

低温胁迫下转 *ICE1* 基因水稻养分变化的研究

张兴梅, 孙 壮, 殷奎德*, 杨 悦

(黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江省普通高等学校寒地作物种质改良与栽培重点实验室, 黑龙江 大庆 163319)

摘 要: 采用盆栽试验, 选用转 *ICE1* 基因水稻 T_{4-8} 株系和 T_{4-9} 株系及未转基因水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种垦鉴稻 10 号为试验材料, 研究苗期低温胁迫对转基因水稻氮、磷、钾养分吸收的影响。结果表明, 低温胁迫期间, 转基因水稻幼苗丙二醛含量维持在较低水平, SOD 活性维持在较高水平; 地上部分氮、磷、钾含量变化不大, 一直维持在较高水平; 地下部分氮、磷、钾含量呈缓慢下降趋势, 但降幅比非转基因水稻小, 在胁迫第 10 天, T_{4-8} 株系和 T_{4-9} 株系氮含量均高出对照 13.86%, 磷含量分别高出 42.31% 和 50.00%, 钾含量均高出 85.71%。说明在低温胁迫条件下, *ICE1* 基因过量表达可以增强水稻的抗寒性, 减轻低温对水稻的伤害, 保持根系较强的吸收养分能力。

关键词: 低温胁迫; *ICE1* 基因; 水稻; 养分吸收

中图分类号: S511.034 文献标志码: A 文章编号: 1000-7601(2013)06-0140-06

Nutrient changes of transgenic *ICE1* rice under low temperature stress

ZHANG Xing-mei, SUN Zhuang, YIN Kui-de*, YANG Yue

(College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University / Key Laboratory of Crop Germplasm Improvement and Cultivation in Cold Region, Institute of Higher Education in Heilongjiang, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

Abstract: Using two transgenic *ICE1* lines (T_{4-8} and T_{4-9}) and normal cultivar (Kenjian 10) as test materials, the effects of low temperature stress on nutrient absorption of N, P and K in seedlings of rice (*Oryza sativa* L.) were investigated by pot experiment. The results showed that the MDA content kept at a low level while the SOD activity kept at a high level in transgenic rice seedlings. The contents of N, P and K in the above-ground part varied little and kept at a high level. In the under-ground part, they showed a slow downward trend, but the decline rate in transgenic lines was less than that in normal cultivar. At the 10th day after low temperature stress, the nitrogen content in under-ground part of T_{4-8} and T_{4-9} was 13.86% higher, the phosphors content of T_{4-8} and T_{4-9} was 42.31% and 50.00% higher respectively, and the potassium content of T_{4-8} and T_{4-9} was 85.71% higher, compared with the control. In conclusion, over-expression of *ICE1* gene in rice could enhance cold tolerance, reduce the injury of rice plants and keep a strong absorption nutrient ability in roots under low temperature stress.

Keywords: low temperature stress; *ICE1* gene; rice; nutrient absorption

水稻是对低温反应比较敏感的喜温作物, 低温、寡照是水稻空秕率偏高的重要原因。黑龙江省属高寒地区, 气温不高、热量不足, 5—6 月常出现低温天气, 因而易发生水稻低温冷害, 对农业生产及国民经济造成严重影响。低温胁迫条件下, 水稻对养分的吸收、转化和利用都受到严重的影响。通过生物技术手段改良水稻基因可以较大幅度提高水稻的抗寒性。目前还鲜见低温胁迫条件下转基因水稻养分变化的研究, 研究转基因水稻在低温条件下对养分的吸收利用具有重要的理论和现实意义。

本实验室(黑龙江八一农垦大学生命学院分子生物学实验室)从拟南芥幼苗中克隆到调节植株抗

寒性的转录因子 *ICE1* 基因^[1]。低温逆境下, *ICE1* 基因的表达产物能够与 *CBF3* 基因启动子结合, 激发 *CBF3* 转录翻译, 使下游冷诱导基因大量表达, 从而增强拟南芥抗寒性^[2]。向殿军等^[3]将克隆到的 *ICE1* 基因与 35S 启动子连接构建植物表达载体 pCambia1300-35S-*ICE1*, 并导入水稻植株体内, 获得阳性转基因再生水稻植株 T_0 和 T_1 代, 通过低温试验证明转基因水稻的抗寒性高于未转基因水稻植株, 为进一步研究提高水稻抗寒性机理提供了很好的材料。

本研究以实验室已获得的阳性转 *ICE1* 基因水稻再生植株的 T_4 代为实验材料, 利用分子生物学方

收稿日期: 2013-05-20

基金项目: 黑龙江省教育厅资助(11511248); 黑龙江八一农垦大学创新训练项目

作者简介: 张兴梅(1963—), 女, 教授, 主要从事植物营养研究。E-mail: zxmnd@163.com。

* 通信作者: 殷奎德(1964—), 男, 教授, 主要从事植物生理研究。E-mail: yinkuide@sohu.com。

法检测外源基因 *ICE1* 在转基因水稻后代的遗传情况。对低温胁迫条件下,转 *ICE1* 基因水稻 T₄ 代植株体内丙二醛、超氧化物歧化酶以及氮、磷和钾养分变化进行研究,探讨外源基因 *ICE1* 的导入对水稻吸收养分的影响,为转 *ICE1* 基因水稻提高抗寒性提供理论支持,同时为培育抗寒水稻新品种、降低稻作生产上寒害损失、扩大种植面积提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用转 *ICE1* 基因水稻垦鉴稻 10 号 T₄₋₈株系和 T₄₋₉株系及未转基因水稻品种垦鉴稻 10 号(以下称 CK)为试验材料,转基因水稻株系来自黑龙江八一农垦大学生命学院分子生物学实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 水稻材料培养 选取成熟饱满的转基因与 CK 水稻种子,在 25℃ 条件下自来水浸种至露白后播种在装土重量相同的培养钵中,每个品种(系)不少于 18 个重复,将培养钵置于光照培养箱中(温度 25±1℃,光照 16 h,光强 150 m⁻²·s⁻¹,相对湿度 80%)培养,每隔 1 d 浇灌 1 次 Hoagland 营养液。培养条件及管理方法一致,尽量创造一个相同稳定的水稻生长环境。

1.2.2 水稻材料处理 将四周龄的转 *ICE1* 基因水稻及 CK 水稻新鲜幼苗放入 4℃ 条件下进行冷处理,分别在冷处理 0 d,2 d,4 d,6 d,8 d,10 d 后进行水稻植株取样。

1.2.3 转基因水稻遗传稳定性检测 利用 PCR 检测目的基因的方法进行转基因水稻遗传稳定性检测,采用 CTAB 法微量提取水稻植株总 DNA,并对其进行 PCR 检测,阳性对照为质粒 pCAMBIA1300-35S-*ICE1*,阴性对照为未转基因植株 DNA,内参基因选择 *Actin* 基因。

引物序列:
ICE1 上游引物为:
5′ - CGAATTCGATGGCTCTTGACGGAA - 3′
ICE1 下游引物为:
5′ - GCTCTAGATCATACCAGCATACCCT - 3′
Actin 上游 5′ - CCTCGTCTGCGATAATGGAAGT - 3′
Actin 下游 5′ - GCTCCTCTTGGCTTAGCAATCT - 3′

1.2.4 水稻植株丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 丙二醛(MDA)含量按李合生等^[4]的方法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定用氮蓝四唑(NBT)法^[4],以抑制 NBT 光氧化还原 50% 的酶量为 1 个活力单位(U),单位记为 U·mg⁻¹。
1.2.5 水稻养分含量测定 水稻植株低温处理后,样品烘干、粉碎,采用浓 H₂SO₄ - H₂O₂ 消煮,凯氏定

氮法测定全 N,钒钼黄比色法测定全 P,火焰光度计法测定全 K 含量。

1.2.6 实验数据处理 数据采用 SPSS13.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 转基因水稻遗传稳定性检测

剪取苗期转基因水稻植株及 CK 水稻植株同生育期、同叶位叶片,提取水稻基因组 DNA 进行转基因稳定性 PCR 检测,以转基因水稻叶片中提取的 DNA 为模板,对其基因组 *ICE1* 及 *Actin* 基因的 PCR 扩增,*ICE1* 上游引物为:5′ - CGAATTCGATGGCTCTTGACGGAA - 3′,*ICE1* 下游引物为:5′ - GCTCTAGATCATACCAGCATACCCT - 3′,结果如图 1 所示。扩增出大约 1 500 bp 的条带,这与 *ICE1* 基因片段(1481bp)的大小相一致。在 CK 中没有相应的扩增带,并且对水稻的内参 *Actin* 基因的扩增得到相应的条带,所以 PCR 结果可靠。图 1 所示是部分 PCR 结果。本实验对转基因水稻三个株系 172 个单株样本进行检测,根据 PCR 检测结果,阳性率达到 95%,说明 *ICE1* 基因已经整合到水稻基因组中,转 *ICE1* 基因水稻在 T₄ 代中已经稳定遗传。

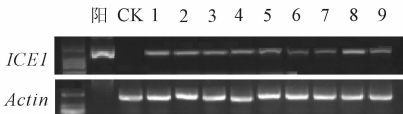


图 1 水稻苗期 *ICE1* 和 *Actin* 基因 PCR 扩增结果
Fig.1 PCR detection results of *ICE1* and *Actin* gene at seedling stage of rice

注:阳:pCAMBIA1300-35S-*ICE1* 质粒;CK:对照植株,1-3:T₄₋₇株系的 3 个单株,4-6:T₄₋₈株系的 3 个单株,7-9:T₄₋₉株系的 3 个单株
Note: P: pCAMBIA1300-35S-*ICE1* plasmid; CK: control plant; 1-3: 3 individual plants of T₄₋₇ line; 4-6: 3 individual plants of T₄₋₈ line; 7-9: 3 individual plants of T₄₋₉ line.

2.2 转 *ICE1* 基因水稻苗期抗寒性检测

将四周龄的转 *ICE1* 基因水稻及 CK 水稻幼苗放入 4℃ 条件下进行冷处理,结果如图 2 所示,A、B 分别是 4℃ 低温处理 0 d、10 d 后的水稻植株表型照片。冷处理前转 *ICE1* 基因水稻和 CK 水稻植株生长状况良好,表型上无明显差异。冷处理 10 d 后,CK 水稻叶片颜色变黄,植株严重失水枯萎,说明其生理生化代谢功能已受到严重损伤,植株失水死亡。而 T₄₋₈、T₄₋₉株系植株枯萎程度明显轻于 CK 植株,大部分叶片仍呈现绿色,叶片只有轻微的失水萎蔫现象,植株整体表现的冷害现象明显轻于 CK 植株。实验结果表明,转基因水稻 T₄₋₈、T₄₋₉株系能够在长时间的低温环境下生存,具有很强的耐寒力。这表示

外源 *ICE1* 基因的过量表达能提高植株抗寒性。

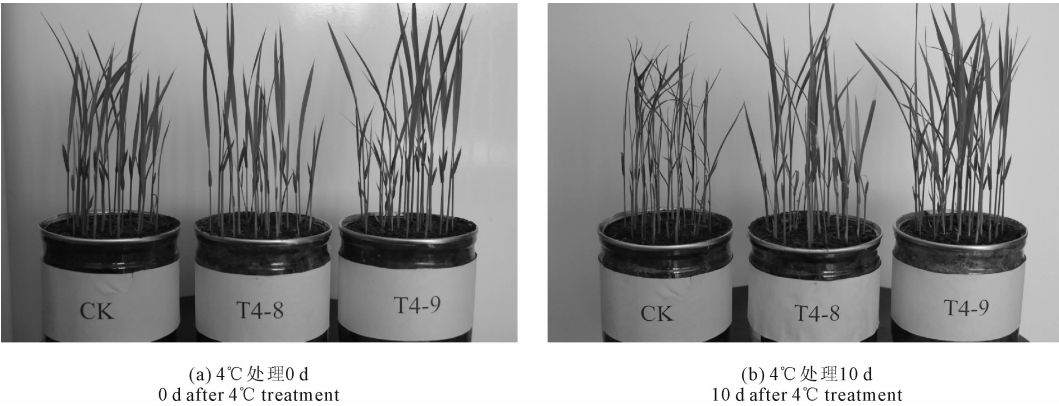


图 2 转 *ICE1* 基因水稻(T₄)抗寒性试验

Fig.2 Cold tolerance of transgenic *ICE1* lines

2.3 低温胁迫对转基因水稻幼苗丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

丙二醛(malondialdehyde,MDA)是由于植物器官衰老或在逆境条件下受到伤害,其组织或器官膜脂发生氧化反应而产生的,它的含量与植物逆境伤害有密切的关系。在低温胁迫下,对照(CK)鲜叶片中MDA含量变化随冷处理天数的增加而增加;转*ICE1*基因水稻(T₄₋₈和T₄₋₉株系)叶片中MDA含量在处理第2 d略有增加,以后基本处于稳定状态(如图3)。

ICE1 基因水稻(T₄₋₈和T₄₋₉株系)叶片中MDA含量基本保持在一稳定水平上,转基因水稻与对照(CK)相比MDA含量差异达显著水平,在低温胁迫10 d时对照比T₄₋₈和T₄₋₉MDA含量分别高出237.97%和230.67%。这说明外源基因*ICE1*可能在提高细胞膜脂的抗氧化能力上起到一定的作用。

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)在需氧原核生物和真核生物中广泛存在,是活性氧清除系统中第一个发挥作用的抗氧化酶。能催化超氧阴离子发生歧化反应,削弱活性氧对植物的危害。对照和转*ICE1*基因水稻(T₄₋₈和T₄₋₉株系)中SOD活性变化如图4。由图可以看出,随着冷胁迫时间的延长,水稻中SOD活性先增加然后降低,在低温胁迫的第2 d,对照(CK)和转*ICE1*基因水稻(T₄₋₈和T₄₋₉株系)SOD活性均达到最大值,T₄₋₈和T₄₋₉株系SOD值分别比对照高出50.90%和51.42%。在冷胁迫10 d内,转*ICE1*基因水稻SOD活性均高于对照水稻,差异达极显著水平。这表明在低温胁迫的条件下,*ICE1*基因的过量表达对促进SOD活性有积极作用。

2.4 低温胁迫对转基因水稻幼苗氮素营养的影响

由图5可以看出,在整个低温胁迫过程中,转*ICE1*基因水稻(T₄₋₈和T₄₋₉株系)与CK水稻苗期地上部分氮素含量的变化不同。CK水稻植株氮素含量起始值高于转基因水稻,随着低温胁迫的延长氮素含量呈下降趋势,第10 d氮素含量显著低于转基因水稻,氮素含量由处理前的4.73%下降到第10 d的4.53%;转基因水稻低温处理期间,植株氮素含量开始略有增加,后缓慢下降,低温处理前与处理后变化不大,但与CK相比,第10 d的氮含量明显高于CK,说明低温对转基因水稻氮吸收与生长没有产生较大影响。低温胁迫条件下,水稻体内代谢缓慢,养

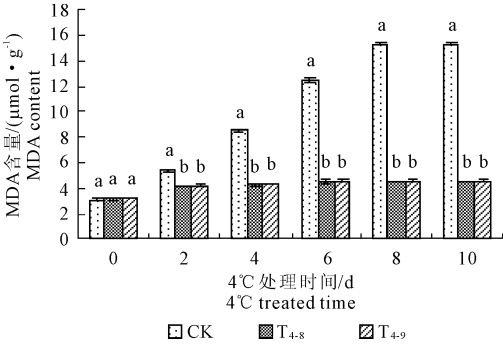


图 3 低温处理对转基因和非转基因水稻幼苗MDA含量的影响

Fig.3 Effect of low temperature stress on MDA content in transgenic and non-transgenic rice seedlings

注:图中标有不同小写字母者差异显著($P < 0.05$),标有相同字母者差异不显著。下同。

Note: Different small letters indicated significant difference ($P < 0.05$). The same as below.

从图中可以看出,在低温胁迫2 d时,对照(CK)叶片中MDA含量迅速上升,较胁迫前增加了71.88%;而转*ICE1*基因水稻(T₄₋₈和T₄₋₉株系)叶片中MDA含量只是略有升高,与胁迫前相比分别升高29.06%和30.22%。在低温胁迫2 d以后,对照(CK)MDA含量随冷处理的延长而继续升高,但转

分吸收受抑制,导致 CK 水稻氮素含量明显减少;转基因水稻氮素含量变化不大,可能是 *ICE1* 基因过量表达使水稻体内相关的抗冷蛋白活性提高,从而维持良好的细胞膜质结构,以响应低温对作物生长的影响,促进养分运输加快,保证养分的正常吸收利用。

10 d 水稻受冷害严重,导致细胞膜的选择透性失调,吸收养分功能受到严重损伤,养分含量明显下降;转基因水稻由于抗冷性增强,在一定的低温条件下仍然保持细胞膜的稳定透性,养分能够正常的吸收运输,水稻根部氮代谢过程未受到较大影响,从而保证了水稻根部氮素含量的相对稳定。

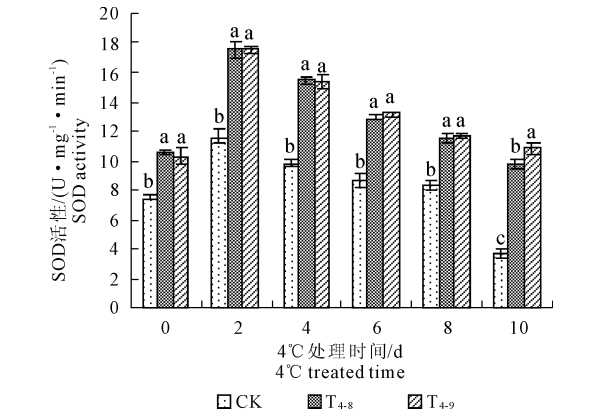


图 4 低温处理对转基因和非转基因水稻幼苗 SOD 活性的影响

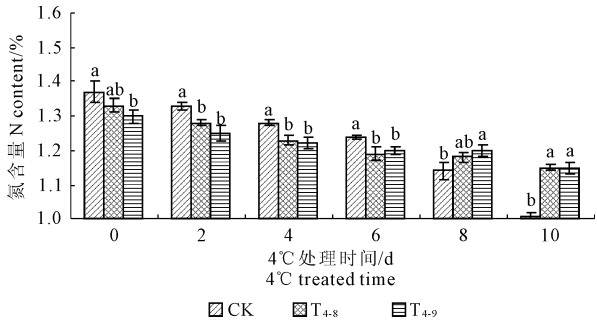


图 6 低温处理对转基因和非转基因水稻地下部分氮素含量的影响

Fig.6 Effect of low temperature stress on N content in under-ground part of transgenic and non-transgenic rice seedlings

Fig.4 Effect of low temperature stress on SOD activity in transgenic and non-transgenic rice seedlings

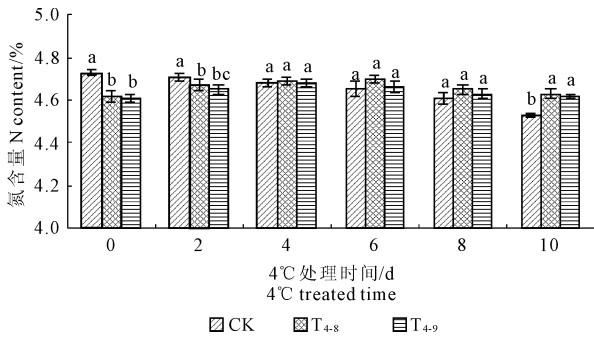


图 5 低温处理对转基因和非转基因水稻地上部分氮素含量的影响

Fig.5 Effect of low temperature stress on N content in above-ground part of transgenic and non-transgenic rice seedlings

由图 6 可以看出,在低温胁迫期间转基因与 CK 水稻地下部分氮含量差异达显著水平。与地上部分相似,CK 水稻地下部分氮含量起始值高于转基因水稻,在低温胁迫期间,CK 水稻根部氮的含量呈直线下降,0 d 氮含量为 1.37%,第 10 d 降到 1.01%,降幅比地上部分大。这可能是水稻根部对低温更敏感,根系受到的影响比地上部分大,低温胁迫时水稻体内分解代谢加强,能量合成减少,导致 CK 水稻根部氮素含量下降幅度较大;转 *ICE1* 基因水稻两个株系根部氮素含量波动较小,虽然低温处理后,氮含量也呈下降趋势,但降幅相对较小,第 10 d T₄₋₈和 T₄₋₉氮含量仍保持在 1.15%,与 CK 相比高出 13.86%,差异显著。CK 水稻在低温条件下,体内合成代谢缓慢,根部养分向地上部分的运输受阻,第

2.5 低温胁迫对转基因水稻幼苗磷素营养的影响

低温胁迫对转基因与 CK 水稻幼苗地上部分磷含量的影响与氮相似(图 7),随着低温胁迫时间的延长,CK 水稻植株磷素含量呈下降趋势;转 *ICE1* 基因水稻低温处理前磷含量低于 CK 水稻,但整个低温处理期间地上部分磷含量变化不大,说明低温对转基因水稻地上部分磷素的吸收、运输影响较小。温度是影响作物吸收磷素营养的重要因素,适宜的温度有利于磷的吸收和运输,低温影响了 CK 水稻对磷的吸收,使其体内含磷量降低,而转基因水稻由于抗寒基因的作用,对磷的吸收影响不大,保证作物体内的磷含量,又有利于提高作物的抗寒性^[5]。

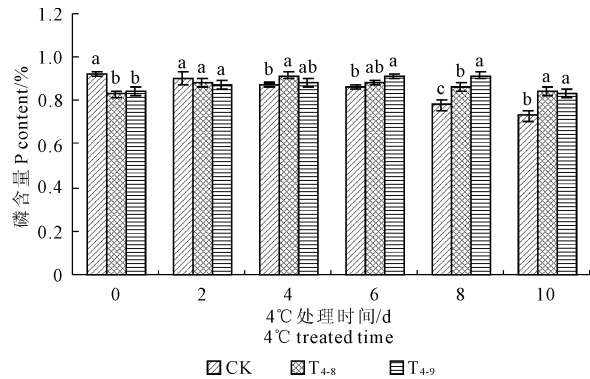


图 7 低温处理对转基因和非转基因水稻地上部分磷素含量的影响

Fig.7 Effect of low temperature stress on P content in above-ground part of transgenic and non-transgenic rice seedlings

如图 8 所示,未进行低温胁迫时转基因和 CK 水稻地下部分磷含量差异不显著,低温胁迫期间差

异达显著水平。在整个低温胁迫过程中,CK 水稻地下部分磷含量变化与氮相似,呈降低趋势,且降幅较大,磷含量由 0 d 的 0.51% 降至 10 d 的 0.26%;转基因水稻地下部分磷含量总体趋势表现为先略有升高再降低,在低温处理第 2 d 转基因水稻地下部分磷含量达到最大值,可能是由于植株体为了抵御低温冷害而表现出的一种适应性反应,其后磷含量下降,与 CK 相比,降幅相对较小。众所周知,磷具有提高作物抗寒性的作用,随着胁迫时间的延长,低温对水稻根系吸收磷的影响越来越大,导致 CK 水稻对磷的吸收能力显著下降,而转 *ICE1* 基因水稻由于抗冷性强受到的影响较小,二者差异在第 10 d 达到最大,转 *ICE1* 基因水稻(T_{4-8} 和 T_{4-9} 株系)根内磷的含量分别为 0.37% 和 0.39%,比 CK 水稻高出 42.31% 和 50.00%,差异显著,表明 *ICE1* 基因提高了水稻根系对磷的吸收能力。低温胁迫下,CK 水稻根部磷素吸收明显受影响,而转 *ICE1* 基因水稻由于抗冷基因的作用,抗冷性增强,磷的吸收维持在较高水平,提高了水稻的抗寒性。

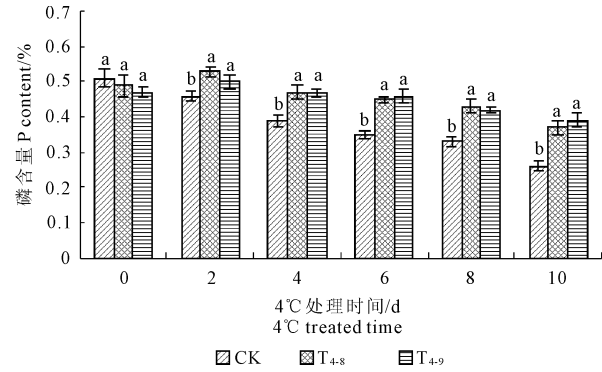


图 8 低温处理对转基因和非转基因水稻地下部分磷素含量的影响

Fig.8 Effect of low temperature stress on P content in under-ground part of transgenic and non-transgenic rice seedlings

2.6 低温胁迫对转基因水稻幼苗钾素营养的影响

图 9 表明,在低温胁迫期间,CK 水稻地上部分钾的含量呈下降趋势,且从第 8 d 开始大幅下降。而转 *ICE1* 基因水稻钾的含量呈缓慢下降趋势,且降幅较小,这充分保证了转 *ICE1* 基因水稻在低温下正常的生理代谢。在低温胁迫 2 d 后,转 *ICE1* 基因水稻地上部分钾的含量均高于 CK 且维持在较高水平。说明 *ICE1* 基因的过量表达可能有利于水稻对钾的吸收与利用。

转基因与 CK 水稻地下部分钾含量的变化与地上部分相似(图 10),随着低温胁迫时间的延长,钾含量均呈下降趋势。CK 水稻随着胁迫时间的延长钾的含量快速下降,第 10 d 降至 0.07%,说明 CK 水稻根细胞由于低温影响受到了严重伤害,基本失去

了对钾的吸收能力;而转 *ICE1* 基因水稻地下部分钾的含量下降缓慢,第 10 d 时钾含量仍显著高于 CK 水稻,两个转基因水稻株系钾含量均为 0.13%,高出 CK 85.71%;在低温胁迫 2 d 后,转基因水稻地下部分钾含量始终高于 CK 水稻,且维持在相对较高的水平。说明转基因水稻还未完全丧失对钾的吸收能力,转 *ICE1* 基因的过量表达能有效地维持根细胞的正常代谢,保证养分的有效吸收。

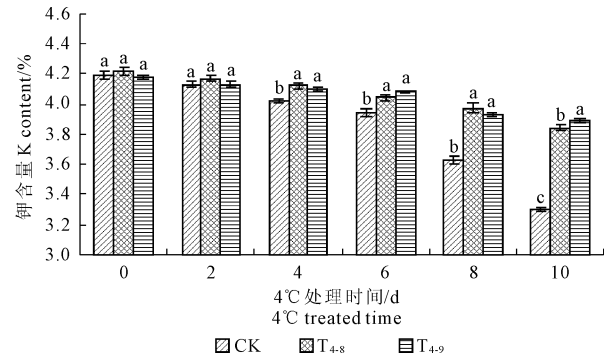


图 9 低温处理对转基因水稻和非转基因水稻地上部分钾素含量的影响

Fig.9 Effect of low temperature stress on K content in above-ground part of transgenic and non-transgenic rice seedlings

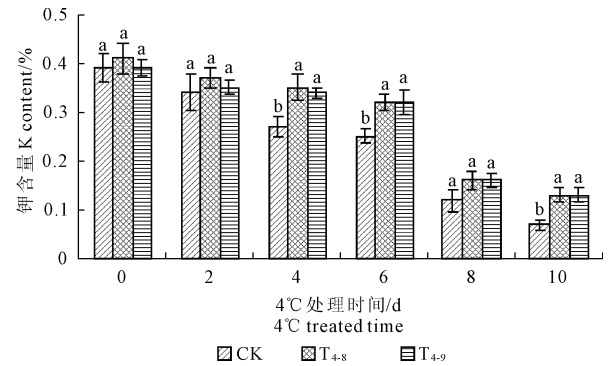


图 10 低温处理对转基因水稻和非转基因水稻地下部分钾素含量的影响

Fig.10 Effect of low temperature stress on K content in under-ground part of transgenic and non-transgenic rice seedlings

钾在提高作物抗逆性方面作用明显。钾能提高作物体内酶的活性,促进光合作用和光合产物的运输,钾能促进作物体内糖类物质、蛋白质、脂肪的代谢,提高作物的抗寒性^[6]。转 *ICE1* 基因水稻体内抗冷基因的过量表达,使水稻体内相关的抗冷蛋白活性提高,使水稻抗寒性进一步增强,对冷害具有一定的抵御能力,保证了水稻对钾营养的相对稳定吸收。

3 结论与讨论

2003 年,拟南芥 *ICE1*(Inducer of CBF Expression 1)基因被 Chinnusamy 等^[7]分离鉴定,拟南芥 *ICE1* 基

因是一种转录激活因子,在低温下被激活。*ICE1* 结合到 *CBF3* 启动子激活 *CBF3* 的表达,进而诱导其它冷诱导基因的表达^[2]。*ICE1* 蛋白中丝氨酸 403 在反式激活中起关键作用,有报道称丝氨酸 403 被丙氨酸取代可以增强 *ICE1* 活性,诱导冷诱导基因 *CBF3/DREB1A*, *COR47* 和 *KIN1* 的表达,说明 *ICE1* 基因在调节 *CBF/DREB1* 表达中起重要作用^[8]。在前期研究工作中我们已经获得了转 *ICE1* 基因水稻株系,转 *ICE1* 基因水稻表现出抗寒性^[3],转基因水稻表现出的抗寒性与植株体矿质养分吸收有无相关性,目前尚未有报道。

在正常生长条件下,水稻幼苗细胞内自由基的产生和清除一般处于平衡状态,产生的自由基水平较低,一般不会伤害细胞。当水稻幼苗在 4℃ 低温时,抗寒较差的水稻品种幼苗,就丧失了这种平衡,自由基增多,SOD 等保护酶系统被破坏,积累过多有害的过氧化产物,细胞膜受到伤害,膜脂过氧化,MDA 含量增加,严重时会导致水稻幼苗死亡。因此,在一定的低温范围内,SOD 的活性将上升,清除过多的自由基,保持植物体内自由基的产生和清除之间的平衡。近年来的研究表明,抗寒能力越强的品种,在低温胁迫下,其 SOD 的活性上升也越大,能更有力地清除细胞内积累的过多的自由基,保护幼苗免受自由基的伤害^[9]。本研究表明在冷胁迫条件下,转基因植株 SOD 活性高于非转基因植株,MDA 含量低于非转基因植株,转基因植株清除自由基的能力增强,维持细胞膜完整性能力增强,使转基因植株表现出很好的抗寒性。

根是植物吸收养分的主要器官,也是养分在植物体内运输的重要通道。低温使植物代谢活性降低,从而减少养分的吸收量^[10]。土壤温度过低明显影响养分的吸收和利用,同时也影响养分在植株体内的转化和代谢^[11]。本文的研究结果表明,转 *ICE1* 基因水稻在低温胁迫下表现出明显的抗寒性,这种抗寒性的增加与细胞抗氧化性增加,维持细胞膜完整性有关。在没有受到低温胁迫影响时,转基因水稻植株体内氮、磷含量略低于 CK,这可能是 *ICE1* 基因的导入改变了水稻的营养特性引起的,但对水稻生长影响不大。

在 4℃ 低温胁迫 10 d 中,转基因水稻与 CK 水稻幼苗地上和地下部分氮、磷、钾含量相比,变化趋势表现不同。转基因水稻地上部分氮、磷、钾含量变化不大,一直维持在相对较高水平;地下部分氮、磷、钾含量呈缓慢下降趋势,降幅较小。而 CK 水稻地上和地下部分氮、磷、钾均呈下降趋势,特别是在低温处理后期,含量明显低于转基因水稻。研究结果表明,低温对 CK 水稻养分吸收的影响非常明显。研

究还表明,在植株死亡之前,低温对水稻地上部分养分的含量影响相对较小,而对根系养分的吸收影响较大。根系是吸收利用养分的重要器官,根系对温度较为敏感。养分吸收需要消耗能量,低温胁迫后,作物体内代谢缓慢,能量合成减少,根系对养分的吸收明显减少,向地上部分的运输也减少,地上部分的生长基本停止,同时对养分的消耗也相对减少,从而导致了地上部分的养分变化相对较小。

低温胁迫前后转基因水稻地上部分氮、磷、钾含量变化不大;地下部分氮、磷、钾含量随胁迫时间延长虽有所降低,但降幅明显低于 CK。这可能是转基因水稻在低温胁迫中启动了某些抗性机制,维持植株体内的正常代谢,合成能量以保证根部养分的正常吸收和运输。从水稻根部氮、磷、钾含量来看,转基因水稻根部氮含量低温前 6 d 低于 CK,磷、钾含量一直高于 CK。低温胁迫条件下,为抵御低温,植株体内叶绿素等含氮化合物合成相对减少,氮素吸收也减少,而磷、钾有利于植株体内抗寒物质的合成,磷、钾的吸收相对增加。总之,转基因水稻在低温胁迫中由于 *ICE1* 基因的过量表达,启动了其它抗寒基因的表达,调节植物体内养分的吸收利用,维持了水稻的正常代谢,特别是植株体内磷、钾含量的提高有助于增强水稻的抗寒性,使其在低温胁迫条件下仍能维持水稻的生长发育。

参考文献:

- [1] 黄文功,向殿军,殷奎德.植物耐寒基因 *ICE1* 的克隆[J].黑龙江八一农垦大学学报,2006,18(2):16-18.
- [2] Theocharis A, Clement C, Barka E A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures[J]. Planta, 2012, 235: 1091-1105.
- [3] 向殿军,张瑜,殷奎德.农杆菌介导的转 *ICE1* 基因提高水稻的耐寒性[J].中国水稻科学,2007,21(5):482-486.
- [4] 李合生,孙群,赵世杰,等.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [5] 王贺正,陈明灿,贺文闯,等.磷钾对小麦幼苗抗寒性的影响[J].麦类作物学报,2009,29(1):141-14.
- [6] 司丛丛,刘好宝,曲平治.烟草钾离子通道及转基因烟草抗逆性的研究进展[J].中国农学通报,2010,26(2):45-49.
- [7] Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, et al. *ICE1*: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in Arabidopsis[J]. Genes and Development, 2003, 17: 1043-1054.
- [8] Miura K, Ohta M, Nakazawa M, et al. *ICE1* Ser403 is necessary for protein stabilization and regulation of cold signaling and tolerance[J]. Plant J, 2011, 67: 269-279.
- [9] 张海清,邹应斌,肖国超,等.抗寒种衣剂对早籼秧苗抗寒性的影响及其作用机理的研究[J].中国农业科学,2006,39(11): 2220-2227.
- [10] 陆景陵.植物营养学(上册)[M].第二版.北京:中国农业大学出版社,2003:178-179.
- [11] 北京农业大学.农业化学(第二版)[M].北京:中国农业大学出版社,2004:43.