

应用 ICP-MS 研究甲哌鎇对转 Bt 基因 抗虫棉棉籽中无机元素含量的影响

范希峰, 田晓莉, 李召虎, 何钟佩, 翟志席, 段留生*

农业部作物栽培与耕作重点开放实验室, 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094

摘要 应用 ICP-MS 系统检测了甲哌鎇处理对转 Bt 基因抗虫棉棉籽中各种无机元素含量的影响, 结果表明: ICP-MS 可以迅速、有效地检测出棉籽中 54 种无机元素的含量。其中 K, P, Mg, Ca, Na 五种人体必需宏量元素, 含量范围为 $138.3 \sim 13\,835.1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; 14 种人体必需微量元素含量范围为 $14.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \sim 81.7 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 从高到低依次为 Si, B, Mn, Sr, Zn, Ni, Cu, Mo, Fe, Co, Se, V, I, Sn; 五种重金属元素含量范围为 $0.1 \sim 455.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 从高到低依次为 Pb, Cd, Cr, As, Hg; 甲哌鎇处理显著降低了人体必需宏量元素 Ca、微量元素 Fe, Si, Mn, Co, Ni, Cu, I 含量; 重金属 Pb, Cd 和 Cr 含量分别降低 68%, 67% 和 54%, 均达显著水平, 对其他宏量、微量元素无显著影响。对于棉籽中的其他 30 种元素, 甲哌鎇处理显著提高了 La 等八种元素、降低了 W 等七种元素含量。这些结果表明, 甲哌鎇处理一定程度上增加了棉籽作为食用油的安全性。

关键词 ICP-MS; 棉籽; 甲哌鎇; 无机元素; 转 Bt 基因抗虫棉

中图分类号: O657.3, Q943 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)04-1119-04

引言

中国是当前世界上最大的棉花生产和加工国。棉籽是棉花生产的副产品, 我国每年生产棉籽约 6 000 000 t^[1]。棉籽仁含有丰富的蛋白质和脂肪等营养物质, 是人类宝贵的营养资源^[2]。剥绒后的棉籽仁含油率 18%~20%, 不亚于大豆。脱壳后棉籽仁含油率高达 35% 以上, 能够与花生、油菜籽媲美。在通常食用的棉籽油中亚油酸的含量高达 55.6%^[3]。2006 年我国棉籽油产量达到 1 250 000 t^[4]。以往研究中多重视棉籽中氨基酸和脂肪等营养成分种类和含量的分析^[5-7], 而关于棉籽中对人体有益和有害元素含量的研究较少。

甲哌鎇(缩节安, Mepiquat chloride) 是一种季胺盐类植物生长调节剂, 从 20 世纪 80 年代以来在世界各地棉花生产中广泛应用。在我国甲哌鎇化学调控技术已成为棉花高产优质栽培的关键措施。已有报道甲哌鎇处理能够增加棉仁中脂肪、全氮和氨基酸的含量^[8], 改变棉铃内源激素水平和促进碳水化合物化合物的积累和转化^[9], 但是甲哌鎇对棉籽中各种无机元素含量影响的报道较少。特别是近年来转 Bt 基因抗虫棉快速发展, 已成为国内外棉花栽培的主要品种, 甲哌鎇对棉

籽中各种无机元素含量的影响尚未见报道。

已有研究证明, 应用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)可以同时快速测定植物组织中多种元素的含量^[10-12]。本研究应用 ICP-MS 法测定了大田栽培条件下转 Bt 基因抗虫棉棉籽中多种无机元素含量, 并研究甲哌鎇应用对棉籽元素组成和含量的影响, 对棉籽综合利用和甲哌鎇作用机理研究都有重要意义。

1 实验部分

1.1 实验材料

实验于 2007 年在中国农业大学上庄实验站进行, 供试品种为转 Bt 基因抗虫棉国欣棉 6 号(*Gossypium hirsutum* cv. Guoxin 6), 由河北省河间市国欣农村技术服务总会提供。

实验设清水对照(CK)和甲哌鎇(MC)两种处理。处理时间按照目前棉花生产上的一般方法: 苗期(5月28日)、蕾期(6月20日)、初花期(7月12日)和盛花期(7月29日), 各次处理 MC 使用剂量分别为每公顷 1.5, 20, 40, 80 g, 各次处理药液量分别为每公顷 75, 150, 300 和 450 kg。采用完全

收稿日期: 2008-02-08, 修订日期: 2008-05-12

基金项目: 国家高技术研究发展计划“863”项目(2006AA10A213)和新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-06-0103)资助

作者简介: 范希峰, 1979 年生, 中国农业大学农学与生物技术学院在读博士研究生 e-mail: fanxifengcau@yahoo.cn

* 通讯联系人 e-mail: duanlsh@cau.edu.cn

随机区组设计, 重复 4 次。

各小区随机收获 500 g 籽棉, 用皮辊轧花机轧花, 把棉籽烘干, 粉碎后过 60 目筛待测。试验数据采用 SAS8.0 (PROC TTEST) 进行统计分析。

1.2 实验方法

样品预处理: 精确称取适量样品于石英消化杯中, 加入 HNO₃ (BⅧ级) 1.5 mL, H₂O₂ (BⅧ级) 0.5 mL 置于微波消解炉中消化。消解程序为: 150 ℃, 15 min, 功率 500 W; 200 ℃, 20 min, 功率 800 W; 100 ℃, 10 min, 功率 400 W。冷却后, 样品溶液转移至 10 mL 容量瓶, 定容。根据元素含量进行不同级稀释, 待测。

试验仪器: 电感耦合等离子体质谱仪 (PE-ELAN DR-CII, USA)。

电感耦合等离子体参数: 功率 (RF) 1 100 W; 冷却气流量 (Ar) 15.0 L·min⁻¹, 辅助气流量 (Ar) 1.80 L·min⁻¹; 载气流量 (Ar) 0.95 L·min⁻¹。

质谱仪参数: 分析室真空度 5.89×10⁻⁶ Pa; 脉冲电压 1 400 V。

测量参数: 分辨率 (10% 峰高): 0.8 amu (Nor), 0.6 amu (H); 停留时间 50 ms, 重复次数 3; 测量点峰 1; 循环次数为 20; 测量方式为质量扫描; 样品分析时间 30 s; 样品提升量为 1 mL·min⁻¹。

2 结果与分析

2.1 转 Bt 基因抗虫棉棉籽中无机元素的组成和含量

应用 ICP-MS 方法, 在转 Bt 基因抗虫棉棉籽中同时检测到 54 种无机元素, 如表 1~ 表 3 所示。其中人体必需的宏量元素五种, 从高到低依次是 K, P, Mg, Ca, Na; 人体必需的微量元素有 14 种, 从高到低依次是 Si, B, Mn, Sr, Zn, Ni, Cu, Mo, Fe, Co, Se, V, I, Sn; 重金属元素五种, 从高到低依次是 Pb, Cd, Cr, As, Hg; 其他无机元素 30 种, 分别为 Li, Rb, Sr, Al, Ba, Ti, Cs, Ga, Ge, Tl, Ce, La, Nd, U, Y, W, Pr, Be, Sb, Sm, Gd, Ag, Dy, Rh, Pd, Eu, Er, Yb, Tb, Ho。

2.2 甲哌鎇处理对棉籽中人体必需宏量元素和微量元素的影响

实验条件下, 使用甲哌鎇处理转基因抗虫棉, 除显著降低 Ca 元素含量外, 对棉籽中其他人体必需宏量元素 K, P, Mg 和 Na 影响不显著 (表 1)。

甲哌鎇处理对 B, Sr, Zn, Mo, Se, V, Sn 等人体必需的微量元素含量影响不显著, 显著降低了 Fe, Si, Mn, Co, Ni, Cu, I 等含量, 降低的比例分别为 48.2%, 25.8%, 7.9%, 26.4%, 81.7%, 48.3%, 26.1% (表 1)。

2.3 甲哌鎇处理对棉籽中重金属元素含量的影响

本实验中, 甲哌鎇处理显著降低了 Bt 棉棉籽中除 Hg 以外的重金属含量, Pb, Cd 和 Cr 含量降低的幅度分别为 68.0%, 67.0% 和 54.0%。对 Hg 和 As 的影响不显著 (表 2)。

Table 1 Effects of mepiquat chloride on contents of major inorganic elements, microelements in cotton seeds

	CK	MC	LSD(0.05)
P/(μg·g ⁻¹)	10 346.6	11 501.2	NS
Mg/(μg·g ⁻¹)	5 543.4	5 528.8	NS
K/(μg·g ⁻¹)	13 835.1	14 118.6	NS
Na/(μg·g ⁻¹)	138.3	137.1	NS
Ca/(μg·g ⁻¹)	843.4	715.2	112.1
B/(μg·g ⁻¹)	24.7	25.8	NS
Mn/(μg·g ⁻¹)	10.1	9.3	0.2
Fe/(ng·g ⁻¹)	133.7	69.2	15.8
Si/(μg·g ⁻¹)	81.7	60.6	16.5
Ni/(μg·g ⁻¹)	34.4	6.3	1.0
Sr/(μg·g ⁻¹)	5.9	5.4	NS
Cu/(μg·g ⁻¹)	23.6	12.2	0.6
Zn/(μg·g ⁻¹)	43.5	44.7	NS
Mo/(ng·g ⁻¹)	815.6	969.4	NS
Sn/(ng·g ⁻¹)	14.2	13.2	NS
Se/(ng·g ⁻¹)	39.3	40.1	NS
I/(ng·g ⁻¹)	31.1	23.0	6.9
Co/(ng·g ⁻¹)	122.5	90.2	18.2
V/(ng·g ⁻¹)	32.3	48.3	NS

注: LSD(0.05) 表示在 0.05 水平上的最小显著差数; NS 表示在 0.05 水平上差异不显著

Table 2 Effects of mepiquat chloride on contents of heavy metal elements in cotton seeds

	CK	MC	LSD(0.05)
Cr/(ng·g ⁻¹)	199.0	92.1	10.3
Hg/(ng·g ⁻¹)	0.1	0.1	NS
Pb/(ng·g ⁻¹)	455.3	145.1	29.4
As/(ng·g ⁻¹)	51.4	48.2	NS
Cd/(ng·g ⁻¹)	286.0	93.7	12.1

注: LSD(0.05) 表示在 0.05 水平上的最小显著差数; NS 表示在 0.05 水平上差异不显著

2.4 甲哌鎇处理对棉籽中其他无机元素含量的影响

对于棉籽中其他 30 种元素, 甲哌鎇处理比对照显著增加的有 Rb, Be, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd 等八种, 其中 La 增幅最高, 达 245.5%; 显著降低的有 Ge, Rh, Ag, Sb, W, U, Y 等七种元素, W 降幅最大, 达到 77%; 对其他 15 种元素的影响不显著 (表 3)。

Table 3 Effects of mepiquat chloride on contents of other inorganic elements in cotton seeds

	CK	MC	LSD(0.05)
Al/(μg·g ⁻¹)	5.7	7.3	NS
Ti/(μg·g ⁻¹)	0.8	0.8	NS
Rb/(μg·g ⁻¹)	13.3	14.1	0.6
Sr/(μg·g ⁻¹)	5.9	5.4	NS
Ba/(μg·g ⁻¹)	0.9	0.8	NS
Li/(μg·g ⁻¹)	37.5	40.5	NS
Be/(ng·g ⁻¹)	1.7	2.2	0.1

续表 3

Eu/(ng·g ⁻¹)	0 46	0 39	NS
Gd/(ng·g ⁻¹)	43 5	27 4	10 6
Rh/(ng·g ⁻¹)	0 6	0 3	0 2
Ag/(ng·g ⁻¹)	1 5	0 4	0 7
Pd/(ng·g ⁻¹)	0 5	0 5	NS
Sb/(ng·g ⁻¹)	2 9	1 3	0 6
Cs/(ng·g ⁻¹)	53 6	51 1	NS
W/(ng·g ⁻¹)	5 8	1 3	2 3
Tl/(ng·g ⁻¹)	29 0	31 2	NS
U/(ng·g ⁻¹)	7 9	5 1	1 0
Ga/(ng·g ⁻¹)	47 9	41 1	NS
Y/(ng·g ⁻¹)	5 3	3 5	1 2
La/(ng·g ⁻¹)	5 5	19 0	3 7
Ce/(ng·g ⁻¹)	12 3	32 7	5 6
Pr/(ng·g ⁻¹)	1 3	3 7	1 9
Nd/(ng·g ⁻¹)	6 3	17 8	0 8
Sm/(ng·g ⁻¹)	0 9	1 6	0 6
Tb/(ng·g ⁻¹)	0 1	0 1	NS
Dy/(ng·g ⁻¹)	0 6	0 7	NS
Ho/(ng·g ⁻¹)	0 1	0 3	NS
Er/(ng·g ⁻¹)	0 2	0 5	NS
Yb/(ng·g ⁻¹)	0 2	0 2	NS
Gd/(ng·g ⁻¹)	0 9	2 0	0 8

注: LSD(0 05)表示在 0 05 水平上的最小显著差数; NS 表示在 0 05 水平上差异不显著

3 讨 论

本实验应用 ICP-MS 检测了转 Bt 基因抗虫棉棉籽中多

种无机元素的含量,与分光光度法、原子吸收法和 MPT-AES 等方法^[13-15]相比,ICP-MS 可以同时检测棉籽中 54 种元素,方法快速、简便,并保持了较高的精确度。

实验结果表明,棉籽中含有人体所必需的宏量无机元素五种、微量元素 14 种。Zn、Cu、Co、Ni 和 V 五种宏量元素在常量下对作物和人体是营养元素,过量时则是有毒害作用^[10,16],检测到的五种元素的含量范围为 6 3~122 5 ng·g⁻¹。棉籽中还含有对人、畜和作物等有显著生物毒性的重金属元素五种,其中 Pb 和 Cd 的含量分别达到 455 3 和 286 0 ng·g⁻¹,含量偏高。大田试验条件下,使用甲哌鎇处理转 Bt 基因抗虫棉,显著降低了人体必需宏量元素 Ca、微量元素 Fe、Si、Mn、Co、Ni、Cu、I,同时显著降低重金属 Pb、Cd 和 Cr 的含量,对其他宏量元素、微量元素无显著影响。Mn、Co、Ni、Cu 等含量过高时有毒害的元素和重金属元素 Pb、Cd 和 Cr 含量的降低,表明甲哌鎇一定程度上增加了棉籽作为食油等来源的安全性。检测到的其他 30 种元素中,甲哌鎇还增加了 La 等八种元素含量,降低了 W 等七种元素含量,由于这些元素含量较低而且生物效应研究极少,对这些变化的生物学意义尚有待进一步研究。

甲哌鎇处理大幅度影响转基因抗虫棉棉籽中多种无机元素的含量,也可能与甲哌鎇处理后改变棉铃中生理生化过程和内源激素水平^[9]有关,因为这些元素在植物体内很多生理生化活动中起重要作用,如作为营养元素、辅酶等;同时这些生理生化活动可能也会影响不同元素的吸收、运输、分配和有效性。甲哌鎇调控棉花生长发育与无机元素间的内在联系和相互作用机制有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] LI Zhiqiang, TANG Jir quan, GU Dong(李志强,唐金泉,顾 东). Chinese Journal of Animal Science(中国畜牧杂志), 2005, 41(2): 47.

[2] TANG Mao zhi, HUANG Kun lun, ZHOU Ke, et al(唐茂芝,黄昆仑,周 可,等). Food Science(食品科学), 2006, 27(6): 216.

[3] SUN Jizhong, CHEN Bisheng(孙济中,陈布圣). Cotton Culture(棉作学), 1998. 439.

[4] CAO Zhi(曹 智). Agricultural Outlook(农业展望), 2007, 3(2): 22.

[5] DING Xuguang, HOU Dongyan, HUI Ruihua, et al(丁旭光,侯冬岩,回瑞华,等). Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室), 2005, 24(11): 57.

[6] HAN Ju, WANG Chunfang, XU Rongqi(韩 菊,王春芳,徐荣旗). Hebei Journal of Industrial(河北工业科技), 2000, 17(2): 27.

[7] HAN Ju, WEI Furxiang, PANG Jirxia, et al(韩 菊,魏福祥,庞津霞,等). China Oils and Fats(中国油脂), 2003, 28(10): 58.

[8] MIN Xiangjia, LIU Qi, HE Zhongpei, et al(闵祥佳,刘 启,何钟佩,等). Acta Agriculturae Universitatis Pekingensis(北京农业大学学报), 1991, 17(supplement): 27.

[9] HE Zhongpei, MIN Xiangjia, LI Piming, et al(何钟佩,闵祥佳,李丕明,等). Acta Agronomica Sinica(作物学报), 1990, 16(3): 252.

[10] RUI Yurkui, HAO Yailing, ZHANG Firsuo, et al(芮玉奎,郝彦玲,张福锁,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(10): 2111.

[11] YAN Pingmei, WANG Werrya, RUI Yurkui, et al(燕平梅,王文雅,芮玉奎,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(8): 1629.

[12] RUI Yurkui, GUO Jing, HUANG Kunlun, et al(芮玉奎,郭 晶,黄昆仑,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(4): 796.

[13] ZHANG Jirsheng, ZHAO Shuang, LI Lihua, et al(张金生,赵 爽,李丽华,等). Modern Instruments(现代仪器), 2005, 11(5): 26.

[14] LI Lihua, ZHANG Lijing, ZHANG Jirsheng, et al(李丽华,张丽静,张金生,等). Soybean Science(大豆科学), 2007, 26(2): 240.

- [15] DONG Hong-xia, ZHAO Xiao-song, SUN An-na, et al(董洪霞, 赵晓松, 孙安娜, 等). Journal of Jilin Agricultural University(吉林农业大学学报), 2005, 27(1): 79.
- [16] Costa Moreira Josino. The Science of the Total Environment, 1996, 188: 61.

Effects of Mepiquat Chloride on Inorganic Elements Contents in Seeds of Transgenic Insect Resistant Cotton Determined by ICP-MS

FAN Xifeng, TIAN Xiaoli, LI Zhaohu, HE Zhongpei, ZHAI Zhixi, DUAN Lirsheng*

Key Laboratory of Crop Cultivation and Farming System of the Ministry of Agriculture, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China

Abstract To evaluate the effects of a worldwide used plant growth regulator mepiquat chloride on the nutrition value and safety of seeds of transgenic Bt cotton, inorganic element components and contents in seeds of Bt cotton (*Gossypium hirsutum* cv. Guoxin 6) under field condition were determined using ICP-MS. In Bt cotton seeds, 54 kinds of inorganic elements were identified by ICP-MS, and 5 kinds of major elements, K, P, Mg, Ca and Na, were in range from 138.3 to 13 835.1 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. The contents of 14 kinds of microelements were determined as in descending order of Si, B, Mn, Sr, Zn, Ni, Cu, Mo, Fe, Co, Se, V, I and Sn, in the range from 14.2 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ to 81.7 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Five kinds of heavy metals were detected with the contents from 0.14 to 55.3 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$, and their order from high to low is Pb, Cd, Cr, As and Hg. Other 30 kinds of elements were also detected in Bt cotton seeds by ICP-MS, including Rb, Be, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Ge, Rh, Ag, Sb, W, U and Y. Foliar application of mepiquat chloride significantly reduced the contents of Ca, Fe, Si, Mn, Co, Ni, Cu and I, and remarkably decreased heavy metals Pb, Cd and Cr in the cotton seeds, by 68%, 67% and 54% respectively. While mepiquat chloride did not change the contents of most major and micro elements, it heightened 8 kinds, but lowered 7 kinds of the other 30 trace elements. This research indicated that mepiquat chloride application strengthened the security regarding the cotton seed as the material of cooking oil.

Keywords ICP-MS; Cotton seeds; Mepiquat chloride; Inorganic elements; Transgenic Bt cotton

(Received Feb. 8, 2008; accepted May 12, 2008)

* Corresponding author