



植物耐碱性研究进展及其在大豆中的应用展望

任鹏飞^{1,2}, 尚丽霞¹, 蔡勤安¹, 于志晶¹, 马 瑞¹

(1. 吉林省农业科学院 生物技术研究所/吉林省农业生物技术重点实验室, 吉林 长春 130033; 2. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:土壤盐碱化是农业生产的主要制约因素之一,盐碱土的改良利用是世界性的难题,碱胁迫对植物体造成的伤害高于盐胁迫。大豆作为重要的经济和油料作物,碱胁迫会对大豆整个生育期造成负面影响,限制大豆植株的生长和结荚,并最终影响大豆的产量。本文从碱胁迫对植物的危害,植物耐碱机制、植物耐碱分子遗传机理的研究及其在大豆中的应用前景几个方面综述并展望植物耐碱研究,以期研究植物对碱胁迫的应答调控机制、挖掘植物耐碱基因、改良盐碱地土壤品质、选育耐碱大豆品种和提高大豆产量提供理论支撑。

关键词:植物;碱胁迫;大豆;耐盐基因

Research Progress of Plant Alkali Tolerance and Its Application Prospect in Soybean

REN Peng-fei^{1,2}, SHANG Li-xia¹, CAI Qin-an¹, YU Zhi-jing¹, MA Rui¹

(1. Agro-Biotechnology Research Institute/Jilin Provincial Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China; 2. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: Soil salinization is one of the main constraints in agricultural production. The improvement and utilization of saline-alkali soil is a worldwide problem. Alkaline soil with high pH value and high exchangeable Na⁺ content (ESP), compared with saline soil, is difficult to improve. Soybean is an important cash and oil crop. Alkali stress has a negative impact on the whole growth period of soybean by affecting the growth, podding and ultimately decreases the yield. This paper reviewed the hazards of alkali stress on plants, the mechanism of plant alkali resistance, the genetic mechanism of plant alkali resistance and its application prospects in soybean. It will provide theoretical support for studying regulation mechanism of plant response to alkali stress, excavating plant alkali-tolerant genes, improving soil quality in saline-alkali soils, selecting alkali-tolerant soybean varieties, and increasing soybean yield.

Keywords: Plant; Alkaline stress; Soybean; Salt-tolerant; Genes

据不完全统计,全世界盐碱地总面积约为 9.54 亿 hm²,中国盐碱地总面积约为 3 600 万 hm²^[1-2]。盐碱地主要分布在滨海、冲积平原、内陆荒漠半荒漠地区以及部分极端干旱地区,目前其整体呈现为面积逐年增加,总体恶化,局部治理效果不佳的状况,是地区经济发展和环境治理的重要影响因素。盐碱地是一类重要的土地资源,对于盐碱土质的改良利用古已有之^[3]。在众多的技术措施中,生物措施被认为是最便捷有效的途径,Vinocur 等^[4]提出深入比较研究极端盐生植物和旱生植物中相同基因家族成员的表达和功能,最终将有助于耐盐碱作物的育种和盐碱土质的改善。发展耐盐碱植物不仅可以大幅提高盐碱土地上作物的产出,而且可以改善当地环境,降低引用高质量灌溉水的费用,重要的是可以避免土壤次生盐碱化,形成良性循环^[5-7]。筛选和种植耐盐碱大豆品种是盐碱地改良利用

的一种行之有效的方法^[8]。邵桂花等^[9-11]对我国东北和黄淮地区多地大豆品种进行了耐盐鉴定,1983 - 1985 年筛选获得了全生育期耐盐品种 7 个,不同生育阶段耐盐和比较耐盐品种 415 个,出苗期和苗期都耐盐和比较耐盐品种 36 个。马淑时等^[12]对 1 020 份吉林和内蒙古大豆品种进行了抗盐性鉴定,筛选获得了 11 份高耐盐品种和 42 份耐盐品种。此外,罗教芬^[13]、李星华等^[14]、潘瑞梅^[15],那桂秋等^[16]也相继鉴定和筛选了适合不同地区的耐盐碱大豆品种,为大豆耐盐碱育种提供了丰富的种质资源。

目前,植物耐盐的研究已较深入,Zhu 等^[17]总结了植物耐盐和干旱的 3 条通路,包括离子和渗透稳态信号通路、解毒(即损伤控制和修复)反应通路和生长调节通路。随着对盐碱化问题研究的不断深入,碱土和盐土的界限更加分明。一般认为,土

收稿日期:2019-03-27

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08004002)。

第一作者简介:任鹏飞(1993-),男,硕士,主要从事植物生物技术研究。E-mail: xzmzf@foxmail.com。

通讯作者:于志晶(1977-),女,硕士,副研究员,主要从事植物分子生物学、遗传转化与代谢工程研究。E-mail: yuzhijing0001@163.com;

马瑞(1966-),男,博士,研究员,主要从事植物分子生物学研究。E-mail: ruimaa@126.com。

壤的电导率(EC)、交换性 Na^+ 含量(ESP) 和 pH 大小是区分二者的主要指标,即 $\text{EC} > 4.0$, $\text{ESP} < 15.0$, $\text{pH} < 8.5$ 是中性盐土壤,主要是 NaCl 和 Na_2SO_4 ,有时还含有相当数量的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ,而 $\text{EC} < 4.0$, $\text{ESP} > 15.0$, $\text{pH} > 8.5$ 是碱性盐土壤,其主要成分是 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 ,通常情况下,将中性盐土壤对植物造成的伤害称之为盐胁迫,而将碱性盐土壤对植物造成的伤害称之为碱胁迫^[18-20]。而无论是盐胁迫还是碱胁迫都会对植物的生长造成负面影响^[20]。盐胁迫和碱胁迫对植物造成的伤害有相同点,也有较大的差异,碱胁迫对植物造成的伤害要高于盐胁迫^[21-24]。植物在碱胁迫条件下,前期表现与盐胁迫相似,但后期随着碱胁迫强度的加深,植物体内生化反应加快,细胞失水,部分组织器官加速衰老,植物体长势变弱,根部变得干硬,叶片枯黄,茎干枯萎,最终植物体死亡,这期间所涉及的基因调控网络较盐胁迫更加快速和复杂。

随着现在分子生物技术的发展,尤其是转基因技术,CRISPR/Cas 技术的出现,对植物碱胁迫的认识逐渐加深,耐碱基因的发掘使用以及耐碱机理的研究成为近几年植物抗逆性研究的一个热点。本文总结了碱胁迫对植物的作用,植物耐碱机理和耐碱相关基因的研究进展,并展望大豆耐碱研究的方向,旨在为耐碱大豆品种的培育提供理论和技术支撑。

1 碱胁迫对植物的危害

1.1 对植物种子的影响

碱胁迫会严重抑制植物的正常生长,这种现象在植物的种子萌发期和幼苗形成期较为突出^[19, 25]。在种子萌发时期,渗透压是主要的影响因素,在碱胁迫下,由于种子发芽介质的渗透势较低,土壤渗透势会抑制种子对水分的吸收,最终导致胚轴和胚根长度不同程度降低,高浓度碱盐($\text{pH} > 8$)则会引起成离子毒害,威胁胚的正常生长,延迟种子的萌发和出苗^[20, 26]。具体表现为发芽不齐或者不发芽,出芽率降低等。在对牛至^[27]、燕麦^[28]和羊草^[29]的研究中发现,高 pH 值是种子萌发重要的影响因素。李劲松等^[30]进一步通过模拟干旱和盐碱胁迫试验发现, Na_2CO_3 胁迫对碱蓬和盐地碱蓬种子萌发的抑制由渗透胁迫和离子毒害共同作用。种子萌发是决定植物产量最基本和最重要的阶段之一^[20],萌发过程中水势降低,离子平衡紊乱和离子毒性将导致植物初始生长能力下降和后续生产力受限,进而在植物的整个生长周期中产生有害影响。

1.2 对植物幼苗的影响

在对碱蓬和盐地碱蓬的研究^[30]中发现,植物在幼苗形成期的抗逆性要低于种子萌发期。幼苗期盐效应会降低植物吸收水分的能力,从而导致生长缓慢,并且可能通过蒸腾作用进入叶片,伤害叶片细胞,影响叶片的光合作用和呼吸作用,进一步影响生长^[20]。高 pH 的环境会影响植物稳态和代谢平衡。在对五脉山黧豆的研究表明,在低胁迫强度($< 30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$)下,根系通过自身正常的酸碱调节来避免盐分的有害作用,保障细胞内稳态平衡,但是高 pH($\text{pH} > 8$)所引起的根外质子缺乏,会影响植物体内的离子积累,导致质膜通透性增加,内容物外渗,从而破坏植物细胞结构,甚至导致细胞死亡^[31]。低浓度的钠盐($< 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3$)可促进啤酒大麦品种甘啤 4 号侧根的生长,但随着 Na_2CO_3 浓度升高,啤酒大麦的发芽率、发芽势、根长、根数、苗重、苗长持续下降,表明植物体生长发育受到抑制,当 Na_2CO_3 浓度 $> 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,啤酒大麦根系生长停滞^[32]。可以看出,不同种属、不同品种之间的植物对于碱性盐的耐受度不同,适度的碱盐可以刺激植物在幼苗形成期根系的形成,有助于植物生长发育,浓度过高的碱盐分会抑制作物生长。在生产利用过程中应加以甄别,谨慎选择。

1.3 对植物根系的影响

植物根系是碱胁迫的主要受伤害部位^[33-34]。碱胁迫初期所涉及的细胞代谢和调控过程与受干旱影响的植物是相同的,土壤中的盐分能够抑制根和叶片的生长。根部主要通过呼吸作用和分泌有机酸等物质来调节其周围环境的酸碱度,在植物的生长组织中既不形成 Na^+ 也不形成 Cl^- ;分生组织主要以能有效排除盐的韧皮部为主,能迅速伸长的细胞可以将进入木质部的盐溶解在其膨胀的液泡中,以避免离子积累造成的毒害^[20, 35]。之后,随着碱胁迫强度的增大,根细胞进一步被破坏,比如水稻皮层薄壁细胞和中柱鞘部分细胞坏死脱落、根尖生长缓慢,甚至停止生长、根部伸长区细胞的伸长、成熟区大维管束的形成以及根毛生长均会受到抑制,促使根系过早木质化,侧根变得短小干硬,植株地下部分生长趋于停缓^[36]。土壤高 pH($\text{pH} > 8.5$)还会导致金属元素(如铁、镁等)和磷的富集沉淀,阻碍植物对矿质营养的吸收^[30, 37]。在 -0.92 , -1.38 和 -1.84 MPa 的重度碱胁迫下,植物根尖开始变黑死亡^[30]。

1.4 对植物地上部分的影响

植株的地上部分也受到碱胁迫的明显抑制。

类胡萝卜素可以通过淬灭过多的光能以避免叶片受到伤害,然而在碱胁迫下,净光合效率下降,气孔闭合,蒸腾速率降低,胞间 CO_2 浓度升高,色素含量下降,光合作用光反应明显受阻。同时光合系统 II 最大光化学效率的下降伴随着荧光非光化学淬灭系数的上升和光化学淬灭系数急剧下降,表明植物可能将多余的光能以热能的形式排放出去,暗反应中心受损,叶片萎蔫^[31]。随着碱胁迫强度的增加,植株株高变矮,茎秆变细,干重降低,自下至上老叶逐渐变得枯黄、发干、最后脱落,新叶叶片窄小、卷曲、绿色变浅,直至死亡^[36, 38-39]。与盐胁迫有所不同的是,高 pH 和碱效应互作可导致植物的生理生化反应会在某临界值时急剧变化^[24, 30, 34]。不同种属、不同品种的植物对碱盐的耐性有所不同,植物个体在发育的不同阶段对碱胁迫的抗性也有所区别。虎尾草整体的耐碱能力要强于水稻^[40],而盐地碱蓬幼苗对碱盐的耐受能力要弱于碱蓬幼苗^[30],大豆、玉米等作物的敏感期多在芽期和幼苗期^[41-42],水稻的敏感期多在萌发期,在生殖期,碱胁迫对水稻地上部分影响较大,对地下部分影响不明显($P > 0.05$)^[36]。研究植物在碱胁迫下的耐性阈值和最佳生长点,可以使人们在农业生产中通过人工干预的手段精确调节土壤 pH 和含盐量(尤其是碳酸盐或碳酸氢盐),有利于作物的良性生长,并能进一步利用不同植物的耐碱特性,发掘耐碱植株和耐碱基因,科学合理的加以利用和改造种植,这对于农业生产和盐碱地环境的改良具有重要意义。

1.5 对植物细胞结构及生理作用的影响

质膜是离子进入细胞的第一道保护屏障,也是植物机体遭受盐碱胁迫的第一部分。在对燕麦幼苗的盐碱胁迫试验^[43]中发现,盐度越大,膜的受损程度越大。在相同盐度下,pH 越高,膜的受损状况越明显($P < 0.05$)。碱胁迫下,由于根部受到抑制,造成水分不足、矿物质营养缺乏和能量不足,植物生理受到干扰,细胞膜系统和膜结构受损导致光合作用下降,呼吸作用受阻,最后,植物的生长由于没有获得足够的物质和能量而受到抑制。赵海新^[36]对寒地水稻叶绿体、线粒体等细胞器的超微结构观察发现,在碱胁迫下,叶绿体发生了不同程度的形变,基粒肿胀,破碎,线粒体内脊肿胀,整体结构模糊。叶贤文^[44]的研究发现碱胁迫下分布于叶绿体上的嗜锻颗粒数量增加,表明叶绿体色素含量下降。而且淀粉颗粒减少,则表明可溶性糖含量升高,能量损耗加快。金微微等^[39]的研究发现,低盐碱胁迫下($< 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$)高丹草叶片对 pH 的变化不敏感,随着胁迫强度的增加,盐浓度与

pH 之间存在互作效应,叶片的相对含水率、叶绿素含量和荧光参数等均呈现下降趋势。碱胁迫总是伴随着高 pH 的伤害,这种伤害往往比单纯的盐胁迫要强烈得多,对植物细胞和植物的根茎叶等器官等可造成不可逆的损害,威胁植物的生长和生存。

2 植物耐碱机制的研究

2.1 有机酸积累

碱性环境导致了大量金属离子和磷酸盐沉淀的产生,自由离子浓度降低,膜脂过氧化和毒害物质积累等的共同作用导致膜系统受到损伤^[45],膜系统损伤又加剧了这种作用的效果,造成恶性循环。随着植物细胞内离子平衡被破坏,物质交换受阻,植物体应激保护和修复系统激活。苹果酸、柠檬酸等有机酸的大量积累可以中和碱性离子,保证酸碱平衡,调节由于环境过高 pH 所带来的生存压力^[46],而这也是植物(尤其是耐碱植物)在碱胁迫下有别于盐胁迫的特殊应激反应^[47-48],其中有着复杂的生理调节机制,涉及植物的光合,呼吸等多个生理过程。不同科属,不同品种植物对碱胁迫的响应有所不同^[46]。比如碱胁迫下虎尾草^[47]和星星草^[48]等禾本科植物主要积累柠檬酸,虎尾草还会积累大量的苹果酸,碱蓬^[49]和碱地肤^[50]等藜科植物则主要积累草酸,向日葵和羊草^[35]体内主要积累脯氨酸。这也许是不同植物耐碱能力不同的原因之一。以星星草为例,柠檬酸的积累是星星草对碱胁迫一种特殊的生理反应^[48]。在 Na_2CO_3 浓度 $> 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的碱胁迫下,柠檬酸的积累量随胁迫强度的增加明显上升。 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3$ 碱胁迫下,48 h 后趋于最大值,144 h 后其积累程度为:幼叶和老茎含量稳定,其它部位从低到高依次为幼茎、幼叶鞘、老叶鞘、成熟叶、老叶。在 $400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 盐胁迫下,柠檬酸含量反而稍有降低。郭立泉^[45]研究发现,作为碱胁迫直接受害部位的根系中,有机酸的积累量并不多,而且积累的有机酸主要分布在根尖。因此星星草对高 pH 环境的调节有可能是通过在根尖皮层的质外体空间分泌柠檬酸等有机酸和呼吸作用释放 CO_2 来实现。有机酸的调控涉及基因调控和植物体内的多个循环过程,如 GS/GOGAT 循环、TCA 循环等,其具体机制研究有待于在分子和其它水平进一步研究和发现。

2.2 离子平衡

离子比是植物生长发育重要的生长指标,适当的离子比可以维持植物的健康生长。 Na^+ 可通过 K^+ 转运途径和非选择性阳离子通道进入植物细胞^[51]。在碱胁迫条件下,细胞内 Na^+ 过度积累影响

了植物对钾(K^+)、钙(Ca^{2+})、镁(Mg^{2+})、氮(N)和磷(P)等必需营养元素的摄取, Na^+/K^+ 值的升高打破了细胞膜正常的跨膜电化学梯度, Na^+ 通道开放和 Na^+ 内流,进一步导致细胞内的离子平衡紊乱。 NO_3^- 和 NH_4^{4+} 浓度下降导致GS/GOGAT(谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶)循环、谷氨酸脱氢酶(GDH)途径等的氨基酸合成和代谢途径受阻,部分物质无法合成,植物体内氮循环遭到破坏^[52]。 Ca^{2+} 是维持细胞膜稳定性、参与信号传导的必要元素,对于细胞壁的合成也是必要的,碱胁迫会强烈诱导钙的积累,提高钙浓度可加快触发SOS1- Na^+ 排斥系统,减少钠损伤, Ca^{2+} 浓度在碱胁迫下先增后降^[24],随着质膜功能降低, Ca^{2+} 损失严重。 Mg^{2+} 是叶绿素的重要组成部分^[53], Mg^{2+} 浓度下降表明叶绿素含量的下降。P的缺失则对植物光合作用、呼吸作用及生物合成过程都有影响。此外,铁铜锌等微量元素的缺失也会对植物造成不同程度的影响,但是相对影响较小,其具体研究机制有待于进一步研究。

植物体内 Na^+ 代谢主要有3个过程:区隔、排斥、转运。 Na^+ 代谢有独立的机制,其主要依赖于穿过细胞膜的 H^+ 梯度,通过调节细胞膜和液泡膜上 $H^+ - ATPase$ 和 $H^+ -$ 焦磷酸同工酶的活性完成^[24]。在对棉花新老叶的研究中发现,碱胁迫刺激了这一过程,加剧了ATP的消耗,从而加速了叶片的糖酵解过程,呼吸作用加强,老叶液泡内积累大量的 Na^+ 并加速衰老掉落,新叶长势变弱^[54]。同时,幼叶中天冬氨酸和谷氨酰胺含量降低,天冬酰胺含量增加,说明转氨化相关代谢活动向脯氨酸生物合成的转变。GABA(γ -氨基丁酸)途径则将转氨化产物转化为相容的渗透溶液(甜菜碱、胆碱等),调节胞液pH和渗透平衡。另外,由于 H^+ 大量外流和高pH环境下外部质子缺乏,植物体内会积累大量的无机阴离子(Cl^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 等)并合成部分有机阴离子(有机酸、脯氨酸等)^[45,55],以保持电荷平衡。然而过量的电荷会影响酶的反应,对氧化还原平衡,底物和中间产物也会造成影响^[53,56],这一方面的作用机制还有待于进一步研究。

2.3 保护酶系统激活

碱胁迫下,丙二醛(MDA)的大幅积累和电解质外渗率的增加表明质膜结构受到了进一步的破坏^[45]。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸氧化酶(APX)等是保护酶系统的主要组成部分^[36,42]。刘铎等^[57]在对柳树的盐碱胁迫对比试验中发现,相比于盐胁迫,碱胁迫对保护酶活性的影响更大。在对

龙葵的研究中发现,碱性盐会加速质膜过氧化反应,对植株叶片细胞造成伤害, $NaHCO_3$ 浓度相关100 mmol·L⁻¹的低浓度碱盐胁迫,SOD、POD活性随胁迫强度不断升高,之后(100~150 mmol·L⁻¹ $NaHCO_3$),SOD、POD、CAT活性随胁迫强度逐渐下降,并且三者的耐碱阈值有所不同,其从大到小依次为:POD>SOD>CAT。保护酶系统有其独特的调节机制,受到多种因素影响^[58]。祝一文等^[59]研究发现,碱胁迫导致水稻幼苗叶片中 H_2O_2 和超氧阴离子大量积累,而 H_2S 可能是一种信号因子,适当浓度的 H_2S 处理可以提高保护酶活性和基因表达量,在一定程度上提高植株耐碱能力。 β -氨基丁酸(BABA)被证明可以增强SOD、POD、CAT和APX等的酶活性,提高植物的抗盐碱能力。SOD、POD、CAT和APX等抗氧化酶可清除植物体内自由基,降低活性氧含量,对于质膜损伤的保护和修复具有重要意义^[60]。在一定的碱胁迫(0~0.2% Na_2CO_3)条件下,SOD、POD、CAT和APX的活性不断增强,协同作用不断加强^[61]。但是随着胁迫强度的增加,SOD、POD、CAT和APX的活性不同程度的下降,而且不同植物体中相同酶的酶活性阈值有所不同^[57,62],表明不同植物体内保护酶系统对活性氧代谢的调节机制存在不同^[61],同时,逆境胁迫^[57,63]和外源物质(如酚酸类^[64]、甜菜碱^[65]等)可能会刺激酶活性的提高,增强植物抗性,应该在此方面加强分子水平上的研究。

3 植物耐碱分子遗传机理的研究

目前有关植物耐碱相关基因及作用机制的研究已经开展。植物耐碱机制的研究主要集中在膜通道蛋白、保护酶、转录调节因子、渗透调节物质等方面,植物体内碱胁迫的应答机制正在逐渐清晰。

3.1 基因调控网络的研究

植物对碱胁迫的响应迅速,其基因调控网络相较于盐胁迫更加复杂。易善军等^[21]将已知的耐碱基因分为细胞内pH调控基因、有机酸代谢相关基因、水代谢相关基因和抗氧化胁迫相关基因4类。然而植物稳态是一个动态调节的过程,植物耐碱能力常常受到多基因的调控,而单个主效基因的表达也需要大量辅助因子的调节。碱胁迫下,特殊的 Na^+ 环境导致水稻对 K^+ 、 H^+ 、 Ca^{2+} 等的吸收受阻,质膜上部分离子通道被迫关闭,SOS通路激活,*NHX1*、*NHX2*、*HKT1*;5等表达上调,加强 Na^+ 排出,*AKT1*和*HAK*基因家族部分基因表达上调,促进 K^+ 的吸收和在茎叶中的转运^[66]。由于结构的不同或者其它原因,碱胁迫下基因在水稻老叶、幼叶^[38]中

的表达有所不同。在老叶中, *OsSOS1*、*OsCIPK24*、*OsNHX1*、*OsNHX2*、*OsHKT1;1*、*OsAKT1*、*OsHAK1*、*OsHAK7*、*OsHAK10*、*OsHAK16* 的表达明显受到碱胁迫的刺激, *OsSOS1*、*OsCIPK24*、*OsNHX1* 和 *OsNHX2* 表达的上调, 加速 Na^+ 的区隔化, *OsHKT1;1*、*OsAKT1*、*OsHAK1*、*OsHAK7*、*OsHAK10*、*OsHAK16* 表达的上调, 加速 Na^+ 的排出, 但它们在幼叶中的表达水平相对正常。同时, 老叶硝酸盐转运蛋白 *OsNRT1;1* 和 *OsNRT1;2* 的表达上调, 幼叶 *OsNRT1;1* 和 *OsNRT1;2* 的表达降低。由此可以看到, 碱胁迫下, 植物细胞通过基因的表达来调控膜通道蛋白和转运蛋白的活性, 缓解 Na^+ 毒害, 保证离子平衡。

3.2 代谢途径关键酶基因的研究

碱胁迫下有机酸合成积累的过程涉及不同物质的不同合成代谢途径, 对其关键酶和相关的转运蛋白调节基因和通路的研究已经处在基因的克隆、功能检测和利用阶段。如李洪有等^[66]从甜芥中克隆到柠檬酸转运蛋白基因 *FeFRD3*, 并发现高铁条件下可以诱导其在根中的表达。才华等^[67]研究了野生大豆来源的 *GsPPCK1* 和 *GsPPCK3* 基因, 发现其与磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 的活性有关。王爽等^[68]克隆了大豆磷脂酰甲基转移酶基因 *Gm-PLMT*, 并发现这一基因的相对表达水平与盐碱胁迫强度相关, 尤其受碱胁迫影响效果明显。郑贞贞等^[69]克隆了马铃薯青薯九号甜菜碱醛脱氢酶基因 *StBADH-504* 和 *StBADH-505*, 并进行了进化分析。钱婵娟等^[70]对 *Virgibacillus halodenitrificans* PDB-F2 菌株进行全基因组测序发现了编码甜菜碱转运蛋白的相关基因 *betL*、*opuD1*、*opuD2* 和 *opuD3*。

3.3 相关基因和转录调节因子的研究

另外, 很多耐碱基因和转录调节因子已经被克隆和功能验证。张冰蕾等^[71]挖掘到陆地棉材料 9807 特异性表达的耐碱候选基因胱硫醚 γ -合成酶基因 *GhMGL11* (A12G2168); 杨浩等^[72]对 cation/H^+ 逆向转运蛋白基因 *GsCHX1* 的克隆和功能验证; 王齐等^[73]从小麦渐渗系新品系 SR4 中获得 1 个膜结合转录因子基因 *TaNTL5*, 其表达量可能与 ROS (活性氧) 合成相关基因 *RbohC* 的表达有关; 孙雪慧等^[74]将从酵母和玉米中获得的耐盐碱基因 *ScHAL1* 和 *ZmHKT* 导入栽培大豆中获得耐碱大豆材料。本实验室已将耐碱相关基因 *NH* 和 *V-ATP* 基因分别从大肠杆菌和羊草中克隆, 并转化到栽培大豆中, 获得耐碱能力较好的大豆新材料 (未发表), 目前, 正在进行环境安全评价试验, 即将应用于大豆耐碱育种工作中。卫琳等^[75]从小麦中克隆到两个特异性基因, 其中 *TaWEKY46* 可能与 ABA 信号通路有关,

TaNRT1.2 可能与 ROS 信号通路有关。

4 大豆耐碱研究展望

目前, 相比于植物耐盐的研究, 植物耐碱的研究还处在起步阶段。另外, 由于盐、碱胁迫通常同时存在, 而混合盐碱胁迫对植物的影响不同于单独的盐或碱胁迫。所以应加强植物在盐、碱和混合盐碱胁迫下的基因表达, 转录调控, 信号转导等方面的研究。全面比较分析植物在不同胁迫下的反应, 揭示植物耐碱胁迫的应答调控机制, 以便为耐碱植物育种提供更多更有价值的理论依据。

我国有着丰富的大豆种质资源, 大豆耐盐碱方面的研究已经进行了很多, 但是前期的大豆耐盐碱研究主要针对氯化物盐类, 而碱盐 (主要是碳酸盐和碳酸氢盐) 的研究较少。进入 21 世纪以后, 大豆耐碱研究逐渐增多, 包括: 大豆 *CML* 家族基因^[76]、*GmCKR*^[77]、*GmHDL57*^[78]、*GmPLC2*^[79]、*GmRLP19*^[80]、*GmUGD*^[81]、*PLMT*^[82] 等大豆耐碱基因的筛选、生物信息学分析和功能验证; 大豆 MYB 转录因子的转录组分析和生物信息学分析^[83-84], 野生大豆蛋白激酶基因 *GsGRIK1* 与 *GsSnRK1.1* 的研究^[85], 大豆蔗糖非发酵相关激酶的主要基因 *GmSnRK1.1* 和 *Gm-SnRK1.2* 的功能研究^[86] 等大豆转录组和蛋白质组分析; 大豆耐碱应答机制的研究, 如葛瑛等^[87-88]对 345 份野生大豆进行耐碱研究, 获得耐碱能力较强 (pH9.02) 的大豆材料 3 份, 利用基因芯片技术对碱胁迫应答基因进行聚类分析, 初步研究了植物碱胁迫的应答调控机制; 徐靖宇^[89]研究了不同生态型野生大豆在盐、碱胁迫下光合同化和离子平衡等生理代谢过程; 牛陆^[90]对栽培大豆和野生大豆进行盐、碱胁迫和演化结构试验; 吉丽^[91]对盐碱环境下大豆根际土壤微生物进行了研究, 探索大豆根际微生物对大豆耐盐碱能力的影响等。

就目前来看, 基于基因工程和 CRISPR/Cas 技术, 结合转录组学和蛋白质组学等技术实现对基因功能的精细定位, 研究不同时空下植物耐碱基因启动子等的关键性元件表达, 上下游的调控关系以及蛋白质的识别和互作等问题将是今后一段时间内植物耐碱机理研究的主要手段。随着育种技术的发展, 分子生物学、基因组学、系统生物学等多学科联合的分子设计育种技术是现代育种技术一次新的变革^[92], 利用大豆分子模块设计育种体系, 充分发展和利用公共数据库中的资源和信息, 创制耐碱大豆新材料也许是未来获取耐碱大豆材料的新途径。

参考文献

[1] 俞仁培, 陈德明. 我国盐渍土资源及其开发利用[J]. 土壤通报, 1999, 30(4): 158-159. (Yu R P, Chen D M. Saline soil resources development and utilization in China[J]. Chinese Journal of Soil Science, 1999, 30(4): 158-159.)

[2] 胡一, 韩霁昌, 张扬. 盐碱地改良技术研究综述[J]. 陕西农业科学, 2015, 61(2): 67-71. (Hu Y, Han J C, Zhang Y. Review of research on saline-alkali land improvement technology[J]. Shanxi Journal of Agricultural Sciences, 2015, 61(2): 67-71.)

[3] 咸金山. 中国古代对盐碱土发生发展规律的认识[J]. 中国农史, 1991, 11(1): 70-77. (Xian J S. Understanding of the occurrence and development of saline-alkali soil in ancient China [J]. Agricultural History of China, 1991, 11(1): 70-77.)

[4] Vinocur B, Altman A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: Achievements and limitations[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2005, 16(2): 123-132.

[5] 杨劲松. 中国盐渍土研究的发展历程与展望[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 837-845. (Yang J S. Development and prospect of the research on salt-affected soils in China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2008, 45(5): 837-845.)

[6] 王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 等. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. 地理学报, 2011, 66(5): 673-684. (Wang J L, Huang X J, Zhong T Y, et al. Review on sustainable utilization of salt-affected land [J]. Acta Geographica Sinica, 2011, 66(5): 673-684.)

[7] 邓绍云, 邱清华. 中国盐碱土壤修复研究综述[J]. 北方园艺, 2011, 35(22): 171-174. (Deng S Y, Qiu Q H. Synthetic study on restoration to alkali-saline soil in China[J]. Northern Horticulture, 2011, 35(22): 171-174.)

[8] 赵文祥, 黎香兰, 张颖, 等. 我国大豆抗性育种研究进展及发展趋势[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 1998, 29(1): 117-122. (Zhao W X, Li X L, Zhang Y, et al. Development and prospects of soybean resistance breeding in China[J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 1998, 29(1): 117-122.)

[9] 邵桂花. 大豆种质资源耐盐性田间鉴定方法[J]. 作物杂志, 1986, 2(3): 36-37. (Shao G H. Field identification method for salt tolerance of soybean[J]. Crops, 1986, 2(3): 36-37.)

[10] 邵桂花, 宋景芝, 刘惠令. 大豆种质资源耐盐性鉴定初报[J]. 中国农业科学, 1986, 27(6): 30-35. (Shao G H, Song J Z, Liu H L. Preliminary studies on the evaluation of salt tolerance in soybean varieties [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1986, 27(6): 30-35.)

[11] 邵桂花. 耐盐大豆品种的分布与盐渍土的关系[J]. 作物杂志, 1988, 4(2): 34-36. (Shao G H. The study on the relationship of salt-tolerance cultivars of soybean and saline-alkali soil [J]. Crops, 1988, 4(2): 34-36.)

[12] 马淑时, 王伟. 大豆品种资源的抗盐碱性研究[J]. 吉林农业科学, 1994, 35(4): 69-71. (Ma S S, Wang W. The study on salt and alkaline resistance evaluation of different soybean varieties [J]. Journal of Northeast Agricultural Sciences, 1994, 35(4): 69-71.)

[13] 罗教芬. 大豆种质资源抗盐碱鉴定[J]. 大豆科学, 1993, 12(1): 89. (Luo J F. salt and alkaline resistance evaluation of soybean germplasm[J]. Soybean Science, 1993, 12(1): 89.)

[14] 李星华, 陈宛妹, 李增禄. 山东大豆种质资源耐盐性鉴定[J]. 山东农业科学, 1996, 34(4): 11-13. (Li X H, Chen W M, Li Z L. Appraisal of salt tolerance of soybean germplasm in Shandong province [J]. Shandong Agricultural Sciences, 1996, 34(4): 11-13.)

[15] 潘瑞梅. 冀东滨海地区耐盐碱大豆品种的筛选[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(7): 158-159. (Pan R M. Appraisal of salt and alkaline tolerance of soybean germplasm in east of Hebei province [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2007, 13(7): 158-159.)

[16] 那桂秋, 寇贺, 曹敏建. 不同大豆品种种子萌发期耐盐碱性鉴定[J]. 大豆科学, 2009, 28(2): 352-356. (Na G Q, Kou H, Cao M J. Salt and alkaline tolerance evaluation of different soybean varieties at germination stage [J]. Soybean Science, 2009, 28(2): 352-356.)

[17] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2002, 53: 247-273.

[18] 楚乐乐, 罗成科, 田蕾, 等. 植物对碱胁迫适应机制的研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 836-844. (Chu L L, Luo C K, Tian L, et al. Research advance in plants, adaptation to alkali stress[J/OL]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(4): 836-844.)

[19] 王英, 张国民, 李景鹏, 等. 寒地粳稻耐碱研究进展及开发前景[J]. 作物杂志, 2016, 32(6): 1-8. (Wang Y, Zhang G M, Li J P, et al. Advances in alkaline tolerance of japonica rice in cold zone[J]. Crops, 2016, 32(6): 1-8)

[20] Parul P, Samiksha S, Rachana S, et al. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: A review[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2015, 22(6): 4056-4075.

[21] 易善军, 孙振元, 韩蕾, 等. 植物耐碱机理及相关基因研究进展[J]. 世界林业研究, 2011, 24(1): 28-32. (Yi S J, Sun Z Y, Han L, et al. Research advance on alkali-resistant mechanism of plants and related genes[J]. World Forestry Research, 2011, 24(1): 28-32.)

[22] 石德成, 殷立娟. 盐(NaCl)与碱(Na₂CO₃)对星星草胁迫作用的差异[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1993, 35(2): 144-149. (Shi D C, Yin L J. Difference between salt(NaCl) and alkaine(Na₂CO₃) stresses on *Puccinellia tenuiflora* (Griseb.) Scribn. et Merr. plants[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1993, 35(2): 144-149.)

[23] Rui G, Shi L X, Yang Y F. Germination, growth, osmotic adjustment and ionic balance of wheat in response to saline and alkaline stresses[J]. Soil Science & Plant Nutrition, 2010, 55(5): 667-679.

[24] Guo R, Yang Z, Li F, et al. Comparative metabolic responses and adaptive strategies of wheat (*Triticum aestivum*) to salt and alkali stress[J]. BMC Plant Biology, 2015, 15(1): 170-183.

[25] Dodd G L, Donovan L A. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs[J]. American Journal of Botany, 1999, 86(8): 1146-1153.

[26] 邱璐. 藜麦生长初期对盐碱胁迫的生理响应[D]. 长春: 东北师范大学, 2018. (Qiu L. The physiological responses of *Chenopodium quinoa* Willd. to saline alkaline stress in the early stage of

growth[D]. Changchun: Northeast normal University, 2018.)

[27] Laghmouchi Y, Belmehdi O, Bouyahya A, et al. Effect of temperature, salt stress and pH on seed germination of medicinal plant *Origanum compactum*[J]. Biocatalysis & Agricultural Biotechnology, 2017, 10: 156-160.

[28] Wang G, Lei W, Xuan M, et al. Effect of saline-alkali stress on seed germination and seedling growth of oat[J]. Plant Diseases & Pests, 2015, 45(2): 437-446.

[29] Ma H, Yang H, Lyu X, et al. Does high pH give a reliable assessment of the effect of alkaline soil on seed germination? A case study with *Leymus chinensis* (Poaceae)[J]. Plant & Soil, 2015, 394(1-2): 35-43.

[30] 李劲松, 郭凯, 李晓光, 等. 模拟干旱和盐碱胁迫对碱蓬、盐地碱蓬种子萌发的影响[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(7): 1011-1018. (Li J S, Guo K, Li X G, et al. Effects of PEG, NaCl and Na₂CO₃ stresses on *Suaeda glauca* and *Suaeda salsa* seed germination[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(7): 1011-1018.)

[31] Zhang J T, Mu C S. Effects of saline and alkaline stresses on the germination, growth, photosynthesis, ionic balance and anti-oxidant system in an alkali-tolerant leguminous forage *Lathyrus quinquerivius*[J]. Soil Science & Plant Nutrition, 2010, 55(5): 685-697.

[32] 柳小宁, 潘永东, 张华瑜, 等. Na₂CO₃ 胁迫对啤酒大麦种子萌发的影响[J]. 甘肃农业科技, 2014, 52(12): 5-8. (Liu X N, Pan Y D, Zhang H Y, et al. Effects of Na₂CO₃ stress on germination of beer barley seeds[J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2014, 52(12): 5-8)

[33] Ge Y, Li Y, Zhu Y M, et al. Global transcriptome profiling of wild soybean (*Glycine soja*) roots under NaHCO₃ treatment[J]. BMC Plant Biol, 2010, 10(1): 153-167.

[34] 赵楠, 芦艳, 左进城, 等. 碱胁迫对碱蓬种子萌发的影响[J]. 北方园艺, 2012, 36(1): 45-47. (Zhao N, Lu Y, Zuo J C. Effect of alkali stress on germination of *Suaeda salsa* seeds[J]. Northern Horticulture, 2012, 36(1): 45-47.)

[35] 颜宏, 赵伟, 盛艳敏, 等. 碱胁迫对羊草和向日葵的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(8): 1497-1501. (Yan H, Zhao W, Sheng Y M, et al. Effects of alkali-stress on *Aneurolepidium chinense* and *Helianthus annuus*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(8): 1497-1501.)

[36] 赵海新. 寒地水稻对碱胁迫的响应及鉴定指标评价[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2012. (Zhao H X. Response of rice to alkali stress in cold region and evaluation of its identification indexes [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2012.)

[37] 张磊, 侯云鹏, 王立春. 盐碱胁迫对植物的影响及提高植物耐盐碱性的方法[J]. 东北农业科学, 2018, 43(4): 11-16. (Zhang L, Hou Y P, Wang L C. Effects of salt-alkali stress on plants and methods to improve salt-alkali tolerance of plants[J]. Northeast Agricultural Science, 2018, 43(4): 11-16.)

[38] Huan W, Zhihai W, Jiayu H, et al. Comparison of ion balance and nitrogen metabolism in old and young leaves of alkali-stressed rice plants[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37817.

[39] 金微微, 张会慧, 滕志远, 等. 盐碱互作胁迫对高丹草叶片叶绿素荧光参数的影响[J]. 草业科学, 2017, 34(10): 2090-2098. (Jin W W, Zhang H H, Teng Z Y, et al. Effects of saline-alkali interaction stress on the chlorophyll fluorescence in leaves of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense*[J]. Pratacultural Science, 2017, 34(10): 2090-2098.)

[40] 杨春武. 虎尾草和水稻抗碱机制研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2010. (Yang C W. Mechanisms of alkali tolerance in *Chloris virgata* and rice (*Oryza sativa*) [D]. Changchun: Northeast normal University, 2010.)

[41] 葛瑛, 朱延明, 吕德康, 等. 野生大豆碱胁迫反应的研究[J]. 草业科学, 2009, 26(2): 47-52. (Ge Y, Zhu Y M, Lyu D K, et al. Study on alkali stress response of wild soybean[J]. Pratacultural Science, 2009, 26(2): 47-52.)

[42] 李蒙蒙. 玉米幼苗对盐碱胁迫响应特征比较及甜菜碱缓解效应研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2013. (Li M M. Response of maize seedlings to salinization stress and its regulation by betaine[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2013.)

[43] Gao Z W, Han J Y, Mu C S, et al. Effects of saline and alkaline stresses on growth and physiological changes in oat (*Avena sativa* L.) seedlings[J]. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2014, 42(2): 1918-1929.

[44] 叶贤文. 会理不同海拔烟叶嗜饿颗粒的分布特征及其与烤烟品质的关系[D]. 郑州: 河南农业大学, 2011. (Ye X W. The distribution characteristics of osmophilic granules in tobacco leaves at different altitudes and the relationship with quality of flue-cured tobacco leaves of Huili[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2011.)

[45] 郭立泉. 星星草抗碱生理适应机制的研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2009. (Guo L Q. The study of alkali-tolerant metabolism in *puccinellia tenuiflora*[D]. Changchun: Northeast normal University, 2009.)

[46] 董丽娟. 不同山定子幼苗耐碱性评价与碱胁迫下有机酸积累的差异机理分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018. (Dong L J. Alkali tolerance of different *Malus baccata* accessions and the differences of organic acids accumulation of two accessions under alkali stress[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2018.)

[47] 徐华华. 盐碱胁迫对虎尾草有机酸代谢、光合及荧光特性的影响[D]. 长春: 东北师范大学, 2010. (Xu H H. The responses of organic acid metabolism, photosynthesis and chlorophyll fluorescence in an alkali-tolerant halophyte *Chloris virgata* under alkali stress and salt stress[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2010.)

[48] 石德成, 尹尚君, 杨国会, 等. 碱胁迫下耐碱植物星星草体内柠檬酸特异积累现象[J]. 西北植物学报, 2002, 44(5): 537-540. (Shi D C, Yin S J, Yang G H, et al. Citric acid accumulation in an alkali-tolerant plant *Puccinellia tenuiflora* under alkaline stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2002, 44(5): 537-540.)

[49] Yang C, Shi D, Wang D. Comparative effects of salt and alkali stresses on growth, osmotic adjustment and ionic balance of an alkali-resistant halophyte *Suaeda glauca* (Bge.) [J]. Plant Growth Regulation, 2008, 56(2): 179-190.

[50] Yang C, Chong J, Li C, et al. Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions[J]. Plant & Soil, 2007,

294(1-2): 263-276.

[51] Guo R, Shi L X, Yang C W, et al. Comparison of ionic and metabolites response under alkali stress in old and young leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: e1785.

[52] 王欢. 碱胁迫下水稻氮代谢调节机制[D]. 长春: 东北师范大学, 2013. (Wang H. The regulation mechanism of nitrogen metabolism of rice under alkaline stress[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2013.)

[53] Guo R, Zhou J, Hao W P, et al. Germination, growth, chlorophyll fluorescence and ionic balance in linseed seedlings subjected to saline and alkaline stresses[J]. *Plant Production Science*, 2014, 17(1): 20-31.

[54] Guo R, Yang Z, Li F, et al. Comparative metabolic responses and adaptive strategies of wheat (*Triticum aestivum*) to salt and alkali stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15(1): 170.

[55] 麻莹, 曲冰冰, 郭立泉, 等. 盐碱混合胁迫下抗碱盐生植物碱地肤的生长及其茎叶中溶质积累特点[J]. *草业学报*, 2007, 16(4): 25-33. (Ma Y, Qu B B, Guo L Q, et al. Growth and solute accumulation in stem and leaf of alkali-resistant plant under salt and alkali mixed stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2007, 16(4): 25-33.)

[56] 张衷华. NaHCO₃ 胁迫对烟草的毒害机理研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011. (Zhang Z H. Comparative toxicity of NaHCO₃ and NaCl stress on tobacco (*Nicotiana tabacum* Linn.) [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2011.)

[57] 刘铎, 丛日春, 高卫东, 等. 盐碱胁迫对柳树抗氧化酶的影响[J]. *水土保持通报*, 2017, 37(5): 53-57. (Liu D, Cong R C, Gao W D, et al. Effects of salt and alkali stresses on antioxidases of willow[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2017, 37(5): 53-57.)

[58] 高剑. 中性盐和碱性盐对龙葵(*Solanum nigrum* L.) 的胁迫作用研究[D]. 牡丹江: 牡丹江师范学院, 2017. (Gao J. Study on the stress effect of neutral salt and alkaline salt on of *Solanum nigrum* L. [D]. Mudanjiang: Mudanjiang Normal University, 2017.)

[59] 祝一文, 车永梅, 赵方贵, 等. 碱胁迫下 H₂S 参与活性氧代谢和水稻幼苗生长的调控[J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26(7): 1124-1131. (Zhu Y W, Che Y M, Zhao F G, et al. H₂S functions in growth regulation in rice (*Oryza sativa*) seedling and metabolism modulating of reactive oxygen under alkaline stress[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2018, 26(7): 1124-1131.)

[60] 尤本武. β -氨基丁酸诱导烟草抗碱研究[D]. 北京: 中国科学技术大学, 2017. (You B W. A preliminary study on BABA-induced resistance to alkaline stress in tobacco[D]. Beijing: University of Science and Technology of China, 2017.)

[61] 吴成龙, 尹金来, 徐阳春, 等. 碱胁迫对菊芋幼苗生长及其光合作和抗氧化作用的影响[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(3): 447-454. (Wu C L, Yin J L, Xu Y C, et al. Effects of alkali stress on growth, photosynthesis and antioxidation of *Jerusalem artichoke* seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(3): 447-454.)

[62] 吴晓霞, 高红明, 张彪, 等. 低浓度 Na₂CO₃ 胁迫下星星草幼苗保护酶活性与活性氧之间的关系[J]. *草业学报*, 2004, 13(6): 87-91. (Wu X X, Gao H M, Zhang B, et al. The relationship between the activity of the protective enzyme and active oxygen of the seedling of the star grass under low concentration of Na₂CO₃ stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2004, 13(6): 87-91.)

[63] 韩蕊莲, 李丽霞, 梁宗锁, 等. 干旱胁迫下沙棘膜脂过氧化保护体系研究[J]. *西北林学院学报*, 2002, 17(4): 1-5. (Han R L, Li L X, Liang Z S, et al. Study on membrane lipid peroxidation protection system of *Hippophae rhamnoides* under drought stress[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2002, 17(4): 1-5.)

[64] 吴凤芝, 黄彩红, 赵凤艳. 酚酸类物质对黄瓜幼苗生长及保护酶活性的影响[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(7): 821-825. (Wu F Z, Huang C H, Zhao F Y. The effect of phenolic acid on the growth and protective enzyme activity of cucumber seedlings[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(7): 821-825.)

[65] 张士功, 高吉寅, 宋景芝. 甜菜碱对 NaCl 胁迫下小麦细胞保护酶活性的影响[J]. *植物学通报*, 1999, 16(4): 429-432. (Zhang S G, Gao J Y, Song J Z. Effect of betaine on cell protective enzyme activity of wheat under NaCl stress[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, 16(4): 429-432.)

[66] 李洪有, 钟长春, 蔡芳, 等. 甜芥柠檬酸转运蛋白基因 *FeFRD3* 的克隆及表达分析[J]. *西北植物学报*, 2018, 38(3): 409-415. (Li H Y, Zhong C C, Cai F, et al. Cloning and expression analysis of citric acid transporter gene *FeFRD3* from *Tartary Buckwheat*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, 38(3): 409-415.)

[67] 才华, 许慧慧, 孙娜, 等. 从光合作用和有机酸积累角度探索转 *GsPPCK1* 和 *GsPPCK3* 基因苜蓿耐碱性增强的生理机制[J]. *草业学报*, 2018, 27(8): 107-117. (Cai H, Xu H H, Sun N, et al. To explore the physiological mechanism of alkaline tolerance in transgenic alfalfa with *GsPPCK1* and *GsPPCK3* genes from the perspective of photosynthesis and organic acid accumulation[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2018, 27(8): 107-117.)

[68] 王爽, 徐华祥, 张加凡, 等. 大豆 *PLMT* 基因的克隆及在盐、碱胁迫下的表达分析[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(15): 4824-4828. (Wang S, Xu H X, Zhang J F, et al. Cloning of soybean *PLMT* gene and expression analysis of it under saline-alkaline stress [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(15): 4824-4828.)

[69] 郑贞贞, 李佳, 叶广继, 等. 马铃薯青薯九号甜菜碱脱氢酶基因(*SbBADH*)克隆及进化分析[J]. *分子植物育种*, 2017, 15(9): 3417-3427. (Zheng Z Z, Li J, Ye G J, et al. Isolation and evolutionary analysis of *SbBADH* in Qingshu 9 (*Solanum tuberosum*) [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(9): 3417-3427.)

[70] 钱婵娟. *Virgibacillus halodenitrificans* PDB-F2 甘氨酸甜菜碱转运基因的克隆与渗透胁迫响应[D]. 上海: 华东理工大学, 2018. (Qian C J. Cloning of *Virgibacillus halodenitrificans* PDB-F2 glycine betaine transport gene and osmotic stress response[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2018.)

[71] 张冰蕾, 舒娜, 崔瑞峰, 等. 棉花 *GhMGL11* 基因的克隆和表达分析[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(16): 5173-5182. (Zhang B L, Shu N, Cui R F, et al. Cloning and expression analysis of cotton *GhMGL11* gene [J]. *Molecular Plant Breeding*,

2018, 16(16): 5173-5182.)

[72] 杨浩, 朱延明. 耐碱 *GsCHX19* 基因的克隆及对苜蓿的遗传转化[J]. 作物杂志, 2016(3): 37-44, 175. (Yang H, Zhu Y M. Cloning of alkali-tolerant *GsCHX19* gene and genetic transformation of alfalfa[J]. Crops, 2016(3): 37-44, 175.)

[73] 王齐. 小麦转录因子 *TaNTL5* 参与盐碱胁迫应答的分子机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2018. (Wang Q. Molecular mechanism of wheat transcription factor *TaNTL5* involved in saline-alkali stress response[D]. Jinan: Shandong University, 2018.)

[74] 孙雪慧. 耐盐基因 *ScHAL1* 和 *ZmHKT* 转入大豆的研究[D]. 长春: 长春师范大学, 2018. (Sun X H. Studies on the transfer of salt-tolerant genes *ScHAL1* and *ZmHKT* into soybean [D]. Changchun: Changchun normal University, 2018.)

[75] 卫琳. 小麦盐、碱胁迫应答基因 *TaWRKY46* 和 *TaNRTL*. 2 的功能研究[D]. 济南: 山东大学, 2018. (Wei L. Wheat salt, alkali stress response gene *TaWRKY46* and *TaNRTL*. 2. Functional study[D]. Jinan: Shandong University, 2018.)

[76] 陈超, 端木慧子, 朱丹, 等. 大豆 *CML* 家族基因的生物信息学分析[J]. 大豆科学, 2015, 34(6): 957-963. (Chen C, Duanmu H Z, Zhu D, et al. Bioinformatics analysis of *GmCML* genes in soybean genome[J]. Soybean Science, 2015, 34(6): 957-963.)

[77] 张晓美. 大豆 *GmCKR* 基因的分离及功能验证[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012. (Zhang X M. Isolating and function identifying of *GmCKR* gene in soybean[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2012.)

[78] 柯丹霞, 彭昆鹏, 张孟珂, 等. 大豆 *GmHDL57* 基因的克隆及抗盐功能鉴定[J]. 作物学报, 2018, 44(9): 1347-1356. (Ke D X, Peng K P, Zhang M K, et al. Cloning and salt resistance function identification of *GmHDL57* gene from *Glycine max* [J]. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(9): 1347-1356.)

[79] 邓宇, 王骐, 董金晔, 等. 大豆 *GmPLC2* 基因的序列分析及表达特性[J]. 吉林农业大学学报, 2016, 38(2): 138-144. (Deng Y, Wang Q, Dong J Y, et al. Sequence analysis and expression characterization of soybean *GmPLC2* gene[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2016, 38(2): 138-144.)

[80] 柏锡, 魏彬, 赵静, 等. 大豆 *GmRLP19* 基因克隆及胁迫应答模式分析[J]. 东北农业大学学报, 2019, 50(4): 11-18. (Bai X, Wei B, Zhao J, et al. Cloning of soybean *GmRLP19* gene and analysis of stress response patterns[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2019, 50(4): 11-18.)

[81] 朱延明, 朱毅, 端木慧子, 等. 大豆 *GmUGD* 基因家族生物信息学分析[J]. 东北农业大学学报, 2015, 46(9): 23-29. (Zhu Y M, Zhu Y, Duanmu H Z, et al. Bioinformatics analysis of *GmUGD* gene family in soybean genome[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2015, 46(9): 23-29.)

[82] 王爽, 徐华祥, 张加凡, 等. 大豆 *PLMT* 基因的克隆及在盐、碱胁迫下的表达分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(15): 4824-4828. (Wang S, Xu H X, Zhang J F, et al. Cloning of soybean *PLMT* gene and expression analysis of it under saline-alkaline stress [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(15): 4824-4828.)

[83] 成舒飞, 端木慧子, 陈超, 等. 大豆 *MYB* 转录因子的全基因组鉴定及生物信息学分析[J]. 大豆科学, 2016, 35(1): 52-57. (Cheng S F, Duanmu H Z, Chen C, et al. whole genome identification of soybean *MYB* transcription factors and bioinformatics analysis[J]. Soybean Science, 2016, 35(1): 52-57.)

[84] 吴冰, 李喜焕, 刘翠, 等. 大豆 *MYB* 转录因子 *GmPHRI* 转化及功能研究[J]. 大豆科学, 2013, 32(3): 302-305. (Wu B, Li X H, Liu C, et al. Genetic transformation and function analysis of transcription factor *GmPHRI* in soybean[J]. Soybean Science, 2013, 32(3): 302-305.)

[85] 朱延明, 杜建英, 陈超, 等. 碱胁迫应答基因 *GsSnRK1. 1* 与上游调控因子 *GsGRIK1* 互作功能分析[J]. 东北农业大学学报, 2018, 49(6): 1-11. (Zhu Y M, Du J Y, Chen C, et al. Analysis of interaction function of upstream regulator *GsGRIK1* and *GsSnRK1. 1* in response to alkaline stress[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2018, 49(6): 1-11.)

[86] 李慧卿, 陈超, 陈冉冉, 等. 利用 CRISPR/Cas9 双基因敲除系统初步解析大豆 *GmSnRK1. 1* 和 *GmSnRK1. 2* 对 ABA 及碱胁迫的响应[J]. 遗传, 2018, 40(6): 496-507. (Li H Q, Chen C, Chen R R, et al. Preliminary analysis of the role of *GmSnRK1. 1* and *GmSnRK1. 2* in the ABA and alkaline stress response of the soybean using the CRISPR/Cas9-based gene double-knockout system[J]. Hereditas, 2018, 40(6): 496-507.)

[87] 葛瑛, 朱延明, 吕德康, 等. 野生大豆碱胁迫反应的研究[J]. 草业科学, 2009, 26(2): 47-52. (Ge Y, Zhu Y M, Lyu D K, et al. Research on responses of wild soybean to alkaline stress[J]. Pratacultural Science, 2009, 26(2): 47-52.)

[88] 葛瑛. 野大豆碱胁迫转录谱与基因组整合分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010. (Ge Y. Integration of microarray and genome analysis in alialine-stressed *Glycine soja* [J]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010.)

[89] 徐靖宇. 盐胁迫下野大豆 (*Glycine soja*) 光合特性、离子动态平衡及其相关关系研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2016. (Xu J Y. The photosynthetic characteristics, ion homeostasls and the correlation between them in *Glycine soja* under salt stress [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2016.)

[90] 牛陆. 盐、碱胁迫对大豆属植物的结构演化及生理特性的影响[D]. 长春: 东北师范大学, 2013. (Niu L. The responses of structural evolvement and physiological in *Glycine* under salt stress and alkali stress [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2013.)

[91] 吉丽. 盐碱胁迫下大豆根际微生物多样性分析[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017. (Ji L. Diversity analysis of rhizosphere microorganism in soybean under saline alkali stress[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017.)

[92] 田志喜, 刘宝辉, 杨艳萍, 等. 我国大豆分子设计育种成果与展望[J]. 中国科学院院刊, 2018, 33(9): 915-922. (Tian Z X, Liu B H, Yang Y P, et al. Update and perspect of soybean molecular module-based designer breeding in China[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2018, 33(9): 915-922.)