

豆科植物 *Pht1* 磷转运蛋白家族基因的研究进展

陈丽玉¹, 秦璐², 赵静¹, 廖红¹

(1. 华南农业大学 农学院, 根系生物学研究中心, 广东 广州 510642; 2. 中国农业科学院 油料作物研究所, 湖北 武汉 430062)

摘要:磷是植物生长发育必需的大量矿质营养元素之一。植物获取磷是由磷转运蛋白介导的, 因此对磷转运蛋白的调控是植物适应低磷胁迫的有效机制之一。*Pht1* 磷转运蛋白家族基因是目前研究较为深入的磷转运蛋白基因家族, 主要负责植物对外界磷的吸收以及植株体内磷的运转。大部分豆科植物是能进行共生固氮的环境友好型植物, 对豆科植物 *Pht1* 磷转运蛋白基因功能的深入挖掘是实现豆科植物氮磷协同高效的基础。本文主要介绍了近年来豆科植物 *Pht1* 磷转运蛋白家族基因的研究进展, 并指出今后研究的主要方向, 为豆科植物磷效率的遗传改良提供新思路。

关键词:豆科植物; *Pht1*; 磷转运蛋白; 低磷胁迫; 基因功能

中图分类号:S565. 1 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2015. 06. 1057

Advances in *Pht1* Phosphate Transporter Family Genes in Legumes

CHEN Li-yu¹, QIN Lu², ZHAO Jing¹, LIAO Hong¹

(1. College of Agriculture, Root Biology Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China)

Abstract: Phosphorous (P) is one of the essential macronutrients for plant growth and development. Since P acquisition is mainly mediated by phosphate transporters (PTs), regulating PTs is one of the adaptive mechanisms of plants in response to P deficiency. *Pht1* family genes have been well known as encoding high affinity PTs with the functions in phosphate (Pi) uptake from soils and Pi translocation within plants. Most of leguminous plants are able to fix nitrogen (N) through symbiotic association, and therefore are environmental friendly. To dig out the underlying mechanisms of PTs is the base to coordinately improve N and P efficiency in Legumes. Here we summarized recent progresses on *Pht1* family genes in legumes, and also attempt to envision future perspectives of this study area so as to provide innovative approach to improving leguminous P efficiency through genetic modifications.

Keywords: Legumes; *Pht1*; Phosphate transporters; Phosphorous deficiency; Gene function

磷是植物生长发育所必需的大量矿质营养元素之一, 不仅是核酸、磷脂等生命物质的组成成分, 并且在糖类代谢、蛋白质代谢和脂类代谢中起重要作用^[1]。植物所需要的磷主要来源于土壤。虽然多数土壤的全磷含量并不低, 但大部分为植物难以吸收的难溶性磷。因此, 土壤磷有效性低已成为限制植物生长发育和作物高产的关键因素^[2]。植物在长期的进化过程中形成了一系列适应低磷胁迫的机制, 如根形态构型的变化、根系分泌物的释放、高亲和力和磷转运蛋白的调控与土壤微生物形成共生系统等^[2-5]。

豆科作物由于具有生物固氮的能力, 在农业生态系统中具有不可替代的作用^[6-7]。据 FAO (<http://faostat.fao.org/>) 统计, 豆科作物收获部分的氮至少有 70% 来源于生物固氮。然而, 磷有效性显著影响豆科作物根瘤及植株的生长发育。研究表明,

低磷严重抑制根瘤的生长和发育, 导致根瘤数以及根瘤大小显著降低^[9-10]。并且在低磷下, 根瘤中的可溶磷浓度远高于叶片和根, 说明根瘤在低磷胁迫下具有调控磷平衡的能力, 以满足其生长和固氮对磷的大量需求^[10]。

植物细胞内的磷浓度为 $5 \sim 20 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[11], 是土壤中可溶磷浓度 ($1 \sim 10 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 1 000 倍以上^[12]。因此, 植物对土壤磷的获取主要是通过逆浓度梯度的、由磷转运蛋白介导的跨膜主动运输过程^[13]。目前, 植物中已经鉴定到的磷转运蛋白较多, 一般按如下两个方面进行分类: 一方面, 根据吸收动力学参数 *Km* 值的不同, 分为低亲和力与高亲和力磷转运系统两类^[14]。其中, 低亲和力系统主要在介质中磷浓度较高时起作用, 能将细胞外高浓度的磷跨膜转运到细胞内, 同时也参与到植物体内磷的运转过程; 其蛋白活性和基因表达一般不

收稿日期: 2015-05-04
基金项目: 国家自然科学基金 (U1301212, 31470109)。
第一作者简介: 陈丽玉 (1988-), 女, 博士, 主要从事大豆磷转运蛋白基因功能研究。E-mail: chenliyu1715@126.com。
通讯作者: 廖红 (1969-), 女, 博士, 教授, 主要从事作物根系形态构型与养分高效的遗传改良。E-mail: hliao@scau.edu.cn。

受细胞外部磷浓度的影响。高亲和力和系统可将细胞外低浓度的磷跨膜转运到细胞内,被认为是根部磷吸收的主要系统;其蛋白活性和基因表达在低磷胁迫下增强^[14]。另一方面,依据亚细胞定位和功能的不同可将磷转运蛋白分为5个家族:Phl1、Phl2、Phl3、Phl4和pPT家族^[15-22]。其中,Phl1家族蛋白主要位于细胞膜,负责磷的吸收和转运;Phl2定位于叶绿体,负责将磷转入叶绿体;Phl3定位于线粒体,负责线粒体中磷的交换;Phl4位于高尔基体,负责将磷转入高尔基体;pPT位于质体,负责将磷转入质体。由于Phl1磷转运蛋白在植物对磷的吸收和运转过程中起重要作用,已成为目前研究最为深入的植物磷转运蛋白家族。本文总结了豆科植物Phl1家族磷转运子的最新研究进展,并指出今后研究的主要方向,为豆科植物磷效率的遗传改良提供新思路。

1 植物Phl1家族基因的生物信息学分析

植物上第一个Phl1磷转运蛋白基因是从拟南芥上克隆得到的,之后大量其它植物上的Phl1磷转运蛋白基因相继被克隆,包括豆科、禾本科和茄科等^[22-28]。Phl1家族大多为高亲和力的磷转运蛋白,是 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{H}^+$ 共运体^[24]。它们都是膜整合蛋白,蛋白大小相似,约为58 kD,含520~550个氨基酸残基;在结构上有着重要的相似性,由12个疏水的跨膜结构域(TM)组成,每个跨膜结构域由17~25个氨基酸残基组成的螺旋;预测二级结构包括6个N端的跨膜区以及6个C端的跨膜区,TM6和TM7由一个中央亲水环隔开,蛋白的N端、C端和中间的大环都分布在细胞质^[11]。

将模式植物拟南芥^[22]、禾本科水稻^[27]、豆科大豆^[23]和茄科番茄^[28]、马铃薯^[29]已报道的Phl1磷转运蛋白家族成员进行进化树分析(图1)。结果表明,除拟南芥的AtPT6和水稻的OsPT13外,其他Phl1磷转运蛋白分成5个组(I~V);其中第I组又分为5个小组(a~e)。Ia小组全是豆科的Phl1磷转运蛋白,包括大豆中根部特异的GmPT1和GmPT4。GmPT1属于低磷增强表达型^[23],GmPT4为低磷诱导型^[23],它们与菜豆的PvPT1进化关系较近,PvPT1也是低磷诱导根部特异表达的磷转运蛋白基因^[30]。GmPT7与GmPT13相似性很高,同源性达到98.16%;并且GmPT7与GmPT13在植株不同组织表达模式的相似性也很高^[23]。有趣的是,Ia小组中苜蓿的MtPT1、MtPT2和MtPT3^[31-32]和百脉根的LjPT1^[33]的表达受到菌根真菌侵染的抑制;此

外,GmPT1、GmPT4、GmPT7和GmPT13(曾分别被命名为GmPT3、GmPT13、GmPT6和GmPT2)^[34]以及紫云英的AsPT2^[35]和豌豆的PsPT1^[36]等,在菌根真菌侵染后的根部表达量也是下调的,表明这一小组的成员可能不参与菌根对磷的吸收。

Ie组包括豆科、茄科及十字花科拟南芥的Phl1磷转运蛋白,其中白羽扇豆的LaPT1在磷饥饿的根中有表达,在地上部也有表达^[37];GmPT2、GmPT6和GmPT14的表达模式与其比较相似^[23],暗示它们可能具有类似的生物学功能。GmPT5与AtPT4和AtPT7亲缘关系较近。以往的研究显示,AtPT7在花中的表达量较高,而AtPT4在根部高表达、在花中表达相对较弱^[24]。我们的前期研究发现GmPT5也在大豆花中高表达,暗示它们在生殖生长期可能具有重要的功能,有待进一步研究。而AsPT6只在磷饥饿的地上部表达^[35],GmPT11与之相似,只在低磷的新叶及茎中有表达^[23]。

第IV组是菌根特异的磷转运蛋白。其中OsPT11是菌根诱导的,定位于丛枝周膜上,负责将磷从丛枝运给宿主细胞;沉默该基因会影响丛枝菌根的发育^[27]。马铃薯的StPT4和番茄的LePT4都是菌根特异的,定位于有丛枝菌根结构的皮层细胞中。LePT4的突变体不影响丛枝菌根的发育,对接种菌根的植株的磷吸收的影响也不明显。可能是由于番茄中除了菌根特异的LePT4外,还存在菌根增强表达的LePT3和LePT5,它们在一定程度上存在功能冗余^[28, 38-39]。已报道的GmPT8、GmPT9和GmPT10(曾分别被命名为GmPT10、GmPT11和GmPT7)就是受菌根诱导表达的磷转运蛋白^[34],同组中的AsPT1、AsPT4^[35]和LjPT4也是菌根特异表达的磷转运蛋白^[40],MtPT4介导菌根对磷的吸收以及影响丛枝菌根的发育^[41-42]。

GmPT3和GmPT12与AtPT8和AtPT9及OsPT9和OsPT10进化关系较近,属于第V组。OsPT9和OsPT10是磷饥饿诱导的高亲和磷转运蛋白,参与水稻对磷的吸收;定位于根表皮细胞、根毛及侧根,在叶肉细胞及维管组织也有表达。分别过表达OsPT9和OsPT10能显著提高植株对磷的吸收效率,而分别干涉这两个基因对植株体内磷含量没有影响;但是双干涉这两个基因则会显著降低植株体内的磷含量,说明它们在磷吸收上存在功能冗余^[43]。高亲和的AtPT8和AtPT9参与拟南芥在低磷情况下对磷的获取^[44]。目前对于也是高亲和的膜蛋白GmPT3和GmPT12还没有详细的功能报道。

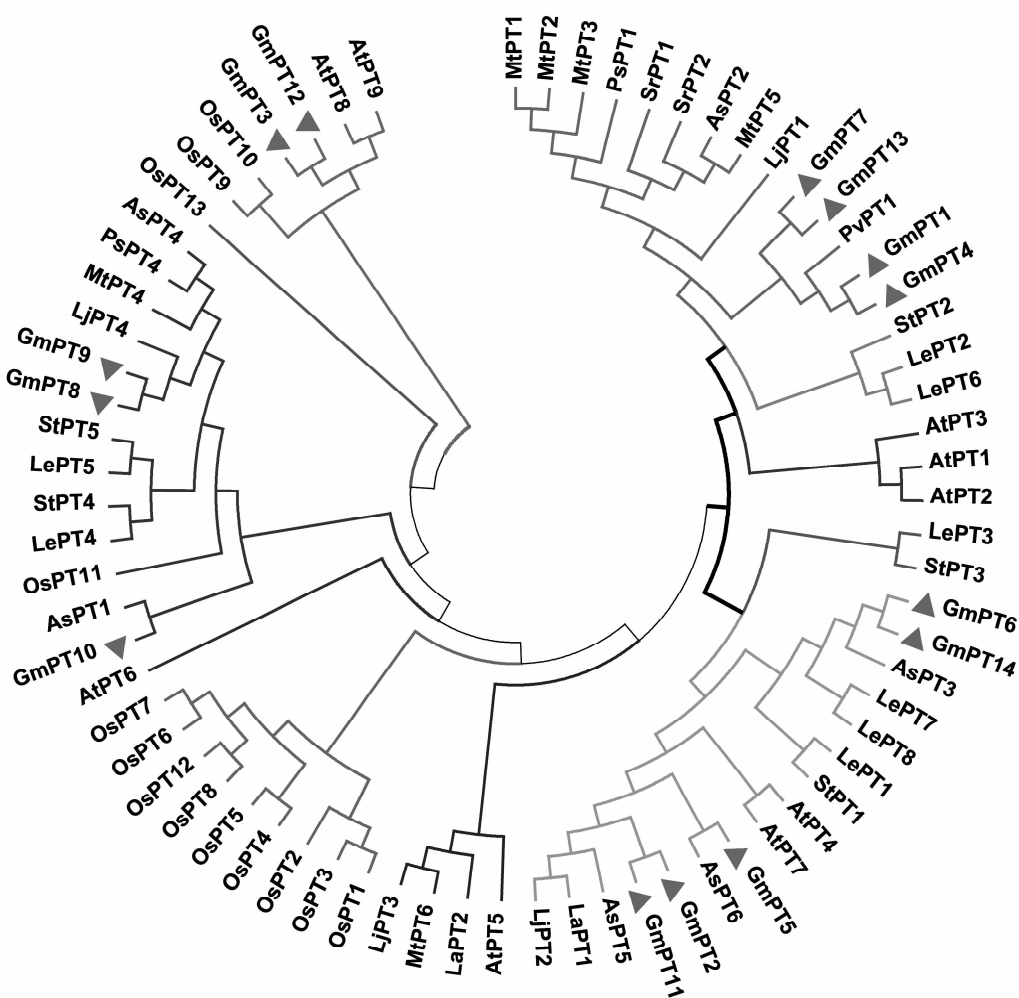


图1 豆科植物 Pht1 蛋白与其它植物磷转运蛋白的系统进化树分析
Fig. 1 Phylogenetic analysis among Pht1 members in legumes and phosphate transporters in other plant species

目前为止,豆科植物 *Phl1* 家族基因表达组织特异性以及对外界磷浓度变化响应的研究较多,但大部分集中在地上部和根部(表1)。只有大豆中 *Phl1* 家族基因的研究较为全面,组织表达特异性包括:新叶、老叶、茎、花、荚和根等部位。由表1可见,大部分 *Phl1* 基因的表达是受磷浓度变化调控的,均具有低磷上调表达的规律。尤其是根部表达的磷转运蛋白基因,其表达基本受低磷胁迫诱导或者增强。此外,由于豆科植物能与菌根真菌或根瘤菌形成互惠的共生关系,一些磷转运蛋白基因的表达是

根是植物吸收介质磷的主要器官。根据表达模式分析,已报道的大部分豆科作物根部磷转运蛋白基因均对低磷有响应(表 1),包括大豆 *Ph1* 家族 14 个成员中的 8 个、*PvPT1*^[30]、田菁的 *SrPT1* 和 *SrPT2*^[30]、*MiPT1* 和 *MiPT2*^[30]、*PsPT1*^[36]、*LjPT1* 和 *LiPT4*^[40] 以及 *LaPT1*^[30] 等。对 *SrPT1* 和 *SrPT2* 的研

究发现,在正常供磷下生长 6 或 15 d 后、进行低磷处理 4 d,*SrPT1* 和 *SrPT2* 只在前期正常供磷 6 d 后的植株中被诱导表达,表明磷饥饿诱导基因表达的调控更依赖于植株体内磷浓度而不是外界磷浓度^[30]。根部低磷诱导基因的表达还受到除磷以外的其它因素的影响。如 *LaPT1* 的表达部分依赖于糖和光合产物的调节^[48-49]。

根据组织定位分析,*MtPT1* 和 *MtPT5* 主要在根表皮细胞中表达,可能参与根对介质磷的吸收;*MtPT2* 和 *MtPT5* 也在维管组织中表达,可能参与植物体内磷的运转^[50]。将 *LaPT1* 的启动子融合 *GUS* 报告基因转入苜蓿,发现 *LaPT1* 在低磷处理的侧根根尖和中柱以及幼苗的根尖有表达,表明该基因可能参与了白羽扇豆对磷的吸收和运转^[48]。

表 1 豆科植物 *Phl1* 基因在不同部位的表达情况
Table 1 Expression profile of *Phl1* genes in different tissues of legumes

表达部位 Expression parts	已报道的基因 Reported genes	参考文献 References
地上部 Shoot	<i>MtPT3</i> , <i>MtPT5</i> , <i>AsPT2</i> , <i>AsPT5</i> , <i>AsPT6</i> , <i>LaPT1</i>	[26][35][45]
花 Flower	<i>GmPT2</i> , <i>GmPT5</i> , <i>GmPT7</i> , <i>GmPT10</i> , <i>GmPT12</i> , <i>GmPT13</i>	[23]
荚 Pod	<i>GmPT2</i> , <i>GmPT8</i> , <i>GmPT9</i> , <i>GmPT12</i> , <i>GmPT13</i> , <i>GmPT14</i>	[23]
茎 Stem	<i>GmPT3</i> , <i>GmPT8</i> , <i>GmPT9</i> , <i>GmPT10</i> , <i>GmPT11</i> , <i>GmPT13</i> , <i>GmPT14</i>	[23]
新叶 Young leaf	<i>GmPT2</i> , <i>GmPT3</i> , <i>GmPT6</i> , <i>GmPT7</i> , <i>GmPT11</i> , <i>GmPT13</i> , <i>GmPT14</i>	[23]
老叶 Old leaf	<i>GmPT7</i>	[23]
根部 Root	<i>GmPT1</i> , <i>GmPT2</i> , <i>GmPT3</i> , <i>GmPT4</i> , <i>GmPT7</i> , <i>GmPT8</i> , <i>GmPT9</i> , <i>GmPT12</i> , <i>MtPT1</i> , <i>MtPT2</i> , <i>MtPT3</i> , <i>MtPT5</i> , <i>LaPT1</i> , <i>LjPT1</i> , <i>LjPT4</i> , <i>PsPT1</i> , <i>PsPT1</i> , <i>SrPT1</i> , <i>SrPT2</i> , <i>AsPT2</i> , <i>AsPT3</i> , <i>AsPT5</i>	[23][26][35][35][36] [45][45][45][47]
根瘤 Nodule	<i>GmPT5</i> , <i>LaPT1</i>	[23][45]
菌根 AM fungi	<i>GmPT8</i> , <i>GmPT9</i> , <i>GmPT10</i> , <i>MtPT4</i> , <i>MtPT6</i> , <i>LjPT3</i> , <i>LjPT4</i> , <i>PsPT4</i> , <i>AsPT1</i> , <i>AsPT4</i>	[26][34][35][45][45]

下划线表示该基因在低磷情况下表达量上调。
Underline means the expression of the gene was up regulated under low P conditions.

2.2 参与共生体磷获取的 *Phl1* 基因

根际微环境中,根系与土壤微生物的关系是影响植物生长的重要因子之一。其中,菌根真菌和根瘤菌是与豆科作物最为相关的 2 类根际微生物。已报道的 *Phl1* 磷转运蛋白家族基因中,有部分参与了豆科作物-菌根真菌或者豆科作物-根瘤菌共生体系中磷的吸收及运转。

大部分陆生植物能与菌根真菌形成共生互惠的菌根系统。植物能通过菌根增加与土壤的接触面积从而获取更多的磷^[51]。因此,对豆科植物 *Phl1* 基因的研究,多集中于菌根真菌侵染诱导或增强表达的基因在菌根磷获取途径中所起的作用。*MtPT4*、*LjPT3* 和 *LjPT4*、*PsPT4*、*AsPT1* 和 *AsPT4* 都是菌根真菌侵染诱导表达的磷转运蛋白基因。这些基因都对丛枝菌根共生关系的维持起十分重要的作用。例如 *MtPT4* 是一个定位于丛枝周膜的磷转

运蛋白,其功能是负责将丛枝吸收的磷运往植物细胞^[52]。在突变体 *mtpt4* 中,丛枝结构早衰,不能维持正常的共生关系。有趣的是,在缺氮情况下,突变体中丛枝结构提早衰退得到抑制,突变体中丛枝的寿命与野生型没有显著差异,菌根真菌也能完成生活史^[53]。最近有文献报道该现象是由于氨转运子 *AM2;3* 参与到该过程中所导致的。*LjPT3* 定位于有丛枝结构的皮层细胞中^[53],在磷缺乏的情况下干涉该基因能减少丛枝数量,进而减少菌根对磷的吸收^[33]。*PsPT4* 被干涉之后会降低根系的磷含量^[54],接种菌根真菌后,会减少丛枝结构的百分比、降低菌丝的长度,从而降低菌根对磷吸收,降低的比率为 30%;如果根系是一半接种菌根一半不接种,对磷的吸收则会降低 50%,但是干涉该基因对可能负责根系直接吸收磷的 *PsPT1* 的表达量不影响,说明菌根磷吸收途径独立于根系直接吸收磷的

途径^[36]。*AsPT1* 和 *AsPT4* 也是定位于有丛枝结构的皮层细胞中。过表达 *AsPT1* 能增加菌根的密度和丛枝的数量,尤其是增加成熟的大丛枝数量,但对总侵染率没有影响;干涉 *AsPT1* 会缩小丛枝形成的范围和菌根真菌的定殖,但是不影响总的侵染率。而干涉 *AsPT4* 则会降低总的侵染率以及丛枝结构的比率,说明 *AsPT1* 和 *AsPT4* 对丛枝菌根的正常发育中必不可少,而且不存在功能冗余。干涉 *AsPT1* 或 *AsPT4* 均能降低植株地上部生物量,而只有干涉 *AsPT4* 时植株地上部总磷浓度会下降,因此,*AsPT4* 在丛枝获取磷的过程中也起主要作用^[55]。大豆 *Phl1* 家族成员中有 3 个基因是受菌根真菌侵染诱导表达的(表 1)。通过融合 GFP 在接种菌根真菌的转基因大豆毛根试验表明,*GmPT8* 和 *GmPT9* 定位于来源植物细胞的丛枝周膜上^[34]。但是这两个基因对菌根磷吸收的贡献还不清楚。

菌根特异的磷转运蛋白的启动子上一般具有菌根特异的顺式元件,包括 MYCS (TTTCTTGT) 和 P1BS (GNATATNC)^[56]。研究表明,缺少或点突变这两个元件会使启动子活性降低甚至丧失活性,双子叶植物中介导丛枝菌根磷吸收的磷转运蛋白部分依赖这两个元件的调节。例如以基因上游的 2 000 bp 的启动子统计,*GmPT8*、*GmPT9* 和 *GmPT10* 各有 2、4、1 个 P1BS 元件,*GmPT8* 和 *GmPT9* 各有 1 个 MYCS,*MtPT4* 各有 2 个,*LjPT4* 各有 1 个,*AsPT1* 有 1 个 MYCS,而 *AsPT4* 有 2 个 P1BS 和 1 个 MYCS^[35]。

豆科植物除了通过菌根增加磷吸收之外,还有一个十分重要的特性,就是能与根瘤菌共生形成根瘤^[6, 57]。根瘤固氮过程对磷的需求量较大。根瘤获取磷有两个途径,一个是直接吸收途径,另一个是从根系获取的间接途径^[58]。目前对于在根瘤表达的磷转运蛋白的研究较少。利用 *LaPT1* 的启动子驱动 *GUS* 基因,转入苜蓿中发现其在根瘤中有表达^[37],但是没有研究该基因对根瘤获取磷的作用。另外,对 *LjPT3* 干涉表达的根系接种根瘤菌,与对照相比,根瘤数减少、存在坏死的根瘤,表明干涉该基因的表达,抑制了根瘤的生长发育^[46],但是对磷转运子基因的表达为什么会影响根瘤的形成也没有进一步的研究。2012 年,Qin 等^[10]报道了大豆 *Phl1* 家族高亲和力的磷转运蛋白 *GmPT5* 在根瘤磷获取过程中起着重要的作用,*GmPT5* 主要定位于大豆根部及根瘤的维管束系统,参与了磷从大豆根系向根瘤的转运;³³P 同位素原位吸收试验表明,超量或干涉该基因影响了磷从根部向根瘤的运输,从而影响了根瘤中的磷含量,最终影响了根瘤的生长发育,

表明 *GmPT5* 是调控根瘤磷动态平衡的关键基因。磷转运蛋白是否参与根瘤对磷的直接吸收,以及参与磷从宿主细胞运转至根瘤菌等还未见报道。

2.3 参与地上部磷运转的 *Phl1* 基因

对于大多数植物而言,除了根系特异表达的 *Phl1* 基因外,植物地上部分表达的 *Phl1* 家族基因在磷的运转以及植株体内磷平衡的调控中发挥着重要作用。

拟南芥中参与地上部磷运转的 *Phl1* 家族基因有 3 个。其中,*AtPT5* 在维持植株体内磷平衡起重要作用^[59],而 *AtPT8* 和 *AtPT9* 则在磷从根部向地上部的运转过程中起重要作用^[60]。*AtPT5* 的突变体会减少磷在根部的累积而增加磷在地上部的累积,而过表达该基因植株根冠比增加、莲座叶磷累积减少而衰老加快、生殖器官累积更多的磷。因此,*AtPT5* 在根系木质部磷的装载向地上部运输、根部磷的再分配、地上部磷向花及发育中的种子的运转以及磷从衰老组织的运出中起重要作用^[60]。分别敲除 *AtPT8* 和 *AtPT9*,在低磷下不改变根部磷含量,但能显著减少地上部磷含量^[59]。与 *AtPT8* 和 *AtPT9* 进化关系较近的 *GmPT3* 和 *GmPT12* 是否有相似的功能,仍需进一步研究。另外,通过 GUS 染色进行组织定位分析,结果显示 *AtPT2* 在磷饥饿的拟南芥的花及角果和茎的连接处有表达^[61]。此外,*AtPT2* 还定位于腋芽、叶片的维管组织和叶边缘排水孔以及衰老花药的离层区^[24],而 *AtPT3* 特异在叶片维管组织中表达^[24],暗示这两个基因可能参与到地上部磷的运转。

目前已报道的水稻参与地上部磷运转的 *Phl1* 基因有 4 个。其中,低亲和的 *OsPT2* 主要在转运储存的内源磷方面起作用^[62];在根、茎和胚中都有表达的 *OsPT4* 主要是参与水稻磷获取和磷转运至胚的过程^[63];高亲和的 *OsPT6* 在磷吸收及磷从根部向地上部的长距离运输过程中起主要作用^[62];而组成型表达的高亲和 *OsPT8* 参与水稻体内磷平衡的调节^[64]。*OsPT2* 定位于磷饥饿的初生根及侧根中柱、叶片的叶肉及韧皮部组织;*OsPT6* 定位于磷饥饿的初生根、侧根表皮、皮层及中柱,叶片的叶肉、木质部及韧皮部组织。分别干涉这两个基因能减少水稻对磷的吸收及磷向地上部的运转^[62]。用 35S 启动子过表达 *OsPT8* 会引起水稻根部和地上部的磷累积,甚而在高磷情况下地上部出现磷中毒的表型;而干涉该基因则会增加磷在圆锥花序的累积,减少磷在未灌浆谷壳中的累积从而减少结实率^[64]。利用地上部或胚乳特异启动子干涉 *OsPT8*,证实该

基因参与了水稻磷从根部往地上部的运转、及向胚乳中的运转过程^[65]。根据表达模式^[23]和进化关系(图1),组成型表达的 *GmPT2* 和 *GmPT6* 是否会参与到大豆地上部磷运转或者植株体内磷平衡的维持,仍需进一步研究。

豆科植物中在地上部有表达的基因见表1,但是对这些基因功能的具体研究较少。*LaPT1* 在成熟的花及花芽、胚珠柄、发育种子的种脐、幼苗的子叶、下胚轴及根尖均有表达^[37],暗示该基因可能参与植株体内磷的运转。在大豆中,只有1篇文献报道 *GmPT7*(曾命名为 *GmPT1*),能够提高转基因烟草的磷利用效率和 PSII 原初光化学反应的量子产率进而提高烟草种子产量^[66]。*GmPT7* 在大豆新叶、成熟叶、老叶以及主、侧根均有表达。低磷增强 *GmPT7* 的表达,并且其表达量在老叶中最高。通过 eQTL 发现, *GmPT7* 与一个控制产量的 QTL 连锁,暗示其可能通过影响磷的再利用进而影响大豆产量^[66]。

3 *Phl1* 家族基因调控机理的研究进展

Phl1 基因在转录水平上主要受 MYB 转录调控因子 PHR1 的调控^[67]。PHR1 转录因子可以通过直接绑定 *Phl1* 启动子上的顺式元件 P1BS (PHR 绑定位点为:GNATATNC),调控 *Phl1* 基因的表达^[68];也可以通过调控非编码小分子 RNA 间接调控 *Phl1* 磷转运蛋白^[69]。低磷情况下, *AtPHR1*^[69]、*OsPHR2*^[70] 和 *PvPHR1*^[71-72] 正调控 *miR399* 的表达,降低了 *miR399* 的靶基因 *PHO2* 的转录本,从而抑制 *PHO2* 对 *Phl1* 家族成员的泛素化,促进了 *Phl1* 家族成员蛋白的积累^[67]。*OsPHR2* 蛋白能通过与调控因子 SPX 家族成员互作,调控 *Phl1* 家族基因的表达。在高磷情况下, *OsPHR2* 与 *OsSPX4* 互作,导致 *OsPHR2* 不能进入细胞核启动 *Phl1* 家族基因的表达;而在低磷情况下,植物通过 26S 蛋白酶降解途径降解 *Os-SPX4*, *OsPHR2* 由此进入细胞核启动 *Phl1* 家族基因的表达^[73]。最近有研究表明,高磷情况下, *OsPHR2* 还能与 *OsSPX1* 和 *OsSPX2* 蛋白在细胞核内的互作,直接阻止了 *OsPHR2* 与 *Phl1* 家族基因启动子中 P1BS 元件的结合,从而负调控了 *Phl1* 家族基因的表达^[74]。除了 PHR1 转录因子,其它转录因子也参与了对 *Phl1* 家族成员表达的调控^[68]。例如 *At-ZAT6* 和 *AtMYB62* 对 *AtPHT1:1* 和 *AtPHT1:4* 的表达具有负调控作用^[75];而 *AtWRKY75*、*AtWRKY45* 和 *AtWRKY42* 对 *AtPHT1:1* 的表达具有正调控作用^[67, 76]。

Phl1 在蛋白水平上主要受 *PHO2* 和 *NLA*^[77] 泛素化调控以及酪蛋白激酶 CK2^[67, 78] 磷酸化的负调控。在高磷情况下,拟南芥的 *PHO2* 会泛素化高尔基体上的 *Phl1* 磷转运蛋白、而 *NLA* 则泛素化细胞膜上的 *Phl1*,随后泛素化的 *Phl1* 蛋白被运往液泡中降解。此外,在拟南芥及水稻中已经报道, *PHF1* 作为载体蛋白,能协助磷转运蛋白离开内质网、定位到质膜上^[79-80]。*OsPHF1* 翻译提前终止或功能区点突变之后引起基因功能丧失,会导致磷转运蛋白在内质网滞留,从而影响植物对磷的吸收和转运^[80]。*PHF1* 通过与非磷酸化的磷转运蛋白结合,协助其离开内质网。将 *AtPT1* 蛋白羧基末端第 514 位的丝氨酸突变为天冬氨酸,模拟磷酸化状态,则不能与 *PHF1* 互作而滞留在内质网^[81],水稻上也有类似的结果^[78]。水稻中已证明 *Phl1* 磷转运蛋白基因受酪蛋白激酶 CK2 的调控。CK2 主要是对磷转运蛋白基因进行磷酸化, *OsPT2* 蛋白羧基末端的第 512 位和 *OsPT8* 蛋白羧基末端的第 517 位的丝氨酸突变为丙氨酸,则不能被酪蛋白激酶 CK2 磷酸化,从而增强其与 *PHF1* 的互作而增强其膜定位,促进植物对磷的吸收^[78]。在豆科中是否也存在相似的调控机制有待进一步的研究。

4 展望

豆科植物 *Phl1* 磷转运蛋白基因的研究为揭示豆科植物磷吸收、转运的分子机理提供了理论基础。尽管人们已对豆科植物 *Phl1* 家族的一些成员做了研究,但对这些成员是如何协调地在植物磷吸收、转运和分配中起作用仍然知之甚少。豆科植物与其它植物不同之处在于它们能同时与根瘤菌和菌根真菌形成共生体,豆科植物的磷转运子功能是否有与其它物种磷转运子功能不同之处?在植物与微生物之间磷的分配与协调上,磷转运子起着什么样的作用?这些问题都有待解决。未来对豆科植物 *Phl1* 磷转运蛋白基因功能的深入挖掘应注重将基础研究与实际相结合,以实现豆科植物的氮磷协同高效。

参考文献

- [1] Wang X, Yan X, Liao H. Genetic improvement for phosphorus efficiency in soybean: A radical approach[J]. *Annals of Botany*, 2010, 106(1): 215-222.
- [2] Richardson A E, Hocking P J, Simpson R J, et al. Plant mechanisms to optimise access to soil phosphorus[J]. *Crop & Pasture Science*, 2009, 60(2): 124-143.
- [3] Raghothama K G. Phosphate acquisition[J]. *Annual Review of*

- Plant Physiology and Plant Molecule Biology, 1999, 50: 665-693.
- [4] Vance C P, Uhde-Stone C, Allan D L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource[J]. New Phytologist, 2003, 157(3): 423-447.
- [5] Wang X, Yan X, Liao H. Genetic improvement for phosphorus efficiency in soybean: A radical approach[J]. Annals of Botany, 2010, 106(1): 215-222.
- [6] Garg N, Geetanjani. Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules: Process and signaling: A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2007, 27(1): 59-68.
- [7] Doyle J J, Luckow M A. The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context[J]. Plant Physiology, 2003, 131(3): 900-910.
- [8] Qin L, Jiang H, Tian J, et al. Rhizobia enhance acquisition of phosphorus from different sources by soybean plants[J]. Plant and Soil, 2011, 349(1-2SI): 25-36.
- [9] Chen Z, Cui Q, Liang C, et al. Identification of differentially expressed proteins in soybean nodules under phosphorus deficiency through proteomic analysis[J]. Proteomics, 2011, 11(24): 4648-4659.
- [10] Qin L, Zhao J, Tian J, et al. The high-affinity phosphate transporter *GmPT5* regulates phosphate transport to nodules and nodulation in soybean[J]. Plant Physiology, 2012, 159(4): 1634-1643.
- [11] Raghothama K G. Phosphate acquisition[M]// Jones R L. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1999: 50, 665-693.
- [12] Schachtman D P, Reid R J, Ayling S M. Phosphorus uptake by plants: From soil to cell[J]. Plant Physiology (Rockville), 1998, 116(2): 447-453.
- [13] Mitsukawa N, Okumura S, Shirano Y, et al. Overexpression of an *Arabidopsis thaliana* high-affinity phosphate transporter gene in tobacco cultured cells enhances cell growth under phosphate-limited conditions[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(13): 7098-7102.
- [14] Muchhal U S, Pardo J M, Raghothama K G. Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(19): 10519-10523.
- [15] Knappe S, Flugge U I, Fischer K. Analysis of the plastidic phosphate translocator gene family in *Arabidopsis* and identification of new phosphate translocator-homologous transporters, classified by their putative substrate-binding site[J]. Plant Physiology, 2003, 131(3): 1178-1190.
- [16] Picault N, Hodges M, Paimieri L, et al. The growing family of mitochondrial carriers in *Arabidopsis*[J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(3): 138-146.
- [17] Mimura T. Regulation of phosphate transport and homeostasis in plant cells[M]// Jeon K W. International Review of Cytology, 1999: 191, 149-200.
- [18] Liu F, Chang X, Ye Y, et al. Comprehensive sequence and Whole-Life-Cycle expression profile analysis of the phosphate transporter gene family in rice[J]. Molecular Plant, 2011, 4(6): 1105-1122.
- [19] Guo B, Jin Y, Wussler C, et al. Functional analysis of the *Arabidopsis* PHT4 family of intracellular phosphate transporters[J]. New Phytologist, 2008, 177(4): 889-898.
- [20] Rausch C, Bucher M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants[J]. Planta, 2002, 216(1): 23-37.
- [21] Knappe S, Lottgert T, Schneider A, et al. Characterization of two functional phosphoenolpyruvate/phosphate translocator (PPT) genes in *Arabidopsis*-AtPPT1 may be involved in the provision of signals for correct mesophyll development[J]. Plant Journal, 2003, 36(3): 411-420.
- [22] Bun-Ya M, Nishimura M, Harashima S, et al. The *PHO84* gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes an inorganic phosphate transporter[J]. Molecular and Cellular Biology, 1991, 11(6): 3229-3238.
- [23] Qin L, Guo Y, Chen L, et al. Functional characterization of 14 *Pht1* family genes in yeast and their expressions in response to nutrient starvation in soybean[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47726.
- [24] 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]. Plant Journal, 2002, 31(3): 341-353.
- [25] Rae A L, Cybinski D H, Jarman J M, et al. Characterization of two phosphate transporters from barley: Evidence for diverse function and kinetic properties among members of the *Pht1* family[J]. Plant Molecular Biology, 2003, 53(1): 27-36.
- [26] Liu J, Versaw W K, Pumpin N, et al. Closely related members of the *Medicago truncatula* PHT1 phosphate transporter gene family encode phosphate transporters with distinct biochemical activities[J]. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(36): 24673-24681.
- [27] Paszkowski U, Kroken S, Roux C, et al. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(20): 13324-13329.
- [28] Chen A, Chen X, Wang H, et al. Genome-wide investigation and expression analysis suggest diverse roles and genetic redundancy of *Pht1* family genes in response to Pi deficiency in tomato[J]. BioMed Central Plant Biology, 2014, 14: 61-75.
- [29] Rausch C, Daram P, Brunner S, et al. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato[J]. Nature, 2001, 414(6862): 462-470.
- [30] Tian J, Venkatachalam P, Liao H, et al. Molecular cloning and characterization of phosphorus starvation responsive genes in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. Planta, 2007, 227(1): 151-165.
- [31] Liu H, Trieu A T, Blaylock L A, et al. Cloning and characterization of two phosphate transporters from *Medicago truncatula* roots: Regulation in response to phosphate and to colonization by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi[J]. Molecular Plant Microbe Interact, 1998, 11(1): 14-22.
- [32] Liu J, Versaw W K, Pumpin N, et al. Closely related members of

- the *Medicago truncatula* *PHT1* phosphate transporter gene family encode phosphate transporters with distinct biochemical activities [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283 (36): 24673-24681.
- [33] Maeda D, Ashida K, Iguchi K, et al. Knockdown of an arbuscular mycorrhiza-inducible phosphate transporter gene of *Lotus japonicus* suppresses mutualistic symbiosis[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2006, 47(7): 807-817.
- [34] Tamura Y, Kobae Y, Mizuno T, et al. Identification and expression analysis of arbuscular mycorrhiza-inducible phosphate transporter genes of soybean[J]. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 2012, 76(2): 309-313.
- [35] Xie X, Huang W, Liu F, et al. Functional analysis of the novel mycorrhiza-specific phosphate transporter AsPT1 and PHT1 family from *Astragalus sinicus* during the arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *New Phytologist*, 2013, 198(3): 836-852.
- [36] Gronlund M, Albrechtsen M, Johansen I E, et al. The interplay between P uptake pathways in mycorrhizal peas: A combined physiological and gene-silencing approach[J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 149(2): 234-248.
- [37] Liu J Q, Samac D A, Bucciarelli B, et al. Signaling of phosphorus deficiency-induced gene expression in white lupin requires sugar and phloem transport [J]. *Plant Journal*, 2005, 41 (2): 257-268.
- [38] Nagy R, Karandashov V, Chague W, et al. The characterization of novel mycorrhiza-specific phosphate transporters from *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* uncovers functional redundancy in symbiotic phosphate transport in solanaceous species[J]. *Plant Journal*, 2005, 42(2): 236-250.
- [39] Xu G, Chague V, Melamed-Bessudo C, et al. Functional characterization of LePT4: A phosphate transporter in tomato with mycorrhiza-enhanced expression[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(10): 2491-2501.
- [40] Volpe V, Dell'Aglio E, Giovannetti M, et al. An AM-induced, MYB-family gene of *Lotus japonicus* (LjMAMI) affects root growth in an AM-independent manner[J]. *Plant Journal*, 2013, 73(3): 442-455.
- [41] Harrison M J, Dewbre G R, Liu J Y. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Plant Cell*, 2002, 14 (10): 2413-2429.
- [42] Pumplun N, Zhang X, Noar R D, et al. Polar localization of a symbiosis-specific phosphate transporter is mediated by a transient reorientation of secretion[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(11): E665-E672.
- [43] Wang X, Wang Y, Pi Eros M A. Phosphate transporters OsPHT1; 9 and OsPHT1; 10 are involved in phosphate transporters OsPHT1; 9 and OsPHT1; 10 are involved in phosphate uptake in rice [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2014, 37(5): 1159-1170.
- [44] Lapis-Gaza H R, Jost R, Finnegan P M. *Arabidopsis* PHOSPHATE TRANSPORTER1 genes *PHT1*; 8 and *PHT1*; 9 are involved in root-to-shoot translocation of orthophosphate [J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14:334.
- [45] Zhou K, Yamagishi M, Osaki M, et al. Sugar signalling mediates cluster root formation and phosphorus starvation-induced gene expression in white lupin [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(10): 2749-2756.
- [46] Maeda D, Ashida K, Iguchi K, et al. Knockdown of an arbuscular mycorrhiza-inducible phosphate transporter gene of *Lotus japonicus* suppresses mutualistic symbiosis[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2006, 47(7): 807-817.
- [47] Aono T, Kanada N, Ijima A, et al. The response of the phosphate uptake system and the organic acid exudation system to phosphate starvation in *Sesbania rostrata* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001, 42(11): 1253-1264.
- [48] Liu J, Samac D A, Bucciarelli B, et al. Signaling of phosphorus deficiency-induced gene expression in white lupin requires sugar and phloem transport [J]. *Plant Journal*, 2005, 41 (2): 257-268.
- [49] Zhou K, Yamagishi M, Osaki M, et al. Sugar signalling mediates cluster root formation and phosphorus starvation-induced gene expression in white lupin [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(10): 2749-2756.
- [50] Xiao K, Liu J, Dewbre G, et al. Isolation and characterization of root-specific phosphate transporter promoters from *Medicago truncatula* [J]. *Plant Biology (Stuttg)*, 2006, 8(4): 439-449.
- [51] Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(10): 763-775.
- [52] Harrison M J, Dewbre G R, Liu J. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Plant Cell*, 2002, 14 (10): 2413-2429.
- [53] Javot H, Penmetsa R V, Breuillin F, et al. *Medicago truncatula* mtp4 mutants reveal a role for nitrogen in the regulation of arbuscule degeneration in arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Plant Journal*, 2011, 68(6): 954-965.
- [54] Gronlund M, Olsen A, Johansen E I, et al. Protocol: using virus-induced gene silencing to study the arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Pisum sativum* [J]. *Plant Methods*, 2010, 6: 28.
- [55] Xie X, Huang W, Liu F, et al. Functional analysis of the novel mycorrhiza-specific phosphate transporter AsPT1 and PHT1 family from *Astragalus sinicus* during the arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *New Phytologist*, 2013, 198(3): 836-852.
- [56] Chen A, Gu M, Sun S, et al. Identification of two conserved cis-acting elements, MYCS and PIBS, involved in the regulation of mycorrhiza-activated phosphate transporters in eudicot species[J]. *New Phytologist*, 2011, 189(4): 1157-1169.
- [57] Sulieman S, Tran L S. Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules; Metabolism and regulatory mechanisms [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(11): 19389-19393.
- [58] Al-Niemi T S, Kahn M L, McDermott T R. Phosphorus uptake by bean nodules[J]. *Plant and Soil*, 1998, 198(1): 71-78.
- [59] Lapis-Gaza H R, Jost R, Finnegan P M. *Arabidopsis* PHOSPHATE TRANSPORTER1 genes *PHT1*; 8 and *PHT1*; 9 are in-

- volved in root-to-shoot translocation of orthophosphate [J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14: 334.
- [60] Smith A P, Nagarajan V K, Raghothama K G. *Arabidopsis* Pht1;5 plays an integral role in phosphate homeostasis [J]. *Plant Signal Behavior*, 2011, 6(11): 1676-1678.
- [61] Karthikeyan A S, Varadarajan D K, Mukatira U T, et al. Regulated expression of *Arabidopsis* phosphate transporters [J]. *Plant Physiology*, 2002, 130(1): 221-233.
- [62] Ai P, Sun S, Zhao J, et al. Two rice phosphate transporters, OsPht1;2 and OsPht1;6, have different functions and kinetic properties in uptake and translocation [J]. *Plant Journal*, 2009, 57(5): 798-809.
- [63] Zhang F, Sun Y, Pei W, et al. Involvement of OsPht1;4 in phosphate acquisition, and mobilization facilitates embryo development in rice [J]. *Plant Journal*, 2015, 82: 556-569.
- [64] Jia H, Ren H, Gu M, et al. The phosphate transporter gene OsPht1;8 is involved in phosphate homeostasis in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(3): 1164-1175.
- [65] Li Y, Zhang J, Zhang X, et al. Phosphate transporter OsPht1;8 in rice plays an important role in phosphorus redistribution from source to sink organs and allocation between embryo and endosperm of seeds [J]. *Plant Science*, 2015, 230: 23-32.
- [66] Song H, Yin Z, Chao M, et al. Functional properties and expression quantitative trait loci for phosphate transporter GmPT1 in soybean [J]. *Plant Cell and Environment*, 2014, 37(2): 462-472.
- [67] Liang C, Wang J, Zhao J, et al. Control of phosphate homeostasis through gene regulation in crops [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2014, 21: 59-66.
- [68] Nussaume L, Kanno S, Javot H, et al. Phosphate import in plants: Focus on the PHT1 transporters [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2011, 2: 83.
- [69] Franco-Zorrilla J M, Valli A, Todesco M, et al. Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(8): 1033-1037.
- [70] Liu F, Wang Z, Ren H, et al. OsSPX1 suppresses the function of OsPHR2 in the regulation of expression of OsPT2 and phosphate homeostasis in shoots of rice [J]. *Plant Journal*, 2010, 62(3): 508-517.
- [71] Valdes-Lopez O, Arenas-Huertero C, Ramirez M, et al. Essential role of MYB transcription factor: PvPHR1 and microRNA: PvmiR399 in phosphorus-deficiency signalling in common bean roots [J]. *Plant Cell and Environment*, 2008, 31(12): 1834-1843.
- [72] Yao Z F, Liang C Y, Zhang Q, et al. SPX1 is an important component in the phosphorus signalling network of common bean regulating root growth and phosphorus homeostasis [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(12): 3299-3310.
- [73] Lyu Q, Zhong Y, Wang Y, et al. SPX4 negatively regulates phosphate signaling and homeostasis through its interaction with PHR2 in rice [J]. *Plant Cell*, 2014, 26(4): 1586-1597.
- [74] Wang Z, Ruan W, Shi J, et al. Rice SPX1 and SPX2 inhibit phosphate starvation responses through interacting with PHR2 in a phosphate-dependent manner [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(41): 14953-14958.
- [75] Chiou T J, Lin S I. Signaling network in sensing phosphate availability in plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2011, 62: 185-206.
- [76] Su T, Xu Q, Zhang F C, et al. WRKY42 modulates phosphate homeostasis through regulating phosphate translocation and acquisition in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(4): 1579-1591.
- [77] Liu T Y, Lin W Y, Huang T K, et al. MicroRNA-mediated surveillance of phosphate transporters on the move [J]. *Trends in Plant Science*, 2014, 19(10): 647-655.
- [78] Chen J, Wang Y, Wang F, et al. The rice CK2 kinase regulates trafficking of phosphate transporters in response to phosphate levels [J]. *Plant Cell*, 2015, 27(3): 711-723.
- [79] Gonzalez E, Solano R, Rubio V, et al. PHOSPHATE TRANSPORTER TRAFFIC FACILITATOR1 is a plant-specific SEC12-related protein that enables the endoplasmic reticulum exit of a high-affinity phosphate transporter in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2005, 17(12): 3500-3512.
- [80] Chen J, Liu Y, Ni J, et al. OsPHF1 regulates the plasma membrane localization of low- and high-affinity inorganic phosphate transporters and determines inorganic phosphate uptake and translocation in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(1): 269-278.
- [81] Bayle V, Arrighi J, Creff A, et al. *Arabidopsis thaliana* high-affinity phosphate transporters exhibit multiple levels of posttranslational regulation [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(4): 1523-1535.