

以 hemin 为基础的物质联用缓解盐胁迫对大豆种子萌发的抑制

陈 昀,郑焕明,张 竞,沈文飏

(南京农业大学 生命科学院/生物学实验教学中心,江苏 南京 210095)

摘要:为有效缓解盐胁迫对大豆种子萌发的抑制,采用 hemin 与 CaCl_2 、水杨酸(SA)、脯氨酸(Pro)和 KNO_3 等物质的组合,对苏豆5号大豆种子的发芽率、发芽指数以及根与下胚轴的长度进行测定分析。结果表明:在盐胁迫($150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$)条件下,大豆种子的发芽率、发芽指数等指标均有明显下降,而一定浓度的 CaCl_2 、SA、Pro、 KNO_3 和 hemin 均能缓解萌发抑制; CaCl_2 、Pro 与 hemin 联用处理对缓解大豆种子盐胁迫下萌发抑制比其单独处理具有更好的效果,可有效提高大豆种子在盐胁迫条件下的平均根长、发芽率和发芽指数。进一步研究发现,联用处理还有助于提高大豆种子萌发过程中的淀粉酶和过氧化物酶活性,其中 $120 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{hemin} + 1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 与 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{hemin} + 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Pro}$ 为最佳联用浓度。

关键词:大豆;盐胁迫;种子萌发;发芽率;氯化血红素;淀粉酶;过氧化物酶

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2013)05-0640-07

Hemin-based Combinations of Exogenous Substances Alleviate the Inhibition of Soybean Seed Germination under Salt Stress

CHEN Yun,ZHENG Huan-ming,ZHANG Jing,SHEN Wen-biao

(College of Life Science/Experiment Teaching Center of Biology,Nanjing Agricultural University,Nanjing 210095,China)

Abstract: The aim of this study was to investigate a hemin-based combination with other substances like CaCl_2 , salicylic acid (SA), proline (Pro) or KNO_3 that could alleviate salt damage during soybean seed germination. In the experiment, soybean seeds of Sudou 5 from Jiangsu Academy of Agricultural Science, were used upon $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$. Subsequently, seed germination rate and index, the growth of radicle and hypocotyl of soybean, were measured and analyzed. The results showed that seed germination, index and the growth of radicle and hypocotyl of soybean were reduced under salt stress, while individually applied CaCl_2 , salicylic acid (SA), proline, KNO_3 and hemin could all alleviate above salt damage. Furthermore, the mixture of hemin plus CaCl_2 or proline was more effective in alleviating salt toxicity. Meanwhile, both of them could enhance amylase and peroxidase (POD) activities. Together, these results clearly indicated that combinations of hemin and CaCl_2 or proline exerted an advantageous effect on enhancing salt tolerance during soybean seed germination, for which $120 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{hemin}$ together with $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ and $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{hemin}$ plus $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{proline}$ were the best combinations.

Key words: Soybean; Salt stress; Seed germination; Germination rate; Hemin; Amylase; Peroxidase

土壤盐渍化和次生盐渍化作为一个世界性的环境和生态问题^[1],在中国亦有不断加重之趋势^[2],因此盐胁迫已成为限制作物生产和农业发展的主要障碍因子之一。栽培大豆属于中度耐盐植物,土壤盐渍化可导致其正常的生理生化活动及生长发育进程受到抑制,并直接影响大豆的产量和品质^[3-5]。因此,大豆耐盐性研究对提高盐碱地区作物产量以及缓解土壤盐渍化危害具有重要意义^[6]。利用血红素加氧酶(heme oxygenase,HO)催化底物血红素^[7-8]的基因取代物氯化血红素(hemin)和羟铁血红素(hematin)预处理或者共处理盐胁迫下的种子,均能不同程度地缓解盐胁迫导致的种子萌发抑制(包括发芽率、发芽势和发芽指数),并可能与

其提高淀粉酶活性、还原糖和可溶性总糖含量、抗氧化酶活性及其转录本有关^[9-11]。进一步研究发现,hemin 和 hematin 对盐胁迫缓解的机理可能与一氧化氮(nitric oxide,NO)有关^[9]。

有研究表明,采用 hemin 对植株、植物组织和种子进行灌溉、喷洒或浸泡等处理,可以促进植物生长和形态建成,加快种子萌发,提高抗氧化能力以及改善抗/耐逆性^[9]。由于其价格低廉,且植物体内含有相关代谢机制,因此该法具有低成本、无污染、环保和应用范围广的特点,适用于农田化学调控、组培、果蔬贮藏以及切花保鲜等领域。本试验旨在进一步找到 hemin 与相应其他联用剂的最佳配比和最优的使用方法,验证 hemin 与相应联用剂对

收稿日期:2013-03-30

基金项目:国家自然科学基金(J1210056,J1310015);国家大学生创新实践计划(1110307xl01);江苏省科技支撑计划(BE2010382)。

第一作者简介:陈昀(1992-),男,学士,主要从事植物生物化学方面的研究。E-mail:10310118@njau.edu.cn。

通讯作者:沈文飏(1969-),男,教授,博士生导师,主要从事植物信号转导研究。E-mail:wbsenh@njau.edu.cn。

植物生长的调节作用,从而为开发新型绿色生长调节剂氯化血红素制剂提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆(苏豆 5 号)种子;150 mmol·L⁻¹ NaCl 溶液;水杨酸(salicylic acid, SA);氯化钙(CaCl₂);脯氨酸(proline, Pro);KNO₃;hemin (Sigma);1% 可溶性淀粉溶液;葡萄糖标准溶液;PBS 和 H₂O₂等。

1.2 缓解盐胁迫物质的筛选

根据相关研究^[12-17]中发现的能缓解盐胁迫的物质—CaCl₂、SA、Pro 和 KNO₃,采用与 NaCl 溶液混合处理的培养方法进行了最适浓度的验证。

其中,培养溶液包括:NaCl、NaCl + CaCl₂、NaCl + SA、NaCl + Pro 和 NaCl + KNO₃等。根据前人文献^[18-23],浓度设计为:150 mmol·L⁻¹ NaCl(S)作为盐胁迫条件;缓解胁迫物质 CaCl₂浓度梯度为 0.15, 1.5, 15 mmol·L⁻¹;SA 浓度梯度为 50, 100, 150, 200, 500 mmol·L⁻¹;Pro、KNO₃浓度梯度均为 1, 10, 100 mmol·L⁻¹。

以大豆根长超过种子长度一半为萌发标准,记录每天大豆种子发芽率、根长和发芽指数等^[24-30]。发芽指数(GI) = $\sum (Gt/Dt)Dt$ 为发芽日数, Gt 为与 Dt 相对应的每天发芽种子数。

经预实验处理,结果显示,各物质选用的最佳浓度依次为:1.5 mmol·L⁻¹ CaCl₂、200 mmol·L⁻¹ SA、10 mmol·L⁻¹ Pro 和 10 mmol·L⁻¹ KNO₃。

1.3 与 hemin 联用试剂的筛选

采用混合溶液的培养方法,横向比较预处理确立的各物质缓解盐胁迫最适浓度的缓解效果,进而筛选更为合适的联用剂。设置处理为 150 mmol·L⁻¹ NaCl、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 1.5 mmol·L⁻¹ CaCl₂、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 200 mmol·L⁻¹ SA、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 10 mmol·L⁻¹ Pro、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 10 mmol·L⁻¹ KNO₃和 150 mmol·L⁻¹ NaCl + 100 μmol·L⁻¹ hemin。

以大豆根长超过种子长度一半为萌发标准,记录每天大豆种子发芽率、根长和发芽指数。数据标准同 1.2。

1.4 与 hemin 联用缓解盐胁迫效果比较

1.4.1 联用配方缓解盐胁迫效果的验证 基于 1.3 的试验结果,选取单独缓解盐胁迫能力较强且稳定的 CaCl₂或 Pro 作为联用剂,采用混合溶液的培养方法,以探究联用效果,培养溶液配方为:

150 mmol·L⁻¹ NaCl、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 1.5 mmol·L⁻¹ CaCl₂、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 10 mmol·L⁻¹ Pro、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 100 μmol·L⁻¹ hemin + 1.5 mmol·L⁻¹ CaCl₂、150 mmol·L⁻¹ NaCl + 100 μmol·L⁻¹ hemin 和 150 mmol·L⁻¹ NaCl + 100 μmol·L⁻¹ hemin + 10 mmol·L⁻¹ Pro。

以大豆根长超过种子长度一半为萌发标准,记录每天大豆种子发芽率、根长和发芽指数,比较与 hemin 联用缓解盐胁迫的效果。数据标准同 1.2。

测定大豆种子萌发第 3 天时的 α-淀粉酶活性^[31-33]。大豆种子萌发过程中淀粉酶活性参照谢兆辉^[31]的方法测定。取 200 μL 的粗提取大豆淀粉酶液,于 37℃、pH6.8 的条件下在 5 min 的初始作用时间内将淀粉转化为还原糖,然后通过与 DNS 试剂作用,在波长 550 nm 下,比色测定求得还原糖的生成量,从而计算出酶反应的初速度,即酶的活性。根据淀粉酶活性的变化验证联用的效果。

1.4.2 联用浓度的调整 基于 1.4.1 的结果,调整联用条件下 hemin 的浓度,以配比出最合适的联用方案。将联用配方中的 hemin 浓度梯度调整为 80, 100, 120 μmol·L⁻¹,以大豆根长超过种子长度一半为萌发标准,记录每天大豆种子发芽率、根长和发芽指数等,比较不同浓度 hemin 联用 1.5 mmol·L⁻¹ CaCl₂或 10 mmol·L⁻¹ Pro 缓解盐胁迫的效果。数据标准同 1.2。

最后,选取最佳配比方案的最适浓度配方,检测大豆种子萌发第 3 天的过氧化物酶活性^[33-34],以证明其缓解盐胁迫条件的效果。

1.5 数据分析

采用 Microsoft Excel 2003 进行数据分析,将各组数据进行 t 测验。所有显著差异结果均以 5% 的显著水平为准。

2 结果与分析

2.1 最适浓度下单一物质处理对盐胁迫下大豆种子萌发的影响

根长是反应幼苗健壮程度的重要指标之一,发芽率和发芽指数是反映植物种子品质优劣和活性的重要指标。由图 1 可知,在盐胁迫条件下,大豆萌发几乎完全受到抑制,其根部生长速度明显减缓,平均根长缩短,与对照组相比具有显著差异;与单独盐胁迫相比,分别添加 CaCl₂、SA、Pro、KNO₃和 hemin 处理 3 d 后大豆的根部生长略有增加,但差异不显著,不同物质处理间差异也不显著。

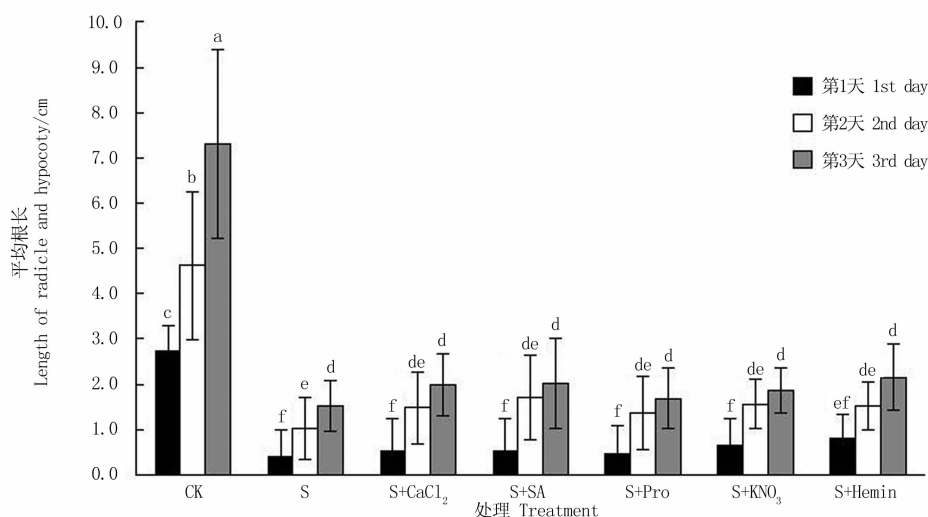


图1 单一物质处理对盐胁迫下大豆种子平均根长的影响

Fig. 1 Effects of different single substance on the growth of soybean radicle and hypocotyl under salt stress

进一步研究发现,添加各物质处理2 d或3 d后发芽率均明显高于单独盐胁迫处理(图2);同样,发芽势和发芽指数的结果与发芽率相似(数据未列

出)。说明各物质在最适浓度下,均能有效缓解盐胁迫对大豆发芽率的抑制作用。

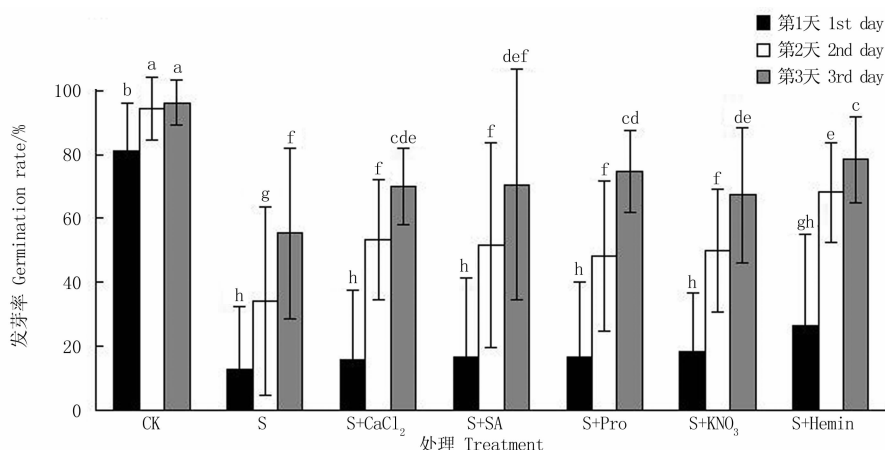


图2 单一物质处理对盐胁迫下大豆种子发芽率的影响

Fig. 2 Effects of different single substance on seed germination rate under salt stress

图2的结果还显示,与单独盐胁迫相比,CaCl₂、Pro、KNO₃和hemin处理组处理3 d的发芽率较高,其中KNO₃处理发芽率还略低于其他3组。此外,由于SA组在预处理试验中,组间差异显著,在发芽势以及发芽指数上数据不稳定(数据未列出),因此仅选用CaCl₂和Pro作为与hemin的联用剂进行后续盐胁迫缓解试验。

2.2 hemin与最适浓度CaCl₂或Pro联用对盐胁迫下大豆种子萌发的影响

2.2.1 萌发根长和发芽率 将hemin与CaCl₂和Pro分别联用,并与试剂单独使用进行对比。结果表明,hemin+CaCl₂联用加强了缓解盐胁迫的能力,尤其是处理第2天和第3天较盐胁迫处理显著促进

了大豆根的生长,且与单独使用hemin或CaCl₂相比也差异显著;尽管hemin+Pro的联用方式也能一定程度上缓解盐害,但与单独使用hemin或Pro相比差异不显著(图3)。

由图4可知,NaCl+hemin、NaCl+hemin+CaCl₂和NaCl+hemin+Pro处理组第3天的发芽率均显著高于其他处理;且NaCl+hemin+Pro处理显著高于NaCl+hemin+CaCl₂处理。

2.2.2 淀粉酶活性 从图5可以看出,CaCl₂、Pro和hemin处理组淀粉酶活性显著高于盐胁迫处理,但与对照组差异不显著;hemin与CaCl₂或Pro联用处理的大豆种子淀粉酶活性显著高于对照组与各单一物质处理组。表明与CaCl₂、Pro和hemin单独

使用相比,hemin + CaCl₂ 和 hemin + Pro 的联用处理能通过提高大豆种子中淀粉酶活性,促进大豆种子还原糖的代谢,从而更有效地缓解盐胁迫对大豆萌发的抑制。

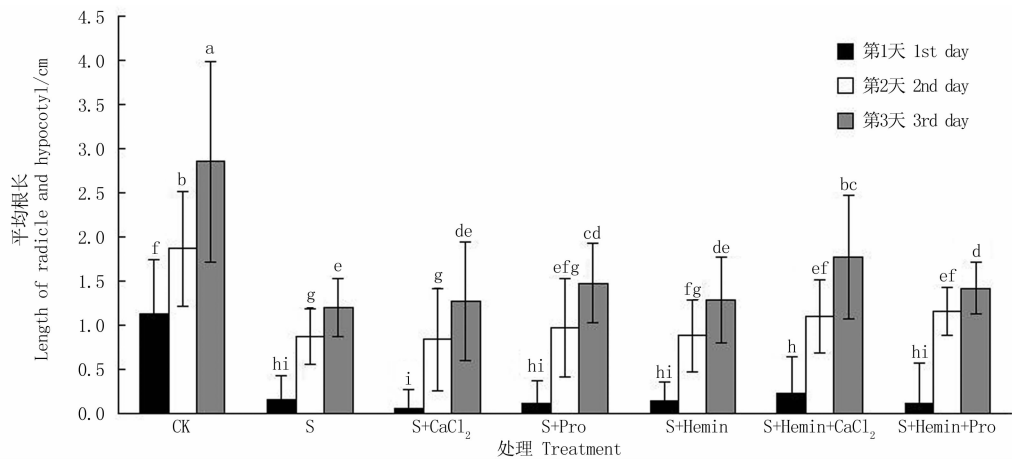


图3 联用处理对盐胁迫下大豆种子平均根长的影响
Fig.3 Effects of different combinations on the growth of radicle and hypocotyl under salt stress

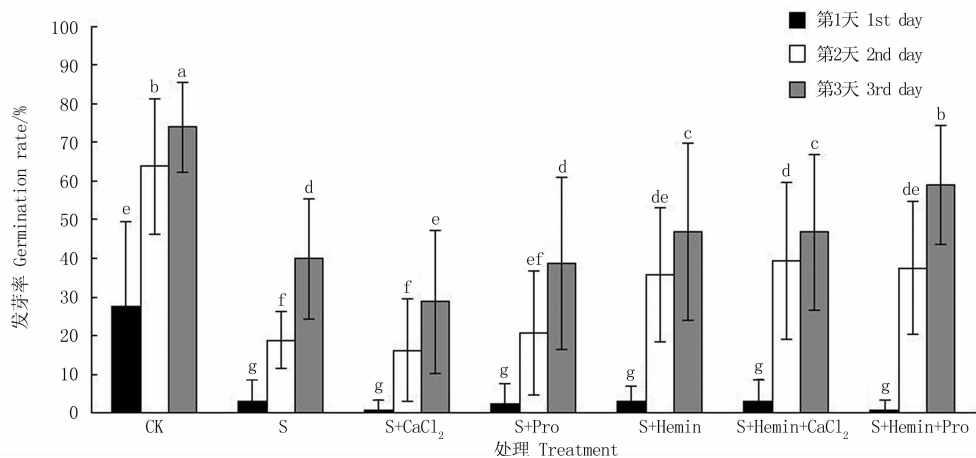


图4 联用处理对盐胁迫下大豆种子发芽率的影响
Fig.4 Effects of different combinations on seed germination rate under salt stress

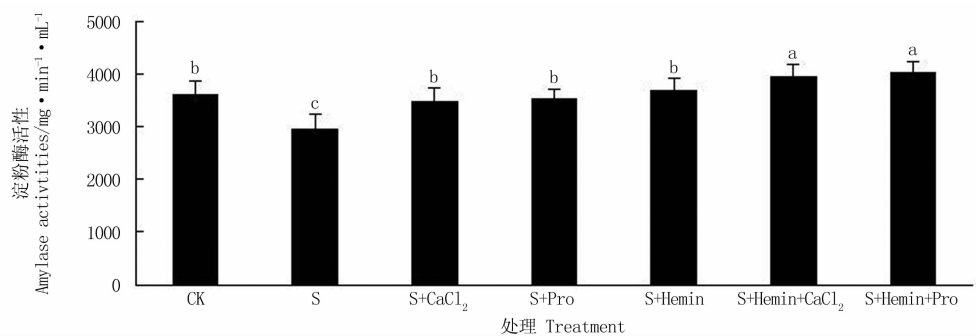


图5 最适浓度下各处理组对盐胁迫下大豆种子萌发第3天淀粉酶活性的影响

Fig.5 Effects of different combinations on amylase activities of soybeans under salt stress for 3 days

2.3 不同浓度 hemin 与 CaCl₂ 或 Pro 联用对盐胁迫下大豆种子萌发的影响
2.3.1 萌发根长和发芽率 由图6可知,联用组均能显著促进大豆根的生长,其中,120 μmol·L⁻¹ hemin + 1.5 mmol·L⁻¹ CaCl₂ 与 80 μmol·L⁻¹ hemin + 10 mmol·L⁻¹ Pro 两个处理组处理第3天效果最显著。

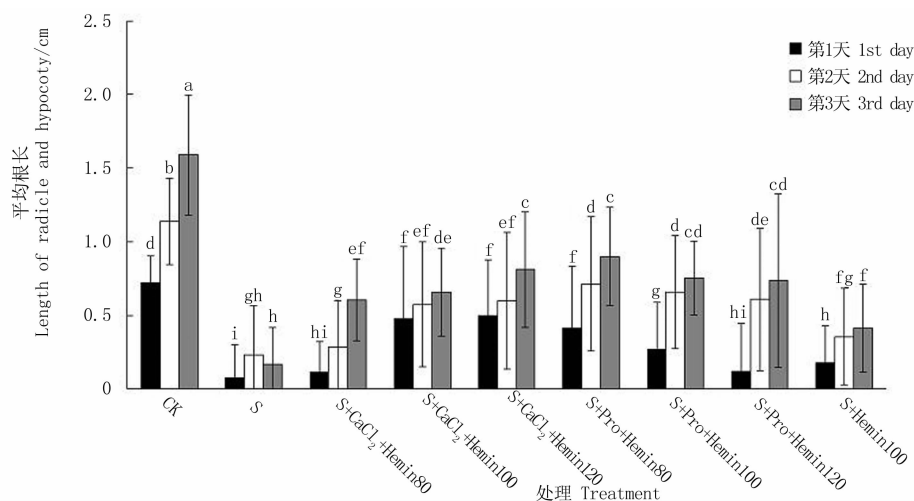


图6 不同浓度 hemin 联用 CaCl_2 或 Pro 处理对盐胁迫下大豆种子平均根长的影响

Fig. 6 Effects of different concentrations of hemin combined with CaCl_2 or Pro on the growth of radicle and hypocotyl under salt stress

当 CaCl_2 作为联用剂时, hemin 浓度在 $100 \sim 120 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时能显著促进第 3 天发芽率的提高; 当 Pro 作为联用剂时, $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin 浓度处理第 1 天就明显提高了发芽率 (发芽指数也增大, 数据未列出)。此外, $120 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin + $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 、 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin + $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro 和 100

$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin + $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro 组合处理第 3 天的缓解效果均明显高于单独使用 hemin 组 (图 7)。考虑到 hemin 的使用浓度, 以 $120 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin + $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 和 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin + $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro 为最佳联用浓度。

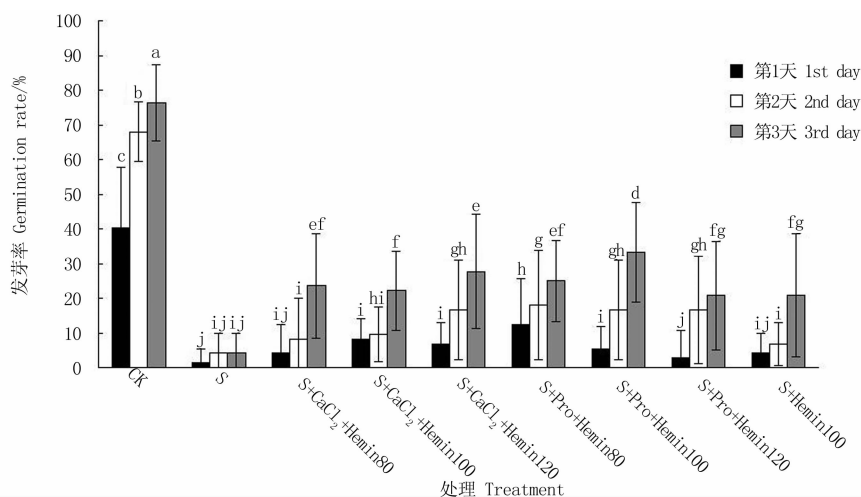


图7 不同浓度 hemin 联用 CaCl_2 或 Pro 处理对盐胁迫下大豆种子发芽率的影响

Fig. 7 Effects of different concentrations of hemin combined with CaCl_2 or Pro on seed germination rate under salt stress

2.3.2 过氧化物酶活性 以 $120 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin + $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 与 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hemin + $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro 两种联用处理第 3 天, 测定其过氧化物酶 (POD) 活性 (图 8), 相对于对照处理, 盐胁迫条件下 POD 活性显著下降, 而 hemin 处理可以提高

POD 活性。hemin 与 Pro 或 CaCl_2 联用组酶活性均明显高于对照, 其中 CaCl_2 联用组则显著高于 Pro 联用组。说明 hemin + CaCl_2 和 hemin + Pro 的组合处理能有效提高大豆种子中 POD 活性, 促进大豆种子过氧化物的代谢, 进而缓解盐胁迫对大豆萌发的抑制。

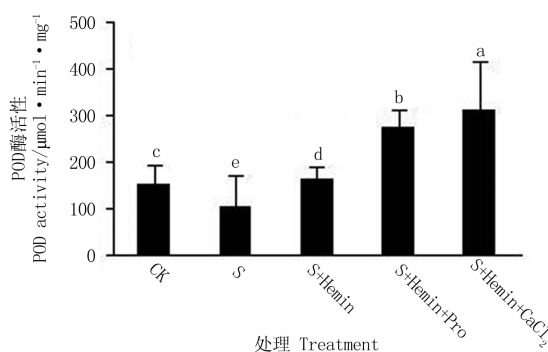


图8 不同联用处理3 d 对盐胁迫下大豆过氧化物酶活性的影响

Fig.8 Effects of different treatments for 3 days on POD activities of soybeans under salt stress

3 结论与讨论

盐胁迫会显著抑制植物种子萌发,主要表现在抑制根的生长、降低发芽率、降低淀粉酶以及过氧化物酶活性等^[1-5,24-30]。前人研究发现,施用外源CaCl₂、SA 和 Pro 等物质能缓解盐胁迫对种子萌发的抑制,如促进根的生长、提高发芽率等^[12-17]。同时,徐晟的研究^[9]表明,外源 hematin 和 hemin 也可以缓解盐胁迫对小麦种子的萌发抑制,包括提高发芽率和淀粉酶活性,以及上调抗氧化酶基因转录本等,其机理可能与 NO 的产生与释放有关。但上述物质联合施用是否具有增效效果,尚未有相关研究涉及。

因此,本试验尝试将其他物质与 hemin 联用,通过对根长、发芽率、淀粉酶活性和 POD 活性等指标的检测,以探究其联用对盐胁迫下大豆种子萌发抑制的缓解增效作用。结果显示,120 μmol · L⁻¹ hemin + 1.5 mmol · L⁻¹ CaCl₂与 80 μmol · L⁻¹ hemin + 10 mmol · L⁻¹ Pro 两种联用方式相较于 CaCl₂、Pro 以及 hemin 单独使用,均能显著提高盐胁迫条件下大豆种子的根长、发芽率、淀粉酶活性以及 POD 活性,其缓解效果显著强于各物质单独使用。同时,对比前人研究用试剂的浓度^[12-18],联用还能大大减少 CaCl₂与 Pro 的用量,相应微调 hemin 浓度即可达到最佳效果。但联用时的增效机理,是与 CaCl₂或 Pro 增强了 hemin 诱导释放 NO 的能力有关,还是 hemin 产生释放的 NO 增强了 CaCl₂与 Pro 的作用,或者是效应叠加,还需要进一步的验证。

总之,本试验的结果提供了可行的基于 hemin 的联用配方,并能有效地缓解盐胁迫对大豆种子萌

发的抑制作用。此外,通过验证 hemin 与 CaCl₂、Pro 联用对胁迫条件下大豆生长的增效调节作用,为进一步开发新型绿色生长调节剂 hemin 的相关制剂提供了理论基础。

参考文献

- [1] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651-681.
- [2] 杨晓慧, 蒋卫杰, 魏珉, 等. 提高植物抗盐能力的技术措施综述[J]. 中国农学通报, 2006, 22(1): 88-91. (Yang X H, Jiang W J, Wei M, et al. The technical approaches of improving the plant salt-resistant ability[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(1): 88-91.)
- [3] Cho M J, Widholm J M, Vodkin L O. Cassettes for seed-specific expression tested in transformed embryogenic cultures of soybean[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1995, 13: 255-269.
- [4] Essa T A. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars[J]. Journal of Agronomy & Crop Science, 2002, 188: 86-93.
- [5] Wang D, Shannon M C. Emergence and seedling growth of soybean cultivars and maturity groups under salinity[J]. Plant and Soil, 1999, 214: 117-124.
- [6] 李娜娜, 张煜, 王俊峰, 等. 栽培大豆种质资源耐盐性的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(27): 6-11. (Li N N, Zhang Y, Wang J F, et al. Advances in studies of salt tolerance in cultivated soybean[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(27): 6-11.)
- [7] Davis S J, Bhoo S H, Durski A M, et al. The heme-oxygenase family required for phytochrome chromophore biosynthesis is necessary for proper photomorphogenesis in higher plants[J]. Plant Physiology, 2001, 126: 656-669.
- [8] Frankel D, Mehndate K, Schipper H M. Role of heme oxygenase-1 in the regulation of manganese superoxide dismutase gene expression in oxidatively-challenged astroglia[J]. Journal of Cellular Physiology, 2000, 185: 80-86.
- [9] 徐晟. 水稻血红素加氧酶 1 (*OsHO1*) 基因克隆、功能分析及其催化底物氯化血红素和羟铁血红素的生物学功能研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011. (Xu S. Gene cloning, function analysis of heme oxygenase 1 (*OsHO1*) in *Oryza sativa* and the biological function of its substrate hemin and hematin[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.)
- [10] Liu K, Xu S, Xuan W, et al. Carbon monoxide counteracts the inhibition of seed germination and alleviates oxidative damage caused by salt stress in *Oryza sativa*[J]. Plant Science, 2007, 172(3): 544-555.
- [11] Liu Y, Xu S, Ling T, et al. Heme oxygenase/carbon monoxide system participates in regulating wheat seed germination under osmotic stress involving the nitric oxide pathway[J]. Journal of Plant Phys-

- iology, 2010, 167: 1371-1379.
- [12] 冯文新, 张宝红. 钙处理对盐胁迫下大豆种子萌发及其生理生化指标的影响[J]. 大豆科学, 1997, 16(1): 48-53. (Feng W X, Zhang B H. Effects of calcium treatment on germinating and physiological indexes of soybean seeds under stress of salt[J]. Soybean Science, 1997, 16(1): 48-53.)
- [13] 朱伟, 袁超, 马宗斌, 等. 水杨酸对盐胁迫下棉花种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 江西农业学报, 2009, 21(10): 17-19. (Zhu W, Yuan C, Ma Z B, et al. Effect of salicylic acid on seed germination and seedling growth of cotton under salt stress[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2009, 21(10): 17-19.)
- [14] 郑延海, 蒋高明. 外源硝酸钾对小麦氯化钠胁迫缓解机理的研究进展[J]. 科学通报, 2008, 53(24): 3140. (Zheng Y H, Jiang G M. Research progress of exogenous potassium nitrate on relief mechanism of NaCl stress in wheat[J]. Science Bulletin, 2008, 53(24): 3140.)
- [15] 陈秀兰, 赵可夫. NaCl 胁迫对玉米种子萌发的抑制及外源 Ca^{2+} 的缓解效应[J]. 华北农学报, 1995, 11(4): 89-92. (Chen X L, Zhao K F. Effect of NaCl stress on germination of maize seeds and alleviation role of exogenous Ca^{2+} [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1995, 11(4): 89-92.)
- [16] 张士功, 高吉寅. 水杨酸和阿司匹林对盐胁迫下小麦种子萌发的作用(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(1): 29-32. (Zhang S G, Gao J Y. Effect of salicylic acid and aspirin on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination under salt stress[J]. Plant Physiology Communications, 1999, 35(1): 29-32.)
- [17] 孙丽娜, 曲敏, 任广涛, 等. 水杨酸对盐胁迫下黄瓜种子萌发和幼苗生长发育的影响[J]. 东北农业大学学报, 2006, 37(4): 449-453. (Sun L N, Qu M, Ren G T. Effect of salicylic acid on salt stress on cucumber seed germination and seedling growth[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2006, 37(4): 449-453.)
- [18] 白桦, 王玉国. 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织 SOD 和 POD 活性的影响[J]. 华北农学报, 2002, 17(3): 37-40. (Bai H, Wang Y G. Effect of exogenous proline on SOD and POD activity for soybean callus under salt stress[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2002, 17(3): 37-40.)
- [19] Kuramochi H, Konnai M, Tanaka T, et al. Method for improving plant salt-tolerance; European Patent EP 0714600[P]. 2001-1-24.
- [20] Singleton P W, Bohloul B B. Effect of salinity on nodule formation by soybean[J]. Plant Physiology, 1984, 74(1): 72-76.
- [21] Abel G H, MacKenzie A J. Salt tolerance of soybean varieties (*Glycine max* L. Merrill) during germination and later growth[J]. Crop Science, 1964, 4(2): 157-161.
- [22] Bayuelo-Jiménez J S, Craig R, Lynch J P. Salinity tolerance of species during germination and early seedling growth[J]. Crop Science, 2002, 42(5): 1584-1594.
- [23] Velagaleti R R, Marsh S, Kramer D, et al. Genotypic differences in growth and nitrogen fixation among soybean (*Glycine max* (L.) Merr) cultivars grown under salt stress[J]. Tropical Agriculture, 1990, 67(2): 169-177.
- [24] Association of Official Seed Analysis (AOSA). Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32 to the handbook on seed testing [M]. Association of Official Seed Analysis, Springfield, 1983.
- [25] Ashraf M, Harris P J C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants[J]. Plant Science, 2004, 166(1): 3-16.
- [26] Xu S, Lou T, Zhao N, et al. Presoaking with hemin improves salinity tolerance during wheat seed germination[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(4): 1173-1183.
- [27] 朱志华, 胡荣海. 盐胁迫对不同小麦品种种子萌发的影响[J]. 作物品种资源, 1996(4): 25-29. (Zhu Z H, Hu R H. Effect of salt stress on seed germination of different wheat varieties[J]. China Seeds, 1996(4): 25-29.)
- [28] 宋晓艳, 安君. 盐胁迫对野大豆种子萌发特性的影响[J]. 内蒙古农业科技, 2008(1): 41-43. (Song X Y, An J. Effect of salt stress on seed germination of wild soybean[J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2008(1): 41-43.)
- [29] 张秀玲. 盐胁迫对绿豆种子萌发的影响[J]. 北方园艺, 2008(4): 52-53. (Zhang X L. Effect of salt stress on seeds germination of *Vigna radiata* [J]. North Horticulture, 2008(4): 52-53.)
- [30] 张秀玲, 李瑞利, 石福臣. 盐胁迫对野大豆种子萌发特性的影响[J]. 种子, 2007, 26(8): 21-23. (Zhang X L, Li R L, Shi F C. Effect of salt stress on germination characteristics of *Glycine soja* [J]. Seed, 2007, 26(8): 21-23.)
- [31] 谢兆辉. NaCl 胁迫对大豆种子萌发及 α -淀粉酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(2): 477-479. (Xie Z H. Effects of NaCl stress on seeds germination and α -amylase of soybean[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(2): 477-479.)
- [32] 郭建华, 赵长新, 李林勇, 等. 盐胁迫对大麦发芽时淀粉酶·蛋白酶活力及溶解度的影响[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(12): 2258-2259. (Guo J H, Zhao C X, Li L Y, et al. Effect of salt stress on amylase, protease and decompose degree of barley during germination[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2005, 33(12): 2258-2259.)
- [33] 章文华, 刘友良, 夏长沛. 盐胁迫对大、小麦种子萌发时两种酶活性的影响[J]. 南京农业大学学报, 1991, 14(4): 18-22. (Zhang W H, Liu Y L, Xia C P. Effects of salinity on activity of two enzymes in barley and wheat during emergence[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 1991, 14(4): 18-22.)
- [34] 胡琼英, 汪瑾. 生物化学与分子生物学实验[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2011. (Hu Q Y, Wang J. Experiment of biochemistry and molecular biology[M]. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2011.)