



植物响应盐胁迫组学研究进展

李焕勇^{1,2}, 杨秀艳^{1,2}, 唐晓倩^{1,2}, 张华新^{1*}

(1 国家林业局盐碱地研究中心, 北京 100091; 2 林木遗传育种国家重点实验室, 北京 100091)

摘 要: 盐胁迫对植物生长的影响主要表现在离子毒害、渗透胁迫以及次级氧化胁迫等, 植物遭受盐胁迫时迅速启动相关基因, 进行转录调控, 进而合成相应蛋白质来控制代谢物合成和离子转运以调节渗透平衡。随着现代分子生物学迅速发展, 对植物耐盐机理研究也深入到了转录组、蛋白质组、代谢组及离子组等水平, “组学”研究为耐盐基因鉴定及标志性代谢物的挖掘等提供了有力手段。该文对近年来国内外有关转录组学、蛋白质组学、代谢组学、离子组学的主要研究方法以及在盐胁迫中的应用研究进展进行综述, 以揭示植物耐盐机理, 为优良耐盐碱植物的筛选与培育提供支持。

关键词: 盐胁迫; 转录组学; 蛋白质组学; 代谢组学; 离子组学

中图分类号: Q945.78; Q946.92; Q789 **文献标志码:** A

Omics Research Progress of Plants under Salt Stress

LI Huanyong^{1,2}, YANG Xiuyan^{1,2}, TANG Xiaoqian^{1,2}, ZHANG Huaxin^{1*}

(1 Research Center of Saline and Alkali Land of State Forestry Administration, Beijing 100091, China; 2 State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Beijing 100091, China)

Abstract: The effects of salt stress on plant growth were mainly caused by ion toxicity, osmotic stress and secondary oxidative stress. The expression of the related gene activated rapidly and carried out transcriptional regulation, then the corresponding protein is synthesized to control metabolite synthesis and ion transport to regulate the osmotic balance when plants under salt stress. With the rapid development of modern molecular biology, the study of salt tolerance mechanism of plants under salt stress has also deepened to the level of transcriptome, proteome, metabolome and ionome. The “omics” research of plants under salt stress provided a powerful tool for salt tolerance gene identification and the mining of iconic metabolites. This paper mainly summarized the methods and the application of transcriptomics, proteomics, metabolomics and ionomics under salt stress. The mechanism of salt tolerance was revealed, which provided a support for the selection and cultivation of excellent salt-tolerance plants. It also has an important theoretical and practical value.

Key words: salt stress; transcriptomics; proteomics; metabolomics; ionomics

土壤盐渍化已成为全球重大资源与环境问题, 盐渍土分布影响了植物在自然界中的地理分布, 限制了植物的生产力, 同时威胁粮食安全^[1]。据统计, 全世界盐碱地总面积已超过 $9.54 \times 10^8 \text{ hm}^2$ ^[2], 且每年以 $1 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^6 \text{ hm}^2$ 的速度增长^[3]。中国各

类盐碱土总面积约为 $9.9 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 约占中国总面积的 10.3%, 主要分布在东北、西北、华北内陆以及沿海地区等^[4]。广袤的盐渍土为中国重要土地资源, 合理开发及利用盐碱地, 对中国农业生产以及生态可持续发展等具有重要意义。

收稿日期: 2016-11-09; 修改稿收到日期: 2016-12-06

基金项目: “十二五”科技支撑计划(2015BAD07B0102)

作者简介: 李焕勇(1987—), 男, 在读博士生, 主要从事耐盐碱植物育种研究。E-mail: huanyong0913@163.com

* 通信作者: 张华新, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事耐盐碱植物遗传育种方面的研究。E-mail: zhanghx1998@126.com

一定浓度盐分对植物会造成离子毒害、渗透胁迫与次级氧化胁迫等,在长期进化及环境适应过程中,植物形成了一系列响应盐胁迫的生理及分子机制,主要包括通过离子转运及区隔化维持离子平衡、渗透调节物质及代谢物的形成维持渗透平衡、抗氧化酶积累及活力提高抵抗氧化胁迫、信号转导因子及盐胁迫相关基因的调节等^[5-7]。

植物对盐胁迫响应为一个复杂生理过程,为应对盐胁迫所造成的伤害,在遭受胁迫时首先会在基因表达水平做出迅速反应,继而进行不同转录调控,由转录后 RNA 控制相应蛋白的合成,最后控制代谢物合成来调节植物体代谢平衡。随着现代分子生物学的迅速发展,对植物耐盐性研究也深入到了基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学及离子组学等水平。利用“组学”技术研究植物对盐胁迫的响应,可更全面揭示植物耐盐机理,并为耐盐基因鉴定、标志性代谢物及代谢通路挖掘等提供有力手段^[8-9],同时为优良耐盐碱植物筛选与培育提供支持,具有重要的理论和应用价值。

1 转录组学研究

1.1 转录组学主要研究内容

转录组指所有 RNA 在某特定组织或细胞中表达及转录调控情况,作为研究生物体功能的核心手段可以从全基因组水平分析盐胁迫下基因的响应变化^[9]。在不同浓度或时间盐胁迫下,转录组数据包含了不同处理的差异基因数量以及相关表达情况。通过研究胁迫后植物转录组学,可以明确生物体在胁迫后基因表达情况、发生的结构变异以及是否有新基因出现等。

1.2 转录组学主要研究方法

转录组学研究方法有多种,而高通量测序技术具有花费少、便捷及测序数据量大等优点被广泛应用于基因表达差异分析^[10-11]。转录组学主要研究技术有:基于杂交技术的 cDNA 芯片技术和寡聚核苷酸技术等、基于测序技术的 Sanger 测序和 EST 文库测序等及基于新一代高通量测序技术的 RNA-Seq 等。传统基因芯片技术广泛应用于基因鉴定、差异基因筛选、非编码 RNA 与 DNA 的修饰以及 SNP 鉴定等方面^[11-15]。但该技术存在灵敏度低、需要已知序列信息等问题,对低丰度基因植物及无参考基因组物种的研究存在限制^[16]。高通量测序技术在近年来发展迅速,转录组学研究技术也在不断更新,RNA-Seq 技术因具有通量高、灵敏度高、分辨

率高等诸多优势而广泛应用于植物抗逆研究中。

1.3 盐胁迫下转录组学应用研究

RNA-Seq 技术已应用于多种植物的转录组测序中,例如油菜(*Brassica campestris* L.)、水稻(*Oryza latifolia* Desv.)、大麦(*Hordeum vulgare* L.)、锦鸡儿[*Caragana sinica* (Buchoz) Rehd.]等^[17-20]。通过对盐胁迫下转录组学分析,发现了许多与次生代谢、信号转导转录等相关的耐盐基因。植物在逆境条件下转录水平发生变化,主要有两类基因参与逆境胁迫响应:一类基因主要编码控制代谢物形成相关蛋白,维持代谢及渗透平衡;另一类为编码与信号受体及转导相关蛋白基因,确保植物体内正常信号转导^[21]。

对盐胁迫后大麦转录组学数据分析发现,胁迫诱导了大量基因的表达,其中以脯氨酸合成酶基因和叶绿素结合蛋白相关基因表达量丰富^[22]。对盐胁迫后棉花(*Gossypium* spp)、大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.]、苜蓿(*Medicago sativa* L.)、大麦等植物转录组学进行分析,发现与次生代谢物及激素合成运输、氮吸收、活性氧(ROS)清除、电子转运与交换、等离子体膜稳定以及信号转导通路等有关基因发生了差异表达^[23-26]。Zhou 等^[27]研究野生型水稻(*Oryza rufipogon* Griff.)与栽培稻(*Oryza sativa* L.)在盐胁迫下叶与根转录组学变化,测序数据中发现叶片与根部分别约有 6 867 与 4 988 个转录本存在差异表达,野生型水稻中发现了响应盐胁迫的分子机制,许多转录因子参与盐胁迫后多个代谢调控途径,为耐盐性水稻的培育提供了克隆基因及阐明了水稻响应盐胁迫的分子机制。

植物在不同胁迫条件下表现出的响应也不同,通过对其转录组分析可以得到许多与特定胁迫(如盐胁迫、温度胁迫、水分及干旱胁迫等)相关的差异表达基因,明确相关胁迫耐受机制,为研究植物抗逆分子机制以及抗逆品种培育奠定基础。

2 蛋白质组学研究

2.1 蛋白质组学主要研究内容

生物体内遗传信息按照中心法则(DNA-mRNA-蛋白质)完成转录和翻译过程,整个生物过程存在转录与转录后调控、翻译与翻译后调控四个方式调控,生物体内蛋白表达水平并不能用转录后 mRNA 的含量来衡量^[28-30]。蛋白质是基因翻译后的第一产物,作为生命活动重要执行者直接表现生物体的生命活动规律,因此全面研究生物体内蛋白质变

化可以进一步解释基因表达情况。在 20 世纪 90 年代 Wasinger 等^[31]将对基因产物研究的成果发表于 *Electrophoresis* 杂志,并提出蛋白质组。随着各国科学家对蛋白质组的深入认识,将其研究主要集中在蛋白质表达情况、翻译后的修饰、蛋白与蛋白之间的互作等,使对生命科学研究步入后基因组时代。蛋白质组学研究主要集中于不同种类蛋白质的分离、蛋白质的鉴定、生物信息学分析等 3 个方面。

2.2 蛋白质组学主要研究方法

蛋白质组学研究的前提是尽可能完全提取与分离组织及细胞中所有蛋白质,蛋白质分离为组学研究的核心技术^[32]。蛋白质分离分析技术主要有基于凝胶电泳分离技术体系及基于液相色谱分离技术体系两大类,对蛋白质的表达、定量研究均依照上述两类方法^[33]。蛋白质差异分离最常用方法为 20 世纪 70 年代产生的双向凝胶电泳技术^[34],该技术主要依据蛋白质具有不同等电点及分子量的特点,利用等电聚焦将相同分子量或等电点的蛋白质聚集在某一相同位置,利用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)将所有蛋白质中具有相同分子量的蛋白分布于二维平面上,但该技术存在重复性差、大分子及疏水性蛋白难以分离鉴定等问题^[35-36]。荧光差异双向电泳(2D-DIGE)技术可以利用荧光染料将蛋白质标记,使不同蛋白质在同一胶块上能够被分离和鉴别,可以提高实验的精确度及可重复性^[37-38]。随着科技的发展,色谱技术逐渐发展成熟,液相色谱(LC)逐渐成为蛋白分离技术的一种常用方法,常用的主要有二维液相色谱(2D-LC)、二维毛细管电泳(2D-CE)、多维液相色谱(MDLC)以及双向高效液相层析(2D-HPLC)等,色谱与质谱技术联用已应用于蛋白质的动态分析中。

蛋白质分离后鉴定技术主要有 Edman 降解法、氨基酸组成分析法以及质谱技术等,质谱技术与传统鉴定技术相比具有灵敏度高、准确性好、高通量以及自动化等优点,而成为蛋白质组学的重要技术手段^[39]。常用质谱技术主要有多维蛋白质鉴定技术(MudPIT),指将蛋白消化得到的肽段,上样于强阳离子交换柱,洗脱到反向色谱柱上,利用洗脱液洗脱反向色谱柱,对洗脱液直接用质谱进行解析;同位素编码亲和和标签技术(iCAT),通过 iCAT 试剂标记,然后蛋白酶切,进行亲和色谱分离、质谱鉴定,可以对差异蛋白定性、定量分析;同位素同重标签定量技术(iTRAQ),利用 iTRAQ 试剂与氨基酸 N 端及赖氨酸侧链链接的胺标记同重元素的特性,分离后同

时对多种样品绝对和相对定量^[40-43]。

利用生物信息学对蛋白质组学高通量数据分析,得到蛋白质相应生物学信息,根据蛋白质数据库进行蛋白质结构和功能预测,可说明蛋白质的特殊空间构象及生物学意义,目前常见的蛋白质数据库有 Swiss-PROT、SMART、PDB、HSSP、EMBL、CIT-TH、NCBI 等^[44]。通过生物信息学利用数学及计算机进行大数据处理,对不同数据比对分析,确定蛋白质在生物体内生物学功能及所控制的生物学反应,从而更系统认识蛋白质在生命活动中的意义。

2.3 盐胁迫下蛋白质组学应用研究

逆境胁迫下植物体内蛋白质的种类和数量会发生相应变化,因此对盐胁迫后植物蛋白质组学研究可以了解胁迫对植物造成的伤害原理及植物对高盐环境的适应机制。近年来,人们已对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻、小麦(*Triticum aestivum* L.)、玉米(*Zea mays* L.)、大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.)等甜土植物^[45-50]以及碱蓬(*Suaeda glauca* (Bunge) Bunge)、盐角草(*Salicornia europaea* L.)、盐芥(*Thellungiella salsuginea*)等盐生植物^[51-53]的不同组织及器官蛋白质组学进行分析研究,共整合出盐胁迫下表达模式发生改变的约 1 429 种蛋白质,总结了其对于盐胁迫的应答机制^[54]。

盐胁迫影响作物产量与胁迫条件下光合作用降低密切相关,在盐胁迫时水稻、小麦等作物的光合碳固定蛋白酶、光系统Ⅱ复合蛋白及光修复蛋白等发生差异表达,影响光合作用及作物产量^[55-56]。同时水稻在短时间胁迫内,UDP-果糖-焦磷酸化酶、Rubisco 活化酶等参与能量代谢及蛋白质加工相关过程酶的表达也受到影响^[57-58]。同时 Askari 等^[59]对盐生植物碱蓬在盐胁迫后蛋白质组学研究也发现盐胁迫诱导的与碳水化合物及能量代谢有关的蛋白质减少。

植物抗氧化系统在盐胁迫时会诱导抗氧化相关蛋白表达,对抵抗盐胁迫发挥重要作用。拟南芥、水稻在盐胁迫时与超氧化物歧化酶(SOD)活性有关的萌发素类蛋白及抗坏血酸过氧化物酶等表达丰富^[60-61]。对盐胁迫下 2 种不同耐盐型大麦蛋白质组研究也发现,耐盐性强大麦根系中与活性氧清除有关的蛋白积累较多^[62]。

渗透调节是植物适应盐胁迫发生的重要生理反应,为维持离子平衡,盐胁迫时渗透蛋白、环腺苷酸门控离子通道(CNGC)、ABC 转运蛋白以及 H⁺-ATP 酶等蛋白发生特异表达^[60,63-64]。

植物耐盐性受多基因网络共同调控,在生长过程中各种信号传导通路及代谢网络相互交错关联。高通量蛋白质组学可以研究植物响应盐胁迫时代谢调控以及信号调控等相关蛋白的变化,为揭示植物响应盐胁迫下蛋白变化及整体耐盐机制提供技术支持。

3 代谢组学研究

3.1 代谢组学研究内容

随着基因组学发展,大量生物基因组测序的完成使生命科学研究领域步入了后基因组时代。生物体基因组信息丰富,但部分散碎基因信息使对生物体认识缺乏系统性,而代谢产物作为基因转录与蛋白修饰的最终产物,隶属特定代谢通路,因此构建完整代谢通路及挖掘相关基因信息有助于对生物体全面认识。20 世纪 80 年代,Nicholson 研究组利用核磁共振(NMR)技术分析了大鼠的尿液,研究了在病理以及遗传修饰条件下细胞或组织在生物体内代谢物变化,为疾病诊断及治疗提供了依据,并在 1999 年首次提出了代谢组学概念^[65]。

代谢组学研究主要集中于分子量小于 1 000 的代谢物在生物体、组织或细胞中的定性或定量,Fiehn 等^[66]根据研究目标及意图不同将代谢物分析分为 4 个层面:(1)代谢物靶向分析,主要针对某个或某几个特定组分代谢物的分析。(2)代谢轮廓分析,主要针对特定代谢物及特定代谢途径中相关代谢物的定性定量分析。(3)代谢组学,主要针对某一限定条件下特定生物样品中所有代谢物的定性定量分析。(4)代谢指纹分析,不分离鉴定具体单一组分,通过比较代谢图谱对样品进行快速分类(如表型快速鉴定)。

3.2 代谢组学主要研究方法

植物体内代谢产物种类繁多,而且理化性质不同,单一检测方法不能检测出所有代谢物,因此实际操作中经常采用多种分离、检测方法获取尽可能全面的代谢物信息。代谢组学分析平台主要有:核磁共振(NMR)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)、气相色谱(GC)、液相色谱(LC)、质谱(MS)等,目前核磁共振(NMR)和色谱-质谱联用(GC-MS、LC-MS)技术研究比较深入,而且应用最为广泛。

核磁共振(NMR)技术为代谢组研究中应用最早及最普遍的技术之一^[67-68],该技术具有无损伤、无偏性等优点,但检测灵敏度及分辨率较低,无法检测丰度较低代谢物;检测范围有限,对浓度差较大的代谢物无法检测^[69-70]。高场强核磁共振及超低温

探头技术使核磁共振技术的分辨率和灵敏度显著提高,使此技术在代谢物的检测中应用更加广泛^[71]。气相色谱-质谱(GC-MS)技术分析主要针对极性低、沸点低、能够气化的小分子化合物,具有较高的分离效率,同时灵敏度和分辨率都高,可准确进行代谢物的定性与定量,成为代谢组学研究应用最广泛的手段之一^[72-73]。液相色谱-质谱(LC-MS)主要针对对于稳定性差,不易挥发等代谢物的检测,前期处理不需衍生化,检测灵敏度高,动态范围广,能够检测各种极性非极性代谢物^[74]。傅里叶变换红外光谱(FTIR)主要根据对物质的红外吸收频率及强度提供精确数据,通过对数据分析处理,得到代谢物的相对分子质量以及分子结构等,可以对代谢物进行定性定量分析。

代谢物的定性、定量信息主要指表现在谱图上的峰信号,其定性信息主要表现为特征谱图与色谱保留信息等;而定量信息主要表现为色谱响应强度(如峰高、峰面积等)^[75]。代谢组学常用数据分析模式主要有两类:没有外部指导探索完全未知数据性质的无监督分析法(Un-supervised Method)^[76-77],主要有主成分分析(PCA)、聚类分析(CA)、典型相关分析(CCA)等^[69,78];存在先验或假设条件,在其基础上进行辨识、归类和预测的有监督分析法(Supervised Method),主要有线性判别分析(LDA)、偏最小二乘法显著性分析(PLS-DA)、人工神经网络分析(ANN)等^[79-80]。

3.3 盐胁迫下代谢组学应用研究

代谢物是生物体在不同生理生态条件下代谢水平的体现,植物处于逆境条件时,如盐碱、高温、低温、干旱等,植物体会在分子、细胞以及生理水平上进行自身调节,以适应不利于生长发育的外界环境^[81]。在逆境条件尤其是盐胁迫条件下,植物在适应高盐胁迫过程中会产生大量初级、次级代谢产物,利用代谢组学方法研究胁迫下产生的代谢物变化有利于对抗逆机制系统认识。

Johnson 等^[82]利用 FT-IR 技术分析了盐胁迫下两种不同敏感型番茄(*Solanum lycopersicum*)体内代谢物变化情况,并用 PCA 与 DFA 两种方法进行了数据分析,发现饱和及不饱和腈类化合物、氰类化合物、含氮化合物以及含有明显 NH₂ 自由基峰的化合物等与盐胁迫响应有关。

对模式植物拟南芥和盐芥代谢组学研究主要采用 GC-MS 及生物芯片技术分析 2 种植物中代谢物差异。盐芥在盐胁迫及对照条件下均表现出较高代

谢物水平,而拟南芥在 150 mmol/L NaCl 条件下,葡萄糖与脯氨酸等含量明显增加。盐芥由于自身耐盐性不仅在诱导前具有丰富的代谢物,在诱导后糖类、糖醇与有机酸等含量也具有明显变化,表现出更加复杂的代谢应答机制^[83]。Kim 等^[84]对拟南芥细胞进行了盐胁迫代谢组学研究,利用 GC-MS 与 LC-MS 技术对盐胁迫后不同时间取样的拟南芥细胞进行检测分析,结果表明随处理时间的不同对盐胁迫响应的代谢也存在差异,短时间胁迫处理时与甲基化循环、木质素产生的本丙烷途径及甜菜碱生物合成途径等响应积极,而糖酵解、蔗糖代谢的联合诱导及甲基化共还原为对盐胁迫长期诱导的反应。

不同基因型大麦在盐胁迫下代谢物变化也存在差异,在根部 TCA 循环以及糖的转运活动增强,而叶部的糖酵解及氨基酸合成途径活动明显增强,磷酸己糖、TCA 循环的中间体及参与细胞保护相关的代谢物在耐盐品种中增加明显^[85-86]。同时不同基因型水稻(IR64 和 PL177)在盐胁迫下代谢物变化也存在差异且表现出器官特异性,而 PL177 植株叶部的与脂肪酸代谢、细胞壁重塑过程等有关基因明显上调^[18]。

本研究组利用 GC-TOF-MS 技术和多元统计分析的方法研究了不同 NaCl 胁迫处理的唐古特白刺(*Nitraria tangutorum* Bobr.)悬浮细胞代谢组学,对不同盐浓度下细胞代谢图谱进行比较,共筛选出 25 种与盐胁迫有关的标志性代谢物,主要包括糖类(果糖、半乳糖和葡萄糖等)、氨基酸类(脯氨酸、丙氨酸和缬氨酸等)及不饱和脂肪酸(十八碳烯酸、亚麻酸和十六烷酸等)。随着盐浓度的增加,细胞内脯氨酸、丙氨酸、已二胺等含量增加明显,乙酰胺、十二烷等的含量呈现降低趋势,而大部分代谢物含量在 100 mmol/L 时呈最高或最低状态。通过对盐胁迫下悬浮细胞代谢物的筛选,从代谢组学水平上揭示了唐古特白刺适应盐胁迫机制^[87]。

目前已发现许多与逆境胁迫相关代谢物,如葡萄糖、脯氨酸、类黄酮、酚胺、硫代糖苷和多胺等在植物抗逆调控中发挥重要作用^[88-94]。对逆境条件下植物体内代谢物进行检测分析,可以确定植物在胁迫条件下的代谢调控规律及网络,从代谢途径上对不同胁迫的应答机理进行分析。

4 离子组学研究

4.1 离子组学主要研究内容

矿质元素作为植物体重要组成部分,不仅参与

各项生命活动,而且在维持体内渗透平衡具有重要作用。随着现代分子生物学及各种组学技术的发展,从离子角度探究植物营养与渗透平衡及相关控制基因控制网络成为一个新的研究趋势。Lahner 等^[95]研究拟南芥中不同元素与基因之间的生物学意义时发现基因参与调节植物的养分和微量元素,证明采用元素分析法可作为功能基因组学分析的有效工具,即首次提出了离子组学(Ionomics)。植物离子组学为后基因组时代又一重要组学,也是继转录组学、蛋白质组学以及代谢组学研究植物功能基因组新的支柱以及研究方法^[96-97],离子组学主要研究植物细胞或组织的无机组成部分(离子与无机化合物等),可认为是代谢组学的一个分支^[95]。

离子组学研究主要通过高通量元素分析结合功能基因组学以及生物信息学等分析植物体内元素的含量、分布以及代谢等状况随环境、不同发育阶段以及外界刺激等的变化机制^[98]。即离子组学研究主要包括生物分析和数据分析两个部分,生物分析主要为实验设计、处理,样品的收集、处理与测试等;而数据处理主要是对测试结果信息进行标准统一,用统计分析方法进行数据挖掘,确定最终有效信息。

4.2 离子组学主要研究方法

植物体内矿质元素种类繁多,对植物体内多种元素进行同步定量是离子组学的关键。植物体内多种元素进行同步定量分析方法有多种,主要包括:电感耦合等离子体光谱法(ICP-OES)、电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)、荧光 X 射线法(XRF)、离子束分析法(IBA)、中子活化分析法(NAA)等,几种常用元素检测技术比较见表 1。

植物体内离子信息的生物信息挖掘为离子组学重要组成部分,采用各种检测方法可以得到大量多维数据,同时不同学者进行不同的实验设计时会获得处理条件下大量的离子组数据。如此大量的离子数据进行生物信息分析时首先需要进行标准化预处理,然后进行多元统计分析、主成分分析(PCA)、层次聚类分析(HCA)等,对数据进行归类以及通过数据库比对查询有用生物学信息。在特定的生长及检测条件下,一定的离子信息可以解释植物当前的生境以及生长状态,而后期数据的对比分析需要依靠统一的标准数据库,对此普渡大学的 Baxter 等^[100]利用高通量离子组学表型平台建立了普渡离子组学信息管理系统(Purdue Ionomics Information Management System, PiiMS),可以为离子组学数据分析提供参考。系统中包含了 60 000 多份不同拟南芥组织

表 1 不同元素检测技术在离子组中的应用^[99]

Table 1 Comparison of various elemental analysis techniques with potential application in ionomics

技术方法 Technique	敏感度 Sensitivity	样品分析时间 Analysis time	样品预处理 Sample prep	元素检测能力 Elements detected	总结 Summary
ICP-OES	$10^{-6} \sim 10^{-9}$	1~2 min	简单酸消化或微波消化 Simple acid digestion or micro-wave digestion	大部分元素 Most elements	由于灵敏度降低,每天可以比 ICP-MS 检测数量更多 Can achieve higher throughput than ICP-MS at the cost of some elements and sensitivity
ICP-MS	$10^{-12} \sim 10^{-15}$	1~3 min	简单酸消化或微波消化 Simple acid digestion or micro-wave digestion	大部分元素,同位素 Most elements; individual iso-topes	具有较强灵敏度,每天可检测上百个样品 Possible to run hundreds of sam-ples daily with excellent sensitivity
XRF	$\text{sub} \sim 10^{-6}$	30 s~n min seconds minute	研磨成粉或压缩成晶片 Samples are either powdered and compressed into a wafer or fused into a glass	难以检测原子数低于 Na 的元素 Difficult to measure elements with atomic numbers lower than sodium	百万分之一的检测能力 Versatile system for measuring PPM levels of many elements in solid samples
NAA	$10^{-8} \sim 10^{-15}$	n h ~n d	样品可处于任意状态,置于聚乙烯中简单处理 Sample may be in various states; sample is placed in polyethylene vial; simple prep	70%以上元素可以检测到,可同 时检测 30 种以上元素 Nearly 70% of the elements; more than 30 elements possible simultaneously	费用高、检测慢、敏感性高、精确 Costly; slow; very sensitive; ac-curate

样品中 16 种元素(钠、钾、钙、镁、铜、铁、锌、锰、钴、镍、硼、硒、钼、砷、镉、磷)含量的数据。并且系统中所有数据的来源均有明确记录,包括材料、实验处理、生长环境以及分析方法等,读者可以免费查询下载。目前系统中植物种类在不断充实完善,大量的水稻、玉米等离子组数据也被收录到系统中,极大地方便了离子组学研究者^[101-102]。

4.3 离子组学应用研究

当前离子组学研究主要应用于基因鉴别、功能验证以及植物生理状态的评价等。目前已经获得了大量与离子组性相关的 QTLs(数量性状基因座),主要包括拟南芥种子与叶片磷积累、拟南芥与玉米氮素利用等相关的 QTLs,利用 QTLs 进行遗传标记,进一步进行分离克隆,可以鉴别与分析相关应答基因。植物体内离子含量受各种生理活动的影响,同时不同生理活动影响离子的分配及运输,两者之间存在相互作用,在不同生理环节中,植物体内离子组分的分配也不一样^[103-104]。

近年来离子组学开始应用于研究非生物胁迫下植物体内离子分配的变化,并通过与遗传学、基因组学等相结合鉴定胁迫下与离子含量变化相关基因。Júnior 等^[105]研究了镉胁迫对向日葵(*Helianthus annuus*)体内离子组分变化的影响,发现对镉的吸收影响了体内铜和锌的稳态平衡,以及铁、磷、镁、锰等的不平衡吸收影响了光合作用。Ardini 等^[106]研究了热胁迫后转基因与野生型烟草(*Nicotiana tabacum* L.)体内离子组分变化情况,结果发现大多数元素如铁、锌等受热应激后总含量显著减少,而钙、镁等表现出相反趋势,热应激同时影响了元素在转基因烟草体内分配情况,在根部积累钼、锌、磷等,而

钾元素以在叶片积累为主。

离子组分在盐胁迫下变化情况已应用于研究核桃(*Juglans regia*)、拟南芥、大麦等植物中。Lotfi 等^[107]研究不同核桃品种对于盐胁迫反应离子特性,随着盐浓度的增加,抗性品种在地上部积累 K 和 Ca;在半抗性品种中,在根部只有 K 积累;与其他元素相比 Na 积累差异最小,在抗性和半抗性品种中,根部 Na 含量大于地上部,并且提出 K 渗漏大小可作为筛选耐盐核桃品种指标之一。Hill 等^[108]利用离子组和代谢组研究不同基因型拟南芥在盐胁迫下变化及耐盐机理,AtHKT1;1 基因特性表达可以抑制盐胁迫下 Na⁺ 的过度积累,含 AtHKT1;1 基因拟南芥较其他基因型植株在盐胁迫后 K、P、S、Mn 含量增加,而 Na 含量明显减少。Wu 等^[109]比较了栽培型及野生型大麦在盐胁迫后离子组分变化情况,在根部,盐胁迫致使 P、S、Mg、K、Mn、Zn 与 B 含量降低,而使 Ca、Fe 与 Cu 含量增加;在地上部,盐胁迫使 Na 含量增加,使 K、Ca、Mg、Cu、B、P 含量减少。Shen 等^[110]也研究了盐胁迫下野生大麦离子组分的变化情况,K/Na 比值在地上部比在根部大,并且值都大于 1,实验验证野生大麦具有较强 K⁺ 保留能力。地上部较大的 K/Na 比,及根部 Ca、Cu 与 Fe 等含量的增加可以增强组织的耐盐性。

逆境条件下离子组分含量的变化可以维持植物体内渗透平衡,确保植物能够维持正常生长状态,同时离子含量变化受基因网络的调控。研究离子组学可以明确逆境条件下离子含量变化与基因网络调控的相互关系,特殊离子组分含量变化可作为植物耐性筛选指标之一,对于逆境胁迫研究具有重要意义。

5 小结与展望

盐胁迫对植物生长的影响主要表现在离子毒害、渗透胁迫以及次级氧化胁迫等,为适应盐胁迫植物体内会发生一系列生理及分子变化。盐胁迫条件下植物感受刺激后首先进行转录调控,启动与盐胁迫相关基因,合成相关应激蛋白(主要包括与抗氧化和渗透物质合成等相关的酶、离子通道蛋白等),进而控制相关代谢物的合成、离子转运以及氧化还原反应等。转录组学、蛋白质组学、代谢组学以及离子组学分别从 RNA、蛋白质、代谢物与离子层面对此进行研究,植物遭受盐胁迫时会在不同层次进行有目的的准备而精准应对不同胁迫条件(浓度、时间等),为自身生长贮存更多能量和争取更多可用资源,从而使植物维持正常生理状态。

不同“组学”技术研究可以揭示盐胁迫下植物在不同层次发生的变化,有助于挖掘与胁迫相关新的基因以及代谢途径等。当前对于盐胁迫下植物组学

的研究主要集中于单一组学研究或双组学联合分析,不能全面解释植物耐盐机制,因此为全面了解植物耐盐机制,则需对转录组、蛋白质组、代谢组以及离子组等进行多组学联合分析,采用生物信息学从系统生物学水平对大数据进行分析,以得到盐胁迫下植物体内的代谢调控网络以及关键耐盐基因等,可以更好阐述植物应答盐胁迫分子机理。通过对多组学联合分析,可明确所需相关性状基因,并进行基因克隆、验证等,为耐盐植物培育提供支持。而当前对于各组学研究主要局限于实验室水平,为特定条件下的实验结果,与植物自然生长的逆境环境存在差异;同时在不同生长时期,植物体内的基因表达情况以及代谢网络也存在差异,因此对于多组学实验研究从室内转向自然环境、从固定时间点检测转向整个自然生长周期检测,多因素系统的研究植物耐性机制,挖掘相关耐盐基因,对耐盐植物培育及盐碱地改良具有重要现实意义。

参考文献:

[1] ZHU J K. Abiotic stress signaling and responses in plants[J]. *Cell*, 2016, **167**(2): 313-324.

[2] MALCO L M E, SUMNER R N. Sodic Soils Distribution, Properties, Management, and Environmental Consequences [M]. New York: Oxford University Press, 1998 .

[3] KOVDA V A. Loss of productive land due to salinization[J]. *Ambio*, 1983, **12**(2): 91-93.

[4] CI L J, YANG X H. Desertification and its control in China [M]. Beijing: Higher Education Press, 2010.

[5] JALEEL C A, RIADH K, GOPI R, *et al.* Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2009, **31** (3): 427-436.

[6] YAN K, SHAO H, SHAO C, *et al.* Physiological adaptive mechanisms of plants grown in saline soil and implications for sustainable saline agriculture in coastal zone[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2013, **35**(10): 2 867-2 878.

[7] TANG X, MU X, SHAO H, *et al.* Global plant-responding mechanisms to salt stress: physiological and molecular levels and implications in biotechnology[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2015, **35**(4): 425-437.

[8] ZHANG J T, ZHANG Y, DU Y Y, *et al.* Dynamic metabolomic responses of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress[J]. *Journal of Proteome Research*, 2011, **10** (4): 1 904-1 914.

[9] URANO K, KURIHARA Y, SEKI M, *et al.* ‘Omics’ analyses of regulatory networks in plant abiotic stress responses[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, **13**(2): 132-138.

[10] BOHNERT R, BEHR J, *et al.* Transcript quantification with RNA-Seq data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2009, **10**(13): 1-2.

[11] ZHU Y N, SHI D Q, *et al.* Transcriptome analysis reveals crosstalk of responsive genes to multiple abiotic stresses in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Plos One*, 2013, **8**(11): e80218.

[12] JIANG Y, DEYHOLOS M K. Comprehensive transcriptional profiling of NaCl-stressed *Arabidopsis* roots reveals novel classes of responsive genes[J]. *BMC Plant Biology*, 2006, **6** (1): 1-20.

[13] KAWAURA K, MOCHIDA K, OGIHARA Y. Genome-wide analysis for identification of salt-responsive genes in common wheat[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2008, **8**(3): 277-286.

[14] RODRIGUEZURIBE L, HIGBIE S M, STEWART J M, *et al.* Identification of salt responsive genes using comparative microarray analysis in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Plant Science*, 2011, **180**(3): 461-469.

[15] UEDA A, KATHIRESAN A, BENNETT J, *et al.* Comparative transcriptome analyses of barley and rice under salt stress [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, **112**(7): 1 286-1 294.

[16] KOGENARU S, QING Y, GUO Y, *et al.* RNA-seq and microarray complement each other in transcriptome profiling [J]. *BMC Genomics*, 2012, **13**: 629-645.

[17] TRICK M, LONG Y, MENG J L, *et al.* Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery in the polyploid *Brassica napus* using Solexa transcriptome sequencing[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2009, **7**(4): 334-346.

[18] WANG W S, ZHAO X Q, LI M, *et al.* Complex molecular

- mechanisms underlying seedling salt tolerance in rice revealed by comparative transcriptome and metabolomic profiling[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, **67**(1):405-419.
- [19] AHMED B, AHMED A, *et al.* RNA-Seq analysis of the wild barley (*H. spontaneum*) leaf transcriptome under salt stress [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2015, **338**(5):285-297.
- [20] LI S F, FAN C M, LI Y, *et al.* Effects of drought and salt-stresses on gene expression in *Caragana korshinskii* seedlings revealed by RNA-seq[J]. *BMC Genomics*, 2016, **17**(1):1-19.
- [21] VALLIYODAN B, NGUYEN H T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, **9**(2):189-195.
- [22] ATIENZA S G, FACCIOLI P, PERROTTA G, *et al.* Large scale analysis of transcripts abundance in barley subjected to several single and combined abiotic stress conditions [J]. *Plant Science*, 2005, **167**(6):1 359-1 365.
- [23] YAOD X, ZHANG X Y, ZHAO X H, *et al.* Transcriptome analysis reveals salt-stress-regulated biological processes and key pathways in roots of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Genomics*, 2011, **98**(1):47-55.
- [24] FANXD, WANGJQ, YANG N, *et al.* Gene expression profiling of soybean leaves and roots under salt, saline-alkali and drought stress by high-throughput Illumina sequencing[J]. *Gene*, 2013, **512**(2):392-402.
- [25] POSTNIKOVA O A, SHAO J, NEMCHINOV L G. Analysis of the alfalfa root transcriptome in response to salinity stress [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2013, **54**(7):1 041-1 055.
- [26] BAHIELDIN A, ATEF A, *et al.* RNA-Seq analysis of the wild barley (*H. spontaneum*) leaf transcriptome under salt stress [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2015, **338**(5):285-297.
- [27] ZHOU Y, YANG P, CUI F, *et al.* Transcriptome analysis of salt stress responsiveness in the seedlings of Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) [J]. *Plos One*, 2016, **11**(1):1-25.
- [28] CANOVAS F M, DUMAS G E, RECORBET G, *et al.* Plant proteome analysis[J]. *Proteomics*, 2004, **4**(2):285-298.
- [29] SCHWEPPE R E, HAYDON C E, *et al.* The characterization of protein post-translational modifications by mass spectrometry[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2003, **34**(37):453-461.
- [30] ZHAO Q, ZHANG H, WANG T, *et al.* Proteomics-based investigation of salt-responsive mechanisms in plant roots[J]. *Journal of Proteomics*, 2013, **82**(8):230-253.
- [31] WASINGER V C, CORDWELL S J, *et al.* Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*[J]. *Electrophoresis*, 1995, **16**(7):1 090-1 094.
- [32] 万晶宏, 贺福初. 蛋白质组技术的研究进展[J]. 科学通报, 1999, **44**(9):904-911.
WAN J H, HE F C. Research progress in technology of proteome[J]. *Chinese Science Bulletin*, 1999, **44**(9):904-911.
- [33] KOEN S, MAHAN M, FILIP D, *et al.* Highly efficient peptide separations in proteomics[J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, **866**(1):48-63.
- [34] O'FARRELL P H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1975, **250**(10):4 007-4 021.
- [35] SHAW M M, RIEDERER B M. Sample preparation for two-dimensional gel electrophoresis[J]. *Proteomics*, 2003, **3**(8):1 408-1 417.
- [36] GÖRG A, WEISS W, DUNN M. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics [J]. *Proteomics*, 2004, **4**(12):3 665-3 685.
- [37] MAROUGA R, DAVID S, *et al.* The development of the DIGE system: 2D fluorescence difference gel analysis technology [J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2005, **382**(3):669-678.
- [38] HARTMAN N T, SICILIA F, LILLEY K S, *et al.* Proteomic complex detection using sedimentation[J]. *Analytical Chemistry*, 2007, **79**(5):2 078-2 083.
- [39] KOOMEN J, HAWKE D, KOBAYASHI R. Developing an understanding of proteomics: an introduction to biological mass spectrometry[J]. *Cancer Investigation*, 2005, **23**(1):47-59.
- [40] GYGI S P, RIST B, GERBER S A, *et al.* Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags[J]. *Nature Biotechnology*, 1999, **17**(10):994-999.
- [41] ROSS P L, HUANG Y N, MARCHESE J N, *et al.* Multiplexed protein quantitation in *Saccharomyces cerevisiae* using amine-reactive isobaric tagging reagents[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2004, **3**(12):1 154-1 169.
- [42] ONG S E, BLAGOEV B, KRATCHMAROVA I, *et al.* Stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC, as a simple and accurate approach to expression proteomics[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2002, **1**(5):376-386.
- [43] WASHBURN M P, WOLTERS D, *et al.* Large-scale analysis of the yeast proteome by multidimensional protein identification technology [J]. *Nature Biotechnology*, 2001, **19**(3):242-247.
- [44] BAGINSKY S. Plant proteomics: Concepts, applications, and novel strategies for data interpretation[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2009, **28**(1):93-120.
- [45] JIANG Y Q, YANG B, *et al.* Comparative proteomic analysis of NaCl stress-responsive proteins in *Arabidopsis* roots[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, **58**(13):3 591-3 607.
- [46] KIM Y O, PAN S, JUNG C H, *et al.* A zinc finger-containing glycine-rich RNA-binding protein, atRZ-1a, has a negative impact on seed germination and seedling growth of *Arabidopsis thaliana* under salt or drought stress conditions[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2007, **48**(8):1 170-1 181.
- [47] ZÖRB C, HERBST R, FORREITER C, *et al.* Short-term effects of salt exposure on the maize chloroplast protein pattern[J]. *Proteomics*, 2009, **9**(17):4 209-4 220.
- [48] ZHANG L, TIAN L H, ZHAO J F, *et al.* Identification of an apoplastic protein involved in the initial phase of salt stress response in rice root by two-dimensional electrophoresis[J]. *Plant Physiology*, 2009, **149**(2):916-928.
- [49] PENG Z Y, WANG M C, LI F, *et al.* A proteomic study of the response to salinity and drought stress in an introgression strain of bread wheat [J]. *Molecular and Cellular Proteomics*, 2009, **8**(12):2 676-2 686.
- [50] AGHAEI K, EHSANPOUR A A, SHAH A H, *et al.* Proteome analysis of soybean hypocotyl and root under salt stress

- [J]. *Amino Acids*, 2009, **36**(1): 91-98.
- [51] ASKARI H, EDQVIST J, HAJHEIDARI M, *et al.* Effects of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptiaca* leaves[J]. *Proteomics*, 2006, **6**(8): 2 542-2 554.
- [52] WANG X C, FAN P X, SONG H M, *et al.* Comparative proteomic analysis of differentially expressed proteins in shoots of *Salicornia europaea* under different salinity[J]. *Journal of Proteome Research*, 2009, **8**(7): 3 331-3 345.
- [53] PANG Q Y, CHEN S X, DAI S J, *et al.* Comparative proteomics of salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila* [J]. *Journal of Proteome Research*, 2010, **9**(5): 2 584-2 599.
- [54] 张 恒, 郑宝江, 宋保华, 等. 植物盐胁迫应答蛋白质组学分析[J]. 生态学报, 2011, **31**(22): 6 936-6 946.
- ZHANG H, ZHENG B J, SONG B H, *et al.* Salt-responsive proteomics in plants [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(22): 6 936-6 946.
- [55] KIM, D W, RAKWAL R, *et al.* A hydroponic rice seedling culture model system for investigating proteome of salt stress in rice leaf[J]. *Electrophoresis*, 2005, **26**(23): 4 521-4 539.
- [56] CARUSO G, CAVALIERE C, GUARINO C, *et al.* Identification of changes in *Triticum durum* L. leaf proteome in response to salt stress by two-dimensional electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry[J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2008, **391**(1): 381-390.
- [57] PARKER R, FLOWERS T J, MOORE A L, *et al.* An accurate and reproducible method for proteome profiling of the effects of salt stress in the rice leaf lamina[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, **57**(5): 1 109-1 118.
- [58] YAN S, TANG Z, *et al.* Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root[J]. *Proteomics*, 2005, **5**(1): 235-244.
- [59] ASKARI H, EDQVIST J, HAJHEIDARI M, *et al.* Effects of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptiaca* leaves[J]. *Proteomics*, 2006, **6**(8): 2 542-2 554.
- [60] JIANG Y Q, YANG B, *et al.* Comparative proteomic analysis of NaCl stress-responsive proteins in *Arabidopsis* roots[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, **58**(13): 3 591-3 607.
- [61] SALEKDEHA G H, SIOPONGCO J, WADE L J, *et al.* A proteomic approach to analyzing drought-and salt-responsiveness in rice[J]. *Field Crops Research*, 2002, **76**(2-3): 199-219.
- [62] WITZEL K, WEIDNER A, SURABHI G K, *et al.* Salt stress-induced alterations in the root proteome of barley genotypes with contrasting response towards salinity[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, **60**(12): 3 545-3 557.
- [63] TADA Y, KASHIMURA T. Proteomic analysis of salt-responsive proteins in the mangrove plant, *Bruguiera gymnorhiza* [J]. *Plant Cell Physiology*, 2009, **50**(3): 439-446.
- [64] CHENG Y W, QI Y C, ZHU Q, *et al.* New changes in the plasma-membrane-associated proteome of rice roots under salt stress[J]. *Proteomics*, 2009, **9**(11): 3 100-3 114.
- [65] NICHOLSON J K, LINDON J C, HOLMES E. Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data[J]. *Xenobiotica*, 1999, **29**(11), 1 181-1 189.
- [66] FIEHN O. Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, **48**(2): 155-171.
- [67] EISENREICH W, BACHER A. Advances of high-resolution NMR techniques in the structural and metabolic analysis of plant biochemistry [J]. *Phytochemistry*, 2007, **68** (22-24): 2 799-2 815.
- [68] WARD J L, BAKER J M, BEALE M H. Recent applications of NMR spectroscopy in plant metabolomics[J]. *FEBS Journal*, 2007, **274**(5): 1 126-1 131.
- [69] 尹 恒, 李曙光, 白雪芳, 等. 植物代谢组学的研究方法及其应用[J]. 植物学通报, 2005, **22**(5): 532-540.
- YIN H, LI S G, BAI X F, *et al.* Research advances in plant metabolomics[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2005, **22**(5): 532-540.
- [70] 刘贤青, 罗 杰. 植物代谢组学技术及研究进展[J]. 科技导报, 2015, **33**(16): 33-38.
- LIU X Q, LUO J. Advances of technologies and research in plant metabolomics[J]. *Science & Technology Review*, 2015, **33**(16): 33-38.
- [71] KIM H K, CHOI Y H, *et al.* NMR-based metabolomic analysis of plants[J]. *Nature Protocol.*, 2010, **5**(3): 536-549.
- [72] LISEC J, SCHAUER N, KOPKA J, *et al.* Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants [J]. *Nature Protocol.*, 2006, **1**(1): 387-396.
- [73] KUSANO M, FUKUSHIMA A, ARITA M, *et al.* Unbiased characterization of genotype- dependent metabolic regulations by metabolomic approach in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Systems Biology*, 2007, **1**(1): 1-17.
- [74] RC DE VOS, MOCO S, *et al.* Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. *Nature Protocol.*, 2007, **2**(4): 778-791.
- [75] 阿基业. 代谢组学数据处理方法-主成分分析[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, **15**(5): 481-489.
- A J Y. Analysis of metabolomic data: principal component analysis [J]. *Chin. J. Clin. Pharm. Therap.*, 2010, **15**(5): 481-489.
- [76] EBBELS T, CAVILL R. Bioinformatic methods in NMR-based metabolic profiling[J]. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy*, 2009, **55**(4): 361-374.
- [77] WECKWERTH W, MORGENTHAL K. Metabolomics: from pattern recognition to biological interpretation[J]. *Drug Discovery Today*, 2005, **10**(22): 1 551-1 558.
- [78] 许广艳, 葛卫红. 代谢组学的数据分析技术及其应用[J]. 时珍国医国药, 2011, **22**(7): 1 755-1 758.
- XU G Y, GE W H. Data analytical techniques in metabolomic study and its applications[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2011, **22**(7): 1 755-1 758.
- [79] LINDON J C, HOLMES E, *et al.* Pattern recognition methods and applications in biomedical magnetic resonance[J]. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2001, **39**(1): 1-40.
- [80] STATNIKOV A, WANG L, ALIFERIS C F. A comprehensive comparison of random forests and support vector machines for microarray-based cancer classification [J]. *BMC bioinformatics*, 2008, **9**(1): 1-10.
- [81] RODZIEWICZ P, SWARCEWICZ B, *et al.* Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2014, **36**(1): 1-19.

- [82] JOHNSON H E, BROADHURST D, *et al.* Metabolic fingerprinting of salt-stressed tomatoes[J]. *Phytochemistry*, 2003, **62**(6): 919-928.
- [83] GONG Q, LI P, MA S, *et al.* Salinity stress adaptation competence in the extremophile *Thellungiella halophila* in comparison with its relative *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Journal*, 2005, **44**(5): 826-839.
- [84] KIM J K, BAMBA T, *et al.* Time-course metabolic profiling in *Arabidopsis thaliana* cell cultures after salt stress treatment [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, **58** (3): 415-424.
- [85] WIDODO, JH PATTERSON, E NEWBIGIN, *et al.* Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, **60**(14): 4 089-4 103.
- [86] WU D Z, CAI S G, CHEN M, *et al.* Tissue Metabolic responses to salt stress in wild and cultivated barley[J]. *Plos One*, 2013, **8**(1): e55431.
- [87] NI J W, YANG X Y, *et al.* Salinity-induced metabolic profile changes in *Nitraria tangutorum* Bobr. suspension cells[J]. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 2015, **122**(1): 239-248.
- [88] NEUWEGER H, ALBAUM S P, *et al.* MetDB: A software platform for the analysis and integration of metabolomics experiment data [J]. *Bioinformatics*, 2008, **24** (23): 2 726-2 732.
- [89] LUO J, FUELL C, PARR A, *et al.* A novel polyamine acyl-transferase responsible for the accumulation of spermidine conjugates in *Arabidopsis* seed[J]. *Plant Cell*, 2009, **21**(1): 318-333.
- [90] CHAN EKF, ROWE H C, LIEBENSTEIN D J. Understanding the evolution of defense metabolites in *Arabidopsis thaliana* using genome-wide association mapping [J]. *Genetics*, 2010, **185**(3): 991-1 007.
- [91] KOVACS Z, SIMON-SARKADI L, *et al.* Differential effects of cold, osmotic stress and abscisic acid on polyamine accumulation in wheat[J]. *Amino Acids*, 2010, **38**(2): 623-631.
- [92] CHEN W, GONG L, GUO Z, *et al.* A novel integrated method for largescale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: Application in the study of rice metabolomics[J]. *Molecular Plant*, 2013, **6**(6): 1 769-1 780.
- [93] SHI H T, CHAN Z L. Improvement of plant abiotic stress tolerance through modulation of the polyamine pathway[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014, **56**(2): 114-121.
- [94] RANGAN P, SUBRAMANI R, KUMAR R, *et al.* Recent advances in polyamine metabolism and abiotic stress tolerance [J]. *Biomed Research International*, 2014, **2014**(7): 871-882.
- [95] LAHNER B, GONG J, MAHMOUDIAN M, *et al.* Genomic scale profiling of nutrient and trace elements in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Biotechnology*, 2003, **21** (10): 1 215-1 221.
- [96] SALT D E. Update on plant ionomics[J]. *Plant Physiology*, 2004, **136**(1): 2 451-2 456.
- [97] PARENT S É, PARENT L E, EGOZCUE J J, *et al.* The plant ionome revisited by the nutrient balance concept[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, **4**(6): 39-49.
- [98] SINGH U M, SAREEN P, *et al.* Plant ionomics: a newer approach to study mineral transport and its regulation[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, **35**(9): 2 641-2 653.
- [99] SALT D E, BAXTER I, LAHNER B. Ionomics and the Study of the plant ionome[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, **59**(10): 709-733.
- [100] BAXTER I, OUZZANI M, *et al.* Purdue ionomics information management system. An integrated functional genomics platform[J]. *Plant Physiology*, 2007, **143**(2): 600-611.
- [101] BAXTER I R, GUSTIN J L, SETTLES A M, *et al.* Ionomics characterization of maize kernels in the intermated B73 × Mo17 population[J]. *Crop Science*, 2013, **53**: 208-220.
- [102] BAXTER I, HERMANS C, LAHNER B, *et al.* Biodiversity of mineral nutrient and trace element accumulation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plos One*, 2012, **7**(4): e35121.
- [103] 曹继容, 钟广炎, 王其兵. 植物离子组学及其研究方法与应用进展[J]. 植物学报, 2014, **49**(4): 504-513.
- CAO J R, ZHONG G Y, WANG Q B. Progress in methodology and application of plant ionomics[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2014, **49**(4): 504-513.
- [104] CHAO D Y, GABLE K, *et al.* Sphingolipids in the root play an important role in regulating the leaf ionome in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell*, 2011, **23**(3): 1 061-1 081.
- [105] J UNIOR CAL, MAZZAFERA P, ARRUDA MAZ. A comparative ionomic approach focusing on cadmium effects in sunflowers (*Helianthus annuus* L.) [J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2014, **107**(107): 180-186.
- [106] ARDINI F, SOGGIA F, ABELMOSCHI M L, *et al.* Effect of heat stress on the ionomic profile of *Nicotiana glauca* wild-type and mutant genotypes[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2016, **96**(5): 460-473.
- [107] LOTFI N, VAHDATI K, KHOLDEBARIN B, *et al.* Mineral composition of some walnut cultivars (*Juglans regia* L.) for evaluation of ionome and ionomics under salt stress condition [J]. *International Symposium on Biotechnology of Fruit Species: Biotech fruit*, 2009, **839**: 293-300.
- [108] HILL C B, JHA D, BACIC A, *et al.* Characterization of ion contents and metabolic responses to salt stress of different *Arabidopsis AtHKT1;1* genotypes and their parental strains [J]. *Molecular Plant*, 2013, **6**(2): 350-368.
- [109] WU D Z, SHEN Q F, CAI S G, *et al.* Ionomics responses and correlations between elements and metabolites under salt stress in wild and cultivated barley[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2013, **54**(12): 1 976-1 988.
- [110] SHEN Q F, FU L B, QIU L, *et al.* Time-course of ionic responses and proteomic analysis of a Tibetan wild barley at early stage under salt stress[J]. *Plant Growth Regulation*, 2016: 1-11, doi:10.1007/s10725-016-0180-0.

(编辑:宋亚珍)