

· 专题论坛 ·

植物离子组学及其研究方法与应用进展

曹继容¹, 钟广炎², 王其兵^{3*}

¹西南大学园艺园林学院, 重庆 400715; ²广东省农业科学研究院果树研究所, 广州 510640

³中国科学院植物研究所, 北京 100093

摘要 植物离子组学是一门研究植物体内元素组成、分布与累积以及这些元素随植物生理状况、生物与非生物刺激、发育阶段、生境和遗传等因素的变化及其机制的新兴学科。离子组学在数量遗传性状定位、生理状况判别以及植物体内调控元素吸收、运输和贮藏的潜在基因鉴别等方面至关重要。该文综述了离子组学的基本概念、研究方法和主要研究进展, 并就离子组学的研究热点、面临的挑战和未来发展趋势作了简要评述。

关键词 元素分析, 功能基因组学, 高通量谱系分析, 矿质养分, 植物离子组

曹继容, 钟广炎, 王其兵 (2014). 植物离子组学及其研究方法与应用进展. 植物学报 49, 504–513.

长期以来, 植物中矿质元素特征以及养分谱与遗传和环境的关系是生态学(Chapin, 1980; Aerts and Chapin III, 1999)、农学(Marschner, 2012)和遗传学(Conn and Gilliam, 2010; White et al., 2012)等研究领域的核心问题之一。随着从基因到生态系统不同尺度上生物学的深入和生物信息的大量积累, 近年来, 分子生物学和组学(omics)的理论与技术已广泛渗透到植物矿质养分研究领域。基于生物系统的完整性和复杂性, 从植物体内元素的整体来探讨养分的吸收、转运与贮藏及其基因控制网络已成为当前植物学一个新的重要研究方向。现代高通量元素分析技术(如电感耦合等离子体质谱/发射光谱技术)的不断普及, 使生物样品多元素同步快速精确测定成为现实, 加上先进的信息和系统科学新理论的发展, 促进了基因组学与植物营养学研究的结合与互补, 逐步发展形成了一门组学即植物离子组学(ionomics)(Lahner et al., 2003)。植物离子组学被视为后基因组时代继转录组学(transcriptomics)、蛋白质组学(proteomics)及代谢组学(metabonomics)之后植物学领域功能基因组研究的第4大支柱和全新的重要手段(Salt, 2004; Colmsee et al., 2012; Parent et al., 2013)。因此, 植物离子组学研究具有良好的发展前景。目前, 离子组学的方法不仅广泛应用于植物营

养、遗传、生理、农产品安全与营养品质等研究领域, 而且在基因功能分析、离子代谢基因调控网络, 乃至发育、生理过程和病理解析等更广泛而复杂的基因调控网络方面都取得了一定的进展(Baxter, 2010; White and Brown, 2010; Baxter and Dilkes, 2012; Ehrhardt and Frommer, 2012; Baxter et al., 2013; De La Fuente et al., 2013)。离子组学正日益成为后基因组时代解析植物功能变化与调控的有效分析手段。

1 植物矿质营养、金属组与离子组

1840年, 德国著名化学家李比希(Justus von Liebig, 1803–1873)建立了矿质营养学说, 确立了植物生长所需要的无机营养来自土壤的观点, 奠定了植物营养学理论的基础。现已确定的植物必需营养元素有17种, 包括来自大气和水的非矿质必需元素碳(C)、氢(H)和氧(O), 以及14种矿质必需元素氮(N)、磷(P)、钾(K)、钙(Ca)、镁(Mg)、硫(S)、氯(Cl)、硼(B)、铁(Fe)、锰(Mn)、锌(Zn)、铜(Cu)、钼(Mo)和镍(Ni)(Marschner, 2012)。非矿质必需元素C、H和O占植物干重的90%以上, 其余14种元素因主要源自土壤矿质, 故称为矿质元素。植物对N、P、K、Ca、Mg

收稿日期: 2014-04-09; 接受日期: 2014-06-09

基金项目: 国家自然科学基金(No.30970495, No.31128002)和国家国际科技合作专项(No.2012DFA30610)

* 通讯作者。E-mail: qwang@ibcas.ac.cn

和S的需求量相对较大,各占植物体干重的量介于0.1%–1.5%之间,属于大量矿质元素;而植物对Cl、B、Fe、Mn、Zn、Cu、Mo和Ni的需要量极微,各占植物体干重为 $1\times 10^{-5}\%$ – $1\times 10^{-2}\%$,属微量元素。不管是大量元素还是微量元素,任何一种矿质元素的匮乏或过剩超过一定阈值或偏离最佳值都将导致植物生长发育异常,从而降低植物的生产力和经济产量(武维华, 2008)。另外,植物良好的生长和发育也极大地依赖于上述矿质元素的均衡供应(Williams and Salt, 2009)。

植物通常由根系从土壤溶液中获取所需的矿质养分。植物有效矿质养分一般是水溶性的,以离子的形式存在,易被根系吸收。根在吸收土壤中矿质离子的过程中,首先通过交换吸附把离子吸附在根部表皮细胞表面,然后通过质外体或共质体途径,在扩散作用下进入皮层内部,同时由呼吸作用提供能量,通过主动运输进入根细胞内部,并进入根组织维管束的木质部导管,木质部导管中的矿质元素随木质部汁液在蒸腾拉力和根压的共同作用下向上运输至植物的地上部,有些离子可从木质部横向运输到韧皮部(Marschner, 2012)。根对离子的吸收是有选择性的,而且吸收矿质元素和吸收水分是相对独立的。植物根系也能吸收具细胞毒性的阳离子,但须以螯合物的形式吸收。

目前,采用敏感的分析手段在植物体中已经发现了70多种元素,这意味着进入植物体内的元素并非都是植物生长所必需的(Marschner, 2012)。大量的非必需元素一部分有益于植物的生长发育,另一部分则可能对植物产生毒害作用,可见理解全部元素的功能和动态对于理解生命系统至关重要。生物需要利用多种矿质元素来维持正常的生命活动。与蛋白质组的概念相对应, Outten和O'Halloran(2001)与Williams等(2001)提出了金属组(metallome)的概念,即细胞或组织内全部金属和类金属元素的总和。Lahner等(2003)扩展了金属组的内涵,把具有重要生物学意义的非金属元素氮、磷、硫、硒、氯和碘也包括了进来,并首次定义了离子组(ionome),即一个有机体内所有矿质养分和微量元素的总和。离子组实质上是细胞和有机体的无机组成部分(Salt et al., 2008; Baxter, 2009),亦可视为给定时间和空间上代谢组的无机组成部分,其组成不仅取决于植物进化、遗传、发育和

环境等因素,而且取决于从土壤到植物的多个过程,如土壤内的运移、根系吸收、体内运输与再分配及种子中的积累等,这一系列相互关联的过程使离子组在植物器官中的贮存变成了一个非常复杂的过程(Broadley et al., 2010; Eggert and von Wirén, 2013; McDowell et al., 2013)。

2 植物离子组学及其研究内容

植物离子组学是利用现代高通量元素分析手段,并结合生物信息学和功能基因组学等技术分析植物体内离子的含量、分布、转运及代谢规律等的一门学科。其中包括有机体内元素的组成测定及这些元素随植物生理状况、生物与非生物刺激、发育阶段、生境和遗传等因素的变化及其机制(Singh et al., 2013)。

植物离子组学的核心内容是以整体论方法来研究植物体内元素的组成及其相互作用,以及植物与环境间的相互作用网络,从而有助于对直接或间接调节离子组的基因和基因网络进行功能分析(Thompson et al., 2009; Baxter, 2010; Singh et al., 2013)。某一元素在植物体内的累积往往是一个受控于某一基因网络的复杂过程,基因网络对元素的吸收、结合、运输和截获至关重要,而且许多基因和生理过程不是仅影响一种元素。因此,为了理解这些元素是如何被调控的,需要测定细胞、组织或有机体中尽可能全的元素组成(即离子组),而这些元素所共享的基因网络是随植物物种及其生长环境的变化而变化的。新的基因分型技术与离子组学相结合可以快速鉴定植物体内控制离子累积的基因(Baxter, 2009)。

3 植物离子组学研究方法

简单地说,离子组学的研究流程可分为生物分析和数据分析2个连续的步骤。生物分析的实验方案与实施内容主要涉及样品收集、样品处理和测试分析。下面首先对生物分析所常用的技术作简要概述,然后再归纳数据分析的主要进展。

3.1 植物离子组学需要的样品分析技术

通过对植物整株、组织、甚至单个细胞样品中元素含量进行测定获取离子组数据,是离子组学研究的基础。生命科学的进步往往受益于分析技术的重大革新

(Belcher et al., 1982; Zubritsky, 2002; van der Greef et al., 2004; Becker and Jakubowski, 2009)。离子组学研究首先必须解决的是分析方法上的理论和技术问题。植物离子组学研究技术对矿质元素的分析力求符合高选择性、高灵敏度和高通量的生物分析特点,快速和精确的解析能力,以及原位、动态和多元素同步的测试要求,并力求满足分析方法的测量效度、信息含量和分析效率之间的协调与平衡。

植物中的矿质元素有近百种。目前常用的元素定量分析方法,根据其原理主要分为2类: (1) 基于原子和电子属性(发射和吸收荧光光谱)的技术,如原子吸收光谱法、离子束分析、电感耦合等离子体法、电感耦合等离子体质谱联用法和X-射线荧光法; (2) 利用元素的原子核特性(放射性或原子序数)发展起来的测定方法,如中子活化法。

3.1.1 电感耦合等离子体

等离子体(plasma)是一种在一定程度上被电离的气体(电离度大于0.1%),其中电子和阳离子的浓度处于平衡状态,呈电中性。电感耦合等离子体(inductively coupled plasma, ICP)是高频电流经感应线圈产生高频电磁场,经过其中的工作气体形成等离子体。ICP呈现火焰状放电,并具有结构呈环形、温度高、电子密度高和惰性气氛等特点,因此其蒸发、原子化、激发和电离的性能突出,是目前用于电感耦合等离子体发射光谱分析仪(inductively coupled plasma optical emission spectrometer, ICP-OES)的理想光源(Djingo et al., 2013)。ICP-OES方法灵敏度高、检测限低($\times 10^{-6}$)、样品消耗少(毫克级)且动态线性范围较宽,满足离子组学对高通量多种元素同步分析的要求。有些元素(如铈、钼、钨、钨和稀土元素)具相似化学性质且难以分别分析,但它们的光谱性质差异较大,因此可采用ICP-OES方法进行分析。此外,电感耦合等离子体质谱技术(inductively coupled plasma mass spectrometer, ICP-MS)是目前在离子组学研究中使用的最广泛的一种方法。ICP-MS不仅具有ICP-OES方法的优点,而且其灵敏度比ICP-OES方法更高($\times 10^{-9}$),并具有同位素和形态分析等能力。可以说,地球上几乎所有的元素都可以用ICP-MS方法进行分析。ICP-OES和ICP-MS都已在离子组学研究中获得了成功应用。如Eide等(2005)使用ICP-OES方法对约

10 000份酵母样品中的元素进行了分析,并从中获得大量酵母离子组图谱信息。ICP-MS方法在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)离子组谱分析与建立过程中发挥了重要作用(Lahner et al., 2003; Baxter et al., 2007, 2008, 2012)。

3.1.2 原子吸收光谱法

原子吸收光谱法(atomic absorption spectrometry, AAS)是一种根据特定物质基态原子蒸气吸收特征辐射来对元素进行定量分析的方法(L'vov, 2005)。该方法在20世纪60年代后迅速发展,不断优化并日臻完善(Oreshkina and Tsizin, 2014),现在已可用于70多种元素的直接测定,是测定微量或痕量元素的重要技术。

样品中待测元素的原子化是原子吸收光谱法分析的关键步骤之一。原子化过程由原子化器实现。原子化器的功能是提供能量,使样品干燥、蒸发并原子化,产生原子蒸气。原子化器有2种类型,即火焰原子化器(flame atomizer)和电热(石墨炉)原子化器(electrothermal atomizer),相应的方法分别称之为火焰原子吸收光谱法(flame atomic absorption spectrometry, FAAS)和电热原子吸收光谱法(electrothermal atomic absorption spectrometry, ETAAS)。其中,FAAS方法是由化学火焰(即空气/ C_2H_2 或 N_2O/C_2H_2 火焰)热能提供能量,使待测元素原子化解离为气态基态原子。在测定特定元素含量时,该元素的锐线光源(空心阴极灯)发射出特征辐射,通过原子化区时,待测元素的特征辐射被吸收而衰减,经过色散系统和检测系统后测得吸光度,最后根据吸光度与被测定元素浓度之间的线性关系,对该元素进行定量分析。FAAS方法的特点是基体效应及记忆效应较小,雾化和原子化效率低。

ETAAS和FAAS两种方法的原理差异主要在于所采用的原子化器不同。ETAAS的敏感度比FAAS高2–3个数量级,且待测样品不受其存在状态的限制,液态、气态或固态样品均可直接测定,因此更适于复杂介质中痕量元素的定量分析。现代原子吸收分光光度计中采用原子吸收计算机工作站,整个测定过程已实现全自动化,操作大大简化,并可确保测量精度。但对于离子组学研究,该方法也存在一定的局限性,即可同时测定的元素数量较少。

3.1.3 X-射线荧光分析法

X-射线荧光光谱分析法(X-ray fluorescence spectroscopy, XRF)是利用初级X-射线光子或其它微观粒子激发待测物质中的原子,使之产生荧光(次级X-射线),从而进行物质成分分析和化学态的研究(章连香和符斌, 2013)。该方法的基本原理是当物质中的原子受高能辐射激发后,放射出该原子所具有的特征X-射线,特征X-射线波长倒数的平方根与元素的原子序数成直线关系,其强度的大小与样品中元素的浓度有关,因此根据特征谱线的波长及能量即可定量测定样品中各元素的含量(Mantler et al., 2006)。

XRF是现代元素分析技术中的一种重要且可靠的方法。该方法的优点是以非破坏性方式快速分析样品;还可用全反射方式检测样品表面的极微量物质;测定范围广,可测范围为 10^{-3} – 10^3 mg·g⁻¹,即从铍(Be)到铀(U)之间的所有元素(Mantler et al., 2006)。Delhaize等(1993)应用XRF技术分析了10万余株拟南芥突变体幼苗中Na、Mg、P、S、Cl、K、Ca、Mn、Fe和Zn元素的含量,并成功筛选出离子组发生改变的3个突变体,这3个突变体中P或Mn元素的累积表现异常。

3.1.4 离子束分析法

离子束分析(ion beam analysis, IBA)是一种强有力的且可用于元素定量的核分析技术。通过射线和物质中的原子或原子核相互作用,采用现代核物理实验技术分析物质的元素组分与结构的高灵敏度分析方法,统称为核分析技术。离子束分析法是利用一束经加速器加速而高速运动的带电粒子撞击目标待测样品,使之产生辐射 γ -射线和X-射线,辐射的能量和目标材料中的元素组成与含量成一定比例(Wang and Nastasi, 2010)。

离子束分析法灵敏度高,分析元素范围广且可多元素同步分析。此外,该方法还具有样品用量少、分析时间短和非破坏性等特点(Abraham, 2004; Šmit, 2005)。因此,离子束分析法在离子组学研究中具有突出的优势和应用价值。但是该方法设备费用较高,目前难以普及。

3.1.5 中子活化分析法

中子活化分析(neutron activation analysis, NAA)是

一种重要的非破坏性多元素分析技术,在植物元素测定中的应用已有40多年的历史(Nadkarni and Morrison, 1973)。NNA的基本原理是当物质受到具有一定能量的中子或质子辐射时,原子核被活化并发生核反应,继而发射 γ -射线,通过仪器分析所发射 γ -射线特征谱线的强弱可以定量分析物质的元素组成。因此,NNA是一种放射分析化学方法。NNA完整的分析过程主要包括试样和标准制备、活化、放射化学分离、核辐射测量及数据处理5步。

NNA的优点是可测定元素范围广,对原子序数1–83之间的所有元素都能测定;灵敏度极高,准确度和精密性也很高,大多数元素的分析灵敏度可达 10^{-6} – 10^{-13} g·g⁻¹;具有多成分(30–40种元素)同时分析的功能。虽然NNA在微量元素分析中应用广泛,但其操作技术复杂且分析周期较长,特别是所用仪器设备昂贵,故在我国尚未普遍应用。

3.1.6 同步X-射线荧光显微成像技术

同步辐射X-射线照射可激发物质的分子或原子,而退激后该物质所发出荧光的波长取决于分子或原子的能级结构。X-射线荧光分析法就是基于荧光的波长和强度来确定发出该荧光的元素种类及含量(马礼敦和杨福家, 2001)。

同步辐射X-射线荧光成像技术(synchrotron radiation X-ray fluorescence, SRXRF)是目前唯一能同时进行多元素定量分析的亚微米级分辨率的成像技术。该技术可以定量给出金属元素在物体中的空间分布,在生物、环境、考古和材料等众多领域具广泛的应用前景(Gonchar et al., 2001; Regvar et al., 2011; Tian et al., 2014)。使用该技术对同种植物大量样品的离子组表型进行分析,在相应的突变体识别中具有一定的应用价值。

同步X-射线荧光显微技术(synchrotron radiation X-ray fluorescence microscopy)是一种可视化测定植物组织中金属元素含量与空间分布的方法。该技术可实现对多元素同步、高分辨率和高敏感性测量,空间分辨率可达100 nm,穿透深度约为1 000 μ m(Punshon et al., 2009);而且无需细胞切片即可分析整个细胞,特别适用于生物样品的分析(Fahrni, 2007)。目前,这项技术已经广泛应用于植物组织内元素的分布、定位与追踪研究,是进行活体内金属元素定位分

布研究的有力手段(Tian et al., 2014)。

3.2 离子组学数据管理与分析

随着高通量元素分析技术的发展与应用,植物离子组分析产生的是信息含量丰富的多维数据。面对海量的生物信息,需对数据的存储、管理和获取等数据管理标准进行统一,并运用化学计量学理论和多元统计分析的新方法,对采集的多维原始信息进行降维、归类分析和深度挖掘,从中归纳出有用信息。这一过程对离子组学分析结果的最终解释至关重要。

普度离子组学信息管理系统(Purdue Ionomics Information Management System, PiiMS)(www.purdue.edu/dp/ionomics)是最早报道的离子组学专业信息管理系统(Baxter et al., 2007),为离子组数据的存储、管理和获取等信息模式化管理提供了参考。该系统已收录6万余份拟南芥(包括自然品种、突变体和重组自交系群体)组织样本中16种元素(磷、钾、钙、镁、钠、铁、硼、锰、锌、铜、镍、钼、钴、镉、硒和砷)的含量数据。PiiMS中的数据完全开放获取,任何感兴趣者均可登录该系统查询或下载所需信息。目前,有些研究人员通过对这些数据进行对比分析,筛选出了部分感兴趣的离子组突变体,并成功应用于植物生理状况、图位克隆和基因功能等相关研究中(Baxter et al., 2008, 2012, 2014; Baxter and Dilkes, 2012)。当然,该系统还处在不断完善中,越来越多的植物(如水稻(*Oryza sativa*)和玉米(*Zea mays*)等)的离子组数据将被充实到系统中,这为深入开展植物离子组学研究提供了极大的便利(Baxter et al., 2012, 2013)。

离子组与代谢组之间交叉明显。例如,某些含有非金属元素(如氮、磷和硫等)的化合物可同时归于离子组和代谢组。离子组可视为代谢组的无机组成部分,主要研究生物体中的离子及其无机化合物(Lahner et al., 2003)。因此,代谢组学中运用较多的数据分析方法通常也适用于离子组学的数据分析,如主成分分析(principal component analysis, PCA)、层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和非线性影射(nonlinear mapping, NLM)等。目前在离子组学分析中,PCA是较为常用的方法之一。其中PCA得分图(score plot)和载荷图(loading plot)是PCA分析结果的主要表现形式,前者可提供样品的分类信息;后者有

助于识别可作为生物标记物的变量。

4 植物离子组学的应用进展

4.1 QTLs/基因鉴别

数量性状基因座(quantitative trait loci, QTLs)是一段含主控或联系数量性状基因的DNA。通过分子标签(AFLP和SNP等)可将这些控制数量性状的基因定位到基因组的特定区域上,这是对主控性状变异实际基因进行鉴定与测序的先行步骤。

QTL定位与制图已被广泛应用于遗传变异与离子组表型变异之间的关联建立上,并在甄别调控植物离子吸收、转运与贮藏的潜在基因和基因网络方面发挥了重要作用(Liu et al., 2009; Buescher et al., 2010; Ding et al., 2010; Norton et al., 2010; Baxter et al., 2014)。QTL制图法的主要优势是研究者不需要具备所研究离子途径的生理与生物学相关知识。目前应用重组自交系(recombinant inbred lines, RILs)相继在不同植物中获得了大量控制离子组性状的各种QTLs,包括种子和地上部累积磷(Bentsink et al., 2003)、氮素利用效率(Rauh et al., 2002; Loudet et al., 2003b; Hirel et al., 2007)、铝毒耐性(Hoekenga et al., 2006)、地上部累积钾(Harada and Leigh, 2006)和种子中累积硫(Loudet et al., 2007)等QTLs。这些通过QTLs制图获得的关联区段(即遗传标记(genetic markers))可进一步分离和克隆,以用于应答基因的鉴别与分析。结合基因组学、分子生物学和各类日臻完善的分子研究手段(如高通量测序、基因芯片和实时定量PCR等),应答基因的鉴别与分析过程已变得非常快速、简单且准确。这些控制养分离子吸收与累积的QTLs分析、主效QTL的精细定位以及候选基因的确定,将有助于解析植物离子平衡网络(Lowry et al., 2012)。应用全基因组芯片分析技术,Induri等(2012)从杨树(*Populus trichocarpa*)的16个耐镉QTLs中分离出9种镉应答基因。Lahner等(2003)通过对比分析18种元素在13 000个拟南芥野生型和突变体植株中所构建的离子组谱,筛选出了51个离子组突变体,并发现这些突变体中不同元素含量的变化趋势存在差异。例如,钙、铁和钴等元素在大多数突变体中的含量比野生型中低;其它元素的含量在突变体中则比在野生型中高。这一结果表明植物体内各

离子的平衡存在相互关联,同时也说明多种元素可能共享同一部分基因调控。

4.2 基因功能验证

揭示某一基因在养分传输中的具体功能是植物生物学的一大挑战,也是植物基因功能研究中的重要课题之一。离子组学提供了一个高通量快速分析植物离子组表型的平台。利用离子组学的研究方法可快速鉴定某一基因型的离子组表型变异,为探究调控植物离子平衡的基因和基因网络提供了有价值的线索(丁广大等, 2010)。另外,利用这一平台并结合核苷酸序列改变技术可认识特定基因在养分传输中的作用。通常的研究策略是利用诱变剂改变基因组或将特定基因导入一个细胞或个体中,通过诱变基因或导入基因的表达情况,观察细胞的生物学行为或个体表型遗传性状的变化,从而鉴定特定基因的功能。Gong等(2004)运用基于基因芯片的基因定位分离技术,从拟南芥的一个钠离子过量累积突变体*fn1148*中分离出突变基因*AtHKT1*,并通过缺失突变实验证实*AtHKT1*基因的突变是导致突变体*fn1148*钠离子过量累积的直接原因。Borghi等(2011)通过快中子诱变拟南芥的实验表明,基因*CPR5*的功能缺失主要引起叶片低钾。Munns等(2012)通过QTL导入发现小麦(*Triticum aestivum*)品系抗钠等位基因*HKT1*,并进一步证明该等位基因的功能是使植物将钠从木质部汁液中抽出以阻止其向地上部再分配。

4.3 生理状态评价

植物体内的离子与生理过程存在着相互作用,表现在植物体内的离子组成及含量受到多个生理过程的共同调控,而生理过程的实现也离不开多种离子的参与。养分是从土壤通过植物根部进入植物体,在植物体内要经过运输、利用与贮存、再分配等一系列复杂的过程,这其中任何一个环节的改变都可能会导致植物的离子组分发生变化(Chao et al., 2011)。并且,在特定的发育时期或在逆境条件下,植物体内离子组都可能发生相应的变化。因此,离子组的改变可以反映植物特定的生理状况(Conn and Gilliam, 2010)。

模式植物拟南芥在生物或非生物胁迫下,整株植物中 Ca^{2+} 含量升高(Kudla et al., 2010);在缺氮环境下,氮、氯离子和磷酸根离子含量协同变化(Loudet et

al., 2003a)。在不同铁营养条件下,通过拟南芥叶片离子组与生理应答(即Fe和P的内稳性)间统计模型的建立与分析,证明离子组特性能可靠地检测植物对环境或遗传干扰的生理响应(Baxter et al., 2008)。当 Cu^{2+} 供应过量时,小麦苗期地上部的铁、锰、锌和铜等微量元素含量与生长在正常土壤环境中的小麦相比有明显的变化(Bálint et al., 2007)。植物受病原菌侵染后其生理状况的改变也可通过植物离子组的特征变化反映出来(De La Fuente et al., 2013)。这对制定病害防治策略具有十分重要的意义。

5 研究展望

离子组学的理论与方法不仅已被应用于遗传、基因功能分析、离子代谢基因调控网络和植物生理状况等研究领域,而且在其它领域(如植物物种系统发育(White et al., 2012)及植物正向与反向遗传学研究(Baxter, 2010; Ziegler et al., 2013))也取得了一定的研究进展。然而,作为一门新兴学科,植物离子组学仍有许多未解之谜(如离子平衡调控途径及调控网络),新的研究手段特别是现代分析与生物信息技术的应用有待开拓。另外,值得关注的是,离子组与植物疾病间存在着密切关联,而且大多数植物的必需矿质元素都在不同程度上影响着植物疾病的严重性(Zhao et al., 2013)。然而,植物病理学在离子组领域的应用几乎还是空白。植物疾病,特别是农作物病害,严重影响着农业生态系统的可持续性。因此,运用离子组学的理论和研究方法,深入分析不同物种与病原微生物间的相互作用以及病原微生物的致病机理,不仅为养分离子在植物病理中的作用及其机制提供了有价值的理论依据,而且为农业管理和病害防治提供了重要的信息支持。

由于植物的固着性,不同植物在适应不同土壤环境(如不同矿质营养和毒性元素的生物有效性和水分状态等)的长期过程中演化出了不同的遗传和分子适应机理(王奇峰等, 2010; 万芹方等, 2011; 董萌等, 2013; Wu et al., 2013)。结合离子组学、基因组学、遗传学、分子生物学、生物信息学以及深度测序技术等各种手段,研究植物在矿质元素吸收与积累以及不同土壤逆境适应能力方面的自然变异及其内在的遗传基础;同时开展人工突变体的筛选,利用经典遗传

学研究手段鉴定参与调节植物矿质营养和毒性元素吸收与累积以及逆境适应的基因和基因网络,通过分子生物学、细胞生物学以及生物化学等手段研究相关基因的功能和作用机理。这些研究不仅有助于理解植物演化和物种形成的遗传机制,而且在有效利用边际土壤(Baxter and Dilkes, 2012)、提高农作物的水肥利用效率、增加农作物产量、改善粮食营养品质以及治理环境污染等多个方面都具有重要意义。

离子组学研究需要对大量的离子组数据在深度上进行挖掘,而目前生物信息学在离子组学研究领域的应用仍十分有限。随着离子组学研究技术的进步,加之基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学的不断发展,数据信息大量积累,数据库的有效管理以及化学信息学方法与数据分析手段的创新,我们将能更深入地理解离子组的基因调控网络及其生物学功能。离子组学整体分析平台的提升是推进离子组学研究的关键环节。整合离子组学与其它组学的数据库信息,构建系统生物学信息库,最终实现对生命过程的定量研究和复杂生物网络的系统认识,将是离子组学研究的重要发展趋势。

参考文献

- 丁广大, 刘佳, 石磊, 徐芳森 (2010). 植物离子组学: 植物营养研究的新方向. 植物营养与肥料学报 **16**, 479–484.
- 董萌, 赵运林, 库文珍, 周小梅, 李燕子 (2013). 菱蒿对镉的富集特征及亚细胞分布特点. 植物学报 **48**, 381–388.
- 马礼敦, 杨福家 (2001). 同步辐射应用概论. 上海: 复旦大学出版社. pp. 202–215.
- 万芹方, 陈雅宏, 胡彬, 任亚敏, 王亮, 林宏辉, 邓大超, 柏云, 夏传琴 (2011). 植物对土壤中铈的吸收与富集. 植物学报 **46**, 425–436.
- 王奇峰, 易琼, 李昆志, 陈丽梅, 王永雄 (2010). 铝胁迫下柱花草SSH文库构建及表达序列标签分析. 植物学报 **45**, 679–688.
- 武维华 (2008). 植物生理学. 北京: 科学出版社. pp. 96–128.
- 章连香, 符斌 (2013). X-射线荧光光谱分析技术的发展. 中国无机分析化学 **3**(3), 1–7.
- Abraham M (2004). Ion beam analysis in art and archaeology: attacking the power precisions paradigm. *Nucl Instrum Meth B* **219–220**, 1–6.
- Aerts R, Chapin III FS (1999). The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. In: Fitter AH, Raffaelli DG, eds. *Advances in Ecological Research*. San Diego: Academic Press. pp. 1–67.
- Bálint AF, Röder MS, Hell R, Galiba G, Börner A (2007). Mapping of QTLs affecting copper tolerance and the Cu, Fe, Mn and Zn contents in the shoots of wheat seedlings. *Biol Plantarum* **51**, 129–134.
- Baxter I (2009). Ionomics: studying the social network of mineral nutrients. *Curr Opin Plant Biol* **12**, 381–386.
- Baxter I (2010). Ionomics: the functional genomics of elements. *Brief Funct Genomics* **9**, 149–156.
- Baxter I, Dilkes BP (2012). Elemental profiles reflect plant adaptations to the environment. *Science* **336**, 1661–1663.
- Baxter I, Hermans C, Lahner B, Yakubova E, Tikhonova M, Verbruggen N, Chao DY, Salt DE (2012). Biodiversity of mineral nutrient and trace element accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* **7**, e35121.
- Baxter I, Ouzzani M, Orcun S, Kennedy B, Jandhyala SS, Salt DE (2007). Purdue ionomics information management system. An integrated functional genomics platform. *Plant Physiol* **143**, 600–611.
- Baxter IR, Gustin JL, Settles AM, Hoekenga OA (2013). Ionomics characterization of maize kernels in the inter-mated B73 × Mo17 population. *Crop Sci* **53**, 208–220.
- Baxter IR, Vitek O, Lahner B, Muthukumar B, Borghi M, Morrissey J, Guerinot ML, Salt DE (2008). The leaf ionome as a multivariable system to detect a plant's physiological status. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 12081–12086.
- Baxter IR, Ziegler G, Lahner B, Mickelbart MV, Foley R, Danku J, Armstrong P, Salt DE, Hoekenga OA (2014). Single-kernel ionomic profiles are highly heritable indicators of genetic and environmental influences on elemental accumulation in maize grain (*Zea mays*). *PLoS One* **9**, e87628.
- Becker JS, Jakubowski N (2009). The synergy of elemental and biomolecular mass spectrometry: new analytical strategies in life sciences. *Chem Soc Rev* **38**, 1969–1983.
- Belcher R, Burns DT, Thomas JDR (1982). The role of analytical chemistry in academic and industrial chemistry [and discussion]. *Philos Trans R Soc Lond A* **305**, 475–483.
- Bentsink L, Yuan K, Koornneef M, Vreugdenhil D (2003). The genetics of phytate and phosphate accumulation in seeds and leaves of *Arabidopsis thaliana*, using natural

- variation. *Theor Appl Genet* **106**, 1234–1243.
- Borgi M, Rus A, Salt DE** (2011). Loss-of-function of *Constitutive Expresser of Pathogenesis Related Genes5* affects potassium homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* **6**, e26360.
- Broadley MR, Hammond JP, White PJ, Salt DE** (2010). An efficient procedure for normalizing ionomics data for *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol* **186**, 270–274.
- Buescher E, Achberger T, Amusan I, Giannini A, Ochsenfeld C, Rus A, Lahner B, Hoekenga O, Yakubova E, Harper JF, Guerinot ML, Zhang M, Salt DE, Baxter IR** (2010). Natural genetic variation in selected populations of *Arabidopsis thaliana* is associated with ionic differences. *PLoS One* **5**, e11081.
- Chao DY, Gable K, Chen M, Baxter I, Dietrich CR, Cahoon EB, Guerinot ML, Lahner B, Lu SY, Markham JE, Morrissey J, Han GS, Gupta SD, Harmon JM, Jaworski JG, Dunn TM, Salt DE** (2011). Sphingolipids in the root play an important role in regulating the leaf ionome in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **23**, 1061–1081.
- Chapin FS** (1980). The mineral nutrition of wild plants. *Annu Rev Ecol Syst* **11**, 233–260.
- Colmsee C, Mascher M, Czauderna T, Hartmann A, Schlüter U, Zellerhoff N, Schmitz J, Bräutigam A, Pick TR, Alter P, Gahrtz M, Witt S, Fernie AR, Börnke F, Fahnenstich H, Bucher M, Dresselhaus T, Weber APM, Schreiber F, Scholz U, Sonnewald U** (2012). OPT-IMAS-DW: a comprehensive transcriptomics, metabolomics, ionomics, proteomics and phenomics data resource for maize. *BMC Plant Biol* **12**, 245.
- Conn S, Gilliam M** (2010). Comparative physiology of elemental distributions in plants. *Ann Bot* **105**, 1081–1102.
- De La Fuente L, Parker JK, Oliver JE, Granger S, Brannen PM, Santen EV, Cobine PA** (2013). The bacterial pathogen *Xylella fastidiosa* affects the leaf ionome of plant hosts during infection. *PLoS One* **8**, e62945.
- Delhaize E, Randall PJ, Wallace PA, Pinkerton A** (1993). Screening *Arabidopsis* for mutants in mineral nutrition. *Plant Soil* **155–156**, 131–134.
- Ding GD, Yang M, Hu YF, Liao Y, Shi L, Xu FS, Meng JL** (2010). Quantitative trait loci affecting seed mineral concentrations in *Brassica napus* grown with contrasting phosphorus supplies. *Ann Bot* **105**, 1221–1234.
- Djingova R, Mihaylova V, Lyubomirova V, Tsalev DL** (2013). Multielement analytical spectroscopy in plant ionomics research. *Appl Spectrosc Rev* **48**, 384–424.
- Eggert K, von Wirén N** (2013). Dynamics and partitioning of the ionome in seeds and germinating seedlings of winter oilseed rape. *Metallomics* **5**, 1316–1325.
- Ehrhardt DW, Frommer WB** (2012). New technologies for 21st century plant science. *Plant Cell* **24**, 374–394.
- Eide DJ, Clark S, Nair TM, Gehl M, Gribskov M, Guerinot ML, Harper JF** (2005). Characterization of the yeast ionome: a genome-wide analysis of nutrient mineral and trace element homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genome Biol* **6**, R77.
- Fahrni CJ** (2007). Biological applications of X-ray fluorescence microscopy: exploring the subcellular topography and speciation of transition metals. *Curr Opin Chem Biol* **11**, 121–127.
- Gonchar A, Kolmogorov Y, Dikalova A, Yelinova V, Kondratev V** (2001). Analysis of trace elements responsible for antioxidant protection by SRXFA method. *Nucl Instrum Meth A* **470**, 405–408.
- Gong JM, Waner DA, Horie T, Li SL, Horie R, Abid KB, Schroeder JI** (2004). Microarray-based rapid cloning of an ion accumulation deletion mutant in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**, 15404–15409.
- Harada H, Leigh RA** (2006). Genetic mapping of natural variation in potassium concentrations in shoots of *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* **57**, 953–960.
- Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A** (2007). The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *J Exp Bot* **58**, 2369–2387.
- Hoekenga OA, Maron LG, Piñeros MA, Cançado GMA, Shaff J, Kobayashi Y, Ryan PR, Dong B, Delhaize E, Sasaki T, Matsumoto H, Yamamoto Y, Koyama H, Kochian LV** (2006). *AtALMT1*, which encodes a malate transporter, is identified as one of several genes critical for aluminum tolerance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 9738–9743.
- Induri BR, Ellis DR, Slavov GT, Yin TM, Zhang XY, Muchero W, Tuskan GA, DiFazio SP** (2012). Identification of quantitative trait loci and candidate genes for cadmium tolerance in *Populus*. *Tree Physiol* **32**, 626–638.
- Kudla J, Batistič O, Hashimoto K** (2010). Calcium signals: the lead currency of plant information processing. *Plant Cell* **22**, 541–563.

- L'vov BV (2005). Fifty years of atomic absorption spectrometry. *J Anal Chem* **60**, 382–392.
- Lahner B, Gong JM, Mahmoudian M, Smith EL, Abid KB, Rogers EE, Guerinot ML, Harper JF, Ward JM, McIntyre L, Schroeder JI, Salt DE (2003). Genomic scale profiling of nutrient and trace elements in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Biotechnol* **21**, 1215–1221.
- Liu J, Yang JP, Li RY, Shi L, Zhang CY, Long Y, Xu FS, Meng JL (2009). Analysis of genetic factors that control shoot mineral concentrations in rapeseed (*Brassica napus*) in different boron environments. *Plant Soil* **320**, 255–266.
- Loudet O, Chaillou S, Krapp A, Daniel-Vedele F (2003a). Quantitative trait loci analysis of water and anion contents in interaction with nitrogen availability in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **163**, 711–722.
- Loudet O, Chaillou S, Merigout P, Talbotec J, Daniel-Vedele F (2003b). Quantitative trait loci analysis of nitrogen use efficiency in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **131**, 345–358.
- Loudet O, Saliba-Colombani V, Camilleri C, Calenge F, Gaudon V, Koprivova A, North KA, Kopriva S, Daniel-Vedele F (2007). Natural variation for sulfate content in *Arabidopsis thaliana* is highly controlled by APR2. *Nat Genet* **39**, 896–900.
- Lowry DB, Sheng CC, Zhu Z, Juenger TE, Lahner B, Salt DE, Willis JH (2012). Mapping of ionomic traits in *Mimulus guttatus* reveals Mo and Cd QTLs that colocalize with *MOT1* homologues. *PLoS One* **7**, e30730.
- Mantler M, Willis J, Lachance G, Vreboos BR, Mauser KE, Kawahara N, Rousseau RM, Brouwer PN (2006). Quantitative analysis. In: Beckhoff B, Kanngießner B, Langhoff N, Wedell R, Wolff H, eds. Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis. Berlin: Springer-Verlag. pp. 309–410.
- Marschner P (2012). Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, 3rd edn. London: Elsevier Ltd. pp. 135–269.
- McDowell SC, Akmajian G, Sladek C, Mendoza-Cozatl D, Morrissey JB, Saini N, Mittler R, Baxter I, Salt DE, Ward JM, Schroeder JI, Guerinot ML, Harper JF (2013). Elemental concentrations in the seed of mutants and natural variants of *Arabidopsis thaliana* grown under varying soil conditions. *PLoS One* **8**, e63014.
- Munns R, James RA, Xu B, Athman A, Conn SJ, Jordans C, Byrt CS, Hare RA, Tyerman SD, Tester M, Plett D, Gilliam M (2012). Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. *Nat Biotechnol* **30**, 360–364.
- Nadkarni RA, Morrison GH (1973). Multielement instrumental neutron activation analysis of biological materials. *J Anal Chem* **45**, 1957–1960.
- Norton GJ, Deacon CM, Xiong LZ, Huang SY, Meharg AA, Price AH (2010). Genetic mapping of the rice ionome in leaves and grain: identification of QTLs for 17 elements including arsenic, cadmium, iron and selenium. *Plant Soil* **329**, 139–153.
- Oreshkina VN, Tsizin GI (2014). Experience of designing and using crucible electrothermal atomizers for the atomic absorption analysis of solid samples. *J Anal Chem* **69**, 290–297.
- Outten CE, O'Halloran TV (2001). Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis. *Science* **292**, 2488–2492.
- Parent S, Parent LE, Egozcue JJ, Rozane DE, Hernandez A, Lapointe L, Hébert-Gentile V, Naess K, Marchand S, Lafond J, Mattos D, Barlow P, Natale W (2013). The plant ionome revisited by the nutrient balance concept. *Front Plant Sci* **4**, 39.
- Punshon T, Guerinot ML, Lanzirotti A (2009). Using synchrotron X-ray fluorescence microprobes in the study of metal homeostasis in plants. *Ann Bot* **103**, 665–672.
- Rauh B, Basten C, Buckler E (2002). Quantitative trait loci analysis of growth response to varying nitrogen sources in *Arabidopsis thaliana*. *Theor Appl Genet* **104**, 743–750.
- Regvar M, Eichert D, Kaulich B, Gianoncelli A, Pongrac P, Vogel-Mikus K, Kreft I (2011). New insights into globoids of protein storage vacuoles in wheat aleurone using synchrotron soft X-ray microscopy. *J Exp Bot* **62**, 3929–3939.
- Salt DE (2004). Update on plant ionomics. *Plant Physiol* **136**, 2451–2456.
- Salt DE, Baxter I, Lahner B (2008). Ionomics and the study of the plant ionome. *Annu Rev Plant Biol* **59**, 709–733.
- Singh UM, Sareen P, Sengar RS, Kumar A (2013). Plant ionomics: a newer approach to study mineral transport and its regulation. *Acta Physiol Plant* **35**, 2641–2653.
- Šmit Ž (2005). Recent developments of material analysis with PIXE. *Nucl Instrum Meth B* **240**, 258–264.
- Thompson R, Burstin J, Gallardo K (2009). Post-genomics studies of developmental processes in legume seeds. *Plant Physiol* **151**, 1023–1029.
- Tian SK, Lu LL, Labavitch JM, Webb SM, Yang XE, Brown PH, He ZL (2014). Spatial imaging of Zn and other elements in Huanglongbing-affected grapefruit by syn-

- chrotron-based micro X-ray fluorescence investigation. *J Exp Bot* **65**, 953–964.
- Van der Greef J, Stroobant P, van der Heijden R** (2004). The role of analytical sciences in medical systems biology. *Curr Opin Chem Biol* **8**, 559–565.
- Wang Y, Nastasi M** (2010). Handbook of Modern Ion Beam Materials Analysis, 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press.
- White PJ, Broadley MR, Thompson JA, McNicol JW, Crawley MJ, Poulton PR, Johnston AE** (2012). Testing the distinctness of shoot ionomes of angiosperm families using the Rothamsted Park Grass Continuous Hay Experiment. *New Phytol* **196**, 101–109.
- White PJ, Brown PH** (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann Bot* **105**, 1073–1080.
- Williams L, Salt DE** (2009). The plant ionome coming into focus. *Curr Opin Plant Biol* **12**, 247–249.
- Williams RJP** (2001). Chemical selection of elements by cells. *Coord Chem Rev* **216–217**, 583–595.
- Wu DZ, Shen QF, Cai SG, Chen ZH, Dai F, Zhang GP** (2013). Ionomic responses and correlations between elements and metabolites under salt stress in wild and cultivated barley. *Plant Cell Physiol* **54**, 1976–1988.
- Zhao HW, Sun RB, Albrecht U, Padmanabhan C, Wang AR, Coffey MD, Girke T, Wang ZH, Close TJ, Roose M, Yokomi RK, Folimonova S, Vidalakis G, Rouse R, Bowman KD, Jin HL** (2013). Small RNA profiling reveals phosphorus deficiency as a contributing factor in symptom expression for citrus Huanglongbing disease. *Mol Plant* **6**, 301–310.
- Ziegler G, Terauchi A, Becker A, Armstrong P, Hudson K, Baxter I** (2013). Ionomic screening of field-grown soybean identifies mutants with altered seed elemental composition. *Plant Genome* **6**, 1–9.
- Zubritsky E** (2002). How analytical chemists saved the human genome project. *J Anal Chem* **74**, 23A–26A.

Progress in Methodology and Application of Plant Ionomics

Jirong Cao¹, Guangyan Zhong², Qibing Wang^{3*}

¹College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715, China

²Fruit Tree Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China

³Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract Plant ionomics is the study of elemental composition, distribution and accumulation in plants in relation to physiology, biotic and abiotic stimuli, development, environment and genetics with high-throughput elemental profiling. Ionomics is essential to identify quantitative trait loci, to predict physiological states and to identify potential genes responsible for the uptake, transport, and storage of elements in plants. In this review, we briefly introduce the concepts of ionome and ionomics, present the methodology currently used in ionomic study, and discuss the applications of plant ionomics. We also review the current issues and challenges in ionomics with a focus on prospects in this field.

Key words element analysis, functional genomics, high-throughput profiling, mineral nutrients, plant ionome

Cao JR, Zhong GY, Wang QB (2014). Progress in methodology and application of plant ionomics. *Chin Bull Bot* **49**, 504–513.

* Author for correspondence. E-mail: qwang@ibcas.ac.cn