

DOI: 10.20103/j.stxb.202211143278

张杨,曹靖,李广,姜世腾,于倩,聂豪杰,李林傲,朱林.盐碱胁迫下湖南稷子苗期根系分泌物代谢组学.生态学报,2024,44(8):3540-3549.

Zhang Y, Cao J, Li G, Jiang S T, Yu Q, Nie H J, Li L A, Zhu L. Metabolomics analysis of root exudates in *Echinochloa frumentacea* seedling stage under saline-alkali stress. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(8): 3540-3549.

盐碱胁迫下湖南稷子苗期根系分泌物代谢组学

张 杨^{1,2}, 曹 靖³, 李 广², 姜世腾², 于 倩², 聂豪杰¹, 李林傲⁴, 朱 林^{1,*}

1 宁夏大学生态环境学院/西北土地退化与生态恢复国家重点实验室培育基地/西北退化生态系统恢复与重建教育部重点实验室, 银川 750021

2 甘肃省分析测试中心, 兰州 730030

3 兰州大学生态学院, 兰州 730030

4 宁夏大学农学院, 银川 750021

摘要:盐碱胁迫下植物根系分泌物包含丰富生化信息并具有重要生态作用。为了探讨耐盐碱牧草湖南稷子(*Echinochloa frumentacea*) 在盐碱胁迫下根系分泌物组成,揭示其在盐碱胁迫下的生理及生态作用,以湖南稷子为试验对象,在人工气候室开展水培试验,并在苗期分别进行中性盐($\text{NaCl}+\text{Na}_2\text{SO}_4$ 100 mmol/L)、碱性盐($\text{NaCl}+\text{NaHCO}_3$ 100 mmol/L)和碱($\text{Na}_2\text{CO}_3+\text{NaHCO}_3$ 50 mmol/L)处理。在处理 3 d 后,利用液质联用仪(LC-MS/MS)检测对照组和处理组根系分泌物的化合物成分。结果表明,盐碱胁迫下湖南稷子根系分泌物共有 334 种化合物。依据正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA),重要值(VIP)得分及 t 检验的 P 值,发现对照比 SaSo100(碱性盐处理 100 mmol/L),对照比 Soda50(碱处理 50 mmol/L)和对照比 Salt100(中性盐处理 100 mmol/L)分别有 22、15 和 21 个差异根系分泌物。其中碱性盐和碱处理下根系分泌物组成相近,包括脂质、酚酸,生物碱,苯酚类,氨基糖,萜类,醌类,氨基酸及其衍生物;中性盐处理下有脂质、酚酸,生物碱,苯酚类,萜类。京都基因与基因组百科全书注释及富集发现,盐碱胁迫下根系分泌物不仅含有三羧酸循环代谢产生的碳水化合物、核苷酸,氨基酸,脂肪酸,类脂和维生素等物质,而且与瓦博格效应、膜运输,信号传导以及遗传信息处理等途径有关。研究表明,湖南稷子通过根系分泌物渗出,调节自身代谢物浓度,加强或改变碳同化、呼吸作用、信号传导等提高对盐碱胁迫的适应性。

关键词:盐碱胁迫;湖南稷子(*Echinochloa frumentacea*);根系分泌物;代谢组学

Metabolomics analysis of root exudates in *Echinochloa frumentacea* seedling stage under saline-alkali stress

ZHANG Yang^{1,2}, CAO Jing³, LI Guang², JIANG Shiteng², YU Qian², NIE Haojie¹, LI Lin'ao⁴, ZHU Lin^{1,*}

1 School of Ecology and Environmental Sciences, Ningxia University/Breeding Base for State Key Lab. of Land Degradation and Ecological Restoration in Northwestern China/Key Lab. of Restoration and Reconstruction of Degraded Ecosystems in northwestern China of Ministry of Education, Yinchuan 750021, China

2 Gansu Analysis and Research Center, Lanzhou 730030, China

3 School of Ecology Lanzhou University, Lanzhou 730030, China

4 School of Agriculture Ningxia University, Yinchuan 750021, China

Abstract: Root exudates of plants under saline-alkali stress contain abundant biochemical information and play an important ecological role. In order to explore the composition of root secretions of salt-tolerant pasture grass *Echinochloa frumentacea* under salt-alkali stress, and to reveal its physiological and ecological functions under salt-alkali stress. A hydroponic experiment was carried out on *Echinochloa frumentacea* in an artificial climate chamber, with neutral salt ($\text{NaCl}+\text{Na}_2\text{SO}_4$

基金项目:宁夏自然科学基金项目(2022AAC03086);甘肃省自然科学基金项目(21JR7RA760);宁夏回族自治区农业育种专项(2019NYYZ0401)

收稿日期:2022-11-14; **网络出版日期:**2024-01-30

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhulinscience@126.com

100 mmol/L), alkaline salt ($\text{NaCl}+\text{NaHCO}_3$ 100 mmol/L) and alkali ($\text{Na}_2\text{CO}_3+\text{NaHCO}_3$ 50 mmol/L) treatments at the seedling stage. After 3 days of treatment, the composition of compound of root exudates in the control and treatment groups was detected by LC-MS/MS. The results showed that there were 334 compounds in root exudates of *Echinochloa frumentacea* under salt-alkali stress. According to the VIP score of OPLS-DA and the P value of t-test, 22, 15 and 21 differential root exudates were found for control-vs-saso100, control-vs-soda50 and control-vs-salt100, respectively. The compositions of root exudates under alkaline salt and alkali treatments were similar, including lipids, phenolic acids, alkaloids, phthalides, amino sugars, terpenoids, quinones, amino acids and their derivatives; There are lipids, phenolic acids, alkaloids, phthalides, terpenoids under neutral salt treatment. KEGG annotation and enrichment showed that root exudates under saline-alkali stress not only contained carbohydrates, nucleotides, amino acids, fatty acids, lipids and vitamins produced by tricarboxylic acid cycle metabolism, but also were related to Warburg effect, membrane transport, signal transduction and genetic information processing. Studies have shown that *Echinochloa frumentacea* improved its adaptability to saline-alkali stress through exudation of root exudates, regulating its metabolite concentration, enhancing or changing carbon assimilation, respiration, and signal transduction.

Key Words: saline-alkali stress; *Echinochloa frumentacea*; root exudates; metabonomics

盐碱胁迫制约植物的正常生长,也给农业生产带来了负面影响^[1]。为了适应环境胁迫,植物根系通过释放种类繁多的分泌物调节自身或与根际环境建立联系抵御逆境^[2]。根系分泌物是根系释放多种化合物的生理现象,各种生物或非生物胁迫都会改变根系分泌物种类和含量,这是植物长期适应外界环境所形成的一种适应机制^[3]。因此学者们对植物根系分泌物抵御环境胁迫进行了广泛研究^[4-5]。已有研究显示,盐胁迫促使植物根系分泌糖类、有机酸、酚酸以提高其渗透调节和抗氧化能力,氨基酸、脂质等化合物的分泌具逆境信号传导作用^[6]。而且根系分泌物中有机酸的数量和种类变化是植物在碱胁迫的主要反应,根系可以通过分泌有机酸提高耐碱性^[7]。此外,盐碱胁迫下植物可能启动多种代谢途径,如碳水化合物代谢、氨基酸代谢、三羧酸循环等^[8-9];上调或下调各种代谢物浓度,如碳水化合物、氨基酸、甜菜碱、脂肪酸和多胺等^[10-11]。但是,盐碱胁迫下植物根系分泌物相关的代谢组信息是有限的,因此利用代谢组学方法广泛筛选出植物代谢产物,便于了解植物响应逆境胁迫的应激代谢网络,对研究植物如何通过根系分泌物来适应盐碱胁迫并抵御逆境具有理论和实践意义。

湖南稷子(*Echinochloa frumentacea*)是一年生禾本科牧草,耐盐性强,有良好经济和生态效益^[12]。早期研究主要集中在引种栽培利用^[13-14],近些年的研究主要集中在盐碱胁迫对种子萌发^[15-16]和生理特性的影响^[17],另外生产栽培以及盐碱地生物改良也有相关研究^[18-19]。然而目前关于湖南稷子根系分泌物研究较少,代谢网络缺乏系统和深入研究。所以用湖南稷子开展水培试验收集根系分泌物,有利于在较少干扰下全面解析。利用液相色谱质谱联用技术检测和分析不同浓度混合盐碱处理对苗期湖南稷子根系分泌物的影响,运用代谢组学方法筛选差异代谢物及关键代谢通路,探讨根系分泌物在盐碱胁迫下的生理及生态作用,揭示盐碱胁迫下湖南稷子根系分泌物的生理学意义,为利用耐盐碱作物对盐碱地进行生物改良提供理论依据。另外,也可为进一步理解根系分泌物驱动根际组装机理,及其与根际微生物相互作用方面奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

湖南稷子(*Echinochloa frumentacea*)海子一号种子由宁夏西贝农林牧生态科技有限公司提供。水培试验在宁夏大学科技楼人工气候室进行,时间为2022年4月15日至5月18日,分别将10粒饱满的种子埋入盛满陶粒的两个种植篮中,然后放入配套水培盒加2 L纯水培养。种植篮规格7 cm×8 cm,水培盒规格26 cm×12 cm×10 cm。气候室温度设定为(22±0.1)℃,湿度40%,光照14 h/黑暗10 h,光照强度180 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。

本试验根据湖南稷子的耐盐碱阈值^[20]设计 3 种不同类型盐碱处理,分别为 NaCl+NaHCO₃ 100 mmol/L (SaSo100),NaCl+Na₂SO₄ 100 mmol/L (Salt100) 以及 Na₂CO₃+NaHCO₃ 50 mmol/L (Soda50),处理浓度按物质的量浓度 1:1 配制,共 3 组处理,每组 3 次重复,对照不进行处理。待出苗后每盒定苗 16 株,之后换 1/2 霍格兰 (Hoagland) 营养液培养,期间每天用泵增氧 12 h,保持 3 d 更换一次营养液。待植株生长 26 d 后(平均株高 49 cm,茎粗 4.22 cm,叶长 32.7 cm,叶宽 1.54 cm),换 1/4 霍格兰 (Hoagland) 营养液并进行盐碱胁迫处理,3 d 后收集溶液过滤并浓缩至 50 mL,净化后用液相色谱质谱联用仪检测。

1.2 代谢物测定

数据采集仪器系统主要包括超高效液相色谱 (Shimpack UFLC SHIMADZU CBM30A) 和串联质谱 (Applied Biosystems6500 QTRAP)。液相条件:色谱柱:Waters ACQUITY UPLC HSS T3C 181.8 μ m, 2.1 mm $\times$ 100 mm;流动相:水相为超纯水(加入 0.04% 的乙酸),有机相为乙腈(加入 0.04% 的乙酸);洗脱梯度:0 min 水/乙腈(95:5 体积分数),11.0 min 为 5:95 体积分数(即用 11min 让乙腈相达到 100% 并平衡 1 min),12.1 min 流动相调整为 95:5 体积分数,15.0 min 为 95:5 体积分数(即平衡 5min);流速 0.4 mL/min;柱温 40 $^{\circ}$ C;进样量 2 μ L。质谱条件:电喷雾离子源 (ESI) 温度 500 $^{\circ}$ C,质谱电压 5500 V,帘气,帘气压 (CUR) 25psi,碰撞诱导电离 (CAD) 参数设置为高。在三重四级杆 (QQQ) 中,每个离子对是根据优化的去簇电压 (DP) 和碰撞能 (CE) 进行扫描检测^[21]。

1.3 数据处理

基于基迪奥公司自建代谢物数据库,在液质联用仪工作站对正、负离子模式所检测的代谢物原始数据进行特征提取,每个化合物的离子对 (Q1/Q3)、保留时间 (RT)、去簇电压 (DP) 等信息进行物质定性,去除同位素信号含 K⁺、Na⁺、NH₄⁺ 的重复信号,最后导出数据至 Excel 软件进行整理。通过 R 语言 (<http://www.r-project.org/>) 对所有归一化数据进行处理并作图,主要包括中心化格式化处理、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)。并依据以上数据处理结果对差异根系分泌物作重要值 (VIP) 图和富集图,差异代谢物通过 KEGG (<https://www.kegg.jp/>) 数据库比对并注释。

2 结果

2.1 代谢组数据质量控制检测

以对照和 3 种处理的混合样品为质控样品 (QC),通过对样本进行主成分分析 (PCA),以了解样本之间的整体代谢物差异以及组内样本之间的变异度^[22]。结果显示 (图 1),QC 样本密集分布,说明数据可靠。根系分泌物对照组在 PC1 得分上与其他 3 种处理之间差异度较大,同时 3 种处理间在 PC1 和 PC2 得分上差异也都较大 (分别是 40% 和 28.6%)。PCA 得分所反映出来的差异说明湖南稷子对照组和盐碱胁迫处理组之间根系分泌物组成不同,而且盐、碱胁迫对湖南稷子根系分泌物的影响不同。

2.2 盐碱胁迫对根系分泌物中化合物总量的影响

检测表明 (图 2),盐碱胁迫处理后共提取到湖南稷子根系分泌物总量为 334 种,包含脂质、酚酸类、黄酮、生物碱、核苷酸及其衍生物、氨基酸及其衍生物、萜类、有机酸、糖类等 15 类物质,其中脂质、酚酸、黄酮、核苷酸及其衍生物数量较多,是湖南稷子根系分泌物的主要组分。

2.3 盐碱胁迫下根系分泌物中差异代谢物的鉴定及分析

结合正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 的 VIP 值和单变量统计分析 *t* 检验 *P* 值分析比较不同处理间根系分泌物的差异^[23]。差异的阈值为:OPLS-DA 模型中 VIP ≥ 1 ,且 *t* 检验 *P* < 0.05。图 3 显示了对照与不同处理间根系分泌物数量的差异,可以看出对照比 SaSo100 和 Soda50 处理差异根系分泌物数量相近,SaSo100 与对照相比上调的差异代谢物有 3 个,下调的差异代谢物有 19 个;Soda50 与对照相比上调的差异代谢物有 1 个,下调的有 20 个;而对照比 Salt100 分别比 SaSo100 和 Soda50 处理,差异根系分泌数量减少 6 个和 7 个,其中上调的根系分泌物有 1 个,下调的有 14 个;总体来看盐、碱胁迫处理与对照相比,下调差异根系分

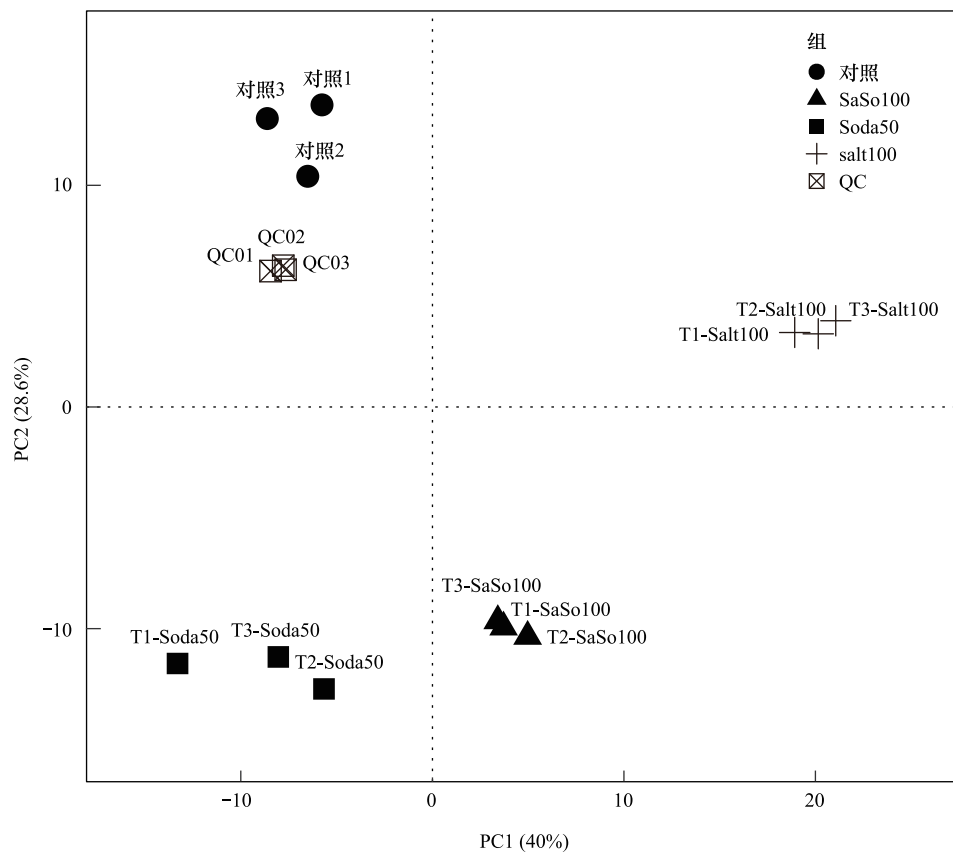


图 1 对照和不同处理间根系分泌物 PCA 得分图

Fig.1 PCA scores of root exudates between control and different treatments

PC:主成分;PCA:主成分分析;QC:质量控制;T-Salt100;中性盐处理 100 mmol/L;T-Soda50;碱处理 50 mmol/L;T-SaSo100;碱性盐处理 100 mmol/L

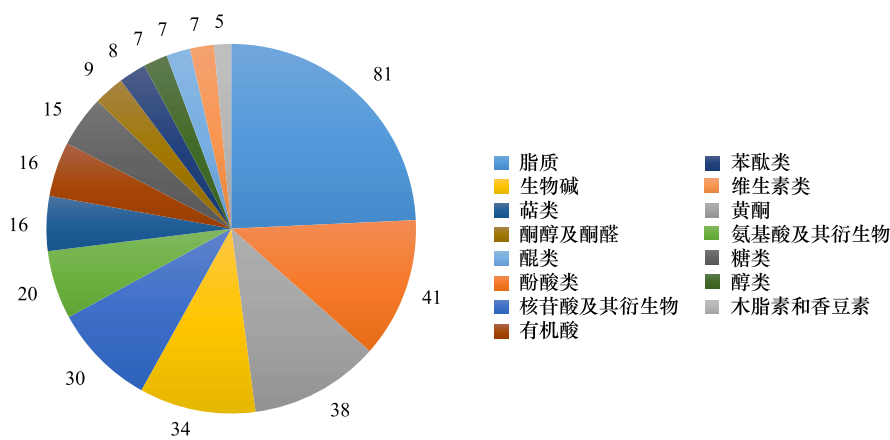


图 2 根系分泌物数量/个及种类

Fig.2 Quantity and species of root exudates

泌物数量远大于上调的数量。以上结果说明盐、碱胁迫下湖南稷子根系分泌物差异代谢物主要表现为下调，并且盐胁迫对湖南稷子差异根系分泌物数量有显著抑制作用。

图 4 显示了每个处理组中差异 VIP 值前 15 的根系分泌物所对应的 VIP 结果。该图说明变量的重要程度

以及它们在样本区分中的贡献。VIP 值越大说明它们在样本区分中贡献越大,默认 VIP 大于 1 的代谢物具有显著性差异。由图 4 可知,对照比 SaSo100 上调和下调的根系分泌物包含脂质、酚酸、生物碱、苯酞类、氨基糖、萜类、醌类、氨基酸及其衍生物,其中脂质(十八烷酸, 16-甲基十七烷酸)和氨基糖(D-氨基葡萄糖)在 SaSo100 处理中表现为上调,其余表现为下调。由图 4 可知,对照比 Salt100 上调和下调的根系分泌物包含脂质、酚酸、生物碱、苯酞类、萜类,其中只有萜类(榄香醇)在 Salt100 处理中上调,其余为下调。由图 4 可知,对照比 Soda50 上调和下调的根系分泌物包含脂质、酚酸、生物碱、苯酞类、氨基糖、萜类、醌类、氨基酸及其衍生物,其中仅有氨基糖(D-氨基葡萄糖)在 Soda50 处理中表现为上调,其余为下调。上述结果表明,盐、碱胁迫

对湖南稷子根系分泌物的种类和数量影响有差异,碱性盐和碱胁迫下湖南稷子根系分泌物的种类相近,但比

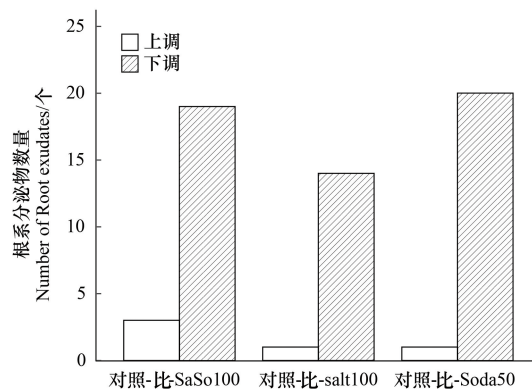


图 3 差异根系分泌物数量统计图

Fig.3 Statistical plot of the number of different root exudates

图中 t 检验结果: $P < 0.05$

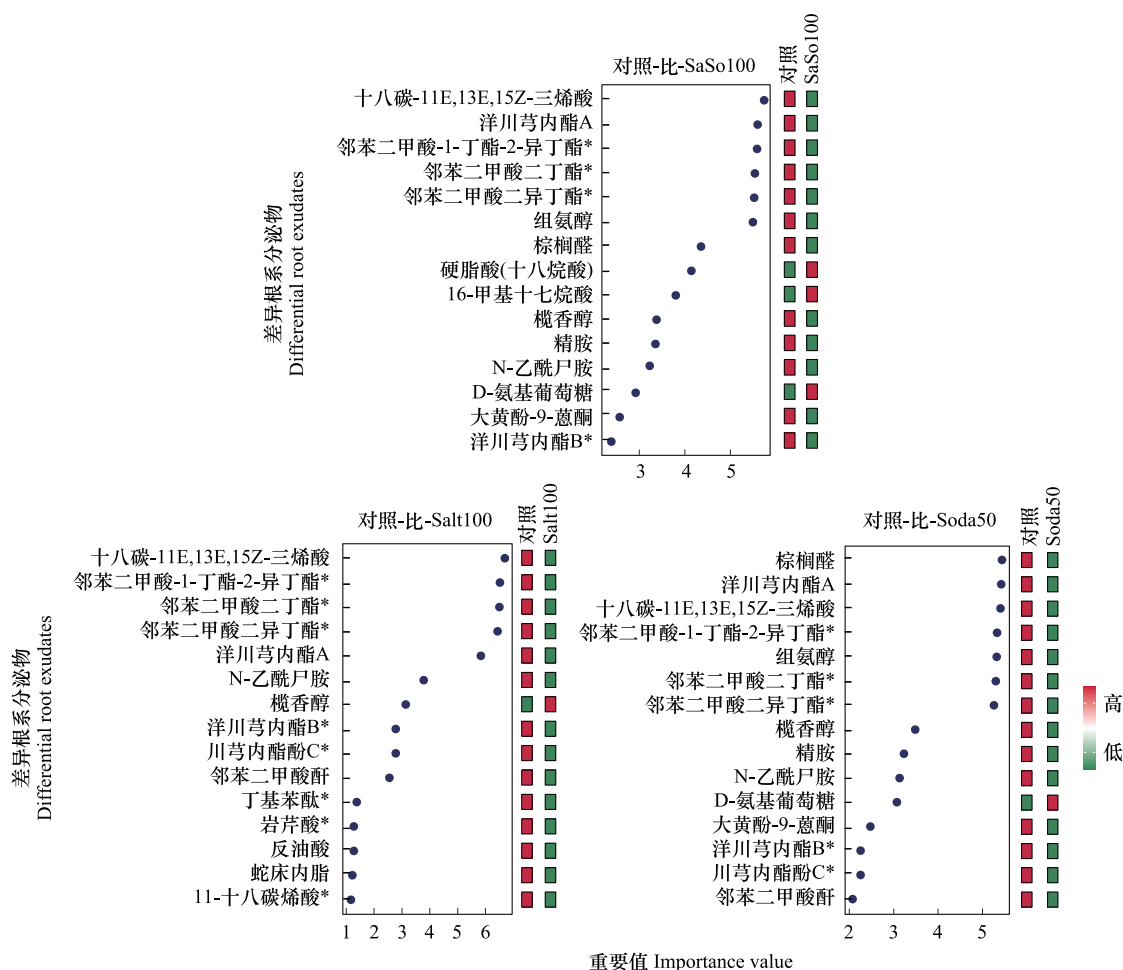


图 4 差异根系分泌物重要值图

Fig.4 VIP map of different root exudates

图中 * 表示此物质存在同分异构体

中性盐胁迫化合物种类丰富,碱胁迫分别对根系分泌物数量和种类的上调、下调影响较大。

2.4 盐碱胁迫下根系分泌物 KEGG 注释与富集

根据根系分泌物定性结果,从京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库中对应分类并进行通路注释,如表 1 所示,根系分泌物渗出涉及的代谢通路主要涵盖物质和能量代谢、膜运输、信号传导以及遗传信息处理等过程,表明根系分泌物是响应胁迫的重要途径。

表 1 根系分泌物 KEGG 统计表
Table 1 KEGG statistical table of root exudates

KEGG 分类 KEGG class	代谢通路 Metabolic pathway	数量 Count
代谢 Metabolism	氨基酸代谢	35
	其他次生代谢物的生物合成	39
	碳水化合物代谢	26
	能量代谢	3
	全局和概述图谱	178
	类脂物代谢	41
	辅助因子和维生素代谢	14
	其他氨基酸代谢	5
	萜类和多酮类化合物的代谢	4
	核苷酸代谢	13
	膜运输	19
环境信息处理 Environmental information processing	信号传导	2
遗传信息处理 Genetic information processing	遗传信息转译	7

KEGG: 京都基因与基因组百科全书 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

将各处理组的差异根系分泌物富集并进行代谢物富集分析 (Metabolite Set Enrichment Analysis, MSEA) 分析^[24],可以帮助确定和解释一些重要的生物学通路中代谢物浓度的变化,图 5 显示了显著富集的前 25 个代谢集。对照比 SaSo100(图 5)中富集较高的有三羧酸循环、糖酵解,葡萄糖异生,戊糖磷酸途径,核苷酸代谢,氨基酸代谢,脂肪酸代谢,类脂代谢,线粒体脂肪酸延伸,瓦博格效应等通路。对照比 Salt100(图 5)富集了三羧酸循环、磷酸肌醇代谢,氨基酸代谢,脂肪酸生物合成与代谢,线粒体脂肪酸延伸,戊糖磷酸途径,瓦博格效应,维生素代谢,磷脂酰胆碱生物合成等通路。对照比 Soda50(图 5)富集较多的包括三羧酸循环、糖酵解,葡萄糖异生,核苷酸代谢,乳糖生物合成和降解,氨基酸代谢,瓦博格效应,戊糖磷酸途径,脂肪酸生物合成和代谢,类脂代谢,线粒体脂肪酸延伸,磷酸肌醇代谢等通路。以上结果说明盐碱胁迫对根系分泌物渗出的影响并非单一途径而是多种途径和机制交互作用,涉及植物碳同化、呼吸作用,次生代谢物合成以及信号传导等适应机制。

3 讨论

植物根系在受到逆境胁迫后会做出相应的反应,例如改变根系形态和分布、调整代谢途径和方向、改变碳同化产物的分配比例和方向,在基因表达上进行时间和空间调整等^[25]。有研究表明,盐碱胁迫使植物光合和呼吸速率降低,产生渗透、活性氧胁迫及离子毒害,在生理和生化水平上影响许多重要代谢过程^[26-27]。还有研究显示,植物可以通过控制源/库过程或表达和调节外溢载体改变代谢物浓度,因此,根系分泌物的渗出,调节了源/库间代谢物平衡,这些代谢物可以作为植物适应逆境的传感器和调节器^[28]。所以本试验发现湖南稷子根系分泌物代谢通路如三羧酸循环、碳水化合物代谢、脂类代谢、氨基酸代谢、核苷酸代谢、萜类、酚类和生物碱代谢、膜运输、信号传导、遗传信息转译都表现出显著响应,说明湖南稷子可以通过根系分泌物调节代谢过程抵御盐碱胁迫环境。

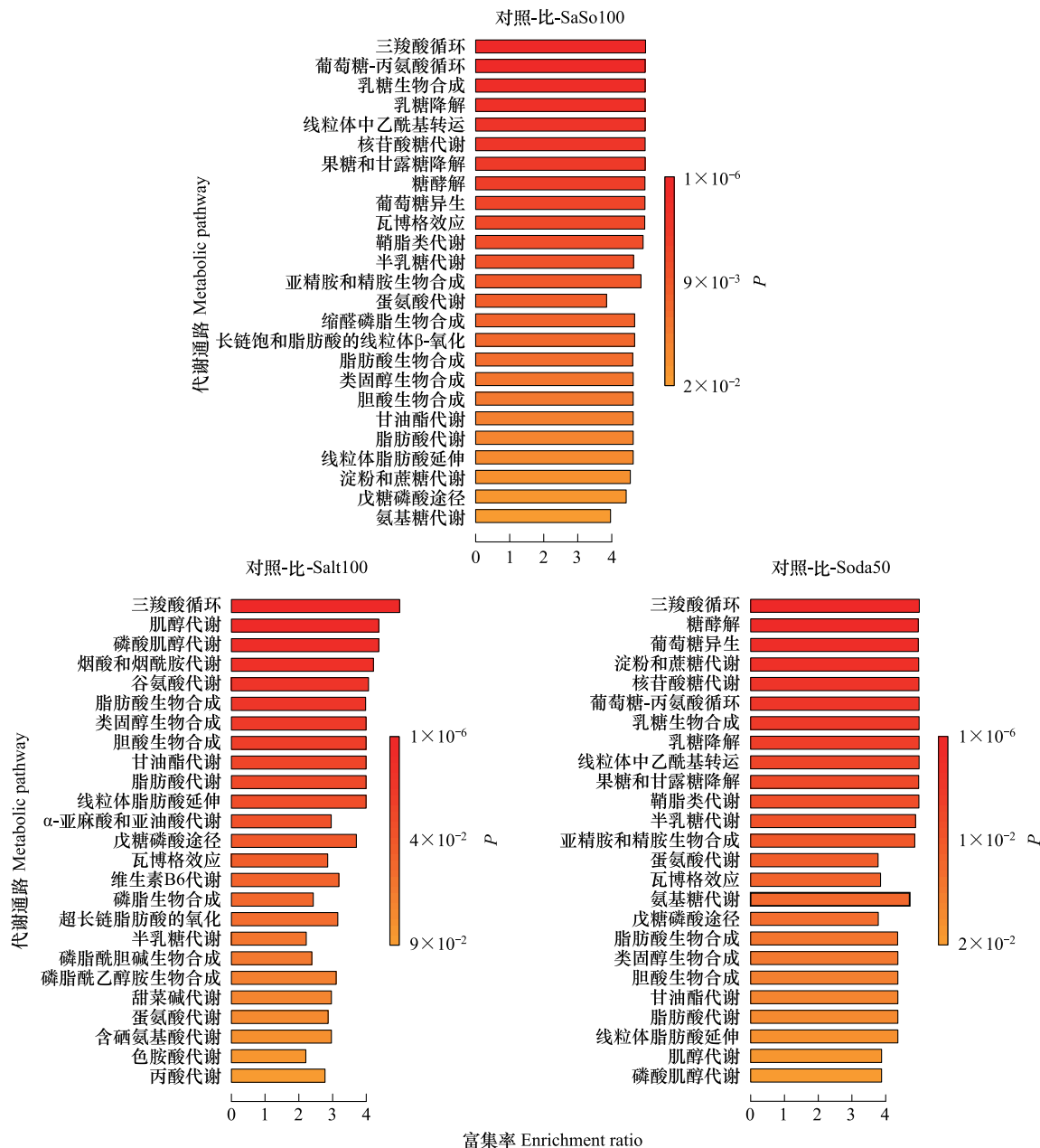


图 5 差异根系分泌物富集分析
Fig.5 Enrichment analysis of differential root exudates

盐害对光合作用造成打击,影响糖类物质合成即碳同化过程,使光呼吸消耗增多^[29]。研究表明,耐盐甜高粱通过保护光系统组装、增强蔗糖的生物合成和抑制其降解,从而保持地上部高糖含量^[30]。本研究发现,盐碱胁迫下淀粉和蔗糖代谢、乳糖合成和代谢、葡萄糖异生等碳水化合物代谢富集程度较高,而且差异代谢物 D-氨基葡萄糖上调,这表明湖南稷子可能通过根系分泌物调节糖类物质的代谢浓度,使自身提高光合效率和渗透调节。较高的碳水化合物代谢强度可以增加光合产物从源(叶)向库(根)运输,从而提高碳同化效率降低光呼吸,增加光合效率,提高根系渗透调节能力,进而增强植物对盐碱胁迫的抵御能力。另外碱的存在还会在盐胁迫基础上产生高 pH 胁迫,危害程度远高于盐胁迫^[31]。三羧酸循环作为枢纽,将糖类、脂类、蛋白质,核苷酸代谢联系起来,其中形成的有机酸代表固定碳的短暂或储存形式,并通过苹果酸和柠檬酸的作用为氨基酸合成提供基质,以及细胞外间隙的酸化^[32]。本研究中,在盐碱胁迫下观察到根系分泌物 KEGG 注释统计中与

三羧酸循环有关的碳水化合物代谢、氨基酸代谢、核苷酸代谢等数量较多,而且差异根系分泌物富集分析显示三羧酸循环富集程度最高。这与郭瑞等对小麦根系的研究^[27]、郭家鑫等对棉花的研究^[11]一致。并且植物需要线粒体呼吸和三羧酸循环提供三磷酸腺苷(ATP)和还原剂,以进行离子排斥、溶质合成和活性氧解毒等适应性过程^[33]。说明三羧酸循环的显著富集利于增强湖南稷子碳同化和呼吸作用,同时抵抗细胞间高 pH 胁迫。

盐胁迫使植物体内活性氧增加,脂质分子,尤其是不饱和脂质,对活性氧(ROS)氧化敏感。因此,脂质过氧化物水平升高可以说明自由基对细胞膜造成严重氧化应激^[34]。由于脂质的疏水内部,细胞膜作为一个屏障调节大多数离子和大分子的运输。多不饱和脂肪酸作为细胞膜磷脂的重要组成部分,对细胞膜的流动性和功能起着关键作用^[35]。有研究表明,盐胁迫下花生中不饱和脂肪酸含量降低,会引发光系统 II(PSII)和光系统 I(PSI)的光抑制,最终导致 ROS 不能有效清除^[36]。检测表明,盐胁迫导致湖南稷子根系分泌物中脂类物质下调,并且 KEGG 富集中脂肪酸代谢、线粒体脂肪酸延伸、磷脂合成富集程度较高。因此,盐胁迫可能使湖南稷子根系减少脂肪酸等脂类物质向外界分泌,有助于植物体内积累,以便减少 ROS 对细胞和光系统的伤害。另外,脂质分子作为次级信号能够参与逆境信号的传导及应答。植物通过膜上受体感知胞外应激信号,经信号转导,转录调控,最终诱导抗盐碱相关基因表达应对盐碱胁迫^[37]。盐、干旱等非生物胁迫能够触发磷脂酸的产生^[38]。Jiang 等通过筛选拟南芥突变体,得出植物细胞表面特异性糖基磷脂酰肌醇神经酰胺(GIPC)鞘脂感知盐触发 Ca^{2+} 内流^[39]。渗透胁迫和温度胁迫引起各种脂质信号的形成,包括磷脂酸、磷酸肌醇、鞘脂类、N-酰基乙醇胺等,通常这些脂质分子与蔗糖非发酵相关的蛋白激酶(SnRK)或 AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK)结合并影响后者的活性和膜定位^[40]。本研究显示在盐碱胁迫下湖南稷子差异根系分泌物中包含大量脂质,同时富集了较多磷酸肌醇代谢、鞘脂类代谢,磷脂酰乙醇胺生物合成,由此说明根系分泌物代谢过程中产生的磷脂酸、磷脂酰肌醇、鞘脂、N-酰基乙醇胺等脂质信号分子感应盐碱胁迫并参与传导及应答帮助植物适应逆境。

根系分泌的萜类、酚类和生物碱是植物次生代谢物,他们可以合成各种酶来介导生物和非生物胁迫防御,并增强与植物抗性机制相关的各种基因表达^[41]。例如盐胁迫使棉花植株中鞣酸、黄酮类化合物和棉酚的水平增加^[42]。盐逆境下较高的生物碱和酚类含量有助于清除有害 ROS^[43-44]。有研究报道,盐胁迫条件下培养的三色苋菜色素、 β -胡萝卜素、维生素 C、总多酚含量(TPC)、总黄酮含量(TFC)、总抗氧化能力(TAC)、酚酸和黄酮类化合物与对照相比显著增加,这些化合物在中度和重度盐胁迫下的增量均较高^[45]。在本研究结果中湖南稷子在盐碱胁迫下根系分泌物酚酸、生物碱、醌类等次生代谢物下调,次生代谢物可能被用于在植株中积累以增强对盐碱胁迫的抗性。

4 结论

综上所述,通过试验分析,全面认识了湖南稷子根系分泌物种类,发现盐碱胁迫对根系分泌物渗出有所影响。1.脂质、酚酸、黄酮、核苷酸及其衍生物是湖南稷子根系分泌物主要成分;2.盐、碱胁迫下湖南稷子根系分泌物的种类和数量差异显著,代谢物多为下调;3.中性盐胁迫下湖南稷子糖类、脂类、氨基酸以及次生代谢物代谢较活跃,使碳同化、渗透调节,ROS 清除,信号传导得到有效保障。而碱性盐和碱胁迫下湖南稷子除了需要调节物质和能量供给,改变高渗条件,还需要应对高 pH 胁迫,因此三羧酸循环得到加强,有利于呼吸作用和碳同化,同时积累大量有机酸以抵抗高 pH。这说明盐碱胁迫对根系分泌物渗出是多途径和交互作用,它的分泌能启动和联动植物自身调节代谢平衡和反应,感受和传递胁迫信号,以适应盐碱胁迫。所以从根系分泌物角度理解植物耐盐碱的生理机制,将有助于结合更多方法帮助植物抵抗盐碱胁迫。而且在以后的研究中也就可以将根系分泌物与根际环境的互作和生理机制整合到一种策略中,以实现耐盐碱植物对盐碱地的生物改良。

参考文献(References):

- [1] 李建国,濮励杰,朱明,张润森.土壤盐渍化研究现状及未来研究热点.地理学报,2012,67(9):1233-1245.

- [2] Lu P N, Yang T, Li L J, Zhao B P, Liu J H. Response of oat morphologies, root exudates, and rhizosphere fungal communities to amendments in a saline-alkaline environment. *PLoS One*, 2020, 15(12): e0243301.
- [3] Vives-Peris V, López-Climent M F, Pérez-Clemente R M, Gómez-Cadenas A. Root involvement in plant responses to adverse environmental conditions. *Agronomy*, 2020, 10(7): 942.
- [4] Baetz U, Martinoia E. Root exudates: the hidden part of plant defense. *Trends in Plant Science*, 2014, 19(2): 90-98.
- [5] 张治宏, 杨诗卡, 韩超, 许笛, 王兆德, 柯凡, 申秋实. 环境胁迫对水生植物根系分泌小分子量有机酸(LMWOAs)的影响特征. *湖泊科学*, 2020, 32(2): 462-471.
- [6] 毛梦雪, 朱峰. 根系分泌物介导植物抗逆性研究进展与展望. *中国生态农业学报: 中英文*, 2021, 29(10): 1649-1657.
- [7] 李月明, 杨帆, 韩沛霖, 周万里, 王竞红, 阎秀峰, 蔺吉祥. 植物根系分泌物响应非生物胁迫机理研究进展. *应用与环境生物学报*, 2022, 28(5): 1384-1392.
- [8] 高龙飞, 贾斌, 张卫华, 李爱, 李天杰, 靳丹丹, 刘颖, 刘海学, 吴颖. 盐胁迫下蓝莓叶片生理特性与代谢组学分析. *植物生理学报*, 2022, 58(1): 155-164.
- [9] 李焕勇, 杨秀艳, 唐晓倩, 张华新. 盐胁迫下西伯利亚白刺根代谢组学分析. *植物生理学报*, 2020, 56(7): 1617-1626.
- [10] Li M X, Guo R, Jiao Y, Jin X F, Zhang H Y, Shi L X. Comparison of salt tolerance in *Soja* based on metabolomics of seedling roots. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1101.
- [11] 郭家鑫, 鲁晓宇, 陶一凡, 郭慧娟, 闵伟. 棉花在盐碱胁迫下代谢产物及通路的分析. *作物学报*, 2022, 48(8): 2100-2114.
- [12] 万力生, 姜文奎, 刘升林, 丁有仁, 耿本仁. 海子1号湖南稷子高产性能的研究. *草业科学*, 1991, 8(1): 13-18.
- [13] 周瑞霞. 湖南稷子引种试验. *内蒙古草业*, 1999, 11(2): 51-52.
- [14] 海宝, 双全. 湖南稷子的栽培及利用. *内蒙古草业*, 1997, 9(4): 48-49.
- [15] 兰艳, 朱林, 王甜甜, 荆庆芳, 张杨, 赵学琳. 混合盐碱胁迫对3种稗属牧草种子萌发的影响. *种子*, 2022, 41(3): 37-44.
- [16] 杨迎月, 毛桂莲, 麻冬梅, 张峰举, 许兴. 四种牧草种子在不同浓度NaCl或NaHCO₃胁迫下的萌发特性. *草地学报*, 2022, 30(3): 637-645.
- [17] 陆安桥, 张峰举, 许兴, 王学琴, 姚姗. 盐胁迫对湖南稷子苗期生长及生理特性的影响. *草业学报*, 2021, 30(5): 84-93.
- [18] 贾晓辉, 张峰举, 谢小伟, 王斌, 王腾飞, 倪旺, 陈月娟, 许兴. 施用不同氮肥对盐碱地湖南稷子生产性能以及养分吸收的影响. *草地学报*, 2023, 31(1): 272-279.
- [19] 景宇鹏, 林春野, 赵沛义, 李秀萍, 赵强, 刘宇杰, 刘梅, 妥德宝, 王丽君, 杨晓. 5种植物改良河套灌区盐渍化土壤的效果研究. *土壤与作物*, 2020, 9(2): 114-125.
- [20] 兰艳. 三种稗属牧草种子萌发和幼苗对盐碱胁迫的生理响应及耐性评估[D]. 银川: 宁夏大学, 2022.
- [21] Chen W, Gong L, Guo Z L, Wang W S, Zhang H Y, Liu X Q, Yu S B, Xiong L Z, Luo J. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics. *Molecular Plant*, 2013, 6(6): 1769-1780.
- [22] Dunn W B, Broadhurst D, Begley P, Zelena E, Francis-McIntyre S, Anderson N, Brown M, Knowles J D, Halsall A, Haselden J N, Nicholls A W, Wilson I D, Kell D B, Goodacre R. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Nature Protocols*, 2011, 6(7): 1060-1083.
- [23] Saccenti E, Hoefsloot H C J, Smilde A K, Westerhuis J A, Hendriks M M W B. Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data. *Metabolomics*, 2014, 10(3): 361-374.
- [24] Xia J G, Wishart D S. MSEA: a web-based tool to identify biologically meaningful patterns in quantitative metabolomic data. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(Web Server issue): W71-W77.
- [25] 李德华, 贺立源, 刘武定. 土壤中非生物逆境胁迫与根系有机酸分泌. *武汉植物学研究*, 2001, 19(6): 497-507.
- [26] 丁小涛, 何立中, 张红梅, 金海军, 周强, 余纪柱, 朱红芳. 不同浓度盐胁迫对甜椒生长及生理特性的影响. *分子植物育种*, 2023, 21(9): 3042-3050.
- [27] 郭瑞, 周际, 杨帆, 李峰. 小麦根系在碱胁迫下的生理代谢反应. *植物生态学报*, 2017, 41(6): 683-692.
- [28] Canarini A, Kaiser C, Merchant A, Richter A, Wanek W. Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 157.
- [29] Huang L Y, Li Z Z, Liu Q A, Pu G B, Zhang Y Q, Li J A. Research on the adaptive mechanism of photosynthetic apparatus under salt stress: new directions to increase crop yield in saline soils. *Annals of Applied Biology*, 2019, 175(1): 1-17.
- [30] Yang Z, Li J L, Liu L N, Xie Q, Sui N. Photosynthetic regulation under salt stress and salt-tolerance mechanism of sweet *Sorghum*. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 10: 1722.
- [31] 王佳珍, 刘倩, 高娅妮, 柳旭. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展. *生态学报*, 2017, 37(16): 5565-5577.

- [32] Igamberdiev A U, Eprintsev A T. Organic acids; the pools of fixed carbon involved in redox regulation and energy balance in higher plants. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1042.
- [33] Che-Othman M H, Jacoby R P, Millar A H, Taylor N L. Wheat mitochondrial respiration shifts from the tricarboxylic acid cycle to the GABA shunt under salt stress. *The New Phytologist*, 2020, 225(3): 1166-1180.
- [34] Rasool S, Ahmad A, Siddiqi T O, Ahmad P. Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, 35(4): 1039-1050.
- [35] Mikami K, Murata N. Membrane fluidity and the perception of environmental signals in cyanobacteria and plants. *Progress in Lipid Research*, 2003, 42(6): 527-543.
- [36] Sui N, Wang Y, Liu S S, Yang Z, Wang F, Wan S B. Transcriptomic and physiological evidence for the relationship between unsaturated fatty acid and salt stress in peanut. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 7.
- [37] 毛恋, 芦建国, 江海燕. 植物响应盐碱胁迫的机制. *分子植物育种*, 2020, 18(10): 3441-3448.
- [38] 王炎钦, 董海涛. 磷脂酸在植物中的第二信使功能. *中国生物化学与分子生物学报*, 2006, 22(9): 697-703.
- [39] Jiang Z H, Zhou X P, Tao M, Yuan F, Liu L L, Wu F H, Wu X M, Xiang Y, Niu Y, Liu F, Li C J, Ye R, Byeon B, Xue Y, Zhao H Y, Wang H N, Crawford B M, Johnson D M, Hu C X, Pei C, Zhou W M, Swift G B, Zhang H, Vo-Dinh T, Hu Z L, Siedow J N, Pei Z M. Plant cell-surface GIPC sphingolipids sense salt to trigger Ca^{2+} influx. *Nature*, 2019, 572(7769): 341-346.
- [40] Zhu J K. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 2016, 167(2): 313-324.
- [41] Khare S, Singh N B, Singh A, Hussain I, Niharika K, Yadav V, Bano C, Yadav R K, Amist N. Plant secondary metabolites synthesis and their regulations under biotic and abiotic constraints. *Journal of Plant Biology*, 2020, 63(3): 203-216.
- [42] Wang Q, Eneji A E, Kong X Q, Wang K Y, Dong H Z. Salt stress effects on secondary metabolites of cotton in relation to gene expression responsible for aphid development. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0129541.
- [43] Ben Abdallah S, Aung B, Amyot L, Lalin I, Lachâal M, Karray-Bourouai N, Hannoufa A. Salt stress (NaCl) affects plant growth and branch pathways of carotenoid and flavonoid biosyntheses in *Solanum nigrum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016, 38(3): 72.
- [44] Verma N, Shukla S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2015, 2(4): 105-113.
- [45] Sarker U, Oba S. Augmentation of leaf color parameters, pigments, vitamins, phenolic acids, flavonoids and antioxidant activity in selected *Amaranthus tricolor* under salinity stress. *Scientific Reports*, 2018, 8: 12349.