

## 酸性土壤胁迫下丹波黑大豆和云南小黑豆生理特性研究

钱绍方<sup>1</sup>, 陈丽梅<sup>1</sup>, 陈宣钦<sup>1</sup>, 王永雄<sup>2</sup>, 李昆志<sup>1</sup>

(1. 昆明理工大学 生物工程技术研究中心, 云南 昆明 650500; 2. 西南大学 动物科技学院, 重庆 400716)

**摘要:**以酸性土壤耐受能力差异明显的2个大豆品种丹波黑大豆和云南小黑豆为材料,分别在pH 4.55的黄壤、pH 5.60的红壤和pH 7.14的正常土壤上盆栽种植,于出苗后50 d观察生长状况并测定根和叶的主要生理指标,研究大豆对酸性土壤胁迫的耐受生理机理。结果表明:在弱酸和强酸性土壤上丹波黑大豆都能形成根瘤、生长良好,而云南小黑豆则不能形成根瘤、长势差。2个黑豆根中产生的活性氧簇(ROS)主要通过提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性来清除,其中云南小黑豆根中这些酶活性明显提高,受酸性土壤胁迫影响较大;2个黑豆叶中则产生大量可溶性糖、脯氨酸(Pro)、丙二醛(MDA)、蛋白质羰基(PC)和过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)来维持较低水平的渗透压与膜脂过氧化水平以提高对酸性土壤胁迫的耐受能力。结果证明丹波黑大豆耐酸性土壤胁迫能力明显强于云南小黑豆。

**关键词:**黑大豆;丹波;云南小黑豆;酸性土壤胁迫;生理特性

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2011)06-0941-05

## Physiological Properties of Soybean (*Glycine max*) Tamba and Yunnanxiaohaidou under Acid Soil Stress

QIAN Shao-fang<sup>1</sup>, CHEN Li-mei<sup>1</sup>, CHEN Xuan-qin<sup>1</sup>, YU Yong-xiong<sup>2</sup>, LI Kun-zhi<sup>1</sup>

(1. Biotechnology Research Center, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan; 2. College of Zoological Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract:** The acid tolerance mechanism of the soybean was studied using two black soybean (*Glycine max*) cultivars *Tamba* and *Yunnanxiaohaidou*, both of which had significant differences in acid soil tolerance. Soybeans were pot planted in greenhouse with yellow soil (pH 4.55), red soil (pH 5.60) and normal soil (pH 7.14). The main physiological indicators of the roots and leaves were measured 50 days later after seedling. The results showed that *Tamba* grew well in three kinds of soil with nodules while *Yunnanxiaohaidou* grew badly without nodules in yellow and red soil. Also the enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) were all increased in roots of both cultivars when grown in yellow and red soil, but the former varied little, which indicated that the reactive oxygen species (ROS) produced from the root were cleaved by these three enzymes. Meanwhile, the soluble sugars, proline (Pro), malondialdehyde (MDA), protein carbonyl (PC) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> which could form low levels of both osmotic pressure and lipid peroxidation level and then were responsible for their acid stress tolerance, were abundant in the leaves of both soybeans. These results suggest that the acid soil stress tolerance of *Tamba* is superior to *Yunnanxiaohaidou*.

**Key words:** Black soybean (*Glycine max*); *Tamba*; *Yunnanxiaohaidou*; Acid soil stress; Physiological property

全世界约有39.5亿hm<sup>2</sup>酸性土壤,其中可耕地面积为1.79亿hm<sup>2</sup>,主要分布在热带、亚热带及温带地区<sup>[1]</sup>。在中国,酸性土壤的分布遍及15个省区,总面积达2 030万hm<sup>2</sup>,约占全国耕地面积的21%<sup>[2]</sup>,而云南的酸性土壤占全省土壤总面积的70%以上<sup>[3]</sup>。

酸性土壤是一个非常复杂的系统,植物在酸性

土壤中生长受到铝、低磷等多种障碍因子的胁迫,它们需要克服多种逆境胁迫才能正常生长,铝是酸性土壤中限制作物生长的主要因素<sup>[4]</sup>。在进化过程中,很多适应酸性土壤生长的植物都有其耐铝毒机制。大豆是酸性土壤中的先锋作物,在酸铝刺激下大豆根系只分泌单一的有机酸——柠檬酸,并且分泌柠檬酸是其耐铝毒的重要作用机制<sup>[5-8]</sup>。铝胁

收稿日期:2011-08-26

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)项目资助(2007CB108901);云南省中青年学术技术带头人后备人才培养基金资助项目(2006PY01-10)。

第一作者简介:钱绍方(1986-),男,在读硕士,研究方向为植物营养基因工程。E-mail: qsf0916@163.com。

通讯作者:李昆志(1963-),男,教授,从事植物生理学研究。E-mail: likunzhikm@yahoo.com.cn。

迫下大豆还积累大量的可溶性糖、脯氨酸和丙二醛<sup>[6]</sup>,以增加大豆对外界胁迫的抗性。透射电镜-X-射线能谱的研究表明:铝处理大豆时,铝最先在细胞壁中积累,铝处理浓度增加时,铝逐渐在部分细胞器和细胞核中积累,而且其在细胞中的分布亦由外向里呈递减趋势<sup>[9-11]</sup>。

如果只是解决植物生长的单个障碍因子的胁迫,最终可能还是无法克服酸性土壤中其它障碍因子的胁迫。农业上通常施用生石灰来改良酸性土壤,然而这种方法只对表层土壤有效,而且成本高,对环境污染严重。因此,在改良土壤的同时,充分挖掘利用植物的潜力,筛选耐酸铝能力较强的植物品种,是解决土壤酸化的一个有效途径。

由于土壤结构破坏、水土流失严重和土壤酸化加剧等诸多因素导致云南本土栽培的云南小黑豆减产严重,不适应在云南红壤上栽培。而引种的日本丹波黑大豆在红壤上生长良好。该研究通过测定酸性土壤胁迫下丹波黑大豆和云南小黑豆的主要生理指标,探讨2种黑豆对不同酸度土壤的耐受生理机理,为耐酸铝大豆品种的选育奠定一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

选用丹波黑大豆和云南小黑豆作为研究材料,丹波黑大豆是从日本引进的品种,云南小黑豆为当地栽培品种。供试土壤为黄壤(pH 4.55,为强酸性土壤,采自广西)、红壤(pH 5.60,为酸性土壤,采自昆明市呈贡县郊外)和正常土壤(pH 7.14,为中性土壤即当地菜园土,采自昆明市呈贡县郊外)。采用盆栽试验,选用直径为16 cm,高15 cm的塑料盆进行大豆盆栽。每盆装风干土1.0 kg,然后把盆放置在塑料托盘上。分别在3种土壤上种植2种黑豆,3次重复。每盆播种5~8粒种子,播种深1 cm,然后灌水于托盘上,通过土壤毛细管作用吸水湿润整盆土壤,在温室中自然光照下培养,出苗50 d后取样测定有关指标。

### 1.2 测定项目与方法

1.2.1 植株形态指标测定 分别在每个处理中选取长势适中的植株,将根部的泥土洗净后,剪掉其根部,分别对地上部和根系拍照。

1.2.2 生理指标测定方法 取幼根和新全展叶的

中间小叶各0.5 g,液氮速冻后保存于-80℃冰箱。测定时加液氮研磨,加入1.5 mL的1 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl(pH 7.4),转移到2 mL EP管中,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,转移上清至新EP管用于分析。

蛋白质含量:采用Bradford法进行测定,800 μL ddH<sub>2</sub>O + 200 μL Bradford Solution + 2 μL 样品提取液,以μmol·g<sup>-1</sup>FW表示。

可溶性糖含量:采用蒽酮法<sup>[12]</sup>进行测定,以μmol·g<sup>-1</sup>FW表示。

脯氨酸(Pro)含量:采用磺基水杨酸法<sup>[13]</sup>进行测定,以μmol·g<sup>-1</sup>FW表示。

过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量:采用二甲酚橙法<sup>[15]</sup>进行测定,以μmol·g<sup>-1</sup>FW表示。

丙二醛(MDA)含量:采用硫代巴比妥法<sup>[12]</sup>进行测定,以μmol·g<sup>-1</sup>FW表示。

蛋白质羰基(PC)含量:采用2,4-二硝基苯肼(DNPH)法<sup>[14]</sup>进行测定,以μmol·g<sup>-1</sup>FW表示。

超氧化物歧化酶(SOD)活性:采用氮蓝四唑(NBT)光还原法进行测定<sup>[12]</sup>,以抑制氮蓝四唑(NBT)光氧化还原50%的酶量为1个活力单位,以U·mg<sup>-1</sup>protein表示。

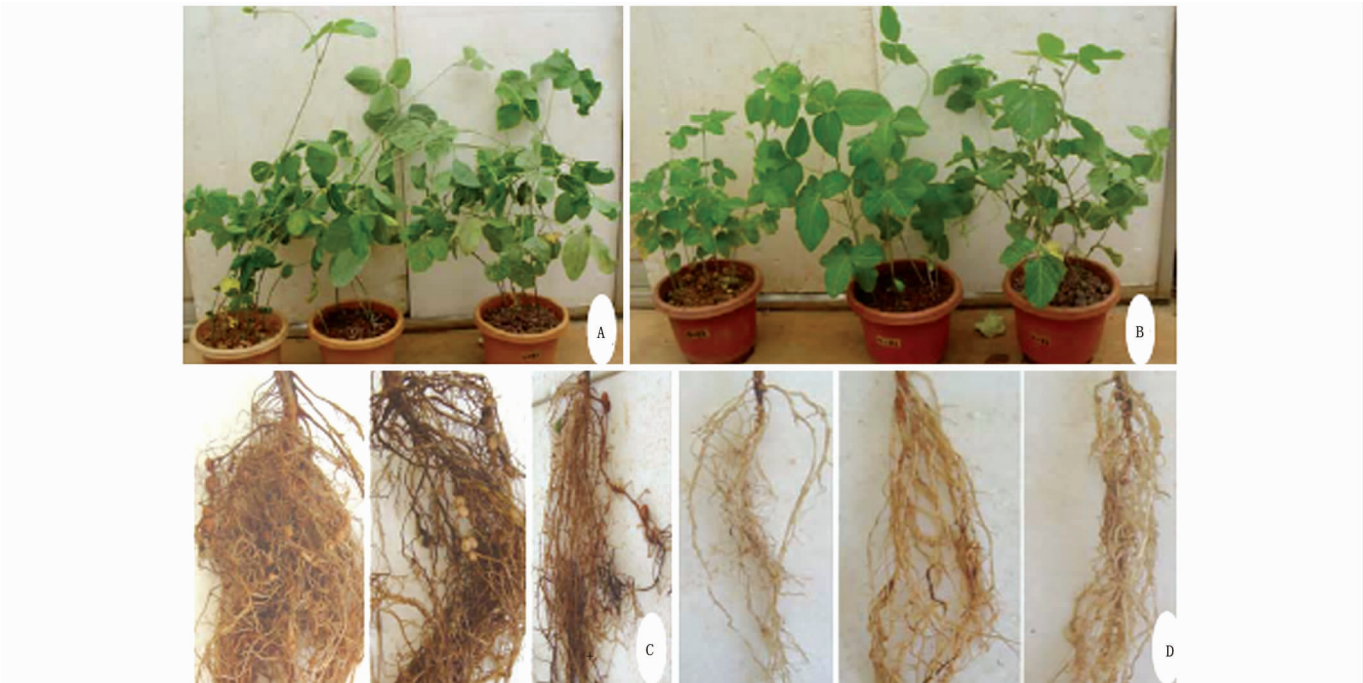
过氧化物酶(POD)活性:采用愈创木酚法<sup>[12]</sup>进行测定,以ΔOD<sub>470</sub>·min<sup>-1</sup>·mg<sup>-1</sup>protein表示。

过氧化氢酶(CAT)活性:采用Aebi等<sup>[16]</sup>的方法进行测定,以1 min酶解1 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>为1个活性单位,以U·mg<sup>-1</sup>protein表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 酸性土壤胁迫对不同黑豆植株形态的影响

丹波黑大豆在酸性土壤上生长与在正常土壤生长相比较无明显差异,表现出比较一致的株型和长势(图1A),其地下部分根系生长量和根瘤数量酸性土壤比正常土壤多(图1C),表明丹波黑大豆喜酸性土壤,酸性土壤有利于丹波黑大豆根系生长和根瘤的形成。云南小黑豆在不同酸度土壤上的生长表现出明显的差异,黄壤上生长的云南小黑豆植株矮小瘦弱,红壤上生长的云南小黑豆生长也比正常土壤弱(图1B);酸性土壤上的云南小黑豆则不能形成根瘤、长势差(图1D)。因此,丹波黑大豆对酸性土壤的耐受能力明显强于云南小黑豆,即丹波黑大豆为酸性土壤耐受型品种,云南小黑豆为酸性土壤敏感型品种。



A 和 C 为丹波黑大豆的植株和根系;B 和 D 为云南小黑豆的植株和根系;每个图从左至右依次为黄壤、红壤和正常土壤上的表现。  
A and C are above ground parts and roots of *Tamba*, respectively; B and D are above ground parts and roots of *Yunnanxiaohaidou*, respectively. From left to right are yellow soil, red soil and normal soil, respectively.

图 1 酸性土壤胁迫对不同黑豆植株形态的影响

Fig. 1 Effect of the acid soil stress on plant morphology of both black soybeans

2.2 酸性土壤胁迫对不同黑豆生理生化指标的影响

2.2.1 可溶性糖、脯氨酸(Pro)含量 从表 1 可以看出,酸性土壤胁迫对云南小黑豆可溶性糖和 Pro 含量都有显著影响,酸性土壤上丹波黑大豆根中可溶性糖含量比正常土壤的低,Pro 含量比正常土壤的高,可能是由于丹波黑大豆适应酸性土壤生长;而酸性土壤上云南小黑豆可溶性糖含量则比正常

土壤高,其中红壤上的云南小黑豆根和叶中可溶性糖含量分别是正常土壤的 1.3 和 1.1 倍,黄壤上的云南小黑豆根和叶中可溶性糖含量分别是正常土壤的 1.5 和 1.2 倍。而且在酸性土壤上,云南小黑豆根和叶的可溶性糖与 Pro 含量均比丹波黑大豆高,叶中的含量高于根。说明云南小黑豆在黄壤上受到的渗透胁迫比红壤的严重,它可能通过调节体内可溶性糖和 Pro 含量来适应酸性土壤环境。

表 1 酸性土壤胁迫对不同黑豆可溶性糖、脯氨酸含量的影响

Table 1 Effect of acid soil stress on soluble sugar content and proline content of both black soybeans

品种 Cultivar	土壤类型 Soil type	可溶性糖含量 Soluble sugar content/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$		脯氨酸含量 Proline content/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$	
		根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf
丹波黑大豆 <i>Tamba</i>	黄壤 Yellow soil	0.4157 $\pm$ 0.0217c	0.2528 $\pm$ 0.0379c	2.3692 $\pm$ 0.5002b	5.4709 $\pm$ 2.2808d
	红壤 Red soil	0.4520 $\pm$ 0.0223b	0.0423 $\pm$ 0.0148e	2.2197 $\pm$ 0.6360b	5.3109 $\pm$ 2.1295e
	正常土壤 Normal soil	0.5384 $\pm$ 0.0215a	0.1643 $\pm$ 0.0258d	2.1973 $\pm$ 0.3127b	7.6173 $\pm$ 4.0382b
云南小黑豆 <i>Yunnanxiaohaidou</i>	黄壤 Yellow soil	0.5118 $\pm$ 0.0208a	0.6209 $\pm$ 0.0199a	2.2407 $\pm$ 0.6839b	6.5800 $\pm$ 2.1302c
	红壤 Red soil	0.4536 $\pm$ 0.0224b	0.5943 $\pm$ 0.0195a	2.2975 $\pm$ 0.1972b	7.7773 $\pm$ 6.2471a
	正常土壤 Normal soil	0.3470 $\pm$ 0.0116d	0.5371 $\pm$ 0.0214b	5.1091 $\pm$ 2.4861a	4.1480 $\pm$ 1.3026f

表中不同字母表示差异达显著水平( $P < 0.05$ ),下同。  
Values within a column followed by different letters are significantly different at 0.05 probability level, the same follows.

2.2.2 膜脂过氧化水平 从表 2 可以看出,酸性土壤胁迫对 2 种黑豆 PC 含量有显著影响,酸性土壤

上云南小黑豆 PC 含量比正常土壤低,而且 2 种黑豆叶中的膜脂过氧化产物水平高于根,说明 2 个黑

豆中的膜脂过氧化产物可能主要在叶中积累。

**2.2.3 抗氧化酶活性** 从表3可以看出,酸性土壤上特别是黄壤上云南小黑豆根中的3种抗氧化酶活性远高于正常土壤。黄壤上云南小黑豆根中SOD、POD和CAT3种酶活性分别是正常土壤的

7.2、12.4和5.6倍。2个黑豆根中抗氧化酶活性均高于叶,而且丹波黑大豆中3种抗氧化酶活性的变化不如云南小黑豆剧烈,这说明酸性土壤胁迫下2个黑豆中的ROS主要在根中积累,通过提高根中的抗氧化酶活性来清除酸性土壤胁迫产生的ROS。

表2 酸性土壤胁迫对不同黑豆膜脂过氧化水平的影响

Table 2 Effect of acid soil stress on level of lipid peroxidation of both black soybeans

品种 Cultivar	土壤类型 Soil type	过氧化氢含量 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> content/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$		丙二醛含量 MDA content/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$		蛋白质羰基含量 PC content/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$	
		根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf
丹波黑大豆	黄壤 Yellow soil	0.0189 $\pm$ 0.0054b	0.0400 $\pm$ 0.0050ab	0.0427 $\pm$ 0.0115ab	0.0484 $\pm$ 0.0084a	0.1989 $\pm$ 0.1116b	2.0506 $\pm$ 0.1777c
Tamba	红壤 Red soil	0.0246 $\pm$ 0.0023ab	0.0414 $\pm$ 0.0121ab	0.0374 $\pm$ 0.0124ab	0.0851 $\pm$ 0.0376a	0.5764 $\pm$ 0.2157a	2.0688 $\pm$ 0.1390c
	正常土壤 Normal soil	0.0200 $\pm$ 0.0021ab	0.0295 $\pm$ 0.0018b	0.0331 $\pm$ 0.0215ab	0.0668 $\pm$ 0.0327a	0.3521 $\pm$ 0.1115ab	1.7020 $\pm$ 0.1069d
云南小黑豆	黄壤 Yellow soil	0.0185 $\pm$ 0.0045b	0.0568 $\pm$ 0.0080a	0.0251 $\pm$ 0.0080b	0.0772 $\pm$ 0.0328a	0.1661 $\pm$ 0.0748b	2.1380 $\pm$ 0.2596c
Yunnanxiaoheidou	红壤 Red soil	0.0312 $\pm$ 0.0113ab	0.0409 $\pm$ 0.0170ab	0.0491 $\pm$ 0.0071a	0.0741 $\pm$ 0.0297a	0.4136 $\pm$ 0.2512ab	2.8438 $\pm$ 0.0819b
	正常土壤 Normal soil	0.0233 $\pm$ 0.0082ab	0.0512 $\pm$ 0.0064a	0.0191 $\pm$ 0.0080b	0.0810 $\pm$ 0.0328a	0.5758 $\pm$ 0.1584a	3.2461 $\pm$ 0.2137a

表3 酸性土壤胁迫对不同黑豆抗氧化酶活性的影响

Table 3 Effect of acid soil stress on antioxidant enzyme activities of both black soybeans

品种 Cultivar	土壤类型 Soil type	超氧化物歧化酶活性 SOD activity/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}$		过氧化物酶活性 POD activity $/\Delta\text{OD}_{470}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}$		过氧化氢酶活性 CAT activity/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}$	
		根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf
丹波黑大豆	黄壤 Yellow soil	27.5984 $\pm$ 14.3815b	43.6227 $\pm$ 29.1425a	0.3673 $\pm$ 0.0957cd	0.0182 $\pm$ 0.0101b	16.9822 $\pm$ 6.5206bc	5.7273 $\pm$ 0.6454a
Tamba	红壤 Red soil	86.4700 $\pm$ 93.1074b	44.0045 $\pm$ 28.7410a	0.4405 $\pm$ 0.2213c	0.0292 $\pm$ 0.0022b	18.8885 $\pm$ 7.6585bc	4.4827 $\pm$ 0.4386b
	正常土壤 Normal soil	59.2895 $\pm$ 31.2460b	40.1984 $\pm$ 27.9070a	0.4488 $\pm$ 0.1343c	0.0087 $\pm$ 0.0012b	23.3186 $\pm$ 0.1733b	6.2485 $\pm$ 1.0570a
云南小黑豆	黄壤 Yellow soil	227.5153 $\pm$ 120.0750a	54.5819 $\pm$ 33.8454a	1.5028 $\pm$ 0.1135a	0.0860 $\pm$ 0.0157a	74.9217 $\pm$ 3.3472a	5.9460 $\pm$ 0.7012a
Yunnanxiaoheidou	红壤 Red soil	74.3901 $\pm$ 68.3249b	25.0434 $\pm$ 14.8073a	0.7970 $\pm$ 0.3295b	0.0235 $\pm$ 0.0024b	17.1371 $\pm$ 5.7310bc	5.3821 $\pm$ 0.5789ab
	正常土壤 Normal soil	31.4093 $\pm$ 13.5660b	41.5402 $\pm$ 25.4680a	0.1204 $\pm$ 0.0266d	0.0306 $\pm$ 0.0007b	13.4117 $\pm$ 3.4967c	3.8235 $\pm$ 0.1934b

### 3 结论与讨论

关于植物受逆境胁迫伤害的机理研究,目前较为接受的是生物自由基伤害学说。植物在正常情况下的酶促反应和一些低分子有机物的自氧化反应中,氧消耗的1%~3%不可避免地形成部分超氧阴离子自由基( $\text{O}_2\cdot$ )、羟自由基( $\text{OH}\cdot$ )和过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )等ROS<sup>[17]</sup>。在正常的生理状态下,ROS的产生和清除之间存在动态平衡,ROS可以被细胞器中的抗氧化系统清除<sup>[18]</sup>,不会对植物产生毒害;但处于逆境胁迫时,这种平衡遭到破坏,植物通过多种途径、激活各种氧化酶和过氧化物酶产生各种ROS<sup>[19-20]</sup>,从而引起体内与清除ROS有关的抗氧化酶活性的提高以及氧化胁迫的产生<sup>[21]</sup>,且当ROS产生和积累超过一定阈值时会导致膜脂质过氧化,甚至导致植物死亡<sup>[22-25]</sup>。李荣峰等<sup>[26]</sup>研究发现大豆通过增加根边缘细胞数目、提高根尖蛋白质含量,维持较高水平的POD、CAT和SOD活性来对抗铝毒胁迫,是大豆耐铝毒的一个重要机制。

通过对酸性土壤胁迫下丹波黑大豆和云南小黑豆主要胁迫生理指标的测定,发现云南小黑豆的

各项生理指标均高于丹波黑大豆,其中叶的可溶性糖、MDA、PC、Pro、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量高于根,而根的SOD、POD、CAT活性则高于叶。特别是丹波黑大豆的根中MDA、Pro含量以及SOD、POD、CAT活性的变化明显不如云南小黑豆剧烈,从而说明云南小黑豆受酸性土壤的伤害的程度高于丹波黑大豆,即云南小黑豆对酸性土壤的耐受性明显低于丹波黑大豆。这些生理指标进一步说明了丹波黑大豆为酸性土壤耐受型品种,云南小黑豆为酸性土壤敏感型品种。此外,酸性土壤胁迫下2种黑豆叶中的可溶性糖、MDA、PC、Pro、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量明显高于根,说明渗透胁迫和膜脂过氧化物质主要在叶中积累,而根中SOD、POD、CAT活性明显高于叶,说明2种黑豆中的ROS主要在根中积累。以上结果表明在酸性土壤胁迫下云南小黑豆根中产生大量的ROS,主要通过提高SOD、POD、CAT活性来清除,而叶中则通过产生大量可溶性糖、Pro、MDA、PC、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 来维持较低水平的渗透压和膜脂过氧化水平以提高其对酸性土壤胁迫的耐受能力。

**致谢:**在论文写作以及数据处理过程中得到实验室张晓东、王玉英和唐丽娟同学无私的帮助,在此表示感谢!

## 参考文献

- [1] 熊毅,李庆逵. 中国土壤[M]. 北京:科学出版社,1987:39. (Xiong Y, Li Q K. Chinese soil [M]. Beijing: Science Press, 1987:39.)
- [2] 王奇峰,易琼,李昆志,等. 铝胁迫下柱花草 SSH 文库构建及表达序列标签分析[J]. 植物学报,2010,45(6):679-688. (Wang Q F, Yi Q, Li K Z, et al. Construction of a suppression subtractive hybridization library for *Stylosanthes guianensis* under aluminum stress and expressed sequence tag analysis[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2010, 45(6): 679-688.)
- [3] 许玉凤,曹敏建,王文元,等. 植物耐铝毒害的研究进展[J]. 沈阳农业大学学报,2002,33(6):452-455. (Xu Y F, Cao M J, Wang W Y, et al. Advance in studies on aluminum toxicity and plant resistance[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2002, 33(6): 452-455.)
- [4] Pellet D M, Papernik L A, Kochian L V. Multiple aluminum-resistance mechanisms in wheat(roles of root apical phosphate and malate exudation)[J]. Plant Physiology, 1996, 112: 591-597.
- [5] Yang Z M, Horst W J, Matsumoto H, et al. Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*)[J]. Physiologia Plantarum, 2000, 110(1): 72-77.
- [6] 胡蕾,应小芳,刘鹏,等. 铝胁迫对大豆生理特性的影响[J]. 土壤肥料,2004(2):9-11. (Hu L, Ying X F, Liu P, et al. The research of the effects of aluminum stress on physiological characteristics of soybean[J]. Soils and Fertilizers, 2004(2): 9-11.)
- [7] Silva I R, Smyth T J, Raper C D, et al. Differential aluminum tolerance in soybean: An evaluation of the role of organic acids[J]. Plant Physiology, 2001, 112(2): 200-210.
- [8] Yan X L, Liao H, Trull M C, et al. Induction of a major leaf acid phosphatase does not confer adaptation to low phosphorus availability in common bean[J]. Plant Physiology, 2001, 125(4): 1901-1911.
- [9] 莫丙波,沈春鹏,于智卫,等. 铝对大豆根柠檬酸合成和分泌的影响[J]. 生态环境学报,2009,18:1037-1041. (Mo B B, Shen C P, Yu Z W, et al. Effect of aluminum on synthesis and secretion of citrate in soybean roots[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2009, 18: 1037-1041.)
- [10] 王奇峰. 提高植物耐铝能力遗传操作方法的研究及豆科植物铝响应基因的鉴定[D]. 昆明:昆明理工大学,2010. (Wang Q F. The development of genetic manipulation strategy to enhance Al-tolerance in plants and identification of Al-responsive genes in legumes[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2010.)
- [11] 俞慧娜,刘鹏,徐根娣,等. 铝胁迫下大豆根尖细胞铝的微区分布与耐铝性分析[J]. 作物学报,2009,35(4):695-703. (Yu H N, Liu P, Xu G D, et al. Distribution of  $Al^{3+}$  in subcellular structure of root tips cells and aluminum tolerance in soybean[J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35(4): 695-703.)
- [12] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导(第三版)[M]. 北京:高等教育出版社,2003. (Zhang Z L, Qu W J. Guidance of plant physiology experiments(The Third Edition) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2003.)
- [13] 刘永军,杨晓玲,郭守华. 生理生化实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2001. (Liu Y J, Yang X L, Guo S H. Guidance of physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001.)
- [14] 段丽菊,刘英帅,朱燕,等. DNPH 比色法:一种简单的蛋白质羰基含量测定方法[J]. 毒理学杂志,2005,19(4):320-322. (Duan L J, Liu Y S, Zhu Y, et al. DNPH colorimetry assay: A simple method for determination of protein carbonyl [J]. Journal of Health Toxicology, 2005, 19(4): 320-322.)
- [15] 李忠光,宋玉泉,龚明. 二甲酚橙法用于测定植物组织中的过氧化氢[J]. 云南师范大学学报,2007,27(3):50-54. (Li Z G, Song Y Q, Gong M. Xylenol orange method used for the measurement of hydrogen peroxide in plant tissue[J]. Journal of Yunnan Normal University, 2007, 27(3): 50-54.)
- [16] Acbi H. Catalase *in vitro* [J]. Methods in Enzymology, 1984, 105: 121-126.
- [17] Matamoros M A, Dalton D A, Ramos J, et al. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis [J]. Plant Physiology, 2003, 133(10): 499-509.
- [18] Alscher R G, Donahue J H, Cramer C L. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells[J]. Physiology Plantarum, 1997, 100(2): 224-233.
- [19] Bolwell G P, Bindschedler L V, Blee K A, et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 372(53): 1367-1376.
- [20] Schopfer P, Plachy C, Frahy G. Release of reactive oxygen intermediates( superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid [J]. Plant Physiology, 2001, 125(4): 1591-1602.
- [21] Boscolo P R, Menossi M, Jorge R A. Aluminum-induced oxidative stress in maize[J]. Phytochemistry, 2003, 62(2): 181-189.
- [22] Hossain M A, Hossain A K M Z, Kihara T, et al. Aluminum-induced lipid peroxidation and lignin deposition are associated with an increase in  $H_2O_2$  generation in wheat seedlings[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2005, 51(2): 223-230.
- [23] Tsugane K, Niwa Y, Ohba Y, et al. A recessive *Arabidopsis* mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification [J]. Plant Cell, 1999, 11(7): 1195-1206.
- [24] Molassiotis A, Sotiropoulos T, Tanou G, et al. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh) [J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, 56(1): 54-62.
- [25] 张争艳. 大豆对铝胁迫响应的研究[D]. 金华:浙江师范大学,2008. (Zhang Z Y. Studies on response of soybean to aluminum toxicity[D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2008.)
- [26] 李荣峰,蔡妙珍,刘鹏,等. 边缘细胞对大豆根尖铝毒害的缓解效应[J]. 作物学报,2008,34(1):318-325. (Li R F, Cai M Z, Liu P, et al. Border cells alleviating aluminum toxicity in soybean root tips[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(1): 318-325.)