

外界铁浓度调控缺磷植物铁吸收相关基因的表达量^①

黄洁雪^{1,2}, 闫明科^{1,2}, 薛彩雯^{1,2}, 沈仁芳¹, 兰平^{1*}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 磷和铁都是植物必需营养元素, 缺磷和缺铁都会严重影响植物生长发育导致作物产量和品质下降。前期研究表明缺磷会导致植物铁吸收基因的表达量下降, 但这种下降与外界铁浓度是否相关还不清楚。本文检测了缺磷和正常磷条件下不同铁浓度对植物铁吸收基因的表达变化。结果显示, 缺磷导致植物主根生长受到显著抑制, 但该抑制现象和铁浓度显著相关, 在铁浓度下降到一定范围后该抑制作用消失。qPCR 结果显示, 缺磷显著诱导缺磷响应基因 *IPS*、*SPX3*、*PHT1;4* 表达量增加, 且这种表达量增加仅受缺磷诱导, 和铁浓度无关。缺磷也显著诱导铁吸收相关基因 *FRO2*、*IRT1* 和 *CYP82C4* 的表达量下降, 但这种下降具有明显铁浓度依赖性。随着铁浓度升高, 缺磷诱导的铁吸收基因的表达量下降幅度随之增大, 这可能是由于缺磷导致培养基中铁的有效性增加所致。本研究结果为土壤磷、铁肥料管理提供了新的视角。

关键词: 缺磷; 铁吸收; 磷铁互作

中图分类号: Q945.12 文献标识码: A

磷和铁都是植物必需营养元素, 在结构组成和能量代谢过程中起着重要作用, 矿质元素缺乏会严重影响油菜产量与品质^[1]。在土壤溶液中, 能够被植物吸收的无机磷(Pi)通常会与铁或其他土壤成分形成高度难溶的复合物而使其生物有效性降低。广泛分布于我国南方地区的红壤和砖红壤, 富含铁、铝氧化物, 磷的生物有效性低, 需要长期施肥以保持供磷水平^[2-4]。而我国华北平原、黄河故道和西北黄土高原等地, 其 pH 高达 7.5 ~ 8.5, 并富含游离碳酸钙, 因而缺铁现象较为严重^[5], 西南地区四川境内的石灰性紫色土也同样缺铁^[6]。

植物为应对缺磷缺铁, 从形态、生理、代谢、分子等方面发生一系列变化^[7-8]。拟南芥, 双子叶模式植物, 与油菜同属十字花科, 近年来对它的研究十分深入详实, 为作物的实际生产利用提供理论基础。拟南芥响应低磷可被分为系统反应和局部反应^[9-10]。系统反应包括涉及整体增强磷吸收和体内磷利用效率的基因的表达量增加, 且主要受控于主要调节子 *PHR1*(phosphate starvation response 1, 一个 MYB 转录因子)^[11-12]。*PHR1* 调控下游一系列磷响应标记基因的表达, 例如 *IPSI*(induced by phosphate starvation 1),

它编码一个长非编码 RNA 且特异地受缺磷强烈诱导^[13]; *SPX3*, 编码含有一个 SPX 结构域的蛋白, 负反馈调节磷信号; *PHT1*(phosphate transporter 1)家族中的 *PHT1;1* 和 *PHT1;4*, 编码负责从根际吸收磷的主要转运子^[14-15]。局部反应主要指根构型的改变, 例如主根生长受抑制^[16]、侧根密度增加^[17]、根毛密度和长度增加等^[18]。拟南芥采用策略 (还原机制)来克服缺铁环境, 该机制包括酸化、还原和转运 3 个步骤^[19]。首先, H^+ -ATP 酶外排质子到根际以降低土壤 pH, 增加 $Fe(III)$ 溶解度。其次, 铁还原酶 *FRO2*(ferric chelate reductase 2)将 $Fe(III)$ 还原成 $Fe(II)$ ^[20]。最后, $Fe(II)$ 通过转运子 *IRT1*(iron-regulated transporter 1)将铁运入根中^[21]。转录因子 *FIT*(FER-like iron deficiency-induced transcription factor)是铁吸收的关键调节子, 它从转录水平调控 *FRO2*、*CYP82C4*(cytochrome P450, family 82, subfamily C, polypeptide 4), 以及从蛋白水平调节 *IRT1* 的表达^[22]。

缺铁性萎黄病发病程度与土壤中的磷状况紧密相关^[23-24]。缺磷会诱导大部分缺铁响应基因表达量下降^[25], 但是同时又会在体内积累更多铁^[26]。铁蛋白基因 *FER1* 的表达受 *PHR1* 调节, 通过增加 *FER1* 表

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0200308), 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2015CB150501)和中科院南京土壤研究所 135 领域前沿项目(ISSASIP1605)资助。

* 通讯作者(plan@issas.ac.cn)

作者简介: 黄洁雪(1986—), 女, 贵州安顺人, 博士研究生, 研究方向为植物缺磷响应分子机制。E-mail: huangjiexue-8612@163.com

过量以清除过多的铁^[27],而拟南芥 Col 生态型缺磷诱导的主根生长受抑制又依赖于铁的存在^[28-30]。前期研究表明,当培养基中铁浓度从 40 $\mu\text{mol/L}$ 下降到 5 $\mu\text{mol/L}$ 时,缺磷诱导铁吸收相关基因的表达量下降幅度明显受到抑制^[31],但这种抑制是否具有铁浓度依赖性还不明确。本研究对缺磷和正常磷条件下不同铁浓度对植物主根生长和铁吸收基因的表达变化进行了探讨,研究结果对厘清磷铁互作的机理提供了认识,为合理施肥提供了依据。

1 材料与方 法

1.1 植物材料与生长条件

本试验材料为拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)Col-0 生态型,由本实验室保存。光照培养箱的温度为 $(22\pm 1)^\circ\text{C}$,16 h 光照/8 h 黑暗,湿度 70%,光照强度为 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。正常固体培养基为 Estelle 和 Somerville 的 ES 培养基^[32],成分为 5 mmol/L KNO_3 , 2 mmol/L MgSO_4 , 2 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 2.5 mmol/L KH_2PO_4 , 70 $\mu\text{mol/L}$ H_3BO_3 , 14 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 , 1 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 , 0.5 $\mu\text{mol/L}$ CuSO_4 , 10 $\mu\text{mol/L}$ NaCl , 0.2 $\mu\text{mol/L}$ Na_2MoO_4 , 40 $\mu\text{mol/L}$ $\text{Fe}(\text{III})\text{-EDTA}$, 4.7 mmol/L MES (2-吗啉已磺酸), 1%(w/V)蔗糖, 0.8%(w/V)琼脂 pH 5.5。种子用 70% 酒精浸泡 3 min,再用 0.5% (V/V)次氯酸钠+0.5% (V/V) 吐温 40 表面消毒 10 min,然后用灭菌水清洗干净(5 次)播种于 9 cm 培养基上,密封好,置 4 $^\circ\text{C}$ 低温避光保存 2 d,然后放入光照箱中培养。

1.2 磷铁处理对拟南芥主根生长的影响

待 Col-0 拟南芥正常生长 5 d 后,挑选长势一致

的幼苗移植于不同磷铁浓度处理的 10 cm 方形培养基上竖直培养,处理 9 d,主根伸长量 = 处理后主根长-移苗时主根长。缺磷处理采用 KCl 代替 KH_2PO_4 ,两种磷水平分别为 +P(2.5 mmol/L P)和 -P(0 mmol/L P),加入不同浓度的 $\text{Fe}(\text{III})\text{-EDTA}$,不加记为 -Fe,共计 13 个处理,分别为 :+P-Fe,-P-Fe,-P+1 $\mu\text{mol/L}$ Fe,-P+5 $\mu\text{mol/L}$ Fe,-P+10 $\mu\text{mol/L}$ Fe,-P+20 $\mu\text{mol/L}$ Fe,-P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe,-P+100 $\mu\text{mol/L}$ Fe,+P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe(对照),+P+100 $\mu\text{mol/L}$ Fe,+P+150 $\mu\text{mol/L}$ Fe,+P+250 $\mu\text{mol/L}$ Fe,+P+350 $\mu\text{mol/L}$ Fe。每个处理 12 株苗。

1.3 磷铁处理对磷铁响应标记基因表达量的影响

待 Col-0 拟南芥正常生长 10 d 后,挑选长势一致的苗移植于不同磷铁浓度处理的培养基上生长 3 d,处理如本文 1.2 节所述,仔细采集根部,取约 50 mg 鲜样用液氮速冻后保存于 -80°C 待提取 RNA。总 RNA 提取依据 Trizol reagent(Invitrogen)说明书进行。1 μg 总 RNA 被用于反转录(TaKaRa,含 gDNA Eraser, Cat#RP047A)。cDNA 经稀释 12 倍后,取 2 μl 作为模板进入后续 10 μl 体系的实时荧光定量 PCR 检测(quantitative real-time RT-PCR, qRT-PCR)。qRT-PCR 采用 SYBR Green Perfect mix(TaKaRa, Cat#RR420A)在 Thermo PIKOREAL 96 Real-Time PCR System 仪器上进行检测,运行程序采用两步法,95 $^\circ\text{C}/5\text{ s}$, 60 $^\circ\text{C}/30\text{ s}$, 40 个循环,内参基因为 *TUA3*(tubulin alpha-3, At5g19770), 3 次重复。检测缺磷响应标记基因 *IPS1*、*SPX3* 和 *PHT1;4*, 铁吸收主要调控基因 *FIT*, 以及受 *FIT* 调控的 *IRT1*、*FRO2* 和 *CYP82C4*。引物信息见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物
Table 1 Primer of qRT-PCR

基因号	引物名称	引物序列	长度(bp)
At5g19770	TUA3-RT-F	GTGCTGAAGGTGGAGACGAT	159
	TUA3-RT-R	AACACGAAGACCGAACGAAT	
At2g28160	FIT1-RT-F	CAGTCACAAGCGAAGAACTCA	237
	FIT1-RT-R	CTTGTAAGAGATGGAGCAACACC	
At1g01580	FRO2-RT-F	GGCCACCACATATCCGAAGAT	101
	FRO2-RT-R	CGACGTGGAGGACAAAGAAGAG	
At4g19690	IRT1-RT-F	CACCATTCGGAATAGCGTTAGG	103
	IRT1-RT-R	CCAGCGGAGCATGCATTTA	
At4g31940	CYP82C4-RT-F	TAACCATTCTAAAGCCACGC	232
	CYP82C4-RT-R	CGTTTACGAACATAATACCGCAC	
At3g09922	IPS1-RT-F	AGACTGCAGAAGGCTGATTGAGA	61
	IPS1-RT-R	TTGCCCAATTTCTAGAGGGAGA	
At2g45130	SPX3-RT-F	CCGATCTTCTATCTATCTT	95
	SPX3-RT-R	TTACGATAATGTCATATTGCGT	
At2g38940	PHT 1;4-RT-F	GGTCCCAATAGTTTAGGTGAT	77
	PHT 1;4-RT-R	AGTTGCTAGAGACAAGGAGAA	

1.4 表达量统计与分析

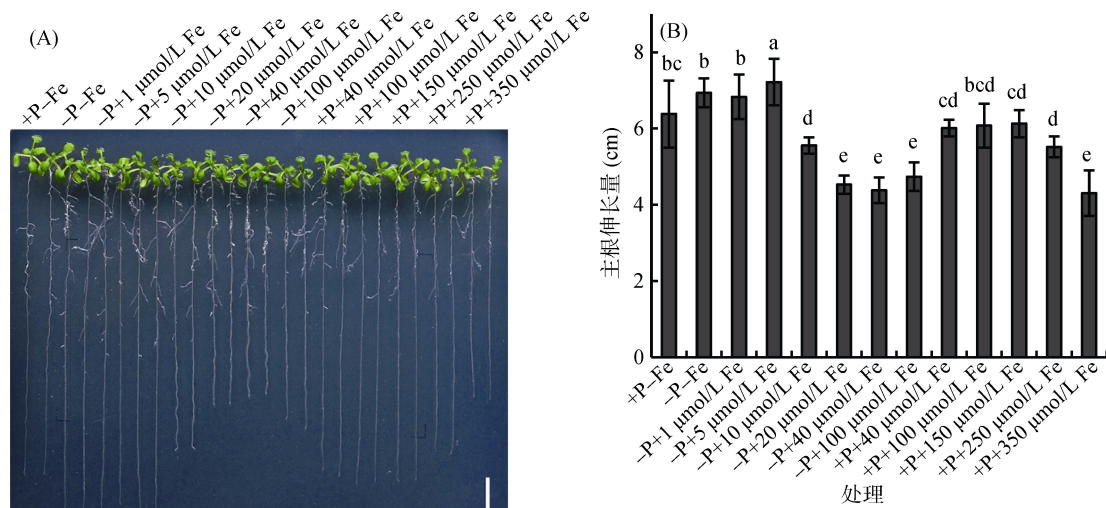
基因表达量采用 $2^{-\Delta Ct} = 2^{-(Ct_{\text{基因}} - Ct_{\text{内参}})}$ 计算, 显著性差异通过比较 $-\Delta Ct$ 进行计算。主根长和基因表达数据统计采用 SAS 软件, 多重比较为邓肯法, 不同字母表示 5% 差异性。

2 结果

2.1 缺磷对拟南芥主根生长的影响

相比对照(+P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe) 缺磷(-P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe)能显著抑制主根生长(图 1)。-P+20 $\mu\text{mol/L}$ Fe 和 -P+100 $\mu\text{mol/L}$ Fe 处理与 -P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe 抑制程度

相同, 而当铁浓度下降到 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制作用解除, 5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 主根伸长量最长, 而当铁浓度继续降低时, 缺铁表型开始显现, 主根伸长量开始减少(图 1)。这说明, 缺磷抑制主根生长依赖于铁浓度, 若铁浓度低于某一范围则解除抑制。+P-Fe 比 -P-Fe 主根长更短, 可能是由于大量的磷与培养基上微量的铁结合形成难以被植物利用的磷铁沉淀, 进一步加重了缺铁表型。在磷充足的条件下, 随着铁浓度上升到达 350 $\mu\text{mol/L}$, 拟南芥出现高铁毒害表型, 主根生长受到明显抑制, 这与缺磷(-P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe)处理表型相似(图 1)。



(A. 不同磷铁浓度处理后的植株照片。标尺为 1 cm; B. 主根伸长量的统计分析。图中数值为平均值 \pm SD ($n = 12$), 小写字母不同表示处理间差异达到 $P < 0.05$ 显著水平, 下图同)

图 1 磷铁胁迫对拟南芥主根生长的影响

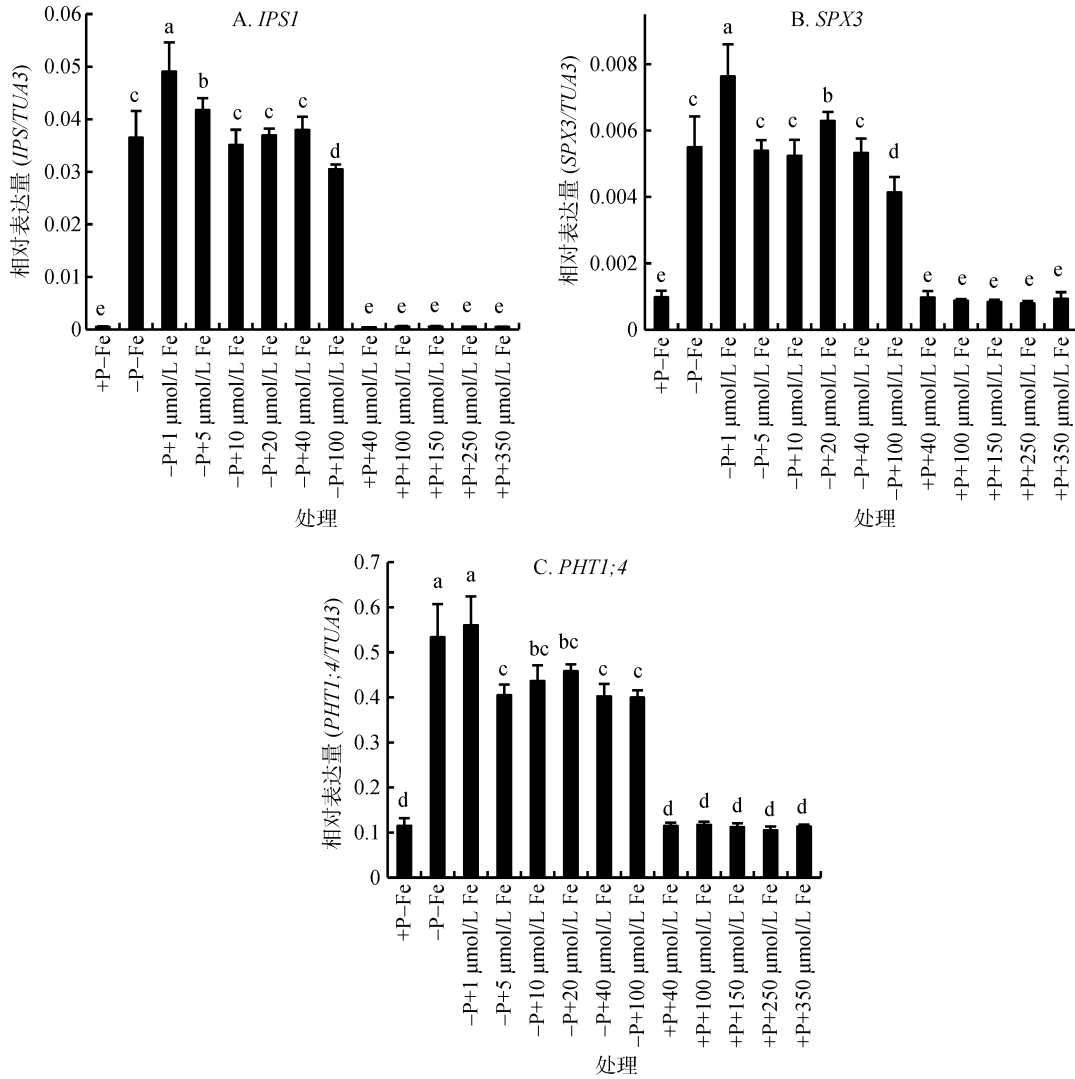
Fig. 1 Effects of phosphate and iron stresses on primary root elongation of Col-0

2.2 缺磷标记基因对铁浓度变化的响应

缺磷时, 植物除了发生形态学变化的局部响应, 还会迅速发生分子水平的系统响应以适应环境, 其中磷饥饿响应基因(Pi-starvation-responsive, PSR)涉及磷的吸收、转运、代谢、转录调控以及信号转导等多个生物学过程。本研究选用了受主要调节子 PHR1 直接调控并参与 Pi 信号转导的长非编码 RNA *IPS1*, 它常作为标记基因用来检验植物体内是否缺磷, 受缺磷强烈诱导并负反馈调节磷信号网络的 *SPX3*, 以及实现磷吸收的根中主要磷转运子 *PHT1;4* 作为缺磷响应标记基因。在本研究的 13 个处理中, *IPS1*、*SPX3* 和 *PHT1;4* 在所有缺磷处理中表达量显著增加, 这说明试验条件设置与操作达到了预想的结果, 而在相同缺磷条件下不同的铁浓度处理间表达量与铁浓度无相关性(图 2)。这说明这些缺磷标记基因仅响应缺磷, 对铁浓度变化不响应。

2.3 铁吸收基因对缺磷和不同铁浓度的响应

为了研究铁吸收基因在缺磷条件下的受抑制是否与铁浓度相关, 我们利用 qRT-PCR 分析根中铁吸收基因的表达水平。*FIT* 的表达量与对照(+P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe) 比, 仅在培养基中不添加 Fe-EDTA 时表现出明显增加, 当缺磷且铁浓度维持在 5 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内时, 缺磷显著降低 *FIT* 表达量; -P-Fe 与 +P-Fe 相比, *FIT* 也表现出缺磷诱导表达量下降(图 3A)。受 *FIT* 调控的铁吸收基因 *IRT1*、*FRO2* 和 *CYP82C4* 的表达水平本身受缺铁诱导, 并随铁浓度下降而升高, 受高铁抑制(图 3B ~ D)。它们的表达同样受缺磷抑制, 例如, *IRT1* 的表达量在 -P-Fe 中比 +P-Fe 中表达下降 57.7%, -P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe 比 +P+40 $\mu\text{mol/L}$ Fe 表达下降 76.0%, -P+100 $\mu\text{mol/L}$ Fe 比 +P+100 $\mu\text{mol/L}$ Fe 表达下降 93.8%(图 3E) 这 3 个铁吸收基因都表现出铁浓度越高, 受缺磷抑制越严重, 与铁浓度呈现显著相关性。



(A.*IPS1* ; B.*SPX3* ; C.*PHT1;4*。数据为平均值± SD(n = 3) , 下同)

图 2 qRT-PCR 分析缺磷标记基因对磷铁胁迫的响应

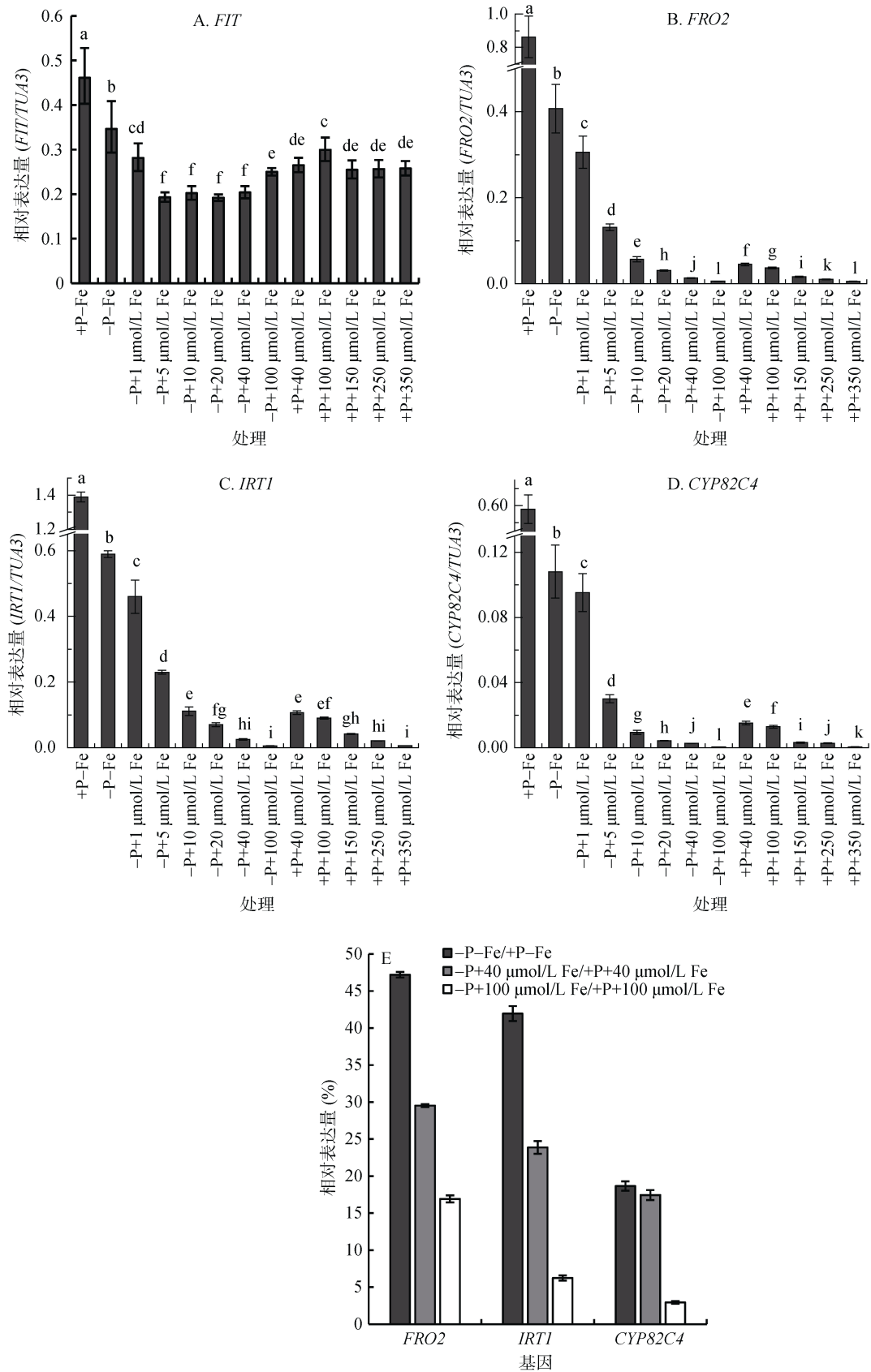
Fig. 2 qRT-PCR analysis of Pi-deficiency marker genes upon phosphate and iron stresses

3 讨论

缺磷抑制植物主根生长具有生存意义,因为磷在土壤中的浓度随着深度下降,所以在低磷土壤中浅根系的基因型往往具有更高的磷吸收效率^[33]。土壤中单独缺磷和单独缺铁都会诱导主根变短^[16, 34],而缺磷低铁的生长基质中植物生长受限的情况减轻并导致了类似于磷充分的根表型,表明衰弱的主根生长并非是对低磷的适应而是受到铁毒害,因为磷缺乏条件下铁具有更高的有效性^[28]。在本试验中,缺磷处理时,铁浓度在 20 ~ 100 μmol/L 时都能抑制主根生长,而当铁浓度低至 10 μmol/L 时抑制作用解除(图 1),说明外界铁浓度低于某一范围后根尖积累的铁不足以引起铁毒。缺磷主根生长受抑制不仅取决于外界铁

的总浓度,还需要植物将铁精确地沉积在干细胞龛以及在伸长区皮层细胞的质外体中^[35]。缺磷且铁浓度在 20 ~ 100 μmol/L 范围时,主根伸长量一致(图 1),可能的解释是铁定位于根尖质外体需要转运子的协助,此时的限制因子在于转运子数量而非外界铁浓度。磷充分高铁处理中,当铁浓度达 350 μmol/L 时,引起明显的铁中毒现象,此时主根伸长量与缺磷(-P+40 μmol/L Fe)处理一致(图 1),可能在根尖积累的铁浓度与缺磷造成的铁中毒相当。

在磷饥饿反应中,铁浓度升高,铁吸收基因表达量下降以及铁清除蛋白的表达增加构成了稳健的铁反应模式^[36-38]。大量的研究发现缺磷时会抑制铁吸收基因表达^[25, 31, 38],而当铁浓度从 40 μmol/L 下降到 5 μmol/L 时^[31],该抑制作用减弱。铁吸收基因是否直



(A.FIT; B.IRT1; C.FRO2; D.CYP82C4; E.同一铁浓度时磷充分与缺磷处理的相对表达量(%) = $-P/+P \times 100\%$)

图 3 qRT-PCR 分析铁吸收基因对缺磷和不同铁浓度的响应

Fig. 3 qRT-PCR analysis of Fe uptake-related genes in Pi-deficiency and various Fe concentrations

接响应植物磷含量变化,又或植物缺磷程度依赖于铁浓度?已知缺磷系统响应依赖于体内磷状态,局部响应依赖于外界磷浓度^[9-10]。本研究设置的 13 种磷铁浓度组合中,缺磷响应基因量 *IPS1*、*SPX3*、*PHT1;4* 只受缺磷诱导增加,与铁浓度无相关性(图 2),但是可以改变缺磷局部响应—抑制主根生长(图 1)。类似的试验处理也发现叶片中的总磷含量仅与培养基是否缺磷相关,而与铁浓度无关^[26]。总之,铁浓度不影响磷吸收但能抑制主根生长促使植物形成浅根系探索富磷表层土。农业生产中,施用化肥不仅能够满足植物生长所需营养,还可通过合理配比各元素含量调控根系结构,以达到减施增效的目的。

缺磷抑制铁吸收基因表达可能是磷缺乏植物中铁浓度升高的反馈调节^[25],也可能是 P-Fe 复合物无法形成,使得铁有效性升高^[26, 28]。植物能灵敏地感知外界铁浓度从而调节铁吸收基因表达水平。在保持磷水平一致时,考察铁吸收基因表达水平在不同铁浓度处理中的变化,结果发现铁吸收基因 *FRO2*、*IRT1* 和 *CYP82C4* 的表达水平与外界铁浓度呈反比(图 3B ~ D)。而铁吸收主要调节子只在完全不加 Fe-EDTA 时,表达量才相比对照增加(图 3A),这是因为 *FIT* 的表达受转录后严格调控,可以依据实时条件在很窄的范围内微调有活性的 *FIT* 蛋白的数量^[39-42]。铁浓度梯度试验有力地证明了植物能依据外界铁浓度非常经济高效地调控铁吸收基因转录水平。铁吸收基因在缺磷时表达量下降,该现象在本研究涉及的 *FIT*、*FRO2*、*IRT1* 和 *CYP82C4* 中都能观察到,有趣的是,这种下降与铁浓度显著相关,铁浓度越高,下降幅度越大(图 3E)。这可能是因为缺磷处理后,大量的铁不再与磷结合形成难溶的磷铁复合物,铁浓度越高则有效铁越高,使得铁吸收基因表达进一步下降,最终表现为缺磷引起的铁基因表达量下降程度随铁浓度上升而加大。

缺磷时植物体内铁含量增加,而铁吸收基因如 *IRT1* 的表达量却是显著下降的,暗示了铁并非通过常规的铁吸收途径进入植物。有研究表明,磷缺乏时突变体 *irt1* 植株表现出类似于野生型在主根生长和铁吸收方面的表型,即铁的积累不依赖于 *IRT1* 的功能^[38]。另一方面,缺铁导致的主根短是受赤霉素调节的 *DELLA* 生长抑制子的空间分布控制的。缺铁时,赤霉素含量下降,*DELLA* 积累在分生区和伸长区,抑制主根伸长;另外缺铁使得已分化区表皮细胞中不含有 *DELLA*,解除了 *DELLA* 对 *FIT* 的互动和干扰,使得 *FIT* 能调控下游缺铁基因的表达,促进铁吸收^[41]。缺磷也会降低 GA 含量积累 *DELLA* 从而抑制主根生长^[43]。根尖是植物感受缺磷的部位^[44],缺

磷时铁和胼胝质沉淀在分生区和伸长区^[35],而 *FIT* 调控的铁吸收机制在分生区和伸长区以外,因此 *FIT* 调控不太可能在根尖上协调对缺磷响应^[41]。那么磷缺乏时铁通过怎样的路径被植物吸收?有研究表明,七叶亭,一种高亲和 Fe^{3+} 的香豆素,缺铁缺磷时分泌量增加,且独立于 *IRT1*^[45-46],这可能部分解释了缺磷时的铁积累。植物可能存在一套在缺磷时积累铁且相对于 *FIT* 独立的铁吸收系统^[47]。进一步表明,*FIT* 调控的铁吸收基因在缺磷时表达量下降,是受外界环境铁有效性升高影响而非响应磷浓度变化。

磷充分时,*FRO2*、*IRT1*、*CYP82C4* 的表达随铁浓度上升(40 ~ 350 $\mu\text{mol/L Fe}$)而受到反馈抑制,表达量下降幅度缓慢。磷缺乏时,随着缺铁程度减轻(0 ~ 100 $\mu\text{mol/L Fe}$),其表达迅速下降。过量施肥可能比施肥不足更加挑战植物的自适应性。-P+10 $\mu\text{mol/L Fe}$ 处理中,这 3 个基因的表达量几乎与对照 +P+40 $\mu\text{mol/L Fe}$ 一致,由此推测,培养基中大量磷的存在,导致 40 $\mu\text{mol/L Fe}$ 的加入实际只有 10 $\mu\text{mol/L Fe}$ 的有效性。本试验通过模拟土壤中磷铁的互作,提示生产实践中缺铁土壤磷肥铁肥的施用量需着重考虑实际有效性。已有研究发现,在石灰性水稻土中采用 co-situs 技术在水稻根际处施用含有氮磷钾和微量元素的控释肥能有效解除缺铁造成的水稻减产甚至死亡,控释肥颗粒与根系的接触能增加利用率^[48]。总之,磷铁互作的机理还需要更深入的研究,以便于更好地指导施肥并为高效品种的选育提供理论基础。

4 结论

综上所述,缺磷局部响应中的主根生长受环境中铁的浓度调节,缺磷响应标记基因 *IPS*、*SPX3* 和 *PHT1;4* 仅响应磷浓度而不响应铁浓度表明铁浓度不影响植物对磷的吸收,缺磷抑制铁吸收基因 *FRO2*、*IRT1* 和 *CYP82C4* 表达且抑制程度与外界铁浓度正相关是由于环境中铁有效性的改变,磷浓度能够显著影响植物对铁的吸收。该结论提示磷肥减施控施时需要确保土壤中含有适量的铁以形成有利于探索富磷表土的浅根系,铁肥磷肥施用时应更应考虑磷铁难溶物对铁肥生物有效性的影响。本文通过研究缺磷对铁吸收基因的影响,为科学施肥以达成减施增效提供了新的视角。

参考文献:

- [1] 张辉,朱德进,黄卉,等. 不同施肥处理对油菜产量及品质的影响[J]. 土壤, 2012, 44(6): 966-971
- [2] 熊毅,李庆远. 中国土壤[M]. 北京: 科学出版社, 1990

- [3] 王永, 徐仁扣. 可变电荷土壤对水体中磷酸根的吸附去除作用[J]. 生态与农村环境学报, 2008, 24(4): 63-67
- [4] 王经纬, 王艳玲, 姚怡, 等. 长期施肥对旱地红壤团聚体磷素固持与释放能力的影响[J]. 土壤学报, 2017, 54(5): 1240-1250
- [5] 张凌云, 张宪法, 翟衡. 土壤因子对植物缺铁失绿的影响[J]. 土壤通报, 2002, 33(1): 74-77
- [6] 于景丽, 张小平, 李登煜, 等. 石灰性紫色土施铁肥与接种根瘤菌对花生-根瘤菌共生固氮作用的影响[J]. 土壤学报, 2005, 42(2): 295-300
- [7] Wang J Y, Lan P, Gao H M, et al. Expression changes of ribosomal proteins in phosphate- and iron-deficient *Arabidopsis* roots predict stress-specific alterations in ribosome composition[J]. BMC Genomics, 2013, 14: 783-796
- [8] Secco D, Jabnune M, Walker H, et al. Spatio-temporal transcript profiling of rice roots and shoots in response to phosphate starvation and recovery[J]. Plant Cell, 2013, 25(11): 4285-4304
- [9] Thibaud M C, Arrighi J F, Bayle V, et al. Dissection of local and systemic transcriptional responses to phosphate starvation in *Arabidopsis*[J]. Plant J., 2010, 64(5): 775-789
- [10] Peret B, Clement M, Nussaume L, et al. Root developmental adaptation to phosphate starvation: Better safe than sorry[J]. Trends Plant Sci., 2011, 16(8): 442-450
- [11] Bustos R, Castrillo G, Linhares F, et al. A central regulatory system largely controls transcriptional activation and repression responses to phosphate starvation in *Arabidopsis*[J]. Plos Genet., 2010, 6(9): e1001102
- [12] Rubio V, Linhares F, Solano R, et al. A conserved MYB transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae[J]. Gene Dev., 2001, 15(1): 2122-2133
- [13] Martin A C, del Pozo J C, Iglesias J, et al. Influence of cytokinins on the expression of phosphate starvation responsive genes in *Arabidopsis*[J]. Plant J., 2000, 24(5): 559-567
- [14] Misson J, Thibaud M C, Bechtold N, et al. Transcriptional regulation and functional properties of *Arabidopsis* Pht1;4, a high affinity transporter contributing greatly to phosphate uptake in phosphate deprived plants[J]. Plant Mol. Biol., 2004, 55(5): 727-741
- [15] Shin H, Shin H S, Dewbre G R, et al. Phosphate transport in *Arabidopsis*: Pht1;1 and Pht1;4 play a major role in phosphate acquisition from both low- and high-phosphate environments[J]. Plant J., 2004, 39(4): 629-642
- [16] Raghothama K G. Phosphate acquisition[J]. Annu. Rev. Plant Phys., 1999, 50: 665-693
- [17] Lopez-Bucio J, Hernandez-Abreu E, Sanchez-Calderon L, et al. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system[J]. Plant Physiol., 2002, 129(1): 244-256
- [18] Bates T R, Lynch J P. Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability[J]. Plant Cell Environ., 1996, 19(5): 529-538
- [19] Romheld V. Different strategies for iron acquisition in higher-plants[J]. Physiol. Plantarum, 1987, 70(2): 231-234
- [20] Robinson N J, Procter C M, Connolly E L, et al. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils[J]. Nature, 1999, 397, 6721: 694-697
- [21] Eide D, Broderius M, Fett J, et al. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast[J]. P. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93(11): 5624-5628
- [22] Colangelo E P, Guerinot M L. The essential basic helix-loop-helix protein FIT1 is required for the iron deficiency response[J]. Plant Cell, 2004, 16(12): 3400-3412
- [23] Sanchez-Rodriguez A R, del Campillo M C, Torrent J. The severity of iron chlorosis in sensitive plants is related to soil phosphorus levels[J]. J. Sci. Food Agr., 2014, 94(13): 2766-2773
- [24] Sanchez-Rodriguez A R, del Campillo M C, Torrent J. Phosphate aggravates iron chlorosis in sensitive plants grown on model calcium carbonate-iron oxide systems[J]. Plant and Soil, 2013, 373(1/2): 31-42
- [25] Misson J, Raghothama K G, Jain A, et al. A genome-wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymetrix gene chips determined plant responses to phosphate deprivation[J]. P. Natl. Acad. Sci. USA, 2005, 102(33): 11934-11939
- [26] Hirsch J, Marin E, Floriani M, et al. Phosphate deficiency promotes modification of iron distribution in *Arabidopsis* plants[J]. Biochimie., 2006, 88(11): 1767-1771
- [27] Bournier M, Tissot N, Mari S, et al. *Arabidopsis* ferritin 1 (AtFer1) gene regulation by the phosphate starvation response 1 (AtPHR1) transcription factor reveals a direct molecular link between iron and phosphate homeostasis[J]. J. Biol. Chem., 2013, 288(31): 22670-22680
- [28] Ward J T, Lahner B, Yakubova E, et al. The effect of iron on the primary root elongation of *Arabidopsis* during phosphate deficiency[J]. Plant Physiol., 2008, 147(3): 1181-1191
- [29] Mora-Macias J, Ojeda-Rivera J O, Gutierrez-Alanis D, et al. Malate-dependent Fe accumulation is a critical checkpoint in the root developmental response to low phosphate[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2017, 114(17): E3563-E3572
- [30] Dong J S, Pineros M A, Li X X, et al. An *Arabidopsis* ABC transporter mediates phosphate deficiency-induced remodeling of root architecture by modulating iron homeostasis in roots[J]. Mol. Plant, 2017, 10(2): 244-259
- [31] Li W, Lan P. Genome-wide analysis of overlapping genes regulated by iron deficiency and phosphate starvation reveals new interactions in *Arabidopsis* roots[J]. BMC Research Notes, 2015, 8(1): 1-16
- [32] Estelle M A, Somerville C R. Auxin Resistant Mutants of *Arabidopsis* with an Altered Morphology[J]. J. Cell Biochem., 1987: 19
- [33] Lynch J. Root Architecture and Plant Productivity[J]. Plant Physiol., 1995, 109: 7-13
- [34] Ivanov R, Brumbarova T, Bauer P. Fitting into the harsh

- reality: Regulation of iron-deficiency responses in dicotyledonous plants[J]. *Mol. Plant*, 2012, 5(1): 27–42
- [35] Muller J, Toev T, Heisters M, et al. Iron-dependent callose deposition adjusts root meristem maintenance to phosphate availability[J]. *Dev. Cell*, 2015, 33(2): 216–230
- [36] Wasaki J, Yonetani R, Kuroda S, et al. Transcriptomic analysis of metabolic changes by phosphorus stress in rice plant roots[J]. *Plant Cell Environ.*, 2003, 26: 1515–1523
- [37] Lan P, Li W F, Wen T N, et al. Quantitative phosphoproteome profiling of iron-deficient *Arabidopsis* roots[J]. *Plant Physiol.*, 2012, 159(1): 403–417
- [38] Hoehenwarter W, Monchgesang S, Neumann S, et al. Comparative expression profiling reveals a role of the root apoplast in local phosphate response[J]. *Bmc. Plant Biol.*, 2016, 16: 106
- [39] Lingam S, Mohrbacher J, Brumbarova T, et al. Interaction between the bHLH transcription factor FIT and ETHYLENE INSENSITIVE₃/ETHYLENEINSENSITIVE₃-LIKE₁ reveals molecular linkage between the regulation of iron acquisition and ethylene signaling in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(5): 1815–1829
- [40] Meiser J, Lingam S, Bauer P. Posttranslational regulation of the iron deficiency basic Helix-Loop-Helix transcription factor FIT is affected by iron and nitric oxide[J]. *Plant Physiol.*, 2011, 157(4): 2154–2166
- [41] Wild M, Davière J M, Regnault T, et al. Tissue-specific regulation of Gibberellin signaling fine-tunes *Arabidopsis* iron-deficiency responses[J]. *Dev. Cell*, 2016, 37(2): 190–200
- [42] Mai H J, Lindermayr C, von Toerne C, et al. Iron and fer-like iron deficiency -induced transcription factor-dependent regulation of proteins and genes in *Arabidopsis thaliana* roots[J]. *Proteomics*, 2015, 15(17): 3030–3047
- [43] Jiang C, Gao X, Liao L, et al. Phosphate starvation root architecture and anthocyanin accumulation responses are modulated by the Gibberellin-DELLA signaling pathway in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol.*, 2007, 145(4): 1460–1470
- [44] Svistoonoff S, Creff A, Reymond M, et al. Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture[J]. *Nat. Genet.*, 2007, 39: 792–796
- [45] Schmid N B, Giehl R F, Doll S, et al. Feruloyl-CoA 6'-Hydroxylase1-dependent coumarins mediate iron acquisition from alkaline substrates in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol.*, 2014, 164(1): 160–172
- [46] Ziegler J, Schmidt S, Chutia R, et al. Non-targeted profiling of semi-polar metabolites in *Arabidopsis* root exudates uncovers a role for coumarin secretion and lignification during the local response to phosphate limitation[J]. *J. Exp. Bot.*, 2016, 67(5): 1421–1432
- [47] Tsai H H, Schmidt W. One way. or another? Iron uptake in plants[J]. *New Phytol.*, 2017, 214(2): 500–505
- [48] Morikawa C K, Saigusa M, Nishizawa N K, et al. Importance of contact between rice roots and co-situs applied fertilizer granules on iron absorption by paddy rice in a calcareous paddy soil[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2008, 54(3): 467–472

Phosphate Deficiency Induced Down-regulation of Iron Acquisition Genes is Dependent on Ambient Iron Concentrations

HUANG Jiexue^{1,2}, YAN Mingke^{1,2}, XUE Caiwen^{1,2}, SHEN Renfang¹, LAN Ping^{1*}

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Phosphorus (P) and iron (Fe) are two essential nutrients for plants, and their low availability in soil would seriously constrain crop growth and development, leading to compromised yield and quality. The down-regulation of genes involved in Fe uptake in phosphate (Pi)-deficiency were reported previously, but it is unclear whether there is a dependency on Fe concentration contributing to the disturbance. In this research, the variation of the transcript abundance of Fe acquisition genes upon Pi-deficiency with different concentrations of Fe was analyzed. Results showed that the pronounced inhibition of primary root growth under Pi-deficiency was significantly correlated to Fe concentrations, and the inhibition disappeared when Fe concentrations were decreased to a certain range. qRT-PCR analysis showed that the expression levels of Pi-deficiency marker genes *IPS*, *SPX3*, *PHT1;4* were dramatically and exclusively induced by P-deficiency, which is independent of Fe concentrations. The expression levels of Fe-deficiency marker genes *IRT1*, *FRO2* and *CYP82C4* were significantly down-regulated by Pi-deficiency in a Fe-concentration-dependent manner, and decreased with increasing Fe concentrations, which might due to the elevated Fe availability in Pi-deficiency media. The results proposed a new perspective for management of P and Fe fertilizers in soil.

Key words: Phosphate-deficiency; Iron uptake; Interaction between phosphate and iron