

不同拟南芥磷营养效率的差异及其营养机理初探

阎秀兰^{1,2}, 徐芳森¹, 王运华^{1*}

(1 华中农业大学微量元素研究室, 湖北武汉 430070; 2 中国科学院地理科学与资源研究所, 北京 100101)

摘要: 将初步筛选出 3 个磷高效(01,03,05)和 4 个磷低效(02,04,06,07)共 7 个拟南芥在人工培养室营养液培养条件下进行培养,以低磷与适宜磷条件下种子产量的比值作为磷效率系数,结果证明,它们的磷效率系数与初步筛选结果一致。试验还表明,拟南芥苗期生物量的磷效率系数与种子含量的磷效率系数基本一致,即各拟南芥的磷效率差异在苗期已显现。在低磷胁迫条件下,磷高效的拟南芥幼苗比磷低效的拟南芥幼苗具有较长的主根,较大的根冠比值,较高的含磷量和磷积累量,较强的酸性磷酸酯酶活性,是其磷高效的可能机理。

关键词: 拟南芥 (*Arabidopsis* spp.); 磷效率; 营养机理

中图分类号: Q945.12

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2004)06-0625-04

Study on phosphorus efficiency of various *Arabidopsis* and its nutritional mechanism

YAN Xiu-lan^{1,2}, XU Fang-sen¹, WANG Yun-hua^{1*}

(1 Lab. of Microelement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2 Institute of Geographical Sciences and Natural Resources Research, CAS., Beijing 100101, China)

Abstract: Under the condition of greenhouse, three phosphorus efficient *Arabidopsis* and four phosphorus inefficient *Arabidopsis* obtained from several screening experiments were examined further using the criterion of phosphorus efficient coefficient, e.g. the ratio of yield at phosphorus deficient level to phosphorus normal level, with solution culture experiments. The results showed that the phosphorus efficient coefficient at seedling stage was identical to that at mature stage, which indicated that phosphorus efficient *Arabidopsis* showed the characteristics of phosphorus efficiency at seedling stage and it was effective to screen phosphorus efficient *Arabidopsis* at seedling stage. The nutrition mechanism of phosphorus efficient *Arabidopsis* might be attributed to longer root, higher ratio of root to shoot, more phosphorus accumulation, and higher activity of acid phosphatase at phosphorus deficiency.

Key words: *Arabidopsis*; phosphorus efficiency; nutritional mechanism

土壤有效磷低是农作物获得高产的主要障碍因子之一^[1]。传统上人们通过改良土壤和施用磷肥来改善作物的磷营养状况,但磷肥施入土壤后易被吸附、固定而成为难溶性磷,肥料利用率低;磷肥的施用也可能对土壤、水体等造成污染,因此,培育磷高效基因型作物日益得到重视。王运华等^[2]于 1997 年开展了甘蓝型油菜磷营养效率差异的研究,已在品种筛选鉴定,生理机制和遗传行为等方面取得了

进展;段海燕等^[3]比较了甘蓝型油菜不同磷效率品种苗期根系生长和无机磷含量和酸性磷酸酯酶活性的差异。拟南芥 (*Arabidopsis*) 因为其作为分子生物学研究中的模式植物^[4],已完成基因组测序,而且油菜和拟南芥同属十字花科芸薹属植物,有很近的亲缘关系,两者基因组间的同源性达到 85% 以上^[5]。本研究从 100 多个拟南芥生态型和突变体中初步筛选出 3 个磷高效拟南芥(01,03,05)和 4 个磷

收稿日期: 2003-11-13 修改稿收到日期: 2004-03-04

基金项目: 国家自然科学基金课题(30000099)资助。

作者简介: 阎秀兰(1978—),女,湖北枝江人,博士研究生,主要从事植物修复技术研究。* 通讯作者

低效拟南芥(02,04,06,07),探讨拟南芥不同生态型对低磷反应差异的形态学与生理生化机理。为进一步开展磷高效利用分子生物学研究及油菜磷营养性状的遗传改良提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

供试材料为 1 个拟南芥磷高效生态型(代号为 05),3 个为磷低效生态型(代号分别为 02,04,07),2 个磷高效突变体(代号为 01,03)和 1 个磷低效突变体(代号为 06),种子来源于拟南芥种质资源中心(<http://NASC.NOTT.AC.UK/>)。

营养液栽培试验,在人工培养室(室内光强 3000~4000lx、光周期 8~24/16~0 h、温度 20~24℃)中进行。设适宜磷(P 30mg/L, + P)和低磷(P 1 mg/L,CK)处理,重复 40 次。采用 H.C.阿夫道宁营养液,配方如下(g/L): NH₄NO₃ 0.240、MgSO₄ 0.500、Na₂HPO₄·12H₂O 0.100、NaH₂PO₄·H₂O 0.100、KCl 0.150、CaCl₂ 0.360、EDTA-Fe 0.025,另加入 Arnon 微量元素混合液 1 mL/L,经测定该营养液的 pH 值为 5.7 左右。试验采用塑料钵,容积 1.2L,钵外涂黑油漆遮光。先将种子播在纱盘上,待根系长出 2cm 左右将幼苗移栽入盛有营养液的塑料钵中,第 1 周使用 1/4 浓度的营养液,第 2 周开始使用 1/2 浓度的营养液。

1.2 采样与分析方法

对拟南芥的生长定期进行观察。幼苗移栽 3 周后测量根系长度,并分地上部和地下部取苗期样品,经(105±2)℃杀青 30min,70℃烘干称重,H₂SO₄-HClO₄ 消煮,ICP 测定磷与其它营养元素的含量;在幼苗移栽 3 周后取植株叶片采用 β-甘油磷酸钠法测定酸性磷酸酯酶活性。

待种子完全成熟后收获,风干称重,计算磷效率系数

磷效率系数 = 低磷处理的种子重量/施磷处理的种子重量。

2 结果与分析

2.1 拟南芥种子重量与磷效率系数

供试不同拟南芥的单株种子产量,在低磷条件下为 0.0173~0.0486g,在适宜磷条件下为 0.0611~0.1256g,其磷效率系数有着显著差异。根据磷效率系数的公式,磷效率系数值的大小,表明该拟南芥抗低水溶性磷胁迫能力的高低,数值大者为磷高效,

小者为磷低效。表 1 看出,01、03、05 为磷高效,02、04、06、07 为磷低效,初步筛选结果在本试验中得到进一步证实。

表 1 不同拟南芥生态型磷效率系数
Table 1 P efficiency coefficient of seven kinds of

代号 Code	Arabidopsis ecotypes		磷效率系数 P efficiency coefficient
	种子重量 (g/plant)	Seed weight	
	CK	+ P	
01	0.0441ab	0.0807e	0.546
02	0.0395b	0.1047c	0.377
03	0.0429ab	0.0611f	0.702
04	0.0486a	0.1256a	0.387
05	0.0468ab	0.0929d	0.504
06	0.0173c	0.0649f	0.267
07	0.0397b	0.1183b	0.335

注:不同字母表示差异达 5% 显著水平,下同。
Note: Different letters mean significant at 5% level, same as follows.

2.2 磷营养对不同生态型拟南芥苗期生长及磷效率的影响

2.2.1 磷营养对拟南芥苗期生长的影响 营养液培养试验 2 周后,不同拟南芥在外部形态上表现出磷营养效率的差异。低磷处理拟南芥幼苗出现植株矮小、细弱,子叶叶肉变厚,呈暗绿色等缺磷症状。随着时间的延长,子叶逐渐变黄而脱落,真叶出生迟,叶片小,暗紫色,缺乏光泽;侧根少,老根变褐。磷高效拟南芥较磷低效拟南芥的缺磷症状要轻得多。

在不同磷处理水平下,不同拟南芥地上部和根部的生物量也表现出适宜磷处理大于低磷处理(表 2)。可见,在低磷胁迫条件下,拟南芥地上部和地下部的生长均受到明显限制,而低磷时磷高效拟南芥地上部干重、地下部干重和单株重的影响要比磷低效拟南芥小,即按种子量计算的拟南芥的磷效率系数的高低与其苗期生物量的磷效率高低基本一致。

根冠比可以从另一侧面反映出不同磷效率拟南芥对低磷的反应,低磷处理条件下的根冠比均比适宜磷处理高,说明拟南芥在受到低磷胁迫时所吸收的磷营养,较多的供地上部生长,这也是植株在低磷胁迫条件下的适应性机理之一。同时不同拟南芥在低磷处理下的根冠比与适宜磷处理下的根冠比的增长率不同,磷高效拟南芥 01,03,05 的增长率分别为 7.9%,7.8%,8.1%,明显高于磷低效拟南芥 02、04、06、07 的增长率(0.8%,1.9%,0.7%,2.5%)。也说明磷高效拟南芥在低磷胁迫条件下可以更为有效地

利用环境中的磷营养,自我调节能力较强。

效拟南芥 01,03,05 在缺磷胁迫条件下的主根长度比施磷条件下长;而磷低效拟南芥 02,04,06,07 在缺磷胁迫条件下的主根长度比施磷条件下短。

2.2.2 不同磷浓度对拟南芥幼苗主根长的影响

表 3 看出,7 种拟南芥之间的主根长差异显著,磷高

表 2 磷营养对不同拟南芥苗期地上部、根部干重的影响
Table 2 Effect of P application on dry matter weight of shoot and root of *Arabidopsis*

代号 Code	地上部干重(mg/plant) Shoot dry wt.			地下部干重(mg/plant) Root dry wt.			植株干重(mg/plant) Plant dry wt.			根冠比 Root/Shoot		
	CK	+ P	CK / + P	CK	+ P	CK / + P	CK	+ P	CK / + P	CK	+ P	CK / + P
01	3.15	5.55	0.57	0.49	0.80	0.61	3.64	6.35	0.57	0.156	0.144	1.08
02	2.08	5.66	0.37	0.20	0.54	0.37	2.28	6.2	0.37	0.096	0.095	1.01
03	2.88	6.65	0.43	0.42	0.90	0.47	3.3	7.55	0.44	0.146	0.135	1.08
04	2.07	5.23	0.40	0.23	0.57	0.40	2.3	5.8	0.40	0.111	0.109	1.02
05	2.67	4.51	0.59	0.32	0.50	0.64	2.99	5.01	0.60	0.120	0.111	1.08
06	1.99	5.29	0.38	0.25	0.66	0.38	2.24	5.95	0.38	0.126	0.125	1.01
07	5.45	15.12	0.36	0.85	2.30	0.37	6.3	17.42	0.36	0.156	0.152	1.03

表 3 磷营养对拟南芥幼苗主根长的影响(cm)
Table 3 Effect of phosphorus on the length of roots of *Arabidopsis* seedlings

项目 Item	01	02	03	04	05	06	07
CK	6.68c	4.83e	5.92d	5.58d	8.50b	5.32de	10.25a
+ P	6.50c	6.42c	5.83cd	6.33cd	8.08b	5.50d	10.42a
CK/+ P	1.03	0.91	1.02	0.89	1.05	0.96	0.99

2.2.3 磷营养对拟南芥苗期磷吸收的影响 磷营养水平对不同拟南芥苗期的磷营养状况有显著的影响,适宜磷水平比低磷水平拟南芥的磷含量和磷积累量显著提高。表 4 看出,磷高效拟南芥和 04 其磷

含量提高的幅度大;而磷积累量则是磷低效拟南芥比磷高效拟南芥提高得多,这与提高磷营养水平后的干物质的增加呈正相关($r=0.881^{**}$)。

表 4 磷营养对拟南芥幼苗磷含量、积累量和磷酸酯酶活性的影响
Table 4 Effect of phosphorus on P content,accumulation and APase activity of *Arabidopsis* seedlings

代号 Code	磷含量(%) P content			磷积累量($\mu\text{g/plant}$) P accumulation			磷酸酯酶活性[Pi,mol/(min·g),DW] APase activity		
	CK	+ P	$\pm \%$	CK	+ P	$\pm \%$	CK	+ P	CK/ + P
01	0.858a	0.952a	9.9	31.23b	60.63c	48.5	0.495a	0.424a	1.17e
02	0.762c	0.808b	5.7	17.37f	51.87de	66.5	nd ¹⁾	nd	nd
03	0.876a	0.953a	8.1	28.91c	71.95b	59.8	0.671a	0.351b	1.91a
04	0.816b	0.972a	16.0	18.77ef	56.38d	66.7	0.546b	0.421a	1.30d
05	0.708d	0.978a	27.6	21.17d	49.00e	56.8	0.644a	0.397a	1.62b
06	0.873a	0.945a	7.6	19.56e	56.23d	65.2	nd	nd	nd
07	0.850ab	0.894b	4.9	53.55a	155.73a	60.9	0.551b	0.402a	1.37c

1) 因生物量偏低无法测定 No determined because low biomass.

2.3 不同拟南芥酸性磷酸酯酶差异的研究

综合分析了拟南芥磷含量、积累量和酸性磷酸酯酶的活性(表 4)可以看出,5 种拟南芥在低磷条件下无机磷含量均比适宜磷处理低,而酸性磷酸酯酶

活性有不同程度的增加,说明植物体内无机磷含量是酸性磷酸酯酶活性变化的诱导因子。而且与磷低效拟南芥相比,磷效率较高的拟南芥在低磷胁迫条件下酸性磷酸酯酶的活性较施磷条件下增加更多,

差异达极显著水平,说明磷高效拟南芥在低磷条件下可更好地重复利用有机磷化合物的分解产物,以维持植物生长。对磷效率系数、磷积累量和酸性磷酸酯酶活性三者作相关性分析,结果表明,磷效率系数和酸性磷酸酯酶活性之间呈正相关关系($r = 0.930^{**}$),磷积累量和酸性磷酸酯酶活性呈负相关关系,但差异不显著($r = -0.138$)。

3 讨论

3.1 不同拟南芥的磷效率及其对磷的吸收与积累的关系

在营养液培养条件下研究了不同拟南芥抗低水溶性磷胁迫的能力,以种子重量的磷效率系数表示(磷效率系数 = 低磷种子重量/适宜磷种子重量),此系数大为磷高效,抗低磷胁迫强,反之,此系数小为磷低效,抗低磷胁迫弱。通过试验,证明 01、03、05 为磷高效,02、04、06、07 为磷低效。

试验表明,不同拟南芥幼苗在低磷胁迫条件下,其生物量、磷含量和积累量等方面都表现有差异。幼苗单株生物量的磷效率系数的大小与种子重的磷效率系数大小基本一致。

在本试验条件下,磷营养高效可能与磷的利用效率(每一单位的磷能生产的种子量 $g/\mu g$)较高有关。例如,在低磷胁迫时,磷高效的 1 号,其利用效率为 1.412×10^{-3} ,高于磷低效 6 号的磷利用效率 0.885×10^{-3} 将近 1 倍;而磷利用效率又以磷的运输和分配为基础,故磷高效又与磷的运输和分配合理(向地上部运输特别是建成种子)有关。

3.2 拟南芥磷吸收与根部形态关系

根部形态发育影响作物的生长及对磷的吸收,发达的根系对磷的吸收具有极其重要的作用。具有纤细根、主根较长和侧根发达的植物,与营养介质有较大的接触面积,因而对磷的吸收也有更大的潜力。一般来说,低磷对地上部生长的抑制要比对根部大得多,根系生长量在低磷条件下相对增加,但并非绝对生长量大于正常供磷处理,此现象为低磷的典型反应^[6]。本研究表明,磷高效基因型比磷低效基因型的根冠比大,根系的生长状况好。

作物主根长也是研究根系常用的指标之一,主根长同样具有品种间的差异。本文研究表明,在磷效率不同的拟南芥之间,低磷处理和适宜磷处理的主根长之比存在差异,而且磷高效拟南芥(01,03,05)在低磷时的主根长比适宜磷时长,表现出根系较好的适应性。

3.3 不同拟南芥的酸性磷酸酯酶差异

酸性磷酸酯酶(APase)是植物体内比较重要的水解酶类之一,在碳水化合物的转化及蛋白质的合成中起着重要的作用,与植物体内磷的再利用有密切关系^[7]。Barrett-Lennard 等^[8]报道,在磷酸酯酶作用下,缺磷时植株可重复利用有机磷化合物的分解产物,以维持植物生长。对磷高效和磷低效拟南芥而言,酸性磷酸酯酶的差异主要体现在供磷量减少时酶活性的变化的程度上,低磷条件下,不同拟南芥的酸性磷酸酯酶的活性均有所增加,增加幅度表现为磷高效拟南芥大于磷低效拟南芥。

磷高效拟南芥在低磷胁迫条件下对磷利用效率高的实质是细胞进行各种生命活动的需磷量低或者植株体内磷的周转快,循环和再利用能力高,从而对耐低磷育种有着重要意义。

参考文献:

- [1] Atkinson D. Some general effects of phosphorus deficiency on growth and development[J]. New phytol., 1973, 72: 101-111.
- [2] 段海燕,王运华,徐芳森,刘慧. 不同甘蓝型油菜品种磷营养效率的差异研究[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(3): 241-245.
- [3] 段海燕,徐芳森,王运华. 甘蓝型油菜不同磷效率品种苗期根系生长及磷营养的差异[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 65-69.
- [4] 韩燕来,徐芳森,段海燕,等. 拟南芥养分离子转运蛋白研究进展[J]. 植物学通报, 2003, 20(1): 23-35.
- [5] Meinke D W, Cherry J M, Dean C *et al* . Arabidopsis thaliana: A model plant for genome analysis[J]. Science, 1998, 282: 662-682.
- [6] 林翠兰,曹一平,张福锁. 土壤与植物营养研究新动态(第一卷)[M]. 北京:北京农业大学出版社, 1992.
- [7] Besford R T. Phosphorus nutrition and phosphatase activity in the leaves of seven plant species [J]. J. Sci. Food Agric., 1979, 30: 281-285.
- [8] Barrett-lennard E G, Greenway H. Partial separation and characterization of soluble phosphatase from leaves of wheat grown under phosphorus deficiency and deficit[J]. J. Exp. Botany, 1982, 33: 694-704.