

种质资源应用成果

抗盐基因功能分析 | 抗盐种质资源研究

一、摘要

1、表型研究

- 1) 定量检测样品排 / 吸 Na^+ 速率，直接表征 Na-H 逆向转运体、Na-H 交换体活性，验证 SOS1、NHX1 等功能
- 2) 定量检测样品失 K^+ 速率，直接表征其综合耐盐保 K^+ 能力
- 3) 定量检测活体样品内外部不同位置的 Na^+ 、 K^+ 浓度

2、机制研究

1) 保 K^+ 机制

a. 外向 K^+ 通道 (GORK) 耐盐保 K^+ 贡献率

定量检测盐胁迫下的排 H^+ 速率，结合其保 K^+ 能力，判断耐盐 / 保 K^+ 能力强的样品，其保 K^+ 机制是否是通过活跃的 PM H^+ -ATPase 排 H^+ ，促盐胁迫下质膜复极化，关闭 GORK，从而达到保 K^+ 效果

b. 非选择性阳离子通道 (NSCC) 耐盐保 K^+ 贡献率

以 K^+ 外排速率为落脚点，从激活 NSCC 的关键信号 ROS 及 ROS 胞内胞外产生的途径，利用 RBOHs 突变体、RBOH 抑制剂、胞内 ROS 清除剂等，验证是否通过调节 NSCC 实现保 K^+ 及其调节机制

2) 质子泵 H^+ -ATPase

检测盐胁迫下的实时排 H^+ 速率，用最直接的指标定量表征盐胁迫下 H^+ -ATPase 活性提升的程度

3) Ca^{2+} 信号转导

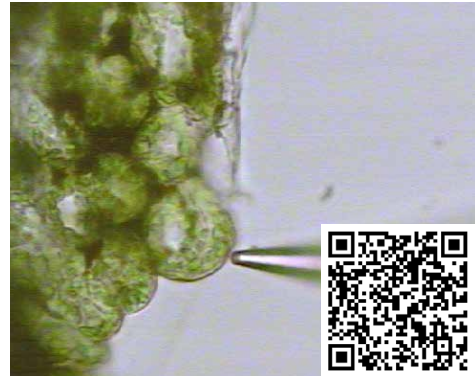
以排 / 吸 Na^+ 速率、失 K^+ 速率为落脚点，结合 Ca^{2+} 通道抑制剂、 Ca^{2+} 螯合剂、外源 Ca^{2+} ，以及 Na-H 逆向转运体抑制剂、Na-H 交换体抑制剂、 K^+ 通道抑制剂、 H^+ -ATPase 抑制剂，辅以外源 ROS，验证 Ca^{2+} 信号是否参与了促植物排 Na^+ 、液泡区隔 Na^+ 、保 K^+ 等过程，以及这一过程中的 Ca^{2+} 信号转导机制

扫码查看盐碱胁迫文献专辑

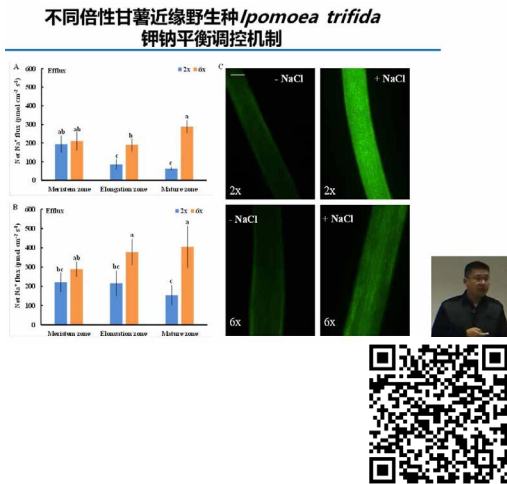


样品检测视频

叶肉



应用报告视频



根



专家介绍



主讲人：刘彦强
中关村NMT产业联盟秘书长，联盟标准化技术委员会非损伤微测技术(NMT)高级认证工程师。是“国成果《非损伤微测技术及其应用》主要完成人。



原生质体 / 液泡

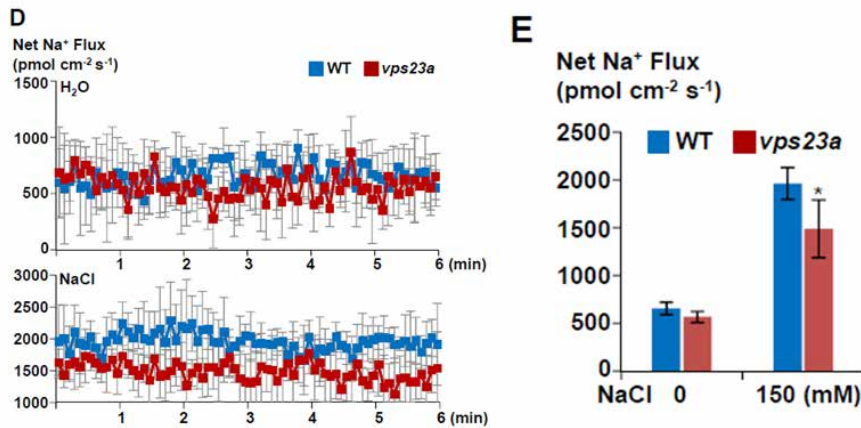


二、应用案例

1、*Mol Plant* 谢旗：NMT 发现 VPS23A 促盐胁迫下根排 Na⁺，为 VPS23A 耐盐功能分析提供关键数据

通讯作者：中国科学院遗传与发育生物学研究所 谢旗

所用 NMT 设备：耐盐机制分析仪（SMP300-YG 系列）



为了研究 VPS23A 是否影响植物细胞向质外体分泌 Na⁺ 的过程这一问题，使用非损伤微测技术（NMT）检测了拟南芥根尖 Na⁺ 的外排速率。将 12 日龄拟南芥 WT 和 vps23a 突变体幼苗在有无 150 mM NaCl 的液体培养基中处理 5 h。如图 D 和图 E 所示，经 NaCl 处理后，两种基因型的 Na⁺ 净外排速率都显著增加。统计分析表明，在 NaCl 胁迫下，突变体植株的净 Na⁺ 外排速率远低于 WT，而未经 NaCl 处理的两种植株的净 Na⁺ 外排速率之间无显著变化。vps23a 突变体在不同时间点的净 Na⁺ 外排速率在 1200 ~ 1800 pmol·cm⁻²·s⁻¹ 之间，而野生型植株的净 Na⁺ 外排速率则在 1800 ~ 2200 pmol·cm⁻²·s⁻¹ 之间。这些数据表明 VPS23A 确实对高盐条件下植物体内 Na⁺ 的分泌有积极作用。

NMT 发现 VPS23A 促盐胁迫下根排 Na⁺ 为 ESCRT 组分增强 SOS 模块功能维持拟南芥耐盐提供证据。

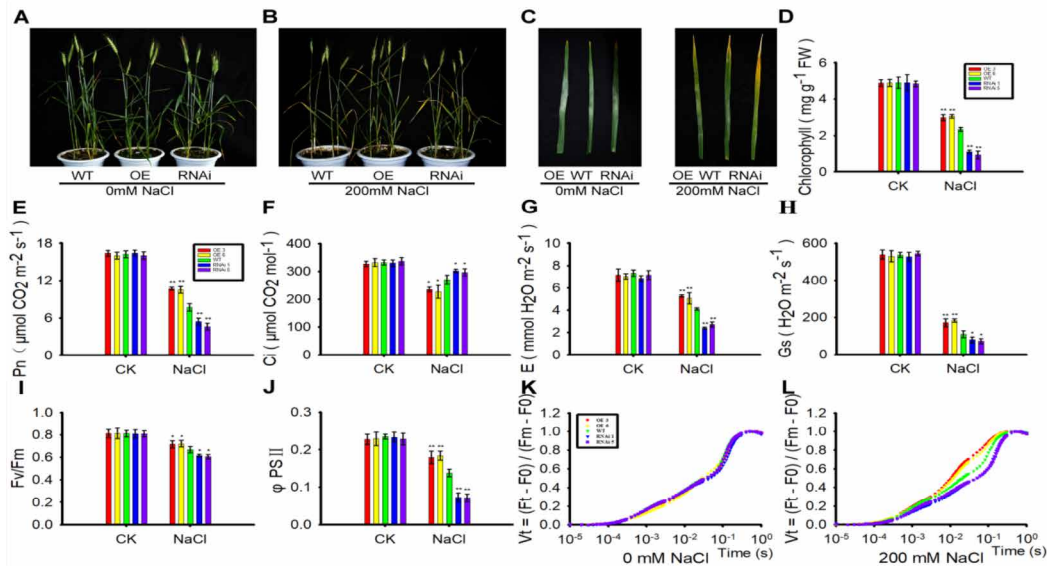


扫码查看本文详细报道

2、*J Integr Plant Biol*: NMT 发现 TaPUB1 提高盐胁迫下小麦的抗氧化能力, 为 TaPUB1 耐盐功能分析提供关键数据

通讯作者: 山东农业大学 王玮、枣庄学院 王文强

所用 NMT 设备: 耐盐机制分析仪 (SMP300-YG 系列)



与 WT 相比, TaPUB1 过表达上调与离子通道相关的基因的表达并增加净根 Na^+ 外排, 但降低净 K^+ 外排和 H^+ 吸收, 从而维持低细胞溶质 Na^+ / K^+ 比率。然而, RNAi 介导的敲低植物显示出对盐胁迫的相反反应。TaPUB1 可诱导某些基因的表达, 从而提高盐胁迫下植物的抗氧化能力。TaPUB1 还与 TaMP (*Triticum aestivum*. α -甘露糖苷酶蛋白) 相互作用, TaMPUB 是一种在酵母和植物中的盐响应中起重要作用的调节剂。因此, 在盐胁迫下过表达 TaPUB1 的小麦中可以维持较低的细胞溶质 Na^+ / K^+ 比率和较好的抗氧化酶活性。因此, 我们得出结论, U-box E3 泛素连接酶 TaPUB1 正调节小麦的盐胁迫耐受性。

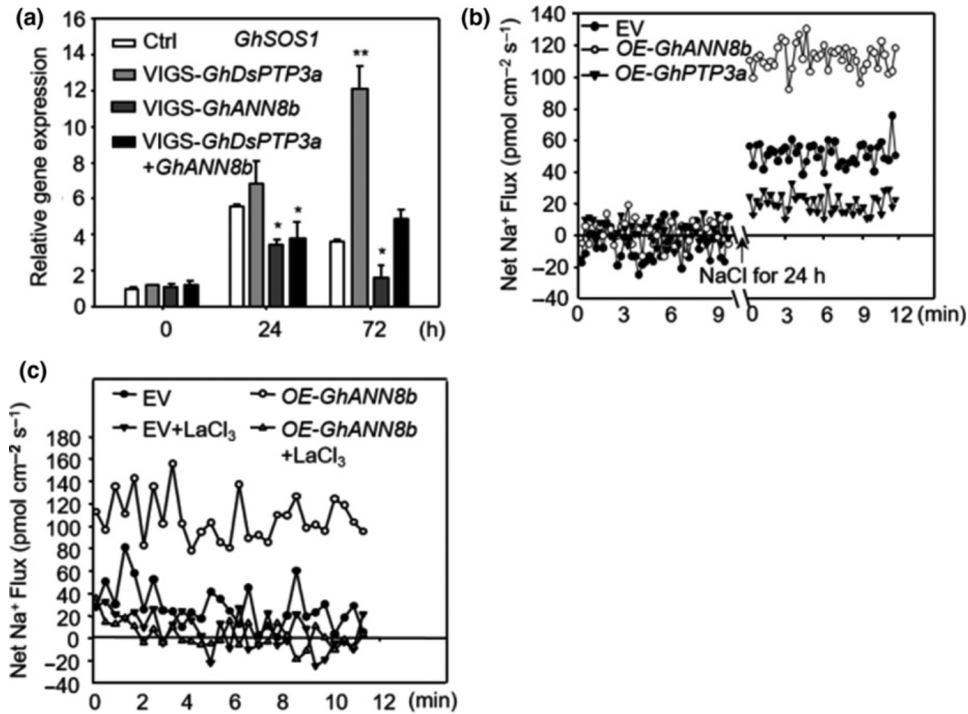


扫码查看本文详细报道

3、New Phytol: NMT 发现 PTP3ases 促盐胁迫下棉花根 Na⁺ 外排，为 PTP3ases 耐盐功能分析提供关键数据

通讯作者：中国农业大学 李芳军、得州农工大学 单立波

所用 NMT 设备：耐盐机制分析仪（SMP300-YG 系列）



为了鉴定赋予棉花耐盐性的遗传决定因子，我们在病毒诱导的基因沉默（VIGS）载体中使用棉花 cDNA 文库部署了功能基因组筛选。我们已经发现，编码蛋白磷酸酶的 GhDsPTP3a 的沉默会增加棉花对盐胁迫的耐受性。酵母双杂交筛选表明 GhDsPTP3a 与膜联蛋白 GhANN8b 相互作用，后者在调节棉花对盐胁迫的反应中起着积极作用。盐胁迫诱导 GhANN8b 磷酸化，其随后被 GhDsPTP3a 去磷酸化。GhDsPTP3a 和 GhANN8b 的异位表达相反地调节植物盐耐受性和钙吸收。此外，我们发现 GhDsPTP3a 或 GhANN8b 的沉默在调节 GhSOS1 转录水平中发挥相反的作用，并且 GhANN8b 的异位表达在盐胁迫下提高拟南芥中的 Na⁺ 外排。

我们的研究表明棉花磷酸酶 GhDsPTP3a 和膜联蛋白 GhANN8b 在棉花盐度反应中相互作用并反向调节 Ca²⁺ 和 Na⁺ 流速。

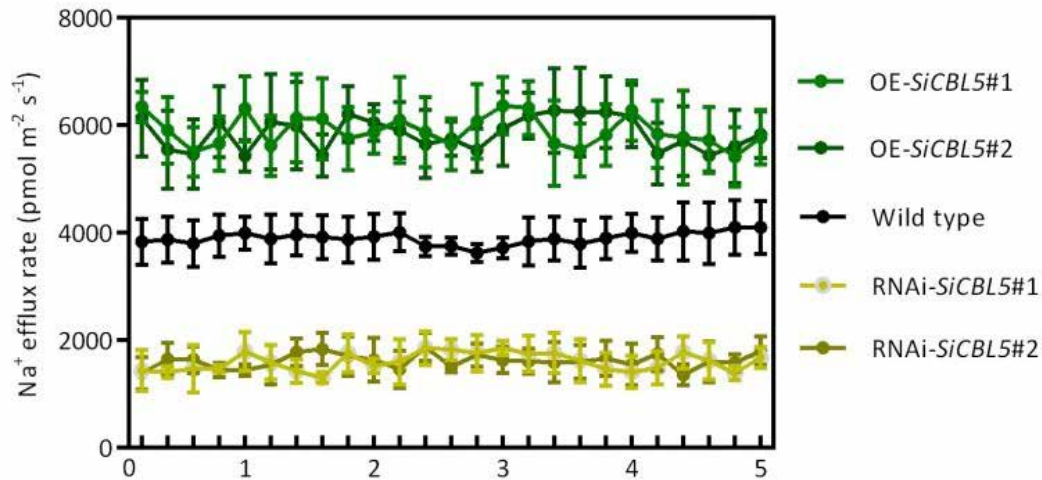


扫码查看本文详细报道

4、*Crop J* 南农张阿英：NMT 发现 CBL5 促盐胁迫下谷子根排 Na⁺，为 CBLs 耐盐功能分析提供关键数据

通讯作者：南京农业大学 张阿英

所用 NMT 设备：耐盐机制分析仪（SMP300-XY 系列）



由于 *SiCBL5* 在根中的高表达表明 *SiCBL5* 可能影响根中 Na⁺ 的外排，故采用非损伤微测技术（NMT）检测根中 Na⁺ 的外排速率。NaCl 预处理的野生型和 *SiCBL5* 转基因植株的所有根系均表现出 Na⁺ 外排的特性。RNAi-*SiCBL5* 植株根系 Na⁺ 外排速率明显弱于野生型，*SiCBL5* 过表达植株根系 Na⁺ 外排速率明显强于野生型。NMT 发现 CBL5 促盐胁迫下根排 Na⁺ 为 CBLs 通过调节 Na⁺ 稳态促谷子耐盐提供直接证据。

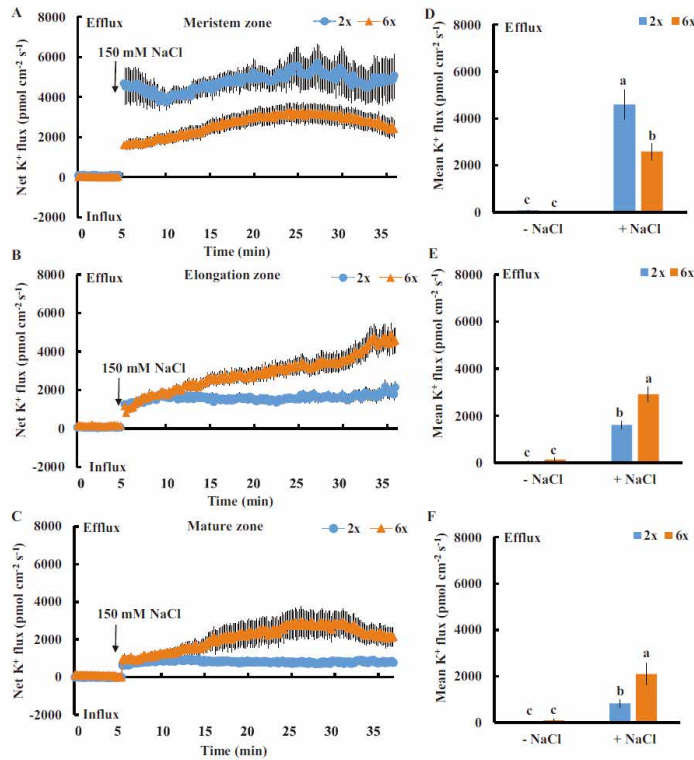


扫码查看本文详细报道

5、*J Exp Bot*：NMT 发现多倍体在盐胁迫下维持 K^+/Na^+ 稳态，为多倍体耐盐功能分析提供关键数据

通讯作者：江苏师范大学 孙健

所用 NMT 设备：耐盐机制分析仪（SMP300-XY 系列）、超微量离子浓度计（MIC-100-XY 系列）



与二倍体祖细胞相比，多倍体在盐水条件下通常具有优越的 K^+/Na^+ 稳态。

在这项研究中，我们确定了与二倍体（2x）和六倍体（6x；自六倍体）*Tripoda* 的根的 K^+/Na^+ 稳态的倍性相关介导有关的生理机制，这是栽培红薯的近亲。结果表明，与 2x *I. trifida* 相比，在盐胁迫下 6x *I. trifida* 保留更多的 K^+ 并在根和叶组织中积累较少的 Na^+ 。

与 2x 祖先相比，6x 裂叶线虫通过其对 H_2O_2 敏感性低的质膜（PM） K^+ 渗透通道有效地防止了盐胁迫下分生组织根区的 K^+ 流出。此外，由于 PM Ca^{2+} 的可渗透通道对 H_2O_2 的敏感性高，因此 6x *I. trifida* 有效地将 Na^+ 从盐胁迫下的伸长和成熟根区中排除。

我们的结果表明，在盐渍化 2x 和 6x 甘薯的 K^+/Na^+ 动态平衡控制中，PM K^+ 和 Ca^{2+} 渗透通道对 H_2O_2 的根区特异性敏感性。这项工作为改善盐胁迫下多倍体 K^+/Na^+ 稳态的维持提供了新的见解。



扫码查看本文详细报道

doi:10.5281/zenodo.8437221