

# 小麦代谢组学技术及其研究进展

王丽娜, 王步军\*

(中国农业科学院作物科学研究所, 农业农村部谷物品质监督检验测试中心, 北京 100081)

**摘要:** 代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后新发展的一门学科, 真正反映在生物体内已经发生的生命活动, 揭示生物体在特定时间、特定条件下的整体功能性状态, 为生物体内在规律的研究提供信息, 在植物学研究中得到广泛关注。本研究主要介绍了代谢组学常用的高通量检测技术(如核磁共振、气相色谱-质谱联用、超高压液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用等)、数据分析方法、检索数据库等, 对比了不同检测方法的优缺点。小麦作为世界上的主要的粮食作物之一, 在代谢组学方面也有相关研究。本文重点概述了发芽小麦代谢组学的研究现状, 通过分析代谢物及小麦理化性质, 揭示了小麦萌发的主要能量来自糖酵解, 同时增加有益活性成分, 为了解在代谢水平上的谷物种子萌发的生化机制及代谢产物发生的系列变化提供了理论基础。

**关键词:** 小麦; 代谢组学; 主成分分析; 萌发; 逆境胁迫

## Wheat metabolomics technology and its research progress

WANG Li-Na, WANG Bu-Jun\*

(*Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Cereal Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China*)

**ABSTRACT:** Metabolomics is a new development after genomics and proteomics. It truly reflects the life activities that have taken place in the organism, reveals the overall functional state of the organism at a specific time and under certain conditions, and provides information for the study of the internal laws of organisms, which has been widely concerned in botany research. This paper mainly introduced the high-throughput detection techniques commonly used in metabolomics (including nuclear magnetic resonance, gas chromatography-mass spectrometry, ultra-high pressure liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry), data analysis methods, retrieval databases, etc, and compared the advantages and disadvantages of different detection methods. As one of the world's major food crops, wheat has also been studied in metabolomics. This paper summarized the research status of genomic wheat metabolomics, and by analyzing the physicochemical properties of metabolites and wheat, revealed that the main energy of wheat germination came from glycolysis, and at the same time, the beneficial active components were added, which provided a theoretical basis for understanding the biochemical mechanism of grain seed germination at the metabolic level and the series of changes of metabolites.

**KEY WORDS:** wheat; metabolomics; principal component analysis; germination; adversity stress

**基金项目:** 国家粮油作物产品质量安全风险专项(GJFP2018001)、中国农业科学院科技创新工程项目、国家重点研发计划项目(2016YFF0201803)

**Fund:** Supported by National Grain and Oil Crop Product Quality and Safety Risk Assessment Special (GJFP2018001), Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences, and National Key Research and Development Program (2016YFF0201803)

\***通讯作者:** 王步军, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为农产品质量与食品安全与风险评估。E-mail: wangbujun@caas.cn

\***Corresponding author:** WANG Bu-Jun, Professor, Cereal Quality Supervision and Testing Center, Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.12 Zhongguancun South Road, Haidian District, Beijing 100081, China. E-mail: wangbujun@caas.cn

## 1 引言

小麦是世界上种植面积最大的粮食作物之一,是世界约 1/5 人口的主食。中国是最早种植小麦的国家之一。目前,我国的小麦产量约占全国粮食总产量的 1/5,种植面积仅次于水稻<sup>[1]</sup>和玉米。小麦作为我国主要粮食作物之一,在基因组学、蛋白质组学方面研究较普遍,而代谢组学方面研究的相对较少且起步晚。基因组学和蛋白质组学的微观差异可在代谢组学层面得以宏观放大<sup>[2]</sup>,代谢组学可以从整体上研究小麦代谢物的变化,为研究小麦生长发育、应对环境的调控机制<sup>[3]</sup>、遗传育种等方面提供了科学支持。本研究主要对代谢组学研究技术和代谢组学在小麦籽粒萌发、逆境胁迫和品系鉴定等方面的研究进展进行了综述,以期了解在代谢水平上的谷物种子萌发的生化机制及代谢产物发生的系列变化提供理论基础。

## 2 代谢组学

代谢组学在 1999 年被首次提出,认为人体是一个完整的系统,将机体的生理病理过程作为一个动态变化系统来研究,并将代谢组学(metabonomics)定义为生物体对生理病理等刺激产生应答代谢物的定量检测<sup>[4]</sup>。Fiehn 等<sup>[5]</sup>在 2000 年提出 metabolomics 的概念,与 metabonomics 不同,他认为代谢组学是静态分析过程,也称“代谢物组学”,是在一定条件下生物样品中所有代谢物的定性定量分析,根据分析目标的不同可分为 4 类:代谢物靶标分析(metabolite target analysis)、代谢轮廓分析(metabolic profiling)、代谢组学(metabonomics)、代谢物指纹分析(metabolic fingerprinting analysis)。

近几年,代谢组学研究发展迅猛,进一步完善了代谢组学概念。代谢组学是关于生物体内源性物质整体及其变化规律的科学。代谢组学的中心任务包括检测、量化和编录生物体内源性代谢物整体及其变化规律,联系该变化规律与所发生的生物学事件或过程的本质。代谢组学的主要研究对象是相对分子质量 1000 以下的内源性小分子,它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(研究流程见图 1)。

植物代谢组学作为系统生物学的一个组成部分,在基础生物学、作物育种和生物技术上都具有广泛应用<sup>[6]</sup>。Madala 等<sup>[7]</sup>利用超高压液相色谱-质谱联用结合主成分分析和正交校正的偏最小二乘判别分析研究发现,拟南芥中的 2-异亚硝基苯乙酮(isonitrosoacetophenone, INAP)可被酶代谢产生苯甲酸衍生物、苯丙素和硫代葡萄糖苷,INAP 的代谢状态限制了拟南芥中细菌的生长,表明诱导的代谢变化有助于防御相关反应和形成抗微生物环境。Chang 等<sup>[8]</sup>

在评估转基因水稻基因修饰安全性实验中,利用高分离度快速液相色谱与四极杆-飞行时间质谱联用比较转基因型和野生型水稻的代谢表型,发现环境因素对代谢物的影响大于基因修饰。Gong 等<sup>[9]</sup>分析水稻 900 种代谢物,得到超过 2800 个甲基化定量特征位点(methylation quantitative trait loci, mQTLs),经数据挖掘将 24 个候选基因与 mQTLs 相关联,有助于弥合基因型和表型之间的差距。

### 2.1 代谢组学检测技术

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)作为代谢物定性、定量检测的重要手段,具有样品前处理简单,不破坏分子结构,无偏向性,检测准确、快速、分辨率高等优点。在代谢组学发展早期,NMR 被广泛用于毒性代谢及药用植物的次级代谢<sup>[10]</sup>研究中。<sup>1</sup>H-NM 对含氢化合物均有响应,图谱中信号的相对强弱反映各组的相对含量,能满足代谢组学中尽可能多化合物的检测。在食醋样品中加入含磷酸三钠(tribasic sodium phosphate, TSP)的 D<sub>2</sub>O 后,经 NMR 技术检测,发现山西陈醋、镇江香醋、白醋的化学成分有明显不同<sup>[11]</sup>。通过 NMR 联用高效液相和紫外分光光度法比较不同成熟阶段连翘果实代谢物差异,鉴定出 27 种代谢物,未成熟果实的抗氧化性高于成熟果实<sup>[12]</sup>。利用 NMR 和气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)研究日本一种发酵腌菜 sunki,鉴定出 54 种水溶性化合物和 62 种挥发性化合物,不同生产年限及工厂产出的样品成分不同,这种差异也可能与 sunki 发酵过程中乳酸菌群落和萝卜叶初始营养成分不同有关<sup>[13]</sup>。

GC-MS 常用于植物和微生物代谢指纹分析,如鉴定野生型和转基因植物等。GC-MS 具有较高的分辨率和灵敏度,相对经济,且有可供参考的标准谱图库,可用于代谢物定性分析。但对于难挥发或挥发性小的成分或分子量较大的代谢物,GC-MS 很难直接从体系内获得代谢物的信息,且前处理繁琐<sup>[14]</sup>。基于 GC-MS 的大麦代谢物分析研究中,通过萃取、分馏获得低分子量大麦成分,通过 GC 可检测出 587 个不同峰,其中经过 MS 鉴定了 173 个,经多变量数据分析表明极性代谢物是大麦代谢随时间变化的主要贡献者<sup>[15]</sup>。Shu 等<sup>[16]</sup>通过 GC-MS 探索水稻发芽过程中的时间依赖性代谢变化,糙米萌发代谢物经 GC 检测到 615 个不同峰,其中可通过 MS 鉴定出 174 个,通过主成分分析和相对应载量的分析表明,发芽过程中代谢物随时间变化情况与所研究的其他 3 种水稻相似,极性代谢物是第一主成分分离的主要原因。采用 GC-MS 分析不同发育阶段款冬花蕾的代谢组学特征,不同发育阶段样品进行两相溶剂提取,共鉴定出 35 个极性化合物和 19 个非极性化合物,主成分分析(principal component analysis, PCA)结果显示 5 个发育阶段的样品可明显分开,且呈现动态变化趋势<sup>[17]</sup>。

液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)是代谢组学分析研究中发展较晚的一门技术,前处理简单,经济实用,适用于热不稳定,不易挥发、相对分子质量较大的物质,广泛用于毒理学研究、植物代谢组学、物种差异研究等方面。与 GC-MS 相比,LC-MS 的分析时间较长,且需要依赖标品做参照物。在代谢组学中常用超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC),结合不同性质色谱柱以提高色谱分离效率,扩大对代谢物的覆盖范围,用反相色谱柱(如 C<sub>18</sub>)和亲水作用色谱柱对复杂生物样品进行分离<sup>[18]</sup>。在利用 LC-MS 技术的非靶向代谢组学寻找根肿菌侵染的拟南芥宿主的标志代谢物的研究中,筛选出了油菜素内酯、类黄酮、木质素等 11 种代谢物标志物<sup>[19]</sup>。

在液相色谱质谱联用的质量分析器组合中,常用基于四极杆飞行时间质谱(quadrupole time of flight mass spectrometer, QTOF),或是基于离子阱的串联质谱(ion trap, QIT)<sup>[20]</sup>。飞行时间质谱(time of flight mass spectrometer, TOF)具有结构简单、扫描速度快和质量范围广等优点,可获得完整的质谱图。四极杆质谱具有较高的定量分析性能,将四极杆飞行时间质谱与超高效液相色谱联用,形成具有高灵敏度、高分辨率的化合物定性定量检测仪器。建立基于超高压液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱技术(UHPLC-TOF/MS)的烟草代谢组学分析方法,通过优化代谢物提取的溶剂、提取方法、提取时间和提取温度 4 个因素,优化后方法可检测到 2445 个色谱峰<sup>[21]</sup>。在林下山参的生长年限鉴定实验中,利用 UPLC-Q-TOF/MS 技术结合主成分分析和正交校正的偏最小二乘判别分析等多变量统计分析方法,筛选出差异代谢物,并建立 11~15 年林下山参判别模型<sup>[22]</sup>。Tan 等<sup>[23]</sup>研究红茶不同发酵时期非挥发性化合物的动态变化,采用 UPLC-QTOF/MS 的飞靶向代谢组学方法,鉴定了 61 种差异代谢物,揭示了红茶发酵过程中

不同代谢组模型。

## 2.2 数据处理

样品经过高通量检测技术分析后会产生大量数据,由于数据量过于庞大,仅采用常规的数据分析方法很难发现样品组内及组间差异<sup>[24]</sup>,因此代谢组学常通过多变量数据统计分析来降维,使之更易于可视化和分类。目前常用的多变量数据统计分析方法分为无监督分析和有监督分析。前者主要包括主成分分析(principal component analysis, PCA)、非线性映射(non-linear mapping, NLM)、簇类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)等,后者主要包括判别分析(discriminate analysis, DA)、偏最小二乘分析(partial least squares, PLS)、正交校正的偏最小二乘判别分析(orthogonal-PLS-DA, OPLS-DA)、正交信号校正的偏最小二乘分析(orthogonal signal correction-PLS, OSC-PLS)等。其中在代谢组学应用较多的是 PCA、PLS、OPLS-DA 等分析方法。

PCA 是一种利用投影方法对海量数据进行降维的数据处理方法<sup>[25]</sup>,目标是用较少的不相关变量代替大量相关变量,用低维平面来概括整个数据<sup>[26]</sup>,同时尽可能保留原始数据的信息。PCA 分析可表现样品内分子的动态变化趋势,且易于发现造成样品间差异的物质,可用于发现生物标志物等研究。PLS-DA 的原理与 PCA 相似,但分析前需对样品进行分组。

无监督分析和有监督分析的区别在于无监督分析不进行样品分组。无监督分析从整体上分析数据,当组内差异较小而组间差异大时,无监督分析能明显区别组间差异;当组内差异很大但组间差异不明显时,不能忽略组内差异,则无监督分析会放大组内差异,很难发现组间差异<sup>[24]</sup>。有监督分析能解决无监督分析不能忽略组内差异的问题。有监督分析先将样品按类别分组,再进行分析,可忽略组内随机误差,重点分析组间误差。

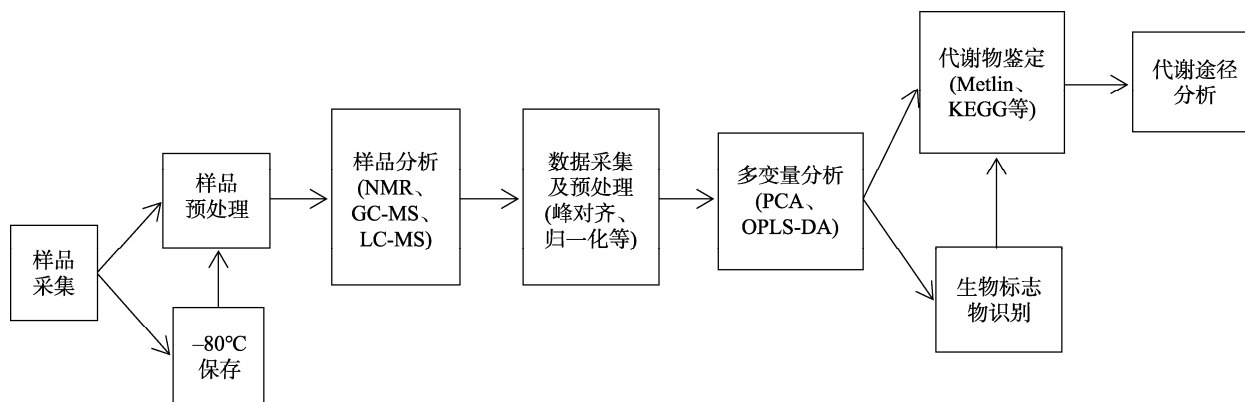


图 1 代谢组学研究流程

Fig.1 Research process of metabolomics

## 2.3 数据库

通过高通量检测获得的表征代谢物的数据,经整合、提取组建成代谢数据库<sup>[27]</sup>,为后续代谢物分析检索提供了数据库支持。代谢组学有用到的数据库主要分谱图、代谢途径、化合物信息3类数据库。

谱图数据库如 Metlin, 含有大量代谢物 MS/MS 谱图,特别是高精度的 ESI-QTOF MS/MS 谱图<sup>[28]</sup>,还提供化合物的分子量、化学结构、化学式等信息,侧重于非靶向代谢组学的代谢产物鉴定。KEGG 作为常用的代谢途径数据库,有 20 个子数据库<sup>[29]</sup>,是一个整合了基因组、化学和系统功能信息的数据库<sup>[30]</sup>,可将完整测序的基因组中得到的基因目录和更高级别的细胞、物种和生态系统水平的功能系统关联起来,可用于查询生物代谢分子相互作用的关系网络<sup>[28]</sup>,为研究的代谢途径提供了更直观的了解。化合物信息数据库如 PubChem,是一种有机小分子生物活性数据库,存储大量生化实验数据和小分子化合物结构信息<sup>[31]</sup>,数据网络开放,可在网站直接存取,方便快捷,促进了小分子数据资源的公共利用<sup>[32]</sup>。

## 3 小麦代谢组学研究进展

### 3.1 发芽小麦籽粒中代谢物研究

小麦种子萌发过程涉及多方面的代谢变化,如种子储存的营养物质淀粉类、蛋白质等的代谢分解,为种子萌发提供主要能量。分析种子发芽过程中代谢物变化,为探究种子萌发动力学机制及代谢调控提供理论基础。采用 GC-MS/MS 对小麦发芽过程中胚胎和胚乳中代谢物进行比较,在胚胎和胚乳中共鉴定了 82 种代谢物,经 PCA 和 HCA 分析,蛋白质和脂质的代谢主要发生在胚胎内,胚乳主要进行淀粉和少量蛋白质的分解,种子萌发期间的主要能量由胚胎内糖酵解提供<sup>[33]</sup>。Liu 等<sup>[34]</sup>通过发芽小麦的蛋白质组学研究进一步验证了种子萌发的主要能量来自糖酵解。在发芽对小麦蛋白质水解影响的研究中,发现小麦发芽会对小麦与乳糜泻(coeliac disease, CD)相关的谷蛋白肽有影响,使诱导适应性免疫应答的肽和先天免疫应答的肽减少;与肠炎症相关的 CM3 蛋白也大量减少,发芽会促使小麦中不利蛋白分解<sup>[35]</sup>。在区分小麦发芽及幼苗成长 3 个阶段的研究中,可由内源性  $\beta$ -D-木聚糖酶及其在小麦阿拉伯木聚糖上的原位活性来区分,在小麦发芽初期,内源性  $\beta$ -D-木聚糖酶活性急剧增加,使糊粉和胚乳中细胞壁中的水不可提取阿拉伯木聚糖溶解,水可提取阿拉伯木聚糖水平强烈增加<sup>[36]</sup>。

种子萌发过程有时会产生有益健康的活性成分,如  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)、甾醇等,谷物发芽后的保健功能逐渐得到重视<sup>[37]</sup>。小麦发芽过程会使 GABA 的含量明显增加,诱导发芽 24 h 和 48 h 的小麦面粉

中的 GABA 含量是发芽小麦面粉的 2.3 倍,诱导发芽 72 h 的小麦粉含量增加了 1.6 倍,发芽虽改变了小麦粉的理化性质,降低面筋强度,提高了面包的比容、颜色等<sup>[38]</sup>,但发芽产生的活性物质可作为食品中的天然营养增强剂,提高小麦制品的营养<sup>[39]</sup>。在大麦和稻米发芽过程同样发现 GABA 含量增加。大麦芽代谢物利用 GC-MS 分析,涵盖了亲脂性(如脂肪酸甲酸、烃、脂肪醇、甾醇)和亲水性(如糖、酸、氨基酸、胺)化合物,发现甾醇、氨基酸(蛋白酶活性增强)GABA、腐胺含量增加<sup>[15]</sup>。在发芽糙米代谢组学研究中,检测发现 GABA、甾醇、氨基酸等化合物的含量变化情况同大麦相似,都高于未发芽糙米种子;发芽促使糙米多种活性成分含量的增加,有利于提高糙米的营养价值<sup>[16]</sup>。大豆的萌发也会产生多种有益健康的物质,如萌发大豆的初级代谢物如肌醇、手性肌醇、松醇(有利于降低多囊卵巢囊肿、糖尿病的风险),次级代谢物异黄酮糖苷配基、B 大豆皂苷(有利于预防高胆固醇血症等疾病)等,认为发芽有利于挺高大豆的营养质量<sup>[40]</sup>。目前关于种子萌发的研究中,多数发现发芽有助于增加有益成分的含量,提高种子营养价值。

### 3.2 逆境对小麦代谢的影响

小麦生长受多种因素影响,其中不利的环境因素即逆境胁迫会对小麦农业生产产生巨大影响,造成种子发芽率低,植株生长迟缓,大面积减产等危害。在研究盐碱胁迫对小麦种子萌发影响时发现,碱胁迫对小麦种子发芽率、发芽速率等的影响强于盐胁迫,随盐碱胁迫浓度的增加,小麦幼苗  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  代谢发生显著变化,幼苗根和茎叶中  $\text{Na}^+$  含量及  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  显著增加<sup>[41]</sup>。包雨卓<sup>[42]</sup>通过 GC-TOF/MS 分析冬小麦东农冬麦 1 号在 5、-10、-25℃3 个不同温度条件下分蘖时期代谢物差异,发现具有差异的代谢物 81 个,且氨基酸和糖类物质代谢在冬小麦的低温响应过程中发挥重要作用。利用 GC-MS 方法来鉴定干旱胁迫下 3 种对干旱耐受程度不同的小麦中的化合物,所有品种在干旱胁迫下,氨基酸水平变化最显著,而耐受品种中有机酸的减少较明显<sup>[43]</sup>。研究  $\text{Ca}^{2+}$  对汞毒害下的小麦种子萌发代谢的影响,发现向污水中加入  $\text{CaCl}_2$  可使汞毒害下的小麦胚乳和幼苗的淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶活性提高,呼吸速率加快,从而缓解汞毒害作用<sup>[44]</sup>。利用禾谷镰刀菌培养滤液培养小麦种子,发现该菌滤液毒素显著影响小麦种子萌发过程中芽、根中可溶性蛋白质、核酸、糖等合成积累代谢<sup>[45]</sup>。

### 3.3 不同小麦品系、生长环境对小麦代谢物的差异分析

通过非靶向代谢组学技术分析不同处理小麦的代谢物,在代谢物水平上分析不同小麦品种或不同处理方式对小麦产生的差异,从整体宏观的角度提供小麦鉴定方法。在不同品系小麦代谢物分析研究中,取 45 个小麦品系的

种子提取物,分析非极性和极性离子的表达差异,鉴定了影响人类健康特征相关的代谢物和评估环境因素<sup>[46]</sup>。在有机和常规农业小麦籽粒的代谢物分析中,44种代谢物在两种小麦籽粒的含量无差异,表明不同农业系统对小麦代谢物的影响不大或者没有影响<sup>[47]</sup>。在硬粒小麦粗面粉和面食挥发性成分的代谢分析研究中,硬粒小麦获得的粗粒面粉和面食通过萃取后经GC-MS检测,鉴定出35种挥发性化合物,代谢物和挥发物之间相关性表明,煮熟面食的风味会因使用硬粒小麦品种有显著性差异<sup>[48]</sup>。利用核磁共振方法比较欧洲4种小麦品种的代谢物变异图谱,发现不同品种小麦在胚芽鞘阶段的代谢物谱图差异主要有甜菜碱引起<sup>[49]</sup>。通过代谢组学研究分析4种硬粒小麦、3种生长季节和2种农业系统对小麦代谢产物的影响,鉴定了部分极性和非极性化合物,经数据统计分析发现基因型、年份和环境的相互作用对硬粒小麦籽粒的代谢物组成和含量影响很小<sup>[50]</sup>。

### 3.4 其他

小麦其他研究方面也应用了代谢组学。对中国春小麦和非整倍体双端体小麦非靶向代谢物分析,PCA表明中国春和每个双端体之间代谢物谱存在显著差异,共分析出412种代谢物;分析海藻糖和支链氨基酸生化途径,发现与其相关的酶的基因位于同源3组染色体上,表明小麦非整倍体系适合代谢组学-基因组学分析<sup>[51]</sup>。植物将苯并恶嗪及其代谢物用作化学物质来抵御和感染捕食者,通过LC-MS的代谢物分析对小麦中苯并恶嗪及其衍生物做定性表征,并鉴定了几种新的异羟肟酸苯并恶嗪代谢物、内酰胺、苯并恶嗪酮等代谢物,对小麦籽粒化学信息进行了补充<sup>[52]</sup>。采用非靶向代谢组学方法分析玉米、燕麦和小麦三种谷物研磨分离成麸和面粉后的生化组成,确定了325种物质,经主成分分析发现三种谷物在组成上有显著差异,且谷物经加工后,其麸皮内营养成分大量减少<sup>[53]</sup>。

## 4 展望

代谢组学作为系统生物学的重要分支之一,在小麦逆境胁迫响应、品系鉴定等研究中取得一些进展,但小麦萌发、生长、成熟过程的代谢变化复杂,还需进一步研究。随着检测技术的不断更新,代谢组学可以检测到更多的物质,能更加全面地分析小麦代谢调控过程。笔者通过UPLC-QTOF/MS手段来分析小麦不同发芽时期代谢物变化,经数据库匹配鉴定了300多种代谢物,明显优于GC-MS/MS<sup>[33]</sup>检出效果。通过对发芽小麦不同萌发时期籽粒中的代谢物质变化情况进行分析,了解在代谢水平上的谷物种子萌发的生化机制及代谢产物发生的系列变化,种子储藏过程可能会发生人眼不易分辨的轻微发芽,通过代谢组学找到不同发芽阶段的代谢物标记物,用于监测

储藏小麦种子的萌发情况,有利于减少因发芽带来的农业生产上的损失。代谢组学结合基因组学、蛋白质组学等其他组学,宏观与微观分析相结合,可在小麦遗传育种、逆境胁迫、基因功能分析等研究领域发挥越来越重要的作用。

### 参考文献

- [1] 刘英. 谷物加工工程[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.  
Liu Y. Grain processing engineering [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [2] Taylor J, King RD, Altmann T, et al. Application of metabolomics to plant genotype discrimination using statistics and machine learning [J]. *Bioinformatics*, 2002, 18(S2): 241.
- [3] 刘贤青, 罗杰. 植物代谢组学技术研究进展[J]. *科技导报*, 2015, 33(16): 33-38.  
Liu XQ, Luo J. Advances in plant metabolomics technology [J]. *Sci Technol Review*, 2015, 33(16): 33-38.
- [4] Nicholson JK, Lindon JC, 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): 1181-1189.
- [5] Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics [J]. *Nature Biotechnol*, 2000, 18(11): 1157-1161.
- [6] 漆小泉, 王玉兰, 陈晓亚. 植物代谢组学: 方法与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.  
Qi XQ, Wang YL, Chen XY. Plant metabolomics: Methods and applications [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2011.
- [7] Madala NE, Steenkamp PA, Piater LA, et al. Metabolomic insights into the bioconversion of isonitrosoacetophenone in *Arabidopsis thaliana* and its effects on defense-related pathways [J]. *Plant Physiol Biochem Ppb*, 2014, 84: 87-95.
- [8] Chang Y, Zhao C, Zhu Z, et al. Metabolic profiling based on LC/MS to evaluate unintended effects of transgenic rice with cry1Ac and sck genes [J]. *Plant Mol Biol*, 2012, 78(4-5): 477-487.
- [9] Gong L, Chen W, Gao Y, et al. Genetic analysis of the metabolome exemplified using a rice population [J]. *Proceed National Acad Sci United States*, 2013, 110(50): 20320-20325.
- [10] 刘霞, 王映红. 基于 NMR 的代谢组学技术在药用植物研究中的应用 [J]. *药学报*, 2017, 52(4): 541-549.  
Liu X, Wang YH. Application of NMR-based metabolomics technology in the study of medicinal plants [J]. *Acta Pharm Sin*, 2017, 52(4): 541-549.
- [11] 李爱平, 李震宇, 邢婕, 等. 核磁共振代谢组学技术检测食醋化学成分 [J]. *食品科学*, 2013, 34(12): 247-253.  
Li AP, Li ZY, Xing J, et al. NMR metabolomics technology for the detection of chemical constituents of vinegar [J]. *Food Sci*, 2013, 34(12): 247-253.
- [12] Jia J, Zhang F, Li Z, et al. Comparison of fruits of *forsythia suspensa* at two different maturation stages by NMR-based metabolomics [J]. *Molecules*, 2015, 20(6): 10065-10081.
- [13] Tomita S, Nakamura T, Okada S. NMR-and GC/MS-based metabolomic characterization of sunki, an unsalted fermented pickle of turnip leaves [J]. *Food Chem*, 2018, 258: 25-34.
- [14] 许国旺, 路鑫, 杨胜利. 代谢组学研究进展[J]. *中国医学科学院学报*,

- 2007, 29(6): 701–711.
- Xu GW, Lu X, Yang SL. Progress in metabolomics research [J]. J Chin Acad Med Sci, 2007, 29(6): 701–711.
- [15] Frank T, Scholz B, Peter S, *et al.* Metabolite profiling of barley: Influence of the malting process [J]. Food Chem, 2011, 124(3): 948–957.
- [16] Shu XL, Frank T, Shu QY, *et al.* Metabolite profiling of germinating rice seeds [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(24): 11612–11620.
- [17] 薛水玉, 王雪洁, 孙海峰, 等. 基于气质联用的款冬花蕾动态发育代谢组学特征分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(19): 2863–2869.
- Xue SY, Wang XJ, Sun HF, *et al.* Metabolomics analysis of dynamic development of coltsfoot flower buds based on GC/MS [J]. China J Tradit Chin Med, 2012, 37(19): 2863–2869.
- [18] Theodoridis GA, Gika HG, Want EJ, *et al.* Liquid chromatography–mass spectrometry based global metabolite profiling: A review [J]. Anal Chim Acta, 2012, 711(711): 7–16.
- [19] 何璋超, 高知泉, 毕凯, 等. 基于 LC-MS 技术的代谢组学方法研究根肿菌对拟南芥代谢的影响[J]. 华中农业大学学报, 2017, 36(5): 30–38.
- He ZC, Gao ZN, Bi K, *et al.* Study on the effect of *Rhizoctonia solani* on the metabolism of *Arabidopsis thaliana* based on LC-MS technology [J]. J Huazhong Agric Univ, 2017, 36(5): 30–38.
- [20] 李兴, 余玲玲, 胡凯锋. 结合核磁共振技术与液质联用技术的代谢组学数据采集、处理和分析[J]. 生命科学仪器, 2016, (3): 3–9.
- Li X, Yu LL, Hu KF. Metabolomics data collection, processing and analysis combined with nuclear magnetic resonance and LC/MS [J]. Life Sci Instrum, 2016, (3): 3–9.
- [21] 胡贲, 赵明月, 段礼新, 等. 基于超高压液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱技术的烟草代谢组学分析方法[J]. 分析实验室, 2016, 35(5): 502–505.
- Hu W, Zhao MY, Duan LX, *et al.* Tobacco metabolomics analysis method based on ultra high pressure liquid chromatography–quadrupole tandem time-of-flight mass spectrometry [J]. Anal Lab, 2016, 35(5): 502–505.
- [22] 常相伟, 王博然, 王彤, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 的植物代谢组学技术鉴别林下山参的生长年限[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3609–3614.
- Chang XW, Wang BR, Wang T, *et al.* Identification of the growth years of undergrowth ginseng based on UPLC-Q-TOF/MS plant metabolomics [J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(19): 3609–3614.
- [23] Tan J, Dai W, Lu M, *et al.* Study of the dynamic changes in the non-volatile chemical constituents of black tea during fermentation processing by a non-targeted metabolomics approach [J]. Food Res Int, 2016, 79: 106–113.
- [24] 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 JY. Metabolomics data processing method—Principal component analysis [J]. Chin J Clin Pharmacol Therap, 2010, 15(5): 481–489.
- [25] Trygg J, Holmes E, Lundstedt T. Chemometrics in metabolomics [J]. J Proteome Res, 2007, 6(2): 469–479.
- [26] 阿基业, 何骏, 孙润彬. 代谢组学数据处理——主成分分析十个要点问题[J]. 药学报, 2018, 53(6): 929–937.
- A JY, He J, Sun RB. Metabolomics data processing: Ten key points in principal component analysis [J]. J Pharm Sci, 2018, 53(6): 929–937.
- [27] 林泓. 29 个大豆制品代谢组学分析及植物分子特征数据库的建立[D]. 上海: 上海师范大学, 2013.
- Lin H. Metabolomics analysis of 29 soybean varieties and establishment of a database of plant molecular characteristics [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2013.
- [28] 申国安, 段礼新, 漆小泉. 植物代谢组学数据分析和数据库[J]. 生命科学, 2015, 27(8): 995–999.
- Shen GA, Duan LX, Qi XQ. Plant metabolomics data analysis and database [J]. Life Sci, 2015, 27(8): 995–999.
- [29] Kanehisa M, Goto S, Kawashima S. The KEGG resource for deciphering the genome [J]. Nucl Acids Res, 2004, 32: 277.
- [30] 李向真, 刘子朋, 李娟, 等. KEGG 数据库的进展及其在生物信息学中的应用[J]. 药物生物技术, 2012, 19(6): 535–539.
- Li XZ, Liu ZP, Li J, *et al.* The progress of KEGG database and its application in bioinformatics [J]. Pharm Biotechnol, 2012, 19(6): 535–539.
- [31] 刘海波, 彭勇, 黄璐琦, 等. 基于 PubChem 数据库的天然产物快速寻靶方法[J]. 中草药, 2012, 43(11): 2099–2106.
- Liu HB, Peng Y, Huang LQ, *et al.* Rapid target method for natural products based on PubChem database [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2012, 43(11): 2099–2106.
- [32] Austin CP, Brady LS, Insel TR, *et al.* NIH molecular libraries initiative [J]. Science, 2004, 306(5699): 1138–1139.
- [33] Han C, Zhen S, Zhu G, *et al.* Comparative metabolome analysis of wheat embryo and endosperm reveals the dynamic changes of metabolites during seed germination [J]. Plant Physiol Biochem, 2017, 115: 320–327.
- [34] Liu Y, Han C, Deng X, *et al.* Integrated physiology and proteome analysis of embryo and endosperm highlights complex metabolic networks involved in seed germination in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. J Plant Physiol, 2018, 229: 63–76.
- [35] Boukid F, Prandi B, Buhler S, *et al.* Effectiveness of germination on protein hydrolysis as a way to reduce adverse reactions to wheat [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(45): 9855–9861.
- [36] De-Backer E, Gebruers K, Vanden-Ende W, *et al.* Post-translational processing of  $\beta$ -D-xylanases and changes in extractability of arabinoxylans during wheat germination [J]. Plant Physiol Biochem, 2010, 48(2): 90–97.
- [37] 张钟, 程美林, 王丽, 等. 发芽对小麦品质的影响[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(1): 11–16.
- Zhang Z, Cheng ML, Wang L, *et al.* Effects of germination on wheat quality [J]. J China Cere Oils Assoc, 2014, 29(1): 11–16.
- [38] Baranzelli J, Kringel DH, Colussi R, *et al.* Changes in enzymatic activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of wheat flour as affected by germination [J]. LWT, 2018, 90: 483–490.
- [39] Ding J, Hou GG, Nemzer BV, *et al.* Effects of controlled germination on selected physicochemical and functional properties of whole-wheat flour and enhanced  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation by ultrasonication [J]. Food Chem, 2018, 243: 214–221.
- [40] Gu EJ, Kim DW, Jang GJ, *et al.* Mass-based metabolomic analysis of soybean sprouts during germination [J]. Food Chem, 2017, 217: 311–319.
- [41] 蔺吉祥, 李晓宇, 唐佳红, 等. 盐碱胁迫对小麦种子萌发、早期幼苗生长及  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  代谢的影响[J]. 麦类作物学报, 2011, 31(6): 1148–1152.
- Lin JX, Li XY, Tang JH, *et al.* Effects of saline-alkali stress on wheat seed germination, early seedling growth and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  metabolism [J]. J Triticeae Crops, 2011, 31(6): 1148–1152.

- [42] 包雨卓. 东农冬麦1号响应低温胁迫的比较代谢组学研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017.  
Bao YZ. Comparative metabolomics study of Dongnong Dongmai No. 1 in response to low temperature stress [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017.
- [43] Bowne JB, Erwin TA, Juttner J, *et al.* Drought responses of leaf tissues from wheat cultivars of differing drought tolerance at the metabolite level [J]. *Mol Plant*, 2012, 5(2): 418–429.
- [44] 马成仓, 李清芳.  $\text{Ca}^{2+}$ 对汞毒害下的小麦种子萌发代谢的影响[J]. 农业环境科学学报, 2000, 19(3): 173–175.  
Ma CC, Li QF. Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on germination metabolism of wheat seeds under mercury toxicity [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2000, 19(3): 173–175.
- [45] 傅雪琳, 何平. 禾谷镰刀菌培养滤液对小麦种子萌发代谢的影响[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(1): 60–62.  
Fu XL, He P. Effects of cultured filtrate of *Fusarium graminearum* on germination and metabolism of wheat seeds [J]. *J South China Agric Univ*, 2001, 22(1): 60–62.
- [46] Matthews SB, Meenakshi S, Mensack MM, *et al.* Metabolite profiling of a diverse collection of wheat lines using ultraperformance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e44179.
- [47] Christian Z, Georg L, Thomas B, *et al.* Metabolite profiling of wheat grains (*Triticum aestivum* L.) from organic and conventional agriculture [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(21): 8301.
- [48] Romina B, Cristiano P, Giuseppe S, *et al.* Metabolic profiling and analysis of volatile composition of durum wheat semolina and pasta [J]. *J Cere Sci*, 2009, 49(2): 301–309.
- [49] Graham SF, Amigues E, Migaud M, *et al.* Application of NMR based metabolomics for mapping metabolite variation in European wheat [J]. *Metabolomics*, 2009, 5(3): 302–306.
- [50] Beleggia R, Platani C, Nigro F, *et al.* Effect of genotype, environment and genotype-by-environment interaction on metabolite profiling in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grain [J]. *J Cere Sci*, 2013, 57(2): 183–192.
- [51] Francki MG, Hayton S, Gummer JPA, *et al.* Metabolomic profiling and genomic analysis of wheat aneuploid lines to identify genes controlling biochemical pathways in mature grain [J]. *Plant Biotechnol J*, 2015, 14(2): 649–660.
- [52] Hanhineva K, Rogachev I, Aura AM, *et al.* Qualitative characterization of benzoxazinoid derivatives in whole grain rye and wheat by LC-MS Metabolite profiling [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(3): 921–927.
- [53] Lee DP. Diversity of nutrient content in grains-A pilot metabolomics analysis [J]. *Nutr Food Sci*, 2013. DOI: 10.4172/2155-9600.1000191

(责任编辑: 武英华)

### 作者简介



王丽娜, 硕士研究生, 主要研究方向为农产品质量与食品安全。

E-mail: helloworld@sina.com



王步军, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为农产品质量与食品安全与风险评估。

E-mail: wangbujun@caas.cn