

文爱华,刘济明,王军才,等.自然干旱胁迫对米槁生理生化的影响[J].江苏农业科学,2015,43(7):257-260.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.089

# 自然干旱胁迫对米槁生理生化的影响

文爱华,刘济明,王军才,高攀,李丽霞

(贵州大学林学院,贵州贵阳 550025)

**摘要:**以贵州省罗甸县米槁为研究对象,进行盆栽控水自然干旱 22 d 及复水 15 d 处理,研究米槁叶片的相对含水量、水分饱和亏、游离脯氨酸含量、可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量、淀粉含量、丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性的变化趋势。结果表明:随着干旱时间的延长,米槁叶片的游离脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖、MDA 含量在一定范围内都呈明显升高趋势,复水后降低;SOD、POD、CAT 变化趋势比较一致,都呈先上升后下降趋势。可见土壤含水量直接影响植物各项生理指标,从而影响植物的正常生长发育。

**关键词:**米槁;干旱胁迫;生理生化

**中图分类号:** S567.1<sup>+</sup>91.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0257-03

水是植物生长发育重要的环境因子,水分过多或过少对植物生长都不利。据统计,全球每年由旱涝所造成的损失约占自然灾害总损失的 60% 以上,其中干旱造成的损失量超过其他逆境造成的损失量总和<sup>[1]</sup>。土壤有效水分匮乏对植物生长影响显著<sup>[2-4]</sup>,因此植物耐旱潜力是植物生理生态学领域的研究热点<sup>[5]</sup>。研究表明,植物体内可溶性蛋白质大多是参与各种代谢的酶类,在植物受到干旱胁迫时会发生变化;当植物遭受水分胁迫造成生理性缺水时,植物体内脯氨酸(Pro)大量积累;植物细胞内自由基的产生与清除处于动态平衡,一旦该平衡遭到破坏,则自由基积累,丙二醛(MDA)含量增加;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等能够有效地清除自由基,是酶促防御系统的重要组成部分<sup>[6-11]</sup>。米槁(*Cinnamomum migao* H. W. Li)别称大果木姜子,为樟科樟属高大乔木常绿植物。米槁是贵州省苗族民间常用药物,其名字来源于苗语,异名有麻槁、大果樟等<sup>[12]</sup>。米槁有逐寒、镇痛、健脾、消饱胀等功效,常用于治疗腹胀、腹痛、晕车呕吐及牛马腹胀等人畜疾病<sup>[13-18]</sup>。目前对米槁的研究主要集中于其化学成分的分离与鉴定,有关干旱胁迫对米槁生理生化指标影响的研究尚未见报道。笔者以贵州省罗甸县米槁幼苗为研究对象,采用盆栽控水方法对米槁耐旱潜力进行研究,探究干旱胁迫与米槁生理生化指标的关联性,旨在为在贵州省大面积种植米槁提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选用罗甸县 1 年生米槁幼苗,带回贵州大学林学院苗圃,

收稿日期:2015-01-04

基金项目:贵州省林业厅重大项目(编号:黔林科合[2010]重大 04 号)。

作者简介:文爱华(1989—),女,山东济南人,硕士研究生,研究方向为野生动植物保护与利用。E-mail:wah0917@163.com。

通信作者:刘济明,博士,教授,从事植物生态学研究。E-mail:karst0623@163.com。

采用盆栽方式种植备用(盆口直径为 29 cm,深度为 40 cm)。盆栽土壤一致,选择长势一致的幼苗进行干旱胁迫试验。

### 1.2 试验设计

2014 年 7 月将长势一致、无病虫害的 30 盆幼苗移入隔绝降水的透明大棚,浇透水后采用自然干旱的方法进行干旱胁迫。第 2 天开始,每次从不同植株上选取中上部同一位置的成熟叶片,将叶片去叶脉后剪碎混合,测定叶片各项生理生化指标。每处理重复 3 次,设置停水 0、7、12、17、22 d 自然干旱胁迫处理和复水 15 d 处理,同时测定叶片各项生理生化指标。

### 1.3 方法

利用烘干称量法测定叶片相对含水量(RWC)和水分饱和亏(WSD)。采用铝盒环刀法测定土壤含水量。采用硫代巴比妥酸法测定叶片丙二醛含量<sup>[19]</sup>。采用酸性茚三酮显色法测定叶片脯氨酸含量。采用蒽酮比色法测定叶片可溶性糖、可溶性淀粉含量。采用考马斯亮蓝 G-250 与可溶性蛋白质结合染色方法测定可溶性蛋白质含量。分别采用氮蓝四唑(NBT)光还原法、高锰酸钾滴定法<sup>[19]</sup>、愈创木酚法<sup>[20]</sup>测定叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性。RWC、WSD 计算公式如下:

$$RWC = (\text{叶片鲜质量} - \text{叶片干质量}) / (\text{叶片饱和鲜质量} - \text{叶片干质量}) \times 100\%; \quad (1)$$

$$WSD = 1 - RWC = (\text{叶片饱和鲜质量} - \text{叶片鲜质量}) / (\text{叶片饱和鲜质量} - \text{叶片干质量}) \times 100\%。 \quad (2)$$

### 1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 19.0 软件处理数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同干旱胁迫时间米槁叶片含水量的变化

从表 1 可见,随着胁迫时间的延长,土壤含水量逐渐降低;不同胁迫时间处理下土壤含水量与对照均差异显著;胁迫 7 d 的土壤含水量与胁迫 12 d 的土壤含水量差异显著。随着土壤含水量的下降,米槁叶片相对含水量也呈逐渐下降趋势,从 98.38% 逐渐降至 49.25%;胁迫前 7 d 叶片相对含水量下

降趋势较平缓,8~22 d 呈显著下降趋势,说明胁迫 7 d 后土壤含水量已影响植株正常生长,为适应土壤水分减少,叶片相对含水量也相应减少。胁迫 7 d 水分饱和亏与对照差异不显著,说明土壤含水量可以满足植物的正常需求;胁迫 12 d,叶片相对含水量为 88.63%,叶片水分饱和亏达 11.37%,均与胁迫 7 d 差异显著;胁迫 22 d,叶片严重萎蔫枯黄。进行胁迫后复水发现,复水 15 d 植株长出新叶片,恢复正常生长,叶片相对含水量达 96.21%,水分饱和亏达 3.80%。

表 1 不同干旱胁迫时间下土壤与米槁叶片含水量			
处理时间 (d)	土壤含水量 (%)	叶片相对含水量 (%)	叶片水分饱和亏 (%)
0	28.42 ± 3.80d	98.38 ± 0.79d	1.62 ± 0.79a
7	20.57 ± 2.22c	96.04 ± 0.99d	3.96 ± 0.99a
12	9.89 ± 0.87b	88.63 ± 3.16c	11.37 ± 3.16b
17	6.92 ± 0.50ab	66.13 ± 2.27b	33.87 ± 2.27c
22	4.58 ± 0.11a	49.25 ± 0.48a	50.75 ± 0.48d
复水 15 d	38.50 ± 2.53e	96.21 ± 19.26d	3.80 ± 1.11a

注:同列数据后标有不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

2.2 不同干旱胁迫时间米槁叶片可溶性糖、淀粉含量变化

干旱条件下,植物可溶性糖含量通常增加,这是植物对干旱胁迫的适应性反应<sup>[21]</sup>。从图 1 可见,随着干旱胁迫时间的延长,植物可溶性糖含量呈上升趋势,并且明显高于对照。胁迫 22 d,叶片可溶性糖含量达到最大值 6.541 mg/g。复水 15 d 叶片可溶性糖含量与对照接近。从图 1 可以看出,随着胁迫时间的延长,淀粉含量变化呈现先下降后缓慢上升的趋势,胁迫 7 d,淀粉含量达到最低值 0.243 mg/g,与对照差异明显,复水后叶片淀粉含量与对照基本一致,这可能与淀粉水解酶活性升高、淀粉合成关键酶 ADPGPPase 活性降低有关<sup>[23]</sup>。

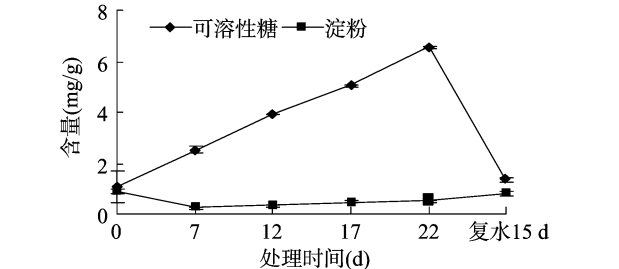


图1 不同干旱胁迫时间下米槁可溶性糖、淀粉含量情况

2.3 不同干旱胁迫时间下米槁叶片可溶性蛋白质、游离脯氨酸含量变化

植物体内可溶性蛋白质主要是指参与代谢的酶类,其含量是衡量植物总体代谢强弱的重要指标。由图 2 可见,随着干旱胁迫时间的延长,米槁叶片可溶性蛋白含量呈先上升后下降趋势,胁迫 17 d 达到最高值 460.00 mg/g,随后缓慢下降。复水 15 d,叶片可溶性蛋白质含量比对照稍高,此现象与前人研究结果<sup>[23]</sup>一致。这可能是由于恢复水分后,植物虽有所恢复但可溶性蛋白质参与的部分代谢反应没有彻底恢复。植物在逆境条件脯氨酸会大量积累,其积累指数与植物抗逆性有关<sup>[25]</sup>。随着干旱胁迫时间的延长,游离脯氨酸含量呈上升趋势。胁迫 22 d,叶片游离脯氨酸含量达到最高值 133.09 mg/g;胁迫 17~22 d 明显上升,这可能与米槁在重度胁迫下的耐受能力有关。胁迫后复水 15 d,游离脯氨酸含量基本达到未胁迫时水平。

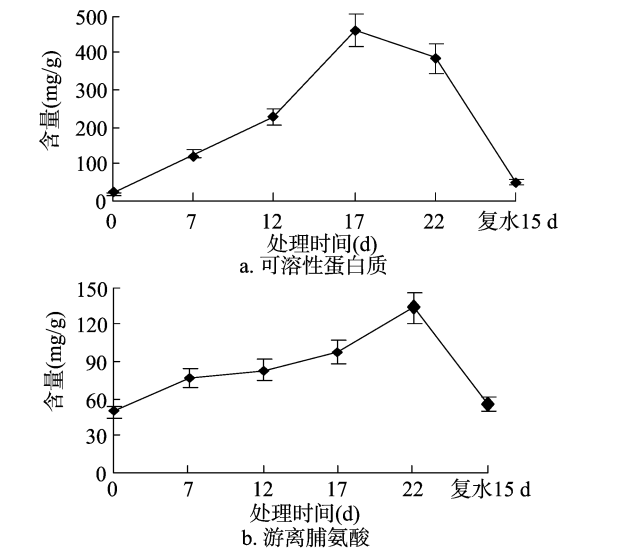


图2 不同干旱胁迫时间米槁可溶性蛋白质、游离脯氨酸含量

2.4 不同干旱胁迫时间米槁叶片 MDA 含量变化

MDA 是植物细胞膜脂过氧化作用的最终产物,是膜系统伤害的重要标志之一。由图 3 可知,随着胁迫时间的延长,米槁叶片 MDA 含量升高,并且均明显高于未胁迫,胁迫 22d,MDA 含量达到最高值 545.88 nmol/g。胁迫 12~22 d,叶片 MDA 含量明显上升,表明植株受胁迫强度增大,膜的正常功能遭到更严重破坏。复水后,MDA 含量有所下降,但比未胁迫时含量高。研究表明,干旱胁迫下,水稻体内 MDA 含量明显增加<sup>[25-26]</sup>。

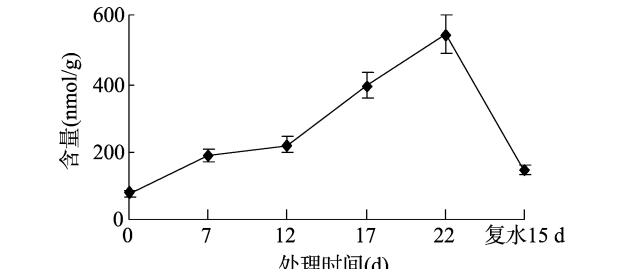


图3 不同干旱胁迫时间米槁 MDA 含量

2.5 不同米槁叶片 SOD、POD、CAT 活性变化

干旱胁迫下,植物抗氧化酶可以通过催化植物体内的活性氧,防止发生过氧化反应。由图 4 可见,随着胁迫时间的延长,米槁叶片 SOD、POD 活性变化趋势基本一致,均呈先升高后下降趋势。干旱胁迫 17 d 之前,随着水分减少,植物体内超氧自由基也会增加,这时植株会通过提高体内 SOD、POD 活性来保护植株免受伤害。随着胁迫时间的延长,SOD、POD 活性达到峰值后又开始下降,表明随着土壤水分的减少,超氧自由基在植物机体内的含量已经超过了植物自身能够清除的范围,因此 SOD、POD 活性降低,说明米槁对于干旱胁迫的抗逆性是有限的。在一定水分胁迫范围内,米槁可通过产生更多的保护酶抵抗干旱胁迫造成的伤害,但当胁迫超出了植物本身所能忍耐的范围时,植物体内的保护酶活性反而会下降。复水 15 d,SOD、POD 活性均高于对照,这可能是因为经过了一定程度的干旱胁迫后,机体产生了一定的抵抗能力,抗旱能力提高。CAT 活性与 SOD、POD 活性变化趋势略有不同,

CAT 活性先下降后上升再下降,胁迫 7 d 出现最低值,随着干旱时间的延长,CAT 活性增加。复水后,CAT 活性高于未胁迫,这与前人研究结论<sup>[27-29]</sup>一致。

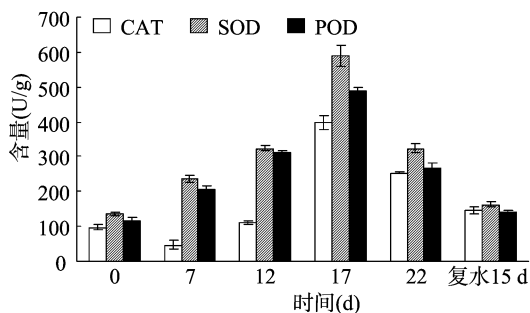


图4 不同干旱胁迫时间米槁SOD、POD、CAT含量变化

### 3 结论与讨论

研究表明,在一定干旱胁迫范围内,随着土壤水分含量的下降,植物叶片各项生理指标也随之改变,在一定程度上反映了植物对干旱胁迫的抗逆性。RWC、WSD 能够较好反映植株受胁迫时体内水分状况。本研究结果表明,RWC 随着土壤水分含量降低呈现下降趋势。当植物遇到干旱胁迫时,体内会产生一定数量低分子量的代谢产物,以便体内的细胞质渗透压能够维持在较高水平,有利于植物在缺乏水分时吸收水分,植物这种自身调节被称为渗透调节。渗透调节物质主要包括脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等<sup>[30-31]</sup>。本研究结果表明,胁迫 17 d,叶片可溶性糖、可溶性蛋白质、游离脯氨酸含量随着胁迫程度的加剧都呈现上升趋势;胁迫 22 d,可溶性糖游离、脯氨酸含量均达到峰值,可溶性蛋白质在胁迫 17 d 达到峰值。植物遭受干旱胁迫时,细胞膜会发生过氧化作用而受到损伤,膜脂过氧化作用产物之一是 MDA,当胁迫超过机体所承受的范围时,植物 MDA 含量会增加且与细胞内各种成分发生反应,从而使各种酶、膜遭受严重伤害<sup>[32]</sup>。本研究结果表明,叶片 MDA 含量随胁迫时间的延长而呈上升趋势;复水后,含量虽有一定程度下降,但较未胁迫前差异明显。这说明在水分胁迫下,植物体内代谢紊乱,导致细胞膜受到损害,MDA 积累,一定复水时间内无法恢复到胁迫前水平。植物遭受干旱胁迫时,细胞内会产生造成细胞受伤甚至死亡的生物活性氧,细胞内的保护酶系统等能够清除植物体内的活性氧,使细胞免于受伤,保护酶系统活性增强有利于提高植物抗逆性<sup>[33]</sup>。胁迫 17 d 以内,植物 SOD、POD 活性随胁迫时间延长而提高,以增强植物的抗逆性,随后活性开始下降,说明胁迫程度超出了植物耐受范围,保护酶活性反而下降,说明米槁的耐胁迫能力有限。复水后的酶活性较胁迫前有所提高,这可能是因为经历了一段时间干旱胁迫后,植物产生了一定适应能力,从而提高了其抗旱能力。植物的抗旱能力是复合性状,不但受多个基因控制,而且通过多个途径来实现。本试验是在盆栽环境中进行的,与实际生境有一定差异。因此,对米槁抗旱性进行全面评价时,应当结合实际生境,从生态、生理 2 个方面考虑,为米槁合理栽培与管理提供准确详细的依据。

### 参考文献:

[1] 华北平原作物水分胁迫与干旱研究课题组. 作物水分胁迫与干

- 旱研究[M]. 郑州:河南科学技术出版社,1991:98-103.
- [2] 惠竹梅,房玉林,郭玉枝,等. 水分胁迫对葡萄幼苗 4 种主要生理指标的影响[J]. 干旱地区农业研究,2007,25(3):146-149.
- [3] 利容千,王建波. 植物逆境细胞及生理学[M]. 武汉:武汉大学出版社,2002:64-67.
- [4] 张志良,翟伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2003:46-48.
- [5] 张正斌. 作物抗旱节水的生理遗传育种基础[M]. 北京:科学出版社,2003:36-39.
- [6] 史玉炜,王燕凌,李文兵,等. 水分胁迫对刚毛柞柳可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量变化的影响[J]. 新疆农业大学学报,2007,30(2):5-8.
- [7] 王云龙,许振柱,周广胜. 水分胁迫对羊草光合产物分配及其气体交换特征的影响[J]. 植物生态学报,2004,28(6):803-809.
- [8] Ray E A. Molecular response to water deficit[J]. Plant Physiology, 1993,103:1035-1040.
- [9] Bosabalidis A M, Kofidis G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars[J]. Plant Science,2002,163:375-379.
- [10] 赵家梅,谢双喜. 干旱胁迫和复水对道真润楠幼树生理特性的影响[J]. 贵州农业科学,2013,41(3):116-118,125.
- [11] 桑子阳,马履一,陈发菊. 干旱胁迫对红花玉兰幼苗生长和生理特性的影响[J]. 西北植物学报,2011,31(1):109-115.
- [12] 邱德文,杜茂瑞. 贵州苗药大果木姜子研究及产业化[C]//第二次世界中西医结合大会论文摘要集,2002:470-474.
- [13] 冉先德. 中华药海[M]. 上海:东方出版社,2010:47-50.
- [14] 梁光义,魏惠芬. 大果木姜子挥发油和脂肪油的研究[J]. 贵阳中医学院学报,1989,5(4):55-60.
- [15] 梁光义,邱德文,魏惠芬,等. 大果木姜子精油化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,1992,4(2):67-70.
- [16] 梁光义,邱德文,魏惠芬,等. 大果木姜子的甘油三酯组成[J]. 天然产物研究与开发,1992,4(4):19-22.
- [17] 魏惠芬,任永全,贺祝英,等. 大果木姜子精油无机元素的研究[J]. 微量元素与健康研究,1994,12(2):30,18.
- [18] Wang H, Nair M G, Strasburg G M, et al. Antioxidant polyphenols from tart cherries (*Prunus cerasus*)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1999,47(3):840-844.
- [19] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000:33-35.
- [20] 张立军,樊金娟. 植物生理学实验教程[M]. 北京:中国农业大学出版社,2007:26-28.
- [21] 《植物生理学通讯》编辑部. 植物生理学专题讲座——纪念罗宗洛教授[M]. 北京:科学出版社,1987:323.
- [22] 陈立松,刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片糖代谢的影响及其与抗旱性的关系[J]. 热带作物学报,1999,20(2):31-36.
- [23] 池馨,廖小峰,刘济明,等. 自然干旱胁迫下艾纳香的生理生化特性[J]. 贵州农业科学,2014,42(8):48-51.
- [24] 党云萍,李春霞,刘东雄. 水分胁迫对植物生理生化研究进展[J]. 陕西农业科学,2012,58(5):89-93,122.
- [25] 孙骏威,杨勇,黄宗安,等. 聚乙二醇诱导水分胁迫引起水稻光合下降的原因探讨[J]. 中国水稻科学,2004,18(6):539-543.
- [26] 晏斌,戴秋杰,刘晓忠,等. 玉米叶片涝渍伤害过程中超氧自由基的积累[J]. 植物学报,1995,3(9):738-744.
- [27] 张文辉,段宝利,周建云,等. 不同种源栓皮栎幼苗叶片水分关系和保护酶活性对干旱胁迫的响应[J]. 植物生态学报,2004,28(4):483-490.

卢月霞,郑素月,柳焕章. 鸡腿菇原生质体制备与再生研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):260-261.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.090

# 鸡腿菇原生质体制备与再生研究

卢月霞,郑素月,柳焕章

(河北工程大学农学院,河北邯郸 056021)

**摘要:**以鸡腿菇双核菌丝为材料,利用溶壁酶制备原生质体,采用单因素试验确定最佳条件。结果表明,原生质体产量最高的条件是取菌龄为 5 d 的液体静置培养的菌丝体,以 0.6 mol/L 蔗糖为渗稳剂,在酶解温度 30 ℃、酶浓度 20 g/L、菌丝量 20 g/L 的条件下酶解 3 h,制备的原生质体量为  $2.5 \times 10^7$  个/mL。将制备的原生质体稀释并涂布于再生培养基,再生率为 10.9%,研究为鸡腿菇原生质体融合及优良品种选育提供研究基础。

**关键词:**鸡腿菇;原生质体;制备;再生

**中图分类号:** S646.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0260-02

鸡腿菇别称毛头鬼伞(*Coprinus comotus*),是一种具有营养保健功能的珍稀食用菌,是人工开发的具有商业潜力的珍稀食用菌新品,被誉为“菌中新秀”。鸡腿菇生长周期短,生物转化率较高,易于栽培,具有降血糖、降血脂、提高免疫活性、抗肿瘤、抑菌等一系列生物活性<sup>[1]</sup>,深受消费者欢迎。

近年来,原生质体技术成为了研究菌生理、生化、遗传等基础理论和改良菌种的一种重要方法和有效手段<sup>[2]</sup>。该技术可以实现远缘杂交、扩大遗传物质的重组范围以及基因转化和定向诱变,获得具有突出优良性状的新类型,产生更丰富的遗传变异<sup>[3]</sup>。在国内,食用菌原生质体融合正在广泛地开展,进行原生质体融合,首先必须获得大量有活力的原生质体,因此必须对原生质体的分离和再生条件做深入研究<sup>[4]</sup>。迄今为止,关于鸡腿菇原生质体制备和再生的研究在国内鲜有报道,本研究探索鸡腿菇原生质体制备及再生的较适条件,旨在为鸡腿菇新品种选育及基因工程研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试菌株 鸡腿菇 1 号由中国农业科学院农业资源与农业区划研究所提供,为 ACCC 编号菌株。

收稿日期:2014-06-25

基金项目:河北省现代农业产业技术体系食用菌产业创新团队建设专项资金。

作者简介:卢月霞(1973—),女,河北邯郸人,硕士,讲师,现从事食用菌教学与科研工作。E-mail:275548367@qq.com。

通信作者:郑素月,博士,教授,研究方向为食用菌新品种选育与菌种生产技术。E-mail:zhengsuyue@sina.com。

[28] 范苏鲁,苑兆和,冯立娟,等. 干旱胁迫对大丽花生理生化指标的影响[J]. 应用生态学报,2011,22(3):651-657.

[29] 谢志玉,张文辉,刘新成. 干旱胁迫对文冠果幼苗生长和生理生化特征的影响[J]. 西北植物学报,2010,30(5):948-954.

[30] 孙群,胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌:西北农林科技大学,2006.

[31] 何森,李文鹤,卓丽环. 野菊幼苗对自然干旱胁迫的生理响应

1.1.2 培养基 (1)PDA 综合培养基:马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g,MgSO<sub>4</sub> 0.5g,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g,琼脂 20 g,蒸馏水定容至 1 000 mL。(2)MYG 培养基:麦芽糖 10 g,葡萄糖 4 g,酵母膏 4 g,琼脂 20 g,蒸馏水定容至 1 000 mL。(3)MYG 再生培养基:麦芽糖 10 g,葡萄糖 4 g,酵母膏 4 g,0.6 mol/L 蔗糖,琼脂 20 g,蒸馏水定容至 1 000 mL。

### 1.2 方法

1.2.1 原生质体制备条件研究 将双核菌丝接种于 PDA 平板中,于 25 ℃ 培养 10 d,再将活化菌丝接种于 PDA 液体培养基中,于 25 ℃ 静置培养 6~7 d。取新鲜的鸡腿菇菌丝用无菌滤网过滤,再用无菌蒸馏水于 3 500 r/min 洗涤 5 min,洗涤 2 次。无菌滤纸吸干菌丝水分,分别研究酶解时间、渗稳剂种类、菌丝量、菌龄对原生质体产生量的影响。在优化条件下 30 ℃ 酶解完毕后,采用无菌脱脂棉过滤法过滤除去残留菌丝,滤液于 8 000 r/min 洗涤 10 min,弃上清液、收集沉淀,适量稀释后用血球计数板计数。

1.2.2 原生质体再生研究 原生质体用渗稳剂稀释至  $10^4$  个/mL 左右,取 0.1 mL 涂布于再生培养基上,接种后在恒温箱 25 ℃ 遮光培养,用无菌接种针在显微镜下挑取单个原生质体菌落,转至 PDA 试管斜面上,25 ℃ 再扩大培养 10 d;最后,根据单核菌丝无锁状联合的特点镜检确定挑取的单菌落是否为单核体,舍弃有锁状联合的个体,获取再生菌落,观察计数。再生率=(再生培养基上生长的菌落数-PDA 培养基上生长的菌落数)/接种数×100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 原生质体制备条件研究

2.1.1 渗稳剂种类及酶解时间对原生质体产量的影响 据[J]. 草业科学,2011,28(8):1456-1460.

[32] 张朝阳,许桂芳,向佐湘. 干旱胁迫对 4 种常绿藤本植物抗性生理生化指标的影响[J]. 江西农业学报,2008,20(12):42-45.

[33] 孙国荣,彭永臻,阎秀峰,等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学,2003,39(1):165-167.