

半海水筛选耐盐紫花苜蓿细胞系的生理特性分析

姜 健¹, 杨宝灵¹, 封德全², 邹福海², 李春斌¹, 李海山³

(1. 大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600; 2. 大连市林业局, 辽宁大连 116600;

3. 本溪县种子管理站, 辽宁本溪 117100)

摘要: 以紫花苜蓿无菌苗下胚轴为外植体, 诱导获得愈伤组织(M_0)。经甲基磺酸乙酯(EMS)处理, 通过一步筛选获得了耐半海水 $w(\text{NaCl} \approx 1.5\%, 1/2 \text{ 海水})$ 的耐盐细胞系(Ms_1)。一部分耐盐细胞系转移到无盐培养基上, 继代培养 10 代后得到新细胞系(Ms_2)。无论是在无盐还是不同程度盐胁迫条件下, Ms_1 的成活率、生长率、脯氨酸含量、 Cl^- 、 K^+ 、 K^+/Na^+ 、可溶性蛋白质含量都高于 M_0 , 差异显著。 Ms_2 介于两者之间, 但是与 Ms_1 基本接近, 差异不显著。在 $w(\text{NaCl} \approx 0.6\%, 1/5 \text{ 海水})$ 条件, M_0 细胞系的 SOD 活性高于 Ms_1 和 Ms_2 ; 在 $w(\text{NaCl} \approx 1\%, 1/3 \text{ 海水})$ 条件下, Ms_1 、 Ms_2 细胞系的 SOD 活性达到最高, 与 M_0 可溶性蛋白质 SDS-PAGE 图谱相比较, Ms_1 、 Ms_2 中出现两条新多肽带($P1=58\text{kD}$, $P2=26\text{kD}$), 这两条多肽带可能与耐盐性有关。

关键词: 紫花苜蓿; 耐盐细胞系; 半海水培养基; 愈伤组织; 生理生化特性

中图分类号: S54; Q813.1⁺ 2

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2007)05-0049-06

Physiological Characteristics Analysis of Salt-tolerant Cell Line from Alfalfa Callus Cultures Selected on Half Natural Seawater Medium

JIANG Jian¹, YANG Bao-ling¹, FENG De-quan²,

ZOU Fu-hai², LI Chun-bin¹ and LI Hai-shan³

(1. College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian Liaoning 116600, China; 2. Dalian Forestry Bureau, Dalian Liaoning 116600, China; 3. Seed Office, Agricultural Bureau of Benxi County, Benxi Liaoning 117100, China)

Abstract: M_0 cell line of alfalfa (*Medicago sativa* L.) was induced from alfalfa aseptically hyopocotyl segments. Salt-tolerant cell line (Ms_1) of alfalfa to $w(\text{NaCl} \approx 1.5\%, \text{half seawater})$ was obtained directly after dealing with EMS. After some Ms_1 was subcultured through 25 passages in a medium containing half natural seawater, then transferred to NaCl free medium for 10 passages and the Ms_2 cell line was gained. The results of physiological characteristics analysis showed, whether normal condition or salt stress, the survival rate of calli (SRC), growth rate of calli (GRC), the contents of proline, K^+ , and Cl^- , the rate of Ms_1 and Ms_2 were significantly higher than those of M_0 . In despite of above indexes of Ms_2 were between M_0 and Ms_1 , but all were near to Ms_1 , and there was no remarkable difference with Ms_1 . In normal condition, the SOD activity and Na^+ of M_0 were lower than Ms_1 and Ms_2 . In condition of lower seawater concentration, the SOD activity and Na^+ of M_0 were higher than Ms_1 and Ms_2 . SDS-PAGE electrophoresis of soluble proteins indicated that there were two new protein bands in Ms_1 and Ms_2 compared to the control. These proteins were 58kD and 26kD and they might be related to salt tolerant.

Key words: *Medicago sativa*; Salt-tolerant cell line; Half seawater medium; Callus; Physiological and biochemical characteristics

收稿日期: 2006-09-21 修回日期: 2007-05-31

基金项目: 大连市科委项目及大连民族学院博士科研启动基金研究项目(20036217)。

作者简介: 姜 健(1970—), 男, 蒙古族, 博士, 教授, 主要从事植物细胞工程与分子生物学研究。E-mail: ybl@dlnu.edu.cn

海水灌溉农业是以海水资源、沿海滩涂资源和耐盐植物(作物)为对象的特殊农业^[1]。对于承受着巨大人口压力而拥有 18 000 km 漫长海岸线和 2 077 900 hm² 沿海滩涂的中国来说,开发“海水农业”具有十分重大的现实意义和深远的战略意义。发展海水灌溉农业,关键是选育出耐盐性强、富有经济利用价值的植物(作物)品种。耐盐品种选育方法主要包括引种筛选、杂交、细胞工程和基因工程等。引种筛选因需调查植物耐盐程度、耐盐稳定性等而耗时长;杂交育种存在杂交不亲和性,基因工程虽是比较看好的方法,但植物抗性是受多基因控制的,耐盐机制非常复杂,转入一个或较少数量的基因有可能达不到预期的抗盐效果,且存在基因沉默等问题;而植物细胞工程,特别是植物离体培养过程中存在广泛的体细胞变异,充分利用该变异有可能很快培育出耐盐突变体材料。

在植物组织和细胞培养筛选耐盐突变体的变异来源中,NaCl 是耐盐突变体离体筛选中较常用的选择材料,目前,从烟草^[2]、枸杞^[3]、大蒜^[4]、小麦^[5,6]、水稻^[7]、玉米^[8]、大豆^[9]、红豆草^[10]、沙打旺^[11]、小黑麦^[12]、獐毛^[13]等植物中已经获得了耐盐植株。用海水替代 NaCl 进行耐盐突变体选择的研究也有报道,杜立群^[14]在 1/3 海水培养基上筛选豆瓣菜耐盐变异体,RAPD 标记表明 10 个株系均有变异。紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)作为豆科作物,不但具有产量高、品质好、营养丰富、适应范围广等特性,同时还可以固氮改良土壤、保持水土,并具有开发保健食品的潜力。培育紫花苜蓿耐盐变异体将有望充分利用沿海滩涂进行大面积的豆科牧草种植。本研究以海水培养基作为筛选平台,获得了耐半海水的紫花苜蓿耐盐细胞系,并分析了其生理生化特性,为其进一步分化利用奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验海水取自中国大连经济技术开发区泊石湾海域,含盐量测定表明,海水含盐量为 29.8%,渗透势与总无机盐含量与 3.0% 的 NaCl 相当。

试验材料为紫花苜蓿公农二号(*Medicago sativa*, Gongnong No. 2),种子来源于吉林省农业科学院草地研究所。饱满种子用 75% 乙醇浸泡 1 min,无菌水冲洗 2~3 次,1 000 mg/L

(HgCl₂)灭菌 15 min,无菌水冲洗 4~5 次后接种在不含激素的 MS 基本培养基中。取 10 d 无菌苗下胚轴,无菌条件下切成 5 mm 长的小段,接种于附加 $w(2,4-D) = 1.2 \text{ mg/L}$ 和 $w(6-BA) = 0.4 \text{ mg/L}$ 的无盐 MS 培养基中,2 周后形成的愈伤组织在相同培养基中进行继代培养,继代培养 4 代后用于筛选。每 3 周继代 1 次。培养温度 $26 \pm 1^\circ\text{C}$,光照强度 2 000 lx,光照时间为 14 h/d。

将愈伤组织的一部分继续培养在上述培养基中,获得非耐盐筛选细胞系(M₀);另一部分用甲基磺酸乙酯(EMS)于 25℃ 处理 24 h,无菌水冲洗 4~5 次后转入半海水 $w(\text{NaCl} \approx 1.5\%, 1/2 \text{ 海水})$ 配制的上述培养基中,通过一步筛选获得了耐半海水的耐盐细胞系(M_{S1});耐盐细胞系(M_{S1})在半海水 w 配制的培养基上继代培养 25 代后,将其中的一部分转移到无盐培养基上,继代培养 10 次后得到新细胞系(M_{S2})。培养条件同上。

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织盐敏性测定 将 M₀、M_{S1}、M_{S2} 愈伤组织分割成 1 cm 的均匀小块,分别接种到不同比例海水配制的上述培养基中,海水配制体积比例分别为 1/10、1/5、1/3、2/5、1/2、3/5、2/3、4/5、全海水,NaCl 含量分别约为 0.3、0.6、1.0、1.2、1.5、1.8、2.0、2.4、3.0,15d 测定愈伤组织成活率(Survival Rate of Calli, SRC)和愈伤组织生长率(Growth Rate of Calli, GRC)。

愈伤组织成活率 $\text{SRC} = (\text{成活愈伤组织块} / \text{总接种愈伤组织块}) \times 100\%$;愈伤组织生长率 $\text{GRC} = (15 \text{ d 成活愈伤组织的鲜重} - \text{原鲜重}) / \text{原鲜重} \times 100\%$ 。

1.2.2 游离脯氨酸含量测定^[15] 0.5 g 愈伤组织加 10 mL 3% 磺基水杨酸,研磨,4 000 r/min 下离心 15 min,上清液用茚三酮染色,在 721 可见分光光度计上测定其 D_{520nm},相同条件下测定脯氨酸标准样 D_{520nm},作标准曲线,进行游离脯氨酸含量测定。

1.2.3 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定^[5] 取愈伤组织 1.0 g,按照 Giannopolitis 方法,以氮蓝四唑(NBT)光化还原 50% 的酶量作为一个酶活性单位(U)。

1.2.4 离子含量测定 用 Z-8000 日立原子吸收计测定 Na⁺、K⁺ 含量,AgNO₃ 滴定法测定 Cl⁻ 含量。

1.2.5 可溶性蛋白 SDS-PAGE 图谱分析 取愈

伤组织 3.0 g,加入 1 mL 75 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH7.8),冰上研磨,12 000 r/min 下离心 10 min,得到的上清夜用预冷的 4 倍丙酮在 4℃ 沉淀过夜,12 000 r/min 下离心 10 min,沉淀用蛋白质溶解液 (62.5 mmol/L Tris-HCl,2% SDS,5% 甘油,5% 巯基乙醇,2 mmol/L EDTA,1 mmol/L 苯甲基磺酰氟,pH6.8)匀浆,调 pH7.0。聚丙烯酰胺凝胶电泳的浓缩胶浓度 3%,分离胶 12%,每孔蛋白质上样量 25 μg,220v,15 mA,4 h。电泳后凝胶用考马斯亮蓝 R-250 染色,使用 Image-star 型扫描仪对电泳后的蛋白质谱带进行扫描。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织盐敏性测定

不同来源紫花苜蓿愈伤组织对盐胁迫的敏感

表 1 不同海水对紫花苜蓿愈伤组织成活率的影响

Table 1 Effect on the survival rate of <i>Medicago sativa</i> L. calli under the different seawater					
序号 No.	海水比例 Proportion of seawater	NaCl 含量/% NaCl content	M ₀ 愈伤组织成活率/% SRC of M ₀	Ms ₁ 愈伤组织成活率/% SRC of Ms ₁	Ms ₂ 愈伤组织成活率/% SRC of Ms ₂
1	0	0	100	100	100
2	1/10	0.3	81.20	100	97.38
3	1/5	0.6	60.70	94.49	88.09
4	1/3	1.0	39.56	90.90	80.34
5	2/5	1.2	30.38	85.37	69.83
6	1/2	1.5	8.63	73.94	55.82
7	3/5	1.8	1.37	35.31	23.93
8	2/3	2.0	0	26.57	15.04
9	4/5	2.4	0	8.09	6.27
10	1	3.0	0	1.86	0

2.2 愈伤组织游离脯氨酸

盐胁迫下,各细胞系脯氨酸含量增加(图 2)。3 种细胞系中,Ms₁ 脯氨酸含量为最高,M₀ 脯氨酸含量最低,但从脯氨酸含量增加幅度对比来看,M₀ 脯氨酸含量增幅为最大。在 w(NaCl≈1%,1/3海水条件下,Ms₁、Ms₂ 细胞系脯氨酸含量有所下降,而 M₀ 脯氨酸含量则略有增加。

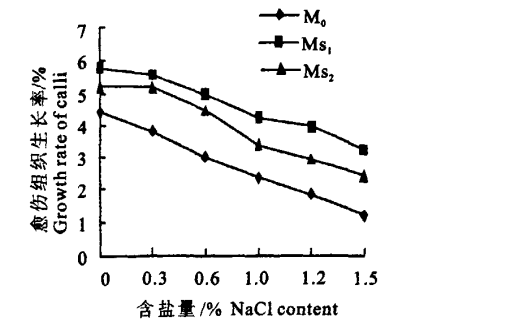


图 1 不同海水对紫花苜蓿愈伤组织生长率的影响
Fig. 1 Effect of different seawater on the growth rate of *Medicago sativa*. Calli

性有很大差异。表 1 表明,随着培养基中海水比例增大,NaCl 浓度增加,M₀、Ms₁、Ms₂ 愈伤组织成活率(SRC)均不同程度降低,但 Ms₁、Ms₂ 均高于 M₀,差异达极显著。Ms₂ 愈伤组织成活率介于 M₀、Ms₁ 之间,Ms₂ 接近于 Ms₁,两者差异不显著。在 w(NaCl≈1.5%,1/2 海水)时,正常 M₀ 只有 18.63%,虽然有少数细胞能够继续生长,但是经过一次转代后便全部死亡,确定耐盐筛选所用的海水比例为半海水,NaCl 含量约为 1.5%左右。3 种细胞系的愈伤组织生长率(GRC)随着盐分浓度的增加而下降。图 1 表明,Ms₁ 愈伤组织生长率不论在正常条件下,还是在盐胁迫条件下均高于 M₀,差异达到极显著水平。

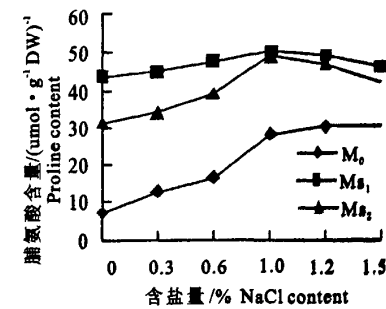


图 2 盐胁迫下脯氨酸含量
Fig. 2 Proline content of M₀, Ms₁, Ms₂ under salt stress

2.3 超氧化物歧化酶(SOD)活性

在无盐条件下,Ms₁、Ms₂ 细胞系 SOD 活性远高于 M₀(图 3)。在 0.6% NaCl 条件内,随着盐分的增加,各细胞系 SOD 活性呈不同程度的增加,M₀ 细胞系 SOD 活性增加幅度远大于 Ms₁ 和 Ms₂,Ms₂ 略高于 Ms₁。在 w(NaCl≈0.6%,1/5

海水)条件下, M_0 细胞系 SOD 活性高于 Ms_1 和 Ms_2 , 并且达到最高值, 而 Ms_1 、 Ms_2 细胞系 SOD 活性在 $w(\text{NaCl} \approx 1\%, 1/3 \text{ 海水})$ 条件下达到最高, 随后下降, M_0 下降幅度最大, Ms_1 和 Ms_2 下降幅度小且平缓。

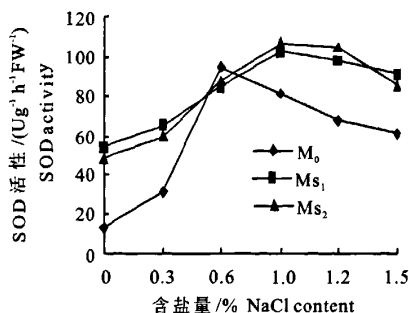


图3 盐胁迫下超氧化物歧化酶(SOD)活性

Fig. 3 SOD activity of M_0 , Ms_1 , Ms_2 under salt stress

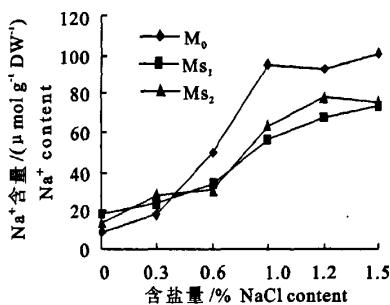


图4 盐胁迫下 Na^+ 含量

Fig. 4 Na^+ content of M_0 , Ms_1 , Ms_2 under salt stress

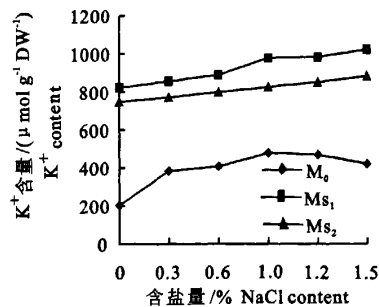


图5 盐胁迫下 K^+ 含量

Fig. 5 K^+ content of M_0 , Ms_1 , Ms_2 under salt stress

2.4 离子含量

随着盐分浓度的增加, 3 种细胞系中 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ 含量均呈不同程度增加(图 4~6), M_0 细胞系的 Na^+ 含量增加幅度大于 Ms_1 、 Ms_2 细胞系。

无论在无盐条件还是在不同浓度盐分胁迫条件下, Ms_1 的 K^+ 、 Cl^- 含量均高于 M_0 、 Ms_2 , Ms_1 、 Ms_2 与 M_0 差异达到极显著水平, Ms_1 和 Ms_2 之间差异不显著。分析表明: 在无盐条件下, K^+/Na^+ 比 $Ms_2 > Ms_1 > M_0$; 在 $w(\text{NaCl} \approx 1.5\%, 1/2 \text{ 海水})$ 条件下, K^+/Na^+ 比 $Ms_1 > Ms_2 > M_0$, Ms_1 、 Ms_2 与 M_0 差异达到极显著, Ms_1 和 Ms_2 之间差异不显著。

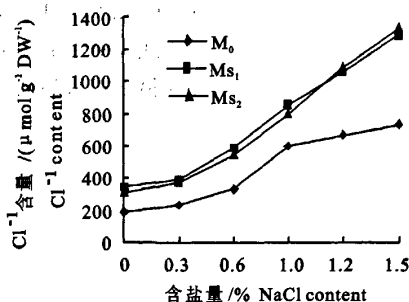


图6 盐胁迫下 Cl^- 含量

Fig. 6 Cl^- content of M_0 , Ms_1 , Ms_2 under salt stress

2.5 可溶性蛋白质含量

无盐条件下, Ms_1 、 Ms_2 可溶性蛋白质含量(图 7)分别为 M_0 的 1.59 倍和 1.44 倍, 差异较显著; Ms_1 与 Ms_2 之间差异不显著。随着盐分浓度的增加, 3 种细胞系可溶性蛋白质含量均下降, M_0 下降幅度大于其他两者下降幅度, 在 $w(\text{NaCl} \approx 1.5\%, 1/2 \text{ 海水})$ 条件下, Ms_1 、 Ms_2 可溶性蛋白质含量分别为 M_0 的 2.62 倍和 2.21 倍, 差异极显著。 Ms_1 与 Ms_2 之间差异不显著。

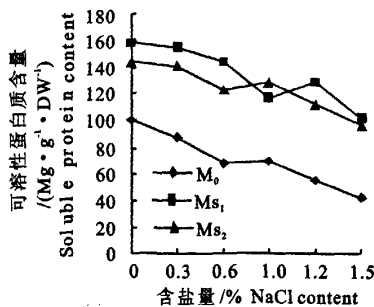


图7 盐胁迫下可溶性蛋白质含量

Fig. 7 Soluble protein content of M_0 , Ms_1 , Ms_2 under salt stress

2.6 可溶性蛋白质 SDS-PAGE 图谱分析

图 8 显示: Ms_1 、 Ms_2 细胞系比 M_0 细胞系多了两条新多肽, 分子量分别为 58kD、26kD。26kD 蛋白带表达强度高于 58kD 蛋白带, Ms_1 和 Ms_2

的 58kD 蛋白带表达强度与 26kD 蛋白带表达强度无显著差异。

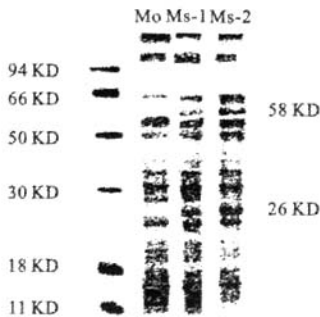


图 8 可溶性蛋白质 SDS-PAGE 图谱

Fig. 8 SDS-PAGE electrophoresis pattern

3 讨论

3.1 愈伤组织耐盐变异系的筛选

愈伤组织无性系建立后,一般用两种方法进行愈伤组织耐盐变异系的筛选^[16]。一是直接选择法,即将愈伤组织直接置于含有高于选择浓度 NaCl 的诱导培养基上。这种方法的优点是可减少形成生理适应细胞,迅速把突变细胞选择出来,缺点是把一些本来存在的可筛选出的变异淘汰了;第二种方法是间接选择法,即逐级增加 NaCl 浓度,每级浓度培养至代数不等,这样就可获得不同 NaCl 水平下产生的耐盐愈伤组织变异系,所选的耐盐变异系都需要培养在无盐胁迫的培养基上进行恢复选择。此法的优点是可选出不同级别的耐盐变异系,而且不易漏掉本来就存在的一些变异,但缺点是容易产生生理适应的细胞或组织。本实验采用了第一种方法进行愈伤组织耐盐变异系的筛选,避免了盐适应细胞的存活,确定了 w (NaCl $\approx$ 1.5%,1/2 海水)是紫花苜蓿耐盐突变体的筛选盐份浓度。3 种细胞系盐敏性对比结果表明,突变系耐盐性强于正常细胞系,尽管 Ms₁ 与 Ms₂ 有所差异,但差异不显著,说明两者差异是可能由于生理生化原因所导致。

3.2 耐盐细胞系的生理生化基础

在盐胁迫条件下,植物细胞可以通过积累在渗透上有活性而对细胞无毒的有机物来进行渗透调节,脯氨酸通常被认为是细胞质中一种渗透调节物质。在本实验中,Ms₁、Ms₂ 细胞系脯氨酸含量无论在无盐条件下,还是在盐胁迫条件下均高于 M₀,但是随着盐胁迫程度的增加,M₀ 细胞系脯

氨酸含量增加的幅度高于前两者,这与 Petrusa 等^[17]关于紫花苜蓿、刘娥娥等^[5]关于小麦的研究结果相一致。盐胁迫下,脯氨酸含量的变化是由于其合成过程增强而氧化速率下降所造成的。一般认为,脯氨酸的作用是平衡液泡中的高浓度盐分,避免细胞质脱水,但关于脯氨酸与盐胁迫之间的关系迄今仍有争议。Haro^[18]报道,脯氨酸积累量与耐盐程度呈负相关,因而认为脯氨酸积累可能是植物受到盐害的结果。然而,Sanada^[19]、Santa 认为^[20],脯氨酸积累是植物为了对抗盐胁迫而采取的一种保护性措施,本试验结果也支持这种观点,M₀、Ms₁、Ms₂ 细胞系脯氨酸含量均随着盐胁迫程度的增加而增加,说明细胞只是对盐胁迫的一种适应性反应。

活性氧代谢失调是逆境下需氧生物受害的普遍表现,也是逆境损伤的重要原因之一。盐胁迫诱导产生的活性氧若不能被及时清除,就会导致氧化损伤及其损伤的转移,活性氧在植物体内存在的时间取决于其抗氧保护体系的活力。植物清除活性氧的酶主要是超氧化物歧化酶(SOD),SOD 活性升高能够维持活性氧代谢平衡,保护膜的结构,因此植物细胞内 SOD 活性升高无疑会提高植物的耐盐性。

高等植物的耐盐机制是靠维持细胞质内微环境的稳定来调节无机离子的种类和数量的。许多重要的生理参数,如细胞体积、膨压、细胞内的 pH 值、离子强度和阳离子浓度等,都依赖对 K⁺ 和 Na⁺ 的吸收和外排进行调节。目前通过组织或者细胞培养方法获得的耐盐细胞系的研究较多,但不同植物耐盐细胞系的离子调节机制却不尽相同,如长春花耐盐细胞系积累的 Na⁺、Cl⁻ 比敏感细胞积累的多^[21],K⁺/Na⁺ 则较小,而耐盐桔细胞积累的 Na⁺、Cl⁻ 比敏感细胞积累的多^[22],而 K⁺/Na⁺ 则较大。本研究也证明,无论在无盐条件下,还是在盐胁迫条件下,耐盐细胞积累的 Na⁺、Cl⁻ 比敏感细胞积累的多且 K⁺/Na⁺ 较大,说明耐盐细胞已经具有一定的离子累积,其耐盐性的提高可能与此有一定的关系。

盐胁迫下,植物体内蛋白质含量下降,主要由于盐抑制了蛋白质的合成和蛋白质水解的缘故。调渗蛋白是植物在胁迫、脱水或者低水势条件下,植物在对逆境胁迫适应过程中所产生的一类蛋白质,这类蛋白可能在降低逆境对植物细胞的伤害上具有特殊的作用。自 Singh N K^[22]发现 25 g/

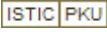
kg 浓度 NaCl 溶液诱导烟草培养细胞产生新多肽后,现已发现马铃薯、豌豆、玉米、大麦、小麦和甜菜等植物中均存在盐调渗蛋白。笔者得到的耐盐细胞系比对照细胞系可溶性蛋白质 SDS-PAGE 图谱中多出现两条蛋白带,不仅带数发生变化,同时蛋白质含量也存在着差异。这两条带分别为 58kD、26kD 的多肽。在盐胁迫下,研究发现^[11],烟草、苜蓿、水稻、玉米、大麦、小麦等植物的培养组织或者再生植株中都发现了分子量为 26kD 蛋白质,这个蛋白被认为可能为盐适应细胞所特有的,本研究结果也证明了在耐盐细胞系中这个蛋白的存在。因此笔者同样认为植物中的耐盐基因是普遍存在的,通过诱变可以筛选那些耐盐基因表达活性提高的细胞系,有机会获得具有较高耐盐特性的突变体。本实验还发现了耐盐细胞系出现的分子量为 58kD 的蛋白质,它与耐盐细胞系的耐盐性有何种关系,仍需要深入进行研究。仅仅通过测定耐盐变异系无机盐离子的积累、脯氨酸含量的增加、蛋白质的变化等生理生化因子不足以证明它们的基因组发生遗传变异,仍缺少分子水平的有力证据,笔者正在对耐盐细胞系进行研究,培养植株后进行 DNA 分子水平鉴定。

参考文献:

- [1] 朱至清,李银心. 生物技术与耐海水作物的追求[J]. 植物杂志, 2001, (6): 3~4.
- [2] Nabors M W, Gibbs S E, Bernstein C S. NaCl⁻ tolerant tobacco plants from cultured cell[J]. Z Pflanzenphysiol, 1980, (97): 13~17.
- [3] 毛桂莲, 许 兴. 枸杞耐盐突变体的筛选及生理生化分析[J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 275~280.
- [4] 张恩让, 程智慧. 大蒜耐盐愈伤组织变异系的选择研究[J]. 西北植物学报, 2003, 23(9): 1571~1576.
- [5] 刘娥娥, 王振镭, 贾敬芬. 小麦耐盐细胞系耐盐性研究[J]. 西北植物学报, 1999, 19(4): 592~597.
- [6] 王翠亭, 黄占景, 何聪芬, 等. 小麦耐盐突变体生化标记的研究[J]. 麦类作物学报, 2002, 22(1): 10~13.
- [7] 冯桂苓, 谢兆印, 杨文珍, 等. 水稻成熟胚愈伤组织耐盐变异体的筛选[J]. 天津农业科学, 1996, (3): 6~8.
- [8] 张举仁, 高树芳, 于家驹, 等. 玉米耐盐愈伤组织的筛选及植株再生[J]. 植物学报, 1991, 33(1): 887~889.
- [9] 刘艳芝, 庄炳昌, 赵桂兰, 等. 大豆子叶节组培耐盐突变体筛选[J]. 吉林农业科学, 1998, (4): 39~38.
- [10] 徐云远, 王鸣刚, 贾敬芬. 红豆草耐盐愈伤组织的筛选及植株再生[J]. 西北植物学报, 2000, 20(1): 15~21.
- [11] 王 瑛, 贾敬芬. 沙打旺耐盐细胞系的筛选及特性分析[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(6): 547~550.
- [12] 张成合, 曹 军, 鲍文奎, 等. 小黑麦单倍体愈伤组织(n=28)耐碱和耐盐变异体的研究[J]. 植物学报, 1986, 28(2): 137~144.
- [13] 岳 玮, 夏光敏, 陈惠民, 等. 獐毛愈伤组织耐盐性研究及耐盐变异体的筛选[J]. 山东大学学报(自然科学版), 2000, 35(3): 338~343.
- [14] 杜立群, 李银心, 李洪杰. 在 1/3 海水培养基上筛选豆瓣菜耐盐变异体[J]. 植物学报, 1999, 41(6): 633~639.
- [15] Giannopolitis S, Ries S K. Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 1977, 59: 309~314.
- [16] 王仑山, 王鸣刚, 王亚馥. 利用组织和细胞培养筛选作物耐盐突变体的研究[J]. 植物学通报, 1996, 13(2): 7~12.
- [17] Petrusa L M, Winicol L. Proline status in salt tolerant and salt sensitive alfalfa cell lines and plants in response to NaCl[J]. Plant Physiol Biochem, 1997, 35: 303~310.
- [18] Haro R, Baneulos M A, Quintero F J, et al. Genetic basis of sodium exclusion and sodium tolerance in yeast. A model for plants[J]. Physiol Plant, 1993, 89: 868~874.
- [19] Sanada Y, Veda H, Kuribayashi K, et al. Novel light~dark change of proline levels in halophyte (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) and glycophytes (*Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L.) leaves and roots under salt stress[J]. Plant Cell Physiol., 1995, 36(6): 965~970.
- [20] Santa C A, Acosta M, Rus A, et al. Short-term salt tolerance mechanisms in differentially salt tolerant tomato species[J]. Plant Physiol Biochem, 1999, 37(1): 65~71.
- [21] Felipe A, Victor M. A *Catharanthus roseus* salt tolerant line I. Selection and characterization[J]. J. Plant Physiol., 1994, (144): 116~120.
- [22] Gozal B H, Joshua K. A spectra of salt tolerance in a NaCl selected stable cell line of *Citrus sinensis*[J]. Plant Physiol, 1983, 72: 685~690.

作者：[姜健](#), [杨宝灵](#), [封德全](#), [邹福海](#), [李春斌](#), [李海山](#), [JIANG Jian](#), [YANG Bao-ling](#), [FENG De-quan](#), [ZOU Fu-hai](#), [LI Chun-bin](#), [LI Hai-shan](#)

作者单位：[姜健, 杨宝灵, 李春斌, JIANG Jian, YANG Bao-ling, LI Chun-bin \(大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连, 116600\)](#), [封德全, 邹福海, FENG De-quan, ZOU Fu-hai \(大连市林业局, 辽宁大连, 116600\)](#), [李海山, LI Hai-shan \(本溪县种子管理站, 辽宁本溪, 117100\)](#)

刊名：[西北农业学报](#) 

英文刊名：[ACTA AGRICULTURAE BOREALI-OccIDENTALIS SINICA](#)

年, 卷(期): 2007, 16(5)

被引用次数: 4次

参考文献(22条)

1. [朱至清; 李银心](#) 生物技术与耐海水作物的追求 2001(06)
2. [Nabors M W; Gibbs S E; Bernstein C S](#) NaCl-tolerant tobacco plants from cultured cell 1980(97)
3. [毛桂莲, 许兴](#) 枸杞耐盐突变体的筛选及生化分析[期刊论文]-[西北植物学报](#) 2005(2)
4. [张恩让, 程智慧](#) 大蒜耐盐愈伤组织变异系的选择研究[期刊论文]-[西北植物学报](#) 2003(9)
5. [刘娥娥, 王振镒, 贾敬芬](#) 小麦耐盐细胞系耐盐性分析[期刊论文]-[西北植物学报](#) 1999(4)
6. [王翠亭, 黄占景, 何聪芬, 沈银柱, 李辉](#) 小麦耐盐突变体生化标记的研究[期刊论文]-[麦类作物学报](#) 2002(1)
7. [冯桂苓; 谢兆印; 杨文珍](#) 水稻成熟胚愈伤组织耐盐变异体的筛选 1996(03)
8. [张举仁; 高树芳; 于家驹](#) 玉米耐盐愈伤组织的筛选及植株再生 1991(01)
9. [刘艳芝](#) 大豆子叶节组培耐盐突变体筛选[期刊论文]-[吉林农业科学](#) 1998(4)
10. [徐云远, 王鸣刚, 贾敬芬](#) 红豆草耐盐愈伤组织的筛选及植株再生[期刊论文]-[西北植物学报](#) 2000(1)
11. [王瑛, 贾敬芬](#) 沙打旺耐盐细胞系的筛选及特性分析[期刊论文]-[应用与环境生物学报](#) 1999(6)
12. [张成合; 曹军; 鲍文奎](#) 小黑麦单倍体愈伤组织(n=28)耐碱和耐盐变异体的研究 1986(02)
13. [岳玮, 夏光敏, 陈惠民, 冯素萍](#) 獐毛愈伤组织耐盐性研究及耐盐变异体的筛选[期刊论文]-[山东大学学报\(自然科学版\)](#) 2000(3)
14. [杜立群, 李银心, 李洪杰, 郭北海, 朱至清, 周百成](#) 在1/3海水培养基上筛选豆瓣菜耐盐变异体[期刊论文]-[植物学报](#) 1999(6)
15. [Giannopolitis S; Ries S K](#) Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants 1977
16. [王仓山; 王鸣刚; 王亚馥](#) 利用组织和细胞培养筛选作物耐盐突变体的研究 1996(02)
17. [Petrusa L M; Winicol L](#) Proline status in salt tolerant and salt sensitive alfalfa cell lines and plants in response to NaCl 1997
18. [Haro R; Baneulos M A; Quintero F J](#) Genetic basis of sodium exclusion and sodium tolerance in yeast. A model for plants 1993
19. [Sanada Y; Veda H; Kuribayashi K](#) Novel light~dark change of proline levels in halophyte (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) and glycophytes (*Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L.) leaves and roots under salt stress 1995(06)
20. [Santa C A; Acosta M; Rus A](#) Short-term salt tolerance mechanisms in differentially salt tolerant tomato species 1999(01)
21. [Felipe A; Victor M A](#) *Catharanthus roseus* salt tolerant line I. Selection and characterization 1994(144)

22. [Gozal B H;Joshua K A](#) [spects of salt tolerance in a NaCl selected stable cell line of Citrus sinensis](#) 1983

本文读者也读过(10条)

1. [毕云霞](#), [许金新](#), [孟凡永](#), [张利军](#), [BI Yun-xia](#), [XU Jin-xin](#), [MENG Fan-yong](#), [ZHANG Li-jun](#) [苜蓿品种发芽期耐盐性研究](#)[期刊论文]-[草业与畜牧](#)2010(1)
2. [陈水红](#), [杨厚安](#), [张剑云](#), [高军](#), [Chen Shuihong](#), [Yang Houan](#), [Zhang Jianyun](#), [Gao Jun](#) [NaCl胁迫对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响](#)[期刊论文]-[塔里木大学学报](#)2009, 21(1)
3. [王娟](#), [WANG Juan](#) [枸杞耐盐愈伤组织的筛选](#)[期刊论文]-[甘肃农业科技](#)2010(4)
4. [宋莉璐](#), [张侠](#), [任艳](#), [朱娇](#), [李红梅](#), [魏艳丽](#), [李纪顺](#), [杨合同](#) [盐胁迫对苜蓿种子萌发和幼苗生长的影响](#)[期刊论文]-[现代农业科技](#)2008(16)
5. [刘香萍](#), [李国良](#), [迟文峰](#), [崔国文](#), [杜广明](#) [紫花苜蓿耐盐生理的初步研究](#)[期刊论文]-[现代农业科技](#)2006(23)
6. [李娟](#), [程智慧](#), [张国裕](#) [马铃薯耐盐突变体的离体筛选](#)[期刊论文]-[西北农林科技大学学报\(自然科学版\)](#)2004, 32(8)
7. [徐云远](#), [王鸣刚](#), [贾敬芬](#), [XU Yun-yuan](#), [WANG Ming-Gang](#), [Jia Jing-fen](#) [红豆草耐盐愈伤组织的筛选及植株再生](#)[期刊论文]-[西北植物学报](#)2000, 20(1)
8. [闫雯](#), [陈健](#), [杨培志](#), [呼天明](#) [不同苜蓿品种耐盐性研究](#)[期刊论文]-[陕西农业科学](#)2007(6)
9. [钟小仙](#), [张建丽](#), [余建明](#), [蔡小宁](#), [顾洪如](#), [ZHONG Xiao-xian](#), [ZHANG Jian-li](#), [SHE Jian-ming](#), [CAI Xiao-ning](#), [GU Hong-ru](#) [体细胞突变体筛选法获得象草耐盐植株](#)[期刊论文]-[江苏农业学报](#)2009, 25(6)
10. [王媛媛](#) [三个紫花苜蓿品种耐盐突变体筛选及其再生植株生理特性研究](#)[学位论文]2009

引证文献(4条)

1. [赵艳](#), [杨青松](#), [刘蕾](#), [曾智东](#), [孙慧群](#), [陈丽梅](#) [外源甲醇对油菜种子萌发和幼苗生长的影响](#)[期刊论文]-[西北植物学报](#) 2014(7)
2. [姚晓华](#), [吴昆仑](#) [PEG预处理对青稞种子萌发和幼苗生理特性的影响](#)[期刊论文]-[西北植物学报](#) 2012(07)
3. [王淼](#) [马铃薯的组织培养及耐盐诱变育种研究](#)[学位论文]硕士 2010
4. [刘瑞宁](#) [水分和盐分胁迫下叶底珠幼苗生理特性研究](#)[学位论文]硕士 2008

引用本文格式: [姜健](#), [杨宝灵](#), [封德全](#), [邹福海](#), [李春斌](#), [李海山](#), [JIANG Jian](#), [YANG Bao-ling](#), [FENG De-quan](#), [ZOU Fu-hai](#), [LI Chun-bin](#), [LI Hai-shan](#) [半海水筛选耐盐紫花苜蓿细胞系的生理特性分析](#)[期刊论文]-[西北农业学报](#) 2007(5)