

硫化氢对盐胁迫条件下大豆抗氧化酶活性的影响

何庆元^{1,2}, 向仕华^{2,3}, 吴 萍¹, 李正鹏¹, 王松华¹, 祝嫦巍¹, 张晓红¹

(1. 安徽科技学院 生命科学学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 南京农业大学 大豆研究所/国家大豆改良中心/农业部大豆生物学与遗传育种与重点实验室/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095; 3. 自贡市农业科学研究所, 四川 自贡 643000)

摘要:以南农 1138-2 为材料, 采用不同浓度(0, 0.20, 0.40, 0.60 和 0.80 mmol·L⁻¹)的 H₂S 供体 NaHS 溶液喷施在 0.08 mol·L⁻¹ 的 NaCl 溶液胁迫下的大豆植株上, 分析大豆从 V2 至 V4 期生长和同工酶活性的影响。结果表明:0.08 mol·L⁻¹ 的 NaCl 溶液能有效抑制大豆生长。H₂S 的供体 NaHS 溶液喷施对盐胁迫有一定的缓解作用, 0.20 和 0.40 mmol·L⁻¹ 的 NaHS 处理的子叶等级显著高于阳性对照(0.00 mmol·L⁻¹ NaHS 处理), 0.40 mmol·L⁻¹ 的 NaHS 处理有最大的根冠比。0.40 mmol·L⁻¹ 的 NaHS 处理下的 V3 和 V4 期大豆叶片中的过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性虽然比阴性对照低, 但比其余处理都高, 并都显著高于阳性对照。并且在 V3 期大豆的子叶等级与抗氧化酶活性成正相关关系。POD 和 SOD 的同工酶在 NaHS 处理下谱带都发生了一定程度的改变。

关键词: 大豆; 硫化氢; NaCl 胁迫; 缓解; 抗氧化酶

中图分类号: S512.1; S565.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2015.03.0427

Effects of Hydrogen Sulfide Alleviates Salt Stress in Soybean (*Glycine max*) Antioxidative System

HE Qing-yuan^{1,2}, XIANG Shi-hua^{2,3}, WU Ping¹, LI Zheng-peng¹, WANG Song-hua¹, ZHU Chang-wei¹, ZHANG Xiao-hong¹

(1. Life Science College of Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China; 2. Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University/National Center for Soybean Improvement/ Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Soybean Ministry of Agriculture P. R. China/National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, China; 3. Zigong Institute of Agricultural Sciences, Zigong 643000, China)

Abstract: Nannong1138-2 was used as test material, 0.08 mol·L⁻¹ NaCl stressed soybeans were sprayed different concentration NaHS (0, 0.20, 0.40, 0.60 and 0.80 mmol·L⁻¹). The effects of growth and isozymes activity from V2 to V4 periods were analyzed by different treatments. The results showed that growth of soybean was inhibited by 0.08 mol·L⁻¹ NaCl solution. H₂S donor NaHS alleviates NaCl-induced stress. Treatments of 0.20 and 0.40 mmol·L⁻¹ NaHS significantly increased the ranks of cotyledon than positive control and treatment of 0.40 mmol·L⁻¹ NaHS had the highest ratio of root shoot. The activities of POD, SOD and CAT of treatment of 0.4 mmol·L⁻¹ NaHS was lower than negative control but higher than others and significantly higher than positive control. The ranks of cotyledon were positively correlated with activities of antioxidative. NaHS treatments caused changes of the band number of POD and SOD.

Keywords: *Glycine max*; Hydrogen sulfide; NaCl stress; Alleviation; Antioxidative enzyme

土壤盐渍化是世界农业生产发展面临的重要难题,全球有超过 8.3 亿 hm² 盐渍化土壤,占可耕土壤的 26%^[1]。中国大豆主产区(东北生态区)是土壤盐渍化最严重的地区之一^[2]。栽培大豆是中度耐盐植物,在盐渍条件下,产量明显降低^[3],如何缓解盐胁迫造成大豆生长的影响,减少盐渍化土壤导致大豆产量减少和品质的降低,具有重要的意义。

高盐离子浓度能够降低植物水分吸收的能力,Na⁺ 通过受体作用,激活 Ca²⁺ 通道和促使活性氧(ROS)分子,如超氧阴离子(O₂⁻)、过氧化氢(H₂O₂)和羟自由基(HO·)等在细胞质中大量累积,进而对植物产生次级氧化胁迫,最终作用到细胞核的组氨酸激酶受体蛋白(HKT)、氧化损伤膜脂、蛋

白质和核酸等,改变细胞代谢,引起对植物的伤害^[4-5]。植物为减轻活性氧对细胞膜及胞内生物大分子的伤害,其中最为重要的一类途径是通过保护酶系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等清除活性氧,从而降低盐胁迫引起的植物伤害作用^[6-7]。适量的 ROS 能够诱导植物产生对生物和非生物胁迫的保护机制,但过高浓度的 ROS 导致过度的保护,最终造成对细胞的损伤^[8]。

在水溶液中 NaHS 可水解为 Na⁺ 和 HS⁻,而 HS⁻ 又可和 H⁺ 结合形成 H₂S,这是一个动态平衡反应,其中 1/3 以 H₂S 气体形式释放,NaHS 可以作为稳定 H₂S 的供体。近年来已经发现硫化氢(H₂S)与

一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)一样在动物生理中具有重要作用^[9-11]。已有的研究表明 H₂S 可能通过激活脱巯基酶活性,诱导植物对病原菌的防御体系^[12],并且它也可以作为信号分子作用于 ROS 系统和对植物的铝害、干旱等胁迫起到缓解作用^[13-14]。然而,H₂S 在盐渍胁迫下是否参与抗氧化反应还不清楚。本研究通过不同浓度的 H₂S 处理盐胁迫大豆导致 V2 到 V4 期^[15]抗氧化系统的酶活性的变化,旨在探明 H₂S 作为信号分子缓解大豆不同生育时期 NaCl 胁迫的作用的机制,可能为盐碱地大豆生产提供有效的农艺措施。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆为“南农 1138-2”,是奉贤穗稻黄单株

表 1 试验处理编号

Table 1 Treatment's serial number of experiment

编号 Serial number	CKn	CKp	I	II	III	IV
NaCl 浓度	0	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
NaCl concentration/mol·L ⁻¹						
NaHS 浓度	0	0	0.20	0.40	0.60	0.80
NaHS concentration/mol·L ⁻¹						

1.3 测定项目与方法

培养至 V3 和 V4 期,分别从各株采集倒二叶(完全展开的三出复叶)的中间小叶,各重复内混合取样,每重复 0.20 g,并立即用 0.20 mol·L⁻¹的磷酸缓冲液(pH7.8)按料:液=1:4,充分研磨至均浆,全部转入离心管中,4℃ 10 000 r·min⁻¹离心 20 min,取上清液,作为粗酶待测液。V4 期取样后,以子叶节为界,分别称取地上和地下部分鲜重,经 80℃ 烘干至恒重后称取地上和地下部分干重。

子叶失绿考察:每株的子叶失绿情况按 4 级分类,分别是 4 级:子叶饱满,不失绿;3 级:子叶未见明显萎缩,但部分失绿;2 级:子叶有一定的萎缩,部分失绿;1 级:子叶已脱落。

根冠比=根干重/地上干重

酶活性测定:可溶性蛋白含量按考马斯亮蓝法(G250)^[16]、POD 活性按愈创木酚法^[16]、SOD 采用邻苯三酚自氧化速率法^[17]、CAT 活性采用紫外吸收法^[16]测定。酶活性用单位可溶性蛋白在每分钟吸光度变化值表示,即:ΔA·min⁻¹·mg⁻¹。

同工酶电泳:3 种同工酶均采用 Tris-HCl 缓冲体系,分离胶浓度为 7%,浓缩胶 4%。POD 和 SOD 先用 80 V 电泳 1 h,POD 和 SOD 然后用 110 V 电泳至溴酚蓝至胶底端为止;CAT 一直用 80 V 电泳 2 h。POD 同工酶采用联苯胺染色法^[18],SOD 同工酶采

选择获得的品系,具有高产、广泛的地区和生态适应性、综合性状优良等特点,利用该品系曾育成了 27 个品种。H₂S 的供体 NaHS 购自 Sigma 公司(德国)。

1.2 试验设计

分别选取籽粒饱满的大豆种子,经 0.1% HgCl₂ 消毒 8 min,经自来水冲洗 5 遍,播种于装有湿沙的花盆中,置于温室大棚中,自然光照,待出苗后,选取长势一致的幼苗转至 1/2 Hoagland 营养液(pH5.8)中培养至 V2 期。

设 6 个处理,每个处理 3 次重复,每个重复 8 株,在 1/2 Hoagland 中添加 0.08 mol·L⁻¹ NaCl 溶液形成盐胁迫,每天喷施 50 mL 不同浓度的 NaHS 溶液,并设阴性对照(CKn)和阳性对照(CKp)(表 1)。

用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)法^[19],CAT 同工酶采用淀粉碘化钾法,待电泳结束后,凝胶转移至 1%的可溶性淀粉冰浴 1.5 h,然后浸泡至 0.5%的 H₂O₂ 中 1 min,用 ddH₂O 冲洗 4 遍,浸泡至含有 0.5%的冰醋酸和 0.5%的 KI 中显色。

1.4 数据分析

采用 SPSS13.0 和 Excel 2003 对数据进行统计分析,显著性分析采用单因素方差分析(ANOVA)和最小极差法(LSD)进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 NaHS 处理对盐胁迫下大豆生长的影响

从表 2 可知,在 0.08 mol·L⁻¹的 NaCl 溶液胁迫下,大豆 V3 期子叶失绿和萎缩明显,而喷施合适浓度(0.20 和 0.40 mmol·L⁻¹)的 NaHS 溶液对大豆子叶失绿和枯萎有一定的缓解作用,但高浓度缓解效应不明显。当大豆培养至 V4 期时,只有阴性对照的大豆子叶表现较好,盐胁迫下的大豆子叶基本脱落。NaCl 胁迫显著降低大豆生物量的积累,根鲜重、地上部分鲜重、根干重和地上部分干重都显著降低,而喷施 NaHS 喷施虽然对大豆生物量积累有一定促进作用,但未达到显著影响。NaCl 胁迫下,大豆根冠比显著增大,当喷施 0.40 mmol·L⁻¹ NaHS 溶液时,根冠比达到最大。

表 2 喷施 NaHS 溶液对盐胁迫大豆生长的影响

Table 2 Effects of NaHS sprays on soybean growth under NaCl stress

处理 Treatments	V3 期子叶等级 Rank of cotyledon in V3 periods	根鲜重 Fresh weight of root/g	地上鲜重 Fresh weight of aerial part/g	根干重 Dry weight of root/g	地上干重 Dryweight of aerial part/g	根冠比 Root/shoot ratio/%
CKn	4. 00 ±0. 00 a	2. 27 ±0. 22 a	3. 34 ±0. 35 a	0. 17 ±0. 01 a	0. 40 ±0. 05 a	0. 43 ±0. 03 c
CKp	2. 54 ±0. 26 c	1. 60 ±0. 04 b	2. 08 ±0. 11 b	0. 15 ±0. 01 b	0. 30 ±0. 02 b	0. 47 ±0. 01 b
I	3. 08 ±0. 07 b	1. 74 ±0. 04 b	2. 14 ±0. 12 b	0. 15 ±0. 00 b	0. 30 ±0. 01 b	0. 49 ±0. 01 b
II	3. 13 ±0. 13 b	1. 78 ±0. 18 b	2. 18 ±0. 17 b	0. 16 ±0. 01 b	0. 30 ±0. 02 b	0. 52 ±0. 02 a
III	2. 50 ±0. 00 c	1. 64 ±0. 04 b	2. 11 ±0. 13 b	0. 15 ±0. 01 b	0. 32 ±0. 02 b	0. 50 ±0. 01 ab
IV	2. 67 ±0. 26 c	1. 59 ±0. 04 b	2. 12 ±0. 04 b	0. 15 ±0. 00 b	0. 31 ±0. 02 b	0. 48 ±0. 01 b

重量和等级值是同一重复内单株平均值,同列不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

The weight and rank values are means of individual. Different letters in the same column indicated significant difference among different treatments at 0.05 level. The same below.

2.2 NaHS 处理对盐胁迫下不同时期大豆抗氧化酶活性的影响

从表 3 可以看出,0.08 mol·L⁻¹的 NaCl 溶液胁迫下,大豆生长至 V3 和 V4 期的 POD、SOD 和 CAT 的活性都显著降低,喷施一定浓度的 NaHS 能够增加

抗氧化酶的活性。当喷施浓度达到 0.40 mmol·L⁻¹时,酶活性都显著高于阳性对照,但胁迫条件下所有处理的酶活性均低于阴性对照,并且当 NaHS 达到一定浓度后,随浓度的增加,酶活性有所降低。

表 3 NaHS 处理对盐胁迫 V3 和 V4 期大豆抗氧化酶活性影响

Table 3 Effects of NaHS treatments on anti-oxidative enzyme activities of soybean in V3 and V4 periods under NaCl stress

处理 Treatment	V3 期 V3 period			V4 期 V4 period		
	POD 活性 POD activity	SOD 活性 SOD activity	CAT 活性 CAT activity	POD 活性 POD activity	SOD 活性 SOD activity	CAT 活性 CAT activity
CKn	49. 06 ±4. 69 a	5. 18 ±0. 34 a	7. 99 ±0. 44 a	110. 08 ±5. 63a	6. 37 ±0. 52 a	11. 81 ±1. 30 a
CKp	36. 21 ±1. 52 c	2. 54 ±0. 33 b	5. 94 ±0. 52 bc	71. 15 ±5. 32c	2. 58 ±0. 28 d	3. 32 ±0. 27 c
I	36. 75 ±1. 70 c	3. 30 ±0. 29 b	5. 62 ±0. 48 bc	90. 24 ±4. 52b	3. 63 ±0. 13 c	3. 21 ±0. 38 c
II	43. 76 ±3. 57 b	4. 33 ±0. 46 a	7. 51 ±0. 69 a	102. 06 ±5. 31a	5. 02 ±0. 42 b	5. 80 ±0. 44 b
III	40. 68 ±2. 10 bc	2. 76 ±0. 30 b	6. 09 ±0. 40 b	89. 26 ±2. 34b	5. 09 ±0. 40 b	5. 56 ±0. 52 b
IV	39. 96 ±1. 82 bc	2. 56 ±0. 24 b	5. 19 ±0. 40 c	81. 02 ±4. 44bc	3. 51 ±0. 27 c	2. 93 ±0. 18 c

2.3 V3 期子叶评分等级与抗氧化酶活性相关关系

通过相关分析表明,在大豆 V3 期子叶的失绿和枯萎程度和抗氧化酶活性有较高的相关性,子叶等级与 POD、SOD 和 CAT 的相关系数依次达到 0.80,0.94 和 0.78,进一步检验可知,SOD 活性与子叶等级呈线性相关关系,POD 和 CAT 活性与子叶等级线性相关也接近显著水平(表 4)。

表 4 大豆 V3 期子叶等级与抗氧化酶活性相关性

Table 4 Correlation between cotyledon ranks and anti-oxidative enzyme activities in V3 period

相关性 Correlation	POD 活性 POD activity	SOD 活性 SOD activity	CAT 活性 CAT activity
皮尔逊相关系数 Pearson coefficient	0. 80	0. 94	0. 78
P 值 P-vaule	0. 06	0. 005	0. 07

2.4 NaHS 处理对盐胁迫下不同时期大豆同工酶谱的影响

从图 1 可以看出在两个时期 NaCl 胁迫下经

NaHS 处理的大豆叶片中 POD、SOD 和 CAT 同工酶分别有 7,6 和 1 酶带。其中 POD 酶谱的 POD-1 到 POD-4 在 2 个时期 6 个处理中都有酶带,V3 期处理 I 没有 POD-5,6,7 酶带,处理 IV 没有 POD-6,7 酶带;V4 期处理 I 同样没有 POD-5,6,7 条带,处理 II 到 IV 没有 POD-7 条带。表明在 NaCl 胁迫下,POD 同工酶带并没用改变,但低浓度的 H₂S 作用导致低分子量的 POD,而合适浓度的 H₂S 能够诱导各同工酶的表达。SOD 酶谱的在 V3 期的 CKn 处理和 V4 期的 6 个处理没有 SOD-1,2,3 的酶带,2 个时期的 6 个处理都有 SOD-4 酶带,V4 期的 IV 处理没有 SOD-5 酶带,V4 期的 6 个处理也没有 SOD-6 的酶带。表明在 V3 期 NaCl 溶液胁迫下能够导致更多种类的 SOD 表达,但随时间的推移,SOD-1,2,3,6 同工酶的活性降低,最终检测不到谱带。CAT 酶谱在两个时期 6 个处理中都只有一个相同的酶带,在酶谱上没有差异。

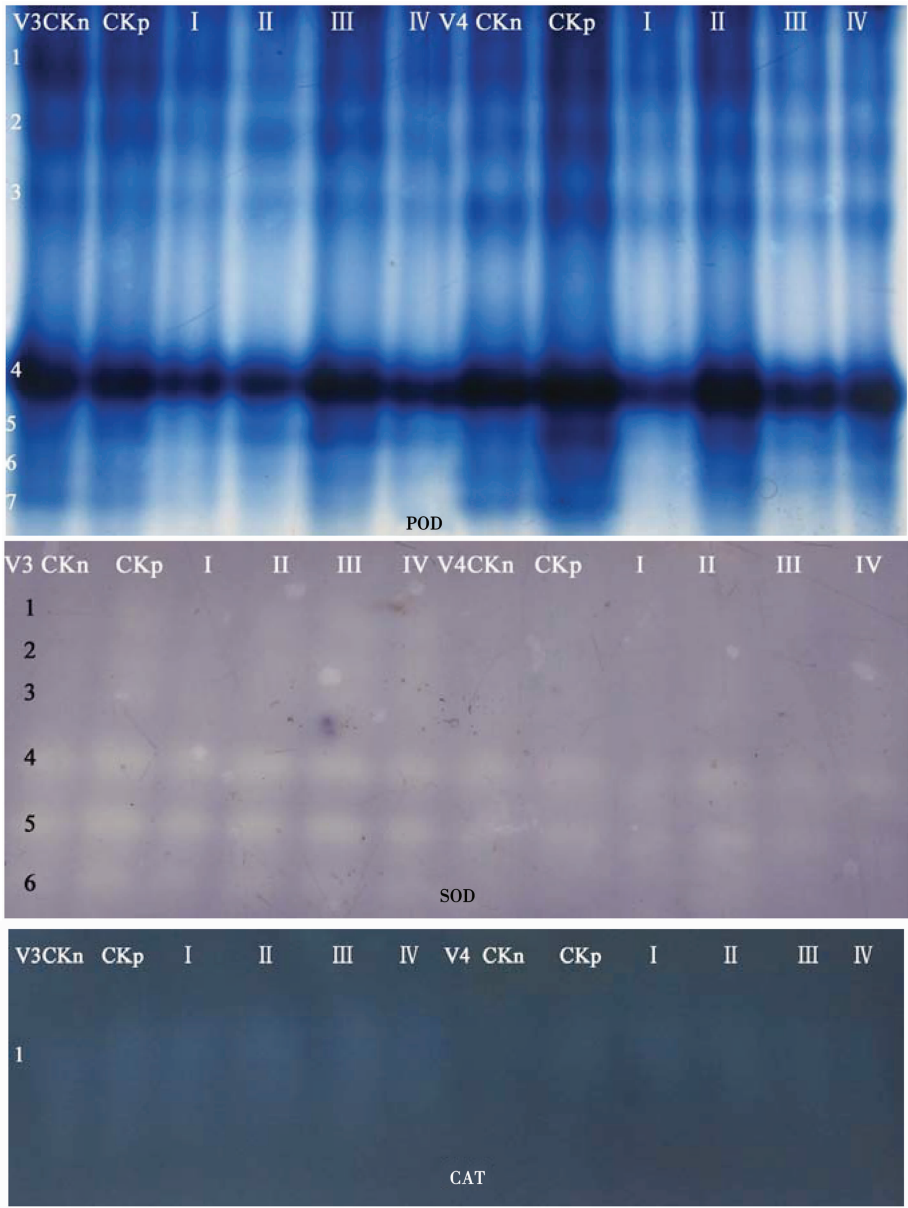


图 1 NaHS 处理对盐胁迫 V3 和 V4 期大豆抗氧化同工酶谱的影响

Fig. 1 Effects of NaHS treatments on anti-oxidative isoenzyme patterns of soybean in V3 and V4 periods under NaCl stress

3 结论与讨论

土壤盐渍化严重影响了植物的生长,导致作物产量降低。已有的研究表明:盐胁迫下植物细胞液泡通过 Na^+ 和 H^+ 离子交换进入植物细胞质中,其中一条重要的途径是通过未知的信号途径刺激活性氧(ROS)积累,进一步刺激下游的许多基因的表达^[4],过量的 ROS 攻击蛋白质、脂质等生物分子,使它们氧化降解,导致酶失活,生物膜透性增大^[20]。而植物清除胁迫诱导产生的过量 ROS 的一条重要途径是通过抗氧化酶系统^[21]。NaHS 在溶液中分解为 Na^+ 和 HS^- ,接着 HS^- 结合 H^+ 形成 H_2S ^[22]。已有的研究表明 H_2S 能够通过激活包括抗氧化酶系统等途径达到缓解植物铝害、干旱和铬等胁迫产生的伤害^[13,23-24]。本研究在盐胁迫下通过不同浓度

NaHS 喷施大豆,同样表明在盐胁迫下抗氧化酶活性降低,但在一定浓度的 NaHS 喷施下,能提高抗氧化性酶的活性,达到对大豆盐胁迫的缓解作用。

子叶不但为大豆前期生长直接提供储存的营养,而且能够进行光合作用,对大豆前期生长十分重要。在正常条件下,大豆子叶会随着生长逐渐失绿萎缩,到开花期基本丧失功能。本试验表明在盐胁迫条件下,所有处理的大豆在 V4 期子叶基本都萎缩失绿,丧失功能,而 V3 期大豆子叶等级与酶活性呈密切的正相关关系, H_2S 的缓解作用能通过子叶的失绿和萎缩直观表现出来。因此,认为在大豆 V3 期时,子叶的失绿萎缩等级能够作为大豆抗盐鉴定的直接指标。

同工酶是指催化相同的化学反应,但其蛋白质分子结构、理化性质等存在明显差异的一组酶。已有的研究表明植物在盐胁迫下同工酶的种类会发

生一定的变化^[25-26]。而南农 1138-2 是基因型高度纯合的品种,基因型高度一致,同工酶表达的差异是相关基因受到盐胁迫和 H₂S 缓解作用导致的表达和关闭的结果。本研究中 POD 和 SOD 同工酶在两个时期的 H₂S 缓解 NaCl 胁迫后谱带产生了一定的改变。POD 在阴阳对照谱带没有差异,但 H₂S 处理后部分谱带缺失,可能是 H₂S 作用增强了个别(如 POD-4)的表达,而抑制了其他种类酶的表达。盐胁迫下激活了 V3 期 SOD-1,2,3 的表达,但高浓度的 H₂S 处理导致 SOD-5 谱带丢失,不同时期酶谱的表达并不完全一致,需要今后进一步研究。

参考文献

[1] Ha B K, Vuong T D, Velusamy V, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci conditioning salt tolerance in wild soybean (*Glycine soja*) PI 4834463 [J]. *Euphytica*,2013,193:79-88.

[2] 刘光宇,关荣霞,常汝镇,等. 大豆不同器官 Na⁺ 含量与苗期耐盐性的相关分析[J]. *作物学报*,2011,37(7):1266-1273. (Liu G Y, Guan R X, Chang Y Z, et al. Correlation between Na⁺ contents in different organs of soybean and salt tolerance at the seedling stage [J]. *Acta Agronomica Sinica*,2011, 37(7):1266-1273.)

[3] Phang T H, Shao G H, Lam H M. Salt tolerance in soybean [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*,2008,50(10):1196-1212.

[4] Deinlein U, Stephan A B, Horie T, et al. Plant salt-tolerance mechanisms [J]. *Trends in Plant Science*,2014,19:371-379.

[5] 王聪,朱月林,杨立飞,等. NaCl 胁迫对菜用大豆种子膨大过程中抗氧化系统及渗透调节物质的影响[J]. *西北植物学报*,2012,32(2):297-305. (Wang C, Zhu Y F, Yang L F, et al. Effects of NaCl stress on antioxidant system and osmotic regulation substances during seed filling period of two vegetable soybean cultivars [J]. *Acta Botanica Boreali Occidentalia Sinica*,2012,32 (2):297-305.)

[6] Foyer C H, Descourvières P, Kunert K J. Protection against oxygen radicals: An important defence mechanism studied in transgenic plants [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1994, 17: 507-523.

[7] Bowler C, Montagu M V, Inzé D. Superoxide dismutase and stress tolerance [J]. *Annual Review Plant Physiology Molecular Biology*,1992,43:83-116.

[8] van B F, Vranová E, Dat J F, et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction[J]. *Plant Science*,2001,161: 405-414.

[9] Yang G, Wu L, Jiang B, et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine γ -lyase [J]. *Science*,2008,322:587-590.

[10] Kimura H, Shibuya N, Kimura Y. Hydrogen sulfide is a signaling molecule and a cytoprotectant [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*,2012,17:45-57.

[11] Tao B B, Liu S Y, Zhang C C, et al. VEGFR2 functions as an H₂S-targeting receptor protein kinase with its novel cys1045-cys1024 disulfide bond serving as a specific molecular switch for hydrogen sulfide actions in vascular endothelial cells [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*,2013,19(5):448-464.

[12] Bloem E, Riemenschneider A, Volker J, et al. Sulphur supply

and infection with *Pyrenopeziza brassica* influence L-cysteine desulphydrase activity in *Brassica napus* L [J]. *Journal Experimental Botany*,2004,55:2305-2312.

[13] Zhang H, Tan Z Q, Hu L Y, et al. Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in germinating wheat seedlings [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*,2010,52 (6):556-567.

[14] Zhang H, Jiao H, Jiang C X, et al. Hydrogen sulfide protects soybean seedling against drought-induced oxidative stress [J]. *Acta Physiol Plant*, 2010,32:849-857.

[15] Fehr W R, Caviness C E,Burmood D T, et al. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill [J]. *Crop Science*,1971,11(6): 929-931.

[16] 李忠光,龚明. 植物生理学综合性和设计性实验教程[M]. 武汉:华中科技大学出版社,2014. (Li Z G, Gong M. Comprehensive and design experiment tutorial of plant physiology [M]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology Press, 2014.)

[17] 韩少华,朱靖博,王妍妍. 邻苯三酚自氧化法测定氧化活性的方法研究[J]. *中国酿造*,2009,207(6):155-157. (Han S H, Zhu J B, Wang Y Y. Measurement of the antioxidant activity by pyrogallol autoxidation [J]. *China Brewing*, 2009,207 (6): 155-157.)

[18] 王松华,张华,崔元戎,等. 镉对灵芝菌丝抗氧化系统的影响[J]. *应用生态学报*,2008,19(6):1255-1361. (Wang S H, Zhang H, Cui Y R, et al. Effects of cadmium stress on the antioxidative system in *Ganoderma lucidum* Mycelia [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*,2008,19(6):1355-1361.)

[19] 罗广华,王爱国. 植物 SOD 的凝胶电泳及活性的显示[J]. *植物生理学通讯*,1983(6):44-45. (Luo G H, Wang A G. Display gel electrophoresis and activity of plant SOD [J]. *Plant Physiology Communications*,1983(6):44-45.)

[20] Sharma S S, Dietz K J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance[J]. *Trends in Plant Science*,2009, 14:43-50.

[21] Mittler R. Oxidative stress antioxidants and stress tolerance [J]. *Trends in Plant Science*,2002,7:405-410.

[22] Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide [J]. *Biochemistry Biophysical Research Communications*,1997,237:527-531.

[23] Zhang H, Wang M J, Hu L Y, et al. Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination under osmotic stress [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2010,57(4):532-539.

[24] Zhang H, Hu L Y, Li P, et al. Hydrogen sulfide alleviated chromium toxicity in wheat [J]. *Biologia Plantarum*,2010,54(4): 743-747.

[25] 王秀玲,程序,谢光辉,等. NaCl 胁迫对甜高粱萌发及过氧化物同工酶的影响[J]. *中国农业大学学报*,2011,16(1):18-23. (Wang X L, Cheng X, Xie G H, et al. Effect of NaCl on germinating and expression of peroxidase isozyme of sweet sorghum [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2011,16(1):18-23.)

[26] 陈一舞,邵桂花,常汝镇. 盐胁迫对大豆幼苗子叶各细胞器超氧化物歧化酶(SOD)的影响[J]. *作物学报*,1997,23(2): 214-219. (Chen Y W, Shao G H, Chang R Z. The effect of salt stress on superoxide dismutase in various organelles from cotyledon of soybean seedling [J]. *Acta Agronomica Sinica*,1997,23(2): 214-219.)