

## 非损伤微测技术助力植物抗逆机理研究

万金鹏\*

中国科学院西双版纳热带植物园，西双版纳，666303

**摘要：**一个基因可以改变一个国家的命运，一粒种子可以改变一个民族的未来，一门新的技术方法必将推动相关学科的跨越式发展。我们处在一个做科学研究的好时代，这个时代新学科和新技术方法层出不穷，为我们开展科学研究保驾护航。非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT）可以检测植物活体多种离子或分子的实时动态变化，目前该技术已达到国际领先水平。它已在植物营养学、盐碱胁迫和重金属胁迫响应等领域展现出巨大的应用潜力，为研究植物响应环境动态提供了理想的解决方案。本文简要回顾了 NMT 的发展，以及 2022 年非损伤微测技术应用高级研修班下·植物领域相关专家的主要授课内容，同时结合本人的研究工作进行了相关课题设计，并对 NMT 的发展提出了建议。

**关键词：**非损伤微测技术，植物逆境，盐胁迫，重金属，生理生化

### 一、非损伤微测技术简介及在中国发展历程

非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT）最先由美国科学家 Lionel F. Jaffe 提出，后经不断探索和发展，逐步运用于解决众多的关键科学问题 (Liu et al., 2022)。许越教授是 NMT 中国化的开拓者和引领者，他领航 NMT 在中国发展近 20 年，推动了一个充满生机与活力、蓬勃发展的技术走向应用。目前 NMT 技术已达到国际领先水平，获得了多项专利技术，已被广泛运用于生命科学、材料科学、地球科学和国计民生等领域。

目前 NMT 可用于测定活体组织、细胞与内/外环境间的钠 ( $\text{Na}^+$ )、钾 ( $\text{K}^+$ )、钙 ( $\text{Ca}^{2+}$ )、镁 ( $\text{Mg}^{2+}$ )、铵根 ( $\text{NH}_4^+$ )、

镉 ( $\text{Cd}^{2+}$ )、铅 ( $\text{Pb}^{2+}$ ) 和铜 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) 等重金属离子，以及  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{O}_2$  和 IAA 等多个离子或分子指标的实时变化 (Liu et al., 2022)。这些指标可以反映活体生物对外界环境的动态响应，为揭示生理机制提供了强有力的生理学证据。

关乎国计民生的粮食安全和环境污染防治问题已引起公共的广泛关注。中关村 NMT 产业联盟注重理论与技术的应用推广，积极服务广大科研工作者。2022 年 10 月，该联盟组织 2022 年非损伤微测技术应用高级研修班·植物领域，旨在培养一批熟悉和运用 NMT 的科研工作者，这必将掀起 NMT 技术在植物三大“顶梁柱”（盐碱胁迫、重

收稿日期：2022-12-04；接收日期：2022-12-04  
\* 通讯作者 E-mail: wanjinpeng@xtbg.org.cn  
编辑作者 E-mail: yanhan@nmtia.org.cn

金属和植物营养)领域的研究热潮。本次研修班邀请了 12 位来自一线科学研究的专家学者和应用工程师为学员们授课,翔实的科研数据支撑着一个个含金量十足的科学故事,倍感科学家的严谨和不易,每读一篇文章我们都应心存敬畏。通过参加本次研修班,让大家对 NMT 在植物营养学、植物纳米生物学、盐胁迫和重金属胁迫以及教育教学、种业中的应用有了更深刻的认识。

## 二、非损伤微测技术在植物营养、纳米生物和逆境胁迫响应研究中的应用

根是植物直接吸收养分和水分的重要器官。根系构型,包括根长、侧根数、根毛数、根向地或向水性等,是决定养分和水分吸收的关键因素。在气候变化背景下,全球干旱和半干旱区域将进一步扩大 (Huang et al., 2016)。因此,解析植物响应水分的调控机理将有助于改良和提高植物对水资源和养分的利用效率。许卫锋教授团队建立了一套用于研究根系向水性的系统,研究发现植物向水性表现为在干旱缺水胁迫下,根系能寻锚水分、向着有水的土壤生长,还发现油菜素内脂 BR 能通过调控根质子流信号促进根系向水性 (Miao et al., 2018)。在此研究中借助 NMT 测检测了  $H^+$ 、 $Ca^{2+}$  和  $H_2O_2$  的动态变化。此外,根的向水性还与根鞘建成密切相关。根鞘 (Rhizosheath) 是由根际土壤颗粒与根系分泌的粘液、根际微生物分泌的粘液及根毛间相互胶结和缠绕形成的适应性结构,对植物耐旱尤为重要。研究发现根鞘是作物养分与水分吸收的“高速公路”,适度调控灌

溉下内生真菌印度梨形孢能促进水稻根鞘建成,为作物高效利用水分提供了重要的参考价值 (Zhang et al., 2020; Xu et al., 2022)。

纳米技术被欧洲委员会认定为 21 世纪最有前景的六大关键技术之一,目前已经被广泛应用于生物医药、环境、食品农业等领域 (Salata, 2004)。工程纳米材料 (EMs) 对植物生长发育产生的负面或积极影响,归因它们的理化性质、施用浓度等。工程纳米材料在提高植物盐碱胁迫、重金属耐受等方面潜力巨大 (Wan et al., 2020; Zhao et al., 2020)。碳基纳米材料,包括碳点 (CDs)、单壁碳纳米角 (SWCNHs)、单壁碳纳米管 (SWCNTs)、多壁碳纳米管 (MWCNTs)、氧化石墨烯和富勒烯 (C60),是具有广阔应用前景的新型工程纳米材料 (Lahiani et al., 2015)。生物质衍生碳点具有良好的水溶性、生物相容性及低毒性等特性,是一种典型的零维碳基纳米材料。孙健团队研究发现凝集素受体激酶 LecRKs 能感知丹参碳点表面的 -OH 和 COOH 官能基团,从而促进 cAMP/cGMP 的积累并激活 CNGCs,这种情况下细胞质  $Ca^{2+}$  动员并不依赖于 ROS 信号。研究还发现,在 NaCl、低  $K^+$ 、低  $Fe^{2+}$  等胁迫下,CDs 促使根细胞质  $Ca^{2+}$  浓度升高,进而影响  $K^+$ 、 $Na^+$  和  $Fe^{2+}$  的吸收,从而提高植物对这些逆境胁迫的适应性 (Li et al., 2022)。以上研究表明,SWCNHs、CDs 等工程碳纳米材料在可持续农业发展和资源环境等领域具有重要的应用前景。

盐碱胁迫是危害植物生长的主要非生物胁迫之一。我国盐碱地超过 5 亿亩,预计到 2050 年超过 50% 的耕地面将被盐碱化。18

亿亩耕地红线要守住，同时也要充分开发利用好 5 亿亩盐碱地。因此，开展植物特别是作物耐盐碱机制的研究，需转变传统常规的作物育种方式，由治理盐碱地适应作物，向选育耐盐碱植物适应盐碱地转变。培育耐盐碱作物，将为中国粮仓、中国饭碗提供重要的支撑。耐盐碱植物采用不同的策略如拒盐、泌盐等来减少盐的吸收从而降低毒害。NMT 对  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  离子流的动态检测为植物响应盐碱胁迫提供了有力支撑。张金林教授团队研究发现小花碱茅通过减少根系  $\text{Na}^+$  内流，从而降低了  $\text{Na}^+$  产生的毒害；进一步研究发现小花碱茅的耐盐性受到 PtSOS1 和 PtHKT5;1 以及其他离子转运体 / 通道 PutHKT1;4, PutHKT2;1 和 PutAKT1 的共同调控 (Han et al., 2022)。其团队还利用 NMT 进行了燕麦品种耐盐性的筛选，揭示 AsSOS1 调节它们响应盐胁迫的差异机制，耐盐品种具有较强的根系  $\text{Na}^+$  吸收控制能力、根系  $\text{Na}^+$  排除能力和  $\text{K}^+$  保留能力 (Zhang et al., 2022)。

重金属胁迫严重影响植物的生长发育，尤其是对作物产量和产品的影响，危及粮食安全和人类健康 (Zhao et al., 2021)。Cd 是我国土壤污染的首要污染物，土壤镉 Cd 超标率高达 7%，重金属污染防治是我国的重大战略需求。物理修复、化学修复、植物修复等技术被广泛应用于重金属污染地区土壤的修复。杨树是一种速生树种，其根系发达、地上部分生物量大，适应性强且分布极广，总 Cd 累积量高，在重金属 Cd 修复应用中具有巨大的潜力。罗志斌教授团队长期致力于杨树 Cd 富集调控机制研究，杂交杨 (*Populus tremula* x *P. alba*) 是其团队筛

选的 Cd 累积能力较强的杨树品种 (He et al., 2013)，研究发现叶片和树皮是杨树 Cd 积累的主要部位。另外根尖顶端 (0-900  $\mu\text{m}$ ) 是 Cd 吸收的主要区段，这可能与根尖组织凯氏带的发育程度有关。这段区域长度比根伸长区和成熟区的长度短，即使 Cd 吸收流速快，其余区段 Cd 积累量在总 Cd 积累中可能也起着重要作用。因此有必要从时间和空间尺度上，多维度检测杨树 Cd 吸收的动态变化，探究杨树根不同区域 Cd 吸收的差异机制。他们进一步研究发现谷胱甘肽和外生菌根真菌参与调控杨树对 Cd 胁迫的耐受性 (Ma et al., 2014; Shi et al., 2019)。杨树凋落物中 Cd 的含量显著低于鲜活叶片，这暗示 Cd 在杨树叶片中存在活化转移的现象，但具体的机制仍有待进一步揭示。

显然，NMT 的广泛认同和应用离不开中关村 NMT 产业联盟恪尽职守的研究者和工程师。把 NMT 写进教科书的实验指南，让更多的科研院所和高校了解和运用 NMT，这对于推广 NMT 起着重要作用，也是践行科技兴国国家战略的重要举措。此外，NMT 还开发了可视化操作界面友好的指南，对于新用户学习了解 NMT 提供了便捷的渠道。相信在不久的将来，NMT 必定在教育科研等领域大放异彩。

### 三、借力 NMT，为课题研究注入新动力

本人的研究方向为作物营养与环境适应，主要关注作物响应营养和环境变化的生理与分子机制，特别是陆稻适应陆生环境的

机理解析，包括种子低水分萌发、萌发后幼苗出土、生育期高温或低温响应、籽粒灌浆和胚乳充实以及稻米品质等。陆稻又叫旱稻、地谷等，是亚洲栽培稻的旱生生态类型，种植于通气有氧的旱地环境。陆稻旱直播栽培面临复杂的旱地环境，生产实践中常遇到出苗难、出苗不齐、后期易倒伏等问题。培育抗旱节水的稻作新品种和发展陆稻，是应对水资源匮乏、劳动力短缺、季节性干旱问题突出等形势下稻米生产的重要发展方向。系统筛选和评价适应陆生环境的陆稻种质资源是发展陆稻的关键。

我们将应用非损伤微测技术将进一步充实研究课题的内容，提升发表科研成果的质量。利用本研究团队前期系统收集的 2500 余份陆稻种质资源，借助 NMT (SVS-100 系统) 对干旱胁迫下不同陆稻种质的活力进行研究。主要内容包括以下几个方面：(1) 通过模拟不同浓度梯度干旱胁迫如 10%、15%、20% PEG6000 处理，对种子萌发过程的耗氧量进行检测；(2) 对不同响应的种子的储存物，包括可溶性糖、总蛋白等，以及  $\alpha$  淀粉酶和  $\beta$  淀粉酶活性等生理生化指标进行测量，比较不同陆稻种质对干旱胁迫响应的生理差异；(3) 进一步开展苗期生长指标的系统评价，评估 NMT 早期快速响应鉴定结果的可靠性和准确；(4) 通过构建遗传群体材料，对重要的候选基因进行精细定位并解析其调控机制。通过以上研究，以期筛选出具有较强耐旱能力的优异陆稻种质资源，用于指导后续盆栽或大田耐旱鉴定，解析陆稻适应干旱胁迫的生理与分子基础，为陆稻分子设计育种提供重要的遗传材料和基因资源。

#### 四、对非损伤微测技术的思考和展望

经过近 20 年的发展和完善，非损伤微测技术日趋成熟。执着专注、精益求精、一丝不苟、追求卓越的工匠精神能将我们从事的工作不断推向新的高度。新起点，新高度，目前非损伤微测技术得到了业界和科研工作者的认同，展现了其独特的魅力和应用前景。站上历史发展的交汇期，机遇与挑战并存，NMT 只有不断寻求进步，追求卓越，才能为科技事业进步做出更杰出的贡献。鉴于此，提出以下思考和建议，期望能为未来 NMT 发展提供一些参考。

一是在检测探测器的灵敏度上下功夫。这要求对每种探测器能检测出的阈值进行优化和提高，将有助于揭示植物响应变化的精准机制。众所周知，活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 对于植物体来说就像一把“双刃剑”，适宜浓度的 ROS 可以作为信号分子，激活相关信号通路以增强植物的抗性；而过度积累的 ROS 会对蛋白质、核酸等物质产生伤害而影响植物的正常生长发育 (Li and Kim, 2022; Zhao et al., 2022)。植物 ROS 的产生和清除处于动态平衡之中，但由于植物的特异性，每种植物维持 ROS 平衡的能力存在差异。对于特定的植物，ROS 作为信号分子或胁迫信号角色转化的阈值尚没有揭示清楚。提高 NMT 检测  $O_2$  的灵敏度，通过检测其空间的动态变化，将为这一问题提供答案。

二是拓展检测离子或分子的范围。检测离子或分子的空间还很大，特别是一些多价的元素和特殊功能有机小分子化合物，如

金属元素铁 (Liang, 2022)、锰 (Zhang et al., 2021), 植物激素乙烯、脱落酸 (Yoshida et al., 2019) 等, 这些物质对于植物的生长发育至关重要。目前能检测的指标远远低于植物响应环境变化的重要功能物质的数量。如果 NMT 能检测到同一元素的不同价态, 将为揭示相关元素在植物体内转化的动态提供证据。同时, 植物激素间的相互作用在调控植物环境适应性中发挥着重要作用, 迫切需要开展相关激素特别是气体激素的检测, 这将有助于阐明激素动态变化在植物响应环境变化中的功能, 为进一步开展遗传和分子机理解析提供依据。

三是研发新型小巧的复合探测器。这类探测器可用于同时多维度检测不同目标离子或分子的动态变化。植物系统是一个复杂的有机体, 其对环境变化的响应是一个系统全局的反应, 若能同步检测关注的几种离子或分子, 将能更好地解释其响应的机制。

四是健全 NMT 共享开放平台, 同时提供实惠的测试服务。虽然目前国内已有 100 余家单位的 500 多个实验室拥有 NMT 设备, 但资源相对集中于发达地区, 而西北和西南地区布局较少。这些地区面临着盐碱胁迫、干旱、重金属胁迫等更为严峻的环境问题, 需借助 NMT 大力开展原生物种对这些逆境响应的机理研究。此外, 目前测试产生的费用相对还是比较昂贵, 在一定程度上限制了研究人员对 NMT 系统的使用空间。希望中关村 NMT 产业联盟能立足长远, 让这项技术惠及更多的科研院所和高校的研究人员。

## 结语

非损伤微测技术为我们提供了一个动态检测植物响应内在和外界环境动态变化的窗口, 能实时准确把握植物的生理反应, 还为优异种质资源筛选鉴定和功能基因解析注入了新的活力。希望 NMT 人和 NMT 同仁们不断创新, 追求卓越, 保持国际领先的永续动力, 让 NMT 这项关键核心技术在中国科技自立自强中扮演越来越重要的角色。

## 参考文献

- Han QQ, Wang YP, Li J, Li J, Yin XC, Jiang XY, Yu M, Wang SM, Shabala S, Zhang JL (2022). The mechanistic basis of sodium exclusion in *Puccinellia tenuiflora* under conditions of salinity and potassium deprivation. *Plant J* **112**, 322–338.
- He J, Li H, Luo J, Ma C, Li S, Qu L, Gai Y, Jiang X, Janz D, Polle A, Tyree M, Luo ZB (2013). A transcriptomic network underlies microstructural and physiological responses to cadmium in *Populus × canescens*. *Plant Physiol* **162**, 424–439.
- Huang J, Yu H, Guan X, Wang G, Guo R (2016). Accelerated dryland expansion under climate change. *Nat Clim Change* **6**, 166–171.
- Lahiani MH, Chen J, Irin F, Poretzky AA, Green MJ, Khodakovskaya MV (2015). Interaction of carbon nanohorns with plants: uptake and biological effects. *Carbon* **81**, 607–619.
- Li M, Kim C (2022). Chloroplast ROS and

- stress signaling. *Plant Commun* **3**, 100264.
- Li Y, Tang Z, Pan Z, Wang R, Wang X, Zhao P, Liu M, Zhu Y, Liu C, Wang W, Liang Q, Gao J, Yu Y, Li Z, Lei B, Sun J (2022). Calcium-mobilizing properties of *Salvia miltiorrhiza*-derived carbon dots confer enhanced environmental adaptability in plants. *ACS Nano* **16**, 4357–4370.
- Liang G (2022). Iron uptake, signaling, and sensing in plants. *Plant Commun* **3**, 100349.
- Ma Y, He J, Ma C, Luo J, Li H, Liu T, Polle A, Peng C, Luo ZB (2014). Ectomycorrhizas with *Paxillus involutus* enhance cadmium uptake and tolerance in *Populus × canescens*. *Plant Cell Environ* **37**, 627–642.
- Miao R, Wang M, Yuan W, Ren Y, Li Y, Zhang N, Zhang J, Kronzucker HJ, Xu W (2018). Comparative analysis of Arabidopsis ecotypes reveals a role for brassinosteroids in root hydrotropism. *Plant Physiol* **176**, 2720–2736.
- Salata V (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotech* **2**, 3.
- Shi W, Zhang Y, Chen S, Polle A, Rennenberg H, Luo ZB (2019). Physiological and molecular mechanisms of heavy metal accumulation in nonmycorrhizal versus mycorrhizal plants. *Plant Cell Environ* **42**, 1087–1103.
- Wa JP, Wang RL, Bai, HR, Wang YB, Xu J (2020). Comparative physiological and metabolomics analysis reveals that single-walled carbon nanohorns and ZnO nanoparticles affect salt tolerance in *Sophora alopecuroides*. *Environ Sci: Nano* **7**, 2968.
- Xu F, Liao H, Zhang Y, Yao M, Liu J, Sun L, Zhang X, Yang J, Wang K, Wang X, Ding Y, Liu C, Rensing C, Zhang J, Yeh K, Xu W (2022). Coordination of root auxin with the fungus *Piriformospora indica* and bacterium *Bacillus cereus* enhances rice rhizosheath formation under soil drying. *ISME J* **16**, 801–811.
- Liu BH, Zhang JH, Ye NH (2022). Noninvasive micro-test technology: monitoring ion and molecular flow in plants. *Trends Plant Sci* 10.1016/j.tplants.2022.10.008
- Yoshida T, Christmann A, Yamaguchi-Shinozaki K, Grill E, Fernie AR (2019). Revisiting the basal role of ABA - roles outside of stress. *Trends Plant Sci* **24**, 625–635.
- Zhang MX, Bai R, Nan M, Ren W, Wang CM, Shabala S, Zhang JL (2022). Evaluation of salt tolerance of oat cultivars and the mechanism of adaptation to salinity. *J Plant Physiol* **273**, 153708.
- Zhang Y, Du H, Xu F, Ding Y, Gui Y, Zhang J, Xu W (2020). Root-bacteria associations boost rhizosheath formation in moderately dry soil through ethylene responses. *Plant Physiol* **183**, 780–792.
- Zhang Z, Fu D, Sun Z, Ju C, Miao C, Wang Z, Xie D, Ma L, Gong Z, Wang C (2021). Tonoplast-associated calcium signaling regulates manganese homeostasis in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **14**, 805–819.
- Zhao FJ, Tang Z, Song JJ, Huang XY, Wang P (2021). Toxic metals and metalloids: uptake,

transport, detoxification, phytoremediation and crop improvement for safer food. *Mol Plant* 15, 27–44.

Zhao L, Bai T, Wei H, Gardea-Torresdey JL, Keller A, White JC (2022). Nanobiotechnology-based strategies for enhanced crop stress resilience. *Nat Food* 3, 829–836.

Zhao L, Lu L, Wang A, Zhang H, Huang M, Wu H, Xing B, Wang Z, Ji R (2020). Nanobiotechnology in agriculture: use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. *J Agric Food Chem* 68, 1935–1947.

（责任编辑：李雪霏）