

耐旱大豆根瘤菌的筛选及其接种效应

裴晓峰¹, 关大伟², 李俊², 曹凤明², 李力², 马鸣超², 朱宝成¹

(1. 河北农业大学 生命科学学院 河北 保定 071001; 2. 中国农业科学院 农业资源与农业区划研究所, 北京 100081)

摘要:采用聚乙二醇(PEG)6000模拟干旱的试验方法,从分离自黄淮海地区的19株根瘤菌和2株参比菌株中初步筛选得到能够在该条件下生长良好的根瘤菌7株。进一步进行土壤盆栽干旱胁迫复筛试验,通过根瘤数量、大豆植株干重和含氮量等指标分析,获得了3株耐旱根瘤菌株 *B. japonicum* 4788、*B. japonicum* 4792 和 *B. japonicum* USDA110;测定了在盆栽条件下接种 *B. japonicum* 4792 大豆植株耐旱性相关生理的指标,与未接种对照相比,接种根瘤菌的大豆叶片中甜菜碱、SOD酶和叶绿素的含量都有不同程度的增加,丙二醛的含量减少,表明接种根瘤菌可以提高大豆的耐旱性能。

关键词:根瘤菌;耐旱性;甜菜碱;丙二醛;超氧化物歧化酶;叶绿素

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2012)03-0420-05

Screening of Drought-Tolerance *Rhizobium* and Its Influence on Soybean

PEI Xiao-feng¹, GUAN Da-wei², LI Jun², CAO Feng-ming², LI Li², MA Ming-chao², ZHU Bao-cheng¹

(1. College of Life Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, Hebei; 2. Institute of Agricultural Resources and Agricultural Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 10081, China)

Abstract: Seven soybean *Rhizobia* strains were screened under simulated drought with PEG-6000 from 21 *Rhizobia* strains (including two reference strains), which were isolated from Huanghuaihai area. Subsequently, three strains of *B. japonicum* 4788, *B. japonicum* 4792 and *B. japonicum* USDA110 were selected by their performance of nodulation and nitrogen fixing under drought stress including nodule numbers, plant dry weights and total N contents in soil pot experiment with simulated drought environment. Several parameters related with drought resistance of plant were determined when *B. japonicum* 4792 was inoculated under the condition mentioned above. The results showed that the contents of betaine, chlorophyll and SOD in plant were increased but MDA was decreased compared with the uninoculated control, which were beneficial for accumulation of drought-resistance materials and improvement of drought-resistant for soybean plant.

Key words: *Rhizobium*; Drought-tolerance; Betaine; MDA; SOD; Chlorophyll

生物固氮是大豆氮素的重要来源之一^[1],在大豆生产中,通过接种优良根瘤菌充分发挥其固氮能力,为大豆生长提供更多的氮素营养,减少化学氮肥施用,提高大豆产量与品质,是实现节本增效的有效途径^[2-3]。然而,作为大豆起源地的中国,大豆根瘤菌的接种率远低于美国、巴西、阿根廷等大豆主产国。在干旱的西北大豆产区,根瘤菌的应用更少,其主要原因是干旱影响了根瘤菌的结瘤和固氮^[4]。根瘤菌活性及其与豆科植物共生对干旱环境十分敏感,土壤缺水一方面使根瘤菌的繁殖受到限制,难以与豆科植物共生结瘤^[5-6];另一方面也影响大豆根毛的生长,降低了根瘤菌侵染的机会,进而影响该共生固氮体系的建立。研究表明,在干旱条件下通过根瘤菌的结瘤固氮可以提高植株体内的甜菜碱、超氧化物歧化酶等含量,从而增强大豆的抗旱能力^[7]。因此,筛选耐旱大豆根瘤菌,提高干旱条件下大豆结瘤固氮能力显得尤为重要。

该研究在黄淮海地区分离获得的大豆根瘤菌资源基础上^[8],采用实验室干旱胁迫和盆栽干旱胁迫相结合的方法,通过比较供试根瘤菌株的生长能力、结瘤能力和固氮能力,从中筛选出在干旱条件下能够结瘤固氮的优良菌株,为西北干旱大豆产区根瘤菌应用提供材料。同时分析在干旱条件下根瘤菌接种对大豆植株体内甜菜碱、超氧化物歧化酶、丙二醛和叶绿素等生理特征的变化,探讨其与大豆抗旱性能之间的关系。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 大豆品种和供试菌株 大豆品种汾豆56由陕西省延安市农业科学研究所提供。21株供试大豆根瘤菌株详见表1,包括实验室从黄淮海地区7省12个大豆品种中分离得到 *Bradyrhizobium japoni-*

收稿日期:2012-03-31

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资助项目(CARS-04)。

第一作者简介:裴晓峰(1983-),男,在读硕士,研究方向为微生物与生化药学。E-mail:pxf983621@163.com。

通讯作者:李俊(1965-),男,研究员,主要从事农业微生物学资源和生物固氮研究。E-mail:jli@caas.ac.cn。

cum 9 株和 *Sinorhizobium fredii* 10 株,以及参比菌株 *B. japonicum* USDA110 和 *S. fredii* USDA 205。

表 1 供试菌株
Table 1 Tested strains

菌株 Strains	分离地点 Origin	宿主 Host plant
<i>B. japonicum</i> 4219	安徽宿州市	徐豆 9 号
<i>B. japonicum</i> 4222	安徽宿州市	徐豆 9 号
<i>B. japonicum</i> 4345	山西汾阳市	晋豆 34
<i>B. japonicum</i> 4373	山西汾阳市	晋豆 23
<i>B. japonicum</i> 4388	陕西黄陵县	晋豆 23
<i>B. japonicum</i> 4403	宁夏银川	晋豆 19
<i>B. japonicum</i> 4459	陕西华阴市	晋豆 29
<i>B. japonicum</i> 4788	山西临县	辽豆 15
<i>B. japonicum</i> 4792	山西临县	晋豆 25
<i>S. fredii</i> 4397	陕西黄陵县	晋豆 25
<i>S. fredii</i> 4441	陕西延安市	汾豆 65
<i>S. fredii</i> 4534	河南焦作市	豫豆 25
<i>S. fredii</i> 4632	山东济宁市	河南 92116
<i>S. fredii</i> 4699	宁夏渠口	承豆 6 号
<i>S. fredii</i> 4729	甘肃庆阳市	晋豆 19
<i>S. fredii</i> 4753	甘肃镇原	晋豆 23
<i>S. fredii</i> 4780	山西临县	汾豆 56
<i>S. fredii</i> 4796	山西汾阳市	晋豆 23
<i>S. fredii</i> 4823	山东济宁市	中黄 35
<i>B. japonicum</i> USDA110	USA	<i>Glycine max</i>
<i>S. fredii</i> USDA205	USA	<i>Glycine max</i>

1.1.2 供试土壤 盆栽试验土壤采自陕西省延安市农科所大豆试验田的表层土。其土壤类型为黄绵土,有机质含量 $15.47 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效氮 $156.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效磷(P_2O_5) $35.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效钾(速效钾) $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、pH 7.89;环刀法^[9]测定该土壤的饱和持水量为 21.59%。

1.1.3 培养基和 PEG 材料 供试菌株采用 YMA 培养基^[10]进行培养。聚乙二醇 6000(PEG6000)为鼎国昌盛生物技术有限公司进口分装产品,粉末状,易溶于水,化学式为 $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$, $n = 158 \sim 204$,浓度为质量体积百分比。

1.2 试验方法

1.2.1 耐旱大豆根瘤菌的初筛试验 耐旱大豆根瘤菌的初筛试验采用 PEG 6000 人工模拟干旱条件进行,试验设置 4 个不同的 PEG 6000 水平:0(CK)、15%、25% 和 35%。它们对应的水势分别为:0、-0.278、-0.699、-1.309 MPa,3 次重复。

将供试菌株分别挑取 1 环接种到已灭菌的 YMA 液体培养液中,置于摇床 28°C 、 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养 4 d 制成接种液,调整 OD_{600} 值约 0.7 左右,吸取 0.1 mL 接种液接入不同 PEG6000 浓度 YMA 液体培养基中, 28°C 、 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 7 d,然后混匀取样,在 600 nm 下测定其 OD 值,以 OD_{600} 值

的大小评价其生长繁殖状况。测定前需用相应浓度 PEG6000 的 YMA 培养液对仪器进行调零。

1.2.2 耐旱大豆根瘤菌的复筛试验 复筛试验在土壤盆栽模拟干旱条件下进行,依据土壤含水量控制胁迫强度^[11],设置 4 个土壤水分梯度处理:正常水分(T0),土壤含水量为田间最大持水量的 75%~80%;轻度水分胁迫(T1),土壤含水量为田间最大持水量的 60%~65%;中度水分胁迫(T2),土壤含水量为田间最大持水量的 45%~50%;重度水分胁迫(T3),土壤含水量为田间最大持水量的 30%~35%。每个梯度设 3 个重复,每个重复种植大豆幼苗 3 株。将根瘤菌制备成菌悬液,培养 3~4 d,然后用液体 YMA 培养基调至统一 OD_{600} 值,使菌体浓度达 $10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。每盆接种根瘤菌液 2 mL,以不接种为对照(CK)。每天傍晚采用整体称量法来控制土壤含水量。40 d 后收获,计数根瘤数量,测定地上部分植株的干重和全氮量。

1.2.3 大豆植株耐旱相关生理指标的测定 选取土壤盆栽模拟干旱条件下接种 *B. japonicum* 4792 和不接种植株的第 3、4 复叶为试验材料^[12],用莱特公司提供的试剂盒分别测定甜菜碱、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD);叶绿素的测定用 SPAD-502 型叶绿素计进行。各指标至少重复测定 3 次,结果取其平均值。

1.3 数据分析

用 SPSS 19.0 和 Excel 2003 软件进行分析和处理。

2 结果与分析

2.1 耐旱大豆根瘤菌的初筛试验结果

如表 2 所示,随着 PEG6000 浓度的增加,各菌株的 OD 值均逐渐下降,15%、25% 和 35% PEG6000 处理菌株的 OD_{600} 值分别平均下降 44.31%、83.77% 和 96.3%。以上结果表明随着干旱程度的增加,对菌株生长的抑制作用逐渐增大。当 PEG6000 浓度为 25% 时,有 17 个菌株的 OD 值下降率在 70% 以上,说明干旱条件达到该水平时,菌株的生长受到了严重的抑制。

比较不同菌株 OD 值下降幅度可知,在同一 PEG6000 浓度条件下,菌株间 OD 值下降幅度存在较大差异,其中菌株 *B. japonicum* USDA110、*B. japonicum* 4788、*B. japonicum* 4792、*B. japonicum* 4534、*S. fredii* 4632、*S. fredii* 4780、*S. fredii* 4796 的 OD 值下降幅度明显低于其它菌株,说明这 7 株根瘤菌能够耐受一定程度的干旱,作为下一步复筛的材料。

表 2 不同 PEG6000 浓度胁迫对大豆根瘤菌生长的影响
Table 2 Effect of different PEG6000 concentrations on *Rhizobia* growth

菌株 Strains	PEG6000 浓度						
	PEG6000 concentration						
	0	15%	降幅 Decrement/%	25%	降幅 Decrement/%	35%	降幅 Decrement/%
<i>B. japonicum</i> USDA110	1.045	0.934	10.62	0.512	51.00	0.21	79.90
<i>B. japonicum</i> 4219	1.370	0.863	37.01	0.095	93.07	0.004	99.71
<i>B. japonicum</i> 4222	1.387	0.612	55.88	0.153	88.97	0.013	99.06
<i>B. japonicum</i> 4345	0.903	0.412	54.37	0.028	96.90	0.003	99.67
<i>B. japonicum</i> 4373	1.407	0.427	69.65	0.052	96.30	0.025	98.22
<i>B. japonicum</i> 4388	0.899	0.415	53.84	0.045	94.99	0.002	99.78
<i>B. japonicum</i> 4403	0.932	0.500	46.35	0.036	96.14	0.01	98.93
<i>B. japonicum</i> 4459	1.020	0.578	43.33	0.042	95.88	0.008	99.22
<i>B. japonicum</i> 4788	1.569	1.282	18.29	0.488	68.90	0.249	84.13
<i>B. japonicum</i> 4792	1.187	0.840	29.23	0.562	52.65	0.141	88.12
<i>S. fredii</i> USDA205	1.537	0.806	47.56	0.135	91.22	0.003	99.80
<i>S. fredii</i> 4397	1.550	0.537	65.35	0.005	99.68	0	100.00
<i>S. fredii</i> 4441	1.513	0.623	58.82	0.022	98.55	0.002	99.87
<i>S. fredii</i> 4534	1.475	1.040	29.49	0.300	79.66	0.098	93.36
<i>S. fredii</i> 4632	1.584	1.203	24.05	0.517	67.36	0.085	94.63
<i>S. fredii</i> 4699	1.546	0.503	67.46	0.248	83.96	0.004	99.74
<i>S. fredii</i> 4729	1.425	0.612	57.05	0.103	92.77	0.003	99.79
<i>S. fredii</i> 4753	1.376	0.419	69.55	0.153	88.88	0.001	99.93
<i>S. fredii</i> 4780	1.475	1.081	26.71	0.354	76.00	0.0767	94.80
<i>S. fredii</i> 4796	1.439	1.048	27.17	0.410	71.51	0.086	94.02
<i>S. fredii</i> 4823	1.440	0.882	38.75	0.363	74.79	0.005	99.65
平均 Mean			44.31		83.77		96.30

2.2 耐旱大豆根瘤菌的复筛试验结果

将初筛获得的 7 株大豆根瘤菌接种汾豆 56, 进行土壤盆栽模拟干旱条件下的复筛试验, 从表 3 可知, 在正常水分条件下, 7 个菌株均能与供试品种结瘤, 而随着干旱程度加深, 根瘤数量不断减少, 但干旱条件下不同菌株间结瘤数量差异较大, 其中接种 *B. japonicum* 4792 在 3 个干旱处理中植株的根瘤数量均为最多, 其次是 *B. japonicum* 4788 和 *B. japonicum* USDA110。

从植株干重结果可以看出, *B. japonicum* 4788 处理在 3 个干旱处理中地上植株干重最高, 且显著高于对照 ($P < 0.05$), 分别比对照提高 57%、50% 和 35%; 其次是菌株 4792, 分别比对照提高 42%、48% 和 19%; 再次为 *B. japonicum* USDA110, 分别比对照提高 34%、19% 和 26%。

在干旱条件下, 不同菌株接种对大豆植株全氮含量的影响同样存在显著差异, 其中接种 *B. japonicum* 4788 大豆植株全氮含量最高, 在 3 个干旱处理条件下分别比对照提高 17%、74% 和 114%, 其次是 *B. japonicum* 4792, 分别比对照提高 16%、55% 和 48%, 再次为 *B. japonicum* USDA110, 分别比对照提高 10%、38% 和 114%。

以上结果表明, 菌株 *B. japonicum* 4788、*B. japonicum* 4792 和 *B. japonicum* USDA110 在干旱条件下具有较好结瘤固氮和促进植株生长的能力, 是耐旱性能较好的根瘤菌菌株。

2.3 根瘤菌接种对大豆植株耐旱相关生理生化指标的影响

2.3.1 甜菜碱含量

如图 1A 所示, 随着干旱胁迫程度加重, 接种根瘤菌和不接种根瘤菌处理的植株中甜菜碱含量都呈现先上升后下降的趋势, 其中重度条件下甜菜碱含量最低, 说明重度干旱对大豆生长抑制严重, 植株无法积累更多的甜菜碱来缓解干旱的危害。与对照相比, 在 3 种水分胁迫条件下, 接种 *B. japonicum* 4792 植株的甜菜碱分别增加 9%、22% 和 11%, 结果表明接种根瘤菌可以促进植株甜菜碱的积累, 提高了植株的耐旱性。

2.3.2 超氧化物歧化酶活性

干旱胁迫条件下接种根瘤菌和不接种根瘤菌处理的植株 SOD 活性变化趋势与甜菜碱含量变化趋势相似(图 1B)。与对照相比, 在 3 种水分胁迫条件下接种 *B. japonicum* 4792 植株的 SOD 活性分别增加了 3.4%、1.3% 和 5.0%, 结果表明接种根瘤菌可以提高 SOD 的活性, 减少干旱对植株的危害。

表 3 干旱胁迫条件下土壤盆栽试验结果
Table 3 Results of soil pot test under drought condition

菌株 Strains	总瘤数 NPP				单株地上植株干重 DWPP/g				单株地上植株全氮量 TNCPP/g			
	正常 Normal	轻度干旱 Mild	中度干旱 Moderate	重度干旱 Severe	正常 Normal	轻度干旱 Mild	中度干旱 Moderate	重度干旱 Severe	正常 Normal	轻度干旱 Mild	中度干旱 Moderate	重度干旱 Severe
CK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.546	0.367	0.298	0.213	13.45	12.49	7.79	4.90
USDA110	21.33	11.00	8.00	6.00	0.592	0.493	0.355	0.269	14.56	13.73	10.72 *	10.53 *
4534	14.33	6.67	3.00	1.33	0.636 *	0.471	0.311	0.231	13.54	12.51	9.07	5.43
4632	19.33	8.67	5.67	0.00	0.579	0.387	0.307	0.224	14.25	13.58	10.03	5.17
4780	16.00	6.67	0.00	0.00	0.556	0.375	0.309	0.218	13.86	12.94	8.18	5.03
4788	18.00	11.67	9.33	9.00	0.721 *	0.577 *	0.448 *	0.287 *	16.43 *	14.61 *	13.59 *	10.50 *
4792	19.67	15.67	12.67	7.67	0.609	0.522	0.440 *	0.253	15.52 *	14.54 *	12.10 *	7.26
4796	16.00	6.67	5.000	0.00	0.581	0.454	0.328	0.218	14.52	13.57	9.68	5.18

以上数据为 3 次重复的平均值,均值比较采用 DLSD 法,* 表示在 $P < 0.05$ 水平比对照 CK 差异显著。

Data are the means of 3 repeats, means comparison by DLSD method, * indicate significant difference compared with CK ($P < 0.05$); NPP = Nodules per plant; DWPP = Dry weight per plant; TNCPP = Total N content per plant.

2.3.3 叶绿素含量 从图 1C 可知,在 3 种水分胁迫条件下,接种根瘤菌处理的植株叶绿素含量均高于不接菌处理,分别增加了 0.5%、4.4% 和 5.1%,表明接种根瘤菌能够降低干旱胁迫对植株叶绿素的破坏。

2.3.4 丙二醛含量 如图 1D 所示,在 3 种水分胁迫条件下,接种根瘤菌处理的植株丙二醛含量均低于不接菌处理,分别减少了 25%、10% 和 20%,表明接种根瘤菌能够减少丙二醛的生成,降低其对植株的毒害。

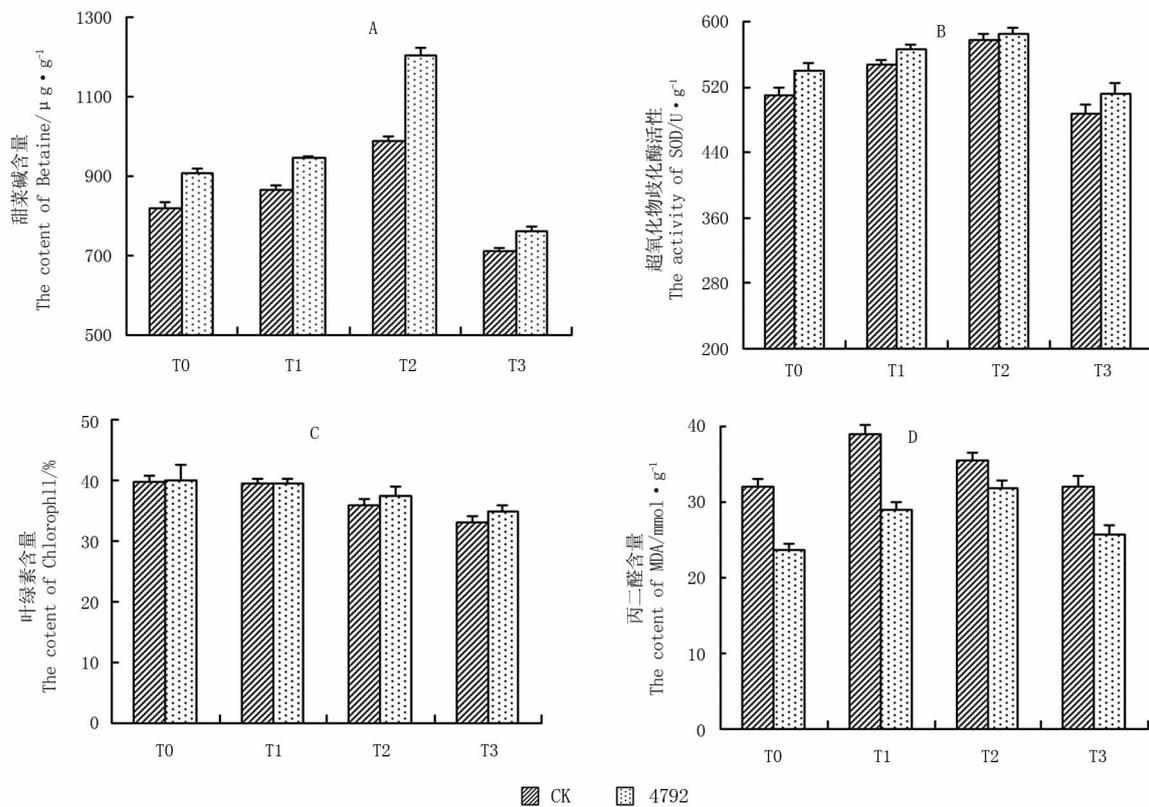


图 1 干旱胁迫下大豆叶片生理生化指标的影响

Fig. 1 Changes of physiological and biochemical indexes in soybean leaves under drought condition

3 结论与讨论

通过聚乙二醇 6000 模拟干旱条件初筛和土壤盆栽模拟干旱复筛获得的优良耐旱菌 *B. japonicum* 4788、*B. japonicum* 4792 和 *B. japonicum* USDA110。

菌株 *B. japonicum* 4788 和 *B. japonicum* 4792 均分离自山西临县,暗示菌株耐旱能力与其生态环境间存在联系;*B. japonicum* USDA110 是目前应用最为广泛的菌株,该研究结果再次验证了其广谱适应性,将其接种于大豆,不仅能够增加植株含氮量,促进

植株生长,还可以提高大豆的耐旱性,减轻干旱对作物的危害,但该结果还需田间试验进一步验证。

在耐旱根瘤菌株的筛选试验中,PEG6000浓度为15%时根瘤菌生长受到抑制,但仍然可以生长,但当PEG6000为25%时明显受到抑制,35%时大部分菌株都不能生长,说明当水势小于 -1.309 MPa 时,严重影响菌株的生长,与迟玉成等的^[13]研究结果部分一致。土壤盆栽模拟干旱条件下的结果中,根瘤数量和植株全氮量在中度干旱和重度干旱时明显减少,说明土壤含水量小于45%~50%,即土壤达到中度干旱时结瘤固氮受到严重抑制。该研究结果还提示,根瘤菌株的耐旱性能与其分离地相关,是菌株适应生态环境的结果。

在干旱胁迫条件下,接种根瘤菌的大豆植株甜菜碱含量、SOD的活性都高于对照,说明接种根瘤菌能够有助于大豆植株调节渗透和离子平衡,并提高清除自由基的能力,从而使植株耐受干旱的能力增加。这是因为甜菜碱是重要的有机渗透溶剂,当受水分胁迫时,细胞质中会积累大量甜菜碱,避免了细胞质高浓度无机离子对酶和代谢的毒害^[14];超氧化物歧化酶(SOD)是重要的活性氧清除酶,当外界胁迫导致大量活性氧产生时,它能及时有效清除自由基,保护细胞免受活性氧胁迫的伤害^[15]。同时该研究中接种根瘤菌的植株叶绿素含量增加、丙二醛含量下降,说明接种根瘤菌减轻了干旱对大豆植株的危害程度,避免了丙二醛积累产生的毒害^[16-17],进一步证实了植株耐旱性的提高。

参考文献

- [1] 江木兰,张学江,徐巧珍,等.大豆-根瘤菌的固氮作用[J].中国油料作物学报,2003,25(1):53-58. (Jiang M L, Zhang X J, Xu Q Z, et al. Nodulation and nitrogen-fixation in soybean-rhizobium[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2003, 25(1): 53-58.)
- [2] Bruno J R A, Robert M B, Segundo U. The success of BNF in soybean in Brazil[J]. Plant and Soil, 2003, 252(1):1-9.
- [3] Servier F. A growing threat down on the farm[J]. Science, 2007, 316:1114-1116.
- [4] 李俊,刘琦,关大伟.陕西、宁夏大豆产区土壤质量和大豆根瘤情况调查[J].大豆科技,2010(5):51-53. (Li J, Liu Q, Guan D W, et al. Survey of soil quality and soybean nodulation in Shanxi and Ningxia soybean production areas[J]. Soybean Science and Technology, 2010(5):51-53.)
- [5] Serraj R, Sinclair T R, Purcell L C. Symbiotic N_2 fixation response to drought[J]. Journal of Experimental Botany, 1999, 50(331):143-155.
- [6] 张红侠,冯瑞华,关大伟,等.黄土高原地区优良大豆根瘤菌的筛选与接种方式研究[J].大豆科学,2010,29(6):996-1002. (Zhang H X, Feng R H, Guan D W, et al. Screening of superior soybean rhizobial strains and analyzing of different inoculation methods in loess plateau region of China[J]. Soybean Science, 2010, 29(6):996-1002.)
- [7] 何丽烂,区炳庆,温海祥,等.耐氮固氮菌浸种对黄瓜幼苗在干旱胁迫下的保护作用[J].佛山科学技术学院学报(自然科学版),2006,24(3):50-53. (He L C, Qü B Q, Wen H X, et al. Soaking cucumber seedlings with in aridity stress ammonia-resistant strains of N_2 -fixing bacteria for protection[J]. Journal of Foshan University (Natural Science), 2006, 24(3):50-53.)
- [8] 张红侠,冯瑞华,李俊,等.黄土高原地区大豆根瘤菌的遗传多样性和系统发育[J].微生物学报,2010,50(11):1466-1473. (Zhang H X, Feng R H, Li J, et al. Genetic diversity and phylogeny of rhizobia isolated from soybean nodules in Loess Plateau of China [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(11):1466-1473.)
- [9] 林大仪.土壤学实验指导[M].北京:中国林业出版社,2004:97-98. (Lin D Y. Soil science experiment guidance[M]. Beijing: China Forestry Press, 2004:97-98.)
- [10] 赵斌,何绍江.微生物学实验[M].北京:科学出版社,2002:123-132. (Zhao B, He S J. Microbiology experiment[M]. Beijing: Science Press, 2002:123-132.)
- [11] 李龙梅,王毅承,张富荣.水分胁迫对二月兰生长和理化特性的影响[J].北方园艺,2011(18):77-79. (Li L M, Wang Y C, Zhang F R. Effects of water stress on physiological and biochemical characteristics of *Orychophragmus violaceus*[J]. Northern Horticulture, 2011(18):77-79.)
- [12] 莫红,翟兴礼.干旱胁迫对大豆苗期生理生化特性的影响[J].湖北农业科学,2007,46(1):45-48. (Mo H, Zhai X L. Effects of drought stress on protective enzymes activities and membrane lipid peroxidation in leaves of soybean seedlings[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2007, 46(1):45-48.)
- [13] 迟玉成,王锋辉,樊堂群,等.山东省花生土著根瘤菌耐盐、耐旱性初步研究[J].花生学报,2008,37(1):21-25. (Chi Y C, Wang J H, Fan T Q, et al. Preliminary study on NaCl-tolerance and drought-tolerance of Bradyrhizobial strains (*Arachis*) isolated from Shandong[J]. Journal of Peanut Science, 2008, 37(1):21-25.)
- [14] 许锁链,柯学,陈凯,等.甜菜碱与植物抗逆性机理的研究进展[J].安徽农学通报,2010,16(7):52-54. (Xu S L, Ke X, Chen K, et al. Research progress on mechanism of glycinebetaine in plant stress resistance[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin 2010, 16(7):52-54.)
- [15] 蔡小东,郭见林. PEG 模拟干旱胁迫下辣椒相关生理指标的变化[J].湖南农业科学,2008(6):49-50,58. (Cai X D, Guo X L. Changes of related physiological indexes of hot pepper under peg-induced water stress[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2008(6):49-50,58.)
- [16] 高中超,周宝库,张喜林.大豆对干旱胁迫生理生化的响应[J].大豆通报,2007(5):27-30. (Gao Z C, Zhou B K, Zhang X L. The physiology and biochemistry reaction of soybean to drought stress[J]. Soybean Bulletin, 2007(5):27-30.)
- [17] 董兴月,林浩,刘丽君.干旱胁迫对大豆生理指标的影响[J].大豆科学,2011,30(1):83-88. (Dong X Y, Lin H, Liu L J. Influence of drought stress on soybean physiological indexes[J]. Soybean Science, 2011, 30(1):83-88.)