

# 盐胁迫下转 *Bt* 基因棉的 $K^+$ 、 $Na^+$ 转运 及 SOD 活性的变化\*

张 敏<sup>1,2</sup> 王校常<sup>2†</sup> 严蔚东<sup>2</sup> 梁永超<sup>1</sup> 施卫明<sup>2</sup>

(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

(2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

**摘 要** 通过对转 *Bt* 基因棉(苏抗 103)和受体棉(苏棉 12)在不同浓度盐胁迫条件下的钾钠离子的转运、累积分布以及它们 SOD 活性和  $H_2O_2$  含量变化的比较,证明了 *Bt* 杀虫基因的导入一方面导致棉花植株地上部钾积累增多,根部钾含量降低,从根往地上部的钾转运能力增强,而且根吸收能力也有增强趋势;然而另一方面,受盐胁迫时转 *Bt* 基因棉对钾的向上运输选择性减弱,地上部钠积累偏多,盐耐性减弱;SOD 活性受盐胁迫影响,下降显著,超氧自由基的清除能力可能受到影响。结果表明,与常规棉有所不同,转 *Bt* 基因棉可能不太适宜在盐碱土壤上种植。

**关键词** 转 *Bt* 基因棉; 盐胁迫; 超氧自由基; 钾吸收转运

**中图分类号** S562.01; Q945.12 **文献标识码** A

随着转基因技术的发展,转基因作物的商业化种植面积迅速扩张。1996 年,转 *Bt* 基因棉开始在美国大面积种植;根据美国农业部对外发布的报告,2002 年美国种植的转基因棉花占该国棉田总面积的 71%。1997 年中国也开始大面积示范转 *Bt* 基因棉,种植面积逐年成倍上升,到 2001 年中国的种植面积达 150 万  $hm^2$ ,约占棉田总面积的 30%<sup>[1]</sup>。转 *Bt* 基因棉生产中明显地减少了农药用量,因此带来了巨大的经济效益和环境效率。

然而利用基因工程技术获得的转 *Bt* 基因棉品系在许多农艺性状方面与其受体品种(野生型对照)存在着显著差异。据研究,与其受体品种相比,转 *Bt* 基因棉在产量与纤维品质上虽没有明显差异,但其构成因素(如成铃率、衣分、纤维比强度等)发生了变化。同时,转基因棉栽培上也普遍存在着长势弱、易早衰、结铃率高但铃小等问题<sup>[2,3]</sup>。此外,在养分吸收利用特性上,转基因棉和相应的受体棉之间也表现出了差异性。例如,生产上发现,转 *Bt* 基因棉对土壤钾的需求更高,对缺钾敏感性更强,易发生缺钾生理性红叶茎枯病<sup>[4]</sup>。

我国盐碱地面积居世界第四位,在我国棉区有相当一部分棉田土壤含盐量过高,棉花耐(抗)盐性的研究历来都备受关注。棉花品种的耐盐性直接影响棉花产量和品质的形成,对棉区生产力有极大影响。近年来,随着转 *Bt* 基因棉在我国棉花中的种植比重迅猛上升,再加上棉田土壤的盐碱化程度加重,所以必须探讨转 *Bt* 基因棉耐盐性问题,而不能盲目地套用其受体品种的种植栽培模式。为充分发挥其生产潜力,应尽快弄清包括耐盐性在内的各种重要生长代谢性状,建立相适应的栽培配套体系。

作物耐盐性并不单单是  $Na^+$  毒害的适应能力,还受其他因子的影响而改变,如缺水、养分缺乏等,其中,土壤  $K^+$  供给的丰缺是影响植物耐盐性的重要因子之一<sup>[5]</sup>。 $K^+$  与  $Na^+$  有相似的理化结构,植物对盐胁迫的承受能力很大程度上依赖于钾营养状态。另一方面,尽管植物能适应钾的供给浓度很广,但当存在  $Na^+$  且其浓度不断上升,植物对钾离子选择性也会下降<sup>[6]</sup>,当  $Na^+$  浓度过高,会竞争  $K^+$  转运和结合位点,导致钾缺乏<sup>[7]</sup>。

棉花是喜钾作物,钾在棉花的生长、养分分配、

\* 国家自然科学基金项目(30270789)、中国科学院南京土壤研究所知识创新工程资助

† 通讯作者, E-mail: xewang@issas.ac.cn, Tel: 025- 86881567

作者简介: 张 敏(1979~), 女, 硕士, 主要从事植物营养遗传研究

收稿日期: 2004- 05- 05; 收到修改稿日期: 2004- 09- 06

纤维品质形成及抗病虫能力等方面都扮演着相当重要的角色。同时棉花耐盐性强, 在低钾土壤中,  $Na^+$  能部分代替  $K^+$ , 促进棉花的生长, 所以棉花也被称为“喜钠作物”。既然转 *Bt* 基因棉表现出与一般推广棉品种不同的钾需求, 是否也暗示了在钠吸收方面的差异和耐盐性发生了变化? 在此对转 *Bt* 基因棉耐盐性的研究过程中, 综合考虑植物  $K^+$ 、 $Na^+$  营养吸收是否更能全面和客观地反映问题。

因此, 本研究旨在通过分析钾钠离子在棉株中的积累量、分布部位、 $K/Na$  值等, 比较在盐胁迫下转 *Bt* 基因棉与其受体棉品种的钾钠吸收转运特点; 研究在不同盐胁迫下, 植株体内 SOD 活性和  $H_2O_2$  含量的动态变化, 从营养吸收与生化特征两个角度来剖析导入 *Bt* 基因后的棉苗在耐盐性上是否发生变化以及导致耐盐性变化的主要因素。

## 1 材料与方 法

### 1.1 转 *Bt* 基因棉及其培养

所用受体品种为苏棉 12<sup>[8]</sup>, 将 *Bt* 基因导入苏棉 12 后得到的转 *Bt* 基因棉系称为苏抗 103, 为江苏省农业科学院培育的转基因抗虫棉新品系。种子经硫酸脱绒, 洗净晾干, 选取外观一致的种子, 在 30℃ 恒温培养箱中, 浸种 8~9 h, 催芽 24 h, 然后将露白的种子分散播于铺有滤纸的培养皿中, 保持湿润, 等下胚轴伸长约 1 cm 时, 转入 1/4 完全营养液。营养液配制: 944.6 mg  $L^{-1}$   $CaNO_3 \cdot 4H_2O$ , 505.5 mg  $L^{-1}$   $KNO_3$ , 240.8 mg  $L^{-1}$   $MgSO_4$ , 136.1 mg  $L^{-1}$   $KH_2PO_4$ , 264.3 mg  $L^{-1}$   $(NH_4)_2SO_4$ , 1.81 mg  $L^{-1}$   $MnCl_2 \cdot H_2O$ , 2.86 mg  $L^{-1}$   $H_3BO_4$ , 0.22 mg  $L^{-1}$   $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.08 mg  $L^{-1}$   $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , 0.09 mg  $L^{-1}$   $H_2MoO_4 \cdot H_2O$ , 5.6 mg  $L^{-1}$   $Fe^{2+}$  (Fe-EDTA), pH6.5。试验在人工温室中进行, 植物生长环境为: 昼夜温度为 28 ± 2℃~23 ± 2℃, 相对湿度为 68%, 光照强度约为 350  $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ , 光照时间为 14 h, 全天通气, 每三天换一次营养液。选取长势一致的 20 d 苗龄 (三叶期) 植株进行不同盐胁迫处理。盐胁迫处理为: (1) 对照: 1/4 完全营养液; (2) 1/4 完全营养液+ 10 mmol  $L^{-1}$  NaCl; (3) 1/4 完全营养液+ 100 mmol  $L^{-1}$  NaCl; (4) 1/4 完全营养液+ 200 mmol  $L^{-1}$  NaCl。重复 4 次。经过盐胁迫处理 4 d 后的棉苗, 直接用于  $H_2O_2$  含量、SOD 活性和钾钠含量的测定。

### 1.2 植株钾钠含量的测定及相关计算公式

烘干的棉苗样品, 用 1 mol  $L^{-1}$   $NH_4OAc$  (pH7.0) 浸提, 用火焰光度法测定  $K^+$ 、 $Na^+$  含量<sup>[9]</sup>。

$$K_r/K_s = DW_r \times K \%_r / (DW_s \times K \%_s + DW_l \times K \%_l + DW_p \times K \%_p) \quad (1)$$

$$Na_r/Na_s = DW_r \times Na \%_r / (DW_s \times Na \%_s + DW_l \times Na \%_l + DW_p \times Na \%_p) \quad (2)$$

$$K^+ / Na^+ = K \%_r / Na \%_r \quad (3)$$

上式中,  $K_r/K_s$  为根与地上部  $K^+$  积累量比;  $Na_r/Na_s$  为根与地上部  $Na^+$  积累量比;  $DW$  为植物样干重;  $K \%_r$  为植株中  $K^+$  含量 ( $g kg^{-1}$ );  $Na \%_r$  为植株中  $Na^+$  含量 ( $g kg^{-1}$ );  $r$  为根;  $s$  为茎;  $l$  为叶片;  $p$  为叶柄。

### 1.3 $H_2O_2$ 含量测定

参照 Patterson 等<sup>[10]</sup> 的方法。取 0.5 g 叶片加 5 ml 冷丙酮提取。取 1 ml 提取液加 0.1 ml 20%  $TiCl_4$  的浓 HCl 溶液, 0.2 ml 浓氨水。生成的过氧化物  $Ti$  复合物在 3 000  $g$  下离心 10 min, 得到的沉淀再用丙酮悬浮洗涤 5 次以减少色素的干扰。最后将沉淀溶于 3 ml 1 mol  $L^{-1}$   $H_2SO_4$  中, 410 nm 波长下测定吸光度。按同样程序制备  $H_2O_2$  标准曲线。

### 1.4 SOD 活性测定

参照沈文飏等<sup>[11]</sup> 的方法。取叶片 0.5 g, 加入 5 ml 50 mmol  $L^{-1}$  PBS (磷酸缓冲液, pH7.8) 冰上碾磨, 4℃ 离心 (10 000  $g$ , 20 min), 上清液为粗酶液。反应体系中依次加入 1.5 ml PBS、0.3 ml 130 mmol  $L^{-1}$  Met (甲硫氨酸)、0.3 ml 100  $\mu mol L^{-1}$  EDTA、0.05 ml 酶液、0.3 ml 750 mmol  $L^{-1}$  NBT (氮蓝四唑)、0.3 ml 20  $\mu mol L^{-1}$  核黄素。混匀后立即在 80  $\mu mol m^{-2} s^{-1}$  光照下反应 20 min (25℃), 黑暗下终止反应, 测定  $OD_{560}$  值。以抑制 NBT 光化还原 50% 的酶量为一个活性单位。

### 1.5 数据处理

每一指标测定均设 4 个平行。数据的显著性差异用 LSD 计算检验, 结果以均值和测定误差报告, 柱形图上方的英文字母代表数据之间差异的显著程度,  $p < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 转 *Bt* 基因棉地上部的 $K^+$ 、 $Na^+$ 累积

由图 1 可知, 除了在 200 mmol  $L^{-1}$  NaCl 盐胁迫处理下, 苏抗 103 和苏棉 12 根与地上部的钠累积比没有差异, 而前者的钾比值明显高于后者外, 其他处

理时苏抗 103 的根与地上部  $K^+$  累积量比值 ( $K_r/K_s$ ) 和  $Na^+$  累积量比值 ( $Na_r/Na_s$ ) 都显著低于苏棉 12。苏抗 103 向上运输时对钾离子选择性低, 使地上部  $Na$  积累比例高。与对照处理(未受盐胁迫)相比, 随着盐胁迫加剧, 两个品种的根与地上部钠累积量比值和钾累积量比值基本呈下降趋势(100  $mmol L^{-1}$   $NaCl$  盐处理下的苏棉 12 钾累积量比值表现异常)。

200  $mmol L^{-1}$   $NaCl$  盐处理下, 苏抗 103 的钾累积量比值明显高于苏棉 12, 地上部的钾累积比例低, 可能不利于棉苗生长; 同样,  $Na$  累积量比值越低, 往上转运越多, 地上部  $Na^+$  积累太多势必会导致盐害, 也就越容易遭受盐害。转 *Bt* 基因棉的  $K^+$ 、 $Na^+$  的累积均以地上部占优势。为更能直接表现转 *Bt* 基因棉盐耐性高低, 尚需对植株中  $K^+ / Na^+$  比进行比较。

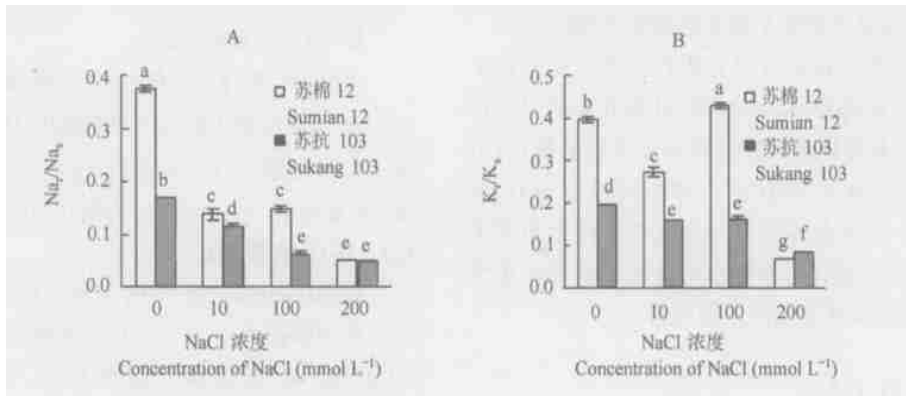
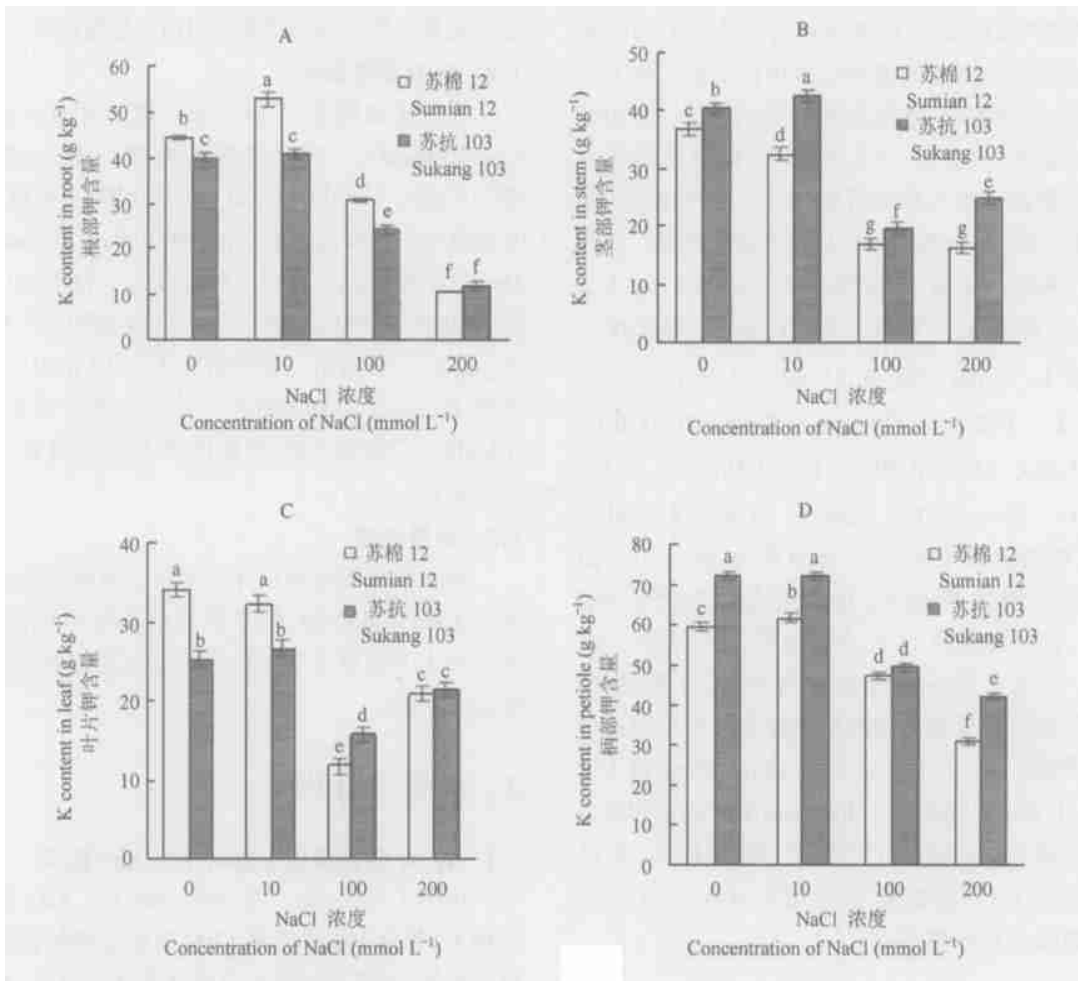


图 1 不同  $NaCl$  盐浓度下受体品种与苏抗 103 品种棉的根与地上部  $K^+$  和  $Na^+$  累积量比值

Fig. 1 Ratios of  $K^+$  and  $Na^+$  accumulated in root/shoot in regular cotton and Bt cotton under different levels of sodium stress



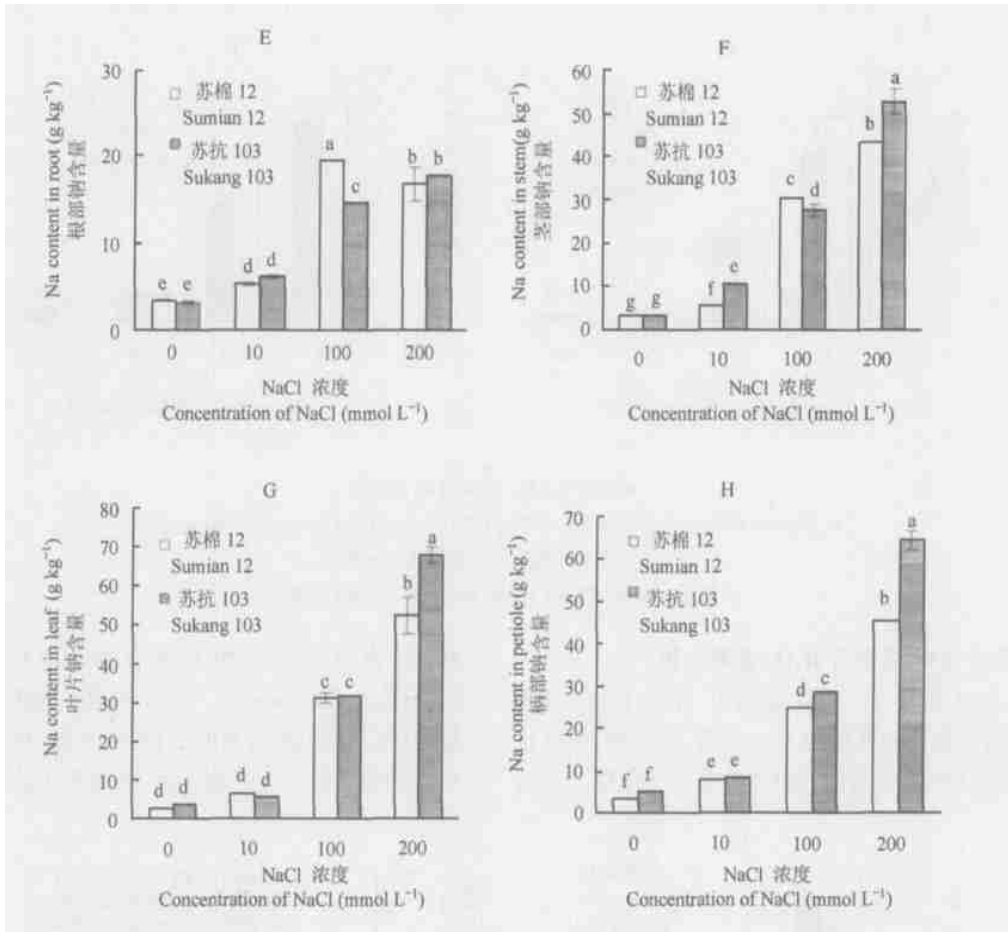


图 2 不同浓度盐胁迫下钾与钠在棉苗各部位的分布

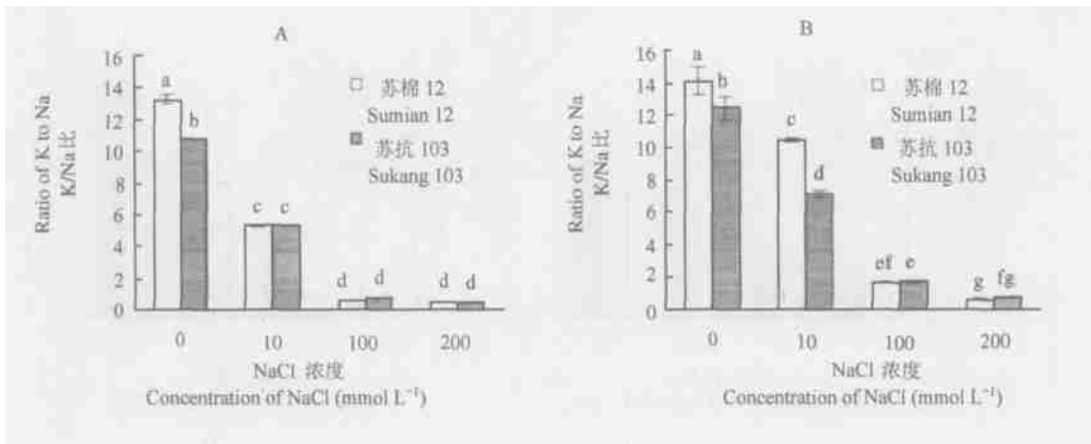
Fig. 2 Distributions of K and Na in cotton seedling under salt stress

## 2.2 盐胁迫下转基因棉钾钠离子的区位累积特点

未受盐胁迫时根与叶片的钾含量以苏棉 12 高, 而茎与叶柄的钾含量以苏抗 103 高。在  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl 胁迫下各部位钾含量下降不明显, 重度盐胁迫 ( $100$  和  $200 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl) 处理下, 苏抗 103 和苏棉 12 对钾的吸收累积都明显降低, 钠含量升高。在不同程度的盐胁迫下, 苏抗 103 棉苗其茎和叶柄两个部位的钾含量也均高于苏棉 12 苗; 但在根和叶中, 苏抗 103 的钾含量低于苏棉 12 或差异不显著 (图 2)。未受盐胁迫时苏抗 103 与苏棉 12 的各部位钠含量基本上没有差异, 在  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl 盐胁迫下在茎部苏抗 103 比苏棉 12 的钠含量稍高, 在  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl 盐胁迫下苏抗 103 根的钠含量比苏棉 12 的低, 二者的地上部差异不大。在  $200 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl 盐胁迫下苏抗 103 地上部各部分的钠含量均比苏棉 12 高, 在根部没有优势。由此可看出在轻度盐胁迫时, 苏棉 12 主要在根中积累  $Na^+$ , 而苏抗 103

不但在根部而且茎的  $Na^+$  累积开始增多, 在  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl 盐胁迫下苏抗 103 根中的钠含量远比苏棉 12 低, 而地上部的钠含量高于根部, 在  $200 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl 盐胁迫下更甚, 其地上部的钠含量不但远远超出本身根的含量, 而且竟也远高于苏棉 12 相应部位的含量。随着盐胁迫的加剧, 苏抗 103 与苏棉 12 钠的积聚分布存在区间上的差异, 反映了苏抗 103 的钠离子倾向于在地上部积聚, 而根部积累少, 从而不利于缓解盐毒害作用。

由图 3 可知, 棉苗的根与地上部的  $K/Na$  比随着盐浓度的增加而降低。未受盐胁迫时, 苏抗 103 的根与地上部的  $K/Na$  比都明显低于苏棉 12。在盐胁迫下两个棉品种地上部的  $K/Na$  比没有差异。在  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl 浓度下, 苏抗 103 根的  $K/Na$  比都明显低于苏棉 12, 而在重度盐胁迫 ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ 、 $200 \text{ mmol L}^{-1}$  NaCl) 下二者基本无差异。



A: 地上部 K/Na 比; B: 根部 K/Na 比

A: Ratios of K/Na in shoots of cotton seedlings; B: Ratios of K/Na in roots of cotton seedlings

图3 根部与地上部的 K/Na 比

Fig. 3 Ratios of K/Na in roots and shoots of cotton seedlings

## 2.3 棉叶 SOD 活性与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量比较

**2.3.1 SOD 活性** 在盐胁迫下, 苏抗 103 的 SOD 活性受抑制程度比苏棉 12 大。由图 4A 可知, 未受盐胁迫时, 苏抗 103 棉苗的 SOD 活性要大于苏棉 12。随

着盐浓度的增大, 苏棉 12 棉苗的 SOD 活性下降平缓, 只是在 200 mmol L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫下 SOD 活性下降加剧; 而苏抗 103 的 SOD 活性在 10 和 100 mmol L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫下就开始急剧下降, 明显低于苏棉 12。

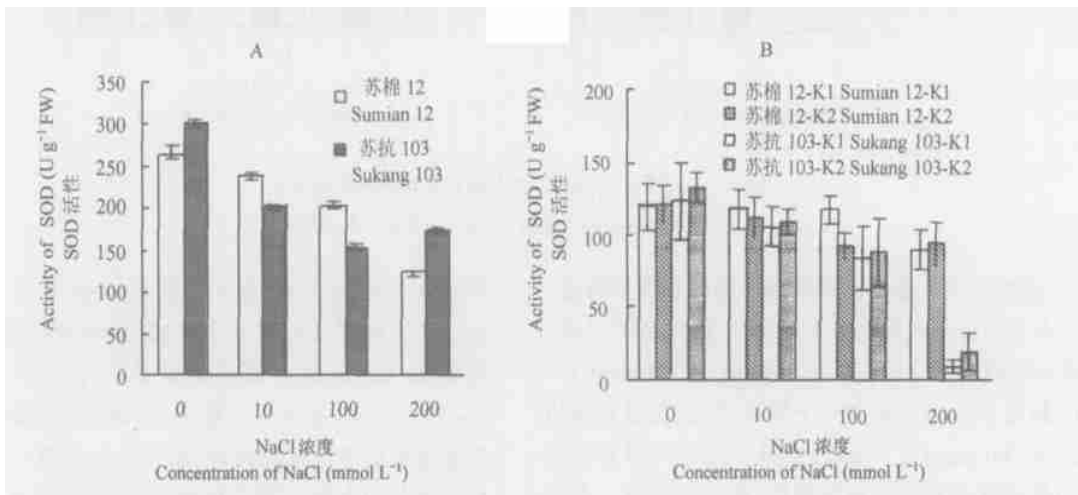
K1: 经 8h 低钾(0.2 mmol L<sup>-1</sup> KCl) 吸收处理; K2: 经 8h 高钾(1 mmol L<sup>-1</sup> KCl) 吸收处理K1: Cotton seedlings had been pretreated in 0.2 mmol L<sup>-1</sup> K<sup>+</sup> solutions for 8h; K2: Cotton seedlings had been pretreated in 1 mmol L<sup>-1</sup> K<sup>+</sup> solutions for 8h

图4 盐胁迫下棉叶 SOD 活性的变化

Fig. 4 Change in SOD activity of cotton leaves under salt stress

由图 4B 可知, 钾吸收实验后, 苏抗 103 叶片的 SOD 活性随盐浓度增加而急剧下降。在 200 mmol L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫下, 苏抗 103 叶片的 SOD 活性只有苏棉 12 的 20%。因此, 虽然 0 mmol L<sup>-1</sup> NaCl 浓度下苏抗 103 叶片的 SOD 酶活性大于苏棉 12, 但是在盐胁迫下, 前者酶活性下降幅度比后者大, 表明苏抗 103 对盐胁迫所造成的氧化损伤的修复能力较弱。

**2.3.2 盐胁迫下叶片 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量** 在正常条件下,

苏抗 103 叶片的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量高于苏棉 12。在不同程度的盐胁迫下, 苏棉 12 与苏抗 103 棉的叶片 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量变化趋势是一致的(图 5), 但后者的波动幅度要明显小于前者。与对照处理(0 mmol L<sup>-1</sup> NaCl) 相比, 在 10 mmol L<sup>-1</sup> NaCl 盐处理时 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度急剧下降; 而在 100 mmol L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫下, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量又上升, 以苏棉 12 的增长幅度较大; 在 200 mmol L<sup>-1</sup> NaCl 盐处理时, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平也出现大幅度的回落, 并且基本与对照相

等。虽然  $H_2O_2$  主要是 SOD 在清除氧自由基的同时生成的产物, 但又受抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、过氧化氢酶 (CAT) 等几种抗性酶分解, 因此它的大小是综合作用的结果, 这些酶在同样生理水平下, 其活性表现不一, 从而直接影响  $H_2O_2$  的产生与分解。所以不同盐胁迫下,  $H_2O_2$  含量的变化并不与 SOD 活性变化一致, 从二者的变化在一定程度上可以反映棉苗受盐

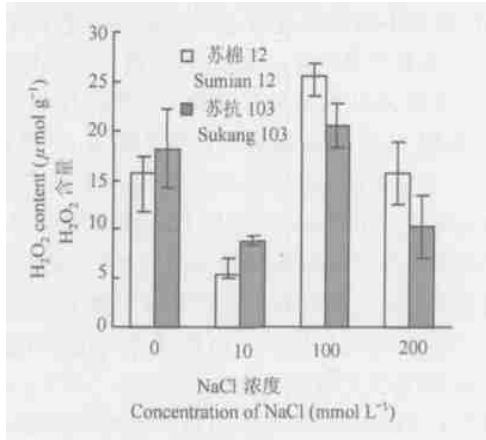


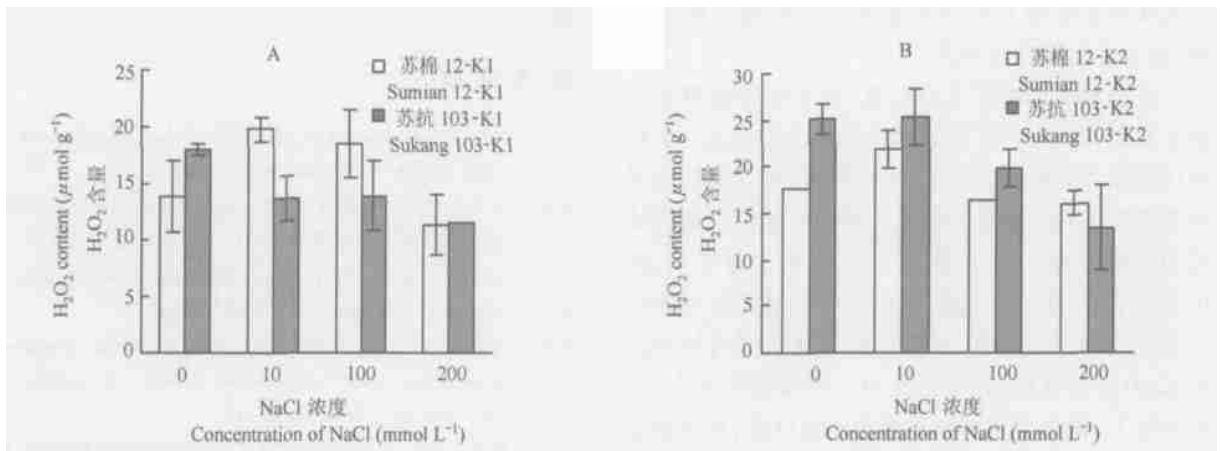
图 5 盐胁迫下棉花叶片中  $H_2O_2$  含量变化动态

Fig. 5 Change in  $H_2O_2$  content in leaves of cotton seedlings under salt stress

胁迫后生化水平上的差异。

将 SOD 活性与  $H_2O_2$  的变化趋势相对比, 发现苏抗 103 与苏棉 12 的两种系列酶类对盐胁迫的反应不一。在  $100 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaCl}$  胁迫下, 苏抗 103 的 SOD 活性下降了 50%,  $H_2O_2$  含量增长了 13%, 苏棉 12 的 SOD 活性只下降了 23%,  $H_2O_2$  含量却增长了 64%。因此推断, 在此盐浓度下苏棉 12 中  $H_2O_2$  的分解酶类活性要低一些, 具体如何需进一步研究。

受盐胁迫的棉苗再经过 24 h 的缺钾饥饿, 然后放入含钾吸收液中吸收 8 h, 经高低钾水平吸收后, 不同盐处理下苏抗 103 与苏棉 12 叶片的  $H_2O_2$  含量波动幅度并没有钾吸收实验前的大 (图 6)。不同盐胁迫下苏棉 12 与苏抗 103 叶片中  $H_2O_2$  变化趋势不一, 前者是先升后降至对照水平, 而后者基本成下降趋势, 反映了一方面是由于苏抗 103 的 SOD 酶活性下降剧烈,  $H_2O_2$  积累少, 而苏棉 12 的 SOD 酶活性下降缓慢,  $H_2O_2$  积累就多; 另一方面苏抗 103 中的有关  $H_2O_2$  分解酶类活性可能比苏棉 12 的高一些。



K1: 经 8h 低钾 ( $0.2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ KCl}$ ) 吸收处理; K2: 经 8h 高钾 ( $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ KCl}$ ) 吸收处理

K1: Cotton seedlings had been pretreated in  $0.2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}^+$  solutions for 8h; K2: Cotton seedlings had been pretreated in  $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}^+$  solutions for 8h

图 6 钾素营养对棉花叶片中  $H_2O_2$  含量变化的影响

Fig 6 Effect of K supply on  $H_2O_2$  content in leaves of cotton seedlings under salt stress

### 3 讨论

棉花是较耐盐的农作物之一,  $2 \text{ g kg}^{-1}$  以下的盐分有利于棉花出苗、生长, 提高产量和品质<sup>[12]</sup>, 缺钾土壤施用适量的钠可显著增产, 因而棉花被认为是“喜钠”作物。盐分浓度大于  $2 \text{ g kg}^{-1}$  就会对棉花产生离子毒害和渗透胁迫等<sup>[8]</sup>。棉花萌发和生长的极

限盐度为  $6 \sim 7 \text{ g kg}^{-1}$  和  $4 \text{ g kg}^{-1}$ <sup>[13]</sup>。

棉花的耐盐性存在地上部盐分分配机制, 不同于其他耐盐作物种类。盐胁迫下大麦、小麦、大豆的根系可截留大部分的  $Na^+$ , 往地上部运输盐离子少; 玉米、高粱等作物通过“脉内再循环”, 将地上部的大部分  $Na^+$  由韧皮部或木质部“再循环”到根部, 被薄壁细胞吸收<sup>[14]</sup>。然而在  $NaCl$  胁迫下棉花体内 95% 以上的  $Na^+$  积累在地上部, 棉花耐盐重要特点在于

地上部盐分器官水平上的区域化分布明显,  $\text{Na}^+$  在茎和叶柄中滞留和积累, 根中的  $\text{K}^+$  向地上部选择性运输, 以维持叶片中较高的  $\text{K}/\text{Na}$  比<sup>[15]</sup>。本研究发现, 导入 *Bt* 基因后的棉苗对  $\text{K}^+$  和  $\text{Na}^+$  的吸收分配以及对盐胁迫的应激反应发生了变化。

首先从棉株各部位的钾分布情况发现, 在正常的水培条件下(未受盐胁迫), 与其受体棉相比苗期转 *Bt* 基因棉钾离子积聚部位发生了变化, 倾向于在茎柄积累较高浓度的钾离子, 而根部钾含量低, 所以地上部的钾累积量比例升高, 说明导入 *Bt* 基因后棉苗从根部往地上部转运钾离子的能力提高。

再者, 导入 *Bt* 基因后棉苗的盐耐性有降低趋势。实验表明在盐胁迫下, 受体棉倾向在根部积累更多的钠离子, 而转 *Bt* 基因棉的  $\text{Na}^+$  累积都以地上部占优势。而在重度盐胁迫时转 *Bt* 基因棉地上部钠含量快速增加, 远超出根部的钠含量, 虽然其地上部  $\text{K}/\text{Na}$  比与受体棉相比并无明显差异, 但是这种不同于受体棉的地上部积聚钠离子的方式显然会更容易使植株遭受钠毒害。而且在正常水培条件下转 *Bt* 基因棉的根与地上部的  $\text{K}/\text{Na}$  比都比受体棉高, 表明其根部和地上部钾吸收系统对钾的选择性降低, 对  $\text{Na}^+$  的通透性提高。

由于地上部钠离子的积累, 必然会导致植物代谢生理上的变化。其中最主要的就是活性氧产生和氧化清除系统的动态失衡。盐胁迫对棉花的伤害主要是盐离子对幼嫩器官或发育转换时期的细胞膜结构和功能的伤害, 抑制棉苗生长, 影响生育进程, 减少总果节数, 降低产量品质。棉花的耐盐性生理生化鉴定技术研究表明, 耐盐材料与棉花体内的内含氨基酸(如脯氨酸)的变化及 SOD 等酶的变化有关。盐胁迫下, 植物细胞中积累大量的活性氧, 从而导致蛋白质、膜脂、DNA 及其他细胞组分的严重损伤。这些比氧活泼的含氧化合物包括: 超氧根阴离子( $\text{O}_2^-$ )、氢氧根离子( $\text{OH}^-$ )、羟自由基( $\text{OH}$ )、过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )等。植物体内有效清除活性氧的保护机制分为酶促和非酶促两类。酶促脱毒系统包括超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等。当环境胁迫长期作用于植株, 使其产生的活性氧超出活性氧清除系统的能力所及时, 就会产生氧化损伤。

SOD(超氧化物歧化酶)是植物抗氧化系统的第一道防线, 清除细胞中多余的超氧根阴离子, 其活性的高低变化反映植物对氧化损伤的修复能力。 $\text{H}_2\text{O}_2$  是超氧根阴离子通过酶促反应歧化成的, 所以它主

要是 SOD 在清除氧自由基的同时生成的产物, 而它又可直接被 CAT 和 APX 两种抗性酶催化分解成水和氧。所以植物  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的高低所反映的是两种抗氧化酶体系的综合作用的结果, 并不完全与 SOD 活性变化相对应。

实验发现在正常条件下, 苏抗 103 叶片的 SOD 酶活性与过氧化氢含量都高于苏棉 12。叶片中苏抗 103 的 SOD 活性随盐胁迫的加强而快速下降, 然而  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量波动幅度又偏小, 可推测一方面是由于苏抗 103 的 SOD 酶活性下降剧烈, 导致  $\text{H}_2\text{O}_2$  积累少, 而苏棉 12 的 SOD 酶活性下降缓慢,  $\text{H}_2\text{O}_2$  积累就多; 另一方面苏抗 103 中的有关  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解酶类活性可能比苏棉 12 的高一些, 致使  $\text{H}_2\text{O}_2$  积累少。总之, 虽然棉苗叶片中 SOD 活性和  $\text{H}_2\text{O}_2$  积累表现并不能明确反映它对盐胁迫的适应性与修复能力, 但也表现出了转 *Bt* 基因后棉苗 SOD 酶活性与过氧化氢含量升高, 酶活性更容易受盐胁迫影响而下降, 这在一定程度上反映出转 *Bt* 基因棉抗胁迫的修复能力减弱。为了更能完整地表现转 *Bt* 基因棉盐抗性差异和生化上的改变, 其他有关抗性酶还有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] James C. Global review of commercialized transgenic crops. ISAAA Briefs. No.24. Ithaca, NY: ISAAA, 2001
- [2] 刘剑光, 肖松华, 狄佳春, 等. *Bt* 基因导入对棉花农艺性状的影响. 中国棉花, 2003, 30(3): 15~17. Liu J G, Xiao S H, Di J C, *et al.* Effect of introduction of *Bt* gene on growth of cotton (In Chinese). China Cotton, 2003, 30(3): 15~17
- [3] Wilson F D, *et al.* Yield, yield components and fiber properties of insect resistant cotton lines containing a bacillus thuringiensis toxin gene. Crop Sci., 1994, 34: 38~41
- [4] 陈红, 王波, 孔宪辉. 抗虫棉在新疆的应用表现和存在问题. 中国棉花, 2001, 28(6): 28~41. Chen H, Wang B, Kong X H. Statue of and problem in application of insecticidal cotton in Xinjiang (In Chinese). China Cotton, 2001, 28(6): 28~41
- [5] Greenway H, Mums R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology, 1980, 31: 149~190
- [6] Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed. London: Academic Press, 1995
- [7] Yeo A R. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole plant physiology. Journal of Experimental Botany, 1998, 49: 915~929
- [8] 刘正鑫, 姜维臣, 许勤生, 等. 抗病高产棉花新品种——苏棉 12 号的选育与应用. 江苏农业学报, 1997, (4): 198~199. Liu Z L, Jiang W C, Xu Q S, *et al.* Breeding and application of a new disease resistant and high yield cotton variety (*G. hirsutum*)——

- Sumian 12 (In Chinese). Jiangsu Journal of Agr. Sci., 1997, (4): 198~ 199
- [ 9 ] 南京农业大学编. 土壤农化分析. 北京: 农业出版社, 1996. 85~ 87. Nanjing Agricultural University. ed. Soil and Agricultural Chemistry Analysis ( In Chinese). Beijing: Agricultural Publishing House, 1996. 85~ 87
- [ 10 ] Patterson B D, Mackae E A, Fegusen I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using Titanium (IV). Anal. Biochem., 1984, 139: 487~ 492
- [ 11 ] 沈文彪, 叶茂炳, 徐朗莱, 等. 小麦旗叶自然衰老过程中清除活性氧能力的变化. 植物学报, 1997, 39(7): 634~ 640. Shen W B, Ye M B, Xu L L, *et al.* Changes in ability of wheat flag leaves of scavenging active oxygen during natural senescence ( In Chinese). Acta Botanica Sinica, 1997, 39(7): 634~ 640
- [ 12 ] 周桃华. NaCl 胁迫对棉子萌发及幼苗生长的影响. 中国棉花, 1995, 22(4): 11~ 12. Zhou T H. Effect of NaCl stress on bud-
- ding of cotton seed and growth of cotton seedling ( In Chinese). China Cotton, 1995, 22(4): 11~ 12
- [ 13 ] 陈国安. 钠对棉花生长及钾钠吸收的影响. 土壤, 1992, 24(4): 201~ 204. Chen G A. Effects of  $Na^+$  on growth and absorption of  $K^+$  and  $Na^+$  of cotton ( In Chinese). Soils, 1992, 24(4): 201~ 204
- [ 14 ] 刘友良, 毛才良, 汪良驹. 植物耐盐性研究进展. 植物生理学通讯, 1987, 4: 1~ 7. Liu Y L, Mao C L, Wang L J. Recent progress in studies on salt tolerance of plants ( In Chinese). Plant Physiology Communication, 1987, 4: 1~ 7
- [ 15 ] 孙小芳, 刘友良. NaCl 胁迫下棉花体  $Na^+$ 、 $K^+$  分布与耐盐性. 西北植物学报, 2000, (6): 1 027~ 1 033. Sun X F, Liu Y L. Distribution of  $Na^+$  and  $K^+$  in cotton plant and salt tolerance under NaCl stress ( In Chinese). Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin., 2000, (6): 1 027~ 1 033

## $K^+$ AND $Na^+$ UPTAKE AND TRANSPORT AND SOD ACTIVITY IN *Bt* TRANSGENIC COTTON SEEDLINGS UNDER SALT STRESS

Zhang Min<sup>1, 2</sup> Wang Xiaochang<sup>2†</sup> Yan Weidong<sup>2</sup> Liang Yongchao<sup>1</sup> Shi Weiming<sup>2</sup>

(1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

**Abstract** The present paper addresses changes in uptake, transport and allocation of potassium and sodium, SOD (superoxide dismutases) activity and  $H_2O_2$  content in leaves of *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) transgenic cotton (Sukang 103) induced by different levels of salt stress as compared with those in its conventional parent (Sumian 12) at the early growth stage. The results showed that after receiving *Bt* gene the cotton increased its demand for potassium; more potassium was accumulated in shoot while the potassium content in roots was lowered as compared with the regular cotton. It seems to indicate that potassium transport ability is enhanced. On the other hands, when both regular and *Bt* cotton seedlings were exposed to salt stress, the ability of selecting potassium for transport from root to shoot was weakened in the *Bt* transgenic cotton, consequently more sodium was accumulated in the shoot and salt tolerance was lower than that in the control. Furthermore, SOD activity in leaves of the *Bt* cotton decreased significantly under salt stress, which might lead to reduced ability of eliminating superoxide radicals ( $O_2^-$ ). Results of the research suggest that *Bt* cotton is more sensitive to salt stress than regular cotton and may not be suitable for cultivation in saline soils.

**Key words** *Bt* transgenic cotton; Salt stress; Superoxide radicals; Absorption and transport of potassium