

# 植物应答非生物胁迫的代谢组学研究进展

滕中秋<sup>1</sup> 付卉青<sup>1</sup> 贾少华<sup>1</sup> 孟薇薇<sup>1,2</sup> 戴荣继<sup>1,2\*</sup> 邓玉林<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>北京理工大学生命学院, 北京 100081; <sup>2</sup>北京理工巨元医药技术开发中心有限公司, 北京 100081

**摘要** 代谢组学技术是研究植物代谢的理想平台, 通过现代检测分析技术对胁迫环境下植物中代谢产物进行定性和定量分析, 可以监测其随时间变化的规律。而各种组学平台包括基因组学、转录组学及代谢组学的整合, 更是一个强有力的工具箱, 将所获得的不同组学的信息联系起来, 有利于从整体研究生物系统对基因或环境变化的响应, 如可判断代谢物的变化是从哪一个层面开始发生的, 帮助人们揭开复杂的植物胁迫应答机制。该文对近期代谢组学技术及其与蛋白质组学、基因组学技术相结合探索植物应答非生物胁迫的研究进行了综述。代谢组学的应用, 拓展了对植物耐受非生物胁迫分子机制的认识, 开展更多这方面的研究, 再通过植物代谢组学、转录组学、蛋白质组学和基因组学整合, 有助于从整体水平上把握植物胁迫应答机制。

**关键词** 非生物胁迫, 环境胁迫, 代谢产物, 代谢组学, 植物

## Review of current progress in the metabolomics for plant response to abiotic stress

TENG Zhong-Qiu<sup>1</sup>, FU Hui-Qing<sup>1</sup>, JIA Shao-Hua<sup>1</sup>, MENG Wei-Wei<sup>1,2</sup>, DAI Rong-Ji<sup>1,2\*</sup>, and DENG Yu-Lin<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China; and <sup>2</sup>Beijing BIT & GY Pharmaceutical R & D Co. Ltd., Beijing 100081, China

**Abstract** Metabolomics is an important platform for studying stress in plants. We can qualify and quantify the metabolites of plants with environment stress using modern analytical techniques. The metabolomics data can be further studied by correlating with transcriptomics and genomics data. The combination of ‘omics’ platforms is an essential tool for systems analyses of plants to determine the mechanics of plant response to environment stress. We review recent studies of plant response to abiotic stress using metabolomics method and combination of different ‘omics’ platforms.

**Key words** abiotic stress, environmental stress, metabolites, metabolomics, plant

伴随着现代工业文明的空前发展, 人类赖以生存的环境受到的挑战日益明显, 如可耕地减少、土壤恶化、淡水资源短缺、全球变暖、自然灾害频发等。因此, 如何保障世界持续增长的人口的生活, 是世界各国关注的热点之一(谢宗铭等, 2008)。植物特别是农作物是人类赖以生存的重要的生物能量来源, 高盐、低温、干旱、重金属污染等非生物胁迫对植物特别是农作物的生长、发育和结实造成严重的不良影响, 是全球农业减产的重要因素(Boyer, 1982)。据估计, 世界主要农作物每年产量损失的50%与非生物胁迫有关, 而与病虫害等生物胁迫相关的作物产量损失还不到20% (Valliyodan & Nguyen, 2006)。植物种子一旦落地生根, 就不可避免地要与其赖以生长的复杂多变的环境作不断的适应性斗争, 以完成其生活史。凡是对植物生长发

育不利的环境条件统称为逆境或胁迫。植物在长期进化中, 逐渐形成了一系列生理、代谢以及防御系统以维持其生命和持续生长。植物对非生物胁迫的耐受性和敏感性是一个非常复杂的生命过程(侯夫云等, 2006; 谢宗铭等, 2008)。

植物的应激过程包括几个阶段, 首先环境的变化被植物体感知, 由此激活植物体的应激信号转导系统。接下来, 信号转导系统激发一系列化合物的合成, 这些物质可以帮助植物体修复或使植物达到新的代谢平衡。从代谢组学的观点来讲, 至少有3种类型的化合物对这个过程是十分重要的: (1)与植物适应环境有关的因子, 如抗氧化因子; (2)细胞中由于生物或非生物胁迫的影响产生的代谢产物, 它们是由于植物生长状态下代谢平衡受到干扰而产生的。(3)信号转导因子, 这些化合物与代谢平衡的

转导有关, 信号因子可以是植物体中合成的或从结合态释放出来的, 比如植物激素水杨酸, 也可以是植物应激过程所产生的一些代谢产物, 这与(2)项中的物质类似, 不同的是, 它们会参与到信号转导过程中, 这些物质包括细胞膜的裂解产物、不同的活性氧簇和一些氧化物(比如酚类化合物)或者一些抗氧化物。上述物质是植物细胞应答胁迫的信号因子(Mittler, 2002; Mittler *et al.*, 2004; Shulaev *et al.*, 2008)。对这些化合物的分析检测无疑可以帮助我们揭示胁迫环境下植物的应答机制, 而代谢组学的出现和发展为这方面的研究提供了一个平台。

代谢组学是通过考察生物体系包括细胞、组织或生物体受刺激或扰动后, 其代谢产物的变化或其随时间的变化, 来研究生物体系的一门科学(许国旺, 2008)。它是以组群指标分析为基础, 以高通量检测和数据处理为手段, 以信息建模与系统整合为目标的系统生物学的一个分支, 是继基因组学、转录组学、蛋白质组学后系统生物学的另一重要研究领域。代谢组学所关注的是代谢循环中分子量小于1 000的小分子代谢物的变化, 反映的是外界刺激或遗传修饰的细胞或组织的代谢应答变化(Nicholson *et al.*, 1999)。

生物机体是一个动态的、多因素综合调控的复杂体系, 在从基因到性状的生物信息传递链中, 机体需要不断调节自身复杂的代谢网络来维持系统内部以及外界环境的正常动态平衡。DNA、mRNA以及蛋白质的存在为生物过程的发生提供了物质基础, 而代谢物质和代谢表型所反映的是已经发生了的生物学事件, 是基因型与环境共同作用的综合结果, 是生物体系生理和生化功能状态的直接体现。因此, 作为系统生物学的一个重要的组成部分, 代谢组可以更好地反映体系表型。

代谢组学分析的流程包括样品的制备、数据的采集和数据的分析及解释。样品的制备又包括样品的提取、预处理和化合物的分离。样品在用水或有有机溶剂提取后, 一般先采用固相微萃取、固相萃取、亲和色谱等方法进行预处理, 之后采用气相色谱、液相色谱、毛细管电泳等方法进行化合物的分离。色谱、质谱、核磁共振、红外光谱、库仑分析、紫外吸收、荧光散射、放射性检测、光散射等分离分析手段及其组合都在代谢组学的研究中得到应用。其中, 核磁共振(NMR)技术特别是氢谱( $^1\text{H}$  NMR)

以其对含氢代谢产物的普适性, 色谱以其高分离度、高通量, 质谱(MS)以其普适性、高灵敏性和特异性而成为最主要的分析工具。代谢组学研究的后期需借助于生物信息学平台进行数据的分析和解释, 解读数据中蕴藏的生物学意义。目前常用的分析方法有多元回归(multiple regression)、判别分析(discriminant analysis)、主成分分析(principal component analysis)、聚类分析(hierarchical cluster analysis)、因素分析(factor analysis)和经典分析(canonical analysis)等。

Nicholson研究小组于1999年提出代谢组学(metabonomics)的概念, 并在疾病诊断、药物筛选等方面做了大量卓有成效的工作(Nicholson *et al.*, 2002; Brindle *et al.*, 2002; Holmes & Antti, 2002)。Fiehn (2003)提出了代谢组学(metabolomics)的概念, 第一次把代谢产物和生物基因的功能联系起来, 之后很多植物化学家开展了植物代谢组学的研究。

代谢组学在植物研究中的应用主要包括以下几个方面(许国旺等, 2007; 淡墨等, 2007): (1)某些特定种类(species)植物的代谢物组学研究。这类研究通常以某一植物为对象, 选择某个器官或组织, 对其中的代谢物进行定性和定量分析, 较为全面地研究植物不同时期或者不同部位代谢物种类与含量的变化, 并进一步通过这些变化来推测相应的代谢途径和代谢网络; (2)不同基因型(genotypes)植物的代谢物组学表型研究。一般需要两个或两个以上的同种植物(包括正常对照和基因修饰植物), 然后应用代谢物组学对所研究的不同基因型的植物进行比较和鉴别, 比如对突变型或者基因改造型植物的代谢变化和正常野生型的差异进行比较, 或对组织培养得到的代谢产物与野生型之间的差异进行比较, 评价基因改造或者组织培养的效果、筛选优良品种等有重要作用; (3)某些生态型(ecotypes)植物的代谢物组学。这类研究通常选择不同生态环境下的同种植物, 研究生长环境对植物代谢物产生的影响; (4)受外界刺激后植物自身免疫应答, 通过外源化学药品刺激、物理刺激或者生物刺激而引起植物代谢产物的改变, 通过代谢组学方法对这种变化进行监测与全面分析, 找出差异, 从而找到植物代谢的规律及其关键步骤; (5)在基因功能研究中的应用, 代谢产物是基因表达的终产物, 基因表达水平的极微小变化也可导致代谢物的大幅改变。以往通

过可见的表型改变来判断基因表达水平的升降, 耗时较长, 而且有时候基因表达变化无法引起表型改变, 而此时植物体中某些代谢产物的含量却已经发生显著变化。利用代谢组学方法检测代谢物的变化则可以判断基因表达水平的变化, 从而推断基因的功能及其对代谢流的影响。植物代谢组学的研究已经取得了研究成果, 比如Fiehn (2003)对笋瓜 (*Cucurbita maxima*)的叶柄脉管和叶片抽提物进行GC-MS分析, 得到了400多个峰, 通过与质谱数据库比对, 初步鉴定出90个化合物, 并比较了叶柄与叶片之间在糖、氨基酸等代谢物组分方面的差别; Tiessen等(2002)用高效液相色谱法(HPLC)对马铃薯 (*Solanum tuberosum*)块茎进行了代谢组分析, 检测了淀粉合成途径中的一系列底物、中间物、酶及产物量的变化, 再通过对野生和异源腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)转基因马铃薯进行对比研究, 提出了淀粉合成途径中一种新的调节机制; Maier等(1999)研究了丛枝菌根真菌(*Glomus intraradices*)对烟草(*Nicotiana tabacum*)根部代谢的影响, 对比了有丛枝菌根真菌共生的烟草根和没有共生该真菌的烟草根的代谢物差异。

综上所述, 代谢组学技术是研究植物代谢的理想平台, 通过现代的检测分析技术对胁迫环境下植物中的代谢产物进行定性和定量分析, 可以监测其随时间变化的规律。而各种组学平台包括基因组学、转录组学及代谢组学的整合, 更是一个强有力的“工具箱”(Shinozaki & Sakakibara, 2009), 将所获得的这几者的信息联系起来, 有利于从整体上研究生物系统对基因或环境变化的响应, 如可判断代谢物的变化是从哪一个层面开始发生的(尹恒等, 2005), 帮助人们揭开神秘复杂的植物胁迫应答机制。

近期有很多科研机构开展了植物的非生物胁迫应答相关的代谢组学研究, 无疑能促进人们对于植物抗逆性机制的系统认知, 也更有助于作物抗逆性的分子改良。同时, 深入开展抗盐、抗旱等模式植物的抗性生理与分子机制, 将有助于植物的耐盐、耐旱等机制的分子解析。

## 1 代谢组学在非生物胁迫应答研究中的应用

### 1.1 干旱胁迫

水分是影响植物生长发育的重要因子之一。对

植物产生有害效应的环境水分过少称为干旱胁迫。干旱是限制植物生长发育的重要环境因子, 也是目前制约农业生产的一个全球性问题。研究植物水分亏缺的生理伤害及植物对干旱胁迫的应答机制, 不仅在理论上而且在实践中都有重要的意义(张立军和梁宗锁, 2007)。

为了研究酿酒葡萄(*Vitis vinifera*)果实的不同组织在葡萄酒品质中的贡献和干旱胁迫对葡萄酒品质的影响, Grimplet等(2009)对在水分充足和干旱两种环境条件下种植的酿酒葡萄的果实(果皮和果浆)和种子中的组织特异性差异的蛋白和指定的代谢产物进行了检测。使用二维凝胶电泳(2-D PAGE)技术在果实中检出1 047种蛋白质, 其中90种在果皮和果浆中的表达有差异, 而在种子中共检出695种蛋白质, 其中有163种蛋白质在种子和果皮中的表达谱几乎完全没有区别。干旱胁迫改变了约7%果皮蛋白质的丰度, 但其对种子中蛋白质表达的影响不大。在所选定的待测的32种小分子代谢产物中, 大约有50%在果皮和种子中表现出组织差异性, 而在干旱胁迫条件下有7种化合物在葡萄果实中的积累受到影响。代谢指纹的研究结果为研究干旱对葡萄酒中与酒的风味和香气相关的主要化合物的影响提供了新的启示。Deluc等(2009)对长期干旱和季节性干旱影响下的两种不同品系的葡萄(*Vitis vinifera*) Cabernet Sauvignon和Chardonnay进行了代谢组学和转录组学的研究。研究表明两种品系的葡萄应答干旱胁迫时代谢途径的变化不同, 干旱胁迫可以激活Cabernet Sauvignon中谷氨酸和脯氨酸合成途径, 以及苯丙酸合成途径中的一些重要的中间步骤, 而对于Chardonnay来说, 干旱胁迫则激活了苯丙酸、类胡萝卜素和类异戊二烯合成途径, 二者相同的应激反应是对脱落酸代谢途径的影响。这些代谢产物的变化对果实及酒品的风味有很大的影响。

Mane等(2009)对长期干旱胁迫下两个基因型的安第斯马铃薯(*Solanum tuberosum* ssp. *andigena* (Juz & Buk) Hawkes) Sullu和Ccompis进行了代谢轮廓分析及其生物量和产率的比较。结果表明, 虽然两个基因型的马铃薯在干旱胁迫下茎块的产量没有受到明显的影响, 但是Ccompis的地上部的生物量减少, 而Sullu的生物量并未受到影响。蔗糖和监管分子海藻糖在Sullu的叶片中得到积累。而在Ccompis的叶片中, 棉籽糖寡糖家族途径被激活,

并且检测到低水平的蔗糖的变化和少量与胁迫相关的海藻糖的变化。脯氨酸和相关的合成基因表达水平在两个基因型植物中都提高了,而且在Sullu中的表达量是Ccompis中的3倍。结果表明,虽然在干燥的情况下,两个基因型植物在产量上没有明显变化,但是生物量的积累和代谢物变化明显不同。

Urano (2009)等以敲除了*NCED3*基因(干旱胁迫诱导的脱落酸生物合成相关的基因)的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)与野生型拟南芥为对象进行了代谢组学比较研究。发现应答干旱胁迫时植株对氨基酸的积累与脱落酸(ABA)相关,而寡聚棉籽糖的积累则完全依赖于ABA。

Fumagalli等(2009)进行了两种不同基因型的水稻(*Oryza sativa*) Arborio和Nipponbare应答干旱胁迫和盐胁迫的代谢组学研究。采用H-1高分辨率魔角旋转(HR MAS)和NMR对水稻植株的地上部分和根部进行检测。结果表明, Arborio对两种非生物胁迫更敏感,另外,PCA分析的结果显示,应答两种非生物胁迫时两种基因型水稻表现出氨基酸和糖类积累,同时两个基因型也能够很好地区分, Arborio植株中的两种化合物的积累比Nipponbare植株高。

Carmo-Silva等(2009)以叶片中的可溶性氨基酸为研究对象,对3种C<sub>4</sub>草本植物*Cynodon dactylon*、*Zoysia japonica*和*Paspalum dilatatum*对干旱胁迫应答的<sup>1</sup>H NMR和GC-MS代谢指纹图谱进行了比较研究,发现了一种特殊的非蛋白质氨基酸,鉴定为5-hydroxynorvaline。这种化合物存在于耐旱的前两种植物的叶片中,其含量随着干旱程度的提高而相对升高,说明5-hydroxynorvaline与植物的抗旱能力密切相关。为了揭示黑麦草(*Lolium perenne*)对干旱胁迫的应答机制, Foito等(2009)使用GC-MS技术对两种不同基因型的黑麦草进行了代谢组学研究。研究发现了黑麦草在干旱胁迫下叶片中的代谢产物发生明显的变化。在对干旱胁迫敏感的Cashel基因型黑麦草叶片中脂肪酸的含量明显下降,而相对耐旱性较高的PI 46233基因型黑麦草叶片中则表现出一些糖类的积累,这些糖类包括棉子糖、海藻糖、葡萄糖、果糖和麦芽糖。作者因此得出结论,提高黑麦草中这些糖类的合成能力可以得到耐旱的品种。

Dai等(2010)利用液相色谱-二极管阵列检测器-质谱联系技术(LC-DAD-MS)对干旱胁迫下的

丹参(*Salvia miltiorrhiza*)进行了研究,分析出初级代谢产物29个,次级代谢产物44个,并首次在丹参中检测到5种多酚类化合物、京尼平、伞形花内酯等化合物。通过对高日照干旱组和空气干旱组进行代谢组学的比较,发现丹参在两种干旱模式下的应激不完全相同,两种模式下,丹参酮的合成及谷氨酸介导的脯氨酸生物合成都更加活跃,同时碳素循环和氨基酸代谢也有所改变。由莽草酸介导的多酚类化合物生物合成在空气干燥模式下有所提高,而在高日照干旱模式下此代谢通路受到抑制,这个有趣的现象说明,植物应答非生物胁迫的过程是复杂而微妙的,环境因素的变化都会影响植物代谢通路及最终的代谢产物。

## 1.2 低温与高温胁迫

温度是影响植物生长发育的重要因子之一。植物生长发育对温度反应有三基点,即最低温度、最适温度和最高温度。对植物产生有害效应的过低或过高的环境温度称为温度胁迫。对植物产生不利效应的温度过高称为热胁迫,相反,对植物产生不利效应的温度过低则称为冷胁迫(张立军和梁宗锁, 2007)。

Shulaev等(2008)对温度胁迫植物代谢组学进行了详细的综述。代谢指纹技术被用于探索鼠耳芥属(*Arabidopsis*)植物对温度胁迫的应答。Kaplan等(2004)采用GC-MS联用技术对高温及低温环境下的鼠耳芥属植物的代谢指纹进行了研究,发现了一系列已知和未知的分别与高温、低温,或者对高温和低温都相关的小分子代谢产物。与低温相关的代谢产物的变化是最为显著的,但是更让我们吃惊的是,大多数热胁迫下产生的代谢产物也会在冷胁迫下产生,其中有很多种代谢产物在之前的研究中并不认为是与温度胁迫相关的。在后续的研究工作中(Kaplan *et al.*, 2007),为了研究鼠耳芥属植物的低温适应的机制,对这些代谢指纹数据与转录组学数据进行了整合,得到的结果显示:仅有一部分代谢产物的变化和转录组的变化是相关的,而其他的代谢产物的变化并非与转录组的变化直接相关。通过以上研究得出结论:在植物对冷胁迫的应答过程中,与转录组变化不直接相关的代谢产物在鼠耳芥属植物温度应答中起着重要的作用。

Cook等(2004)采用GC-MS联用技术,对具有不同抗寒能力的拟南芥植株及过量表达(CBF)

(C-repeat/dehydration responsive element-binding factor)的拟南芥植株的代谢指纹图谱进行了比较,结果表明,拟南芥在冷胁迫应答过程中代谢组会发生明显的变化,同时发现CBF途径在拟南芥对低温环境的适应中起重要的作用。

Morsy等(2007)对抗寒能力不同的两种基因型的水稻进行了冷胁迫和高盐胁迫应答的糖类代谢组学研究,使用HPLC方法对耐低温水稻和不耐低温水稻中的可溶性糖类化合物进行了定量分析,发现两种基因型的水稻在冷胁迫下可溶性糖类的积累是不同的。耐低温水稻在冷胁迫环境下,半乳糖和棉子糖得到积累,而在另一种不耐低温的基因型水稻中,这两种糖类的含量呈下降的趋势。这两种基因型的水稻在高盐胁迫环境下也呈现出不同的糖类代谢特征。上述糖代谢的数据结合植株中氧化产物和抗氧化酶的检测,发现耐低温水稻具有更活跃的氧自由基消除系统。

### 1.3 盐胁迫

据联合国教科文组织和粮农组织的不完全统计,世界盐渍土面积为 $10^9$  hm<sup>2</sup>,我国盐渍土面积约 $3.5 \times 10^7$  hm<sup>2</sup>,相当于耕地面积的1/3。另外,由于灌溉和化肥使用不当、工业污染加剧等原因,次生盐渍土地面积还在逐年扩大。对植物产生不利效应的土壤中可溶性盐分过多,称为盐胁迫(张立军和梁宗锁, 2007)。

代谢组学技术被用来鉴别番茄(*Solanum lycopersicum*)在盐胁迫下的代谢产物的变化。Johnson等(2003)选取了两种对盐胁迫敏感程度不同的番茄株系Edkawy和Simgé F<sub>1</sub>进行研究,发现盐胁迫下Simgé F<sub>1</sub>的相对生长率明显降低,而Edkawy没有受到影响。使用傅立叶变换红外光谱FT-IR对对照组和盐胁迫组的新鲜番茄果实提取物进行分析,每个样品的光谱含有吸光值在不同波长的882个变量。所得到的数据使用非监督数据分析方法PCA和有监督数据分析方法判别功能分析(DFA)分别进行处理。PCA方法不能区分对照组和高盐处理组果实的区别,而DFA法可以区分两种不同基因型,及不同基因型对对照组和高盐处理组的果实。遗传算法(GA)模型被用来鉴定FT-IR谱图中对盐胁迫应答的可能的功能团。这些功能团包括饱和腈类化合物、不饱和腈类化合物、氰类化合物,强烈的NH<sub>2</sub>自由基峰及其他的含氮化合物等。

更加详尽的植物盐胁迫应答代谢组学研究是Kim等(2007)对拟南芥细胞在高盐培养基中随时间变化的代谢组学研究。拟南芥细胞在100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl盐处理后的0.5、1、2、4、12、24、48和72 h分别进行LC-MS、GC-MS代谢指纹图谱检测。对数据进行PCA分析和自组织映射分析,结果显示:植物细胞对短期盐胁迫应答的代谢组变化包括诱导提供甲基的甲基化循环,诱导木质素生成的羟甲烟胺循环和三甲氨酸的合成;而对长期盐胁迫应答的代谢组变化则包括对糖酵解和蔗糖代谢的影响,甲基化系统的共还原。

Cramer等(2007)使用GC-MS和阴离子交换色谱紫外检测器联用技术对葡萄藤(*Vitis vinifera* ‘Cabemet Sauvignon’)应答盐胁迫和干旱胁迫代谢物变化的差异进行了比较,发现在应答盐胁迫时,蔗糖、天门冬氨酸、琥珀酸和富马酸在植物中的含量呈下降趋势,而脯氨酸、天冬酰胺、苹果酸和果糖等化合物的含量相对升高。应答干旱胁迫与应答盐胁迫相比,葡萄糖、苹果酸和脯氨酸的含量更高。

Gong等(2005)也使用GC-MS代谢指纹图谱与生物芯片技术相结合的方法比较了耐盐植物盐芥(*Thellungiella halophila*)和拟南芥代谢物的差别。发现两个物种间代谢物有明显差别。与拟南芥相比较,无论是在高盐环境还是在普通环境中,盐芥都有着较高的代谢物水平。对拟南芥的分析表明,在150 mmol·L<sup>-1</sup>盐胁迫下,拟南芥植株中的葡萄糖、脯氨酸和一种可能为复合多糖的代谢产物明显增多。而在盐芥中,盐胁迫诱发相当复杂的代谢应答,不仅在盐胁迫前许多代谢物的水平较高,在诱导后很多糖类、糖醇、有机酸和磷酸盐含量都有明显的变化。

Widodo等(2009)利用代谢组学的方法对两种不同基因型耐盐能力不同的大麦(*Hordeum vulgare*)品种Sahara和Clipper盐胁迫应答的代谢物的差别进行研究,分别对Sahara和Clipper进行3个星期的高盐处理后,发现Clipper停止生长,而Sahara保持生长并达到与对照组相当的水平。与Clipper相比,Sahara叶片的Na含量明显较高,并且叶片的坏死率相对较低,显示出其具有相对较高的耐盐能力。代谢物的变化方面,两个基因型植株的表现也明显不同,在Clipper植株中,包括γ-氨基丁酸和脯氨酸等氨基酸及多胺、腐胺的含量明显升高,而这些化合物的累积与盐胁迫中植物的低生长率和叶片坏死

有关, 这些化合物可以作为植物细胞受损的生物标志物。而在耐盐能力相对较高的Sahara植株中, 磷酸己糖、三羧酸循环中间体和与细胞保护相关的代谢物的含量升高, 而这些化合物含量在Chipper植株中没有明显的变化, 因此可以推测出这些代谢物的积累与Sahara叶片中的细胞保护和叶片对高Na<sup>+</sup>的耐受有关。另外, Sobhanian等(2010)对盐诱导的C<sub>4</sub>植物*Aeluropus lagopoides*进行了代谢组学的研究, 研究表明在高盐环境下氨基酸的合成增多, 而与三羧酸循环相关代谢物含量降低, 说明提高氨基酸合成是该植物对高盐胁迫应激的途径之一。

#### 1.4 硫、磷及金属胁迫

植物在生存环境中, 除受到上述一系列常见的非生物胁迫外, 还会受到其他环境因素造成的非生物胁迫, 如硫胁迫、磷胁迫及金属污染胁迫等。

近期有很多研究工作涉及到硫、磷及金属离子胁迫下植物的代谢组学研究。Nikiforova等(2005a, 2005b)使用GC-MS和LC-MS技术对硫缺乏胁迫下的拟南芥植株进行了分析检测, 发现拟南芥与硫缺乏胁迫应激相关的134个已知化合物和一系列未知化合物, 并对这些化合物进行了动态监测, 从而成功地重建了拟南芥对硫缺乏环境应激反应的代谢网络。代谢网络的数据又与拟南芥对硫缺乏胁迫应激的转录组学数据进行了整合分析(Nikiforova *et al.*, 2005a, 2005b), 从而得到拟南芥在硫缺乏胁迫下基因表达和代谢物变化的关系。

代谢组学和蛋白质组学相结合的研究方法也被用于豆科植物应答磷胁迫的研究中。Hernandez等(2007)利用GS-TOF-MS对磷充足和磷缺乏的豆科植物的根部进行了代谢轮廓的分析比较, 并鉴定了一系列与磷胁迫有关的代谢产物, 很多代谢产物(包括氨基酸、多元醇和糖类)在对磷胁迫的应答时含量升高。

Bailey等(2003)对高镉胁迫的麦瓶草(*Silene cucubalus*)细胞进行了NMR代谢组学分析。主成分分析可以将镉胁迫组和空白组区分开来, 并发现镉胁迫使麦瓶草细胞中的苹果酸及醋酸盐的含量明显升高, 而谷氨酸及一些支链氨基酸的含量则在镉胁迫应答中呈下降趋势。

栅藻属(*Scenedesmus*)植物是研究金属胁迫和酚类表达的重要研究对象。将该属植物*S. quadricauda*分为3组, 分别使用Cu<sup>2+</sup>、水杨酸、Cu<sup>2+</sup>与水

杨酸结合处理后, 进行代谢组学的研究, 研究发现: 在Cu<sup>2+</sup>处理组中叶绿素、水溶性蛋白质及酚类化合物含量均呈下降趋势; 水杨酸处理组则趋势相反; 在Cu<sup>2+</sup>和水杨酸共同处理组中发现, 水杨酸并不能抵制在Cu<sup>2+</sup>胁迫下3种化合物的下降趋势。然而植物体内的Cu<sup>2+</sup>浓度并未升高可能与水杨酸相关的苯甲酸的积累有关(Jozef *et al.*, 2010)。

芸薹属(*Brassica*)植物一直被认为是金属离子的收集器, 并广泛应用于土壤的修复中, 但对其金属离子耐受的机制却不清楚。Jahangir等(2008)对芜菁(*Brassica rapa*)中由金属离子介导的代谢物的变化进行了研究, 分别用4种不同浓度(50、100、250和500 mmol·L<sup>-1</sup>)的3种金属离子(Cu<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Mn<sup>2+</sup>)对芜菁进行处理, 并对处理过的植物样品用<sup>1</sup>H NMR和2D-NMR进行检测, 对检测的结果使用PCA和偏最小二乘法(PLS)进行分析处理。葡糖酸和羟酸共轭盐类化合物、一些碳水化合物、氨基酸等初级代谢产物可以作为区分不同种类金属离子处理植株的差异代谢产物。研究表明, 使用Cu<sup>2+</sup>和Fe<sup>3+</sup>对植物进行处理后, 代谢产物的变化比用Mn<sup>2+</sup>处理的植株大。而且, 代谢产物的变化不仅与金属离子的种类有关, 同时也与金属离子的浓度相关联。

Kieffer等(2009)对镉胁迫下的白杨(*Poplar spp.*)的叶子进行了蛋白质组和代谢轮廓分析相结合的研究。研究发现白杨应答镉胁迫时色素水平和碳水化合物的水平发生变化。在镉胁迫下, 白杨呈现出生长抑制, 光合作用也受到一定的影响, 在生长发育过程中, 光合作用产物在植物中以己糖或其他复杂糖类的形式储存起来, 从而起到渗透压调节的作用。

## 2 结论和展望

随着新的分析检测技术和生物信息学的发展, 代谢组学作为一个研究平台, 为植物代谢研究提供了全面、多维的视角, 从而为人们从整体上全面理解植物代谢提供了可能。但同时代谢组学的研究依然存在很多亟待解决的问题。首先应解决分析分离的偏差和局限性以及建立海量数据的数据处理方法。后基因组时代众多组学的发展将生物学科带入了定量化和系统化科学的时代, 同时向分析化学提出了更高、更严峻的挑战, 新型的复杂样品处理技术, 灵敏、专一、原位、动态、无损、快速的代谢

组检测、表征与操纵技术, 代谢物质组成、结构和功能信息获取的新型表征技术和完整的数据采集和成像系统, 有效、快速处理代谢组海量复杂数据的新化学信息学方法, 以及这些技术和方法学的原始性创新、学科交叉和多维技术联用基本理论(郭宾和戴仁科, 2007)的开发研究十分重要。其次, 格式纷繁的数据归一化和数据库的建立, 制定代谢组学工作标准(包括方法、信息和数据库), 以及实现代谢组与基因组、转录组和蛋白质组等数据的整合、构建系统生物学知识库, 以获得对生命过程的定量研究和复杂生物网络的系统认识, 是未来代谢组学研究的重要趋势。

代谢组学技术在植物应答逆境胁迫研究领域中的应用确实取得了一些新进展, 拓展了对于植物耐受非生物胁迫分子机理的认识, 然而对于植物复杂的应答胁迫代谢的机制来说, 我们现在的认识仍然十分有限, 因此, 开展更多植物的应答胁迫的相关代谢组学研究, 无疑能促进人们对于植物胁迫应答代谢规律的系统认知, 再通过植物代谢组学、转录组学、蛋白质组学和基因组学的整合, 有助于人们从整体水平上把握植物胁迫应答机制, 进而应用于植物抗逆性改良, 保障其生产力的提高与稳定。

**致谢** 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAI-06A18-16)资助。

## 参考文献

- Bailey NJ, Oven M, Holmes E, Nicholson JK, Zenk MH (2003). Metabolomic analysis of the consequences of cadmium exposure in *Silene cucubalus* cell cultures via <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and chemometrics. *Phytochemistry*, 62, 851–858.
- Boyer JS (1982). Plant productivity and environment. *Science*, 218, 443–448.
- Brindle JT, Antti H, Holmes E, Tranter G, Nicholson JK, Bethell HWL, Clarke S, Schofield PM, McKilligin E, Mosedale DE, Grainger DJ (2002). Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using <sup>1</sup>H-NMR-based metabonomics. *Nature Medicine*, 8, 1439–1444.
- Carmo-Silva AE, Keys AJ, Beale MH, Ward JL, Baker JM, Hawkins ND, Arrabaca MC, Parry MAJ (2009). Drought stress increases the production of 5-hydroxytryptamine in two C<sub>4</sub> grasses. *Phytochemistry*, 70, 664–671.
- Cook D, Fowler S, Fiehn O, Thomashow MF (2004). A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low-temperature metabolome of *Arabidopsis*.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 15243–15248.
- Cramer GR, Ergul A, Grimplet J, Tillett RL, Tattersall EAR, Bohlman MC, Vincent D, Sonderegger J, Evans J, Osborne C, Quilici D, Schlauch KA, Schooley DA, Cushman JC (2007). Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Functional & Integrative Genomics*, 7, 111–134.
- Dai H, Xiao CN, Liu HB, Tang HR (2010). Combined NMR and LC-MS analysis reveals the metabonomic changes in *Salvia miltiorrhiza* Bunge induced by water depletion. *Journal of Proteome Research*, 9, 1460–1475.
- Dan M (淡墨), Gao XF (高先富), Xie GX (谢国祥), Liu Z (刘忠), Zhao AH (赵爱华), Jia W (贾伟) (2007). Application of metabolomics in research of plant metabolites. *China Journal of Chinese Meteria Medica* (中国中药杂志), 32, 2337–2341. (in Chinese with English abstract)
- Deluc LG, Quilici DR, Decendit A, Grimplet J, Wheatley MD, Schlauch KA, Merillon JM, Cushman JC, Cramer GR (2009). Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *BMC Genomics*, 10, 212–244.
- Fiehn O (2003). Metabolic networks of *Cucurbita maxima* phloem. *Phytochemistry*, 62, 875–886.
- Foito A, Byrne SL, Shepherd T, Stewart D, Barth S (2009). Transcriptional and metabolic profiles of *Lolium perenne* L. genotypes in response to a PEG-induced water stress. *Plant Biotechnology Journal*, 7, 719–732.
- Fumagalli E, Baldoni E, Abbruscato P, Piffanelli P, Genga A, Lamanna R, Consonni R (2009). NMR techniques coupled with multivariate statistical analysis: tools to analyse *Oryza sativa* metabolic content under stress conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195, 77–88.
- Gong Q, Li P, Ma S, Indu Rupassara S, Bohnert HJ (2005). Salinity stress adaptation competence in the extremophile *Thellungiella halophila* in comparison with its relative *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, 44, 826–839.
- Grimplet J, Wheatley MD, Jouira HB, Deluc LG, Cramer GR, Cushman JC (2009). Proteomic and selected metabolite analysis of grape berry tissues under well-watered and water-deficit stress conditions. *Proteomics*, 9, 2503–2528.
- Guo B (郭宾), Dai RK (戴仁科) (2007). The process of metabolomics and its research strategy and analysis method. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology* (中国卫生检验杂志), 17, 554–563. (in Chinese)
- Hernandez G, Ramirez M, Valdes-Lopez O, Tesfaye M, Graham MA, Czechowski T, Schlereth A, Wandrey M, Erban A, Cheung F, Wu HC, Lara M, Town CD, Kopka J, Urdavari MK, Vance CP (2007). Phosphorus stress in

- common bean: root transcript and metabolic responses. *Plant Physiology*, 144, 752–767.
- Holmes E, Antti H (2002). Chemometric contributions to the evolution of metabonomics: mathematical solutions to characterising and interpreting complex biological NMR spectra. *Analyst*, 127, 1549–1557
- Hou FY (侯夫云), Zhang LM (张立明), Wang QM (王庆美), Li AX (李爱贤), Zhang HY (张海燕), Dong SX (董顺旭) (2006). The molecular mechanism of plant tolerance under abiotic stress. *Molecular Plant Breeding* (分子植物育种), 26(6), 158–161. (in Chinese with English abstract).
- Jahangir M, Abdel-Farid IB, Choi YH, Verpoorte R (2008). Metal ion-inducing metabolite accumulation in *Brassica rapa*. *Journal of Plant Physiology*, 165, 1429–1437.
- Johnson HE, Broadhurst D, Goodacre R, Smith AR (2003). Metabolic fingerprinting of salt-stressed tomatoes. *Phytochemistry*, 62, 919–928.
- Jozef K, Bořivoj K, Josef H, Martin B (2010). Effect of copper and salicylic acid on phenolic metabolites and free amino acids in *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae). *Plant Science*, 178, 307–311.
- Kaplan F, Kopka J, Haskell DW, Zhao W, Schiller KC, Gatzke N, Sung DY, Guy CL (2004). Exploring the temperature stress metabolome of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 136, 4159–4168.
- Kaplan F, Kopka J, Sung DY, Zhao W, Popp M, Porat R, Guy CL (2007). Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of *Arabidopsis* reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content. *Plant Journal*, 50, 967–981.
- Kieffer P, Planchon S, Oufir M, Ziebel J, Dommes J, Hoffmann L, Hausman JF, Renaut J (2009). Combining proteomics and metabolite analyses to unravel cadmium stress-response in poplar leaves. *Journal of Proteome Research*, 8, 400–417.
- Kim JK, Bamba T, Harada K, Fukusaki E, Kobayashi A (2007). Time-course metabolic profiling in *Arabidopsis thaliana* cell cultures after salt stress treatment. *Journal of Experimental Botany*, 58, 415–424.
- Maier W, Schmidt J, Wray V, Walter MH, Strack D (1999). The arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, induces the accumulation of cyclohexenone derivatives in tobacco roots. *Planta*, 207, 620–623.
- Mane SP, Robinet CV, Ulanov A, Schafleitner R, Tincopa L, Gaudin A, Nomberto G, Alvarado C, Solis C, Bolivar LA, Blas R, Ortega O, Solis J, Panta A, Rivera C, Samolski I, Carbajulca DH, Bonierbale M, Pati A, Heath LS, Bohnert HJ, Grene R (2009). Molecular and physiological adaptation to prolonged drought stress in the leaves of two Andean potato genotypes. *Functional Plant Biology*, 35, 669–688.
- Mittler R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7, 405–410.
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, van Breusegem F (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9, 490–498.
- Morsy MR, Jouve L, Hausman JF, Hoffmann L, Stewart JM (2007). Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. *Plant Physiology*, 164, 157–167.
- Nicholson JK, Connelly J, Lindon JC, Holmes E (2002). Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1, 153–161.
- Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E (1999). Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica*, 29, 1181–1189.
- Nikiforova VJ, Daub CO, Hesse H, Willmitzer L, Hoefgen R (2005a). Integrative gene-metabolite network with implemented causality deciphers informational fluxes of sulphur stress response. *Journal of Experimental Botany*, 56, 1887–1896.
- Nikiforova VJ, Kopka J, Tolstikov V, Fiehn O, Hopkins L, Hawkesford MJ, Hesse H, Hoefgen R (2005b). Systems rebalancing of metabolism in response to sulfur deprivation, as revealed by metabolome analysis of *Arabidopsis* plants. *Plant Physiology*, 138, 304–318.
- Shinozaki K, Sakakibara H (2009). Omics and bioinformatics: an essential toolbox for systems analyses of plant functions beyond 2010. *Plant and Cell Physiology*, 50, 1177–1180.
- Shulaev V, Cortes D, Miller G, Mittler R (2008). Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*, 132, 199–208.
- Sobhanian H, Motamed N, Jazii FR, Nakamura T, Komatsu S (2010). Salt stress induced differential proteome and metabolome response in the shoots of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae), a halophyte C<sub>4</sub> plant. *Journal of Proteome Research*, 9, 2882–2897.
- Tiessen A, Hendriks JHM, Stitt M, Branscheid A, Gibon Y, Farré EM, Geigenberger P (2002). Starch synthesis in potato tubers is regulated by post-translational redox modification of ADP-glucose pyrophosphorylase: a novel regulatory mechanism linking starch synthesis to the sucrose supply. *Plant Cell*, 14, 2191–2213.
- Urano K, Maruyama K, Ogata Y, Morishita Y, Takeda M, Sakurai N, Suzuki H, Saito K, Shibata D, Kobayashi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2009). Characterization of the ABA-regulated global responses to

- dehydration in *Arabidopsis* by metabolomics. *Plant Journal*, 57, 1065–1078.
- Valliyodan B, Nguyen HT (2006). Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 189–195.
- Widodo JHP, Patterson JH, Newbigin E, Tester M, Bacic A, Roessner U (2009). Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 60, 4089–4103.
- Xie ZM (谢宗铭), Dong YM (董永梅), Chen SY (陈受宜) (2008). Molecular and physiological mechanisms of higher plant abiotic stress adaptation. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学), 36, 7996–7999. (in Chinese with English abstract).
- Xu GW (许国旺) (2008). *Metabolomics—Methods and Applications* (代谢组学方法与应用) 1st edn. Science Press, Beijing. 1–4. (in Chinese)
- Xu GW (许国旺), Lu X (路鑫), Yang SL (杨胜利) (2007). Recent advances in metabonomics. *Acta Academiae Medicinae Sinicae* (中国医学科学院学报), 29, 701–711. (in Chinese with English abstract)
- Yin H (尹恒), Li SG (李曙光), Bai XF (白雪芳), Du YG (杜昱光) (2005). Research advances in plant metabolomics. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), 22, 532–540. (in Chinese with English abstract)
- Zhang LJ (张立军), Liang ZS (梁宗锁) (2007). *Plant Physiology* (植物生理学) 1st edn. Science Press, Beijing. 378–405. (in Chinese)

责任编辑: 麻 密 责任编辑: 李 敏