

小麦亲缘种属添加系耐低磷胁迫性状 鉴定与基因染色体定位

齐珊珊,白福强,夏 晴,张玉丹,郑雅月,刘金燕,刘文轩

(河南农业大学生命科学院,郑州 450002)

摘要:采用苗期缺磷和全营养对照处理,以70个中国春—野生亲缘种属二体添加系及中国春为材料,根据苗期表观遗传性状、磷吸收率和利用率相对生物量对其进行耐低磷胁迫能力筛选鉴定和基因染色体定位。结果表明:大麦4H和长穗偃麦草7E染色体上携带有耐低磷胁迫的优异基因;长穗偃麦草6E、黑麦1R和6R、卵穗山羊草4U[#]和6M[#]、易变山羊草4S^v染色体携带促进小麦根系生长发育的基因;拟斯比尔托山羊草5S和簇毛麦4V染色体分别携带高磷吸收率和磷利用率的基因。通过染色体工程技术,可以将携带耐低磷胁迫基因的外源染色体片段导入普通小麦,为小麦耐低磷胁迫育种和了解植物耐低磷胁迫的分子机理奠定基础。

关键词:小麦;异源添加系;耐低磷胁迫;染色体定位

Identification of Tolerance to Low Phosphorus Stress in Wheat-relative Addition Lines and Location of its Related Genes on Chromosome

QI Shan-shan, BAI Fu-qiang, XIA Qing, ZHANG Yu-dan, ZHENG Ya-yue, LIU Jin-yan, LIU Wen-xuan

(College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)

Abstract: Seventy alien chromosome addition lines of wild wheat-relatives at the seedling stage are screened in this study to identify their tolerance to low phosphorus stress under phosphorus-deficiency and phosphorus-sufficient conditions. On the basis of relative-biomass examination of young shoots and roots, phosphorus efficiency, phosphorus uptake efficiency and phosphorus utilization efficiency, the addition lines related to high phosphorus efficiency were identified and the related genes are located on chromosome 4H of *Hordeum vulgare* and 7E of *Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. Genes related to accelerating root growth are located on chromosome 6E of *Agropyron elongatum*, 1R and 6R of *Secale cereal* L., 4U[#] and 6M[#] of *Ae. geniculata* and 4S^v of *Ae. variables*. In addition, genes related to high phosphorus uptake efficiency and phosphorus efficiency are respectively located on the alien chromosome 5S of *Ae. speltoides* and 4V of *H. villosa*. For wheat improvement and understanding of molecular mechanism of tolerance to low phosphorus stress, these genes can be further introduced into wheat by inducing alien chromosome segment translocation between wheat and wild relatives.

Key words: wheat; alien chromosome addition lines; tolerance to low phosphorus stress; chromosome location

磷元素是构成生物膜、蛋白质、核酸、ATP等生命大分子的重要成分,是生物体光合作用、呼吸作用、信

号转导、能量转换、代谢调节等生命活动不可缺少的重要元素^[1]。磷元素缺乏会严重影响植物的产量、品

收稿日期:2015-09-07 修回日期:2015-11-22 网络出版日期:2016-06-08

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20160608.1435.026.html>

基金项目:国家“863”项目(2012AA101105);河南农业大学人才引进基金(30300190)

第一作者研究方向为小麦野生亲缘种属基因发掘与利用。E-mail: shanshanqil63@163.com

通信作者:刘文轩,主要从事植物分子细胞遗传学研究。E-mail: wxliu2003@hotmail.com

质、抗旱、抗寒等抗逆境能力,甚至导致死亡^[2-3]。目前,世界 30% 的土壤都存在不同程度的缺磷问题^[4]。虽然施用磷肥能有效提高缺磷土地上的作物产量,但只有不足 20% 的磷肥能被作物所吸收利用,不仅造成磷资源的浪费,还会严重污染环境^[5]。

小麦是世界上最重要的粮食作物之一,世界三分之一以上人口以小麦为主要粮食。培育耐低磷胁迫、高效利用磷元素的品种对提高全球小麦产量和品质具有十分重要的意义。目前,小麦耐低磷胁迫是研究热点之一,在耐低磷胁迫基因型鉴定、相关基因 QTL 定位和基因克隆等方面均取得进展。在耐低磷胁迫基因型筛选方面,先后鉴定出磷高效品种 Kukri、Vigour 18、81 (85)-5-3-3-3、徐麦 856、小偃 54、徐麦 270、洛夫林 10 号等以及耐低磷基因型小麦内乡 188、徐麦 25 和西农 979 等^[6-8],为小麦耐低磷胁迫能力改良奠定了材料基础。由于耐低磷胁迫为多基因控制性状,遗传机制复杂,这些品种尚未在小麦育种中得以充分利用。在耐低磷胁迫相关性状 QTL 定位方面,J. Y. Su 等^[9]发现了 4 个与磷的吸收效率紧密连锁的 QTLs 位点,6 个与磷利用效率紧密相关的 QTLs 位点;李振兴^[10]定位了小麦茎叶性状及耐低磷胁迫性状 QTL 位点 39 个,小麦根系性状及其低磷胁迫响应有关的 QTLs 位点 30 个;张红^[11]检测到与耐低磷胁迫相关的 12 个表型性状 QTL 位点 159 个,可分别解释表型变异的 4.04% ~ 71.12%,并检测到 16 个与小麦苗期耐低磷胁迫性状相关的重要 QTL 簇。在耐低磷胁迫相关基因克隆方面,已成功克隆了小麦磷高效基因 *TaPHR1*、缺磷特异响应基因 *TaIPS*、植酸酶基因 *TaPHY1*、磷效率相关转录因子基因 *TaWKKY72b-1*、核糖核酸酶基因 *WKN1*、*WKN2* 和 *WKN13*、磷转运蛋白基因 *TaPHT1*; 4、*TaPHT2*; 1、*TaPT4* 和 *TaPT8* 等,并进行了染色体定位^[12-13]。

普通小麦的形成距今只有 7000 多年,是栽培历史相对较短的作物之一,因此,栽培小麦种内遗传变异丰富度相对较低。然而,普通小麦所属的小麦族中有 300 多个种属,其野生亲缘种属在漫长的生物进化过程中,为适应各种逆境条件而生存繁衍,保留了许多优良的性状,如耐干旱、耐盐碱、耐瘠薄、抗病等。因此,小麦野生亲缘种属中耐低磷胁迫基因的发掘和利用,可拓宽小麦育种的遗传基础,为培育磷高效小麦新品种和了解小麦耐低磷胁迫的遗传与分子机理提供基因资源。

小麦—野生亲缘种属二体添加系是指在小麦遗传背景下添加了额外一对亲缘种属同源染色体的植

株。通过观察比较添加系与其遗传背景小麦耐低磷胁迫特性的差异,可以发掘磷高效基因,并同时实现相关基因的染色体定位。此外,小麦—野生亲缘种属二体添加系可以消除由于同一个亲缘种属个体中低磷耐性基因和敏感基因间的干扰,更有利于发现耐低磷胁迫的外源基因。一旦鉴定出耐低磷胁迫的添加系,就可以利用染色体工程技术,在较短时间内将携带耐低磷基因的外源染色体片段导入普通小麦,获得小麦—亲缘种属易位系,为小麦磷高效育种和耐低磷胁迫机理研究提供宝贵材料。目前,已经有若干利用小麦—亲缘种属添加系发掘利用耐低磷胁迫基因的报导,发现长穗偃麦草的 4E 与 6E 染色体、帝国黑麦 1R、7R 染色体等携有耐低磷营养胁迫的基因^[14-17]。

本研究利用来自 9 个野生亲缘种属的 70 个中国春遗传背景二体添加系,进行缺磷和对照(全营养)处理,根据苗期有关性状相对生物量以及磷吸收率和利用率等多种指标综合鉴定,以期发掘耐低磷胁迫外源基因,并进行相关基因染色体定位,为小麦遗传改良和耐低磷机制研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

普通小麦 (*Triticum aestivum* L.) 品种中国春、70 份分别来自尾状山羊草 (*Aegilops caudata* L.)、卵穗山羊草 (*A. geniculata*)、易变山羊草 (*A. variables*)、拟斯比尔脱山羊草 (*A. speltoides*)、长穗偃麦草 (*Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv.)、黑麦 (*Secale cereal* L.)、帝国黑麦 (*S. cereal cv. Imperial*)、智利大麦 (*Hordeum chilense* Roem. & Schult)、簇毛麦 (*Dasyphyrum villosum* (L.) P. Candargy) 9 个小麦亲缘种属的中国春—野生亲缘种属二体添加系(表 1)。材料均引自美国堪萨斯州立大学小麦遗传资源研究中心 (Wheat Genetics Resource Center at Kansas State University),在河南农业大学科教园区繁殖保存。

1.2 试验方法

1.2.1 营养液培养方法 选取饱满、均匀的小麦—亲缘种属添加系及对照中国春种子,于 25 °C、黑暗条件下,催芽培养 24 h。取萌发种子,室温 (25 ± 3 °C) 下光照/黑暗 (16/8h) 催芽成苗。待幼苗长至 2 叶 1 心时,选取生长一致的幼苗,去掉残留胚乳,移栽于盛有适量 Hoagland 营养液的 10 L 容积塑料盆中。每日光照 16 h,每 3 d 加入 0.1% H₂O₂,每 7 d 换 1 次营养液,共培养 30 d。

1.2.2 试验处理与设计 试验分 2 个磷处理:缺磷

(P⁻)和全营养(P⁺)对照。所用的完全培养液和缺磷培养液参照 F. N. Ponnamperna^[18]所述的 Hoagland 营养液配方进行配制。缺磷处理:KH₂PO₄浓度为 0 μmol/L,加 0.5 mmol/L K₂SO₄作为 K 补充,其余与完全营养液一致。由于材料较多,添加系种子有限,本试验采用 2 轮鉴定筛选的方法。首轮筛选包括 70 份添加系和对照中国春,每份材料缺磷和完全营养液中各培养 6 株。选取缺磷处理下苗期性状(地上叶片和根系)指标明显优于中国春的添加系,进入下一轮复筛。复筛时,每份材料缺磷和全营养处理各种植 6 株,随机区组设计,重复 3 次。参照盖钧益^[19]方法进行方差分析。

1.2.3 性状调查 液体培养 30 d 后,收获植株。称量地上叶片和地下根系鲜重,测定根系主根长度、根系体积,然后将叶片及根系放入烘箱中 80 °C 烘干,称量干重。

植株全磷含量测定:取 0.5 g 烘干材料,用钼蓝比色法测定植株各部分全磷含量^[20]。每 g 干物质磷含量(mg) = 样品磷含量(mg/g)/样品干重(g)。

1.2.4 评价体系 磷元素缺乏直接影响植物苗期地上部分叶片和根系的生长发育。根据植株表现性状,如地上部分叶片干重、根系干重、主根长度和根系体积等在缺磷条件下的表现,可以对植物苗期耐低磷胁迫能力进行客观评价。

植物高磷效率取决于其根系吸收磷的能力和植株体内对磷同化代谢的能力 2 个方面。前者即磷吸收效率,可以用平均每株吸磷量作为衡量指标;后者系磷利用效率,可以用单位吸磷量所合成的干物质质量来衡量^[6]。此外,磷效率可以用来衡量植物分配磷元素用以合成地上部分干物质的能力,磷效率高意味着植株向地上部分分配更多的磷元素,合成地上部分干物质的能力强。

本研究从小麦—野生亲缘种属添加系苗期叶片生物量、根系特征、磷效率、磷吸收率和利用率等综合评价体系筛选耐低磷胁迫材料。

计算公式:

磷吸收率(mg 无机磷/株) = 单株地上干重(g) × 每克干物质磷含量(mg 磷/g 干重)

磷利用率(g 干物质/mg 无机磷) = 单株干重(g)/单株磷含量(mg)

磷效率 = 单株地上部分干重(g)/单株总干重(g)

为消除不同添加系基因型差异的影响,本研究采用相对生物量,即缺磷处理下的生物量与对照

(全营养处理)下生物量的比值,根据缺磷条件下地上干重、根系干重、主根长度和根系体积等表现性状及植株磷吸收率和利用率的相对变化程度来评价分析材料苗期耐低磷胁迫的能力。

相对生物量 = [缺磷处理下生物量/对照(全营养)条件下生物量] × 100。

2 结果与分析

2.1 初筛结果

对 70 份添加系及中国春分别进行缺磷和对照(全营养)2 种处理,测定苗期地上叶片干重、根系干重、主根长度和根系体积,计算相对生物量和磷效率,结果如表 1。

从表 1 可以看出,缺磷条件下各添加系叶片和根系的生长均受到明显影响。总的来看,低磷胁迫明显抑制植株叶片生长,而对根系生长有促进作用。在 71 个供试材料中,缺磷处理地上干重的相对生物量达到 100% 以上的只有 379、366、K307 和 398 共 4 个材料,占总材料的 5.7%,其余 66 份添加系(占 94.3%)及中国春缺磷处理下植株地上叶片干重明显下降,绝大多数为对照干重的 30% ~ 60%,最低相对量只有 21.4%;而根系干重、根系体积、主根长度相对生物量大于 100% 的分别有 16、30 和 10 份,分别占供试材料的 22.5%、42.3% 和 14.1%。低磷胁迫对添加系的磷效率影响相对较小,相对生物量在 76% ~ 92% 之间,且材料间变异幅度不大,大多数为 85% 左右。

通过比较小麦在低磷和对照条件下各性状的相对差异,可以在一定程度上衡量不同品种的耐低磷性强弱。从表 1 看,各添加系对低磷胁迫的反应有很大差异。与中国春相比,除主根长度外,绝大多数添加系的地上干重、根系干重和根体积相对生物量都优于中国春。70 个添加系中有 56 个添加系(占 80%)地上干重相对生物量优于中国春;有 50 个(占 71.4%)根系干重高于中国春;有 45 个添加系(占 64.3%)根系体积相对生物量较中国春高,有的多达 2 倍;在根长相对生物量方面,只有 16 个添加系(占 22.9%)比中国春好。但绝大多数添加系的磷效率相对量与中国春无明显差异。

由于初筛使用植株数量较少,未设重复试验,本研究综合上述 4 项相对生物量指标鉴定结果,初步筛选出综合指标优良或单项指标突出的添加系 18 个,进入下一轮重复试验筛选(表 2)。初选的 18 份添加系中,外源染色体分别来自黑麦(5 份)、长穗偃麦草(3 份)、卵穗山羊草(3 份)、易变山羊草(3 份)、

表 1 小麦—野生亲缘种属添加系低磷胁迫下的相对生物量

Table 1 Relative biomass rates of wheat-wild relatives addition lines under low phosphorus stress

添加系 Addition lines	亲缘种属 Wild relatives	外源染色体 Alien chromosome	相对生物量(%) Relative biomass				
			地上干重 Shoots weight	根系干重 Roots weight	根长 Root length	根体积 Root volume	磷效率 Phosphorus efficiency
368	长穗偃麦草	1E	50.0	72.0	162.4	60.0	91.9
444	长穗偃麦草	2E	42.3	95.7	157.3	62.5	85.6
411	长穗偃麦草	3E	77.8	150.0	109.9	60.0	88.7
361	长穗偃麦草	4E	55.1	100.0	77.4	55.6	89.4
324	长穗偃麦草	5E	79.5	178.6	111.2	200.0	85.4
332	长穗偃麦草	6E	66.0	207.1	148.7	400.0	80.0
328	长穗偃麦草	7E	68.9	147.4	139.6	250.0	87.5
416	簇毛麦	1V	42.6	95.0	78.8	80.0	85.8
423	簇毛麦	2V	36.1	100.0	112.4	120.0	83.6
322	簇毛麦	3V	34.8	100.0	92.6	140.0	81.1
K307	簇毛麦	4V	123.8	340.0	182.5	400.0	84.3
369	簇毛麦	5V	41.4	90.5	107.0	42.9	86.6
371	簇毛麦	6V	43.8	100.0	152.4	100.0	86.2
418	簇毛麦	7V	62.5	120.0	107.9	100.0	90.7
K291	大麦	1H	61.9	214.3	181.3	250.0	80.2
320	大麦	2H	31.5	111.5	149.7	90.0	72.6
362	大麦	3H	48.2	164.3	164.9	166.7	79.2
373	大麦	4H	57.4	171.4	132.0	225.0	80.5
352	大麦	5H	49.6	135.7	123.1	150.0	84.5
314	大麦	6H	75.6	172.7	129.9	100.0	86.8
325	大麦	7H	38.0	114.3	221.8	33.3	83.6
316	帝国黑麦	1R	59.0	172.7	212.3	200.0	81.6
408	帝国黑麦	2R	74.4	161.5	126.1	160.0	86.2
355	帝国黑麦	3R	22.3	69.0	130.9	88.9	77.1
351	帝国黑麦	5R	31.8	100.0	157.9	66.7	83.0
342	帝国黑麦	6R	50.0	176.9	176.3	450.0	79.1
334	帝国黑麦	7R	35.8	119.0	165.4	200.0	76.4
397	黑麦	1R	63.2	176.9	87.2	250.0	82.2
394	黑麦	2R	63.8	144.4	177.4	66.7	85.5
393	黑麦	3R	40.9	113.6	83.5	100.0	82.6
381	黑麦	4R	58.3	190.9	143.6	116.7	82.6
345	黑麦	5R	51.5	138.5	153.9	75.0	83.4
389	黑麦	6R	88.2	177.8	140.7	350.0	89.4
430	黑麦	7R	37.7	70.6	103.2	40.0	90.8
366	卵穗山羊草	1U [#]	128.1	255.6	165.9	200.0	88.0
367	卵穗山羊草	2U [#]	25.9	94.1	221.5	150.0	78.5
409	卵穗山羊草	3U [#]	54.4	128.6	103.1	100.0	86.0
443	卵穗山羊草	4U [#]	83.5	200.0	152.5	275.0	85.8
洛 147	卵穗山羊草	5U [#]	44.9	154.5	152.1	166.7	82.8
440	卵穗山羊草	6U [#]	53.6	146.2	47.6	125.0	84.6
441	卵穗山羊草	7U [#]	38.0	200.0	144.6	175.0	82.0
401	卵穗山羊草	1M [#]	39.8	80.8	109.7	72.7	87.5

表 1(续)

添加系 Addition lines	亲缘种属 Wild relatives	外源染色体 Alien chromosome	相对生物量(%) Relative biomass				
			地上干重 Shoots weight	根系干重 Roots weight	根长 Root length	根体积 Root volume	磷效率 Phosphorus efficiency
414	卵穗山羊草	2M ^g	53.6	117.6	120.7	50.0	86.4
K195	卵穗山羊草	3M ^g	46.8	85.7	104.7	66.7	88.6
K222	卵穗山羊草	4M ^g	34.9	92.0	109.4	75.0	82.4
358	卵穗山羊草	5M ^g	50.8	100.0	143.6	71.4	89.3
372	卵穗山羊草	6M ^g	51.7	123.5	132.8	150.0	85.3
420	卵穗山羊草	7M ^g	62.1	133.3	169.9	80.0	87.8
K155	拟斯比尔托山羊草	1S	66.7	181.8	181.7	80.0	87.7
K303	拟斯比尔托山羊草	2S	40.3	83.3	97.1	100.0	84.6
438	拟斯比尔托山羊草	3S	21.4	55.0	67.0	100.0	84.7
399	拟斯比尔托山羊草	5S	65.6	200.0	119.1	200.0	82.6
383	拟斯比尔托山羊草	6S	42.7	152.4	154.7	90.9	79.3
339	拟斯比尔托山羊草	7S	66.0	138.5	141.2	140.0	89.0
406	易变山羊草	1U ^v	41.6	94.1	102.0	66.7	87.8
375	易变山羊草	2U ^v	67.9	170.4	144.6	116.7	85.3
363	易变山羊草	3U ^v	41.5	114.3	224.1	42.9	84.8
377	易变山羊草	4U ^v	59.7	118.2	127.1	100.0	89.1
K257	易变山羊草	6U ^v	43.5	105.6	145.1	50.0	84.7
洛 129	易变山羊草	7U ^v	38.4	100.0	86.3	75.0	83.0
410	易变山羊草	1S ^v	42.4	125.0	112.4	80.0	81.9
洛 194	易变山羊草	2S ^v	48.6	88.9	109.5	80.0	89.2
398	易变山羊草	3S ^v	100.0	262.5	131.8	200.0	83.3
379	易变山羊草	4S ^v	154.1	314.3	236.1	75.0	85.8
洛 275	易变山羊草	5S ^v	45.8	136.4	85.1	100.0	79.3
384	易变山羊草	7S ^v	37.4	71.9	111.5	66.7	88.1
433	智利大麦	4H ^{ch}	45.8	178.6	115.2	200.0	76.5
442	智利大麦	5H ^{ch}	39.7	73.7	112.4	85.7	90.2
429	智利大麦	6H ^{ch}	43.2	117.6	211.7	150.0	85.9
424	智利大麦	7H ^{ch}	90.5	183.3	126.4	66.7	87.5
中国春	—	—	39.3	100.0	161.8	80.0	85.3

大麦(2份)、簇毛麦(1份)和拟斯比尔托山羊草(1份)。就染色体同源群来看,18份材料中来自第4和第6同源群的最多,各有5个,其次是第1同源群(3份)和第5同源群(2份),其余同源群(2、3、7)各1份。

2.2 复筛结果

2.2.1 表观性状相对生物量

对前述18个添加系进行低磷胁迫性状鉴定分析,采用随机区组设计,重复3次。相对生物量鉴定结果见表2。

从表2可以看出,在缺磷处理下小麦苗期地上干重的相对生物量只有7个添加系比中国春高,其

中有5个与中国春差异达到显著水平。而大部分添加系根系性状相对生物量都高于中国春,其中所有18个添加系根系体积的相对生物量都比中国春高,有8个达显著水平;地下干重较对照中国春高的有11个添加系,6个达显著水平;根长相对生物量比中国春高的有10个添加系,有3个达到显著水平。

综合4项表观性状相对生物量,添加系373、328和366至少有3项指标与中国春的差异达到显著水平,初步认为是较耐低磷胁迫的材料。373、328和366的外源染色体分别是大麦4H、长穗偃麦草7E和卵穗山羊草1U^g。因此,初步推断,4H、7E和

表 2 小麦-野生亲缘种属添加系表观性状相对生物量

Table 2 Relative biomass rates of wheat-wild relatives chromosome addition lines under low phosphorus stress

添加系 Addition lines	外源染色体 Alien chromosomes	相对生物量(%) Relative biomass							
		地上干重 Shoots weight	排序 No.	根系干重 Roots weight	排序 No.	根系体积 Roots weight	排序 No.	根长 Roots length	排序 No.
373	大麦 4H	104.2 ^{**}	1	166.7 ^{**}	2	250.0 ^{**}	1	136.6	6
328	长穗偃麦草 7E	70.5 ^{**}	2	140.0 ^{**}	6	138.5 ^{**}	6	178.0 ^{**}	1
k307	簇毛麦 4V	68.8 ^{**}	3	145.5 ^{**}	4	100.0	13	136.2	7
399	拟斯比尔托山羊草 5S	67.0 ^{**}	4	151.6 ^{**}	3	115.8	11	107.5 ^{**}	19
366	卵穗山羊草 1U [®]	65.6 ^{**}	5	141.7 ^{**}	5	200.0 ^{**}	3	124.5	12
379	易变山羊草 4S ^v	56.3	6	125.0	8	166.7 ^{**}	5	121.4	15
316	帝国黑麦 1R	55.3	7	100.0	15	112.5	12	136.0	8
中国春	—	54.7	8	112.0	12	80.0	18	130.9	11
375	易变山羊草 2U ^v	54.3	9	111.1	13	87.5	17	133.0	10
372	卵穗山羊草 6M [®]	46.3	10	121.4	10	212.5 ^{**}	2	133.4	9
397	黑麦 1R	44.5	11	124.2	9	171.4 ^{**}	4	158.2 ^{**}	2
389	黑麦 6R	42.9 ^{**}	12	83.3 ^{**}	17	72.7	19	113.3	18
324	长穗偃麦草 5E	42.6 ^{**}	13	96.2	16	88.9	16	145.0	4
381	黑麦 4R	39.3 ^{**}	14	126.1	7	100.0	14	143.3	5
398	易变山羊草 3S ^v	37.3 ^{**}	15	71.4 ^{**}	18	120.0	10	123.1	14
443	卵穗山羊草 4U [®]	35.1 ^{**}	16	103.6	14	120.0	9	154.2 ^{**}	3
342	帝国黑麦 6R	34.8 ^{**}	17	114.8	11	127.3 ^{**}	8	120.7	16
332	长穗偃麦草 6E	31.6 ^{**}	18	169.2 ^{**}	1	133.3 ^{**}	7	118.6	17
k291	大麦 6H	26.9 ^{**}	19	66.7 ^{**}	19	100.0	15	123.1	13

*:经最小显著差数法(LSD)测验,与对照中国春差异达到5%显著水平;+:平均数高于中国春;-:平均数低于中国春

*:By the method of least significant difference(LSD) test, the difference with Chinese spring reached 5% significant level, +:The average is higher than Chinese spring, -:The average is less than Chinese spring

1U[®]染色体携带有耐低磷胁迫的基因。此外,k307(中国春—簇毛麦 4V 添加系)和 399(中国春—拟斯比尔托山羊草 5S 添加系)尽管根系长度和体积不比中国春有明显优势,但地上干重和根系干重相对生物量明显高于中国春,也是耐低磷胁迫的优良材料。

就根部性状而言,添加系 332(长穗偃麦草 6E)的根系干重和根系体积,397(黑麦 1R)的根系体积和主根长度,372(中国春—卵穗山羊草 6M[®])、379(小麦—易变山羊草 4S^v)、342(中国春—帝国黑麦 6R)的根系体积和 443(中国春—卵穗山羊草 4U[®])的主根长度相对量明显优于中国春,这 6 份材料可作为改良低磷胁迫下小麦根系生长发育的特殊资源。

值得注意的是,在筛选出的根系性状明显优于中国春的 6 份材料中,366、372 和 443 是卵穗山羊草染色体(1U[®]、6M[®]、4U[®])添加系,卵穗山羊草有可能在改良低磷胁迫下小麦根系生长发育方面具有较大应用价值。

2.2.2 磷吸收率和利用率相对生物量 反映作物对磷元素的吸收率可采用多种方法,本研究以每株

添加系的单株含磷总量来表示磷元素吸收率;用单位磷元素所产生的生物量(干重)来衡量磷元素利用率;用植株地上部分干重占单株干重的比例衡量磷效率。从表 3 可以看出,缺磷处理对大多数添加系的磷效率影响较小,而且材料间差异不大,缺磷处理下材料的磷效率一般达到全营养处理的 80%~93%,与初筛试验结果趋势一致;但是,植株磷吸收率受低磷胁迫影响很大,缺磷处理下植株磷吸收率只有全营养对照的 30% 以下,有一半材料磷吸收率相对量在 10% 以下,最低(k307)只有对照的 1%。尽管如此,添加系之间磷吸收效率有很大差异,18 个添加系中有 13 份(72.2%)磷吸收率相对量优于中国春,其中 399、375、373 和 316 磷吸收率相对生物量达到中国春的 3 倍以上。此外,低磷胁迫对磷利用率的影响因材料而异,缺磷时,添加系 K307、373 和 399 的磷利用率高于全营养对照,磷利用率相对生物量明显优于中国春;而其余 15 个添加系的磷利用率都不如全营养对照,其中添加系 K291 的磷利用率只有全营养对照的 42%。

表 3 小麦—野生亲缘种属添加系磷吸收率和利用率相对生物量

Table 3 Rates of phosphorus uptake efficiency and utilization efficiency of wheat-wild relatives addition lines under low phosphorus stress

添加系 Lines	外源染色体 Alien chromosomes	相对生物量(%) Relative biomass					
		磷吸收率 Phosphorus uptake efficiency	排序 No.	磷利用率 Phosphorus utilization efficiency	排序 No.	磷效率 Phosphorus efficiency	排序 No.
399	拟斯比尔托山羊草 5S	29.6	1	101.2	3	84.3	17
375	易变山羊草 2U ^v	26.8	2	51.4	16	89.2	7
373	大麦 4H	22.1	3	139.7	2	92.7	1
316	帝国黑麦 1R	20.9	4	68.9	10	90.9	2
397	黑麦 1R	20.4	5	52.1	15	83.8	18
389	黑麦 6R	15.7	6	57.2	13	90.9	3
328	长穗偃麦草 7E	14.9	7	92.7	4	89.4	6
379	易变山羊草 4S ^v	12.1	8	82.5	6	86.4	12
342	帝国黑麦 6R	12.0	9	50.0	17	85.5	15
k291	大麦 6H	11.3	10	42.0	19	89.7	5
366	卵穗山羊草 1U ^g	9.7	11	68.8	11	88.8	8
324	长穗偃麦草 5E	9.5	12	74.1	8	87.6	10
372	卵穗山羊草 6M ^g	7.8	13	72.2	9	85.5	16
443	卵穗山羊草 4U ^g	7.3	14	49.8	18	85.6	14
中国春		7.1	15	85.2	5	88.6	9
332	长穗偃麦草 6E	6.5	16	59.5	12	81.4	19
381	黑麦 4R	5.1	17	79.5	7	86.6	11
398	易变山羊草 3S ^v	3.7	18	55.5	14	90.7	4
k307	簇毛麦 4V	1.1	19	209.7	1	85.9	13

综合表 3 结果,添加系 373 和 328 在磷效率、磷吸收率和磷利用率各方面都优于中国春;399 在磷吸收率和磷利用率 2 方面均表现优异;K307 在磷利用率方面表现突出,但磷吸收率很差;添加系 375、316 和 397 则在磷吸收率方面明显优于中国春。

综合两轮筛选鉴定结果,大麦 4H 添加系(373)和长穗偃麦草 7E 添加系(328)在地上干重、根系干重、根系体积、主根长度、磷效率、磷吸收率和磷利用率各方面都优于中国春,因此,在大麦 4H 染色体和长穗偃麦草 7E 染色体上携带有耐低磷胁迫的优异基因,可以作为提高小麦耐低磷胁迫的资源加以利用。在根系生长发育方面,比较突出的材料有长穗偃麦草 6E 添加系 332(根系干重和体积)、黑麦 1R 添加系 397(根系体积和根长)、卵穗山羊草 6M^g 添加系 372、易变山羊草 4S^v 添加系 379、帝国黑麦 6R 添加系 342(根系体积)和卵穗山羊草 4U^g 添加系 443(根系长度),这 6 份添加系可作为改良小麦根

系生长发育的特殊资源材料。此外,拟斯比尔托山羊草 5S 添加系 399 在磷吸收率和利用率方面优于中国春,簇毛麦 4V 染色体添加系 k307 在磷利用率方面表现突出,可作为提高小麦磷吸收率和利用率的优异种质。

3 讨论

磷元素缺乏会导致植物生长发育不良,产量降低、质量下降。但低磷胁迫对不同品种的抑制程度存在明显差异。目前,评价植物耐低磷胁迫能力的体系有多种,其中生物学产量是最为可靠的方法之一。研究表明,小麦苗期性状会影响到成熟期的磷元素吸收^[16,21],因此,将小麦苗期作为低磷处理时期来筛选耐低磷处理的材料是可行的。

研究表明,植物耐低磷胁迫特性是多基因控制的复杂性状。不同植物对磷元素缺乏的反应大不相同^[6,8,22]。本研究结果也表明,缺磷处理对绝大多数

小麦—野生亲缘种属添加系地上部分生长有明显抑制作用,而对根系的生长发育有促进作用,低磷胁迫促进植株主根长度增加,根系体积和干重提高。此外,本研究发现,缺磷条件下植株磷效率的变化较小,且不同材料间的差异有限。因此,磷效率作为外源基因耐低磷胁迫评价指标的作用尚待商榷。

磷吸收率和磷利用率也是反映植物耐低磷胁迫的重要指标,通常以每株添加系的含磷总量来表示磷吸收率,用单位磷元素所产生的生物量来衡量磷利用率。本研究结果表明,磷缺乏对小麦的磷吸收率影响最大,有些材料,如添加系 k307(簇毛麦 4V 染色体)在缺磷处理下,磷吸收率只有全营养对照的 1%,是中国春的 1/7。尽管如此,不同材料之间磷吸收率差异很大,如 399(拟斯比尔托山羊草 5S)缺磷处理时,磷吸收率可以达到全营养对照的 30%,比中国春高近 4 倍。缺磷条件下,不同添加系的磷利用率也有很大不同,如添加系 k307 磷利用率相对生物量高达 2.1,是中国春的 1.5 倍。此外,植物磷吸收率和磷利用率显然受不同基因体系控制,两者在缺磷和全营养对照两种处理下均没有相关性。

普通小麦属于小麦族,有 300 多个野生亲缘种属。这些种属长期受到恶劣自然环境的选择,在抗逆境胁迫方面产生了十分丰富的遗传变异,耐低磷特性就是其中之一。耐低磷胁迫特性具有很高的遗传复杂性,低磷胁迫的耐性基因和抑制基因往往出现在同一基因型中。如黑麦 1R、2R 和 7R 染色体携带有磷高效基因,而 5R 染色体携带有强烈抑制磷高效特性的基因;长穗偃麦草 4E 和 6E 染色体上有磷高效基因,而 5E 染色体有强烈抑制磷高效的基因^[14-15]。因此,直接用小麦野生亲缘种属进行磷高效筛选鉴定难以排除基因间的互作,鉴定结果的可靠程度大大降低。而小麦—野生亲缘种属添加系由于在小麦遗传背景基础上只增加了 1 对同源外源染色体,用其进行耐低磷胁迫研究可以消除其他外源染色体上有关基因的干扰,更有利于发现耐低磷胁迫主效基因和进行相关基因染色体定位。

目前已有利用小麦—亲缘种属染色体添加系发掘耐低磷胁迫基因的若干报导,并发现黑麦 1R、2R 和 7R 以及长穗偃麦草 4E 和 6E 染色体携带有磷高效基因。本研究所用材料包含了来自 9 个亲缘种属 70 种外源染色体,种类更为丰富。此外,本研究虽然少数外源染色体(如黑麦 1R~7R 和长穗偃麦草 1E~7E 染色体)与他人报导中的外源染色体编号

一样,但来源于相同亲缘种属的不同登记号(accession),携带的基因可能会有所不同。经过缺磷和全营养两种处理下添加系与其遗传背景中国春苗期在地上干重、根系干重、主根长度、根系体积、磷效率、磷吸收率和磷利用率等多种指标的综合分析,本研究初步鉴定出大麦 4H 和长穗偃麦草 7E 上携带有优良的耐低磷胁迫基因。F. Dante 等^[23]的研究也发现,长穗偃麦草 7E 染色体长臂的基因能够明显促进小麦在干旱胁迫下根系的生长发育,提高抗旱能力。长穗偃麦草 7E 染色体上抗低磷胁迫的基因和抗旱基因之间的关系非常值得深入研究。

研究表明,小麦根系特征和磷高效有直接关系,发育良好的根系有利于磷的吸收和利用,提高植株耐低磷胁迫的能力^[13,18,24]。本研究发现,长穗偃麦草 6E、黑麦 1R、卵穗山羊草 6M^e等 6 条外源染色体添加系在低磷胁迫下根系干重、根体积和根长的相对生物量明显高于中国春,初步认为其携带有促进根系生长发育的基因,可用作改良小麦缺磷条件下根系生长发育的特殊材料。其中黑麦 1R 和长穗偃麦草 6E 染色体也分别经李玉京等^[14]和刘建中等^[15]鉴定证实携带磷高效基因。此外,拟斯比尔托山羊草 5S 携带与磷吸收率和利用率有关的基因,簇毛麦 4V 则有与磷高效吸收有关的基因,是改良小麦磷吸收率和磷利用率的特殊种质。本研究筛选到的耐低磷添加系可以通过染色体工程技术,将携带耐低磷基因的外源染色体片段通过小麦-外源染色体易位导入普通小麦,为小麦耐低磷胁迫育种和了解植物耐低磷胁迫的分子机理奠定基础。

尽管苗期是鉴定不同基因型小麦材料耐低磷性的重要时期^[21],但最终衡量一个材料对低磷胁迫的耐性高低,还有赖于大田低磷和对照条件下对其产量性状进行考查和比较。本研究所筛选鉴定的材料只是苗期鉴定结果,其耐低磷胁迫能力等尚需进一步的大田成株期产量性状鉴定。

参考文献

- [1] Theodorou M E, Plaxton W C. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation[J]. *Plant Physiol*, 1993, 101(2):339-344
- [2] 李玉京,李滨,李继云,等. 植物有效利用土壤磷特性的遗传学研究进展[J]. *遗传*, 1998, 20(3):38-41
- [3] 李志刚. 作物不同基因型的磷素营养研究进展[J]. *内蒙古民族大学学报:自然科学版*, 2002(4):307-312
- [4] 普晓英,赵大伟,曾亚文,等. 低磷胁迫下大麦磷高效基因型的筛选[J]. *生态环境学报*, 2010, 26(6):591-595
- [5] 刘建中,李振声,李继云,等. 利用植物自身潜力提高土壤中

- 磷的生物有效性[J]. 中国生态农业学报,1994,1(2):16-23
- [6] Liao M, Hocking P J, Dong B, et al. Variation in early phosphorus uptake efficiency among wheat genotypes grown on two contrasting Australian soils[J]. Aust J Agr Res, 2008, 59:157-166
- [7] 柏栋阴,冯国华,张会云,等. 低磷胁迫下磷高效基因型小麦的筛选[J]. 麦类作物学报,2007,27(3):407-410
- [8] 孔忠新,杨丽丽,张政值,等. 小麦耐低磷基因型的筛选[J]. 麦类作物学报,2010,30(4):591-595
- [9] Su J Y, Zheng Q, Li H W, et al. Detection of QTLs for phosphorus use efficiency in relation to agronomic performance of wheat grown under phosphorus sufficient and limited conditions[J]. Plant Sci, 2009, 176:824-836
- [10] 李振兴. 小麦耐低磷胁迫相关性状的 QTL 定位及低磷胁迫诱导基因和蛋白的表达谱分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2007:24-36
- [11] 张红. 小麦苗期耐旱耐低磷胁迫相关性状的 QTL 定位及遗传图谱的构建[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013:40-98
- [12] 李喜焕,常文锁,张彩英. 提高植物磷营养效率(候选)基因研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(1):83-97
- [13] 郭丽,郭程瑾,路文静,等. 磷转运蛋白基因 *TaPHT2;1* 在染色体上定位及对小麦磷素吸收和利用效率的影响[J]. 中国农业科学,2014,47(4):613-621
- [14] 李玉京,刘建中,李滨,等. 长穗偃麦草基因组中与耐低磷营养胁迫有关的基因的染色体定位[J]. 遗传学报,1999,26(6):703-710
- [15] 刘建中,李玉京,李滨,等. 黑麦基因组中不同染色体在缺磷胁迫下对普通小麦根系分泌酸性磷酸酯酶(Acph)遗传效应的研究[J]. 遗传学报,2000,27(1):39-43
- [16] Ehdai B, Merhaut D J, Ahmadian S, et al. Root system size influences water-nutrient uptake and nitrate leaching potential in wheat[J]. J Agron Crop Sci, 2010, 196:455-466
- [17] Shiwen W, Lina Y, Hiroyuki T, et al. Identification of wheat alien chromosome addition lines for breeding wheat with high phosphorus efficiency[J]. Breeding Sci, 2010, 60:371-379
- [18] Ponnampetuma F N. Screening rice for tolerance to mineral stresses[M]//Madison J W. Plant adaptation to mineral stress in problem soils. New York: Cornell University, 1976:341-354
- [19] 盖钧镛. 试验统计方法[M]. 4版. 北京: 中国农业出版社, 2014:223-226
- [20] 秦丽燕,赵琰,杨伟,等. 普通小麦品种(系)以及杂交组合后代株系籽粒无机磷含量的分布[J]. 麦类作物学报,2010,30(6):1038-1042
- [21] 孙海国,张福锁,杨军芳,等. 不同供磷水平小麦苗期根系特征与其相对产量的关系[J]. 华北农学报,2001,16(3):98-104
- [22] 任永哲. 低磷胁迫对不同基因型小麦品种苗期性状的影响[J]. 中国农学通报,2012,28(18):40-44
- [23] Dante F, Malachy T, Jing J, et al. Introgression of novel traits from a wild wheat relative improves drought adaptation in wheat[J]. Plant Physiol, 2013, 161:1806-1819
- [24] 刘国栋,李继云,李振声,等. 低磷胁迫下小麦根系反应的基因型差异[J]. 植物营养与肥料学报,1996,2(3):212-218