

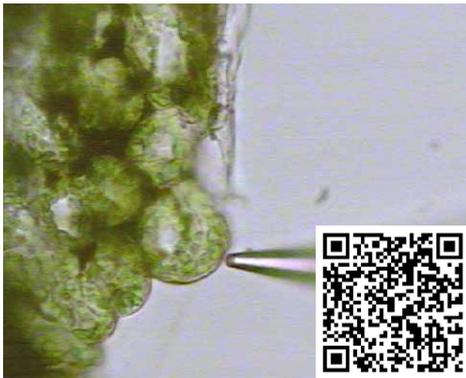
种质耐旱基因功能分析 | 耐旱种质资源研究

一、摘要

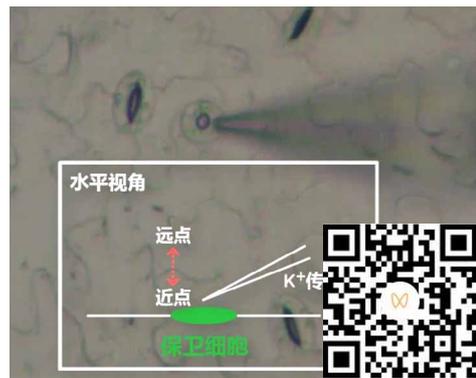
- 1、定量检测干旱胁迫下根 H^+ -ATPase 的抑制度 (H^+ 转运速率)，为揭示耐旱机制提供证据
- 2、定量检测干旱胁迫下植物根、叶肉调节 K^+ 稳态的能力
- 3、定量检测干旱胁迫下跨膜 Ca^{2+} 流，揭示 Ca^{2+} 信号参与 ABA 等信号转导途径的机制
- 4、定量检测水淹胁迫下跨膜 Ca^{2+} 流，揭示 CBL 等调节 Ca^{2+} 信号的机制
- 5、定量检测干旱胁迫下 ROS (H_2O_2) 的跨膜转运速率
- 6、气孔相关研究 (详见“保卫细胞与非损伤微测技术科研结合点”)

样品检测视频

叶肉



保卫细胞



根



扫码查看水旱胁迫文献专辑

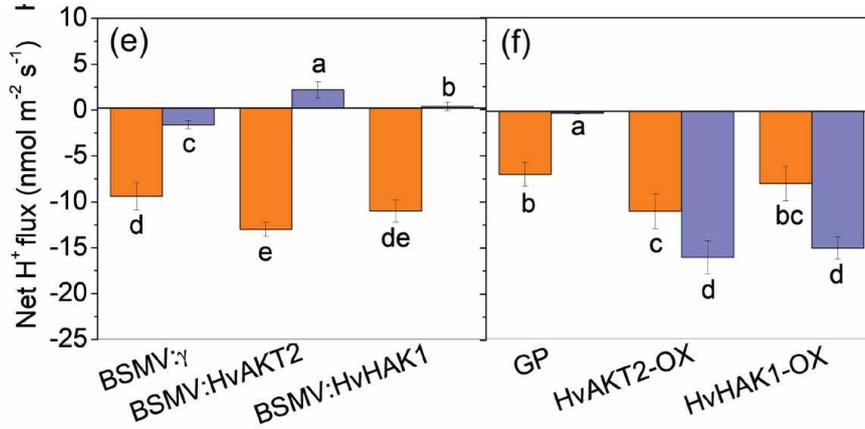


二、应用案例

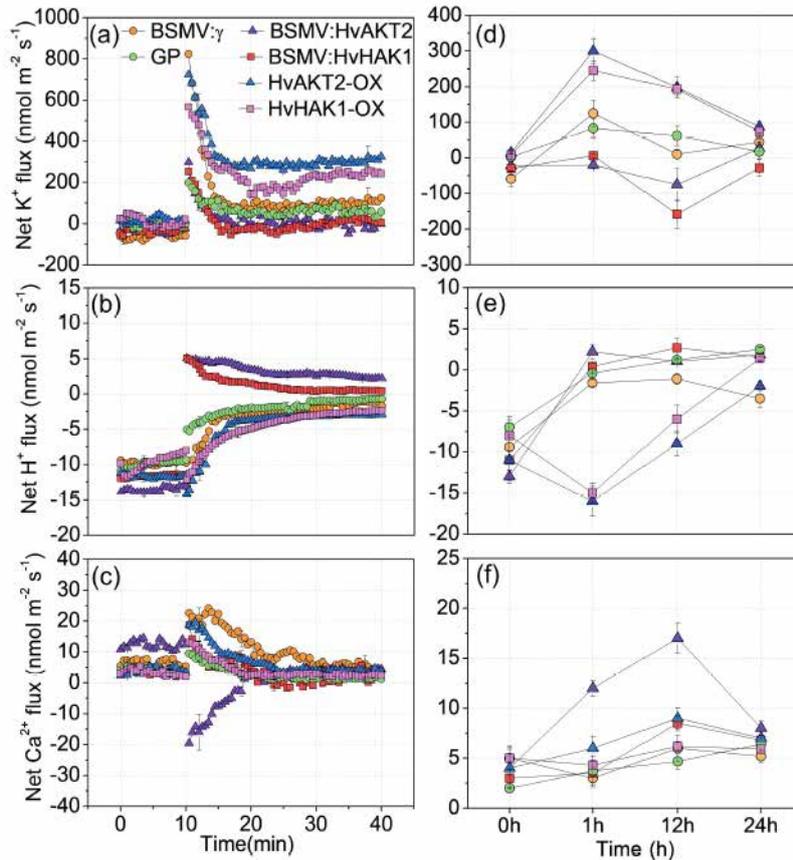
1、*Plant Biotechnol J* 浙大陈仲华、邬飞波：NMT 发现 HvAKT2 和 HvHAK1 通过增强叶肉 H⁺ 稳态提升耐旱能力，为 HvAKT2 和 HvHAK1 抗旱功能分析提供关键数据

通讯作者：浙江大学作物科学研究所 邬飞波、陈仲华

所用 NMT 设备：耐旱机制分析仪（DTP300-YG 系列）



干旱（20% PEG 处理 1 h）导致接种了 BSMV:HvAKT2 和 BSMV:HvHAK1 的干旱敏感型大麦叶片叶肉 H⁺ 由外排向吸收转变（e）。相反，与 Golden Promise 相比，HvAKT2 和 HvHAK1 过表达则显著增加了叶肉对于干旱胁迫的响应（f）。



然后对所有大麦品系 (XZ5、沉默株系、Golden Promise 和过表达株系) 在 24 h 内进行 K^+ 、 H^+ 和 Ca^{2+} 流速测定, 以了解 *HvAKT2* 和 *HvHAK1* 在大麦抗旱性中的作用。与对照相比, 在 PEG 诱导的干旱胁迫 1 h 和 12 h 后, 沉默 *HvAKT2* 和 *HvHAK1* 株系的叶肉组织 K^+ 的吸收显著降低 (a, d)。模拟接种的植株在对照组和 PEG 诱导干旱处理的植株叶片中表现出 H^+ 外排, 而 *HvAKT2*- 和 *HvHAK1*- 沉默的植株在 PEG 诱导后则表现出的 H^+ 吸收 (b, e)。BSMV:*HvHAK1* 植株叶片叶肉细胞 Ca^{2+} 流速在干旱处理 1 h 和 12 h 后显著增加 (c, f)。在沉默株系的根部观察到类似的 K^+ 、 H^+ 和 Ca^{2+} 流速趋势。

在过表达 *HvAKT2* 和 *HvHAK1* 的植物的叶肉组织中, PEG 诱导的干旱胁迫导致 *HvAKT2*-OX 和 *HvHAK1*-OX 植物的 K^+ 吸收速率比 Golden Promise 高 2.6 倍和 1.8 倍 (a)。在所有植物中, 经过 PEG 处理 24 h 后, K^+ 内流速率均减少, 但在过表达株系中, 其 K^+ 吸收速率 ($70\sim 80\text{ nmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 仍显著高于对照 (a, d)。在对照和 PEG 诱导的干旱处理 1 h 和 12 h 后, 过表达 *HvAKT2* 和 *HvHAK1* 的植物比 Golden Promise 保持着更显著的 H^+ 外排 (b, e)。*HvAKT2*-OX 植株叶片叶肉细胞的 Ca^{2+} 流速在干旱 1 h 和 12 h 后显著增加 (c, f)。

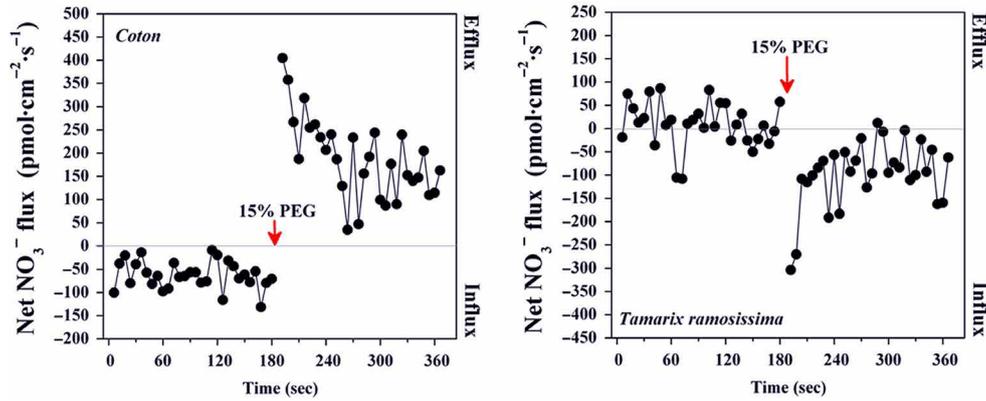


扫码查看本文详细报道

2、Tree Physiol：中科院南土所 NMT 发现干旱胁迫下不同物种影响 NO_3^- 的吸收，为抗旱功能分析提供关键数据

通讯作者：中科院南京土壤所 施卫明

所用 NMT 设备：耐旱机制分析仪（DTP300-XY 系列）



使用 PEG 进行瞬时处理后，棉花根系的 NO_3^- 由吸收转为外排，最高值可达 $400 \text{ pmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，由此降低根系的 N 含量；而红柳根系经 PEG 瞬时处理后吸收明显增加，最高可达 $300 \text{ pmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，提高了根系的 N 含量。

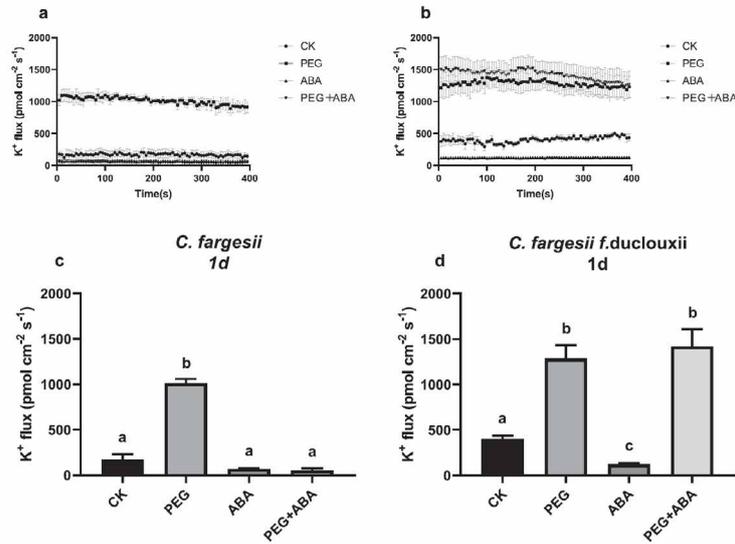


扫码查看本文详细报道

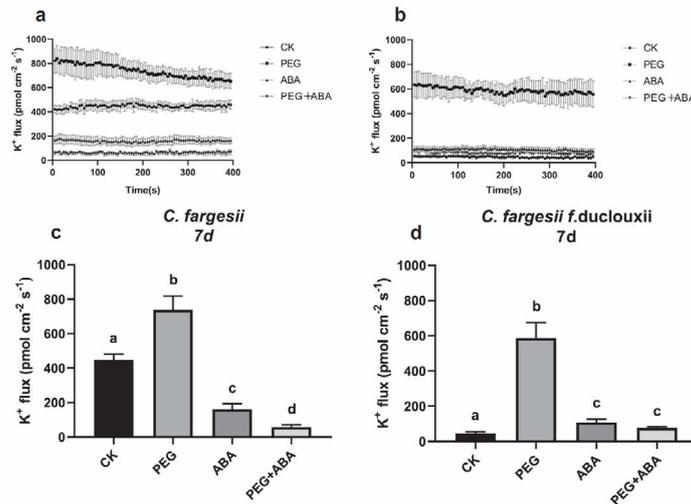
3、林科院王军辉：NMT 发现 K⁺ 吸收能力高的耐旱物种依赖于 ABA，为抗旱功能分析提供关键数据

通讯作者：中国林业科学研究院 王军辉

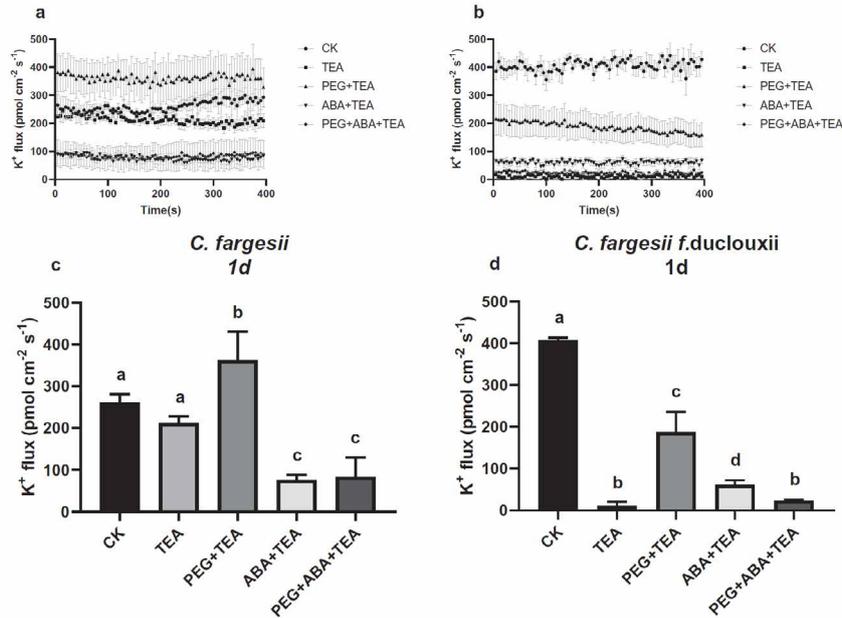
所用 NMT 设备：耐旱机制分析仪（DTP300-XY 系列）



在灰楸根中，与 CK、ABA 和 PEG+ABA 处理后相比，短期（1 d）PEG 处理后 K⁺ 的外排速率显著升高（ $P < .001$ ）（图 1a,b）。长期（7 d）处理后，PEG 处理组的 K⁺ 的外排速率仍高于 CK 组。然而，与 CK 相比，ABA 和 PEG+ABA 处理组从根部外排的 K⁺ 较少，速率分别为 161 和 58 pmol cm⁻² s⁻¹（图 2a,b）。



与对照组相比，PEG 处理 1 d 后导致滇楸的 K⁺ 外排速率显著增加（ $P < .001$ ，图 1c,d）。PEG+ABA 处理组的 K⁺ 外排速率与 PEG 处理组的 K⁺ 外排速率无显著差异，但 ABA 相对于 PEG 导致 K⁺ 外排速率显著下降（ $P < .001$ ）。而 ABA 对 K⁺ 外排的影响较 PEG 相比显著降低（ $P < .001$ ）。与处理 1 d 相比，处理 7 d 后 K⁺ 外排速率明显降低（ $P < .001$ ）（图 2c,d）。处理 7 d 后，CK 中 K⁺ 外排速率与 ABA 或 ABA+PEG 处理相比无明显差异。用 PEG 处理的植物有最高的 K⁺ 外排流速值。



研究使用四乙铵（TEA，一种 K^+ 通道阻断剂），以确定 K^+ 外排是否通过 K^+ 通道调节。用 CK、PEG、ABA 或 PEG+ABA 处理幼苗 1 d，然后进行 1 h TEA 处理。灰楸幼苗在 CK 和 CK+TEA 处理下的 K^+ 外排速率分别为 260 和 212 $\text{pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ （图 3）。滇楸幼苗在 CK 和 CK+TEA 处理下的 K^+ 外排速率分别为 406 和 11 $\text{pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。与不使用 TEA 的 CK 相比，在 PEG、ABA 和 ABA+PEG 中培养的幼苗和用 TEA 处理的幼苗的 K^+ 外排速率明显降低 ($P < .001$)。经过短期处理 (CK、PEG、ABA 或 PEG+ABA) 后再经过 TEA 处理，灰楸表现出比滇楸更高的 K^+ 外排速率 ($P < .001$)。



扫码查看本文详细报道