

黎 萍,李恒锐,杨海霞,等. 培养条件对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(20):80-83.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.20.017

# 培养条件对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响

黎 萍,李恒锐,杨海霞,梁振华,马仙花,何 文,刘连军

(广西南亚热带农业科学研究所,广西龙州 5324151)

**摘要:**以 GR891 木薯胚性愈伤组织为材料,常规保存(GD 培养基 + 12.0 mg/L 毒莠定 + 20 g/L 蔗糖 + 6.5 g/L 琼脂)培养基为对照(CK),研究处理培养基中添加不同浓度蔗糖(25、30、35、40 g/L)、甘露醇(20、30、40、50 g/L)和多效唑(4.0、6.0、8.0、10.0 mg/L)对木薯胚性愈伤组织保存 40 d 时超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明,在 20 ℃ 条件下,处理组与对照组 SOD、POD、CAT 活性呈先升高后降低的趋势,甘露醇和多效唑处理比蔗糖处理的 3 种保护酶活性高,下降的速度也较缓慢。与对照相比,蔗糖和甘露醇浓度均为 30 g/L 胁迫时,SOD、POD、CAT 活性同时出现峰值,且一直维持较高水平;随着多效唑浓度(4.0 ~ 8.0 mg/L)的升高,SOD、POD、CAT 活性不断升高,多效唑浓度为 8.0 mg/L 时木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性最高。说明将木薯胚性愈伤组织保存在添加蔗糖或甘露醇 30 g/L、多效唑 8.0 mg/L 的常规固体培养基上,可以有效地延长木薯胚性愈伤细胞寿命,延缓保存时细胞的衰老。

**关键词:**木薯;胚性愈伤组织;SOD;POD;CAT;蔗糖;甘露醇;多效唑

**中图分类号:**S533.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)20-0080-04

木薯是世界三大薯类作物(木薯、马铃薯、甘薯)之一<sup>[1]</sup>。传统的田间种植保存易受病虫害、自然灾害及经费短缺等弊端的困扰,这使得大量的木薯资源面临流失的可能。缓慢生

收稿日期:2018-06-21

基金项目:广西科技计划重大专项(编号:桂科 AA16380013);广西科技重点研发计划(编号:桂科 AB16380075)。

作者简介:黎 萍(1966—),女,广西博白人,高级农艺师,主要从事木薯组织培养与栽培技术研究。E-mail:lipinggx1026@163.com。  
通信作者:刘连军,高级农艺师,从事农作物育种与推广研究。E-mail:liulianjun0622@163.com。

长保存法是对木薯胚性愈伤组织进行离体种质保存的重要手段,其易于控制,且便于种质交流,需要时,能随时将保存材料大量繁殖<sup>[2]</sup>。缓慢生长保存是指通过添加渗透剂(蔗糖、甘露醇、山梨醇等)或生长抑制剂(比久、多效唑、烯效唑等)提高培养基的渗透压、改变植物生长培养条件来限制植物生长,使植物组织因缺水而减弱新陈代谢,导致植物的细胞壁酶活性受到抑制,最终实现延缓生长的目的。

细胞内的保护酶系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等。SOD 是清除活性氧反应过程中第 1 个发挥作用的抗氧化酶,且广泛参与植物

[43] 黄瑞君,王兆强,杨 阳,等. 油茶叶肿病变态叶片的形态特征和超微结构观察[J]. 西北植物学报,2017,37(1):8-13.

[44] 贾代顺,卯吉华,陈 福,等. 高原山区油茶茶苞病的发生与防治研究[J]. 西部林业科学,2017,46(5):29-34,51.

[45] 詹祖仁,陈锡桓,郑 宏,等. 福建省油茶病害的发生与预防[J]. 中国林副特产,2012(1):55-57.

[46] 吕康生,黄志平,陆小妹,等. 油茶半边疯的危害分析与控制技术[J]. 广西林业科学,2011,40(3):186-188,242.

[47] 崔之益,李蕊萍,胡加新,等. 油茶炭疽病研究进展[J]. 现代农业科技,2014(12):141-142.

[48] He L, Zhou G Y, Lu L L, et al. Isolation and identification of endophytic bacteria antagonistic to *Camellia oleifera* anthracnose[J]. African Journal of Microbiology Research, 2009, 3(6):315-318.

[49] Liu J A, He L, Zhou G Y. Specific and rapid detection of *Camellia oleifera* anthracnose pathogen by Nested-PCR[J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(6):1056-1061.

[50] 李 河,周国英,徐建平,等. 一种油茶新炭疽病原的多基因系统发育分析鉴定[J]. 植物保护学报,2014,41(5):602-607.

[51] 李 鹰,刘炜龙,简海燕,等. 袁州区油茶病虫害的气候规律、影响及其防治[J]. 吉林农业(学术版),2012(9):102.

[52] 孙 涛,彭丽娟,蒋选利. 油茶茶苞病原菌(细丽外担菌)的生物学特性[J]. 贵州农业科学,2011,39(6):83-84.

[53] 胡淑霞. 茶赤叶斑病的危害与防治[J]. 茶业通报,1993(1):18-19.

[54] 张冬生,林 立,陈 聪,等. 梅州油茶林采果后主要病害及其空间分布[J]. 林业与环境科学,2016,32(3):41-44.

[55] 马英玲,韦春义,林红兵. 油茶幼苗根腐病病原及防效研究[J]. 广东农业科学,2013,40(19):70-71.

[56] 陈韩英. 油茶的主要病害及其防治[J]. 现代农业科技,2011(12):163-164.

[57] Xiao X M, He L M, Chen Y Y, et al. Anti-inflammatory and antioxidative effects of *Camellia oleifera* Abel components[J]. Future Medicinal Chemistry, 2017, 9(17):2069-2079.

[58] Yu J X, Wu Y, He Z, et al. Diversity and antifungal activity of endophytic fungi associated with *Camellia oleifera*[J]. Mycobiology, 2018, 46(2):85-91.

体在各种逆境胁迫下的生理生化反应,对抗衰老和抗干旱都起到积极的作用<sup>[3]</sup>。POD 是广泛存在于植物体内且功能较多的酶类,可清除活性氧,降低活性氧对细胞膜过氧化程度,减少膜脂过氧化,稳定膜系统<sup>[4]</sup>。CAT 是植物体内的保护酶之一<sup>[5]</sup>,CAT 和 POD 能作为愈伤组织生长过程中增殖和衰老的标志酶<sup>[6]</sup>。POD、CAT、SOD 活性的变化与愈伤组织的生长及分化过程密切相关。有关植物胚性愈伤组织离体保存与细胞内保护酶系统活性变化的研究已有报道,黎金燕等的研究表明,培养基中附加 1 种抑制剂(DPI)可以促进尾叶桉胚性愈伤组织的诱导,从而提高 POD、CAT、SOD 等抗氧化酶活性<sup>[7]</sup>。曾丽兰等研究发现,适当浓度的甘露醇和蔗糖,不仅可以有效提高植物细胞活力,而且还可以提高植物胚性愈伤组织中 SOD 活性<sup>[3-8]</sup>。刘怀攀等研究发现,在培养基中添加聚乙二醇(PEG)-6000 和脱落酸(ABA)可以显著提高水生芦苇胚性愈伤组织中的 CAT、POD 活性<sup>[9]</sup>。叶炜等的研究表明,较高浓度的甘露醇处理可使胚性愈伤组织的 SOD 活性升高,考虑延缓衰老,均在培养基中加入 20 g/L 甘露醇以有效提高植物 SOD 活性<sup>[10-12]</sup>。目前,除黎萍等的报道<sup>[8]</sup>外,有关培养基成分与木薯胚性愈伤组织中的抗氧化酶活性之间的联系尚未见报道。为探讨 SOD、POD、CAT 活性与木薯胚性愈伤组织抗衰老之间的关系,研究在不同培养条件下保存 40 d 时木薯胚性愈伤组织中 SOD、POD、CAT 活性的变化,以期寻求一种更适合木薯离体种质的高效长期保存方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 以广西亚热带作物研究所培育的木薯品种 GR891 为试验材料,对木薯嫩枝、侧芽进行水洗、灭菌,然后将其接种到 MS+1.0 mg/L 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)+0.5 mg/L 萘乙酸(NAA)+25.0 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂的固体培养基上,培养 45 d 后获得木薯试管苗。对无菌试管苗的腋芽采用 MS 改良培养基(MS+2 mol/L CuSO<sub>4</sub>+12 mg/L 2,4-二氯苯氧乙酸+20 g/L 蔗糖+6 g/L 琼脂)诱导胚性愈伤组织,然后用常规固体保存培养基(GD 培养基+12.0 mg/L 毒莠定+25.0 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂)进行增殖培养,获得继代胚性愈伤组织。以上培养基 pH 值均为 5.8,培养条件为(20±1)℃,光照度为 1 000~1 200 lx,光照时间为 16~18 h/d。

1.1.2 试验仪器 JJ500 型电子分析天平,购自常熟市双杰测试仪器厂;SW-CJ-1FD 型超净工作台,购自苏净集团苏州安泰空气技术有限公司;YZM-60B 高压灭菌锅,购自广州豪尔生医疗设备有限公司;T6 新世纪紫外分光光度计,购自北京普析通用仪器有限公司;YR11-2A 磁力搅拌器,购自上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;LRH-400-G 光照培养箱,购自韶关市泰宏医疗器械有限公司;CT15RT 型高速冷冻离心机,购自上海天美生化仪器设备工程有限公司。

1.1.3 试剂 愈创木酚,由天津市光复精细化工研究所提供;氮蓝四唑,由合肥博美生物科技有限责任公司进口分装;核黄素,购自天津市大茂化学试剂厂;甲硫氨酸,由合肥博美生物科技有限责任公司进口分装;Na<sub>3</sub>-乙二胺四乙酸(EDTA),购自上海埃彼化学试剂有限公司;KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,购自天

津市大茂化学试剂厂。

### 1.2 试验方法

1.2.1 培养条件对木薯胚性愈伤组织生长保存的影响 在 GD 培养基+12.0 mg/L 毒莠定+6.5 g/L 琼脂固体培养基中分别附加 25、30、35、40 g/L 蔗糖;在常规固体保存培养基上添加不同浓度甘露醇(20、30、40、50 g/L)和不同浓度的多效唑(4.0、6.0、8.0、10.0 mg/L)。选取继代 3~5 代生长良好的颗粒状木薯胚性愈伤,接种在上述培养基中,以不添加任何物质的常规培养基培养为对照(CK),每个处理接 15 皿,每培养皿接入胚性愈伤组织 1 g,均放置在温度为 20℃,光照度为 1 500~2 000 lx,光照时间为 16 h/d 的温室中培养,40 d 后,分别测定 SOD、POD、CAT 活性的变化,每个处理重复 3 次。

#### 1.2.2 测定方法

1.2.2.1 粗酶液的提取 称取愈伤组织材料 0.5 g,加入 7 倍体积 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(含 1% 聚乙烯吡咯烷酮,pH 值 7.0)和少量石英砂,置于冷冻好的研钵中研磨成匀浆,将匀浆液移入离心管中并低温抽提 1 h,然后于 4℃、15 000 r/min 条件下离心 20 min。将上清液移至 5 mL 离心管中低温保存,并记录上清液的体积(V),所得的上清液即为含游离态 SOD、POD、CAT 的粗酶液。

1.2.2.2 SOD 活性测定 SOD 活性测定参考黎萍等的方法<sup>[8]</sup>并略加改进,所需的反应母液为 0.05 mol/L pH 值 7.8 磷酸缓冲液、130 mmol/L 甲硫氨酸(MET)溶液、750 μmol/L 氮蓝四唑溶液、100 μmol/L EDTA-Na<sub>2</sub>溶液、20 μmol/L 核黄素溶液,其中,将 EDTA-Na<sub>2</sub>溶液和核黄素溶液合并在一起配制,当测定 SOD 活性时,将该混合液稀释 100 倍再使用。取 3 只对照管和 1 只样品管,添加一定量上述反应母液(磷酸缓冲液 1.7 mL, MET 溶液 0.3 mL,氮蓝四唑溶液 0.3 mL, EDTA-Na<sub>2</sub>溶液 0.3 mL,核黄素溶液 0.3 mL,酶液 0.1 mL),然后往样品管中添加 2.0 mL 酶液,3 只对照管添加 1.0 mL 提取缓冲液来代替酶液,反应体系的总量为 3.0 mL。将 1 支对照管置于暗处,其余各管置于 4 000 lx 日光灯下反应 30 min,然后立即取出置于暗处终止反应。以避光管作为空白参比调零,分别测定其他各管在 560 nm 处的 D 值。以 1 min、1 g 愈伤组织抑制 NBT 光化还原的 50% 来作为 1 个酶活性单位,用 U/g 表示,3 次重复。

$$\text{SOD 活性} = (D_c - D_t) \times V / (0.5 \times D_c \times V_t \times m)$$

式中: $D_c$  为对照管吸光度; $D_t$  为样品管吸光度; $V$  为样品提取液总体积,mL; $V_t$  为测定时样品用量,mL; $m$  为愈伤组织鲜质量,g。

1.2.2.3 POD 活性测定 过氧化物酶(POD)活性参考朱广廉等的方法<sup>[13]</sup>并略加改进,采用愈创木酚法测定,反应混合液由 50 mL 0.05 mol/L pH 值 6.0 磷酸缓冲液、19 μL 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、28 μL 愈创木酚(原试剂)混合而成,配制时先将磷酸缓冲液与愈创木酚混合加热溶解,冷却后再加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混匀即可。当进行 POD 测定时,先往一个测定管中添加反应混合液 3 mL,以 1 mL 提取缓冲液代替酶液加入到该混合液中,混匀后作为空白对照调零。同样往另一测定管中添加反应混合液 3 mL,加入 1 mL 酶液(事先已将其浓度稀释 10 倍),然后立即开启秒表计时,于 470 nm 条件下测 D 值,每隔 30 s 读 1 次数值,读数 3 min,以 1 min 内 D 值变化作为 1 个 POD 活性

单位,3 次重复。

$POD \text{ 活性} = (D_{470 \text{ nm}} \times V \times K) / (1 \times m \times V_i \times T)$ 。  
式中: $K$  为稀释倍数; $D_{470 \text{ nm}}$  为样品管吸光度; $V$  为样品液总体积,mL; $V_i$  为测定时样品用量,mL; $m$  为愈伤组织鲜质量,g; $T$  为光照反应时间,min。

1.2.2.4 CAT 活性测定 过氧化氢酶(CAT)活性测定参照李玲等的方法<sup>[14]</sup>,酶促反应体系由 2.9 mL 20 mmol/L  $H_2O_2$  溶液和 100  $\mu$ L 酶提取液组成,以蒸馏水为参比空白,在反应 15 s 时开始记录反应体系在波长为 240 nm 处的吸光度,作为初始值,然后每隔 30 s 记录 1 次,连续测定 6 个点数据。以 1 g 木薯胚性愈伤组织(鲜质量)1 min 吸光度变化值减少 0.01 为 1 个 CAT 活性单位,3 次重复。

$CAT \text{ 活性} = \Delta D_{240 \text{ nm}} \times V / (0.01 \times V_s \times m)$ 。  
式中: $\Delta D_{240 \text{ nm}}$  为样品管吸光度变化量; $V$  为样品提取液体积,mL; $V_s$  为测定样品提取液体积,mL; $m$  为愈伤组织鲜质量,g。

1.3 数据处理与分析

采用 Excel 2003 和 SPSS 22.0 软件对数据进行统计处理,采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度蔗糖处理对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响

蔗糖既是植物组织培养中的最主要碳源,也是重要的渗透调节物质<sup>[3]</sup>。由表 1 可知,保存期间蔗糖处理的木薯胚性愈伤组织 SOD、POD、CAT 活性均高于对照组,表现出随着蔗糖处理浓度的升高,SOD、POD、CAT 活性先升高后下降的趋势,活性最高点均出现在蔗糖浓度为 30 g/L 时,此时与其他处理差异显著( $P < 0.05$ );表明在蔗糖渗透胁迫下,较高活性的保护酶系统能够有效地清除木薯胚性愈伤组织内过多的活性氧,维持活性氧产生与清除之间的动态平衡。蔗糖浓度超过 35 g/L 时,SOD、CAT 活性开始缓慢下降,而 POD 活性表现急速下降,说明活性氧的增加远大于正常清除能力,过多的氧自由基使细胞内多种功能膜及酶系统遭到不同程度的破坏,生理代谢紊乱,POD 活性就可能受到抑制而急速下降<sup>[15]</sup>。由此可以看出,适当浓度的蔗糖可以提高木薯胚性愈伤组织的抗氧化酶活性。

表 1 不同浓度蔗糖处理对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响

蔗糖浓度 (g/L)	SOD 活性 (U/g)	POD 活性 [U/(g · min)]	CAT 活性 [U/(g · min)]
CK	73.29 ± 1.25e	58.64 ± 0.34e	53.01 ± 0.29d
25	101.72 ± 1.55c	86.10 ± 0.36c	75.93 ± 0.41b
30	136.59 ± 0.39a	132.12 ± 0.17a	84.71 ± 0.55a
35	109.50 ± 0.42b	120.59 ± 0.55b	75.56 ± 0.30b
40	85.18 ± 0.40d	60.33 ± 0.48d	60.09 ± 0.47c

注:表中所示数据为平均值 ± 标准误;表中同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下表同。

2.2 不同浓度甘露醇处理对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响

甘露醇是活性氧清除剂<sup>[16]</sup>,作为一种重要的多元醇,还

可直接清除 ·OH,抵抗氧化反应<sup>[17]</sup>。由表 2 可以看出,随着甘露醇浓度(0 ~ 30 g/L)的不断升高,木薯胚性愈伤组织中的 SOD、POD、CAT 活性不断升高,其中 20、30 g/L 甘露醇处理与对照差异显著。30 g/L 甘露醇处理的 3 种保护酶活性维持在较高的水平上,SOD、POD、CAT 活性值分别比对照升高 63.27%、56.42%、59.81%,除浓度在 30 ~ 40 g/L 之间 POD 活性差异不显著外,其他各处理之间的 3 种保护酶活性均差异显著,说明胁迫处理下胚性愈伤细胞中 3 种保护酶活性被诱导升高,直到浓度高达 40 g/L 时才开始呈现缓慢下降的趋势,这可能是由于高浓度处理超出了细胞的生理耐受和反应极限,破坏了正常细胞生理活动。由此可见,甘露醇浓度为 30 g/L 时可以有效增强木薯胚性愈伤组织的 SOD、POD、CAT 活性,且 3 种保护酶活性升高与愈伤组织抗衰老密切相关,可作为愈伤组织生长过程中增殖和衰老的标志酶。

表 2 不同浓度甘露醇处理对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响

甘露醇浓度 (g/L)	SOD 活性 (U/g)	POD 活性 [U/(g · min)]	CAT 活性 [U/(g · min)]
CK	121.37 ± 0.62e	100.81 ± 0.90d	70.56 ± 0.61d
20	147.23 ± 0.20c	127.33 ± 0.59b	96.67 ± 0.90b
30	198.16 ± 0.39a	157.69 ± 0.76a	112.76 ± 1.28a
40	177.41 ± 0.46b	156.56 ± 1.00a	95.97 ± 0.96b
50	144.60 ± 0.58d	121.40 ± 1.20c	80.40 ± 0.70c

2.3 不同浓度多效唑处理对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响

多效唑作为高效低毒的植物生长延缓剂,可以延长培养物在试管中的保存时间<sup>[18]</sup>。由表 3 可以看出,木薯胚性愈伤组织在多效唑浓度为 4.0、6.0、8.0、10.0 mg/L 处理下,SOD、POD、CAT 活性显著高于对照,8.0 mg/L 多效唑处理的 3 种保护酶活性维持在较高的水平上,分别比对照升高 63.09%、63.73%、93.20%,SOD、POD、CAT 活性的最高值是愈伤组织生长高峰期到来的标志。3 种保护酶活性随着多效唑浓度的升高呈先升后降的趋势,6.0 mg/L 与 8.0 mg/L 多效唑处理下,木薯胚性愈伤组织中的 SOD、POD 活性差异不显著,8.0 mg/L 多效唑处理的 CAT 活性与其他处理组差异显著,10.0 mg/L 浓度处理下,3 种保护酶活性急速下降,说明培养基添加多效唑在一定程度上使 3 种保护酶活性增强,从而减弱膜脂过氧化作用,有效地延长愈伤组织的继代周期。综合分析认为,生长延缓剂多效唑在木薯胚性愈伤保存中的适宜浓度为 8.0 mg/L。

表 3 不同浓度多效唑处理对木薯胚性愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响

多效唑浓度 (mg/L)	SOD 活性 (U/g)	POD 活性 [U/(g · min)]	CAT 活性 [U/(g · min)]
CK	111.03 ± 1.89d	96.18 ± 0.54d	82.17 ± 1.15e
4.0	133.78 ± 0.55c	121.89 ± 0.65c	102.28 ± 1.32d
6.0	179.56 ± 0.58a	155.70 ± 0.78a	140.12 ± 1.15b
8.0	181.08 ± 0.79a	157.48 ± 0.97a	158.75 ± 0.86a
10.0	160.15 ± 0.16b	128.53 ± 0.36b	118.37 ± 0.63c

### 3 结论与讨论

SOD、POD、CAT 是抗氧化酶系统中控制植物体内活性氧积累的最主要的 3 种保护酶,其活性变化与衰老密切相关。抗氧化酶活性的提高有利于减缓愈伤组织中活性氧对细胞的氧化损害,减缓其细胞膜质过氧化并抑制褐化<sup>[19]</sup>。POD 是广泛存在于各种动物、植物和微生物体内的一类氧化酶,其与 SOD 共同作用能减轻或消除氧自由基对植物生长发育的不良影响<sup>[20]</sup>。CAT 广泛存在于植物体内,其活性与植物体的成熟衰老关系非常密切<sup>[21]</sup>。本试验结果表明,在常规固体保存培养基(GD 培养基+12.0 mg/L 毒莠定+6.5 g/L 琼脂)上附加蔗糖 30 g/L、甘露醇 30 g/L、多效唑 8.0 mg/L 时,木薯胚性愈伤组织的 3 种保护酶活性均有一定幅度的增强,可在一定程度上延缓解木薯胚性愈伤细胞的衰老,有效地延长愈伤组织的继代周期,进而达到延长保存时间的目的,是一种对木薯种质资源离体保存的方法。

蔗糖是植物组织培养中不可缺少的碳源和能源,同时还起着调节渗透压的重要作用<sup>[22]</sup>。本试验结果表明,经蔗糖处理保存的木薯愈伤组织的 SOD、POD、CAT 活性比常规保存的对照处理高,在 30 g/L 蔗糖浓度胁迫下,3 种保护酶活性一直维持在较高的水平上,主要原因是添加蔗糖后,培养基碳源充足,细胞生命活动旺盛,过快的生理反应使活性氧的产生较多,高浓度(35~40 g/L)蔗糖胁迫下呈下降趋势,不利于木薯胚性愈伤离体保存。

在植物离体保存研究中,常利用甘露醇来延缓细胞衰老,以达到延长继代时间的目的。甘露醇在植物组织培养中是一种调节渗透压的添加剂,通过给植物造成“饥饿”的作用,延缓植物代谢速率,达到延缓衰老的目的,在多种植物的保存试验中均取得了很好的效果<sup>[23-25]</sup>。不同植物培养物保存所需要渗透压并不相同,本试验研究得出,30 g/L 甘露醇能将木薯胚性组织的 3 种保护酶活性维持在较高水平。

离体保存成功的关键因素之一是使用合适的植物生长抑制剂。多效唑(PP<sub>333</sub>)是一种生长延缓剂,对植物的营养生长有较强的抑制作用,在荔枝胚性愈伤组织保存试验中取得较好效果<sup>[26]</sup>。本试验结果表明,在常规保存培养基中添加不同浓度的生长抑制剂多效唑,对木薯胚性愈伤组织保存试验中 3 种保护酶活性影响差异较大,其中 8.0 mg/L 多效唑处理显著高于对照,3 种保护酶活性一直维持较高水平,说明能延缓细胞衰老,延长继代时间。综合试验结果,8.0 mg/L 多效唑处理较适合木薯愈伤组织中离体保存。

### 参考文献:

- [1] 沈光. 广西木薯产业的发展前景与对策[J]. 热带农业科学, 2001, 90(2): 24-27, 39.
- [2] 徐志微, 杨丽丽, 杜国强, 等. 培养基渗透压和生长调节剂对葡萄种质离体保存的效应[J]. 分子植物育种, 2014, 12(4): 720-725.
- [3] 曾丽兰, 林玉玲, 王亚婷, 等. 渗透胁迫对龙眼胚性愈伤组织 SOD 活性的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2014, 43(1): 14-19.

- [4] 岑忠用. 3 种抗氧化剂对岩黄连愈伤组织细胞活力与抗氧化酶活性的影响[J]. 现代农业科技, 2015(15): 75-76, 78.
- [5] 刘敏燕, 沙月娥, 欧阳乐军, 等. 尾巨桉愈伤组织蛋白质含量和氧化酶活性比较[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(11): 2581-2583, 2587.
- [6] 林小苹, 赖钟雄, 黄浅. 不同光质对龙眼胚性愈伤组织生长和细胞膜保护酶活性的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2008, 37(3): 253-256.
- [7] 黎金燕, 王春晖, 黄俊文, 等. DPI 对尾叶桉愈伤组织诱导和抗氧化酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(11): 2153-2156.
- [8] 黎萍, 彭靖茹, 黄秋伟, 等. 培养条件对木薯胚性愈伤组织 SOD 活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(8): 2009-2012.
- [9] 刘怀攀, 陈龙, 张承烈, 等. 渗透胁迫和外源 ABA 对芦苇愈伤组织中 3 种保护酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(1): 27-29.
- [10] 叶炜. 福建龙眼种质资源离体保存初步研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2006.
- [11] 林秀莲. 龙眼胚性愈伤组织限制生长保存及其生理与遗传机理的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2009.
- [12] 王梓清, 刘爱萍, 王家福. 培养条件对荔枝胚性愈伤组织保存中生理指标的影响[J]. 福建果树, 2008, 145(2): 12-15.
- [13] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990.
- [14] 李玲, 李娘辉, 蒋素梅, 等. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [15] 史雨刚, 吴治国, 马金虎. 不同浓度 NaCl 胁迫对高粱幼苗 SOD、POD 酶活性的影响[J]. 山西农业科学, 2007, 35(12): 71-73.
- [16] 陈文利, 徐朗莱, 沈文飏, 等. 盐胁迫下两品种大麦叶片 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 累积及其清除酶活性的变化[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2): 97-100.
- [17] Shen B, Jensen R G, Bohnert H J. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals[J]. Plant Physiology, 1997, 115(2): 527-532.
- [18] 郭勇, 崔堂兵, 谢秀祯. 植物细胞培养技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 194-203.
- [19] 苏江, 岑忠用, 奉艳兰, 等. 抗坏血酸对岩黄连愈伤组织褐化及抗氧化酶活性的影响[J]. 北方园艺, 2015(20): 138-142.
- [20] 覃鹏, 刘叶菊, 刘飞虎. 干旱处理对烟草叶片 SOD 和 POD 活性的影响[J]. 中国烟草科学, 2005, 26(2): 28-30.
- [21] 马凌云, 赵亮. 噻菌酯处理对厚皮甜瓜 POD 和 CAT 活性的影响[J]. 食品科技, 2008, 33(11): 64-66.
- [22] 刘艺平, 王政, 牛佳佳, 等. 不同糖源及蔗糖质量浓度对牡丹愈伤组织褐化的影响[J]. 河南农业科学, 2013, 42(3): 103-106.
- [23] 王爱华, 文晓鹏. 半夏缓慢生长法保存及体细胞变异的 ISSR 检测[J]. 西北植物学报, 2012, 32(8): 1698-1703.
- [24] 韦坤华, 李林轩, 缪剑华, 等. 姜种质资源离体保存技术研究[J]. 北方园艺, 2013(8): 112-116.
- [25] 付传明, 黄宁珍, 赵志国, 等. 广西地不容种质离体保存技术研究[J]. 广西科学, 2007, 14(2): 155-159.
- [26] 王梓清, 刘爱萍, 胡晓媛, 等. 荔枝胚性愈伤组织诱导和离体保存条件的筛选[J]. 植物资源与环境学报, 2009, 18(1): 80-86.