutr. , 2004 , 27 (1) :141—156.

[47] Xue S G , Chen Y X , Luo Y M , *et al.* Manganese tolerance and hyperaccumulation of *Phytolacca acinosa* Roxb. Acta Ped. Sin. ,2004 , 41 (6) : 889—895.

- [48] Xu S Y, Yao Q, Wang H, *et al.* Accumulation and distribution of manganese in shoots of apple cultivars with different sensitivity to manganese. *Acta Hortic. Sin.*, 2003, 30 (1): 19—22.
- [49] Salt D E, Smith R D, Raskin L. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, 49: 643—668.
- [50] Tomsett A B, Thurman D A. Molecular biology of metal tolerances of plants. *Plant Cell Environ.*, 1998, 11: 383—394.
- [51] Santandrea G, Pandolfini T, Bennici A. A physiological characterization of Mn-tolerant tobacco plants selected by in vitro culture. *Plant Sci.*, 2000, 150: 163—170.
- [52] Fecht-Christoffers M M, Braun H P, Lemaitre-Guillier C, *et al.* Effect of manganese toxicity on the proteome of the leaf apoplast in cowpea. *Plant Physiol.*, 2003, 133 (4): 1935—1946.
- [53] Panl A, Hauck M, Fritz E. Effects of manganese on element distribution and structure in thalli of the epiphytic lichens *Hypogymnia physodes* and *Lecanora conizaeoides*. *Environ. Exp. Bot.*, 2003, 50: 113—124.
- [54] Lytle C M, Lytle F W, Smith B N. Use of XAS to determine the chemical speciation of bioaccumulated manganese in *Potamogeton pectinatus*. *J. Environ. Qual.*, 1996, 25 (2): 311—316.
- [55] Imberty A, Goldberg R, Catesson A M. Isolation and characterization of *Populus* isoperoxidases involved in the last step of lignin formation. *Planta*, 1985, 164: 221—226.
- [56] Zhang H Y, Wang S G, Mu Q Y, *et al.* Effect of bagging on the peel structure and PPO, POD activity of *Pyrus bretschneideri*. *Acta Hortic. Sin.*, 1996, 23 (1): 23—26.
- [57] Andrea P, Tilman O, Friederike S. A poplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce. *Plant Physiol.*, 1994, 106: 53—60.
- [58] Christensen J H, Bauw G, Welinder K G, *et al.* Purification and characterization of peroxidases correlated with lignification in poplar xylem. *Plant Physiol.*, 1998, 118 (11): 125—135.
- [59] Wang D, Li F M, Xiong Z T, *et al.* Relationship between copper's toxicity and phytoaccumulation. *Soil Environ. Sci.*, 2000, 9 (2): 146—148.
- [60] Maathuis F J M, Sanders D. Plasma membrane transport in context making sense out of complexity. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 1999, 2: 236—243.
- [61] Guerinet M L, Eide D. Zeroing in on zinc uptake in yeast and plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 1999, 2: 244—249.
- [62] Eng B H, Guerinet M L, Eide D, *et al.* Sequence analyses and phylogenetic characterization of the ZIP family of metal ion transport proteins. *J. Membr. Biol.*, 1998, 166: 1—7.
- [63] Korshunova Y O, Eide D, Clark W G, *et al.* The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range. *Plant Mol. Biol.*, 1999, 40: 37—44.
- [64] Lopez-Millan A F, Ellis D R, Grusak M A. Identification and characterization of several new members of the zip family of metal ion transporters in *Medicago truncatula*. *Plant Mol. Biol.*, 2004, 54: 583—596.
- [65] Cellier M, Prive G, Belouchi A, *et al.* Nramp defines a family of membrane proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1995, 91: 10089—10093.
- [66] Delhaize E, Kataoka T, Hebb D M, *et al.* Genes encoding proteins of the cation diffusion facilitator family that confer manganese tolerance. *Plant Cell*, 2003, 15: 1131—1142.
- [67] Hirschi K D, Korenkov V D, Wilganowski N L, *et al.* Expression of *Arabidopsis* CAX in Tobacco. Altered metal accumulation and increased manganese tolerance. *Plant Physiol.*, 2000, 124: 125—133.
- [68] Pence N S, Larsen P B, Ebbs S D, *et al.* The Molecular physiology of heavy metal transport in the Zn / Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2000, 97 (9): 4956—4960.
- [69] Henriques R, Jasik J, Klein M, *et al.* Knock-out of *Arabidopsis* metal transporter gene IRT1 results in iron deficiency accompanied by cell differentiation defects. *Plant Mol. Biol.*, 2002, 50 (4): 587—597.
- [70] Luk E, Carroll M, Baker M, *et al.* Manganese activation of superoxide dismutase in *Saccharomyces cerevisiae* requires MTM1, a member of the mitochondrial carrier family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2003, 100 (18): 10353—10357.
- [71] Wu Z Y, Liang F, Hong B M, *et al.* An endoplasmic reticulum-bound $\text{Ca}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$ pump, ECA1, supports plant growth and confers tolerance to Mn^{2+} stress. *Plant Physiol.*, 2002, 130: 128—137.
- [72] Zhang S X, Wang X B, Jin K, *et al.* Effect of different N and P levels on availability of zinc, copper, manganese and iron under arid conditions. *Plant Nutr. Fert. Sci.*, 2001, 7 (4): 391—396.
- [73] Sarkar D, Pandey S K, Sud K C, *et al.* In vitro characterization of manganese toxicity in relation to phosphorus nutrition in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Sci.*, 2004, 167: 977—986.
- [74] Davis J G. Soil pH and magnesium effects on manganese toxicity in peanuts. *J. Plant Nutr.*, 1996, 19: 535—550.
- [75] Si Y B, Zhang Y G. Study on the correction of manganese toxicity in protected cultivation soil. *J. Anhui Agric. Sci.*, 1999, 27 (5): 487—489.
- [76] Zhu D W, Wan X Q, Geng M J, *et al.* Effects of acidification and CaCO_3 application on various forms of manganese in soils. *Plant Nutr. Fert. Sci.*, 2001, 7 (3): 325—330.
- [77] Tong Y P, Li J Y. Adsorption of manganese on calcareous soils in Beijing. *Adv. Environ. Sci.*, 1996, 4 (5): 74—80.
- [78] Zhu D W, Cheng D S, Cheng D X, *et al.* The detoxification of calcium carbonate and boron to manganese toxicity of rape crop in acid brown red

soil. Soil Environ. Sci. ,1999 ,8 (1) :36 — 39.

[79] Liu C M ,Qin X N. Effects of Mn and Fe on photosythetic physiology of citrus seedling and their nutrient diagnosis. J Southwest Agric. Univ. , 1996 ,18 (1) 29 — 33.

[80] Roomzadeh S ,Karimian N. Manganese-iron relationship in soybean grown in calcareous soils. J Plant Nutr. ,1996 ,19 (2) :397 — 406.

[81] Li X F ,Gu M H ,Bai H Y ,*et al.* A study on the relationship between manganese toxicity and rice iron nutrition. J. Guangxi Agric. Univ. ,1996 , 15 (3) :190 — 194.

[82] Alcantara E ,Romera F J ,Canete M ,*et al.* Effects of heavy metals on both induction and function of root Fe (Ⅲ) reductase in Fe-deficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. J. Exp. Bot. ,1994 ,45 :1893 — 1898.

[83] Yuan K N. The soil chemistry of plant nutrition elements. Beijing :Sciences Press ,1983. 518 — 527.

[84] Li X F ,Lu S N ,Chen H H ,*et al.* Iron-manganese nutrient balance and rice development. J. Guangxi Agric. Univ. ,1995 ,14 (3) :217 — 222.

[85] Zeng X Z ,Lu S H ,Liu W J ,*et al.* Effects of root surface iron and manganese oxide plaque on iron ,manganese and phosphorus ,zinc nutrition of rice. Southwest China. J. Agric. Sci. ,2001 ,14 (4) :34 — 38.

参考文献：

[5] 曹恭 ,梁鸣早. 锰——平衡栽培体系中植物必需的微量元素. 土壤肥料 ,2004 , (1) :2 — 3.

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

[8] 周泽义. 中国蔬菜重金属污染及控制. 资源生态环境网络研究动态 ,1999 ,10 (3) :21 ~ 27.

[9] 熊毅 ,李庆逵. 中国土壤. 北京 :科学出版社 ,1987. 39.

[11] 李永涛 ,吴启堂. 土壤污染治理方法研究. 农业环境保护 ,1997 ,16 (3) :118 ~ 122.

[13] 沈振国 ,陈怀满. 植物修复和重金属超量积累植物. 见 冯锋 ,张福锁 杨新泉编著. 植物营养研究进展与展望. 北京 :中国农业大学出版社 ,2000. 216 ~ 229.

[14] 刘武定主编. 微量元素营养与微肥施用. 北京 :中国农业出版社 ,1995. 65 ~ 78

[15] 刘铮. 土壤与植物中锰的研究进展. 土壤学进展 ,1991 ,19 (6) :1 ~ 6.

[16] 廖金凤. 珠江三角洲蔬菜中的锰. 广东微量元素科学 ,2000 ,7 (5) :56 ~ 58.

[21] 朱端卫 ,成瑞喜 ,刘景福 ,等. 土壤酸化与油菜锰毒关系研究. 热带亚热带土壤科学 ,1998 ,7 (4) :280 ~ 283.

[22] 曾琦 ,耿明建 ,张志江 ,等. 锰毒害对油菜苗期 Mn、Ca、Fe 含量及 POD、CAT 活性的影响. 华中农业大学学报 ,2004 ,23 (3) :300 ~ 303.

[24] 胡蕾 ,施益华 ,刘鹏 ,等. 锰对大豆膜脂过氧化及 POD 和 CAT 活性的影响研究. 金华职业技术学院学报 ,2003 ,1 :29 ~ 32.

[29] 肖凤娟 ,张欣杰. 铝镁锌锰等金属离子与钙调素相互作用研究进展. 河北省科学院学报 ,2003 ,20 (3) :163 ~ 167.

[38] 王晓萍. 茶根分泌物有机酸的分析研究初报. 茶叶科学 ,1994 ,14 (1) :17 ~ 22.

[47] 薛生国 ,陈英旭 ,骆永明 ,等. 商陆 (*Phytolacca acinosa* Roxb) 的锰耐性和超积累. 土壤学报 ,2004 ,41 (6) :889 ~ 895.

[48] 徐圣友 ,姚青 ,王贺 ,等. 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 ,2003 ,30 (1) :19 ~ 22.

[56] 张华云 ,王善广. 套袋对莱阳仕梨果皮结构 PPO、POD 活性的影响. 园艺学报 ,1996 ,23 (1) :23 ~ 26.

[59] 王狄 ,李锋民 ,熊治廷 ,等. 铜的植物毒性与植物蓄积的关系. 土壤与环境 ,2000 ,9 (2) :146 ~ 148.

[72] 张淑香 ,王小彬 ,金柯 ,等. 干旱条件下氮、磷水平对土壤锌、铜、锰、铁有效性的影响. 植物营养与肥科学报 2001 ,7 (4) :391 ~ 396.

[75] 司友斌 ,章力干. 保护地栽培土壤锰毒的矫正. 安徽农业科学 ,1999 ,27 (5) :487 ~ 489.

[76] 朱端卫 ,万小琼 ,耿明建 ,等. 酸化及施碳酸钙对土壤各形态锰的影响. 植物营养与肥科学报 ,2001 ,7 (3) :325 ~ 330.

[77] 童依平 ,李继云. 北京地区石灰性土壤对锰的吸附. 环境科学进展 ,1996 ,4 (5) :74 ~ 80.

[78] 朱端卫 ,程东升 ,成瑞喜 ,等. 碳酸钙和硼对棕红壤油菜锰毒缓解作用. 土壤与环境 ,1999 ,8 (1) :36 ~ 39.

[79] 刘成明 ,秦焯南. 铁锰元素对温州蜜柑光合生理的影响及营养诊断研究. 西南农业大学学报 ,1996 ,18 (1) :29 ~ 33.

[81] 黎晓峰 ,顾明华 ,白厚义 ,等. 水稻锰毒与铁素营养关系的研究. 广西农业大学学报 ,1996 ,15 (3) :190 ~ 194.

[83] 袁可能. 植物营养元素的土壤化学. 北京 :科学出版社 ,1983. 518 ~ 527.

[84] 黎晓峰 ,陆申年 ,陈惠和 ,等. 铁锰营养平衡与水稻生长发育. 广西农业大学学报 ,1995 ,14 (3) :217 ~ 222.

[85] 曾祥忠 ,吕世华 ,刘文菊 ,等. 根表铁、锰氧化物胶膜对水稻铁、锰和磷、锌营养的影响. 西南农业学报 ,2001 ,4 :34 ~ 38.