

DOI: 10.5846/stxb202006231634

陈冉红, 周梦岩, 李娇阳, 钟伟民, 吴鹏飞, 马祥庆, 李明. 蔗糖添加对杉木低磷胁迫响应和蔗糖代谢的影响. 生态学报, 2021, 41(16): 6588-6599.

Chen R H, Zhou M Y, Li J Y, Zhong W M, Wu P F, Ma X Q, Li M. Effects of sucrose addition on response of Chinese fir to low phosphorus stress and sucrose metabolism. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(16): 6588-6599.

蔗糖添加对杉木低磷胁迫响应和蔗糖代谢的影响

陈冉红¹, 周梦岩¹, 李娇阳¹, 钟伟民¹, 吴鹏飞^{1,2}, 马祥庆¹, 李明^{1,2,*}

¹ 福建农林大学林学院, 福州 350002

² 福建省杉木种质创新工程研究中心, 福州 350002

摘要: 为了揭示低磷胁迫下蔗糖对杉木低磷胁迫响应和蔗糖代谢的影响, 选用两种不同磷效率杉木家系 M32 和 M28 进行低磷胁迫下的蔗糖添加试验, 分析蔗糖添加对低磷胁迫下杉木形态特征、生理特性和低磷诱导相关基因表达的影响。结果表明: 蔗糖添加促进了低磷胁迫下杉木苗高、根长、根表面积、根平均直径、根体积、根叶组织蔗糖含量和根叶组织无机磷含量的增加, 但仍明显低于正常供磷处理下添加蔗糖处理的杉木增量。低磷促进杉木叶中花青素的积累, 而正常供磷和低磷胁迫下的蔗糖添加处理都显著促进了叶片花青素含量的增加。随着胁迫时间的延长, M28 与 M32 在根、叶组织的蔗糖含量存在显著差异, 且 M28 根叶组织中的蔗糖合成酶活性和蔗糖磷酸合成酶活性都高于 M32。蔗糖合成酶 *ClSuSy* 在 M28 和 M32 根系中受低磷胁迫诱导下调表达, 但蔗糖添加处理明显诱导 *ClSuSy* 表达量升高, M28 在正常供磷并添加蔗糖处理下的 *ClSuSy* 表达量显著高于其它处理。蔗糖转运蛋白 *SUT4*、磷转运蛋白 *ClPh1;4*、紫色酸性磷酸酶 *PAP1* 和 *PAP11* 在 M28 和 M32 根系中总体上受低磷胁迫诱导上调表达, 且受蔗糖添加处理诱导下调表达。低磷胁迫下, 添加或不添加蔗糖处理的 M32 根系 *SUT4* 的表达量均在 15d 时显著升高, 并在 45d 时回落到正常水平。*ClPh1;4* 和 *PAP1* 在低磷胁迫 15d 的表达量显著高于 45d 时的表达量, 且 *ClPh1;4* 在 M32 根系中的表达量远高于 M28。研究表明, 蔗糖对杉木低磷胁迫响应和糖代谢有重要的影响作用, 低磷胁迫下添加蔗糖处理能够在一定程度上缓解杉木低磷胁迫响应。

关键词: 杉木; 低磷胁迫; 蔗糖; 根系形态; 基因表达

Effects of sucrose addition on response of Chinese fir to low phosphorus stress and sucrose metabolism

CHEN Ranhong¹, ZHOU Mengyan¹, LI Jiaoyang¹, ZHONG Weimin¹, WU Pengfei^{1,2}, MA Xiangqing¹, LI Ming^{1,2,*}

¹ College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

² Fujian Engineering Research Center of Chinese Fir Germplasm Enhancement, Fuzhou 350002, China

Abstract: In order to reveal the effect of sucrose on the response to phosphorus starvation stress and sucrose metabolism of Chinese fir under low phosphorus stress, two Chinese fir (*Cunninghamialanceolata*) genotypes M32 and M28 with different phosphorus efficiency were selected for the sucrose addition experiment under low phosphorus stress, and the effects of sucrose addition on morphological and physiological characteristics of the Chinese fir under low phosphorus stress and gene expression related to low phosphorus induction were analyzed. The results showed that the addition of sucrose promoted the increase of Chinese fir seedling height, root length, root surface area, average root diameter, root volume, root and leaf tissue sucrose content, and root and leaf tissue inorganic phosphorus content under low phosphorus stress, but it was still

基金项目: 国家自然科学基金项目(31870614); 国家重点研发计划项目(2016YFD0600301); 杉木高世代良种造林示范(KLB17H07A)

收稿日期: 2020-06-23; **网络出版日期:** 2021-05-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: limingly@126.com

significantly lower than the normal phosphorus supply. Phosphorus starvation promoted the accumulation of anthocyanin in Chinese fir leaves, while the addition of sucrose under normal phosphorus supply and low phosphorus stress significantly promoted the increase of anthocyanin content in leaves. With the prolongation of stress time, the sucrose content in root and leaf tissue of M28 and M32 are significantly different, and the sucrose synthase activity and sucrose phosphate synthase activity in root and leaf tissue of M28 are higher than those of M32. The expression of sucrose synthase *ClSuSy* in the root of M28 and M32 was down-regulated by low phosphorus stress, but the addition of sucrose significantly increased the expression of *ClSuSy*. The expression of *ClSuSy* of M28 under the treatment of normal phosphorus supply and addition of sucrose was significantly higher than that of other treatments. Sucrose transporter *SUT4*, phosphorus transporter *ClPh1;4*, purple acid phosphatase *PAP1* and *PAP11* were generally up-regulated by low phosphorus stress in roots of M28 and M32, and down-regulated by sucrose addition treatment. Under phosphorus starvation stress, the expression level of *SUT4* in M32 roots treated with or without sucrose increased significantly at 15 days, and fell to normal levels at 45 days. The expression levels of *ClPh1;4* and *PAP1* under low phosphorus stress at 15 days were significantly higher than those at 45 days, and the expression of *ClPh1;4* in roots of M32 was much higher than that of M28. This study shows that sucrose has an important effect on the response of Chinese fir to low phosphorus stress and sucrose metabolism. The addition of sucrose treatment under low phosphorus stress can alleviate the response of Chinese fir to low phosphorus stress to a certain extent.

Key Words: *Cunninghamialanceolata*; phosphorus starvation; sucrose; root morphology; gene expression

磷是植物生长发育所必需的大量营养元素之一^[1]。由于我国南方森林土壤中铁、铝等金属离子的存在,以及土壤粘粒对磷的吸附作用,土壤中的无机磷大多以难溶性的磷酸铁、磷酸铝和被土壤粘粒包裹的闭蓄态磷的形式存在,很难到达林木根际被直接吸收利用,南方广大的人工林树种往往呈现长期缺磷状态^[2]。杉木(*Cunninghamialanceolata* (Lamb.) Hook.)是我国人工林造林面积最大的树种,其生长之快、单产之高、材质之好均居我国主要造林树种的首位^[3]。由于我国南方红壤区土壤有效磷不足且异质性分布,以及杉木多代连栽的经营方式对土壤有效磷的长期消耗,导致土壤有效磷养分不足成为限制杉木人工林产量和质量的重要因素之一^[4-5]。

蔗糖是植物光合作用终产物之一,不仅为植物形态建成提供了所需的碳源和生命活动的能量,还作为植物体内的重要信号分子调节植物的生长、发育以及植物的抗逆境反应,并与氮、磷等营养元素相互作用^[6]。蔗糖被认为是植物响应低磷胁迫的重要信号物质,低磷胁迫下韧皮部的蔗糖转运可能参与了低磷信号转导和磷转运、根系生长和根毛的产生、酸性磷酸酶的分泌与生长素的合成等代谢途径^[7-8]。低磷胁迫诱导了植物对光合同化作用的高需求过程,从而产生更多的碳源来满足根系生长、有机酸分泌和磷转运增强等代谢过程^[9-10]。低磷胁迫下,植物也可以通过调整糖酵解途径来降低对磷的消耗,并通过蔗糖浓度的变化来传递低磷胁迫信号,从而提高植物对低磷逆境的适应能力^[11]。低磷胁迫下环剥白羽扇豆韧皮部来阻断蔗糖运输后,其根系低磷诱导响应基因 *LaPT1*、*LaSAP1*、*LaMATE* 等的表达量显著下降,而添加蔗糖能够明显促进白羽扇豆排根增生^[12]。拟南芥蔗糖转运蛋白 *AtSUC2* 突变体根、茎中蔗糖含量明显高于野生型,更有利于其在缺磷时作出适应变化;*AtSUC2* 的缺失会降低植株低磷适应能力,而低磷胁迫下施加外源蔗糖时拟南芥体内大多数磷饥饿诱导基因上调表达,这一结果为蔗糖系统性调节植物适应低磷胁迫提供了证据^[8]。Tian 等研究认为,miRNA399 可能是植物长日照条件下光响应、磷稳态和蔗糖信号传递的潜在整合者,高水平的蔗糖抑制了拟南芥在低磷胁迫下 miRNA399 的积累,而外源蔗糖的补充也降低了低磷胁迫下 miRNA399 的表达^[13]。

因此,对拟南芥和水稻等模式植物的研究表明,外源蔗糖的添加会影响植物低磷胁迫信号的响应,并改变低磷胁迫下植物根系生长和磷饥饿诱导相关基因的表达^[8,10,14]。此外,磷高效和磷低效植物基因型在低磷胁迫下的蔗糖代谢也存在差异^[15-16]。低磷胁迫下磷高效型玉米品种 KH5 蔗糖含量高于磷低效型西 502,而耐低磷水稻品种在低磷胁迫的早期糖酵解途径增强,从而为侧根和根毛生长提供更多的物质和能量,不耐低磷

水稻品种在低磷胁迫早期糖酵解就开始减弱^[11,17]。课题组对杉木响应低磷胁迫的研究也显示,随着磷胁迫程度的加深,杉木根系糖类碳水化合物减少^[18]。低磷胁迫下杉木地上部和地下部蔗糖浓度的改变与其根系伸长、细根增生、有机酸分泌等低磷适应机制密切相关^[19]。杉木响应低磷胁迫下的根系转录组和蛋白质组分析也表明,淀粉和蔗糖代谢通路是杉木根系响应低磷胁迫的关键富集通路,蔗糖合成酶、葡萄糖苷酶等蛋白在杉木根系响应低磷胁迫中发挥着重要作用^[20-21]。作为低磷胁迫响应的信号物质,杉木地上部与地下部的蔗糖平衡会对其低磷胁迫响应具有怎样的影响呢?外源蔗糖添加会怎样影响杉木根系形态、磷转运、酸性磷酸酶分泌等低磷胁迫响应呢?

在对不同杉木家系磷利用效率研究的基础上,课题组筛选出两种不同磷效率杉木家系 M32 和 M28,不供磷处理下的磷利用效率分别为 $(1.09 \pm 0.02) \text{ kg/g}$ 和 $(0.73 \pm 0.06) \text{ kg/g}$ ^[22]。其中, M32 在低磷胁迫下根系增生不明显,主要通过加快体内磷素循环来抵抗磷胁迫逆境; M28 在低磷胁迫下能够通过根系增生和酸性磷酸酶的分泌来活化土壤磷。这两种具有不同磷素利用效率和特性的杉木家系是进行蔗糖添加下杉木低磷胁迫响应的良好材料。因此,本研究选用 M32 和 M28 分别进行低磷胁迫下的蔗糖添加试验,研究蔗糖添加对低磷胁迫下两种杉木家系形态特征、生理特性和低磷诱导相关基因的表达,研究结果有助于认识信号物质蔗糖参与杉木低磷胁迫响应调控网络的关键作用,为磷高效杉木基因型的选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验选用 1 年生 M32 和 M28 杉木家系容器苗进行沙培盆栽试验,采用 1/3 改良霍格兰营养液,浇水缓苗 7d 后进行低磷胁迫下的蔗糖添加试验^[23]。试验设置正常供磷 ($1.0 \text{ mmol/L KH}_2\text{PO}_4$) (+P)、低磷胁迫 ($0.1 \text{ mmol/L KH}_2\text{PO}_4$) (-P)、正常供磷+营养液添加 3% 浓度蔗糖 (+P+S)、低磷供磷+营养液添加 3% 浓度蔗糖 (-P+S) 4 种处理,每个处理 48 株幼苗,每隔两天每株浇 15mL 营养液,分别在培养 15d 和 45d 时进行收获。

1.2 形态测定

在处理 0d 和 45d 时测定每株参试杉木幼苗的苗高,计算苗高增量。使用 Expression 11000XL 数字化扫描仪对胁迫 0d 和 45d 的杉木根系进行扫描,并使用 WinRHIZO 植物根系分析软件分析根系形态参数,每个处理设置 3 次生物学重复。

1.3 生理指标测定

在处理 0d、15d 和 45d 时分别测定杉木幼苗根叶组织磷含量、蔗糖含量、蔗糖合成酶活性、蔗糖磷酸合成酶活性和叶片花青素含量,每个处理设置 3 次生物学重复和 3 次试验重复。其中,磷含量采用硫酸-高氯酸消煮提取,并使用电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP) 测定;花青素含量采用有机溶剂浸提法提取和测定^[24];蔗糖含量、蔗糖合成酶活性和蔗糖磷酸合成酶活性分别采用 Solarbio 检测试剂盒测定。

1.4 基因表达分析

根据杉木响应低磷胁迫的转录组和蛋白质组测序结果,筛选蔗糖合成酶 *ClSuSy*、蔗糖转运蛋白 *SUT4*、磷酸转运蛋白 *ClPh1*;4、紫色酸性磷酸酶基因 *PAP1* 和 *PAP11* 进行基因表达分析,具体引物见表 1。在处理 0d、15d 和 45d 时分别收获杉木幼苗根系,使用天根公司的 RNAprep Pure Plant Kit 试剂盒提取根样品的总 RNA,采用 Promega 公司的 Go-ScriptTM Reverse Transcription System 试剂盒进行反转录试验,合成杉木 RNA 样品 cDNA 第 1 条链,统一稀释至 $100 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 后用于荧光定量 PCR 试验。采用 $10 \mu\text{L}$ 荧光定量 PCR 体系 60°C 退火 30s, 72°C 延伸 30s,共 45 个循环; 95°C 30s, 60°C 30s,逐渐升温到 95°C ,速度 $0.11^\circ\text{C}/\text{s}$ 。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算目的基因的相对表达量,设置 3 次生物学重复和 3 次试验重复。

1.5 数据统计

数据统计分析采用软件 SPSS 12.0,图表绘制采用软件 Origin 8.5。

2 结果与分析

2.1 低磷胁迫下蔗糖添加对杉木苗高的影响

M28 和 M32 苗高增量在四种处理下均呈现出:正常供磷+蔗糖添加>低磷胁迫+蔗糖添加>正常供磷>低磷胁迫,低磷或正常供磷处理下添加蔗糖后 M28 和 M32 的苗高增量都有显著性提高,且正常供磷的苗高增量大于低磷处理的苗高增量,表明外源蔗糖添加和磷素营养均能够促进杉木苗高生长(图 1)。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequence

基因名称 Gnene name	序列(5'to 3')Sequence (5'to 3')
<i>Actin1</i>	F:CTCTCTCAGCACCTTCGAGCAG R:TCCACATACAACCGCTCCACTG
<i>ClSuSy</i>	F: ATGCCAGACACTGCTGGAC R: ACATTTCATTCTCCAAGGCAC
<i>SUT4</i>	F: AGTATCAGCCTTCGATGGCC R: AAGCCCTCCAAGCTTTTGAC
<i>ClPh1;4</i>	F: AGATTTTGGCTGGGCTTCG R: ACATAGCGCAATGATCGACTG
<i>PAP1</i>	F: ACCTGCTCGCACTGTTGG R: AGCTCCGAACATGAGAATTATCC
<i>PAP11</i>	F: ATGCTGATGATCACAAGTTTGAC R: AACCATGGCTCAAATACAACAC

2.2 低磷胁迫下蔗糖对杉木幼苗根系形态的影响

M28 与 M32 根系总长度增量都表现为:正常供磷+蔗糖添加>低磷胁迫+蔗糖添加>正常供磷>低磷胁迫,其中蔗糖添加处理的根系总长度显著大于无蔗糖添加处理,根平均直径增量、根体积增量和根表面积增量也呈现类似规律,表明蔗糖添加对低磷胁迫下的根系伸长和根直径增加有促进作用(图 2)。M28 与 M32 根长增量、根体积增量、根平均直径增量和根表面积增量存在显著差异性;M28 在添加蔗糖时根系增量显著高于无糖处理,而 M32 不显著,表明 M28 的根系形态更容易受外界蔗糖环境的影响。

2.3 低磷胁迫下蔗糖添加对杉木根叶组织磷含量的影响

M28 与 M32 根、叶组织磷含量存在显著差异,M28 根中磷的含量显著高于 M32,而叶中磷的含量低于 M32(图 3)。M28 与 M32 根、叶组织中磷含量都呈现为:正常供磷+蔗糖添加>正常供磷>低磷胁迫+蔗糖添加>低磷胁迫,供磷处理下的杉木根、叶组织磷含量都显著高于低磷胁迫处理。在供磷或低磷处理下,外源蔗糖添加都会增加杉木地上部与地下部的磷含量,这可能与杉木根部充足的蔗糖供给影响了杉木低磷信号传递有关,也可能是外源蔗糖添加能促进杉木韧皮部磷酸蔗糖的循环来提高植株的磷利用率。

2.4 低磷胁迫下蔗糖添加对杉木叶片花青素含量的影响

M28 与 M32 叶片花青素相对含量表现为:低磷胁迫+蔗糖添加>正常供磷+蔗糖添加>低磷胁迫>正常供磷,两个家系在处理 15d 和 45d 后的花青素相对含量存在显著差异(图 4)。与正常供磷相比,低磷胁迫 15d 和 45d 诱导了 M28 叶片花青素相对含量显著性升高,而 M32 的叶片花青素含量与正常供磷处理差异不显著,

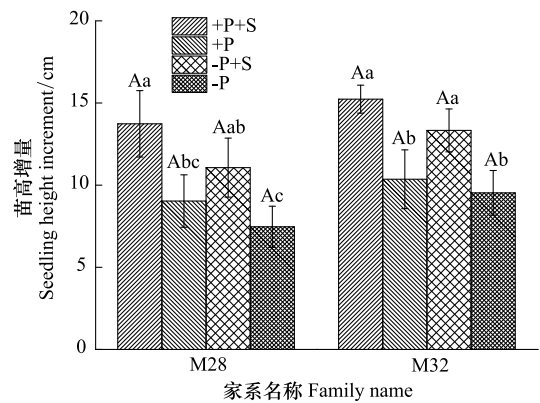


图 1 磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 苗高增量的影响
Fig.1 Effects of sucrose addition on the increment of height of M28 and M32 under phosphorus stress

不同大写字母表示同一处理不同家系间差异显著 ($P<0.05$);不同小写字母表示同一家系不同处理间差异显著 ($P<0.05$);+P:正常供磷($1.0\text{ mmol/L KH}_2\text{PO}_4$);-P:低磷胁迫($0.1\text{ mmol/L KH}_2\text{PO}_4$);+P+S:正常供磷+营养液添加 3% 浓度蔗糖;-P+S:低磷供磷+营养液添加 3% 浓度蔗糖;+P: Normal supply of phosphorus, -P: Low phosphorus supply, +P+S: Normal phosphorus supply + addition of 3% sucrose to nutrient solution, -P+S: Low phosphorus supply + addition of 3% sucrose to nutrient solution

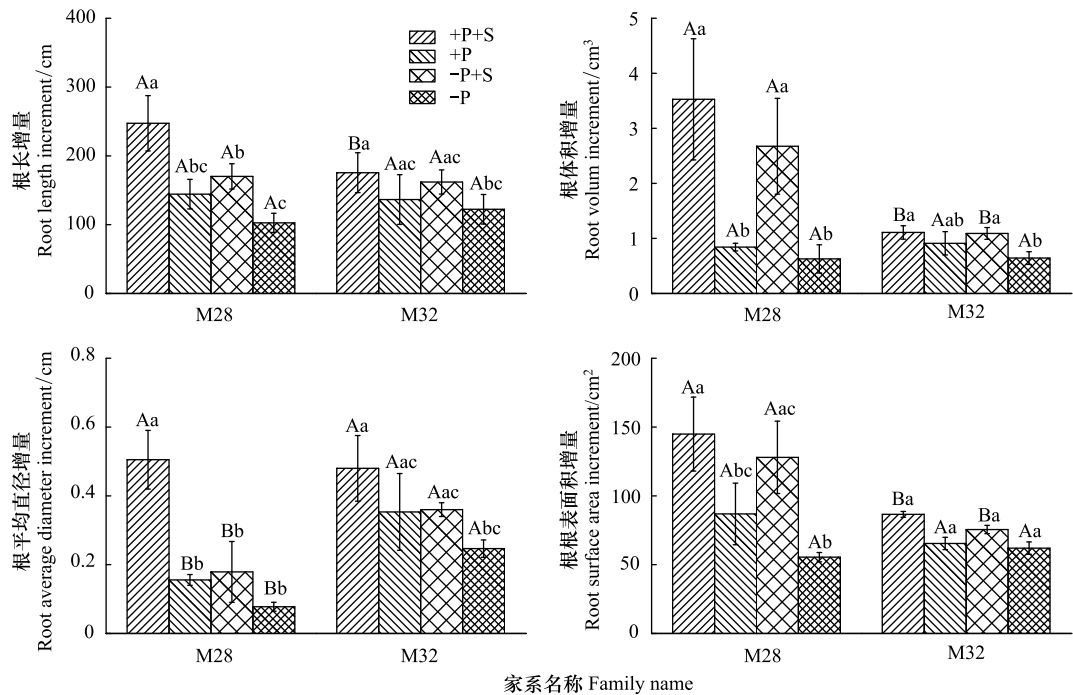


图 2 磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 根系生长的影响

Fig.2 Effects of sucrose addition on the root growth of M28 and M32 under phosphorus stress

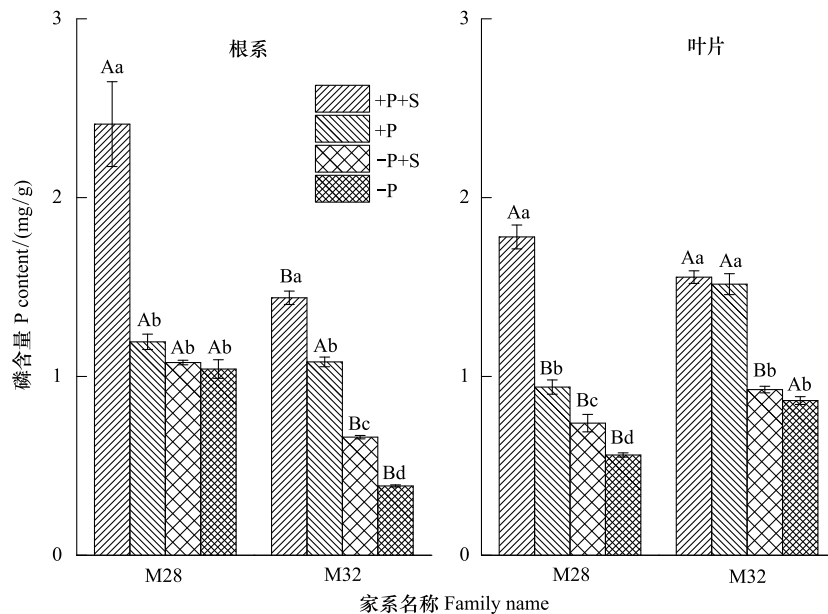


图 3 磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 根系和叶片磷含量的影响

Fig.3 Effects of sucrose addition on phosphorus contents in roots and leaves of M28 and M32 under phosphorus stress

显示 M32 叶片糖代谢过程对低磷胁迫较强的耐受性而不积累较多的糖苷。蔗糖添加处理下, M28 在低磷胁迫和正常供磷处理 15d 和 45d 时叶片花青素含量都差异显著, 且低磷胁迫下叶片花青素含量显著高于供磷处理; M32 在低磷处理 15d 和 45d 时叶片花青素含量都显著高于正常供磷处理。总体上, 蔗糖添加显著促进了杉木叶片花青素的积累。

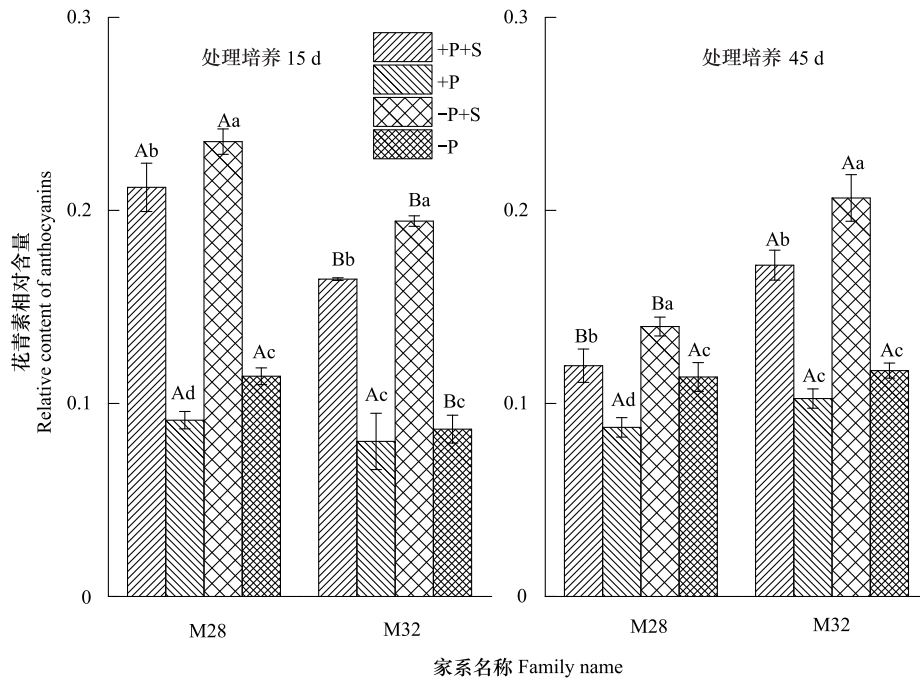


图 4 磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 叶片花青素相对含量的影响

Fig.4 Effectsof sucrose addition on relative anthocyanin contents of of M28 and M32 under Phosphorus Stress

2.5 低磷胁迫下蔗糖添加对杉木根叶组织蔗糖含量的影响

总体上,与正常供磷或低磷胁迫处理相比,分别添加蔗糖 15d 和 45d 处理显著提高了 M28 和 M32 根、叶组织蔗糖含量;相同供磷条件下 45d 时 M28 和 M32 根、叶组织蔗糖含量远高于 15d 处理,且 M32 家系变化更显著,表明胁迫时间的长短对于杉木体内蔗糖的储存有重要影响。M28 与 M32 根、叶组织蔗糖含量在相同处理条件下存在一定的差异,特别是处理 45d 时 M28 与 M32 根系蔗糖含量差异显著。随着胁迫时间的加长,在供磷以及供糖时两家系根叶比的蔗糖浓度在上升,且跟的蔗糖含量低于叶含量;缺磷时 M32 家系也是如此,而 M28 家系随着胁迫时间的加长根叶比的蔗糖浓度降低。

2.6 低磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 蔗糖合成酶活性的影响

试验处理 15d 和 45d 后,M28 和 M32 根、叶组织蔗糖合成酶活性在 4 种处理条件下大都存在显著性差异,且均为低磷胁迫处理下最高;添加或不添加蔗糖处理下,低磷胁迫下的杉木根、叶蔗糖合成酶活性显著高于正常供磷处理;M28 根、叶组织中蔗糖合成酶活性都显著高于 M32。M28 叶组织蔗糖合成酶活性在 45d 时明显降低,而 M32 随胁迫时间的变化很小。

2.7 低磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 蔗糖磷酸合成酶活性的影响

供磷或低磷处理 15d 和 45d 时, M28 在不添加蔗糖处理下的叶片蔗糖磷酸合成酶活性基本上都显著高于添加蔗糖处理;M32 也呈现出类似的规律(差异不显著),表明根部蔗糖的添加信号反馈减少了杉木叶片的蔗糖合成。在根系组织中,M28 在 4 种试验处理下的蔗糖磷酸合成酶活性都显著高于 M32;无论是否添加蔗糖,M28 在低磷时的活性显著高于供磷处理,而 M32 则差异不显著。

2.8 低磷胁迫下蔗糖对杉木 M28 和 M32 相关基因的 qPCR 的分析

蔗糖合成酶基因 *ClSuSy* 在杉木根系中受低磷胁迫诱导下调表达,受蔗糖添加诱导上调表达,在正常供磷+蔗糖添加处理时表达量最高,且在 M28 中表达量远高于 M32。蔗糖转运蛋白 *SUT4* 除了在中磷处理 15d 的 M32 根系中的表达量低于低磷+蔗糖添加处理外,总体上在 M28 和 M32 根系中的表达量受低磷胁迫诱导上调表达,受蔗糖添加诱导下调表达。磷转运蛋白 *ClPh1;4* 在 M32 根系中受低磷胁迫诱导上调,受蔗糖添加诱

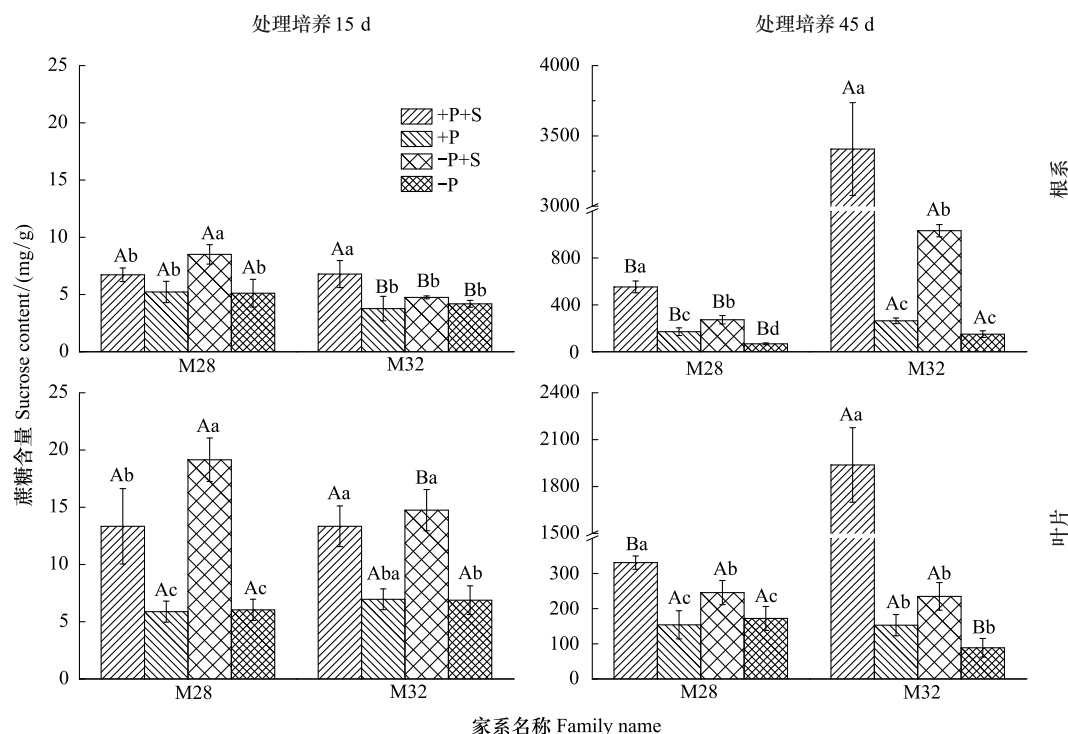


图5 磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 根系和叶片蔗糖含量的影响

Fig.5 Effects of sucrose addition on the sucrose content of the roots and leaves of M28 and M32 under phosphorus stress

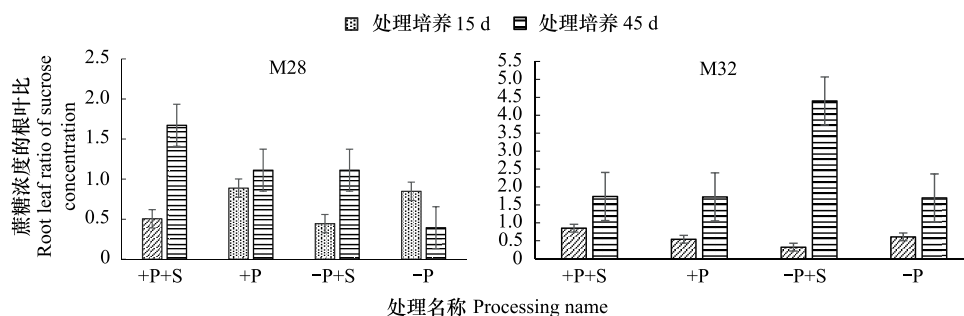


图6 磷胁迫下蔗糖添加下杉木 M28 和 M32 蔗糖浓度的根叶比

Fig.6 Root leaf ratio of sucrose concentration in M28 and M32 of *Cunninghamia lanceolata* under phosphorus stress

导下调表达,但在 M28 根系中的表达量变化规律不明显。紫色酸性磷酸酶基因 PAP1 在 M28 和 M32 根系中总体上受低磷胁迫诱导上调表达,在在低磷和低磷+蔗糖添加处理 15d 时表达量显著增加,但在胁迫 45d 时表达量又显著降低。PAP1 在 M28 和 M32 根系中受蔗糖添加诱导上调表达的规律不明显。紫色酸性磷酸酶基因 PAP11 在 M28 和 M32 根系中受低磷胁迫诱导上调表达。PAP11 在 M32 根系中和处理 45d 的 M28 根系中的表达量受蔗糖添加诱导下调表达,但在处理 15d 的 M28 根系中变化不规律。

3 讨论

蔗糖作为低磷胁迫响应信号是通过植物地上部和地下部在低磷胁迫下蔗糖浓度的变化来传递的,而外源蔗糖的添加改变了植物地上部和地下部的蔗糖浓度,也对植物低磷胁迫响应信号的传递产生了重要影响^[25]。植物在低磷环境中主要通过根系增生来增强对土壤磷的吸收能力,而外源蔗糖添加也直接影响了植物根系增

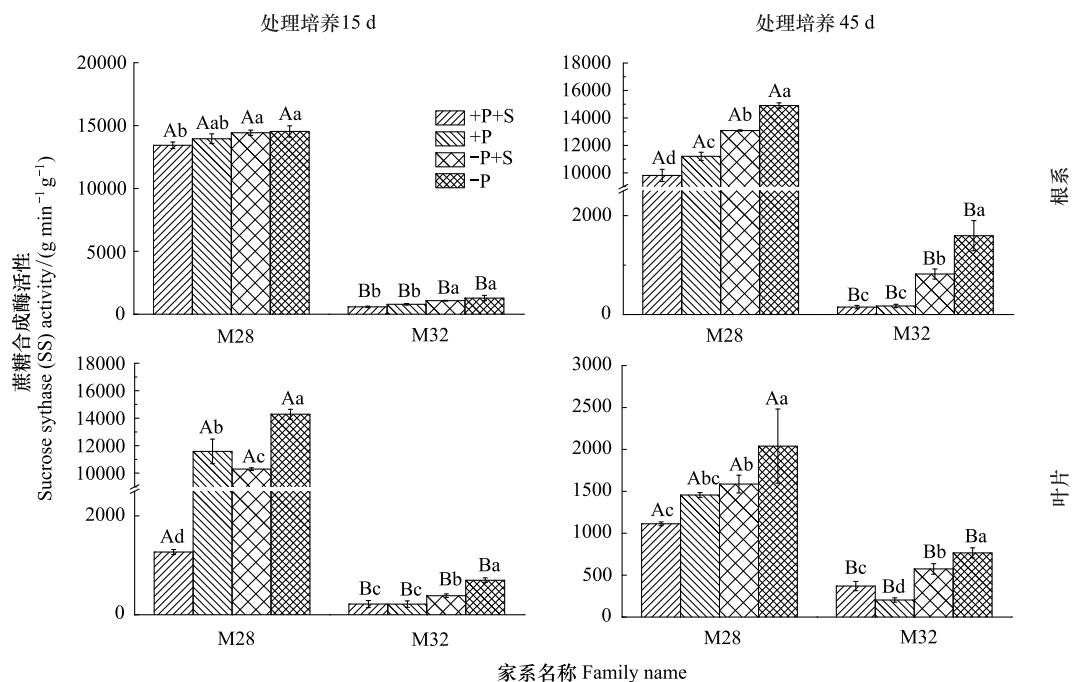


图7 磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 根系和叶片蔗糖合成酶活性的影响

Fig.7 Effects of sucrose addition on the sucrose synthase activity of the roots and leaves of M28 and M32 under phosphorus stress

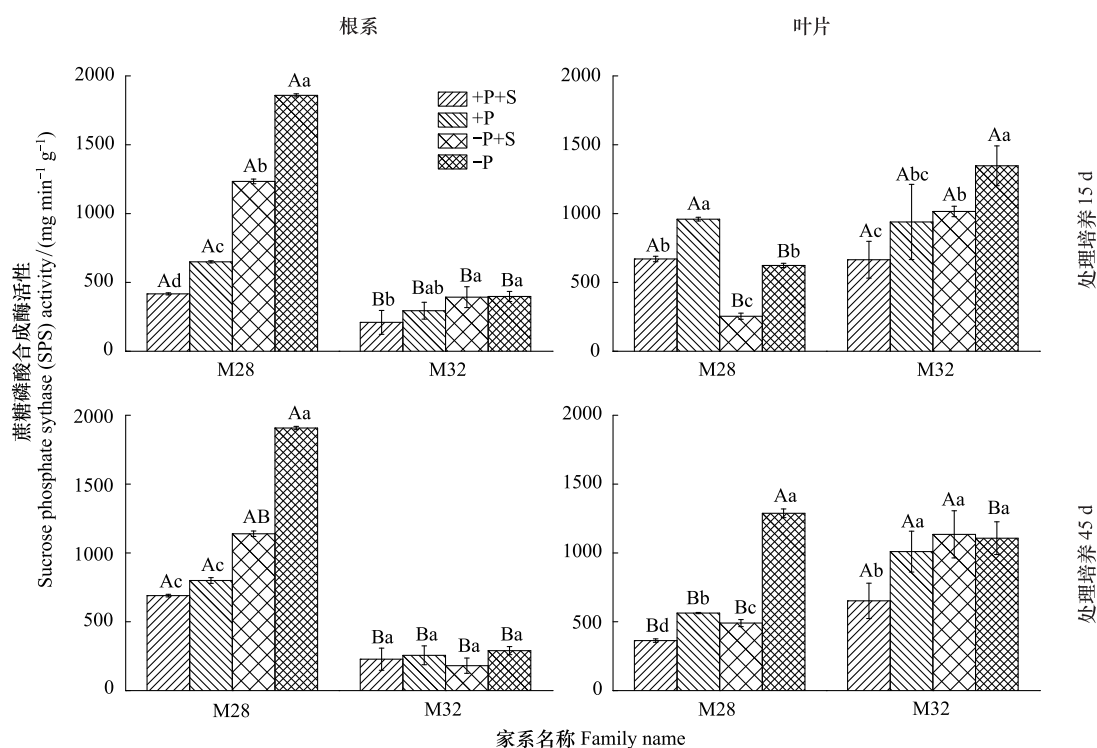


图8 磷胁迫下蔗糖添加对杉木 M28 和 M32 根系和叶片蔗糖磷酸合成酶活性的影响

Fig.8 Effects of sucrose addition on the sucrose phosphate synthetase activity of the roots and leaves of M28 and M32 under phosphorus stress

生时的碳源供给,从而影响着植物地上部和地下部根系生长、养分吸收、物质累积和相关基因的表达变化^[7-8]。孔令剑等研究表明,添加蔗糖处理促进了低磷胁迫下大豆根尖数量、根系生物量、根系蔗糖和磷含量

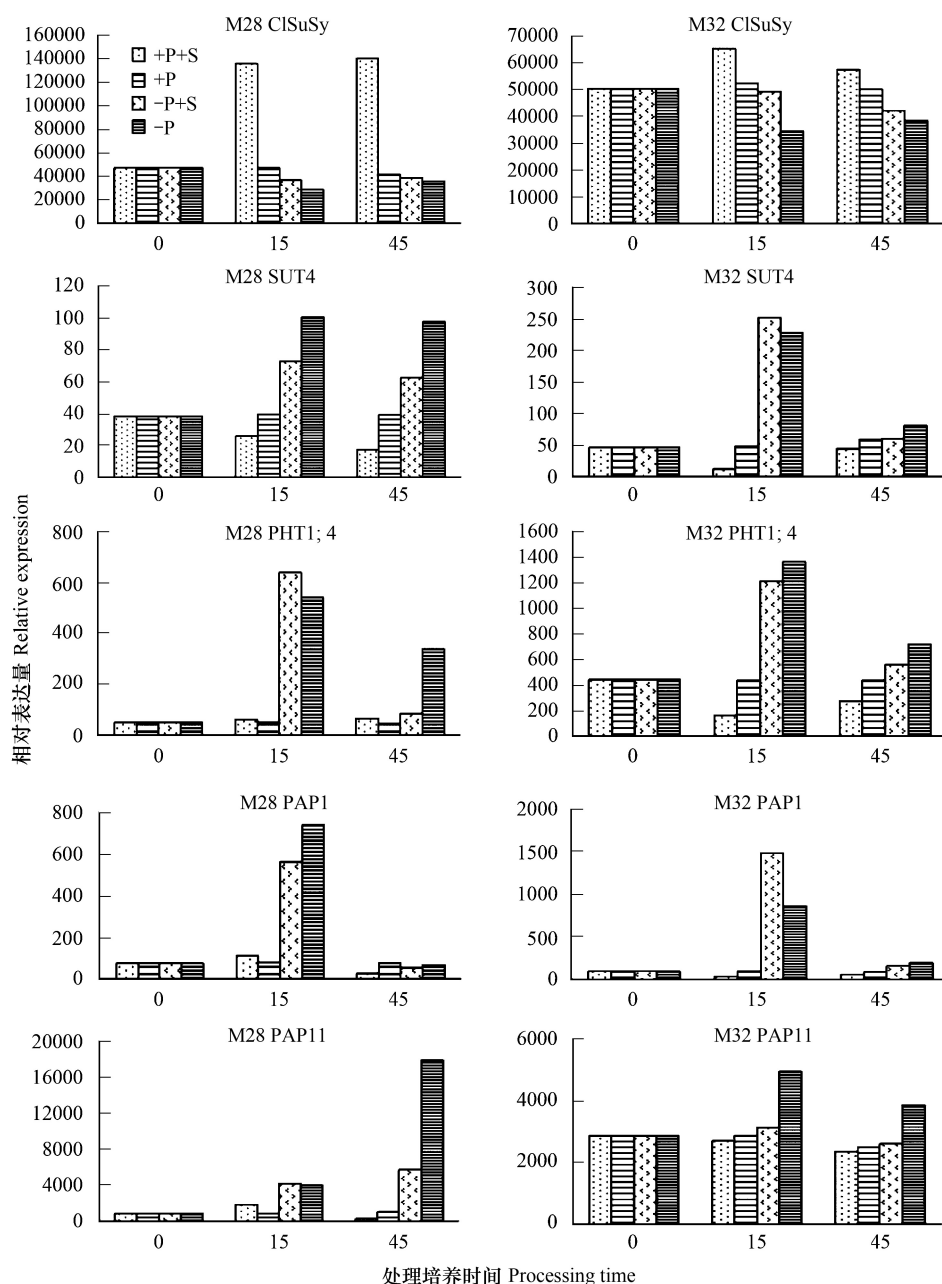


图9 基因 *CIsuSy*, *SUT4*, *CIPh1;4*, *PAP1* 和 *PAP11* 的相对表达量

Fig.9 The relative expression of *CIsuSy*, *SUT4*, *CIPh1;4*, *PAP1* and *PAP11*

的显著上升^[14]。苏军等研究发现低磷胁迫下添加蔗糖处理能够诱导水稻根系生长并改变根系形态结构,而在缺乏蔗糖添加下水稻根的生长受抑制,并认为磷和蔗糖协同调控着水稻根系形态和数量^[10]。本试验对低磷胁迫和蔗糖添加耦合处理 45d 的杉木 M28 和 M32 进行苗高和根系形态分析,结果显示外源蔗糖添加促进了低磷胁迫下杉木苗高生长、根系伸长和根直径的增加。这一结果与在大豆、水稻上进行的试验结果较为相似,均显示出低磷胁迫下外源蔗糖添加能够促进根系生长。在外源蔗糖添加作用下,即使处于低磷状态下杉木根系的生长依然超过正常供磷处理,表明杉木根系生长受外界磷和蔗糖的协同作用。

在供磷或低磷情况下,外源蔗糖添加都会增加两种杉木家系地上部与地下部的磷含量和蔗糖含量。低磷胁迫下,从叶到根的蔗糖转运增加是根系生长的必要条件,但是蔗糖向根系的转运和代谢是以磷酸蔗糖的形式通过韧皮部运输来实现的,因此蔗糖向根部的转运也会相应增加根细胞中的磷浓度^[26]。苏军等对水稻的

研究也表明,在正常供磷下添加蔗糖能够显著降低植株地上部和地下部的无机磷含量,而在低磷时添加蔗糖处理并不能影响植株磷水平,表明增加蔗糖供给能使磷在水稻体内的循环利用率增加,降低植株对磷的依赖^[10]。赵建琦等研究表明水稻在低磷环境下添加蔗糖可以增加其体内的磷含量与生物量,而这一现象的原因是蔗糖的添加诱导磷转运蛋白 *OsPT2* 的表达促进水稻体内磷的吸收利用^[27]。苏军等研究发现低磷胁迫下施加外源蔗糖能够影响水稻幼苗根系中 4 个磷转运蛋白下调表达,5 个磷转运蛋白上调表达,其中 *OsPT2*、*OsPT3*、*OsPT4*、*OsPT6* 对磷、糖的影响最为敏感^[10]。本试验中,杉木高亲和磷转运蛋白 *ClPht1;4* 在 M32 中受蔗糖添加诱导下调表达,但低磷胁迫下添加蔗糖依然能促进 M32 磷含量和生物量的增加,这可能是外源蔗糖添加能促进杉木韧皮部磷酸蔗糖的循环来提高植株的磷利用率,也可能是在蔗糖供给能够诱导其它 PHT 基因的表达来促进杉木磷的吸收。由于蔗糖添加能够有效促进根系生长,对于在低磷胁迫下主要通过根系增生来提高磷利用效率的 M28 家系,其根系能够获得更多的碳源来促进根系生长,因此外源蔗糖添加对 M28 磷素吸收和利用的促进作用大于 M32。蔗糖磷酸合成酶是植物体内蔗糖合成的关键酶,蔗糖合成酶则是能够促进蔗糖合成与分解的双向酶^[28]。孔令剑对低磷胁迫下的大豆进行了蔗糖添加处理,发现其根系蔗糖磷酸合成酶活性随着时间的增加而增强,而蔗糖合成酶活性则在磷高效大豆根系中活性增强,在磷低效大豆中表现出活性下降趋势^[29]。本试验中低磷胁迫下的杉木根、叶蔗糖磷酸合成酶和蔗糖合成酶活性基本都高于正常供磷处理,添加蔗糖处理下杉木根、叶蔗糖磷酸合成酶和蔗糖合成酶活性基本上都低于不添加蔗糖处理,表明低磷胁迫下蔗糖合成酶活性和蔗糖磷酸合成酶活性提高促进蔗糖的合成来满足植株对蔗糖的消耗需求,而外界蔗糖供给缓解了植株的蔗糖合成压力。蔗糖添加下杉木体内蔗糖含量的增加也导致了叶片花青素的累积,从而反馈给植物降低蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶的活性。

研究表明,低磷胁迫下外源蔗糖的添加能够改变植物根系磷饥饿诱导相关基因和蔗糖代谢相关基因的表达^[30-31]。Karthikeyan 等研究发现低磷胁迫下外源蔗糖的添加能够诱导拟南芥根系 UDP 葡萄糖磷酸化酶、IPS1、ACP5、PHT1 和 PHO1 一些家族成员表达量显著上升^[32]。本试验中,低磷胁迫下外源蔗糖的添加诱导了蔗糖合成酶 *ClSuSy* 上调表达,且在正常供磷并添加蔗糖下表达量最高。低磷胁迫下外源蔗糖的添加诱导了蔗糖转运蛋白 SUT4 在处理 15d 的 M32 根系中上调表达,但在 45d 时在两个家系中均下调表达。SUT4 的上调表达可以促进杉木根部吸收的外源添加蔗糖向地上部分运输,从而增加低磷胁迫下根系和叶片中的蔗糖含量^[33]。于新超等对碳水化合物代谢参与番茄低磷胁迫响应的研究表明,低磷胁迫下番茄植株地上部的光合作用受到影响,导致碳水化合物水平的改变,进而影响了蔗糖转运蛋白的表达及对蔗糖在植株的分配,最终影响了植株对低磷胁迫响应的不同^[34]。紫色酸性磷酸酶 PAPs 能够催化水解磷酸单酯和酸酐类有机磷并释放出无机磷,低磷胁迫下根系分泌 PAPs 是植物适应低磷胁迫的典型特征,植物体内紫色酸性磷酸酶也可以水解有机磷并释放无机磷^[35]。低磷胁迫下对水稻幼苗施加外源蔗糖处理,结果发现根系酸性磷酸酶的分泌受抑制,而磷酸转运酶活性增强,酸性磷酸酶基因 *OsSAP1* 在根中受蔗糖添加诱导下调表达^[10]。本试验中, PAP1 和 PAP11 受低磷胁迫诱导上调表达,低磷胁迫下受蔗糖添加的诱导表达量总体呈下调趋势,但在 15d 处理的 M32 根系中明显上调表达。这表明低磷胁迫诱导杉木根系分泌更多的紫色酸性磷酸酶来水解根际有机磷,外源蔗糖的添加干扰了低磷胁迫信号并影响了 PAP 的合成与分泌^[36]。

研究表明,低磷胁迫下外源蔗糖的添加对磷利用效率不同的两种杉木基因型 M32 和 M28 根系形态、生理和相关基因表达的影响不同。M28 在四种试验处理下的根系形态指标变化差异显著,而 M32 的根长和根表面积变化不大,这表明 M28 根系形态更容易受外界蔗糖和磷环境的影响。在不同糖磷供应处理下, M28 更易在根系中积累磷, M32 更易在叶组织中积累磷。杉木 M28 在正常供磷时施加蔗糖会降低其根系与叶片磷含量,而 M32 基因型却无明显变化。M32 在 15d 和 45d 低磷胁迫和正常供磷处理下叶片花青素含量差异不显著,显示其叶片糖代谢过程对低磷胁迫较强的耐受性而不积累较多的花青素。四种试验处理下, M28 根系中 *ClSuSy* 和 PAP11 表达量远高于 M32,但 SUT4、*ClPht1;4* 和 PAP1 的表达量远低于 M32,且低磷胁迫下两种杉木家系根中相关基因的表达随蔗糖添加的变化也存在一定的差异。孔令剑等研究表明,与磷高效大豆品种相

比,低磷胁迫下添加蔗糖处理对磷低效大豆品种根系生物量、蔗糖和磷含量的增强作用影响更显著^[29]。不同杉木家系磷效率的差异受植株对磷素吸收和利用能力决定,磷高效利用杉木基因型在低磷胁迫下具有更强的根系增生能力,酸性磷酸酶和有机酸的分泌能力,根系磷素吸收转运能力和体内磷素循环增强能力等^[37]。本研究结果表明,低磷胁迫下增加杉木根系的蔗糖供应,或者促进蔗糖向地下部分运输和分配,能够有效提高杉木对低磷胁迫的适应能力和磷素吸收效率。

4 结论

蔗糖添加促进了低磷胁迫下杉木 M28 和 M32 苗高、根长、根表面积、根平均直径、根体积、叶片花青素含量、根叶组织蔗糖含量和根叶组织无机磷含量的增加,但仍明显低于正常供磷处理下添加蔗糖处理的杉木增量。蔗糖添加促进了低磷胁迫下杉木 M28 和 M32 根、叶蔗糖磷酸合成酶和蔗糖合成酶活性降低。总体上,低磷胁迫下外源蔗糖的添加诱导了杉木 M28 和 M32 根系蔗糖合成酶 *ClSuSy* 上调表达,蔗糖转运蛋白 SUT4、磷转运蛋白 *ClPh1*;4、紫色酸性磷酸酶 PAP1 和 PAP11 下调表达。不同磷效率的杉木家系 M28 和 M32 对低磷胁迫下外源蔗糖添加的响应不同,M28 根系形态更容易受外源蔗糖添加的影响,M32 更易在叶组织中积累磷,M28 更易在根系中积累磷,且 M28 根叶组织中的蔗糖合成酶活性和蔗糖磷酸合成酶活性都高于 M32。M28 根系中 *ClSuSy* 和 PAP11 表达量远高于 M32,但 SUT4、*ClPh1*;4 和 PAP1 的表达量远低于 M32,且低磷胁迫下两种杉木家系根中相关基因的表达随蔗糖添加的变化也存在一定的差异。总体上,蔗糖对杉木缺磷胁迫响应和糖代谢有重要的影响作用,低磷胁迫下添加蔗糖处理能够在一定程度上缓解杉木缺磷胁迫响应,研究结果有助于认识蔗糖参与杉木低磷胁迫响应的关键作用,也为磷高效杉木基因型的选育提供了参考。

参考文献 (References):

- [1] 孙波,廖红,苏彦华,许卫锋,蒋瑞霖. 土壤-根系-微生物系统中影响氮磷利用的一些关键协同机制的研究进展. 土壤, 2015, 47(2): 210-219.
- [2] 苏烁烁,李明,吴鹏飞,张颖,马祥庆. 杉木磷转运蛋白基因 *ClPh1*;1 的克隆及表达分析. 林业科学, 2017, 53(5): 33-42.
- [3] 马祥庆. 杉木人工林连栽生产力下降研究进展. 福建林学院学报, 2001, 21(4): 380-384.
- [4] 张芸,李惠通,张辉,黄彬彬,刘春华,蒋宗培,马祥庆. 不同林龄杉木人工林土壤 C:N:P 化学计量特征及其与土壤理化性质的关系. 生态学报, 2019, 39(7): 2520-2531.
- [5] 许静静,李琦,吴文景,Rashid M H U,马祥庆,吴鹏飞. 垂直方向磷素竞争对杉木根系生长及生物量分配的影响. 生态学报, 2019, 39(6): 2071-2081.
- [6] 石永春,王旭,王潇然,金维环,田园,于海东. 蔗糖信号调控植物生长和发育的研究进展. 植物生理学报, 2019, 55(11): 1579-1586.
- [7] Dasgupta K, Khadilkar A S, Sulpice R, Pant B, Scheible W R, Fisahn J, Stitt M, Ayre B G. Expression of sucrose transporter cDNAs specifically in companion cells enhances phloem loading and long-distance transport of sucrose but leads to an inhibition of growth and the perception of a phosphate limitation. Plant Physiology, 2014, 165(2): 715-731.
- [8] Lei M G, Liu Y D, Zhang B C, Zhao Y T, Wang X J, Zhou Y H, Raghothama K G, Liu D. Genetic and genomic evidence that sucrose is a global regulator of plant responses to phosphate starvation in Arabidopsis. Plant Physiology, 2011, 156(3): 1116-1130.
- [9] 吴学能. 蔗糖转运蛋白基因在水稻响应磷素营养中的应用初探[D]. 南京:南京农业大学, 2015.
- [10] 苏军,张武君,杜琳,宋亚娜,付艳萍. 磷胁迫下蔗糖对水稻苗期根适应性和磷酸转运蛋白基因表达的影响. 中国生态农业学报, 2014, 22(11): 1334-1340.
- [11] 李利华. 水稻低磷胁迫基因表达谱分析[D]. 武汉:华中农业大学, 2009.
- [12] Liu J Q, Samac D A, Bucciarelli B, Allan D L, Vance C P. Signaling of phosphorus deficiency-induced gene expression in white lupin requires sugar and phloem transport. The Plant Journal, 2005, 41(2): 257-268.
- [13] Tian L, Liu H P, Ren L G, Ku L X, Wu L J, Li M N, Wang S X, Zhou J L, Song X H, Zhang J, Dou D D, Liu H F, Tang G L, Chen Y H. MicroRNA 399 as a potential integrator of photo-response, phosphate homeostasis, and sucrose signaling under long day condition. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 290-303.
- [14] 孔令剑,朱倩,单玉姿,谢甫锦,王海英,张惠君,赵明哲,敖雪. 蔗糖对低磷胁迫条件下大豆苗期根系形态和物质积累的影响. 大豆科学, 2018, 37(2): 239-245.

- [15] Hammond J P, White P J. Sucrose transport in the phloem; integrating root responses to phosphorus starvation. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(1): 93-109.
- [16] 贺鑫, 齐冰洁, 王敏, 孙艳楠. 低磷胁迫下燕麦不同磷效率品种生物量及磷素营养的差异. *分子植物育种*, 2019, 17(22): 7482-7487.
- [17] 孟新伟. 磷胁迫对不同磷效率玉米糖代谢的影响. *绿色科技*, 2010, (11): 45-46.
- [18] 于姣姣, 李莹, 殷丹阳, 周垂帆, 马祥庆. 杉木对低磷胁迫的响应和生理适应机制. *林业科学研究*, 2017, 30(4): 566-575.
- [19] Zou X H, Wei D, Wu P F, Zhang Y, Hu Y N, Chen S T, Ma X Q. Strategies of organic acid production and exudation in response to low-phosphorus stress in Chinese fir genotypes differing in phosphorus-use efficiencies. *Trees*, 2018, 32: 897-912.
- [20] Li M, Su S S, Wu P F, Cameron K M, Zhang Y, Chen W T, Ma X Q. Transcriptome characterization of the Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.) and expression analysis of candidate phosphate transporter genes. *Forests*, 2017, 8(11): 420-437.
- [21] 苏烁烁. 基于转录组测序的杉木磷转运相关基因的鉴定及表达分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2017.
- [22] 汪攀. 低磷胁迫下杉木根系形成通气组织与磷利用效率的关系研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- [23] 吴文景, 梅辉坚, 许静静, 马祥庆, 邹显花, 吴鹏飞. 供磷水平及方式对杉木幼苗根系生长和磷利用效率的影响. *生态学报*, 2020, 40(6): 2010-2018.
- [24] 杨巧玲, 金荣, 崔丹丹, 王玉萍. 低磷胁迫下四种双糖对马铃薯幼苗根系形态和生理的影响. *甘肃农业大学学报*, 2019, 54(6): 62-68, 75-75.
- [25] Zhang KW, Liu HH, Song JL, Wu W, Li KP, Zhang JR. Physiological and comparative proteome analyses reveal low-phosphate tolerance and enhanced photosynthesis in a maize mutant owing to reinforced inorganic phosphate recycling. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1): 129-144.
- [26] Kang J, Yu H P, Tian C H, Zhou W K, Li C Y, Jiao Y L, Liu D. Suppression of photosynthetic gene expression in roots is required for sustained root growth under phosphate deficiency. *Plant Physiology*, 2014, 165(3): 1156-1170.
- [27] 赵建琦, 吴学能, 曹越, 印洁, 孙淑斌, 徐国华. 缺磷条件下蔗糖对水稻磷素吸收利用起重要作用. *中国水稻科学*, 2013, 27(1): 65-70.
- [28] 张莉, 荐红举, 杨博, 张翱翔, 张超, 杨鸿, 杨鸿, 张立源, 刘列钊, 徐新福, 卢坤, 李加纳. 甘蓝型油菜蔗糖磷酸合酶(SPS)基因家族成员鉴定及表达分析. *作物学报*, 2018, 44(2): 197-207.
- [29] 孔令剑. 蔗糖处理下大豆苗期根系对低磷胁迫的响应[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
- [30] Zhou k Q, Yamagishi M, Osaki M, Masuda K. Sugar signalling mediates cluster root formation and phosphorus starvation-induced gene expression in white lupin. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(10): 2749-2756.
- [31] Karthikeyan A S, Varadarajan D K, Jain A, Held M A, Carpita N C, Raghothama K G. Phosphate starvation responses are mediated by sugar signaling in Arabidopsis. *Planta*, 2007, 225(4): 907-918.
- [32] 陈钢, 母天燕, 曹光球, 林强, 郑宏, 曹世江. 杉木蔗糖转运蛋白 sut 基因的克隆和功能分析. *西北林学院学报*, 2020, 35(2): 8-14, 86-86.
- [33] 于新超, 王晶, 朱美玉, 姜晶. 碳水化合物代谢参与番茄响应低磷胁迫的分子机制. *分子植物育种*, 2015, 13(12): 2833-2842.
- [34] 魏铭, 王鑫伟, 陈博, 宋程威, 杜亮, 肖建伟, 林金星. 植物紫色酸性磷酸酶基因家族功能研究进展. *植物学报*, 2019, 54(1): 93-101.
- [35] Xie L L, Shang Q M. Genome-wide analysis of purple acid phosphatase structure and expression in ten vegetable species. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 646-658.
- [36] 邹显花, 胡亚楠, 韦丹, 陈思同, 吴鹏飞, 马祥庆. 磷高效利用杉木对低磷胁迫的适应性性与内源激素的相关性. *植物生态学报*, 2019, 43(2): 139-151.