

氮磷高效基因功能分析 | 氮磷高效种质资源研究

一、摘要

- 1、定量检测根、叶、藻、微生物等活样，对内 / 环境中 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-/\text{K}^+/\text{Mg}^{2+}$ 的实时吸收速率，验证 NRT、CLC、SLAC、AMT、MEP、HAK、HKT、MGT、MHX 等功能
- 2、定量检测 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-/\text{K}^+/\text{Mg}^{2+}$ 在活体植物体内的实时转运速率，包括根木质部装载、茎木质部导管运输、叶肉吸收等过程
- 3、定量检测 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-/\text{K}^+/\text{Mg}^{2+}/\text{Fe}^{2+}$ 等吸收转运过程中， H^+ 的动态变化（ H^+ 转运速率）及 pH，揭示 OSA、AHA 等参与养分元素吸收转运的机制
- 4、定量检测液泡转运 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-/\text{K}^+$ 的实时速率与方向，研究细胞内氮钾内稳态，验证 NHX、CLC 等功能
- 5、定量检测高 NH_4^+ / 高 NO_3^- 胁迫下，活体根系实时排 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 的速率

扫码查看养分元素文献专辑

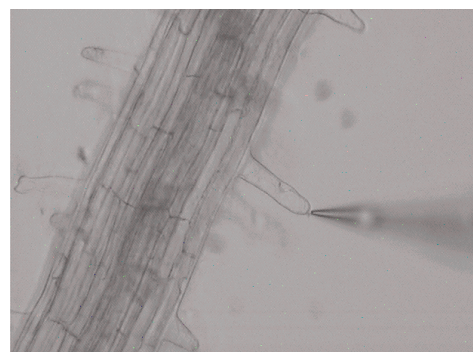


样品检测视频

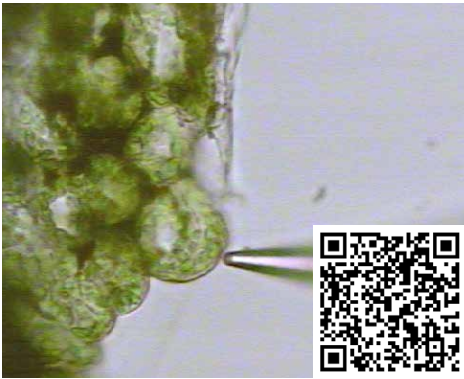
根



根毛



叶肉



原生质体 / 液泡



应用报告视频

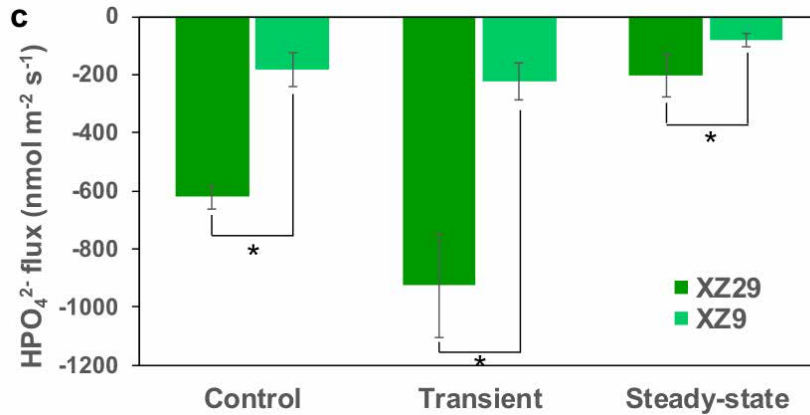


二、应用案例

1、Plant Soil 浙江大学：NMT 发现铝瞬时胁迫下大麦根部 HPO_4^{2-} 外排升高，为铝胁迫下磷高效功能分析提供关键数据

通讯作者：浙江大学 蔡圣冠

所用 NMT 设备：NMT 氮磷高效机制分析仪



使用非损伤微测技术 (MIFE) 检测铝在根部积累对 HPO_4^{2-} 流速的影响，以 XZ29 和 XZ9 为材料，使用 3 天龄的大麦苗，将根浸入测试液中 (500 μM KCl 和 100 μM CaCl_2 , pH 值为 4.3) 静置 1 小时，先检测 Al 处理前的 HPO_4^{2-} 流速。接着实时加入终浓度为 25 μM Al^{3+} ，检测 Al 瞬时处理后的 HPO_4^{2-} 流速。在对照组 (0-10 分钟)、瞬时组 (11-15 分钟) 和稳态组 (30-40 分钟) 中，检测铝诱导的 HPO_4^{2-} 净流速的平均值。结果表明，伸长区 HPO_4^{2-} 离子外排量在 XZ29 和 XZ9 之间存在显著差异。在对照组中，XZ29 的 HPO_4^{2-} 外排量大于 XZ9。添加铝可瞬时增加 XZ29 的 HPO_4^{2-} 外排，离子流速相对对照组增加了 60%，而 XZ9 则没有变化。随着时间的推移，进入稳定期后两个品种的 HPO_4^{2-} 外排量均呈下降趋势。

NMT 发现 Al 胁迫致磷酸根外排 ↑ 为探究大麦适应 Al 胁迫的磷代谢进化机制提供证据。

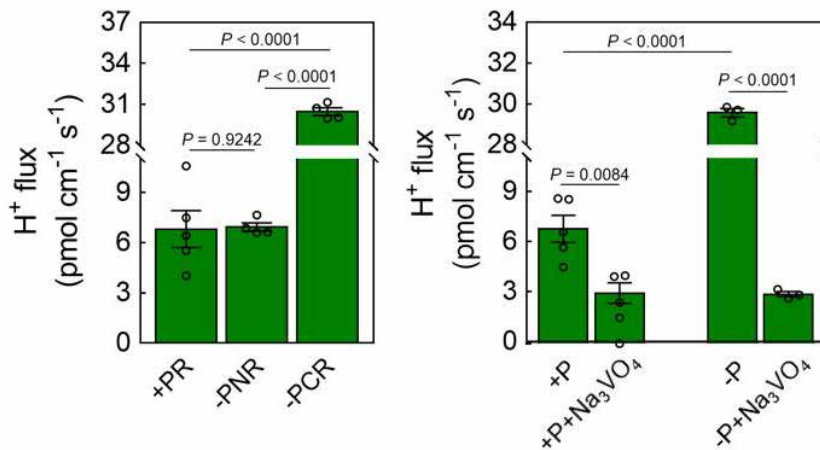


扫码查看本文详细报道

2、*Nat Commun* 福建农林许卫锋：质子流在白羽扇豆基因组进化和低磷适应研究上的关键作用

通讯作者：福建农林大学 许卫锋；中国农业科学院蔬菜花卉研究所 程锋

所用 NMT 设备：NMT 养分高效机制分析仪



白羽扇豆是一种豆科植物，可生长簇状根，在低磷土壤中具有较高的磷（P）利用效率（PUE）。我们重组了白羽扇豆的基因组，发现它是从全基因组三倍（WGT）演变而来的。然后，我们破译其二倍体祖先基因组并重建三个亚基因组。根据结果，我们进一步揭示了不同亚基因组的亚基因组优势和基因表达，这些基因组的表达随其转座子（TE）密度而变化。白羽扇豆中的 PUE 基因已通过 WGT 以及串联和分散重复进行了扩增。此外，我们表征了高 PUE 的四个主要途径，包括碳固定，簇根形成，土壤 P 固定和细胞 P 重用。其中，生长素调节可能通过参与 LaABCG37s 对簇根形成很重要。这些发现为白羽扇豆的基因组进化和低磷适应提供了见解。

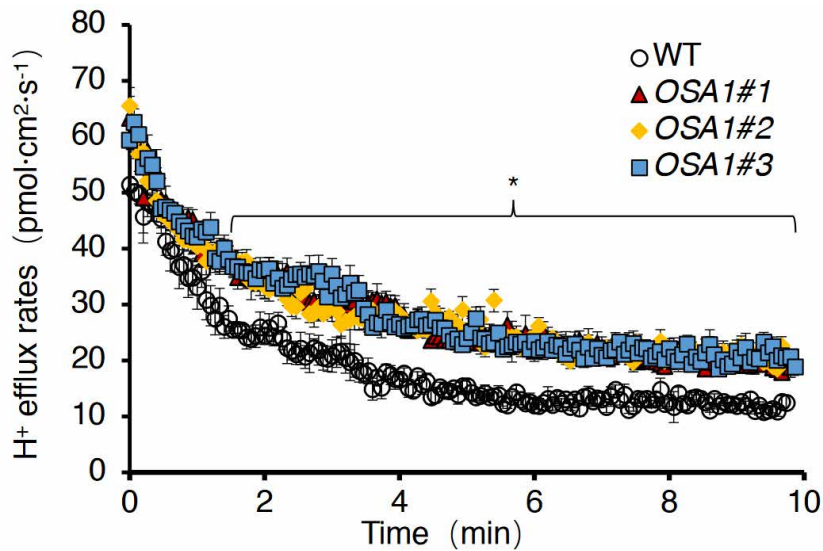


扫码查看本文详细报道

3、*Nat Commun* 南农朱毅勇：NMT 发现质子泵基因 OSA1 促水稻根排 H⁺，为 OSA1 氮高效功能分析提供关键数据

通讯作者：南京农业大学 朱毅勇；日本名古屋大学 木下俊则（Toshinori Kinoshita）

所用 NMT 设备：NMT 养分高效机制分析仪



研究使用非损伤微测技术（NMT）检测水稻根部 H⁺ 跨膜转运速率变化，结果发现，在 2 mM NH₄⁺ 处理 12 h 后，3 个 *OSA1* 过表达株系 H⁺ 外排速率均增加，且明显强于 WT，表明 *OSA1* 过表达株系通过泵出更多的 H⁺，促进 NH₄⁺ 吸收，同时有效降低根内 H⁺ 浓度，促进 NH₄⁺ 同化。

NMT 发现质子泵基因 OAS1 促水稻根排 H⁺ 为 *OSA1* 促 NH₄⁺ 吸收同化的机制提供证据。

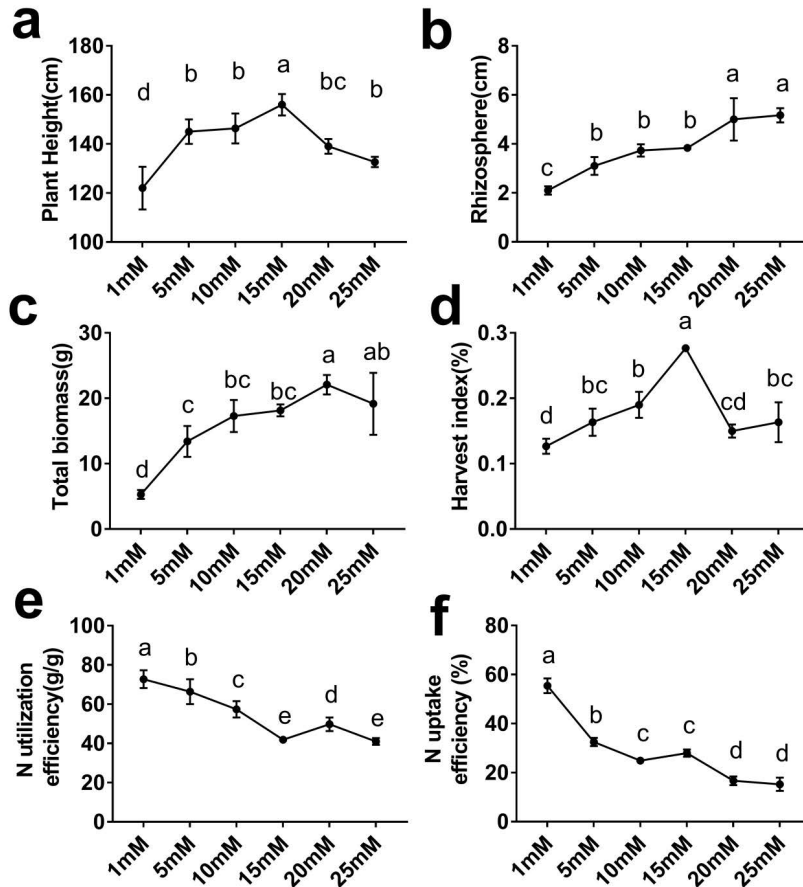


扫码查看本文详细报道

4、*J Agr Food Chem*: 湖南农大 NMT 发现 BnNRT 在低氮条件下 NO₃⁻ 吸收增大, 为 BnNRT 氮高效功能分析提供关键数据

通讯作者: 湖南农业大学 张振华

所用 NMT 设备: NMT 养分高效机制分析仪



氮对植物生长和作物生产力至关重要；然而，随着氮供应的增加，氮利用效率（NUE）降低，导致资源浪费。低氮（LN）介导的 NUE 增强的分子机制尚不清楚。

我们使用高 NUE 甘蓝型油菜基因型 H（香优 15），低 NUE B.napus 基因型 L（814）和拟南芥突变体 aux1 来阐明在不同氮肥施用量下 NUE 变化的机制。甘蓝型油菜 NUE 在 LN 下增加，通过调节根系结构和质膜 H⁺-ATPase 活性提高 N 吸收能力；AUX1 参与了这个过程。

另外，BnNRT1.5 被上调并且 BnNRT1.8 在 LN 下被下调，由此通过增强的 N 转运将更多的 N 转移到芽。观察到的 LN 下光合作用的变化与 N 同化效率有关。我们的研究为植物适应环境的机制提供了新的见解。



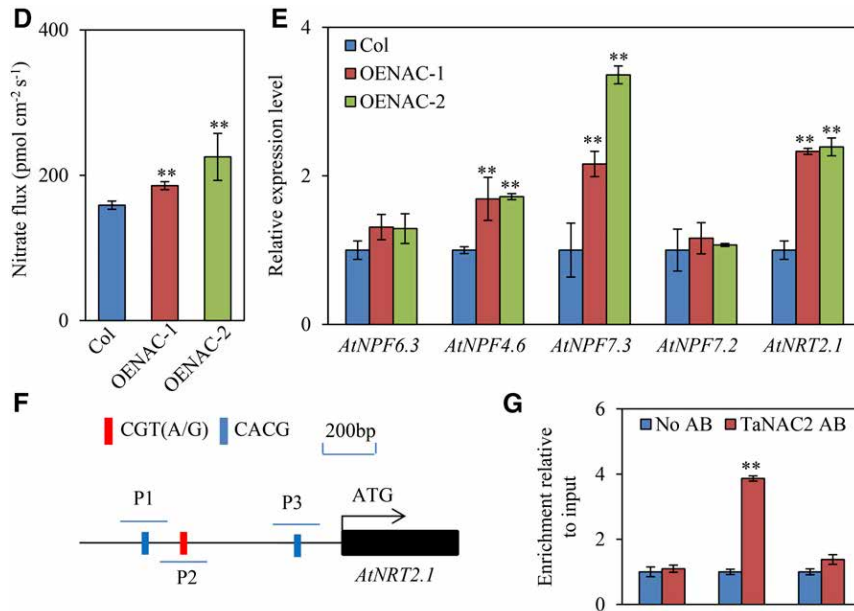
扫码查看本文详细报道

doi:10.5281/zenodo.8437249

5、Plant Physiol: NMT 发现 TaNAC2-5A 调控硝酸盐信号转导，为 TaNAC2-5A 氮高效功能分析提供关键数据

通讯作者：中科院遗传发育所 童依平

所用 NMT 设备：NMT 养分高效机制分析仪



硝酸盐是谷物作物的主要氮资源。因此，了解谷类作物中的硝酸盐信号对于提高氮素利用效率的工程作物非常有价值。尽管已经在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的硝酸盐感测和信号传导中确定了几种调节剂，但谷物中的等效信息却缺失了。

在这里，我们从小麦 (*Triticum aestivum*) 中分离出了硝酸盐诱导型和谷类特异性 NAM, ATAF 和 CUC (NAC) 转录因子 TaNAC2-5A。染色质免疫沉淀分析表明，TaNAC2-5A 可以直接结合到编码硝酸盐转运蛋白和谷氨酰胺合成酶的基因的启动子区域。TaNAC2-5A 在小麦中的过表达增强了根系的生长和硝酸盐的流入速率，因此增加了根系获得氮的能力。此外，我们发现在田间试验中，过表达 TaNAC2-5A 的转基因小麦品系具有较高的籽粒产量和较高的氮素在地上部分的积累，并在籽粒中分配了更多的氮。

这些结果表明，TaNAC2-5A 参与硝酸盐信号传导，并表明它是利用更有效地使用肥料来育种作物的令人兴奋的基因资源。

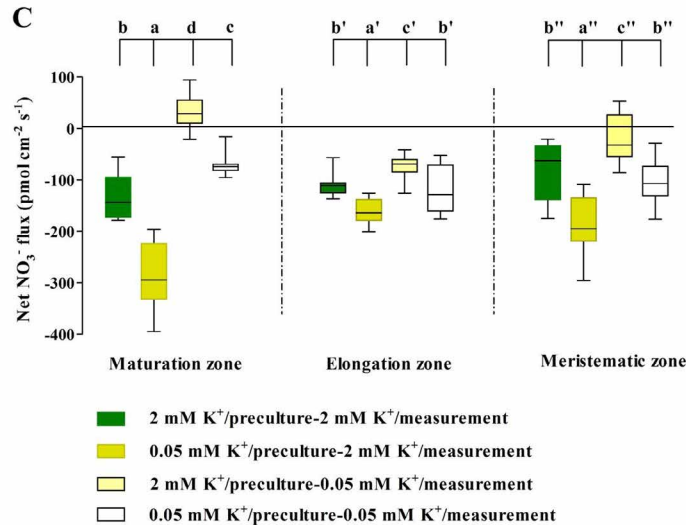


扫码查看本文详细报道

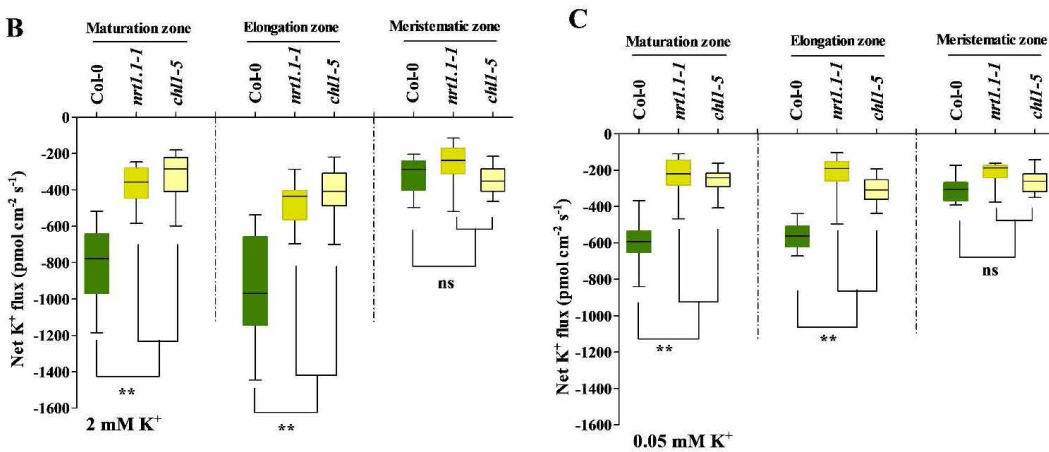
6、Plant Physiol 浙大金崇伟 NMT 发现 NRT1.1 调节 K⁺ 吸收和分配促植物在低 K⁺ 胁迫下生长，为 NRT1.1 氮高效功能分析提供关键数据

通讯作者：浙江大学 金崇伟

所用 NMT 设备：NMT 养分高效机制分析仪



研究发现在低 K⁺ 培养基上预培养的植物与在 K⁺ 充足的培养基上预培养的植物相比，三个根区的 NO₃⁻ 净吸收速率均更高。



为了了解 NRT1.1 在根系 K⁺ 吸收中的作用，研究使用 NMT 系统检测了植物根系的 K⁺ 流速，发现在 2.0 和 0.05 mM K⁺ 培养基中，*nrt1.1-1* 和 *chl1-5* 突变体根系伸长区和成熟区的 K⁺ 净吸收速率均低于 Col-0 植株的 50%。相比之下，植物根系分生区净 K⁺ 吸收速率没有显著差异（图 B, C）。结果表明伸长区和成熟区是 NRT1.1 与根细胞 K⁺ 吸收相关的靶区域。



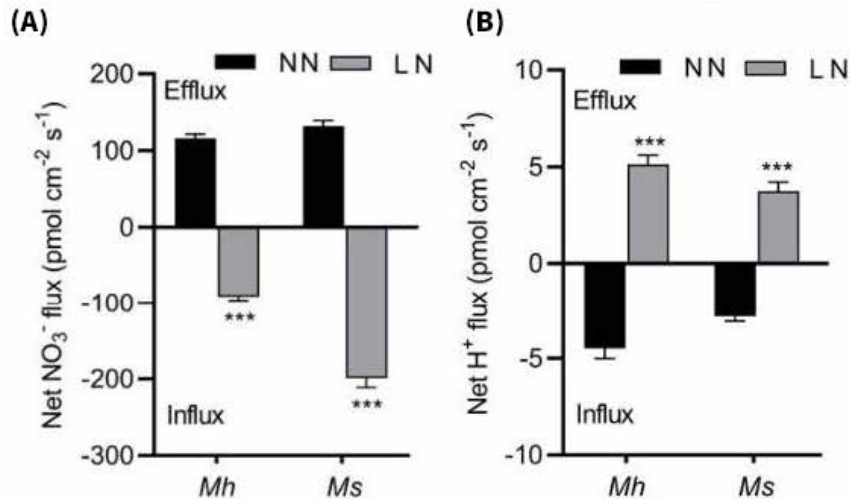
扫码查看本文详细报道

doi:10.5281/zenodo.8437253

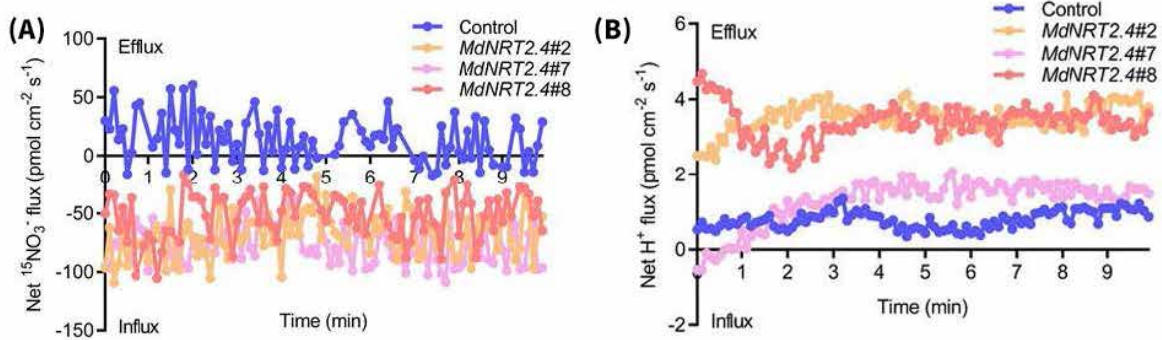
7、*J Exp Bot* 中农园艺：NMT 发现低氮下 NRT2.4 促排 H^+ 吸 NO_3^- ，为 NRT2.4 氮高效功能分析提供关键数据

通讯作者：中国农业大学 韩振海

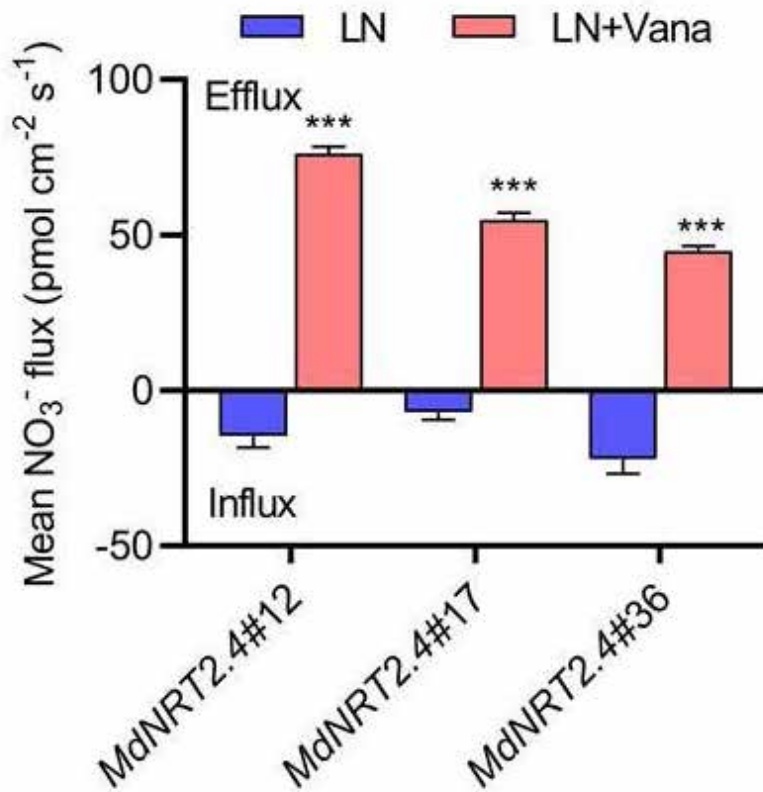
所用 NMT 设备：NMT 养分高效机制分析仪



我们测定发现在低氮处理 24 h 时，根际溶液中 NO_3^- 浓度降低，同时根际 pH 也降低。通过非损伤微测技术 (NMT) 检测根系 NO_3^- 和 H^+ 流速发现，低氮处理 24 h 时，苹果砧木根表 NO_3^- 表现为吸收，同时，新疆野苹果根表 NO_3^- 的流入量是平邑甜茶的 1.9-2.5 倍 (图 1A)。低氮处理也诱导苹果砧木根系 H^+ 的外排 (图 1B)，这可能是造成根际溶液 pH 降低的原因。



过表达 MdNRT2.4 的苹果砧木幼苗在低氮溶液中处理 30 d，采用 NMT 检测根表 NO_3^- 流速发现，低氮处理的非转基因苹果幼苗 (对照) 和过表达 MdNRT2.4 的苹果幼苗根系均表现出 NO_3^- 的吸收特性，并且过表达 MdNRT2.4 的苹果幼苗根系 NO_3^- 吸收速率明显强于对照植株 (图 2A)。在过表达 MdNRT2.4 的苹果砧木幼苗根系同样存在较强的 H^+ 外排现象 (图 2B)。



前面的试验表明, 苹果砧木 NO₃⁻ 吸收的同时存在根系酸化现象, 因此使用原钒酸钠 (PM H⁺-ATPase 活性抑制剂) 处理过表达 MdNRT2.4 的苹果砧木根系, 结果发现, 根系 PM H⁺-ATPase 活性被抑制的同时导致植株根系 NO₃⁻ 吸收受到影响, 表现为 NO₃⁻ 外排的现象 (图 3)。

NMT 发现低氮下过表达排 H⁺ 吸 NO₃⁻ 均增强 为质子泵影响 NRT2.4 在苹果吸硝中的功能提供证据。



扫码查看本文详细报道