

磷胁迫对烤烟高亲和磷转运蛋白基因 表达及磷素吸收利用的影响

王艳丽¹, 王京¹, 刘国顺¹, 丁松爽^{1*}, 李建华²

(1 河南农业大学烟草学院/国家烟草栽培生理生化研究基地, 郑州 450002; 2 河南省烟草公司许昌市公司, 河南许昌 461000)

摘要:为探明缺磷胁迫对烤烟磷吸收的影响机理,以烤烟品种‘豫烟10号’为材料,采用盆栽试验设置不施磷(-P)和正常供磷(+P)2个处理,分析了烟草生育后期根系和叶片中高亲和磷转运蛋白基因 *NtPht1;1*、*NtPht1;2* (简称 *PT1*、*PT2*) 的表达差异性及其表达量与烟草磷含量、磷积累量的关系。结果表明:(1)随生育期的推进,烤烟根系和叶片的 *PT1* 基因相对表达量、*PT2* 基因相对表达量、干物质重和磷素积累量逐渐增加,烟叶的磷含量逐渐降低,根系磷含量无明显变化规律。(2)磷胁迫促使 *PT1*、*PT2* 基因的表达量上调,其中叶片 *PT1* 基因的相对表达量高于根系,叶片 *PT2* 基因的相对表达量显著低于根系。(3)磷胁迫限制了烤烟对干物质和磷素的积累,在移栽后 90 d, -P 处理烤烟根系和叶片的干物质重、磷素积累量不到 +P 处理的一半,处理间差异极显著。研究认为,在缺磷环境下,烟草高亲和磷转运蛋白基因 *PT1* 和 *PT2* 表达量的增加,是由磷胁迫下烟草体内磷积累量降低所引起的系统性调控。

关键词:烤烟;磷胁迫;高亲和磷转运蛋白基因;磷素吸收利用

中图分类号:Q945.79;Q789

文献标志码:A

Expression of High-affinity Phosphate Transporter Genes, Phosphorus Absorption and Utilization in Flue-cured Tobacco under Deficient Phosphorus Stress

WANG Yanli¹, WANG Jing¹, LIU Guoshun¹, DING Songshuang^{1*}, LI Jianhua²

(1 College of Tobacco Science, Henan Agricultural University/National Tobacco Cultivation & Physiology & Biochemistry Research Center, Zhengzhou 450002, China; 2 Xuchang Branch of Henan Tobacco Company, Xuchang, He'nan 461000, China)

Abstract: In order to clarify the mechanism of deficient phosphorus stress on phosphorus absorption of flue-cured tobacco, taking ‘Yuyan No. 10’ as the material, we designed a pot experiment with two treatments, which were no phosphate fertilizer application and recommended amount of phosphate fertilizer. The expression differences of high-affinity phosphate transporter genes *NtPht1;1* (*PT1*) and *NtPht1;2* (*PT2*) between two treatments and the correlation of genes expression and phosphorus accumulation in leaves and roots at later growth stages were analyzed. The results showed that: (1) with the advancement of the growth stages, the relative expression of *PT1* and *PT2* genes, the dry matter weight and the phosphorus accumulation in leaves and roots of flue-cured tobacco increased gradually and the content of phosphorus in leaves decreased. Whereas, there was no significant pattern in roots. (2) The relative expression of *PT1* and *PT2* genes were up-regulated under deficient phosphorus stress. The relative expression of *PT1* gene in

收稿日期: 2015-04-02; 修改稿收到日期: 2015-05-08

基金项目: 中国烟草总公司特色优质烟叶开发重大专项浓香型项目(Ts-01-2011005)

作者简介: 王艳丽(1989-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事烟草栽培生理生化研究。E-mail: yanliw000@163.com

* 通信作者: 丁松爽, 博士, 讲师, 主要从事烟草生态学研究 and 教学工作。E-mail: shuangsd@126.com

leaves was higher than that in roots, while *PT2* gene was the opposite, comparatively. (3) The accumulation of dry matter and phosphorus in flue-cured tobacco were limited under deficient phosphorus stress. At 90 days after transplanting, the dry matter weight and phosphorus accumulation in tobacco roots and leaves with no phosphate fertilizer application were less than half the values of the phosphorus application treatment. There were extremely significant differences among treatments at 0.01 probability levels. This might imply that the up-regulated expression of *PT1* and *PT2* genes under deficient phosphorus stress was due to the decrease of phosphorus accumulation in tobacco tissues rather than the low available phosphorus soil.

Key words: flue-cured tobacco; deficient phosphorus stress; high-affinity phosphate transporter gene; phosphorus absorption and utilization

磷是重要的生命元素,是烤烟体内许多有机化合物的组成成分,与烤烟的新陈代谢和生长发育状况密切相关。烤烟吸收的磷以 H_2PO_4^- 和 HPO_4^{2-} 为主,肥料磷施入土壤后极易被固定,形成难以利用的矿物态,导致土壤总磷含量高、磷肥利用率普遍偏低。一般认为植物从土壤中吸收磷素是逆浓度梯度的主动耗能吸收过程,属于 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{H}^+$ 共运机理 (*Phl1* 家族)^[1-2],因此,土壤磷浓度的改变必然影响到烤烟对磷的吸收。郭燕等^[3]认为烤烟磷含量与土壤速效磷含量呈极显著的正相关关系,即在一定范围内烤烟磷含量随土壤速效磷含量的升高而升高。

低磷胁迫下,植物根系形态发生一系列变化^[4-5]的同时,也会通过增加根系分泌物、降低代谢消耗、增强缺磷诱导基因的表达等生理变化来吸收更多的磷营养^[6-7]。其中,与磷酸盐吸收转运直接相关的基因就是烟草高亲和磷转运蛋白基因。目前已克隆出的烟草高亲和磷转运蛋白基因有 5 个,其中 *NtPhl1;1* 和 *NtPhl1;2* (简称 *PT1* 和 *PT2*) 基因受磷胁迫诱导表达上调, *NtPhl1;3*、*NtPhl1;4* 和 *NtPhl1;5* 与菌根诱导有关^[8]。关于植物 *Phl1* 家族磷转运蛋白基因的已有研究主要集中在基因的结构、功能以及表达调控方面^[2,9],在拟南芥、水稻等模式作物上研究较多,认为 *Phl1* 家族的磷酸盐转运蛋白主要存在于细胞质膜上^[10],负责低磷环境下植物根系从土壤中吸收磷素营养,并调节植物体内磷素向维管组织的转运过程^[11-12],基因的表达则受转录因子^[13]、其他矿质营养水平、植物激素等因素共同调控^[10]。尽管已知低磷调控高亲和磷转运蛋白基因的表达,但这种低磷信号来自于土壤还是植物体内磷浓度的变化,或是二者共同起作用尚不清楚。Liu 等^[14]通过番茄的分根试验发现,分根植株 *LePt1* 和 *LePt2* 基因的表达量介于所有根系磷胁迫和所有根系正常供磷的植株之间,认为植物对缺磷的响应可能是受植物整体磷状态影响的。关于高亲和磷转运蛋白基因表达水平与植物体内磷含量关系

方面的研究,贾宏昉等^[15]将水稻高亲和磷转运蛋白基因 *OsPT8* 转入烟草中,发现在低磷和正常供磷条件下,转基因烟草全磷含量和有效磷含量均显著高于野生型,认为烟草磷含量的提高是 *OsPT8* 基因与烟草 *PT1*、*PT2* 基因共同复杂作用的结果。目前关于磷胁迫对烤烟不同器官 *PT1*、*PT2* 基因表达的影响及其与磷素吸收利用的关系尚未见报道。本研究探讨了烤烟大田生育后期缺磷胁迫对其根系和叶片 *PT1*、*PT2* 基因表达及磷吸收的影响,以期从分子水平上阐明磷素对烤烟生长的生理效应,为进一步研究烤烟高亲和磷转运蛋白基因的作用机理、提高磷肥利用率提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验设计

2014 年在河南农业大学烟草科教园进行盆栽试验。供试烤烟品种为‘豫烟 10 号’,依据移栽后 30 d 时该烤烟品种的整株生物量、整株磷积累量和根系表面积调查结果与相似处理条件下磷高效、对磷敏感的代表性烤烟品种(‘云烟 85’、‘云烟 2 号’、‘K326’)同生育期的相关指标^[16]对比认为,‘豫烟 10 号’属于磷高效对磷敏感的烤烟品种。土壤类型为褐土,基础肥力如下:有机质含量 2.05%、碱解氮含量 47.76 mg·kg⁻¹、速效磷(P)含量 9.77 mg·kg⁻¹、速效钾(K)含量 133.33 mg·kg⁻¹、pH 7.71。试验设不施磷(-P)和施磷(+P)2 个处理,其 P₂O₅ 用量分别为每株 0 和 7 g(施磷处理的磷用量为豫中地区推荐的磷用量),N 和 K₂O 用量相同,分别为每株 3.5 和 10.5 g,采用分析纯硝酸铵、磷酸二氢钾和硫酸钾作氮、磷、钾肥源。以单株烟为单位,计算其肥料用量并提前分装,分装好的肥料直接与土壤充分混匀后装盆。

试验用钵钵高 31.5 cm,内口径 42.0 cm,底径 28.5 cm。取当地农田 0~20 cm 耕作土,风干熏蒸消毒并过 0.5 cm×1.0 cm 网筛,与肥料混合均匀后

装盆,每盆装土 30 kg。每个处理 25 盆,按 120 cm×55 cm 的行株距盆栽,将盆身埋于土中,起到保水、降温的作用。烟株生长过程中经常转动盆体,避免根系扎入土中。5 月 4 日移栽,7 月 6 日左右打顶(因生长状况不同,不施磷处理烟株打顶时间稍晚于施磷处理)。采用滴灌装置浇水,根据天气情况和烟草不同生育期需水规律不同,适当延长或缩短灌水时间间隔。每次浇水时,于当天 15:00 打开滴灌装置,通过调节喷头旋钮来控制流速,以不成股流下为宜,21:00 左右关闭装置,确保盆中土壤全部浸湿。其他栽培管理措施及病虫害防治均按照当地优质烟叶生产管理要求进行。

1.2 取样方法及测定指标

1.2.1 取样方法

在移栽后 60、75 和 90 d,各处理分别选取长势均匀一致的 3 株烟,在中部功能叶(自下而上第 12 片叶)6~10 支脉之间快速剪取鲜烟叶适量,用锡箔纸和纱布包裹后迅速放到液氮中,带入实验室后置于 -70 °C 冰箱保存。将每盆烟的地上部分砍去,用流水小心冲走盆里的土,直至烟根完全冲洗干净。剪取少量的鲜根,保存方法同上。所得的新鲜烟叶和根系样品用来测定高亲和磷转运蛋白基因的表达量。最后,将烟株分不同器官杀青(105 °C,15 min),65 °C 烘至恒重,并记录根系和叶片的干物质重;粉碎过 60 目筛,保存,用来测定根系和叶片的磷含量。

1.2.2 PT1 和 PT2 基因的表达检测

采用试剂盒法提取烟叶和根系中的 RNA(试剂盒购于北京艾德莱生物科技有限公司),具体提取方法参看说明书,通过随机引物法反转录合成 cDNA。采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行实时荧光定量 PCR(qRT-PCR 试剂盒购于南京诺维赞生物科技有限公司),以检测烤烟不同器官 PT1 和 PT2 基因的表达水平。将反转录得到的 cDNA 稀释 10 倍后作为 qRT-PCR 扩增模板。利用引物设计软件 Primer Premier 5 设计 qRT-PCR 检测所用的引物,内参基因 L25 和目的基因的引物序列如表 1 所示。

cDNA 扩增反应在 96 孔 PCR 板中进行,反应体系为 10 μL,包含 cDNA 模板 1 μL,正反向引物(浓度为 10 μmol·L⁻¹)各 0.25 μL,SYBR Green Master Mix 5 μL,无菌水 3.5 μL。扩增反应程序为:95 °C 预变性 10 min,然后 95 °C 变性 10 s,60 °C 退火 30 s 进行 40 次循环反应。PCR 扩增结束后进行融解曲线分析,以检验扩增的特异性。融解曲线程序为:95 °C 预变性 15 s;60 °C 变性 15 s;95 °C 退火 15 s。

表 1 目的基因 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of target genes for quantitative real-time PCR

基因名称 Gene name	NCBI 登录号 Accession No. in NCBI	引物序列(5'→3') Primer sequence
L25	L18908	F:GCTTTCTCGTCCCATCA R:CCCAAGTACCCTCGTAT
PT1	AB020061	F:TTGGTGTGAGAAATTCACCTG R:AGGTCCAAAATTAACAGG
PT2	AB042951	F:TGGTTGTACCTTCTGTGTG R:ACCTCCAAAATCCATTTGAG

设定移栽后 60 d 时不施磷处理(-P)叶片 PT1 和 PT2 基因表达量为 1(对照),采用内均一化法计算其他时期目的基因的相对表达量,计算公式为:目的基因相对表达量 = 2^{-ΔΔC_t},其中 C_t 代表每个 PCR 反应管内荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数,ΔC_t = C_{t(目的基因)} - C_{t(L25)},ΔΔC_t = ΔC_{t(样品)} - ΔC_{t(60 d,-P,叶片)}。

1.2.3 磷含量的测定

采用干灰化法处理烟叶和根系样品,使用 ICP(电感耦合等离子体发射光谱仪,美国)测定磷含量。样品前处理的方法如下:准确称取 0.4 g(精确至 0.000 1 g)样品至坩埚中,加入 3~4 滴 95% 乙醇,将坩埚放于马福炉中,升温至 100 °C 稳定 0.5 h,再升温至 250 °C 稳定 1 h;最后升温至 500 °C 稳定 3 h。冷却后取出,用 5% 硝酸(优级纯)洗涤过滤至 50 mL 容量瓶中,定容,待进样。

1.3 数据处理

分别采用 Excel 2003、SPSS 18.0 绘制图表和对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 磷胁迫对烤烟不同器官高亲和磷转运蛋白基因表达的影响

2.1.1 PT1 基因

由图 1, A 可知,随烟草生育期的推进,两处理叶片和根系 PT1 基因的相对表达量整体呈上升趋势,仅 +P 处理叶片 PT1 基因表达量在移栽后 75 d 时略有下降。不同器官间相比,叶片 PT1 基因的表达量高于根系,尤其是缺磷环境下,在移栽后 60 d 时叶片 PT1 基因的表达量约是根系的 7 倍。磷胁迫促使根系和叶片中 PT1 基因的表达量上调,各生育时期 -P 处理叶片 PT1 基因相对表达量为 1.00~1.50,+P 处理叶片 PT1 基因相对表达量为 0.42~0.93;除移栽后 60 d 时根系 PT1 基因相对表达量在两处理间差异不显著外,其他时期 -P 处理根系和叶片 PT1 基因的相对表达量均极显著地高于相应 +P 处理(P<0.01)。

2.1.2 PT2 基因 qRT-PCR 结果显示(图 1,B), 烤烟根系和叶片 *PT2* 基因的相对表达量均随生育期的推进逐渐增加,但叶片的增加趋势不明显。与 *PT1* 基因在器官中的相对表达水平不同,各生育时期 *PT2* 基因在叶片中的相对表达量为 1.00 ~ 4.54,根系中高达 4.90~61.86,即叶片远低于根系中 *PT2* 基因的表达水平。磷胁迫诱导 *PT2* 基因强烈表达,尤其在移栽后 75 d, -P 处理根系 *PT2* 基因相对表达量约是 +P 处理的 4 倍。方差分析结果表明, -P 处理根系和叶片中 *PT2* 基因的相对表达量大多极显著高于相应 +P 处理 ($P < 0.01$),仅在移栽后 90 d 时叶片 *PT2* 基因的相对表达量在处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 磷胁迫对烤烟不同器官磷素吸收利用的影响

2.2.1 器官磷含量 图 2,A 显示,随生育期的推进,烤烟叶片磷含量逐渐下降,且 -P 处理下降幅度较大;根系磷含量随生育期的推进无明显的变化规

律。磷含量在不同器官间表现为叶片稍高于根系。不同处理间相比,+P 处理叶片的磷含量高于 -P 处理,但差异均不显著;根系磷含量在移栽后 60 和 90 d 时 +P 处理低于 -P 处理,且差异不显著,而在移栽后 75 d 时,+P 处理烤烟根系磷含量为 $1.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,并极显著高于 -P 处理 ($P < 0.01$)。从图 2,A 还可以看出,根系磷含量的标准误差较大,进一步分析其变异系数也较大,表明所选样品的平均数未必能反映处理间的真实差异,这可能是根系磷含量随生育期无明显变化规律的原因,还有待进一步验证。

2.2.2 器官磷积累量 由图 2,B 可知,烤烟不同器官的磷积累量随生育期的推进逐渐增加,移栽后 75 d 时增加较快,移栽后 90 d 时磷积累量的增长幅度较小。各生育时期 +P 处理叶片和根系磷积累量分别为每株 123~445 和 26~95 mg, -P 处理叶片和根系磷积累量分别为每株 60~159 和 14~42 mg,叶片中磷素的积累量明显高于根系,+P 处理磷素的积累量又明显高于 -P 处理。进一步方差分析结果表明,在任何生育时期,烤烟叶片和根系磷积累量在处理间的差异均达极显著水平 ($P < 0.01$)。

2.3 磷胁迫对烤烟不同器官干物质积累的影响

由图 3 可知,烤烟干物质重随生育期的推进逐渐增加,至移栽后 90 d,+P 处理烤烟根系和叶片干物质重分别为每株 88 和 242 g, -P 处理烤烟根系

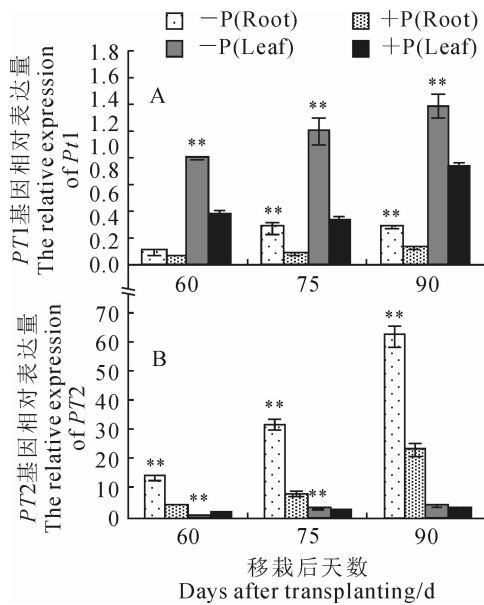


图 1 不同磷水平下烤烟根系和叶片 *PT1*、*PT2* 基因的相对表达量
相同生育期同一器官 -P 和 +P 处理两两比较: * 和 ** 分别表示处理间差异达 5% 和 1% 显著水平;下同

Fig. 1 The expression of *PT1* and *PT2* gene in roots and leaves of flue-cured tobacco under different phosphorus levels

The values of no phosphate fertilizer application (-P) was compared with that of recommended amount of phosphate fertilizer application (+P) for the same organ and same growth stage. * and ** denoted significant difference between two treatments at 5% and 1% probability levels, respectively; The same as below

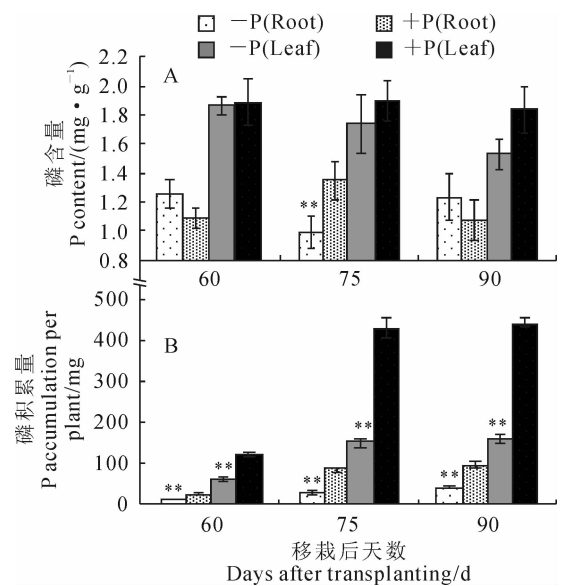


图 2 不同磷水平下烤烟根系和叶片的磷含量、磷积累量的变化

Fig. 2 The content and accumulation of phosphorus in roots and leaves of flue-cured tobacco under different phosphorus levels

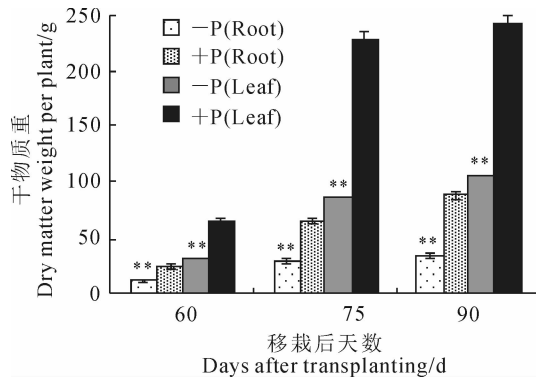


图3 不同磷水平下烤烟根系和叶片的干物质重

Fig. 3 The dry weight of roots and leaves of flue-cured tobacco under different phosphorus levels

和叶片干物质重仅为+P处理根系和叶片干物质重的38%和43%,缺磷严重限制了烤烟根系和叶片的干物质积累。方差分析结果表明,在任何生育时期,-P处理烤烟根系和叶片的干物质重均极显著地低于+P处理($P < 0.01$),这种差异在生育后期更明显。

3 讨论

关于烟草、辣椒和茄子等茄科作物在不同供磷水平下磷转运蛋白基因的表达情况,有研究认为磷胁迫促使茄科作物根系和叶片 *PT1* 基因的表达量显著增加,叶片中的相对表达量高于根系;*PT2* 基因在植物根系中表达量极高,叶片中几乎不表达^[17]。本研究中 *PT1* 和 *PT2* 基因的相对表达量在不同器官间的表现与上述研究结果一致。关于植物对营养元素的反应机制,一般认为有两种方式:一种是依赖于植物整体的营养状况引起的系统性调控,另一种则是根部对外界营养元素浓度变化发生的局部反应^[18]。Chen 等^[17]对磷饥饿处理的植物恢复磷供应,一段时间后发现 *PT1* 基因仅在根系中有少量的表达,叶片中检测不到,而植物体内的磷含量显著增加,推测 *PT1* 基因的表达受植物组织内磷含量的调控,即上述的第一种调控方式。本研究结果中,+P处理烟草根系和叶片中的磷素积累量显著

高于-P处理,而 *PT1*、*PT2* 基因的相对表达量低于-P处理,推测本试验条件下 *PT1*、*PT2* 基因表达的调控信号来自于烟株本身磷营养状况的变化,尤其是叶片磷浓度的高低。

一般情况下,烟叶的磷含量(指浓度,而非积累量)随生育期的推进逐渐下降,至烟叶成熟时磷向种子和果实运输,烟叶磷含量进一步降低^[1],调制后烟叶的磷含量与烟草生长过程中烟叶磷含量的动态变化密切相关。国际优质烟叶磷含量为0.20%~0.28%,中国烟叶磷含量落在优质烟叶磷含量范围内的理论概率仅有59.8%^[19],如何提高烟草生长过程中对磷素的吸收利用效率进而提高烤烟磷含量,改善烟草的吸味品质^[20]是一个值得探讨的问题。研究烤烟磷转运蛋白基因的功能及调控机制,利用分子生物技术结合常规育种手段选育对土壤非有效态磷利用能力强的烤烟新品种,是节约磷矿资源、改善低磷胁迫下烤烟磷素营养状况的有效途径^[21]。本研究结果中,以移栽后90d为例,与正常供磷(+P)相比,磷胁迫(-P)使烤烟叶片和根系 *PT1* 基因相对表达量分别上调62%和130%,叶片和根系 *PT2* 基因相对表达量分别上调38%和162%;同一生育时期-P处理叶片和根系的磷积累量、干物质重不到相应+P处理叶片和根系磷积累量、干物质重的一半;叶片和根系的磷含量在处理间差异不显著。说明在缺磷胁迫下,相对于高亲和磷转运蛋白基因的表达量上调来说,有限的外源磷供给对烤烟磷素吸收利用的影响更大;+P处理烟株的干物质重显著大于-P处理,表明缺磷胁迫对烤烟磷素吸收利用的影响是通过限制烤烟干物质积累来实现的。

烟草的吸磷能力是由土壤有效磷水平和自身的遗传因素共同决定的,不同烤烟品种的磷效率可能存在一定的差异,烟草高亲和磷转运蛋白基因在品种间的表达差异性还需要进一步研究,以筛选磷高效吸收基因和磷高效利用基因,从遗传育种角度寻找提高烟草磷效率的新途径。

参考文献:

- [1] 胡国松,郑伟,王震东,等. 烤烟营养原理[M]. 北京:科学出版社,2000:97-98.
- [2] LI X H(李喜焕),CHANG W S(常文锁),ZHANG C Y(张彩英),et al. Research progress of candidate genes for improving plant phosphorus-efficiency[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*(植物遗传资源学报),2012,13(1):83-97(in Chinese).
- [3] GUO Y(郭燕),XU Z CH(许自成),BI Q W(毕庆文),et al. Relationship between the phosphorus contents in soil and in flue-cured tobacco in Enshi tobacco-growing areas[J]. *Chinese Journal of Soil Science*(土壤通报),2010,41(2):403-407(in Chinese).

- [4] YAO F N, RU S C, GU L J, *et al.* Responses of root architecture development to low phosphorus availability: a review[J]. *Annals of Botany*, 2013, **112**(2): 391–408.
- [5] MI G H(米国华), XING J P(邢建平), CHEN F J(陈范骏), *et al.* Maize root growth in relation to tolerance to low phosphorus[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*(植物营养与肥料学报), 2004, **10**(5): 468–472(in Chinese).
- [6] RAMAEKERS L, REMANS R, RAO I M, *et al.* Strategies for improving phosphorus acquisition efficiency of crop plants[J]. *Field Crops Research*, 2010, **117**(2–3): 169–176.
- [7] MASEKO S T, DAKORA F D. Plant enzymes, root exudates, cluster roots and mycorrhizal symbiosis are the drivers of P nutrition in native legumes growing in P deficient soil of the cape fynbos in South Africa[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2013, **A3**: 331–340.
- [8] JIA H F(贾宏昉), YIN G N(尹贵宁), HUANG H G(黄化刚), *et al.* Influence of low phosphorus stress on glucose metabolism and nutrition accumulation in tobacco Yunyan 87[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*(中国农业科技导报), 2014, **16**(3): 36–41(in Chinese).
- [9] CHANG SH H(常胜合), SHU H Y(舒海燕), TONG Y P(童一平), *et al.* Isolation, function and expression analysis of two wheat phosphorus transporter genes[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*(西北植物学报), 2004, **24**(10): 1 779–1 785(in Chinese).
- [10] WANG P(王 萍), CHEN A Q(陈爱群), YU L(余 玲), *et al.* Advance of plant phosphate transporter genes and their regulated expression[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*(植物营养与肥料学报), 2006, **12**(4): 584–591(in Chinese).
- [11] MUDGE S R, RAE A L, DIATLOFF E, *et al.* Expression analysis suggests novel roles for members of the Pht1 family of phosphate transporters in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2002, **31**(3): 341–353.
- [12] SCHUNMANN P H D, RICHARDSON A E, SMITH F W, *et al.* Characterization of promoter expression patterns derived from the Pht1 phosphate transporter genes of barley (*Hordeum vulgare* L.)[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, **55**(398): 855–865.
- [13] DING G D(丁广大), CHEN SH S(陈水森), SHI L(石 磊), *et al.* Advances in genetic regulation mechanism of plant tolerance to phosphorus deficiency[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*(植物营养与肥料学报), 2013, **19**(3): 733–744(in Chinese).
- [14] LIU C M, MUCHHAL U S, UTHAPPA M, *et al.* Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus[J]. *Plant Physiology*, 1998, **116**(1): 91–99.
- [15] JIA H F(贾宏昉), ZHANG H Y(张洪映), YIN G N(尹贵宁), *et al.* Over-expression of *OsPT8* gene to enhance the Pi deficiency tolerance of transgenic tobacco[J]. *Biotechnology Bulletin*(生物技术通报), 2014, (7): 106–111(in Chinese).
- [16] GAO J H(高家合), DENG B E(邓碧儿), ZENG X CH(曾秀成), *et al.* Genotypic variation in phosphorus efficiency of tobacco in relation to root morphological characteristics and root architecture[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*(西北植物学报), 2010, **30**(8): 1 606–1 613(in Chinese).
- [17] CHEN A Q, HU J, SUN S B, *et al.* Conservation and divergence of both phosphate- and mycorrhiza-regulated physiological responses and expression patterns of phosphate transporters in solanaceous species[J]. *New Phytologist*, 2007, **173**(4): 817–831.
- [18] 贾宏昉. 水稻高亲和磷转运蛋白基因 *OsPht1;8* 的功能研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [19] CHEN J H(陈江华), LIU J L(刘建利), LONG H Y(龙怀玉). The distribution characteristics of nutrition elements and main chemical composition in Chinese tobacco leaves[J]. *Acta Tabacaria Sinica*(中国烟草学报), 2004, **10**(5): 20–27(in Chinese).
- [20] XU Z CH(许自成), LI Y Y(黎妍妍), XIAO H Q(肖汉乾), *et al.* Status of the contents of mineral elements and their relationships with total sugar and nicotine content in flue-cured tobacco leaves in Hunan Province[J]. *Journal of Northwest A&F University*(Nat. Sci. Edi.)(西北农林科技大学学报·自然科学版), 2008, **36**(1): 137–142, 148(in Chinese).
- [21] MIAO H Y(苗鸿鹰), ZHAO J F(赵金峰), LI X J(李小娟), *et al.* Cloning and expression of wheat transcription factor gene *TaWRKY72b-1* and its effect on phosphorus use efficiency in transgenic tobacco plants[J]. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报), 2009, **35**(11): 2 029–2 036(in Chinese).

(编辑: 裴阿卫)