昆明学院学报　2016, 38(6):81~84　ISSN 1674-5639　CN 53-1211/G4
Journal of Kunming University

盐胁迫下工业大麻苗期生理生化特性的研究

程　霞[1],苏　源[1],窦玉敏[1],周丽娟[1],邓　纲[2*]
(1. 昆明学院 生命科学与技术系,云南 昆明 650214;2. 云南大学 农学院,云南 昆明 650091)

摘要:土地盐碱化是限制农作物生长的重要因素,工业大麻具有较强的抗逆性和适应性. 研究以"巴马火麻"为试验材料,幼苗期进行盐胁迫处理,通过测定和分析盐胁迫下不同时间叶片 SOD、可溶性蛋白及可溶性糖含量的变化,探讨盐胁迫对工业大麻生理生化的影响. 结果表明:盐胁迫下工业大麻叶片 SOD 活性持续增高,第 6 d 达最大值;可溶性糖含量在各个胁迫时期与对照差异无统计学意义;可溶性蛋白含量则先增加后降低,第 4 d 达最大值.

关键词:工业大麻;超氧化物歧化酶;可溶性蛋白;可溶性糖
中图分类号:S563.3　**文献标识码**:A　**文章编号**:1674-5639(2016)06-0081-04
DOI:10.14091/j.cnki.kmxyxb.2016.06.018

Research on the Physiological and Biochemical Features of Industrial Hemp under Salt Stress

CHENG Xia[1], SU Yuan[1], DOU Yuming[1], ZHOU Lijuan[1], Deng Gang[2*]
(1. Life Science and Technology Department, Kunming University, Kunming, Yunnan, China　650214;
2. College of Agricultural Science, Yunnan University, Kunming, Yunnan, China　650091)

Abstract: Soil salinization is one of the important factors to limit crop growth, but industrial hemp has the stronger resistance and adaptability to environment. Taking industrial hemp"BAMA" as the experimental material, we measured and analyzed the changes of leaf SOD, soluble protein and soluble sugar content at the seedling stage under different time of salt stress. According to the research data, We discussed the physiological and biochemical influence of salt stress on hemp. The results showed leaf SOD activity increased continuously under salt stress, the maximum at the sixth day; soluble sugar content was no statistically significant difference compared with control at each stress period; soluble protein content reduced after increased at first, the maximum value at the fourth day.
Key words: industrial Hemp; superoxide dismutase(SOD); soluble protein; soluble sugar

盐害是一种常见的非生物胁迫,严重限制植物的生长和地理分布. 地球上大约有 20% 的土地和近 1/2 的耕地受到盐害的影响[1]. 近年来,中国盐碱化不断恶化,分布广泛,毒害类型多样,并且各种类型的盐碱地逐年都呈增加趋势,这使我国农业生产的持续性发展受到严重威胁[2].

工业大麻为低毒(四氢大麻酚 THC < 0.3%)大麻,不具毒品利用价值,常作为绿色纤维用,在纺织业和制造业上具有极其重要的地位[3]. 麻类是中国的特色作物和产品,在国际上占有优势地位. 在中国现代农业产业技术体系中,麻类体系为其中之一.

随着全球盐碱地面积的增加,改良盐碱地为当今和未来研究的重点[4]. 而工业大麻对盐胁迫具有很好的耐受性,同时工业大麻具有较大的经济应用价值,加之工业大麻不与粮争地,故将工业大麻生产向非耕地(盐碱地、山坡地、冬闲地)转移,以工业大麻为改良盐碱地的作物,这样处理不仅具有经济价值,而且还具有生态修复价值. 以往耐盐研究多从农艺学、形态学等方面进行,而有关耐盐的生理机制研究尚少. 因此,开展工业大麻耐盐性生理机制研究,

收稿日期:2016-10-17
基金项目:云南省高校特色生物资源开发与利用重点实验室开放基金和主任基金(GXKM201502,GXXS201501);2016 年昆明学院大学生科研资助项目(XJD16064);云南省教育厅资助项目(2014Y391,2015Z007).
作者简介:程霞(1979—),女,河南许昌人,讲师,博士,主要从事植物抗逆性研究.
*通讯作者:邓纲(1986—),男,湖南邵阳人,讲师,博士,主要从事植物抗逆性研究,E-mail:gangdengplant@126.com.

可为工业大麻耐盐性育种和工业大麻盐碱地栽培提供亲本材料和技术支持. 本文以“巴马火麻”为试验材料,在预试验基础上,测定分析供试品种在盐胁迫下不同时间生理生化指标(SOD 活性、可溶性糖、可溶性蛋白)的变化,探讨工业大麻对盐胁迫的适应性,以期为研究工业大麻的耐盐机理、遗传育种和生产栽培提供指导.

1 材料与方法

1.1 工业大麻材料种植及 NaCl 胁迫处理

研究所用工业大麻品种为“巴马火麻”,种子由广西农业科学院提供.

2015 年 4 月 8 日种植于昆明学院农学院大棚. 试验采用盆栽,盆高 24 cm,直径 18 cm,底部开孔,每盆装等重基质 V(红土):V(腐殖土) = 1:1 的比例混合,每盆种植 8 株工业大麻,共 30 盆,置于自然采光的温室中. 设置两个处理,每个处理 15 盆,一个为盐胁迫处理,即 600 mmol/L NaCl 处理. 另一个处理为对照,即清水处理.

处理方法:待苗长出 4 对真叶时进行处理,即对盐胁迫处理的所有盆一次性浇入 500 mL 的 600 mmol/L NaCl,而对照则为 500 mL 的清水. 处理后以 2 d 为周期对所有盆进行浇水以补充蒸发水分,并且分别取处理和对照倒数第 3 对叶 3 ~4 g,重复 3 次,取回后迅速在液氮中速冻,置于 -80 ℃冰箱中保存备用.

1.2 主要试剂及仪器

主要试剂:小牛血清蛋白(BSA);蒽酮;浓硫酸;体积分数为 95% 的乙醇等生理学测定常规药品为国产分析纯试剂.

主要仪器有:1/1 000 天平;超低温冰箱;台式高速离心机(冷冻型);紫外分析仪.

1.3 方法

自 NaCl 胁迫处理后,以 2 d 为周期测量工业大麻幼苗倒数第 3 对叶片的可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、超氧物歧化酶(SOD)含量等生理生化指标,同时观察工业大麻形态变化.

1.3.1 可溶性糖的测定

可溶性糖的提取和测定参考 Yemm and Willis[5] 报道的方法.

1.3.2 可溶性蛋白的测定

可溶性蛋白提取方法参考本实验室所建立的工业大麻叶片蛋白提取优化,蛋白浓度的测定参考 Bradford 法[6],用牛血清蛋白(BSA)同步制作标准曲线.

1.3.3 超氧物歧化酶(SOD)活性的测定

SOD 活性的测定参照 Beauchamp 等[7] 报道的方法.

1.4 数据处理

每个处理重复 3 次测定,取平均值. 结果采用 Excel 作图,用 SPSS18.0 软件对平均数进行方差分析,比较方法采用 Duncan 法.

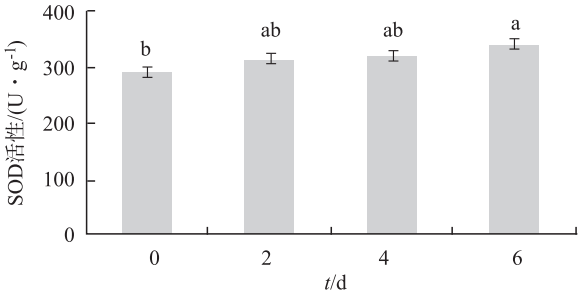
2 结果与分析

2.1 盐胁迫对工业大麻形态变化的影响

由于盐胁迫处理 8 d 后“巴马火麻”已达到胁迫临界期,故本试验测量指标至胁迫第 6 d. 形态观察结果显示,与对照相比,处理品种在 600 mmol/L NaCl 胁迫下,叶片呈现不同程度萎蔫症状,且随时间延长有加重趋势;除萎蔫外,叶片周边同时有发黄症状. 结果表明盐分对工业大麻生长有较大影响,幼苗期尤为显著.

2.2 盐胁迫对工业大麻叶片 SOD 活性的影响

SOD (超氧化物歧化酶)是机体清除超氧阴离子自由基的酶,可减轻自由基对细胞膜系统造成的伤害[8]. 由图 1 可知,工业大麻在盐胁迫不同时间 SOD (超氧化物歧化酶)活性的变化为逐渐升高,在 0(对照),2,4,6 d 超氧化物歧化酶活性分别为 292.04,314.34,332.34,338.62 U/g,比对照分别提高了 7.0%,13.8% 和 15.0%. 与对照组相比,盐胁迫后第 2 d 和第 4 d 差异无统计学意义;第 6 d 差异有显著性统计学意义. SOD (超氧化物歧化酶)含量随胁迫时间不断升高,说明 SOD 对工业大麻的耐盐性起重要作用.



图中不同字母P=0.05表示差异有统计学意义, 下同.

图1 盐胁迫对工业大麻叶片SOD活性的影响

2.3 盐胁迫对工业大麻叶片可溶性糖的影响

可溶性糖和可溶性蛋白是植物体内重要的渗透

调节物质. 由图 2 可知,在 NaCl 胁迫下,随着时间的延长,可溶性糖含量逐渐降低,但下降幅度差异无统计学意义. 可溶性糖含量在第 2,4,6 d 分别为 14.31,14.20,14.13 mg/g,可溶性糖含量一直处于较高水平,直至胁迫第 6 d 仍与对照(0 d)差异无统计学意义,仅降低了 17.2%. 这说明盐胁迫下可溶性糖的变化不显著,与耐盐相关性较小.

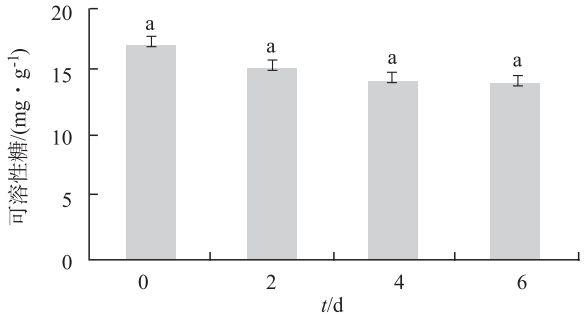


图2　盐胁迫对工业大麻叶片可溶性糖含量的影响

2.4　盐胁迫对工业大麻叶片可溶性蛋白的影响

可溶性蛋白是植物的一种重要渗透调节物质,因为它能够增大细胞的渗透压和维持细胞的正常代谢[9]. 不同时间工业大麻可溶性蛋白的含量如下图 3 所示. 在 NaCl 胁迫下,随着时间的延长,工业大麻可溶性蛋白呈现先升高后降低的趋势,在第 4 d 达到最高值,比对照增加 11.02%.

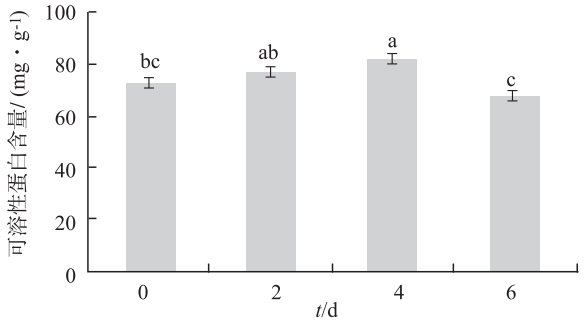


图3　盐胁迫对工业大麻叶片可溶性蛋白含量的影响

3　讨论

盐胁迫涉及各种生理和代谢过程的变化,胁迫毒害程度取决于胁迫的程度及时间,并最终抑制农作物的生长[10-11]. 盐胁迫对植物形态产生显著影响,如导致叶片变黄,植株矮小等,进而发生物质和能量代谢的失衡[12]. 本研究发现盐胁迫后,随着时间的延长,工业大麻受到不同程度的伤害,胁迫末期物质和能量代谢受到严重影响.

当植物受到外界环境胁迫时,细胞内活性氧的清除会被破坏. 但细胞同时也会通过一定的系统来调节这种失衡,这个系统包括酶,如 SOD(超氧化物歧化酶)、CAT(过氧化氢酶)、POD(过氧化物酶)等和非酶 AsA(抗坏血酸)、GSH(谷胱甘肽)等两个系统,这些指标在一定程度上可以反映植物抗逆性的强弱[2]. 本研究发现工业大麻 SOD (超氧化物歧化酶)含量一直呈增加趋势,这说明 SOD (超氧化物歧化酶)在工业大麻适应盐胁迫的过程中发挥重要作用. 由此说明,工业大麻在感应胁迫后,即将胁迫信号传导到细胞中,从而导致 SOD(超氧化物歧化酶)含量增加以去除逆境代谢失衡产生的过量超氧阴离子自由基及减轻其对细胞膜系统造成的伤害[13]. 这与前人研究[14]盐胁迫下 5 个品种水稻幼苗 SOD(超氧化物歧化酶) 活性都增强以防御活性氧或其他过氧化物自由基对细胞质膜的伤害有一致的结果.

植物体内渗透调节物质主要有可溶性糖、可溶性蛋白和无机盐离子等[15]. 逆境条件下,植物可通过各种物质和能量代谢促进上述游离渗透调节物质的积累[16-17]. 本研究发现,盐胁迫下工业大麻可溶性蛋白出现先增高后降低的趋势. 这说明工业大麻一方面在胁迫初期通过自身代谢以调节渗透压来维持细胞正常的膨压,另一方面受盐胁迫的工业大麻叶片,由于受到盐胁迫产生的有害物质如超氧阴离子的伤害,而导致细胞膜上的蛋白水解成为可溶性蛋白,造成膜不同程度的损伤[17],进而导致细胞内含物流失,故至胁迫第 4 d 可溶性蛋白含量下降. 由此也说明,胁迫第 4 d 为工业大麻受盐害影响较大时期. 本文发现,盐胁迫后工业大麻叶片中可溶性糖含量出现缓慢下降的现象,这可能说明工业大麻细胞膜在盐胁迫下并未完全破坏,故其细胞内含糖类物质未大量丢失.

综上所述,本研究结果可为研究工业大麻的耐盐机理、遗传育种和生产栽培提供参考依据.

[参考文献]

[1]MAHAJAN S, TUTEJA N, et al. Cold, salinity and drought stresses: an overview[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2005, 444(2): 139 - 158.

[2]孙建昌,王兴盛,杨生龙. 植物耐盐性研究进展[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(1): 226 - 230.

[3]颜红宇. 中国大麻育种历史进程、现状与未来发展方向[J]. 现代园艺, 2014 (8): 45 - 46.

[4]牛东玲,王启基. 盐碱地治理研究进展[J]. 土壤通报,

2002,33(6):449 - 455.

[5] YEMM E W, WILLIS A J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone[J]. Biochemical Journal, 1954,57(3):508 - 514.

[6] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72:248 - 254.

[7] 赵宏伟,田秀珠,王波. 差异蛋白质组学研究与应用进展[J]. 医学与哲学,2006,27(8):45 - 47.

[8] 姜红,田丽萍. 作物的耐盐生理生化特性[J]. 山西农业科学,2007,35(4):42 - 44.

[9] 王军,梁长东,张灿宏,等. 作物耐盐碱性鉴定评价方法探讨[J]. 大麦与谷类科学,2010(3):35 - 36.

[10] JAMES R A, BLAKE C, BYRT C S, et al. Major genes for Na^+ exclusion, *Nax*1 and *Nax*2 (wheat *HKT*1;4 and *HKT*1;5), decrease Na^+ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(8):2939 - 2947.

[11] ROZEMA J, FLOWERS T. Crops for a salinized world[J]. Science, 2008, 322(5907):1478 - 1480.

[12] WANG W, VINOCUR B, ALTMAN A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance[J]. Planta, 2003, 218(1):1 - 14.

[13] 周建刚,丁少丽,袁金友,等. NaCl 胁迫对苎麻叶片中 SOD、POD 及 CAT 活性的影响[J]. 武汉科技学院学报,2007,20(4):35 - 37.

[14] 陈洁. 水稻幼苗耐盐性的定量鉴定及耐盐生理生化研究[D]. 海口:华南热带农业大学,2003.

[15] HOQUE M A, BANU M N A, NAKAMURA Y, et al. Proline and glycinebetaine enhance antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems and reduce NaCl-induced damage in cultured tobacco cells[J]. Journal of Plant Physiology, 2008, 165(8):813 - 824.

[16] ISLAM M T, ARA M I, HOSSAIN M A, et al. Identification of tomato genotypes for salt tolerance[J]. International Journal of Sustainable Crop Production, 2011, 6(1):17 - 21.

[17] 陈洁,林栖凤. 植物耐盐生理及耐盐机理研究进展[J]. 海南大学学报(自然科学版),2003,21(2),177 - 182.

(上接第 51 页)

过程中,对各初始化函数功能进行了详细说明,并从实际工程的需求对其设置提出了相应的建议. 此外,分析了进入操作系统后的初始化内核数据区、初始化外设、初始化任务,以及启动任务调度器的过程及关键源代码. 为工程开发人员对启动流程的分析改进及提升系统启动时间、执行效率、可靠性、安全特性等方面性能提供参考和借鉴.

[参考文献]

[1] Freescale. Freescale MQX Lite RTOS reference manual [EB/OL]. [2016 - 04 - 28]. http://www.freescale.com/mqx.

[2] Freescale. KL25 Sub-family reference manual [EB/OL]. [2016 - 06 - 29]. http://www.freescale.com/mqx.

[3] 段红祥,孙棣华,刘卫宁,等. 基于内核启动优化的嵌入式 Linux 快速启动方案[J]. 计算机工程与设计,2009, 30(1):16 - 18.

[4] 王亚刚. 嵌入式 Bootloader 机制的分析与移植[J]. 计算机工程,2010,36(6):267 - 269.

[5] 廖孝勇,孙棣华,赵君杰. 基于 uC/OS - II 的 ARM9 引导程序设计与实现[J]. 控制工程,2011,18(6):997 - 1000.

[6] 冯小天,陈香兰,李曦. OSEK/VDX 标准的车载嵌入式操作系统内核的结构与设计方法[J]. 计算机应用与软件,2009,26(9):49 - 51.

[7] 罗蕾. 嵌入式实时操作系统及应用开发[M]. 北京:北京航空航天大学出版社,2011.

[8] 王宜怀,朱仕浪,姚望舒. 嵌入式实时操作系统 MQX 应用开发技术:ARM Cortex-M 微处理器[M]. 北京:电子工业出版社,2014.

[9] STALLINGS W. 操作系统:精髓与设计原理[M]. 陈向群,陈渝,译. 北京:机械工业出版社,2011.

[10] 王宜怀,朱仕浪,郭云. 嵌入式技术基础与实践:ARM Cortex-M0 + Kinetis L 系列微控制器[M]. 3 版. 北京:清华大学出版社,2013.