

甘蔗耐低磷基因型的筛选及其 部分生理特征的研究^{*}

万美亮 邝炎华

(华南农业大学生物技术学院, 广州 510642)

摘要 通过盆栽砂培试验, 浇灌含有不同磷浓度(1. 0, 0. 2, 0. 1, 0. 0 mmol/L)的 Hoagland 培养液, 以地上部生物量的相对变化为指标, 判别不同甘蔗基因型对低磷和缺磷的忍耐能力; 并研究了不同甘蔗基因型在低磷和缺磷条件下的光合能力、无机磷含量、酸性磷酸酯酶活性的变化。结果表明: 粤糖 57—423、热带种(badila)忍耐低磷和缺磷的能力较差, 粤糖 71—210、粤糖 85—177、粤糖 81—3454、桂糖 1 号忍耐低磷和缺磷的能力较强, 粤糖 79—177、粤糖 63—237、台糖 F—172、新台糖 10 号等居中; 台糖 F—134 只适应低磷条件。各基因型的单位叶面积净光合速率随供磷水平降低未见下降, 个别基因型反见升高; 单叶光合量随供磷水平降低而下降, 耐低磷基因型的单叶光合量下降不明显。叶片无机磷含量呈“稳态”现象, 酸性磷酸酯酶活性随供磷水平下降而升高。

关键词 甘蔗; 耐低磷基因型; 筛选; 光合速率; 酸性磷酸酯酶

中图分类号 Q 945

充分挖掘和利用作物本身的高效营养基因潜力, 利用抗瘠能力强的高产、优质作物品种, 减少化肥的使用, 是持续、高效农业发展的新方向。甘蔗是热带亚热带的最重要的糖料作物, 对磷素需求量多, 磷肥用量大。而热带亚热带的酸性土壤的有效磷含量低、磷素固定化严重、磷肥利用率不高。筛选抗低磷和缺磷能力强的甘蔗基因型, 研究其在低磷和缺磷逆境下的生理生化变化, 了解其耐低磷的生理生化机制, 是明确其遗传控制基础和运用现代生物学技术培育耐低磷的甘蔗新品种的前提。此文通过试验对不同甘蔗基因型的耐低磷能力进行比较, 筛选耐低磷的甘蔗基因型, 测定了部分生理指标; 为进一步研究其生理生化特征和利用耐低磷甘蔗品种提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

所用甘蔗品种由华南农业大学甘蔗研究室和中国轻工总会甘蔗糖业研究所提供。它们是: YT(粤糖)57—423、YT 63—237、YT 85—177、YT 71—210、YT 79—177、YT 81—3254、TT(台糖)F—172、TT F—134、XTT(新台糖)—10 号、XTT 1 号、GT(桂糖)1 号及 Badila[热带种(*Sacharum officinarum* L.)之一]。取中上部茎节, 截成 3 cm 长的单芽苗, 用多菌灵[$w(\text{多菌灵})=0.2\%$]浸泡消毒, 于砂池中育苗, 待苗至 4 叶期移作盆栽砂培。采用清洗过的河砂作基质, 各基因型内设 4 个磷水平, 即分别浇灌含有不同磷浓度(1. 0, 0. 2, 0. 1, 0. 0 mmol/L)的

Hoagland 培养液, 3 次重复, 随机排列于玻璃网室中. 自然气温和光照. 每 5 d 添加 1 次培养液, 中途酌情补充水分. 移栽时间: 1997—04—03. 6 月 6 日收获, 测定生物量, 以相对生物量为指标, 判别不同甘蔗基因型对低磷和缺磷的忍耐能力; 并测定了部分基因型的叶片光合速率、叶绿素含量、酸性磷酸酯酶活性的变化, 以探讨它们在缺磷和低磷条件下生理反应.

1.2 测定方法

1.2.1 酸性磷酸酯酶(APase)活性的测定 参照 McLachlan (1987) 的方法略作改动: 取植株的最嫩完全展开叶(youngest fully strenthed leaf), 去掉叶基和叶尖部分, 分取中脉两侧的叶洗净称其质量后快速冷冻, 一份用于测 APase (另一份用于测定无机磷含量), 样品加 5 ~ 10 倍的 0.2 mol/L 醋酸—醋酸钠 (pH 5.8) 缓冲液在冰浴中研磨匀浆, 10 000 g 冷冻离心, 上清液为酶测定液. 测定反应如下: 2 mL、3 mmol/L p-Npp(对硝基苯酚磷酸盐)+0.01 mL 酶液, 30 °C 黑暗中保温 15 min 后加 8 mL、0.2 mol/L NaOH 中止反应. 在 405 nm 处测定 O.D 值, 以无酶反应作空白调零. 以 O.D/g·min 表示酶活性.

1.2.2 无机磷(inorg.P)含量的测定 样品加 5~10 倍的 0.2 mol/L 的过氯酸冰浴研磨, 10 000 g 离心 10 min, 取 1 mL 上清液以钼锑抗法测定磷含量.

1.2.3 叶绿素含量、叶面积、光合速率的测定 叶绿素含量采用丙酮[φ(丙酮)=80%]提取、分光光度法测定; 叶面积用 LI-3000 型便携式叶面积仪测定; 光合速率使用 CI-301 CO₂ 分析仪测定.

1.2.4 生物量的测定 采用鲜质法, 重复测定 3 次.

2 结果与分析

2.1 不同磷水平下各基因型的生物量变化情况 (见表 1)

表 1 不同磷水平下各基因型的地上部生物量 ¹⁾ 变化情况 ²⁾					g/盆
基因型	c(磷)/(mmol·L ⁻¹)				
	1.0	0.2	0.1	0.0	
YT 57—423	151.13(100) a	135.37(89.6) ab	124.52(82.4) b	106.29(70.3) c	
YT 85—177	123.36(100) b	137.10(111) ab	146.05(118) a	115.38(93.5) b	
YT 71—210	190.28(100) a	186.32(97.9) a	208.99(100) a	175.87(92.4) a	
XIT 10 号	186.43(100) a	182.72(98.0) a	149.06(80.0) a	118.0(63.3) b	
TT F—134	116.91(100) b		165.54(142) a	159.98(137) a	
Badila	55.04(100) a	45.59(82.8) a	30.44(55.3) b	18.94(34.4) c	
YT 81—3254	181.2(100) a	191.4(106) a	166.28(91.8) a	163.49(90.2) a	
YT 79—177	174.92(100) a	164.54(94.1) a	184.93(106) a	112.59(64.4) b	
YT 63—237	155.82(100) a	161.76(104) a	152.35(97.8) a	139.51(89.5) b	
XIT 1 号	188.36(100) a	151.88(80.6) b	160.74(85.2) a	147.77(78.5) b	
TT F—177	170.59(100) a	160.05(93.8) a	168.34(98.7) a	140.98(82.6) b	
GT 1 号	157.57(100) a	160.74(102) a	173.30(110) a	164.49(104) a	

1) 生物量为鲜质量;
2) 表 1 数据为 3 次重复平均值, 同一基因型内地上部分生物量作方差分析和显著性检验, LSR, P<0.05, 同行有相同字母者为无显著性差异.

从表 1 可以看出,随着供磷浓度的变化,各基因型甘蔗的地上部生物量有不同的变化. 据此可以分为几个类型: (1)供磷浓度从 1.0 ~0.0 mmol/L 顺序降低时,生物量也随之顺序降低,低磷(0.1)和缺磷(0.0)时生物量显著低于供磷充足或正常供磷的(1.0),如 YT 57-423、热带种. 它们在磷素充足时生长较好,低磷条件下生长受到影响,是适应高磷条件下生长的基因型. (2)有些基因型当供应低磷时,生物量的降低并不显著,只在停止磷供应时,生物量的积累才受到影响,如 YT 79-177、YT 85-177、YT 63-237、TTF-172、XTT 10 号、XTT 1 号,与(1)组相比,它们适应磷供应水平范围较广,并能适应较低水平磷供应. (3)某些基因型在低磷供应时,植株生物量比高磷条件下甚至更高,缺磷并不显著影响生物量的积累,如 YT 71-210、YT 81-3254、GT 1 号,这些基因型能适应低磷条件下生长,而且对缺磷有较强的忍耐能力. (4)高磷影响生物量的积累,低磷条件或停止供磷植株生物量积累更大,如 TTF-134,该基因型只适应低磷条件下的生长.

2.2 低磷和缺磷情况下植株根生长量和根冠比的变化

由图 1、图 2 可以看出,随着供磷水平的降低,各基因型的根冠比都明显提高,耐低磷能力强的基因型的提高幅度更大;另外,耐低磷基因型的根生长量和根冠比的绝对值都要高于不耐低磷基因型的.

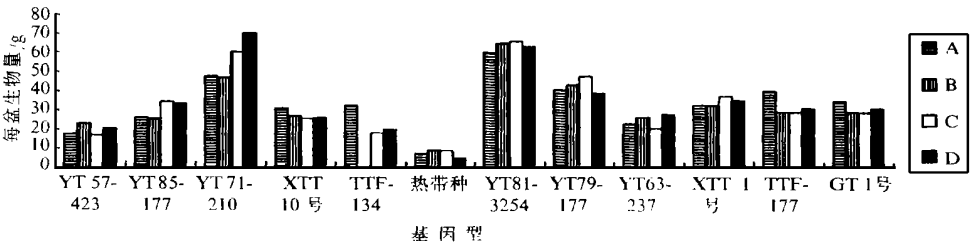


图 1 不同磷水平下(A: 1.0 mmol/L、B: 0.2 mmol/L、C: 0.1 mmol/L、D: 0.0 mmol/L)各基因型的根生物量(鲜质量)(g/盆)变化情况

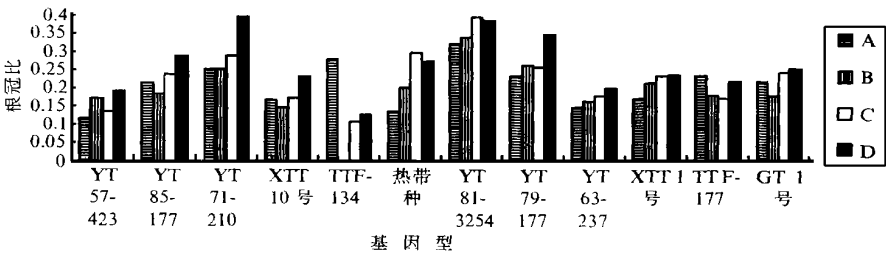


图 2 不同磷水平下(A: 1.0 mmol/L、B: 0.2 mmol/L、C: 0.1 mmol/L、D: 0.0 mmol/L)各基因型的根冠比变化情况

2.3 低磷和缺磷对不同基因型甘蔗光合能力的影响 (见表 2)

表 2 中有 5 个基因型,有耐低磷的、不耐低磷的和较耐低磷的. 随着供磷水平的降低,各

基因型的单位叶面积的净光合速率并未降低或有升高趋势, 统计分析表明除 YT71—210 外, 各基因型在不同供磷水平下的净光合速率的变化没有显著性差异 ($P>0.05$), YT 71—210 不供磷时单位叶面积的净光合速率显著高于有磷供应的 ($P<0.01$). 光合速率与蒸腾速率之间有正相关关系. 叶绿素含量随供磷水平降低有升高趋势, 在 YT 71—210、YT 85—177 表现较为明显. 在低磷和缺磷时, YT 57—423 的单叶面积明显减小, 而 YT 71—210、YT 85—177 的叶面积减小不明显甚至增大. 由于叶面积和单位面积光合速率的共同影响, YT 57—423、热带种、XTT 10 号的单叶光合量随供磷水平降低而降低, 而 YT 72—210、YT 85—177 的单叶光合量基本不下降.

表 2 不同供磷水平对甘蔗光合能力的影响¹⁾ ($X\pm SD$)

基因型	$c(\text{磷})/$ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	光合速率/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	蒸腾速率/ ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	功能叶面积/ cm^2	$w(\text{叶绿素})/$ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	单叶光合量/ ($\text{nmol}\cdot\text{s}^{-1}$)
YT 57— 423	1. 0	14. 99±3. 32a	3. 95±0. 80	202. 0±36. 43	0. 79	299. 8
	0. 2	16. 60±0. 21a	4. 30±0. 07	163. 0±41. 9		270. 6
	0. 1	18. 84 ±3. 55a	4. 75±0. 63	132. 0±28. 35	1. 888	248. 7
	0. 0	20. 46±3. 59a	5. 41±0. 68	104. 0±13. 53	1. 426	212. 8
YT 71— 210	1. 0	13. 30±1. 40a	3. 25±0. 21	224. 0±25. 54	1. 450	297. 9
	0. 2	12. 91±1. 30a	3. 25±0. 21	199. 4±15. 07	1. 471	256. 9
	0. 1	15. 57±0. 85a	3. 65±0. 21	203. 7±38. 08	1. 911	317. 1
	0. 0	19. 38±1. 48b	4. 27±0. 19	240. 5±36. 51	1. 921	465. 1
YT 85— 177	1. 0	15. 67±0. 94a	3. 23±0. 26	169. 0±6. 00	1. 749	264. 8
	0. 2	15. 70 ±1. 84a	3. 22±0. 36	149. 3±27. 23	2. 286	233. 9
	0. 1	17. 02 ±3. 22a	3. 36±0. 40	199. 6±39. 51	2. 097	338. 7
	0. 0	17. 43±2. 12a	4. 06±0. 76	146. 7±46. 07	2. 002	256. 2
热带种	1. 0	17. 31±1. 82a	3. 61±0. 36	88. 3±34. 4	1. 410	138. 5
	0. 2	19. 17±0. 52a	4. 48±0. 32	56. 5±32. 2	1. 451	96. 15
XTT 10 号	1. 0	16. 50±0. 64a	4. 25±0. 07	201. 7±7. 51	2. 080	333. 3
	0. 2	19. 25±1. 27a	3. 95±0. 61	194. 0±50. 2	2. 104	373. 5
	0. 1	17. 43±0. 32a	4. 37±0. 04	154. 0±31. 74	1. 724	268. 4
	0. 0	17. 15±3. 32a	3. 50±0. 28	149. 0±9. 90	1. 914	255. 5

1) 测定日期: 1997—05—25 晴, 光照强度: $955\sim1\,499\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 气温: $34.1\sim37.0\,^{\circ}\text{C}$; (光合速率在基因型内不同磷水平之间作方差分析和显著性检验, 数据右侧字母相同者为无显著性差异 $P>0.05$; 字母不同者有显著差异, $P<0.01$)

2. 4 供磷水平对酸性磷酸酯和无机磷含量的影响(见表 3)

在低磷和缺磷情况下, 甘蔗叶片内的无机磷含量只是些微降低, 表现出“稳态”现象(YT85—177 下降较多); 酸性磷酸酯酶活性随供磷水平降低而增强.

表 3 不同供磷水平对甘蔗酸性磷酸酯酶和无机磷含量的影响

基因型		$c(\text{磷})/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$			
		1.0	0.2	0.1	0.0
YT 57— 423	Apase ¹⁾	8. 80	—	14. 0	14. 8
	inorg. P ²⁾	330. 36	270. 91	350. 17	330. 36
YT 71— 210	Apase	—	9. 6	15. 2	17. 2
	inorg. P	389. 80	290. 73	290. 07	330. 36
YT 85— 177	Apase	—	10. 6	12. 8	10. 6
	inorg. P	320. 45	300. 63	226. 33	226. 33
TT F— 134	Apase	10. 0	—	11. 6	13. 6
	inorg. P	350. 17	—	330. 36	290. 73

1) APase—酸性磷酸酯酶活性 $[\mu\text{O. D}^{\circ}\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}]$; 2) Inorg. P—无机磷 $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$

3 讨论

(1) 植物耐低磷基因型的筛选是研究植物耐低磷机理的基础。磷营养缺乏胁迫引起植物形态和生理上的变化, 即与磷素吸收、活化、运转、利用、分布和再利用有关的形态和代谢过程, 它们都可以成为评价植物对低磷和缺磷反应的指标, 但最根本、最可靠的还是生物量的改变。对植物营养基因型的定义也是以生物量为指标的 (Gourley et al ; 1994)。筛选方法有溶液培养 (包括小容积、大容积及自动连续培养)、砂培、土培、细胞和组织培养。由于溶液培养中一般磷浓度较高且磷扩散快与土壤实际情况不符因而对耐低磷特性的筛选相对无效 (Gerloff , 1987), 土培又不利于精确控制磷浓度以及根系观察困难, 而砂培兼具二者优点。定期浇灌一定磷浓度的培养液, 便于控制磷的输入量, 设立一定的浓度梯度, 便于确定各基因型的最适磷供应量。筛选结果与用其它生理学特征如根系磷素吸收动力学参数判断的结果 (另文发表) 相符性较好, 下一步可用土壤试验来验证。

(2) 缺磷对光合作用的影响, 一般表现为负面效应 (周开勇等, 1993; 潘晓华等, 1997)。许多研究指出, 缺磷导致光合速率下降, 是因为磷不足影响了代谢过程, 如缺磷影响同化力的形成、卡尔文循环中酶的活性及 RuBP 的再生, 缺磷影响同化物的运输。但本试验结果表明, 低供磷情况下甘蔗叶片的单位叶面积的光合速率不仅没有下降, 个别基因型反有升高。究其原因可能是植株体调整适应的结果。低磷供应条件下植株碳氮代谢发生改变, 叶绿素含量升高, 局部的光化学反应能力增强; 甘蔗种茎贮藏有较多的磷, 磷供应降低时增加了对贮备磷的利用, 减轻了低磷和缺磷的影响。试验结果还表明供磷水平影响蒸腾速率, 更深层原因正在进一步研究。

(3) 酸性磷酸酯酶对磷的吸收、活化、体内磷的再利用有重要作用 (Duff et al, 1994), 植物根分泌的酸性磷酸酯酶可水解介质中的磷酸, 使其中的磷活化为植物所吸收利用; 植物细胞内的酸性磷酸酯酶则参与细胞内的磷“库”的运转。已有研究表明: 植物酸性磷酸酯酶与植物磷营养状况之间有密切联系 (McLachlan, 1984; Goldstein, 1988a; 1988b; 1989), 缺磷使植物体内和外分泌性的酸性磷酸酯酶活性增强, 并且诱导产生与缺磷特异相关的酸性磷酸酯酶同工酶酶带。有研究者认为, 酸性磷酸酯酶活性可以作为耐低磷品种筛选的一个生化指标 (丁洪等,

1997), 酸性磷酸酯酶活性在不同甘蔗品种(种)之间有很大差异(叶振邦, 1987). 但由于酸性磷酸酯酶的底物的相对非特异性, 植物体内含磷有机物的多样性, 酸性磷酸酯酶参与许多生理过程. 酸性磷酸酯酶与植物磷效率之间的关系尚未明确. 本试验结果表明甘蔗植株在低磷和无磷供应情况下能保持无机磷水平“稳态”, 满足生理活动所需的自由磷浓度, 与酸性磷酸酯酶的活性升高有关.

参 考 文 献

- 丁 洪, 李生秀, 郭庆元, 等. 1997. 酸性磷酸酯酶活性与大豆耐低磷能力的相关研究. 植物营养与肥料学报. 3(2): 123 ~ 127
- 叶振邦. 1987. 甘蔗不同品种(种)间叶片中酶活性的研究. 作物学报, 13(2): 157 ~ 162
- 周开勇, 陈升枢, 李明启. 1993. 不同磷营养水平对烟草叶片光合作用和光呼吸的影响. 植物生理学报, 19(1): 3 ~ 8
- 轻工业部甘蔗糖业科学研究所. 1991. 中国甘蔗品种志. 广州: 广东科技出版社, 1 ~ 50
- 潘晓华, 石庆华, 郭进耀, 等. 1997. 无机磷对植物叶片光合作用的影响及其机理的研究进展. 植物营养与肥料学报, 3(3): 201 ~ 207
- Duff S M G, Samath G, Plaxton W C. 1994. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. *Physiol Plant*. 90: 791 ~ 800
- Gerloff G C. 1987. Intact plant screening for tolerance of nutrient-deficiency stress. *Plant and Soil*, 99: 3 ~ 16
- Goldstein A H. 1988a. Phosphorus starvation inducible metabolism in *lycopersicon esculentum*. *Plant Physiol*, 87: 711 ~ 715
- Goldstein A H. 1988b. Phosphorus starvation inducible metabolism in *lycopersicon esculentum*. *Plant Physiol*, 87: 716 ~ 720
- Goldstein A H. 1989. Phosphorus starvation inducible metabolism in *lycopersicon esculentum*. *Plant Physiol*, 91: 175 ~ 182
- Gurley J P, Allan D L, Russelle M P. 1994. Plant nutrient efficiency: A comparison of definitions and suggested improvement. *Plant and Soil*, 158: 29 ~ 37
- McLachlan K D. 1984. Effects of drought, aging and phosphorus status on leaf acid phosphatase activity in wheat. *Aust J Agric* 35: 777 ~ 787

Studies on Screening for Low—Phosphorus—Tolerating Genotypes and some Relative Physiological Traits of Sugarcane

Wan Meiliang Kuang Yanhua

(College of Biotechnology, South China Agric. Univ. Guangzhou, 510642)

Abstract It had evaluated tolerance of several sugarcane genotypes to low or no phosphorus supply, according to relative changes of biomass, by addition of nutrient solution with different level of phosphate (1.0, 0.2, 0.1, 0.0 mMol/L in Hoagland solution) to sandy culture in pot trial; meanwhile, the changes of photosynthesis ability, inorganic phosphate concentration and acid phosphatase activity in leaves were