

方伟敏,弓淑桦,何卜卜,等. NaCl 胁迫对宁夏枸杞组培苗抗氧化酶及相关基因表达模式的影响[J]. 江苏农业科学,2021,49(7):57-62.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.07.009

NaCl 胁迫对宁夏枸杞组培苗抗氧化酶及相关基因表达模式的影响

方伟敏,弓淑桦,何卜卜,田世彪,赵会君

(北方民族大学生物科学与工程学院国家民委生态系统建模及应用重点实验室,宁夏银川 750021)

摘要:以枸杞 1 号无菌实生苗的叶片、下胚轴以及茎尖生长点组织为材料,以 MS 为基础培养基,设置不同的激素浓度比例,诱导不同外植体产生丛生芽并完成形态建成。采用水培处理方式,分别设置 0、100、200 mmol/L NaCl 胁迫梯度,于处理后 1、2、3 d 分别测定地上部超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性,利用实时荧光定量 PCR 技术检测 *APX*、*Cu/Zn-SOD*、*GST*、*Fe-SOD* 基因的表达变化模式。结果表明,MS + 1.0 mg/L 6-苄氨基嘌呤(6-BA) + 0.2 mg/L 萘乙酸(NAA)的培养基能快速诱导顶端组织及叶片组织中丛生芽的生长,而茎段呈现愈伤化和玻璃化情况,丛生芽在 MS 培养基上能完成生根,形态建成良好。盐胁迫下的叶片中保持着较高浓度的 POD 酶活性,而 CAT 活性却被抑制,与抗氧化胁迫相关的 *SOD*、*GST* 以及 *APX* 基因在盐胁迫下表达倍数显著性增加,而 *Fe-SOD* 酶基因却显著性被抑制,本研究为宁夏枸杞组培快繁体系的建立,组培苗抗盐机制提供了理论支持。

关键词:宁夏枸杞;组织培养;盐胁迫;抗氧化酶;实时荧光定量

中图分类号: S567.1⁺90.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)07-0057-05

宁夏枸杞是宁夏回族自治区特色资源植物,宁夏枸杞中富含枸杞多糖、黄酮、多酚等多种成分,因此是药食同源性功能保健食品,具有极高的经济价值和药用价值^[1-4]。由于宁夏枸杞分布广泛,对盐碱、干旱、冷冻等环境胁迫具有极强的耐受性,在河北省沿海盐碱地、新疆自治区、甘肃省等土壤贫瘠之地也得到了大面积引种种植,也是典型的植被恢复树种和经济树种^[5]。

在植物抗逆机制中,抗氧化酶系统及其关键基因起到重要作用^[6],超氧化物歧化酶(SOD)一般可以分为 *Cu/Zn-SOD*、*Fe-SOD* 和 *Mn-SOD* 3 种,其关键基因 *Fe-SOD*、*Mn-SOD*、*Cu/Zn-SOD* 的高效表达,是保持 SOD 酶活性的主要因素,*SOD* 酶基因能够受重金属、盐碱以及干旱等逆境环境的诱导而高效表达^[7]。过氧化物酶(POD)主要是在植物受到迫害产生过氧化物时具有防御性的一种酶,细

胞壁为首先受到重金属胁迫的部位,POD 酶作为可以调节细胞壁代谢的一种酶,可以减轻植株受迫害的程度,同时,POD 酶还参与细胞壁木质素形成和细胞凋亡等生理活动^[8-10]。过氧化氢酶(CAT)是一种金属合成酶,其主要作用是使过氧化氢分解成氧和水,CAT 也参与了植物对逆境胁迫的响应^[11]。

由于宁夏枸杞是异花授粉,遗传背景复杂,自然环境中野生群体之间的抗逆差异较大,甚至现有栽培品种之间的抗逆能力也有很大差别^[12],而关于宁夏枸杞单一遗传背景下组培苗的抗逆研究报道较少,在短期内要获得大量遗传背景单一的群体,须要建立宁夏枸杞的快繁体系,已有很多关于宁夏枸杞组培体系的报道^[13-14],但是通过愈伤诱导的方法会产生大量的玻璃化苗,并且试验周期太长。本试验以无菌枸杞实生苗为材料,以不同的组织为外植体,拟建立、优化无菌枸杞苗的组织培养快速繁殖体系,降低枸杞苗外植体褐化死亡率,降低枸杞外植体玻璃化率,缩短培养周期,通过对遗传背景单一稳定的组培苗的耐盐能力的研究,能够更加准确地揭示枸杞的抗盐机制,以期为宁夏枸杞组织培养快繁体系的建立和组培苗的盐碱地生长提供理论依据。

收稿日期:2020-08-27

基金项目:北方民族大学国家级大学生创新项目(编号:201811407015);宁夏自然科学基金(编号:2019A0040)。

作者简介:方伟敏(1997—),男,福建漳州人,研究方向葡萄与葡萄酒酿造。E-mail:fangweimin0505@sina.cn。

通信作者:赵会君,博士,讲师,研究方向为植物抗逆生物学。E-mail:zhaohuijun1022@163.com。

1 材料与方法

1.1 材料种植

所有试验都于北方民族大学生物科学与工程分子生物学实验室进行。宁杞 1 号成熟饱满的种子经蒸馏水冲洗干净后,于超净台中经 10% 次氯酸钠溶液消毒 8 min 后,用无菌水冲洗 2 ~ 3 遍,然后接种到 1/2 MS 培养基上,在 25 ℃ 培养箱中培养,待培养 20 d 左右时,茎尖和叶片组织接种于不同激素比例的诱导培养基上,用于愈伤及不定芽的诱导和遗传转化。

1.2 宁夏枸杞组培快繁体系的建立

将枸杞叶片及顶端生长点剪下(叶片经手术刀划伤)后接种于 8 种添加了不同激素的 MS 固体培养基中(pH 值为 6.0),激素配比见表 1,每个处理重复 5 次,每个培养瓶中接种外植体 20 个,培养条件:温度为 25 ℃,湿度为 40%,光照 12 h/d。每 15 d 继代 1 次,并记录愈伤及不定芽生长情况,统计玻璃化率。

表 1 不同激素浓度配比及外植体接种种类

处理	激素浓度配比	接种外植体种类
M1	0.4 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴
M2	0.4 mg/L 6 - BA + 0.7 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴
M3	0.4 mg/L 6 - BA + 1.0 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴
M4	0.5 mg/L 6 - BA + 0.7 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴
M5	0.5 mg/L 6 - BA + 1.0 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴
M6	0.7 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴
M7	1.0 mg/L 6 - BA + 0.2 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴
M8	1.0 mg/L 6 - BA + 0.4 mg/L NAA	茎尖生长点,叶片,下胚轴

1.3 组培苗的生根

选取生长健康的不定芽为生根外植体,配制不同激素比例的生根培养基进行生根培养,激素配比主要为 1/2 MS + 0.2 mg/L NAA (萘乙酸) + 0.6 mg/L IBA (3 - 吲哚丁酸)、1/2 MS + 0.2 mg/L NAA + 0.2 mg/L IBA、1/2 MS + 0.4 mg/L NAA + 0.6 mg/L IBA 以及 MS 培养基,20 d 后观察生根情况。

1.4 组培苗的水培及处理

选取在 MS 培养基中生根的组培苗,移栽在 1/2 Hogland (霍格兰) 营养液中培养 1 周,换在全 Hogland 营养液中培养至 10 cm 高时用于抗氧化酶 SOD、POD、CAT 活性的测定及实时荧光定量 PCR 检测。

1.4.1 枸杞苗叶片中 SOD、POD、CAT 酶活性的测定 选取长势均匀一致的水培枸杞苗,在 Hogland 营养液中分别设置 3 种不同浓度梯度的 NaCl (0、100、200 mmol/L),每个处理重复 3 次,于处理 24、48、72 h 后取样,分别称取每个处理的新鲜成熟叶片各 0.5 g 于研钵中,加 5 mL 酶提取液在冰浴中研磨均浆,于 4 ℃ 12 000 r/min 离心 20 min,吸取上清液即为酶粗提液。超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 的活性测定参考代其林等的方法^[15-16],每个处理重复 3 次,相关数据用软件计算方差和平均值。

1.4.2 枸杞苗的 RNA 提取及 cDNA 合成 选取长势均一的水培苗,经 200 mmol/L 氯化钠处理,于处理后 0、2、12、24、48 h 分别取新鲜叶片于液氮速冻,利用 Invitrogen trizol 试剂按照试剂盒说明书操作步骤提取总 RNA 并检测完整性,取 1 μg 总 RNA 经脱氧核糖核酸酶处理后用 M - MLV 逆转录酶 (美国英杰生命技术有限公司) 合成 cDNA。

1.4.3 实时荧光定量 PCR 检测目的基因的表达 根据实验室已经建立的宁夏枸杞转录组数据库里的表达序列标签 (EST) 序列,筛选了 *Cu/Zn - SOD*、*Fe - SOD*、*APX*、*GST* 等与抗氧化胁迫相关的基因,利用 Primer Express 3.0 软件设计实时荧光定量 PCR 引物,采用美国 MX3000p™ qPCR 实时荧光定量 PCR 仪,以宁夏枸杞的 *β - actin* 基因作为内参基因^[17],SYBR Green realtime PCR Master mix [东洋纺 (上海) 生物科技有限公司] 为荧光染料,模板采用稀释 20 倍的 cDNA,重复 3 次,总反应体系为 20 μL,反应条件为 95 ℃ 10 min; 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 45 个循环。PCR 结束后进行溶解曲线分析,所需引物序列见表 2。

表 2 实时荧光定量 PCR 所用引物

基因	引物 (5' → 3')	注释
<i>Cu/Zn - SOD</i>	F: GAAGGGTGTGCTGTTCTTAAGG, R: ATGAAGTCCAGGACTAAGTCCAGTTAAA	Cu/Zn - SOD 超氧化物歧化酶
<i>GST</i>	F: AATCAATCACAACACCCAATAAACTC, R: TCATATGGCAGGTGCTTTTCC	谷胱甘肽 S - 转移酶
<i>Fe - SOD</i>	F: CCATGGACGAACCTATCAAAGTAACA, R: TGGATTCCCAGAAGAAATCATGA	超氧化物歧化酶
<i>APX</i>	F: GTTGCCATCAGACAAGGCTCTACT, R: TTCATCCGCAGCATATTTCTCA	过氧化物酶

2 结果与分析

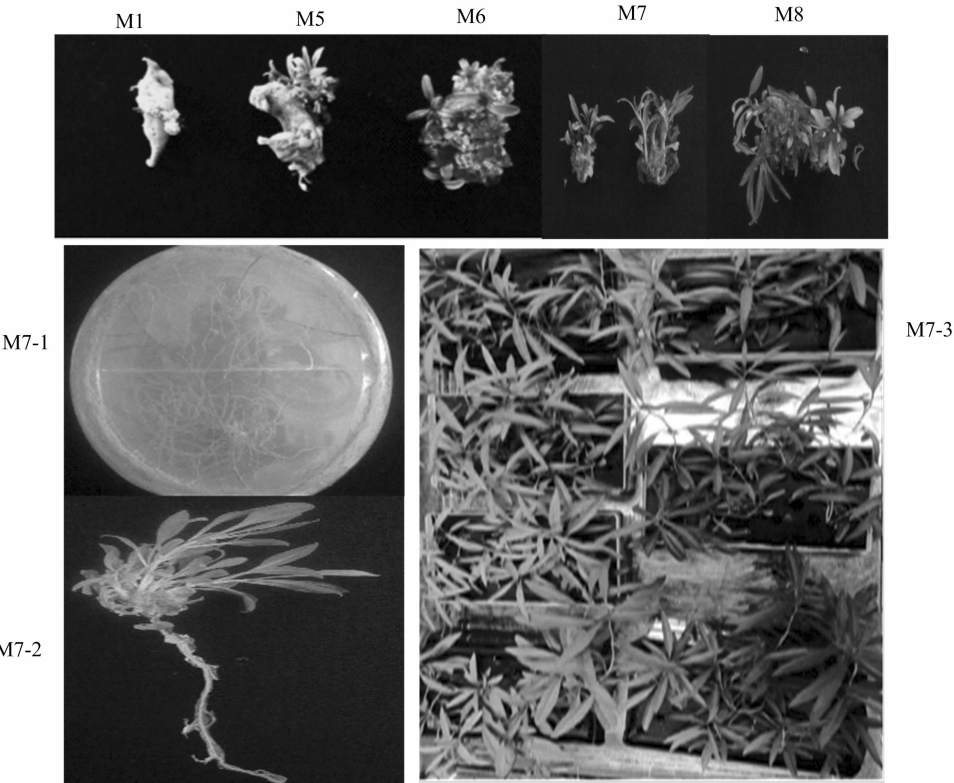
2.1 不同激素浓度处理对宁夏枸杞茎尖、下胚轴、叶片组织不定芽的诱导

由表 3 可知,宁杞 1 号的茎尖及叶片在不同激素浓度上的生长变化情况,经过 30 d 诱导,茎尖在激素浓度为 M7(1.0 mg/L 6BA + 0.2 mg/L NAA)培

养基中丛生芽芽点生长较多而几乎没有明显的玻璃化情况,适合用于宁杞 1 号茎尖外植体不定芽的诱导,而叶片在 M8 (1.0 mg/L 6BA + 0.4 mg/L NAA)培养基上经过诱导后产生的不定芽生长最好,无明显玻璃化,因此 M8 培养基可用于诱导叶片不定芽的形成。诱导的不定芽在 MS 培养基上就能快速完成生根,水培苗长势健康正常(图 1)。

表 3 不同外植体生长变化统计

处理	叶片生长状态	茎尖生长状态	下胚轴生长状态
M1	愈伤化,翠绿	呈愈伤化,玻璃化	愈伤化,发白,紧密
M2	愈伤化,翠绿	轻度玻璃化	愈伤化,发白
M3	愈伤化,翠绿	芽点密集,轻度玻璃化	愈伤化,发白
M4	愈伤化,愈伤翠绿	芽点密集,玻璃化	愈伤化,翠绿
M5	愈伤化,愈伤浅绿色	玻璃化严重	愈伤化,翠绿,玻璃化严重
M6	愈伤化,愈伤浅绿色	玻璃化严重	愈伤化,翠绿,玻璃化严重
M7	叶片膨大发白,不定芽生长缓慢,生长正常	芽点密集,丛生芽较多,无明显玻璃化	有不定芽产生,无明显玻璃化
M8	轻微愈伤化,丛生芽多,生长正常	芽点密集,部分轻度玻璃化	有不定芽产生,部分轻微玻璃化



M1、M5、M6、M8—诱导叶片不定芽的生长情况; M7-1—M7 诱导的不定芽在 MS 培养基上生根情况; M7-2—M7 诱导的不定芽在 MS 培养基上形态建成情况; M7-3—生根苗移栽在霍格兰培养基上的生长情况

图1 不同激素下茎尖及叶片不定芽的诱导情况及生根

2.2 不定芽的快繁及生根

挑选 5 株丛生芽长势较好的外植体,将其丛生芽独立分开,分别进行继代培养,2 周继代 1 次,继代 3 次后统计丛生芽数,统计结果见表 4。经过 2

次继代后快繁群体迅速增加,且快繁出的植株长势良好,玻璃化率极低,因此,本试验所建立的快繁体系达到预期效果。将不定芽移栽在 MS 培养基上,经过 20 d 的生根培养,不定芽完成了完整的形态建成,根

系生长良好,移栽在 Hogland 营养液中生长正常。

表 4 快繁体系的建立

繁殖代数 (代)	丛生芽数(株)					丛生芽 总数(株)
	第 1 株	第 2 株	第 3 株	第 4 株	第 5 株	
1	1	1	1	1	1	5
2	4	3	6	4	5	22
3	28	19	48	23	26	144
玻璃化率(%)	2	5	2	2	4	3

2.3 不同浓度的 NaCl 胁迫对叶片 SOD、POD、CAT 抗氧化酶活性的影响

组培苗在 100、200 mmol/L NaCl 处理下的叶片组织中的 CAT、POD 及 SOD 酶活性见图 2。与 CK 相比,在不同浓度的 NaCl 胁迫下,CAT 酶活性在 100 mmol/L NaCl 处理 1 d 后显著性增加,随着胁迫时间延长而下降,而 POD 酶活性在胁迫 3 d 后达到显著或极显著水平,SOD 酶活性在 200 mmol/L 的 NaCl 处理 1 d 和 2 d 后呈下降趋势,但是在胁迫 3 d 后增加,但没达到显著水平。

2.4 不同浓度的 NaCl 胁迫对相关基因表达的影响

对 4 个与抗氧化胁迫相关的基因进行实时荧光定量 PCR 分析,结果见图 3。与对照相比,APX 基因在胁迫后 48 h 表达量显著性增加,是对照的 4.6 倍;Cu/Zn-SOD 基因在处理 24 h 显著增加,是对照的 1.95 倍,Fe-SOD 基因的表达在处理 12 h 就已开始显著被抑制,随着时间延长,在 48 h 时极显著降低,是对照的 0.18 倍,而 GST 基因随着胁迫时间延长,表达倍数在 24 h 达到了最高,是对照的 6.28 倍,4 个基因对盐碱胁迫进行了积极响应。

3 结论与讨论

宁夏枸杞优良的抗逆性机制目前仍然是研究的重点之一^[5],目前枸杞主要以扦插的方式进行繁殖育种,而扦插受到自然环境等外界因素的影响。通过建立稳定优良的快繁体系,不仅可以保留枸杞原有的优良性状,也可以在短期内获得大量遗传背景单一的无性系,为后期的基础理论研究和育种提供理论和技术支持。

本研究选择宁杞 1 号无菌实生苗的茎尖和叶片为试验材料,以 MS 培养基为基本培养基,利用不同浓度配比的激素进行不定芽的诱导,筛选出不同外植体组织培养快速繁殖过程中适宜的培养基和激素浓度配比,确定了 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L

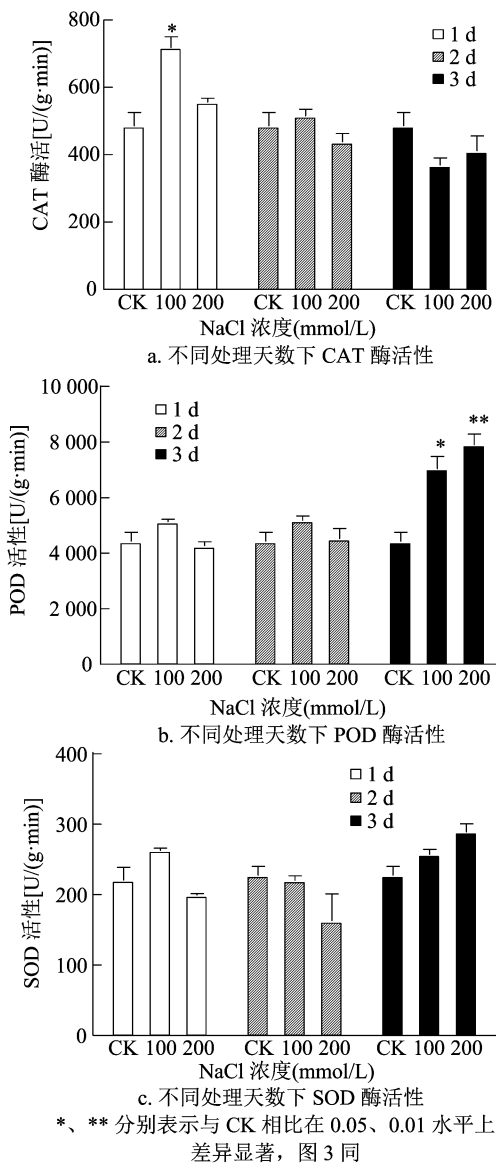


图2 不同浓度的 NaCl 处理下 CAT、POD 以及 SOD 酶活性

NAA 为茎尖生长点不定芽诱导的最佳培养基浓度, MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.4 mg/L NAA 为叶片不定芽诱导的最佳培养基,叶片或茎尖可以不通过愈伤再分化途径就可以培养产生不定芽,并进一步筛选到了最适不定芽增殖的培养基,大大地降低了玻璃化率,缩短了组培时间,不定芽最后经 MS 培养基培养就可以快速生根。

经过对这些遗传背景单一的组培苗进行盐碱胁迫,发现 POD 酶活性在叶片中存在极显著增加,表明 POD 在植物响应盐碱胁迫、清除过氧化物质的过程中起重要的作用,而 CAT 酶活性在叶片中随着时间延长都呈下降趋势,众多研究发现,随着盐碱浓度的增加和胁迫时间的延长,CAT 酶活性呈现先上升后下降趋势^[18],高盐浓度显著抑制了 CAT 酶

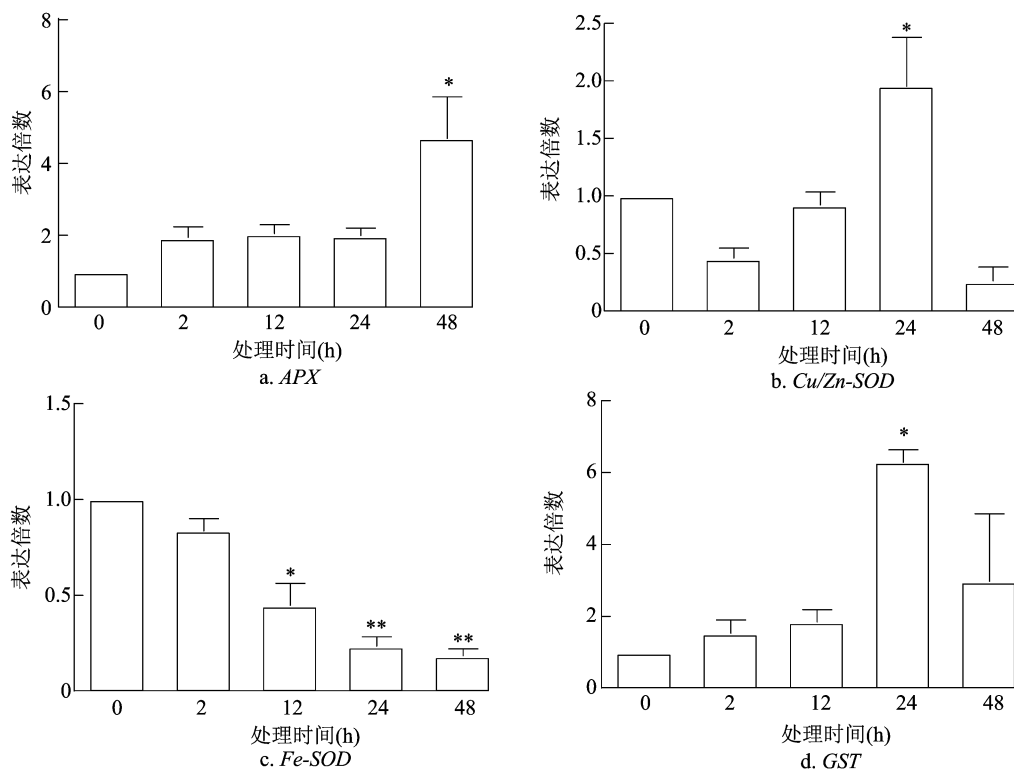


图3 4个抗氧化相关基因在200 mmol/L的氯化钠胁迫下的表达模式

活性^[9]。沈金玲等研究结果表明,盐胁迫下部分CAT酶基因的表达倍数降低^[19],因此推测,可能由于盐胁迫降低了CAT酶基因的表达倍数,从而影响了CAT酶的整体活性,这有待于后期继续研究;通过对SOD酶的2个基因的表达模式进行研究发现,Cu/Zn-SOD在胁迫后24 h显著性增加,而Fe-SOD基因却呈现被极显著抑制的趋势,这可能是导致SOD酶活性不高的主要原因之一。有研究表明,谷胱甘肽转移酶参与了植物对多种逆境胁迫的响应^[20],刘明坤通过将GST基因转入烟草中,显著提高了转基因烟草的耐盐性,GST和APX基因表达倍数极显著增加,暗示该基因能积极响应盐胁迫,可能在枸杞耐受盐碱胁迫中起到重要作用^[21]。

参考文献:

- [1] 马琳,马然,王艺,等. 枸杞多糖对小鼠海马神经元细胞系缺糖缺氧再灌注损伤的影响[J]. 中国新药杂志,2018,27(10): 1172-1175.
- [2] Wang Y, Bai F, Luo Q, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides grafted with doxorubicin: an efficient pH-responsive anticancer drug delivery system [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 121: 964-970.
- [3] Bakr S A, Siew M K, Salihin B A. The effects of *Lycium barbarum* water extract and fish collagen on milk proteolysis and *in vitro* angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of yogurt [J].

Biotechnology and Applied Biochemistry, 2020.

- [4] 李永盛,王茂鹤,刘建飞,等. 枸杞多糖对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(4): 549-556.
- [5] 刘艳,姚延椿. 种植枸杞对晋北重度盐碱地的改良作用[J]. 山西林业科技, 2015, 44(3): 16-19.
- [6] Zhao J H, Li H X, Zhang C Z, et al. Physiological response of four wolfberry (*Lycium* Linn.) species under drought stress [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(3): 603-612.
- [7] Arora D, Bhatla S C. Melatonin and nitric oxide regulate sunflower seedling growth under salt stress accompanying differential expression of Cu/Zn SOD and Mn SOD [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2017, 106: 315-328.
- [8] 刘尊英. 绿芦笋(*Asparagus officinalis* L.)木质化的生理生化基础及其调控技术研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
- [9] Baniyasdi F, Saffari V R, Moud A A M. Physiological and growth responses of *Calendula officinalis* L. plants to the interaction effects of polyamines and salt stress [J]. Scientia Horticulturae, 2018, 234: 312-317.
- [10] 张晶. 盐碱胁迫对8种冬青生长生理的影响[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019.
- [11] Boojar M M A, Goodarzi F. The copper tolerance strategies and the role of antioxidative enzymes in three plant species grown on copper mine [J]. Chemosphere, 2007, 67(11): 2138-2147.
- [12] 仲怡铭,王三英,张广忠,等. 10个枸杞品种在盐碱地上的栽培特性研究[J]. 经济林研究, 2017, 35(4): 202-206.
- [13] 唐晓杰,孙萍,马德宝. 枸杞组织培养快速繁殖技术[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2011, 12(2): 204-207.

张雪如,王稳利,邱宗波,等. 高山松 miR171a 及其靶基因的鉴定与表达分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(7):62–66.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2021.07.010

高山松 miR171a 及其靶基因的鉴定与表达分析

张雪如^{1,2}, 王稳利^{1,2}, 邱宗波^{1,2}, 曾倩倩^{1,2}

(1. 河南师范大学生命科学学院,河南新乡 453007; 2. 河南省农业微生物生态与技术国际联合实验室/河南师范大学,河南新乡 453007)

摘要:以裸子植物高山松为试验材料,利用笔者所在实验室前期构建的高山松 miRNA 数据,通过生物信息学方法筛选与高山松生长发育相关的 miR171a,并通过基于 RNA 连接酶的 cDNA 末端快速扩增法(RLM-5'RACE)验证得出,GRAS 家族转录因子(Unigene10015)和肌动蛋白结合蛋白(Unigene83401)的基因为高山松 miR171a 的靶基因。通过 PCR 技术克隆得到的高山松 miR171a 前体序列可形成茎环发夹结构,但其成熟序列的碱基保守性较差。系统进化分析显示,pde-miR171a 与裸子植物火炬松的进化关系较近。经 qRT-PCR 分析发现,pde-miR171a 在高山松茎中的相对表达量最高,其次是在针叶中,而靶基因 *Unigene10015* 在茎、针叶中的相对表达量较低,暗示 pde-miR171a 可以通过调控靶基因 *Unigene10015* 而参与高山松的生长发育。

关键词:高山松;miR171;靶基因;荧光定量 PCR

中图分类号: S718.46 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2021)07–0062–05

microRNA(miRNA)是一类由 21~24 个核苷酸组成的内源性单链小 RNA,主要是在转录后水平介导靶 mRNA 的降解或翻译抑制来调控基因表达^[1]。自研究者从秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中发现第 1 个 miRNA 以来,miRNA 一直是研究的热点^[2]。近年来,越来越多的研究发现,miRNAs 在高山松(*Pinus densata*)的生长发育^[3]、杉木种子的萌发^[4]及落叶松体胚的生长发育和形态建成等方面起着重要的调控作用^[5]。

miR171 是在植物中最早发现的 miRNAs 家族成员之一^[6],在拟南芥中有 3 个 miRNA 成员,分别是 ath-miR171a、ath-miR171b 和 ath-miR171c^[7]。通过基于 RNA 连接酶的 cDNA 末端快速扩增(RNA ligase-mediated 5' rapid amplification of cDNA ends,简称 RLM-5'RACE)试验,研究者发现水稻中的 miR171 能介导靶基因 *OsHAM*(GRAS 家族转录因子)mRNA 的剪切降解,从而促进水稻营养生长向生殖生长的过渡及根尖分生组织稳态的形成^[8]。杨树 miR171 通过调控 GRAS 转录因子而参与杨树的生长发育和光形态建成的调控^[9]。张力等研究发现,烟草 miR171c 通过负调控 SCL 靶基因 *TC134811*、*TC127385*,使植物出现顶端优势丧失和茎秆增多等表型^[10]。尽管目前关于 miR171 在多个植物中功能的研究较多,但目前在裸子植物高山松中,miR171 的鉴定及其在高山松生长发育过程

收稿日期:2020–08–05

基金项目:国家自然科学基金(编号:31500499);河南省高校科技创新人才项目(编号:16HASTIT019)。

作者简介:张雪如(1996—),女,河南洛阳人,硕士研究生,主要从事植物发育生物学方面的研究。E-mail:1365655297@qq.com。

通信作者:邱宗波,博士,教授,主要从事植物分子生物学方面的研究。E-mail:qizongbo@126.com。

[14]郑国琴,柳金凤. 宁夏枸杞叶片组培快繁技术研究[J]. 北方园艺,2012(1):122–124.

[15]代其林. 水杨酸对低温下水稻幼苗生理生化特性的影响[D]. 成都:四川大学,2004.

[16]吴倩. CAT 调控水稻叶片光呼吸过程中抗氧化系统的机理研究[D]. 扬州:扬州大学,2013.

[17]Sun H P, Li F, Ruan Q M, et al. Identification and validation of reference genes for quantitative real-time PCR studies in *Hedera helix* L. [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 108: 286–294.

[18]缪珊,夏振平,李志强. NaCl 胁迫对 3 种狼尾草生长及生理

特性的影响[J]. 黑龙江农业科学,2019(6):132–136.

[19]沈金玲,钟镇芬,黄永健,等. 盐胁迫对桉树(*Eucalyptus*)活性氧代谢和 CAT 基因表达的影响[J]. 分子植物育种,2020,18(5):1661–1665.

[20]Zhang Y Y, Liu J H. Transgenic alfalfa plants co-expressing glutathione S-transferase (GST) and human CYP2E1 show enhanced resistance to mixed contaminants of heavy metals and organic pollutants [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 189(1):357–362.

[21]刘明坤. 西伯利亚藜 GST 和 CS 基因双价载体构建及转酵母和烟草研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2009.