

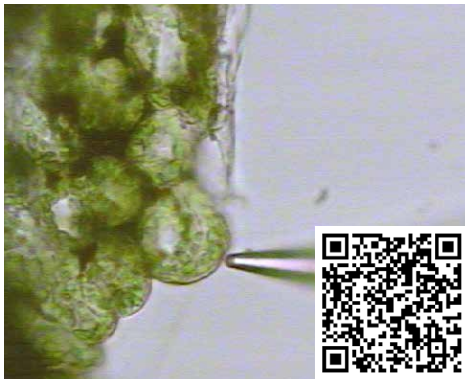
## 水旱胁迫与非损伤微测技术 (NMT) 科研结合点

### 一、摘要

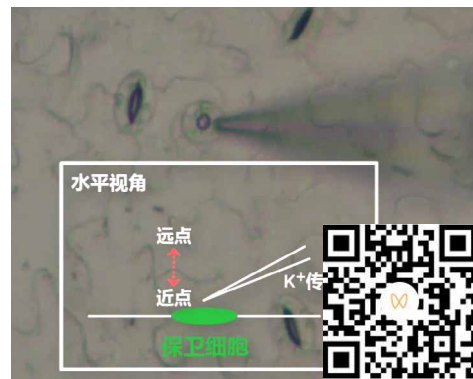
- 1、定量检测干旱胁迫下根  $H^+$ -ATPase 的抑制度 ( $H^+$  转运速率)，为揭示耐旱机制提供证据
- 2、定量检测干旱胁迫下植物根、叶肉调节  $K^+$  稳态的能力
- 3、定量检测干旱胁迫下跨膜  $Ca^{2+}$  流，揭示  $Ca^{2+}$  信号参与 ABA 等信号转导途径的机制
- 4、定量检测水淹胁迫下跨膜  $Ca^{2+}$  流，揭示 CBL 等调节  $Ca^{2+}$  信号的机制
- 5、定量检测干旱胁迫下 ROS ( $H_2O_2$ ) 的跨膜转运速率
- 6、气孔相关研究 (详见“保卫细胞与非损伤微测技术科研结合点”)

### 样品检测视频

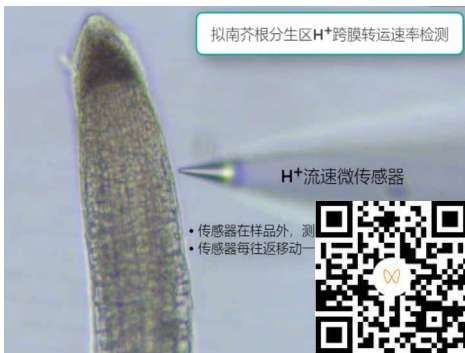
叶肉



保卫细胞



根



扫码查看水旱胁迫文献专辑





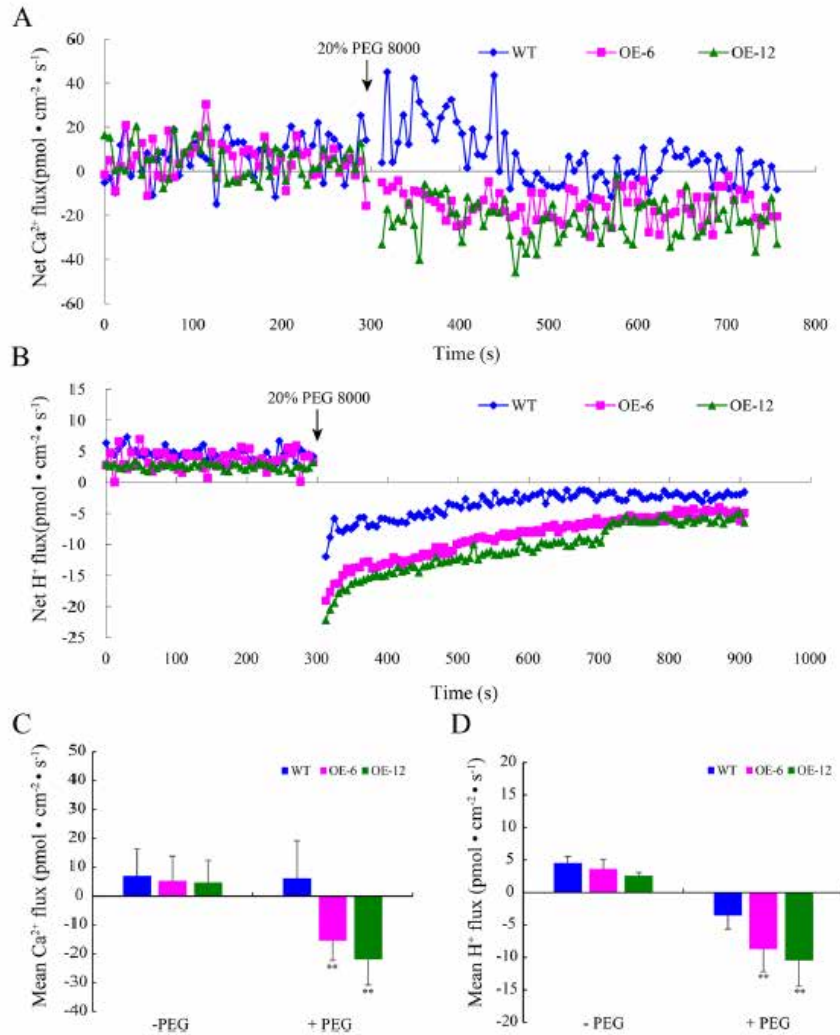
测样咨询

## 二、应用案例

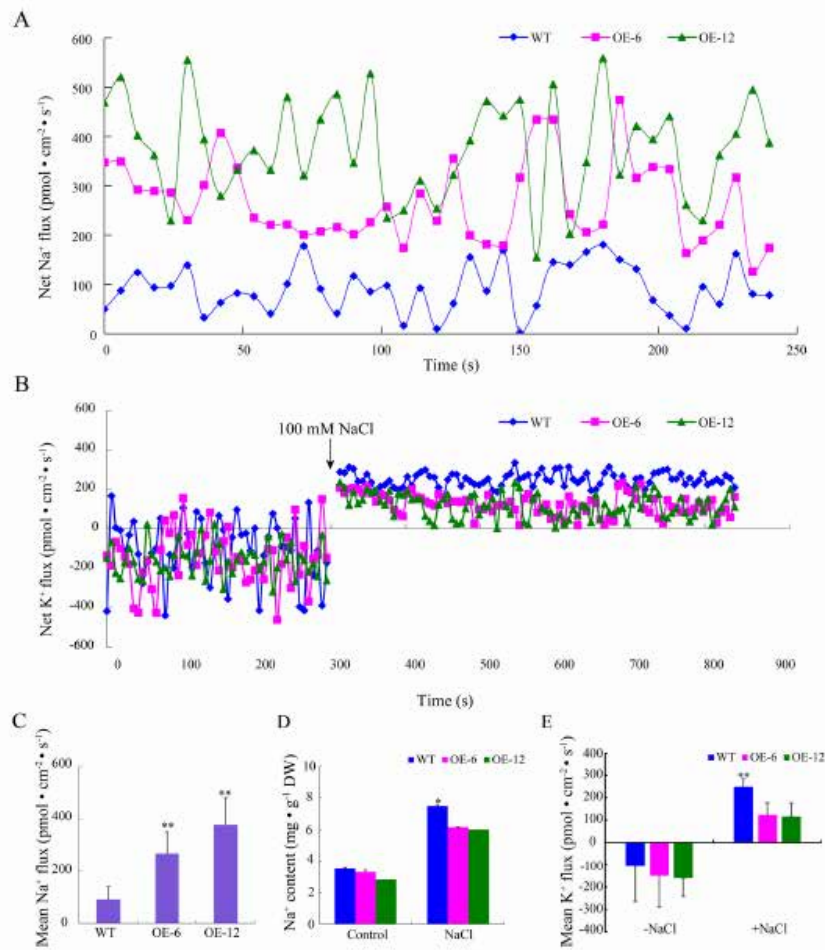
### 1、*Ind Crop Prod* 海大 & 广东海大：NMT 从 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ 流角度为探究石斛 CIPK24 促耐盐旱机制提供证据

通讯作者：海南大学周扬、江行玉

所用 NMT 设备：人工智能全自动非损伤微测系统



图注. 为了探究探讨干旱胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  是否介导根系信号转导, 研究使用非损伤微测技术 (NMT) 检测了胁迫前后拟南芥根部净  $\text{Ca}^{2+}$  流速的变化。结果表明, 在正常条件下, 野生型拟南芥和转基因拟南芥均表现出一定的  $\text{Ca}^{2+}$  外排。在干旱胁迫下, 转基因植株与野生型植株根部  $\text{Ca}^{2+}$  通量方向和幅度存在显著差异。在干旱胁迫下, 野生型植株的根部仍然表现出  $\text{Ca}^{2+}$  外排, 而 OE-6 和 OE-12 的根部, 表现出  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 净流速分别为 -15.40 和 -21.88。研究继续检测了转基因拟南芥和野生型拟南芥根部成熟区在干旱胁迫下的  $\text{H}^+$  流速动力学。结果表明, PEG 胁迫瞬时处理导致  $\text{H}^+$  由显著外排向显著内流变化, 表明 PM  $\text{H}^+$ -ATP 酶活性的激活。在 10 min 试验中, 两个转基因株系 (OE6 和 OE12) 的平均  $\text{H}^+$  净流速分别为 -8.74 和 -10.48, 分别比野生型拟南芥高 145.20% 和 194.23%。



图注. 研究进一步用非损伤微测技术(NMT)检测了盐胁迫前后拟南芥根部净Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>流速的变化。盐胁迫24 h后, 野生型和转基因拟南芥根部的Na<sup>+</sup>均呈现出外排趋势。在盐胁迫下, 转基因株系中Na<sup>+</sup>的平均净外排高于野生型植株, 转基因根系(OE6和OE12)中的Na<sup>+</sup>净外排分别提高了191.49%和312.89%。正常条件下, 转基因植株与野生型植株Na<sup>+</sup>含量无显著差异; 盐胁迫下, 所有植株Na<sup>+</sup>含量均增加, 而转基因拟南芥Na<sup>+</sup>含量显著低于野生型植株。此外, 在处理前, 野生型和转基因拟南芥根部均观察到K<sup>+</sup>的吸收, 野生型和转基因根系(OE6和OE12)5 min内平均净流速分别为-104.95、-147.90和-158.47, 无显著差异。当诱导盐胁迫时, 所有被测根部均观察到K<sup>+</sup>外排。转基因植株(OE6和OE12)根部的平均净K<sup>+</sup>外排率分别为123.74和116.32, 分别为盐胁迫下野生型植株根部的49.65%和46.67%。



扫码查看本文详细报道

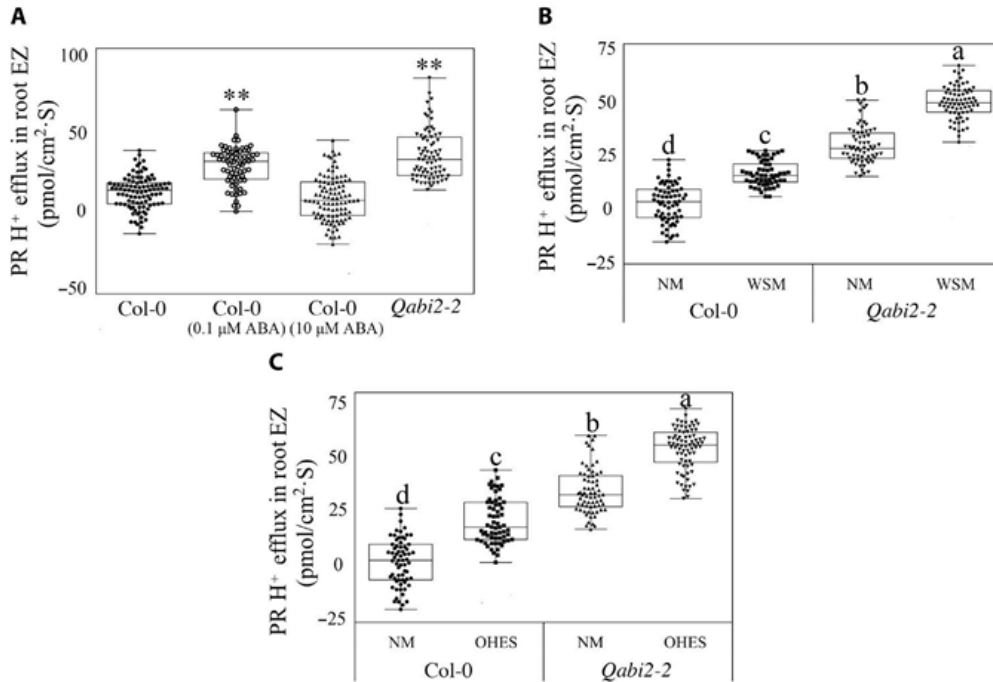


测样咨询

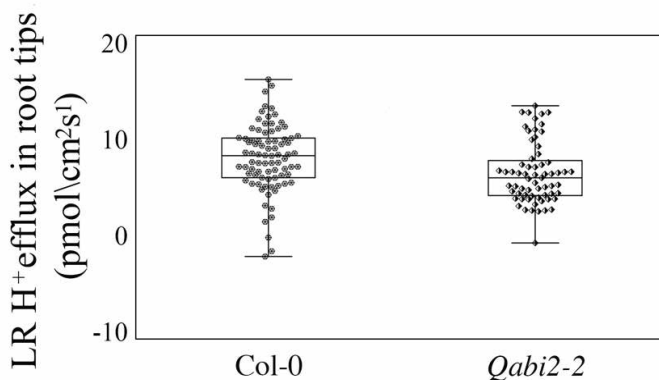
## 2、*Sci Adv* 福建农林许卫锋：NMT 发现低浓度 ABA 促进质子分泌是根系响应水分胁迫和向水性的关键机制

通讯作者：福建农林大学许卫锋

所用 NMT 设备：非损伤微测系统（平台版）



图注. 为了解释为什么 *Qabi2-2* 植株表现出增强的主根生长和向水响应, 研究使用非损伤微测技术 (NMT) 测定了 WT 和 *Qabi2-2* 幼苗在正常培养基、水分胁迫培养基和倾斜向水实验系统下主根伸长区的根表 H<sup>+</sup> 外排情况。在正常培养基中, 萌发后 10 天 (10 dag) *Qabi2-2* 幼苗的主根伸长区 H<sup>+</sup> 外排显著高于 WT (A)。与之相反, 在添加 0.1 μM ABA 的培养基中, *Qabi2-2* 幼苗的 H<sup>+</sup> 外排水平与 WT 相似, 而 10 μM ABA 强烈抑制了 WT 的 H<sup>+</sup> 外排 (A)。WT 和 *Qabi2-2* 幼苗在水分胁迫和倾斜向水实验系统中表现出显著高于正常培养基的主根 H<sup>+</sup> 外排, 表明水分胁迫促进了主根非原质体 H<sup>+</sup> 外排 (B, C)。



图注. *Qabi2-2* 幼苗侧根根表 H<sup>+</sup> 外排速率与 WT 无显著差异。表明 *Qabi2-2* 对拟南芥主根伸长和侧根发育有不同的机制。

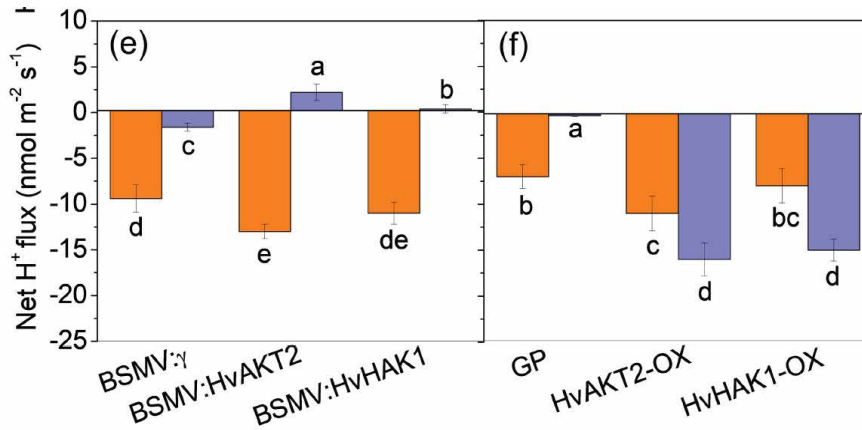


扫码查看本文详细报道

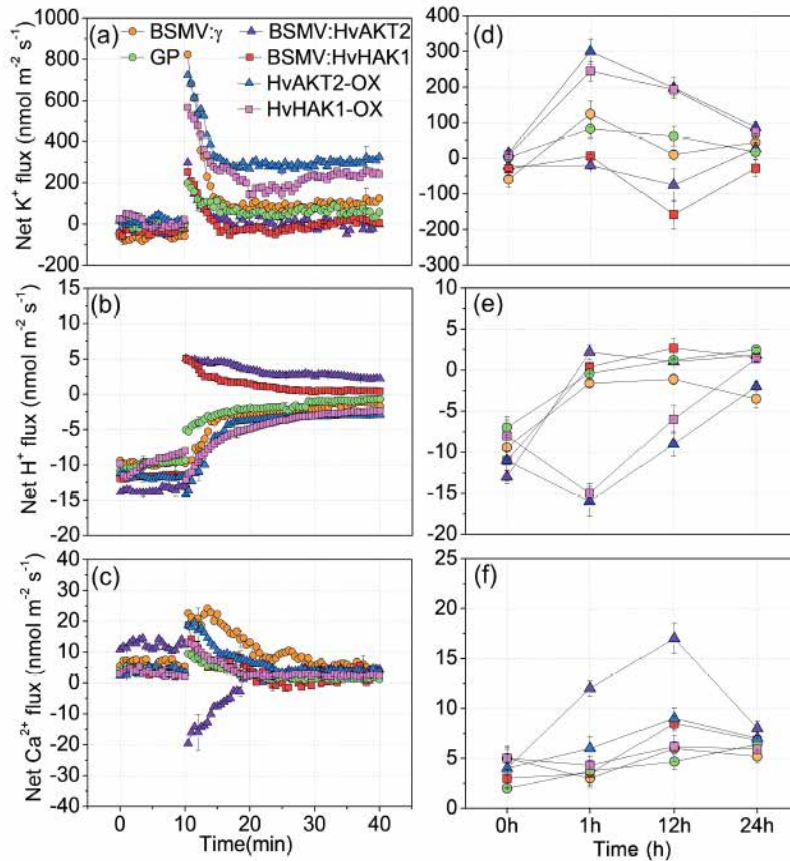
### 3、Plant Biotechnol J 浙大陈仲华、邬飞波：HvAKT2 和 HvHAK1 通过增强叶肉 H<sup>+</sup> 稳态提升耐旱能力

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：非损伤微测技术科研平台



图注. 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<sup>+</sup> 由外排向内流转变 (e)。相反, 与 Golden Promise 相比, HvAKT2 和 HvHAK1 过表达则显著增加了叶肉对干旱胁迫的响应 (f)。





测样咨询

图注. 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  $H^+$  内流 (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  $K^+$  内流速率比 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  $K^+$  内流速率 ( $70\sim 80\text{ nmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) 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)。

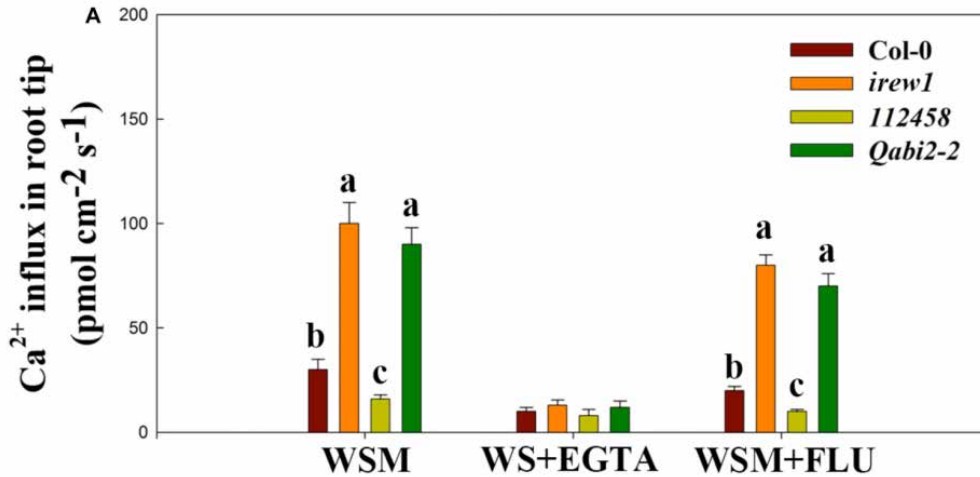


扫码查看本文详细报道

#### 4、*Front Plant Sci* 福建农林许卫锋：根系吸 $\text{Ca}^{2+}$ 对水胁迫下的根系伸长至关重要

通讯作者：福建农林大学苗锐、许卫锋；香港中文大学张建华

所用 NMT 设备：非损伤微测系统（平台版）



图注. 在 WSM 条件下, *irew1* 和 *Qabi2-2* 的  $\text{Ca}^{2+}$  内流显著高于 *Col-0* 和 112458。虽然在 WSM+10 mM EGTA 处理下,  $\text{Ca}^{2+}$  内流急剧减少, 但在 WSM+10 mM FLU 处理下,  $\text{Ca}^{2+}$  内流减少的较少, 表明 ABA 对 WSM 下的  $\text{Ca}^{2+}$  内流没有太大影响。



扫码查看本文详细报道

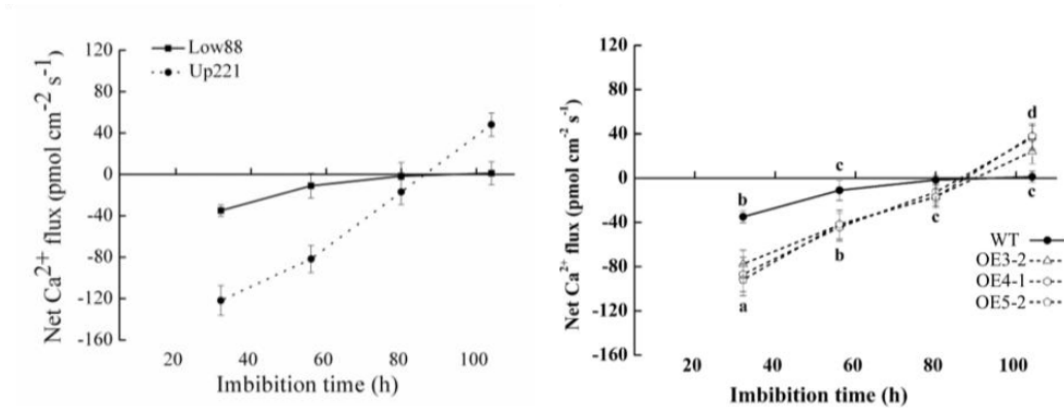


测样咨询

## 5、*Plant J* 港中大张建华、山东农大刘鹰高：水稻 OsCBL10 启动子天然变异影响种子萌发期的耐淹性

通讯作者：香港中文大学张建华；山东农业大学刘鹰高

所用 NMT 设备：NMT 活体生理检测仪<sup>®</sup>（Physiolyzer<sup>®</sup>）



图注. 利用 NMT 技术检测了两个水稻栽培品种 Low88 和 Up221 胚芽鞘以及距离胚芽鞘尖端不同距离部位的 Ca<sup>2+</sup> 流速, 结果显示两个品种直接的 Ca<sup>2+</sup> 流速存在差异



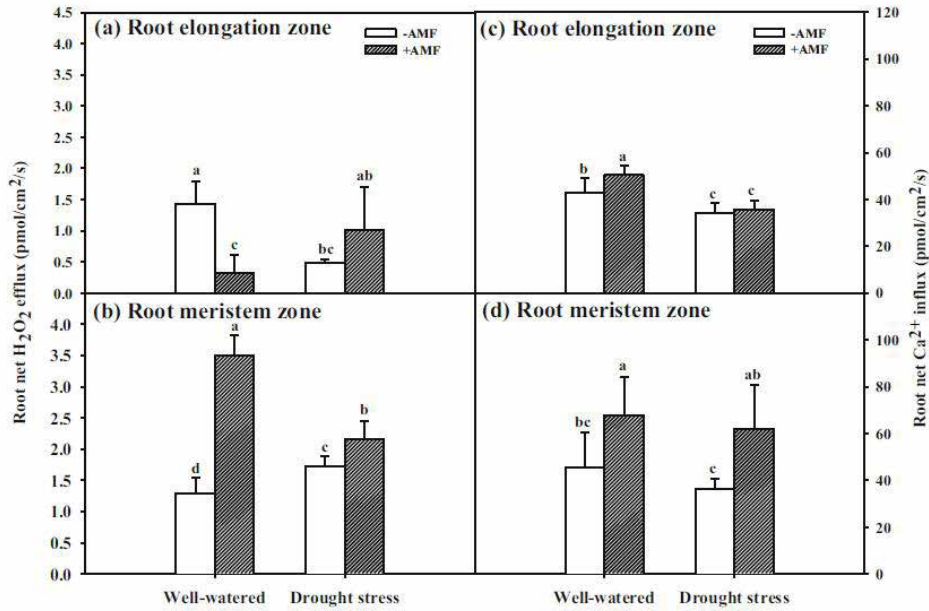
扫码查看本文详细报道



## 6、*Mycorrhiza* 长江大学吴强盛组：共生菌根调节寄主根部 $H_2O_2$ 与 $Ca^{2+}$ 流以抵御干旱

通讯作者：长江大学吴强盛

所用 NMT 设备：荧光非损伤微测系统



图注. 检测了接种与未接种丛枝菌根的枳受到干旱胁迫时根部  $Ca^{2+}$  与  $H_2O_2$  流速状况。检测结果显示有菌根枳根部产生明显的  $H_2O_2$  外排与  $Ca^{2+}$  的吸收，两者呈正相关关系，且  $H_2O_2$  外排越强根部的  $H_2O_2$  浓度越低，说明根部  $H_2O_2$  浓度的下降主要是其外排引起的。同时，伸长区的  $H_2O_2$  外排趋势较分生区弱。



扫码查看本文详细报道