

离体黑果枸杞再生途径的研究

曹君迈,马海军,谭亚萍

(北方民族大学生物科学与工程学院,宁夏 银川 750021)

摘要:以黑果枸杞的叶片和茎段为外植体,采用MS为基本培养基,研究激素对经历愈伤组织诱导、丛生芽诱导以及叶片直接诱导小植株再生途径的影响。实验结果表明,诱导茎段、叶片形成愈伤组织的适宜培养基分别为MS+2,4-D $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、MS+2,4-D $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其诱导率均为100%;诱导茎段、愈伤组织分化形成丛生芽的适宜培养基分别为MS+6-BA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而愈伤组织分化出的丛生芽均发生玻璃化现象,其增殖系数分别为32.3倍、47.1倍;诱导叶片分化形成植株的适宜培养基为MS+NAA $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其再生植株诱导率为33.3%。结论:黑果枸杞再生能力强,以上途径均能形成再生植株,其最佳的离体繁殖途径为茎段诱导丛生芽形成再生植株。

关键词:黑果枸杞;外植体;愈伤组织;丛生芽;再生植株

中图分类号:S567.1⁺9 **文献标声码:**A

Regeneration pathways of *Lycium ruthenicum* Murr in vitro

CAO Jun-mai, MA Hai-jun, TAN Ya-ping

(College of Biological Sciences and Engineering, Beifang University of Nationalities, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: Effects of hormones on the regeneration pathway of callus-induced plantlets, clump shoot-induced plantlets and leaf-induced plantlets were investigated by explants, leaves and stem segments of *Lycium ruthenicum* Murr and MS basic medium. The results showed that the appropriate medium for callus induction from stem segments and leaves was MS+2, 4-D $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and MS+2, 4-D $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively and both of the induction rate were 100%. The appropriate medium for differentiation of stem segments and calli into clump shoot was MS+6-BA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, with multiplication coefficient of 32.3 times and 47.1 times, respectively. However, vitrification occurred in clump shoot differentiated from calli. The appropriate medium for inducing leaves to differentiate into plants was MS+NAA $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, with induction rate of regenerated plants of 33.3%. The regeneration ability of *Lycium ruthenicum* Murr was strong, and regenerated plants could be formed through above pathways. The optimal in vitro propagation pathway was stem segments inducing clump shoot to form regenerated plants.

Keywords: *Lycium ruthenicum* Murr; explant; callus; clump buds; regenerated plants

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr)是我国荒漠地区特有的一种野生植物^[1],是西北地区一种重要的中药材,在藏药中广泛应用^[2]。我国对红果枸杞的研究始于19世纪初期,而对野生黑果枸杞的研究却晚了一个世纪。有关黑果枸杞的生理生态^[3-4]、各种抗性^[5-6]、营养成分分析和提取^[7]、药性及药理学作用^[8]、抗旱价值^[9]以及开发利用前景^[10]等方面已有大量文献报道。正是基于学者的研究结果认

为黑果枸杞的保健及药用价值远高于普通红枸杞^[11],这样导致市场对黑果枸杞的需求量剧增,同时以黑果枸杞为主要原料的药品、茶品、保健品等系列产品开发,从而推动了黑果枸杞产业的迅速发展。面对多元化市场的需求,以及野生资源有限的局面,利用常规栽培方法已不能满足枸杞产业的快速发展,且常规栽培方法植株繁殖速度慢^[12],采用组织培养技术手段可有效提高种苗繁殖速度、缓

解对野生资源破坏性的采挖。然而,关于黑果枸杞组织培养研究报道的文献较少^[13-15],缺乏系统的、深入的研究,同时还存在生产成本高,繁殖系数低^[14],不同品种之间配方差异很大等问题,给标准化的工厂化生产带来了一定难度。本研究试图以愈伤组织诱导、丛生芽诱导及叶片直接诱导小植株的再生途径为研究目的,以期探讨出黑果枸杞最佳的离体繁殖途径,建立高效的无性繁殖技术体系,为野生黑果枸杞资源的充分保护和利用以及规模化生产提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材 料

黑果枸杞金塔种子来自甘肃农业大学。以 MS 培养基作为基本培养基。

1.2 方 法

1.2.1 实验设计 实验于 2015 年 3 月-2016 年 4 月,在北方民族大学科院组培实验室进行。采用单因素随机区组设计,以激素为处理因素,将各种外植体接种于不同处理的培养基上,每个处理接种 15 瓶,剔除污染瓶后,每种处理统计 10 瓶,以叶、茎段、愈伤组织做外植体时,每瓶接种 5 个,其余材料做外植体时,每瓶接种 3 个。

1.2.2 无菌苗的获得

(1)种子的消毒。挑选 150 粒形状大小、饱满度一致的黑果枸杞种子,用蒸馏水泡后放入 4℃ 冰箱备用。第二天取出放入已开启灭菌的超净工作台上,将种子放入装有 70%乙醇的无菌培养皿中消毒 5s 左右,用无菌蒸馏水反复洗涤 3 次,再用 2%的次氯酸钠溶液将种子浸泡消毒 25 min,继续用无菌蒸馏水洗涤 3 次,洗去残余溶液,洗涤后放在灭菌滤纸上,吸干种子表面的水分。

(2)接种。将消毒后晾干的种子接入 MS 培养基上,每瓶培养基接 15 粒黑果枸杞种子,一共 10 瓶,编号后送入培养间进行培养。

(3)培养条件。固体培养基:白砂糖 20 g · L⁻¹,琼脂 5 g · L⁻¹,MS 营养成分,pH 值调至 5.8~6.0;培养室温度 25 ℃ 左右;光/暗周期 15 h/9 h,光强 2 000 Lx 左右。

1.2.3 愈伤组织的获得 待黑果枸杞的无菌苗长到 6 cm 左右时,以叶片和茎段为外植体,要求规格如下:叶片为 0.5~1 cm²,茎段要截取成带 3 片叶且高度为 2 cm 大小,接种到激素配比不同的 7 种培养基上,即:1. 2,4-D 0.1 mg · L⁻¹、2. 2,4-D 0.2 mg · L⁻¹、3. 2,4-D 0.3 mg · L⁻¹、4. 2,4-D 0.4 mg · L⁻¹、

5.0 mg · L⁻¹(无激素)、6. IBA 0.2 mg · L⁻¹、7. NAA 0.2 mg · L⁻¹。

1.2.4 丛生芽的获得 取长势一致且旺盛的愈伤组织,将其分割成大小约 1 cm³的团块,分别接种到激素配比不同的 4 种培养基,即:8. 6-BA 0.5 mg · L⁻¹、9. 6-BA 0.5 mg · L⁻¹+KT 0.5 mg · L⁻¹、10. 6-BA 0.5 mg · L⁻¹+KT 1.0 mg · L⁻¹、11. 6-BA 0.5 mg · L⁻¹+KT 1.5 mg · L⁻¹。

将按规格要求剪切的茎段分别接种到激素配比不同的 5 种培养基,即:12. 6-BA 0.2 mg · L⁻¹、13.6-BA 0.2 mg · L⁻¹+IBA 0.01 mg · L⁻¹、14. 6-BA 0.2 mg · L⁻¹+KT 0.1 mg · L⁻¹、15. 6-BA 0.2 mg · L⁻¹+NAA 0.01 mg · L⁻¹、16. 0 mg · L⁻¹(无激素)。

1.2.5 叶片诱导再生植株 取无菌苗叶片剪切成 0.5~1 cm²,每片叶剪伤 2 处,分别接种于激素配比的 5 种培养基,即:17. 6-BA 0.01 mg · L⁻¹+2,4D 0.01 mg · L⁻¹、18. 2,4D 0.01 mg · L⁻¹、19. IBA 0.01 mg · L⁻¹、20. NAA 0.01 mg · L⁻¹。

1.2.6 再生植株的获得 茎段或愈伤组织诱导的丛生芽,待芽长至 3 cm 高时,转入 MS 培养基形成再生植株。

1.2.7 数据的调查统计

(1)待种子萌发后一个星期内统计枸杞发芽率和污染率。

种子萌发率 = 发芽种子数/接种种子总数 × 100%

污染率 = 污染的瓶数/总瓶数 × 100%

(2)观察记录愈伤组织的生长情况,统计黑果枸杞外植体的愈伤量、出愈率和生长状况。

出愈率 = 产生愈伤组织的外植体数/接种外植体总数 × 100%

愈伤量:++++表示愈伤组织体积是接种外植体的 15-25 倍;+++表示愈伤组织体积是接种外植体的 10-20 倍;++表示愈伤组织体积是接种外植体的 5-10 倍;+表示愈伤组织体积是接种外植体的 0-5 倍;

(3)观察记录丛生芽的生长情况,统计不同培养基对黑果枸杞愈伤组织或茎段诱导分化丛生芽的影响,筛选诱导率高且丛生芽质量好的最佳培养基。统计黑果枸杞丛生芽数、整齐度和增殖系数。

丛生芽数为接种的外植体上长出的芽个数;

整齐度:用差和齐表示,接种的外植体分化出的芽生长的高度一致即为齐,接种的外植体分化出的芽生长的高度不一致即为差;

增殖系数 = 增殖的芽数/接种数。

(4)观察记录叶片的生长情况,筛选叶片诱导率高且植株生长状况最好的最佳培养基及其激素配比。统计叶片分化率。

叶片分化率 = 产生的植株数/接种叶片总数 × 100%

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导

将黑果枸杞无菌苗的叶片和茎段剪切 2-3 个伤口后接种到表 1 的培养基中。培养室培养 3-5 d 后,茎段基部伤口处逐渐脱分化出现愈伤组织,呈紧密颗粒状。叶片约 7 d 后变黄,伤口处逐渐脱分化形成愈伤组织,呈疏松颗粒状。两种外植体形成的愈伤组织 15 d 左右开始逐渐增多,45 d 左右,愈伤组织量达到最大。无论用叶片,还是茎段做外植体,1-4 号处理愈伤组织诱导率均为 100%;5 号处

理愈伤组织诱导率均为 0;6 号处理用叶片做外植体愈伤组织诱导率为 100%,茎段做外植体愈伤组织诱导率为 25%;7 号处理均有所下降(见表 1)。

由表 1 可知,无论用叶片,还是茎段做外植体,低浓度的 2,4-D 能诱导出愈伤组织,并且随着浓度的增加,诱导效果增强,愈伤量明显变多;处理 6 中 IBA 使叶片和茎段诱导出愈伤组织,但愈伤量少、愈伤组织上有芽的分化,而茎段有丛生芽发生;处理 7 中 NAA 诱导叶片、茎段形成了少量愈伤,愈伤组织上均有芽的分化,IBA、NAA,诱导茎段形成愈伤组织效果最差,2,4-D 有利于愈伤组织诱导。

由此可见,以 2,4-D 0.4 mg · L⁻¹诱导叶片形成的愈伤组织最佳,以培养基 2,4-D 0.3 mg · L⁻¹诱导茎段形成的愈伤组织最佳,愈伤组织诱导率均为 100%。

表 1 激素处理对黑果枸杞愈伤组织诱导的影响
Table 1 Effect of hormone treatment on callus induction in *Lycium ruthenicum* Murr

处理 Treatment	激素浓度/(mg · L ⁻¹) Hormone concentration	接种数/个 Inoculation number/Number		诱导率/% Induction rate		愈伤组织生长量 Callus growth	
		叶片 Leaf	茎段 Stem segments	叶片 Leaf	茎段 Stem segments	叶片 Leaf	茎段 Stem segments
1	2,4-D 0.1	50	50	100.0	100.0	+	+
2	2,4-D 0.2	50	50	100.0	100.0	+	+
3	2,4-D 0.3	50	50	100.0	100.0	+++	++++
4	2,4-D 0.4	50	50	100.0	100.0	++++	+++
5	0	50	50	0	0	0	0
6	IBA 0.2	50	50	100.0	25.0	+	+
7	NAA 0.2	50	50	85.0	50.0	+	+

2.2 丛生芽诱导

2.2.1 利用愈伤组织诱导丛生芽 将生长状态良好的愈伤组织转接至表 2 的丛生芽诱导分化培养基中,15 d 左右,愈伤组织分化形成丛生芽,表面分布少量绿色丛生芽点;30 d 左右,愈伤组织上的大部分绿色丛生芽点开始分化形成丛生芽(见表 2)。

表 2 为 90 d 的统计结果。由表可知,当 KT 浓度为 0,6-BA 浓度为 0.5 mg · L⁻¹时,黑果枸杞丛生芽的增殖效果最好,增值系数为 47.1 倍。KT 对丛生芽的分化没有显著的影响。

2.2.2 利用茎段诱导丛生芽 将黑果枸杞无菌苗的茎段接种到表 3 的培养基中。培养 3-5 d 后,茎段分化丛芽,且生长快速。15 d 左右,茎段基部开始分化出大量幼芽组织团块。表 3 为 60 d 统计结果,不同激素及其浓度配比的培养基对黑果枸杞茎

段诱导分化形成丛生芽有一定的影响。处理 12 芽增殖系数低,整齐度差;处理 13 和 15 虽然诱导的芽增殖系数高,但整齐度差;处理 14,丛生芽整齐度好,增殖系数为 32.3 倍;处理 16 中不含激素,丛生芽诱导率为 0;处理 14 的整体诱导丛生芽效果优于其它处理。

2.3 利用叶片诱导再生植株

将规格为 0.5~1 cm²的叶片接种至表 4 的培养基中。表 4 为 40 d 记录结果。由表 4 可知处理 17、18 有愈伤组织形成,无再生植株形成;其余 2 种处理在叶片伤口的主叶脉处均形成了芽,处理 19 生根率为 33.3%,植株再生诱导率 26.6%;处理 20 生根率为 66.7%,植株再生诱导率 33.3%。由此可见,处理 19, 0.01 mg · L⁻¹的 NAA 诱导叶片形成再植株的效果较好,诱导率为 33.3%。

表 2 激素处理对愈伤组织形成丛生芽的影响
Table 2 Effect of hormone treatment on clump buds inducing by callus

处理 Treatment	6-BA/(mg·L ⁻¹)	KT/(mg·L ⁻¹)	接种数/个 Inoculation number/Number	分化率/% Differentiation rate	丛生芽数/个 clump buds number/Number	增殖系数 Multiplication coefficient
8	0.5	0	50	100	2355	47.1 a
9	0.5	0.5	50	100	1669	33.6 b
10	0.5	1.0	50	100	1761	35.3 b
11	0.5	1.5	50	100	1810	36.2 b

表 3 激素处理对茎段诱导丛生芽的影响
Table 3 Effect of hormone treatment on clump buds inducing by stem segments

处理 Treatment	激素配比/(mg·L ⁻¹) Hormone combination	接种数/瓶 Inoculation number/Bottle	丛生芽数/个 Clump buds/Number	整齐度 Regularity	增殖系数 Multiplication coefficient
12	6-BA 0.2	10	252	差 Bad	25.2
13	6-BA 0.2+ IBA 0.01	10	381	差 Bad	38.1
14	6-BA 0.2+KT 0.1	10	323	齐 Regular	32.3
15	6-BA 0.2+NAA 0.01	10	341	差 Bad	34.1
16	0	10	10	齐 Regular	0

表 4 激素处理对叶片诱导植株的影响
Table 4 Effect of hormone treatment on regenerated plants inducing leaves

处理 Treatment	激素浓度/(mg·L ⁻¹) Hormone concentration	接种数/个 Inoculation number/Number	生根植株/个 Rooting plant/Number	完整植株/株 plantlet/Plant	植株生长 Plant growth	生根率/% Rooting rate	植株再生率/% Regenerated plantsrate
17	6-BA 0.01+2,4D 0.01	30	0	0	无根	0	0
18	2,4D 0.01	30	0	0	无根	0	0
19	IBA 0.01	30	10	8	根系发达	33.3	26.6
20	NAA 0.01	30	20	10	根系发达	66.7	33.3

2.4 生根培养

丛生芽高度长至 3 cm 时,转入 MS 培养基培养 20 d 均可长出 3-4 条根,幼苗生长健壮(见图 1)。

3 讨 论

3.1 黑果枸杞的叶和茎段较易诱导愈伤组织

实验发现,以叶和茎段为外植体时,在 MS 培养基上,添加 2,4-D 0.1-0.4 mg·L⁻¹均易诱导出愈伤组织,但 IBA、NAA,不利于诱导愈伤组织。冀菲^[13]利用黑果枸杞剪掉根系的无菌苗在 MS+ 6-BA 1.0 mg·L⁻¹+ IBA 0.1 mg·L⁻¹培养基中可以形成较好的愈伤组织,其结果与本实验不同。此外,本实验在低激素 MS+6-BA 0.2 mg·L⁻¹+IBA 0.01 mg·L⁻¹培养基中形成的是丛生芽,其结果的不同可能与品种和光照时间不同有关。

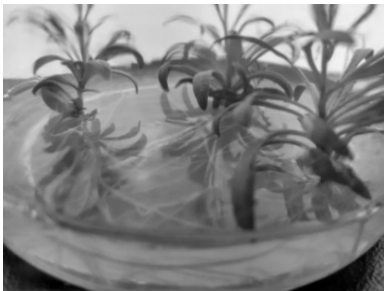


图 1 MS 培养基植株生根效果
Fig.1 Rooting effect of plants in MS medium

3.2 选择适宜的外植体有利于丛生芽诱导

愈组诱导丛生芽的过程中,玻璃化现象严重,可能由于细胞分裂素含量高,导致增殖系数太高,迫使丛生芽生长的过程中在营养需求量大,代谢物积累增多和生长空间不足,对生长产生了不利影响。本实验光照时间为 15h,曹有龙等^[16]认为红果枸杞的适宜光照时间为 12 h,培养瓶内湿度过大,凝结成小水滴后可能都提高了玻璃化发生率,因此,不建议利用愈组诱导丛生芽这种途径。冀菲^[13]认为 6-BA 高于 0.6 mg·L⁻¹时增殖率开始下降;当培养基中 6-BA 质量浓度为 0.4 mg·L⁻¹时增殖效果最好,本实验筛选出 6-BA 质量浓度为 0.5 mg·L⁻¹时增殖效果最好,与冀菲实验结果基本一致,而冀菲未提到玻璃化现象的发生。利用茎段诱导丛生芽的过程中,与愈组诱导丛生芽的培养条件相同,但未发生玻璃化现象。Sun^[14]等认为利用黑果枸杞幼苗茎段为外植体时,使用 6-BA 易产生玻璃化苗,但本实验中采用了 6-BA 0.2 mg·L⁻¹+KT 0.1 mg·L⁻¹和 6-BA 0.2 mg·L⁻¹+IBA 0.01 mg·L⁻¹激素配比没有产生玻璃化苗,且繁殖系数高达 32 倍之多,可能是组培品种不同所致。

3.3 利用叶片直接诱导再生植株

郭辉^[17]认为红果枸杞叶片不能分化产生芽。

马和平等^[18]以“宁杞 2 号”叶片为试材,研究了其再生体系,认为红果枸杞直接从叶片上可分化产生芽,与本实验结果一致。由于品种不同激素搭配不同,黑果枸杞在单独使用 IBA 0.01 mg · L⁻¹ 和 NAA 0.01 mg · L⁻¹ 的培养基上,叶片首先在主叶脉伤口处长出根系,待根系长到一定长度后,叶片不经过脱分化的过程,直接生成再生植株,也可按马和平等方法将苗切下进行生根。这个现象初步说明了黑果枸杞叶片的再生能力较强,此途径为植物遗传转化奠定了基础。

参 考 文 献:

[1] 矫晓丽.柴达木野生黑果枸杞营养成分分析[J].氨基酸和生物资源,2011,33(3):60-62.

[2] 青海木本植物志编委会.青海木本植物志[M].西宁:青海人民出版社,1987:570.

[3] 曹有龙.枸杞花药愈伤组织细胞悬浮培养与植株再生[J].四川大学学报,1999,36(1):131-135.

[4] 章英才,张晋宁.两种盐浓度环境中的黑果枸杞叶的形态结构特征研究[J].宁夏大学学报:自然科学版,2004,25(4):365-367.

[5] 耿生莲.不同土壤水分下黑果枸杞生理特点分析[J].西北林学院学报,2012,27(1):6-10.

[6] Lv X, Wang C, Cheng Y, et al. Isolation and structural characterization of a polysaccharide LRP4-A from *Lycium ruthenicum* Murr[J]. Carbohydrate Research, 2013, 365: 20-25.

[7] 陈红军.黑果枸杞中红色素提取方法的研究[J].塔里木农垦大学学报,2000,12(2):13-16.

[8] 闫亚美.黑果枸杞功效研究进展及产业发展前景[J].宁夏农林科技,2015,56(1):21-24,57.

[9] 暴风伟.黑果枸杞的生物活性研究进展[J].中国执业药师,2014,11(7):31-34.

[10] 马继雄.道地药材黑果枸杞的应用研究进展及青海的发展前景[J].青海师范大学学报:自然科学版,2012,28(3):53-56,85.

[11] 田磊.黑果枸杞抗衰老作用研究[J].实用药物与临床,2015,18(10):1147-1150.

[12] 郝玉兰.青藏高原黑果枸杞栽培技术[J].现代农业科技,2012,(9):138.

[13] 冀菲,唐晓杰,程广有.黑果枸杞组培繁殖培养基选择[J].北华大学学报(自然科学版),2016,17(4):537-539.

[14] Sun S Y, Cao H, Yao H, et al. Study on tissue culture and rapid propagation of *Lycium ruthenicum* Murr [J]. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(5): 1060-1064.

[15] Li J, Yao H, Cao H, et al. Study on the Polyploid Induction of *Lycium ruthenicum* Murr [J]. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(9): 2012-2016.

[16] 曹有龙.不同培养条件对枸杞组培苗玻璃化的影响[J].云南植物研究,2008,(2):30-32,115.

[17] 郭辉.宁夏枸杞不同外植体离体培养芽形成的研究[J].北方园艺,2008,(9):168-170.

[18] 马和平,李毅,马彦军,等.枸杞叶片再生植株体系的建立[J].河北农业大学学报,2005,28(2):15-18.

(上接第 33 页)

[19] 钱嘉渊.酶的测定方法[M].北京:中国轻工业出版社,1992:186-194.

[20] Trevor E, Kraus R, Austin F. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury is detoxification of active oxygen involved[J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35: 45-52.

[21] Mott J J. Factors affecting seed germination in three annual species from an arid region of Western Australia[J]. Journal of Ecology, 1974, 62:699-709.

[22] 张春来,彭顺芬,郭景南.甜菜种子品质的调控与改进技术研究I. PEG 渗调、吸湿-回干对不同活力种子发芽的调控效应[J].中国甜菜,1994,(1):13-18.

[23] 牛海山,旭日,王淑芬,等.吸湿回干种子处理对小麦萌发期抗盐性的影响[J].内蒙古大学学报(自然科学版),1999,30(1):80-84.

[24] 谭晓荣,伏毅,戴媛.干旱锻炼提高小麦幼苗抗旱性的抗氧化机理研究[J].作物杂志,2009,5(7):20-23.

[25] Winter S R, Musick J T, Porter K B. Evaluation of screening techniques for breeding drought resistant winter wheat [J]. Crop Sci, 1988,28:512-516.

[26] IMarcinska, ICzyczyLo-Mysza, ESkrzypek, et al. Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes[J]. Acta Physiol

Plant,2013,35:451-461.

[27] Fedina S, Nedeva D, Çiçek N. Pre-treatment with H₂O₂ induces salt tolerance in barley seedling[J].Biol Plant,2009,53(2):321-324.

[28] Alla MMN, Bogadallah GMA, Badran EG, et al. Differential tolerance of two wheat cultivars to NaCl is related to antioxidant potentialities[J]. Brazilian Journal of Botany,2014,37(3):207-215.

[29] 丛国强,尹成林,何邦令,等.水分胁迫下内生真菌球毛壳 ND35 对冬小麦苗期生长和抗旱性的影响[J].生态学报,2015,35(18):6121-6128.

[30] 郭秀林,刘子会,赵会徽,等.热锻炼和高温胁迫下冬小麦热激蛋白与抗氧化酶基因表达[J].华北农学报,2014,29(4):13-18.

[31] 刘岩,陈杭,郑光华.吸湿—回干处理对大豆种子抗吸胀冷害的生理效应[J].植物学报,1991,33(3):219-225.

[32] Gill S S. Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants[J].Environ Sci Pollut Res,2015,22:10375-10394.

[33] Wang Y, Li L, Wang J, et al. Exogenous H₂O₂ improves the chilling tolerance of manilagrass and mascarenegrass by activating the anti-oxidative system[J]. Plant Growth Regul,2010,61(2):195 - 204.

[34] Li J T, Qiu Z B, Zhang X W, et al. Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(3): 835 - 842.