

杨万霞,陈松峰. 植物中硼在微观水平上的作用机制及研究展望[J]. 江苏农业科学,2021,49(23):34-40.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.23.006

植物中硼在微观水平上的作用机制及研究展望

杨万霞^{1,2}, 陈松峰³

(1. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心,江苏南京 210037; 2. 南京林业大学林学院,江苏南京 210037;

3. 中国科学院南京土壤研究所,江苏南京 210008)

摘要:硼是植物生长所必需的营养元素,在植物正常的生命活动中发挥着重要作用。随着基因组学、蛋白质组学、代谢组学、转录组学等现代技术手段的不断应用,人们对植物中的硼研究也逐渐深入。本文综述了近年来植物中的硼在组学水平上的研究进展,组学技术在构建硼高密度遗传图谱、寻找与硼吸收转运相关的转录因子、硼介导的代谢途径方面的重要作用,可以为研究不同硼水平下植物响应的差异、提高硼利用效率和减弱植物遭受硼毒害的响应机制研究提供一定思路。

关键词:硼;基因组学;蛋白质组学;代谢组学;转录组学

中图分类号: S718.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)23-0034-07

根据植物必需营养元素的确定标准,目前人们已经确定 17 种植物必需营养元素,其中微量元素有铁、硼、锰、锌、铜、钼、氯、镍、钠等 9 种^[1],这些必需营养元素在植物生长发育与形态建成、物质代谢与能量转化、信息传递与信号转导等方面的作用是不可替代的^[2]。Warington 在 1923 年通过对蚕豆的试验发现,硼是高等植物维持生长发育所必需的营养元素^[3]。此后,为了明确硼在植物生长发育中的功能,人们进行了大量研究。一开始的研究主要集中在高硼、低硼逆境胁迫对植物生长的影响及耐胁迫的生理机制、硼与植物光合作用的关系^[4-6]、硼与细胞结构和功能的关系^[7]、硼在植物体内的运输机制及分布方式^[8-9]、硼与植物生长物质之间的关系^[10]、硼与植物发育生理的关系、硼对体内相关代谢酶活性的影响^[11]等生理方面。随着科研技术手段的不断发展,研究内容也越来越深入,基因组学(genomics)、蛋白质组学(proteomics)、代谢组学(metabonomics)、转录组学(transcriptomics)等一系列先进的分析方法被应用到植物生命机制的探索中,为更深层次地了解植物生长、发育、代谢、疾病、衰老的全过程并为改良植物品种、优质品种选育、

确保食品安全奠定了良好基础^[12-16]。本文对这些组学水平上的研究方法展开综述,以期在前人研究的基础上,为后续该方面的研究提供一些思路和启发。

1 基因组学水平的研究进展

基因组的概念始于 1920 年,但是发展得比较缓慢,直到 1986 年美国科学家 Thomas Roderick 正式提出基因组学的概念^[17]。目前基因组学的主要研究方向包括结构基因组学(structural genomics)、功能基因组学(functional genomics)和比较基因组学(comparative genomics)。结构基因组学的主要研究手段为利用数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)定位及 DNA 测序技术(全基因组鸟枪法和克隆重叠群法)研究基因组的遗传图谱和物理图谱。功能基因组学利用结构基因组学提供的信息和产物,主要借助基因表达的系统分析(serial analysis of gene expression, SAGE)、表达序列标签(expressed sequence tag, EST)、cDNA 微阵列(cDNA microarray)和 DNA 芯片(DNA chip)、蛋白质组学、生物信息学及反向遗传学等方法对基因功能在基因组或系统水平进行分析。功能基因组学可以延伸至转录组学、表观遗传学、蛋白质组学、代谢组学等表型组学。比较基因组学是先获得不同物种或群体的基因组,然后再进行比较的系统生物学研究^[17-19]。随着一系列植物如拟南芥、水稻、玉米等陆续完成测序工作,农业也开启了基因水平研究的新篇章,对微量元素硼与植物之间的研究也深入到了基因

收稿日期:2021-04-26

基金项目:南京林业大学青年创新基金(编号: CX2018007);江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

作者简介:杨万霞(1978—),女,山东东阿人,博士,讲师,主要从事人工林定向培育和木本药用植物的次生代谢研究。E-mail: yangwanxia@njfu.com.cn。

层面^[20]。

Takano 等利用拟南芥突变体 *bor1-1* 进行试验发现, *BOR1* (At2g74160) 基因定位于中柱鞘细胞的细胞膜上, 并介导硼缺乏条件下硼在韧皮部的运输, 同时克隆出了第 1 个植物硼转运子基因 *BOR1*, 为探索高等植物活性硼转运的分子机制提供了参考; 其领导的研究小组于 2006 年通过将 2 个 T-DNA 插入 *NIP5;1* 基因序列, 导致植株根系吸收硼酸的能力降低, 并导致植株对缺硼的敏感性增强, 证实了 *NIP5;1* 基因在拟南芥内向吸收硼的过程中发挥着关键作用; 绿色荧光蛋白标记结果表明, 该基因位于质膜, 是主要内在蛋白 (MIPs) 家族基因的一员^[9,21]。其他 6 个 *BOR1* 类似基因也在拟南芥基因组中鉴定出来, 它们的特定性表达结果显示, 它们在植物硼运输过程中各自发挥着不同作用, 其中 *BOR2* 在根帽区、伸长区强烈表达, *BOR4* 在应对高硼胁迫时发挥着重要作用^[22-24]。除此之外, 研究者还对其他一些物种的 *BOR1* 功能类似基因进行了研究, 如葡萄、油菜、柑橘、玉米、番茄、水稻^[25-30] 等。

Liu 等研究了不同硼环境下甘蓝型油菜对不同矿物含量控制的遗传因素, 通过 QTL 全基因组分析和上位效应分析, 共鉴定出 35 个 QTL 和 74 个上位效应对, 发现大部分 QTL 都对应 2 种硼状态 (正常和缺硼) 下的 1 种。这些结果表明, 植物在营养胁迫条件下, 遗传因素控制植物的矿物质平衡需要调节矿物质的量。另外, 有研究者通过比较基因组分析, 将 26 个参与拟南芥离子吸收和转运的基因导入甘蓝型油菜的 QTL 区间, 甘蓝型油菜同源基因允许这些基因参与控制矿物的浓度, 可能有助于 QTL 的鉴定^[31]。随后, 研究者为揭示甘蓝型油菜硼吸收效率的遗传基础、植物生长特性、硼的吸收特征和硼效率系数的 QTL, 使用双单倍体群体分析了 Qingyou10 (硼高效植物) 和 Westar 10 (硼低效植物), 利用 Brassica 60 K Infinium BeadChip 阵列检测单核苷酸多态性 (SNPs)、简单重复序列 (SSR) 和扩增片段长度多态性 (AFLP) 等技术手段, 检测到 52 个 QTLs, 构建了高密度遗传图谱, 为甘蓝型油菜的硼效率研究提供了一个新的位于 A3 部位的主位点, 适合甘蓝型油菜的基因精细定位和分子标记辅助育种^[32]。研究缺硼条件下油菜的生理、转录、基因表达的变化有利于更全面地鉴别油菜缺硼时生理基因型、转录水平的响应和丰富的基因多样性表达, 而且数字基因表达谱 (DGE) 辅助 QTL 序列分析

可为复杂基因组的植物数量性状基因的快速分离提供新的思路^[33]。Hua 等在基因尺度上对不同硼胁迫下的 mRNA 转录进行分析, 这一最新研究成果为甘蓝型油菜硼稳态网络中关键成分的 mRNA 转录提供了全面认识, 丰富了对植物适应缺乏和过量硼条件的分子机制的理解^[34]。此外, Mosa 等利用 RT-PCR 技术分析水稻基因发现, 同属于质膜内在蛋白 (PIPs) 亚属的 *OsPIP1;3*、*OsPIP2;6* 这 2 种基因在高硼胁迫时表达强烈, 掌握 PIPs 的调控机制可以显著提升在高硼土壤上生长的作物的耐硼毒能力^[35]。在大麦中, *HbNIP2;1* 基因的表达和对硼毒的耐受性相关, 当表达量下调时, 限制了植物对硼的吸收^[36]。Maria 等在对 2 个不同基因型番茄进行长期、短期硼胁迫试验时发现, 静息膜电位是番茄耐硼毒响应的一个指标, H^+ -ATP 酶在番茄耐硼胁迫时发挥着作用^[37]。Rámila 等在对耐硼植物碱蒿的机制进行研究并探求与硼耐受性相关基因的表达时发现, 当硼质量浓度为 500 mg/L (水培) 时, 其依然能够正常生长, 这对通过开发清洁、低成本方案来解决硼毒问题提供了一个思路^[38]。

2 转录组学水平的研究进展

Crick 在 1958 年提出的中心法则认为, 个体发育过程是遗传信息由 DNA 传递到 RNA 最后翻译成蛋白质的过程, 由 DNA 到 RNA 的过程称为转录^[39]。1997 年 Veclalescu 等提出, 转录组是具有生物活性的细胞所能转录出来的所有 mRNA 的总和^[40]。转录组学是研究细胞中 mRNA、rRNA、tRNA、nRNA 转录和调控规律的学科, 对功能基因组而言非常重要。目前有很多方法被用来推测和定量转录组, 这些方法包括基于杂交的基因芯片技术和基于测序方法的表达序列标签技术 (expression sequence tags technology, EST)、基因表达系列分析技术 (serial analysis of gene expression, SAGE)、基因表达加帽分析技术 (cap analysis of gene expression, CAGE)、大规模平行测序技术 (massively parallel signature sequencing, MPSS) 和 RNA 测序技术 (RNA sequencing, RNA-seq)^[41]。此外, 随着新一代测序技术 (next-generation sequencing, NGS) 的快速发展, 诞生了 RNA-seq 技术。Shendure 等在分析酿酒酵母、裂殖酵母转录组时, 首先将该技术应用于科学研究中, 该技术与前几个技术相比有巨大优势, 如高通量、检测范围广、无需特异性探针、灵敏

度高等,因此该测序技术已被广泛应用于医学、药物研发和农业科学等基础研究领域^[42-46]。

Ichiro 等利用拟南芥野生株、WRKY6-3 转基因植株和 T-DNA 插入突变体,在 qRT-PCR 和微阵列分析等试验手段的帮助下,证明 WRKY6 基因不仅能够增强植株抵抗病原体的攻击和预防衰老,其在根尖表达时具有启动子活性,转录表达能够调节其他基因的表达,进而增强植株耐缺硼、硼毒的能力^[47]。Quiles-Pando 等利用转录组学的相关方法研究了拟南芥根中缺硼时硼、钙之间的关系,结果表明,Ca²⁺ 信号相关基因的转录水平受缺硼影响,环核苷酸门控离子通道基因(*CNGC19*)表达量在缺硼 6 h 内显著上调,Ca²⁺ 转运基因(*ACA*、*CAX*)表达量也增加;此外,钙调素样蛋白(*CML5*)的基因和钙依赖性蛋白激酶(*CPKs*)也出现过表达,这是第 1 次通过试验发现细胞液内 Ca²⁺ 及 Ca²⁺ 通道/转运蛋白基因与拟南芥根系短期 B 缺乏相关,这为以后在基因水平上研究硼钙之间的关系提供了理论支持^[48]。Yang 等通过对 BD3(缺硼)和 CK3(对照)进行柑橘缺硼导致叶脉木栓化时的 miRNA 分析,共鉴定出 99 种已知 miRNAs 和 22 种新 miRNAs 序列,结合相应数字基因表达数据,认为 *csi-miR156b* 和 *csi-miR164* 基因的表达量下调是导致它们的靶向基因 *SPLs*、*CUC2* 上调的原因,进而导致老叶叶脉细胞分裂并向无序阶段过渡^[49]。其后又对缺硼条件下纽荷尔脐橙嫁接在不同砧木的转录组学进行分析,发现参与叶绿素分解基因(*CsCLH*)、葡萄糖的合成基因(*CsSIP*、*CsWINV*、*CsTREH*、*CsTPS*)、类胡萝卜素合成基因(*CsCrtR-b*、*CsCrtL-e*)、木质素合成基因(*CsPAL*、*CsPOD*、*CsCAD*)等表达的差异都非常显著,说明这些基因与脐橙应对缺硼胁迫有关^[50]。Tombuloglu 对硼毒胁迫下的大麦进行高通量 RNA 测序,获得了 2.08 亿个可读片段,根据 Blast 和数字基因表达谱分析,发现在根、叶组织中有 16%~17% 的转录产物是差异表达的,这些转录产物大多数与细胞壁、膜、蛋白激酶的形成及胁迫反应、转运机制有关^[51]。例如在根组织中检测到磷脂酶、二价重金属阳离子转运蛋白和钙调素/钙结合蛋白(Ca²⁺-CAM)基因是高度表达的。此外,几丁质结合凝集素前体、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(*AFC2*)基因和泛素羧基末端水解酶基因表达有差异,表明这些物质可能参与硼毒的胁迫响应,从而为在转录水平对植物耐硼毒的机制进行研究拓宽了思路。

3 蛋白质组学水平的研究进展

蛋白质组学是研究一个基因组(genome)或一个细胞、组织表达的所有蛋白质的科学,此概念最先由 Wilkins 等提出^[52]。植物体的蛋白质组会随着组织甚至环境状态的变化而变化。蛋白质组学的主要研究范围包括植物体内的蛋白质表达水平、翻译后修饰、蛋白之间相互作用等的科学,从而为了解疾病发生、细胞代谢等在蛋白质水平上的变化差异而提供全面的认识。蛋白质组学的研究内容主要包括 3 个方面:大规模鉴定蛋白质及其翻译后修饰、差异蛋白质组学在疾病诊断中的应用、蛋白质之间的相互作用^[53]。

蛋白质组学研究的一般步骤包括样品制备[激光捕获微解剖(LCM)、流式细胞术(FCM)]、分离纯化[二维凝胶电泳技术(2-DE)、相差凝胶电泳技术(DIGE)、高效液相色谱技术(HPLC)]、分析鉴定[质谱技术(MS)、同位素亲和标记技术(ICAT)、蛋白质芯片技术等]和肽质量指纹谱或纯蛋白质裂解离子谱图数据库的检索。质谱技术主要包括电喷雾质谱(ESI-MS)、基质辅助激光解吸-电离飞行时间质谱(MALDI-TOF/MS)及表面增强激光解吸离子化-飞行时间质谱(SELDI-TOF/MS)等^[54]。随着蛋白质组学研究的不断发展和进步,结合生物信息学等其他技术手段在植物应对生物逆境及非生物逆境条件下的蛋白质表达、选育高产优质新品种等方面都发挥着积极作用^[55]。

Yang 等利用同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)蛋白质表达谱分析技术研究了长期缺硼条件下柑橘根的反应机制,在缺硼、正常硼条件下用 iTRAQ 分析来比较蛋白质的丰度,在缺硼植株中共鉴别出 164 种上调蛋白和 225 种下调蛋白,在根部,这些对缺硼条件适应性响应的蛋白在抑制根呼吸、清除活性氧和增强细胞的转运能力等方面都发挥着积极作用^[56]。相关研究结果表明,当柑橘根系缺硼时,蛋白质水平显著变化,这可能有助于缺硼植物的生存,该试验是迄今为止针对缺硼柑橘植株蛋白质变化的最全面的分析。其后,研究者利用二维凝胶电泳技术和质谱分析等手段研究了耐硼柑橘品种血柑和不耐硼品种酸柚在硼毒胁迫下叶片蛋白质的表达差异,分别发现 50、45 种蛋白质超量表达,在蛋白质水平揭示了 2 个品种的不同耐硼毒能力,为我们在翻译水平探究柑橘的耐硼毒机制提供

了新思路^[57]。此外, Sasmita 等通过对拟南芥叶片在缺硼、硼毒条件下的蛋白质组学研究发现了硼胁迫对植株光合作用、碳水化合物代谢和蛋白质合成的影响, 并利用二维凝胶电泳技术、质谱(MS)分析、一维凝胶电泳、免疫印记等技术手段发现了 9 种叶绿体蛋白、6 种光合相关蛋白、6 种胁迫相关蛋白、3 种蛋白合成相关蛋白的响应性表达, 这些响应蛋白大部分(8 种)表达下调, 只有 3 种蛋白的表达是增加的, 最终的研究结果表明, 硼胁迫在叶绿体和蛋白质合成的初期有显著影响, 但对氧化应激蛋白合成无显著影响^[58]。Wang 等利用蛋白质组学的方法揭示了短期缺硼条件下甘蓝型油菜的适应性机制, 利用 MALDI-TOF/MS 鉴别出 46 种具有表达差异的蛋白, 结合实时荧光定量 PCR(qPCR) 及其他相关技术研究发现, 碳通量可能是一个应对硼胁迫的调制过程, 稳定的细胞壁结构、抗氧化系统的作用和复杂的信号网络可能有助于对硼缺乏的耐受^[59]。Alves 等对白羽扇豆根系蛋白质组进行分析, 利用二维电泳方法在根中共发现 406 个多肽, 发现有 265 个多肽对硼缺乏应答^[60]。利用质谱分析发现, 其中 128 种响应多肽与细胞壁代谢、细胞结构、防御、能量代谢和蛋白质代谢有关, 通过检测细胞骨架合成相关蛋白的变化可知, 长期缺硼是导致细胞骨架改变的重要因素之一。

4 代谢组学水平的研究进展

代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后的

一门新兴组学学科, 是系统生物学的重要组成部分。代谢组学技术是对特定生理时期内某一生物或细胞所有低分子量代谢产物同时进行定性、定量分析的一门新学科, 这些代谢物一般是维持细胞正常代谢和生理功能所必需的^[61]。代谢组学研究的物质原子排列与蛋白质组(20 个氨基酸的排列)和转录组(4 个碱基与糖和磷酸骨架结合的排列)相比有很大不同, 这导致它们之间的化学性质(分子量、极性、溶解度)和物理(波动)性质有很大不同, 因此对其研究有独特意义^[62]。根据不同研究目的, 代谢组学又可分为靶标与非靶标代谢组学。近年来, 代谢组学的发展朝着标准化、量化与一体化的方向发展, 但是由于非靶标代谢组学存在一些缺点, 例如只能对代谢物进行定性或半定量测定, 已无法满足现在的研究需求, 故靶标代谢组学已经成为代谢组学的发展趋势^[63]。

代谢组学的研究过程包括数据采集、数据处理、数据分析等步骤, 由于每个步骤的目的不同, 采用的技术也不尽相同。采集生物样品后, 需要先经生物反应预处理, 采用核磁共振(NMR)、质谱联用如液相色谱-质谱联用(LC-MS)、气相色谱-质谱联用(GC-MS)等技术获得代谢谱或代谢指纹谱, 然后使用 KEGG、Metlin 和 HMDB 等数据库用于代谢物生物功能的解释和代谢通路分析, 用 SPSS、Origin 等软件比较数据间的差异^[64]。根据不同试验目的, 需要选用不同的试验技术, 详见表 1。

目前, 植物中的代谢物已经超过 20 万种, 包括

表 1 代谢组学分析技术和定量方法及其应用实例

试验对象	样品	分析对象	分析技术	定量方式	应用实例	参考文献
拟南芥	拟南芥提取物	三甲硅烷(TMS)衍生化代谢物	GC-MS	绝对定量	改善衍生化条件, 实现对拟南芥极性代谢物的精确定量	[65]
甲基杆菌 AM1	细胞提取物	氨基酸、有机酸、酰基辅酶 A、核苷酸类及小分子肽	LC-MS、MS、GC × GC-(TOF)-MS	绝对定量	通过 LC-MS 与 GC-MS 检测, 考察 AM1 在不同碳源培养下的代谢情况	[66]
烟草	叶片	化学成分	LC-QTOF-MS	半定量	通过半定量检测中国与津巴布韦烟草中化学成分, 发现中国烟草与津巴布韦烟草代谢物存在差异	[67]
玉米	天然植物提取物	酶、光合蛋白、氧化磷酸化、生长素的极性运输、微管生长和分裂	¹ H-NMR	绝对定量	探究不同类型的除草剂在玉米体内的运输机制	[68]
患病小鼠	尿液样本	氨基酸、代谢物	UHPLC-QTOF/MS	半定量	通过甘遂、甘草单独和互用来检测对小鼠的毒性和治疗效果	[69]
夏雪片莲	鳞茎、叶	加兰他敏	GC-MS	绝对定量	GC-MS 法与 LC-MS 或 NMR 相比具有更好的灵敏度和简便性	[70]

糖类、蛋白质和脂肪等初生代谢产物及类帖、酚类和含氮碱基等次生代谢物,所以对植物代谢物进行分析是非常必要的^[71]。近年来,硼这一植物必需元素与植物之间的关系在代谢水平上的研究也逐渐展开。

刘亚林等综述了植物中硼、钙 2 种元素在细胞壁中相互作用机制的研究进展,并提出了利用代谢组学等技术手段构建两者的代谢通路,找到共调解通路或者物质^[72]。Roessner 等利用代谢组学方法研究耐硼型大麦(Sahara)和不耐硼型大麦(Clipper)在高硼条件下的代谢物变化,通过对根部、叶部代谢谱图的分析发现, α -酮戊二酸、奎宁酸等物质的代谢水平与对照相比差异非常显著,这项试验结果说明了 2 个基因型不同的大麦品种的代谢信息差异及它们对硼的代谢响应机制^[73]。Marta 等在探究缺硼条件下羽扇豆的代谢情况时发现,缺硼对糖代谢的影响较小,而对游离氨基酸含量的影响较大,如天冬氨酸、脯氨酸、 γ -氨基丁酸等逆境响应或信号传递相关物质含量增加,而甘氨酸含量则下降^[74]。Liu 等利用代谢轮廓分析揭示了缺硼导致脐橙植物中心代谢模式的改变,发现硼缺乏叶中积累的物质主要有脯氨酸、L-鸟氨酸、肌醇和异肌醇等,而与三羧酸循环相关的柠檬酸、琥珀酸、草酸等物质的积累则减少,根、叶中的淀粉积累量都增多,这些结果表明,中心代谢模式的改变可能是对脐橙硼缺乏的特定适应性反应^[75]。Dong 等研究了柑橘砧木的根和叶对缺硼的不同代谢响应,发现叶片可溶性糖的积累导致磷酸戊糖途径和氨基酸的生物合成下降,根部游离氨基酸增多导致蛋白质合成减弱、莽草酸途径的产物发生改变导致根畸形,这些都是对硼缺乏的响应,试验结果全面揭示了硼缺乏时根和叶的差异化代谢响应及缺硼症状与代谢物的关系^[76]。

5 展望

随着组学技术的不断发展,其应用于生命科学研究的进程也不断加快,组学技术给我们解释生命的本质提供了可能,但其应用还存在一些不足:(1)检测费用昂贵、步骤繁琐、精度不高等问题制约了组学技术的发展与应用。(2)数据处理难度大。由于组学技术是高通量检测,得到大量原始数据,数据分析和挖掘方法比较缺乏。(3)由于单一组学只着眼于生命现象的一部分,不能完全解释某一生命现象,或不能更清楚地揭示现象的本质。

根据以上问题,着重开发通用性好、灵敏度高、速度快、实用性强的组学分析仪器,开发更多的数据处理软件,建立数学模型和方法,将 2 种或 2 种以上不同的组学技术有机结合并与脂类组学、糖组学等新兴组学结合,同时结合生物信息学、数学建模和建立数据库等方法,可以更加系统、深入、精确地探究植物的基因调控和相关信号传递网络系统的机制和硼胁迫对其影响的潜在机制,从而为品种改良、抗逆境胁迫等方面的研究提供理论支持。

参考文献:

- [1]王 忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,2008:80-82.
- [2]陆景陵. 植物营养学(上册)[M]. 北京:中国农业大学出版社,2003:77-107.
- [3]Warrington K. The effect of Boric acid and borax on the B roan bean and certain other plants[J]. Annual of Botany,1923,37:629-672.
- [4]焦晓燕,王劲松,武爱莲,等. 缺硼对绿豆叶片光合特性和碳水化合物含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2013,19(3):615-622.
- [5]Kiwaniis K, Marc E N, Recap F, et al. Physiological mechanisms of tolerance to high boron concentration in *Brassica rapa* [J]. Functional Plant Biology,2006,33(10):973-980.
- [6]Sotiria S, Georgios L, George K. Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae)[J]. Environmental and Experimental Botany, 2006,56(3):293-300.
- [7]O'Neill M A, Ishii T, Albersheim P, et al. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide[J]. Annual Review of Plant Biology,2004,55:109-139.
- [8]Zhao D L, Oosterhuis D M. Cotton carbon exchange, nonstructural carbohydrates, and boron distribution in tissues during development of boron deficiency[J]. Field Crops Research,2002,78(1):75-87.
- [9]Takano J, Noguchi K, Yasumori M, et al. *Arabidopsis* boron transporter for xylem loading[J]. Nature,2002,420(6913):337-340.
- [10]Jiao X Y, Yang Z P, Zhao R F, et al. Effects of boron on indole-3-acetic acid transportation in intact *Phaseolus aureus* plant[J]. The Journal of Applied Ecology,2007,18(2):366-370.
- [11]Aftab T, Khan M M A, Idrees M et al. Methyl jasmonate counteracts boron toxicity by preventing oxidative stress and regulating antioxidant enzyme activities and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. [J]. Verlag,2011,248(3):601-612.
- [12]顾滢娟,吴振先. 代谢组学在植物研究中的应用[J]. 广东农业科学,2012(4):105-107.
- [13]Pedreschi R, Lurie S, Hertog M, et al. Post-harvest proteomics and food security[J]. Proteomics,2013,13:1772-1783.
- [14]Fernie A R, Tadmor Y, Zamir D. Natural genetic variation for improving crop quality[J]. Current Opinion in Plant Biology,2006,9(2):196-202.

- [15] 王涛,梅旭荣,钟秀丽,等. 脂质组学研究方法及其在应用[J]. 植物学报,2010,45(2):249-257.
- [16] Xu D L, Long H, Liang J J, et al. *De novo* assembly and characterization of the root transcriptome of *Aegilops variabilis* during an interaction with the cereal cyst nematode[J]. BMC Genomics, 2012,13:133.
- [17] 李伟,印莉萍. 基因组学相关概念及其研究进展[J]. 生物学通报,2000,35(11):1-3.
- [18] 齐香玉,陈双双,冯景,等. 3种瓣型茉莉基因组大小测定与比较[J]. 江苏农业科学,2020,48(19):40-44.
- [19] 贾琪,吴名耀,梁康迳,等. 基因组学在作物抗逆性研究中的新进展[J]. 中国生态农业学报,2014,22(4):375-385.
- [20] Yamada K. Empirical analysis of transcriptional activity in the *Arabidopsis* genome[J]. Science,2003,302(5646):842-846.
- [21] Takano J, Wada M, Ludewig U, et al. The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation[J]. The Plant Cell, 2006,18:1498-1509.
- [22] Miwa K, Fujiwara T. Boron transport in plants: coordinated regulation of transporters[J]. Annual of Botany,2010,105(7):1103-1108.
- [23] Miwa K, Takano J, Fujiwara T. Improvement of seed yields under boron-limiting conditions through overexpression of BOR1, a boron transporter for xylem loading, in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Journal,2006,46(6):1084-1091.
- [24] Miwa K, Wakuta S, Takada K, et al. Roles of BOR2, a boron exporter, in cross linking of rhamnolacturonan - II and root elongation under boron limitation in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology,2013,163(4):1699-1709.
- [25] Perez-Castro R K, Kasai F, Gainza-Cortes S, et al. VvBOR1, the grapevine ortholog of AtBOR1, encodes an efflux boron transporter that is differentially expressed throughout reproductive development of *Vitis vinifera* L. [J]. Plant Cell Physiology,2012,53(2):485-494.
- [26] Zhao H, Shi L, Duan X L, et al. Mapping and validation of chromosome regions conferring a new boron-efficient locus in *Brassica napus* [J]. Molecular Breeding,2008,22(3):495-506.
- [27] Cañon P, Aquea F, de la Guardia A R H, et al. Functional characterization of *Citrus macrophylla* BOR1 as a boron transporter [J]. Plant Physiology,2013,149(3):329-339.
- [28] Chatterjee M, Liu Q J, Menello C, et al. The combined action of duplicated boron transporters is required for maize growth in boron-deficient conditions[J]. Genetics,2017,206(4):2041-2051.
- [29] Gioia F D, Aprile A, Sabella E, et al. Grafting response to excess boron and expression analysis of genes coding boron transporters in tomato[J]. Plant Biology,2017,19(5):728-735.
- [30] Neto J B D A, Hurtado-Perez M C, Wimmer M A, et al. Genetic factors underlying boron toxicity tolerance in rice: genome-wide association study and transcriptomic analysis [J]. Journal of Experimental Botany,2017,68(3):687-700.
- [31] Liu J, Yang J P, Li R Y, et al. Analysis of genetic factors that control shoot mineral concentrations in rapeseed (*Brassica napus*) in different boron environments [J]. Plant and Soil,2009,320:255-266.
- [32] Zhang D D, Hua Y P, Wang X H, et al. A high-density genetic map identifies a novel major QTL for boron efficiency in oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. PLoS One,2014,9(11):e112089.
- [33] Hua Y P, Zhou T, Ding G D, et al. Physiological, genomic and transcriptional diversity in responses to boron deficiency in rapeseed genotypes[J]. Journal of Experimental Botany,2016,67(19):5769-5784.
- [34] Hua Y P, Feng Y, Zhou T, et al. Genome-scale mRNA transcriptomic insights into the responses of oilseed rape (*Brassica napus* L.) to varying boron availabilities[J]. Plant and Soil,2017,416(1/2):205-225.
- [35] Mosa K A, Kumar K, Chhikara S, et al. Enhanced boron tolerance in plants mediated by bidirectional transport through plasma membrane intrinsic proteins [J]. Scientific Reports, 2016,6:21640.
- [36] Schnurbusch T, Hayes J, Hrmova M, et al. Boron toxicity tolerance in barley through reduced expression of the multifunctional aquaporin HvNIP2;1 [J]. Plant Physiology,2010,153(4):1706-1715.
- [37] Maria P P, Antonio L, Caterina L, et al. Long- and short-term effects of boron excess to root form and function in two tomato genotypes [J]. Plant Physiology and Biochemistry,2016,109:9-19.
- [38] Rámila C D P, Contreras S A, Di D C, et al. Boron stress response and accumulation potential of the extremely tolerant species *Puccinellia frugida* [J]. Journal of Hazardous Materials,2016,317(5):476-484.
- [39] Crick F. Central dogma of molecular biology [J]. Nature,1970,227:561-563.
- [40] Velculescu V E, Zhang L, Zhou W, et al. Characterization of the yeast transcriptome [J]. Cell,1997,88(2):243-251.
- [41] 赵圣明,赵岩岩,马汉军,等. 转录组学在抑菌机制中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业,2017,43(7):259-264.
- [42] Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing [J]. Nature Biotechnology,2008,26:1135-1145.
- [43] Nagalakshmi U, Wang Z, Waern K, et al. The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing [J]. Science,2008,320(5881):1344-1349.
- [44] Wilhelm B T, Marguerat S, Watt S, et al. Dynamic repertoire of a eukaryotic transcriptome surveyed at single-nucleotide resolution [J]. Nature,2008,453(7199):1239-1243.
- [45] Qi Y X, Liu Y B, Rong W H. RNA-Seq and its applications: a new technology for transcriptomics [J]. Hereditas,2011,33(11):1191-1202.
- [46] 梁焯,陈双燕,刘公社. 新一代测序技术在植物转录组研究中的应用[J]. 遗传,2011,33(12):1317-1326.
- [47] Ichiro K, Yoko I, Masami Y H, et al. WRKY6 is involved in the response to boron deficiency in *Arabidopsis thaliana* [J].

- Physiologia Plantarum,2010,139(1):80-92.
- [48] Quiles - Pando C, Rexach J, Navarro - Gochicoa M T, et al. Boron deficiency increases the levels of cytosolic Ca^{2+} and expression of Ca^{2+} - related genes in *Arabidopsis thaliana* roots [J]. Plant Physiology and Biochemistry,2013,65:55-60.
- [49] Yang C Q, Liu T, Bai F X, et al. miRNAome analysis associated with anatomic and transcriptomic investigations reveal the polar exhibition of corky split vein in boron deficient *Citrus sinensis* [J]. Molecular Genetics and Genomics,2015,290:1639-1657.
- [50] Liu X, Zhang J W, Guo L X, et al. Transcriptome changes associated with boron deficiency in leaves of two citrus scion - rootstock combinations [J]. Frontiers in Plant Science,2017,8:317.
- [51] Tombuloglu G, Tombuloglu H, Sakcali M S, et al. High - throughput transcriptome analysis of barley (*Hordeum vulgare*) exposed to excessive boron [J]. Gene,2015,557(1):71-81.
- [52] Wilkins M R, Sanchez J C, Gooley A A, et al. Progress with proteome projects: Why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it? [J]. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews,1996,13(1):19-50.
- [53] Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes [J]. Nature,2000,405(6788):837-846.
- [54] 李 瑶, 廖 霞, 肖星凝, 等. 基于蛋白质组学的植物多酚抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 食品科学,2016,37(3):235-260.
- [55] Salekdeh G H, Siopongco J, Ghareyazie L J W B, et al. A proteomic approach to analyzing drought - and salt - responsiveness in rice [J]. Field Crops Research,2002,76:199-219.
- [56] Yang L T, Qi Y P, Lua Y B, et al. iTRAQ protein profile analysis of *Citrus sinensis* roots in response to long - term boron - deficiency [J]. Journal of Proteomics,2013,93:179-206.
- [57] Sang W, Huang Z R, Qi Y P, et al. Two - dimensional gel electrophoresis data in support of leaf comparative proteomics of two citrus species differing in boron - tolerance [J]. Data in Brief,2015,4:44-46.
- [58] Chen M, Mishra S, Heckathorn S A, et al. Proteomic analysis of *Arabidopsis thaliana* leaves in response to acute boron deficiency and toxicity reveals effects on photosynthesis carbohydrate metabolism, and protein synthesis [J]. Journal of Plant Physiology,2014,171(3/4):235-242.
- [59] Wang Z H, Wang Z F, Chen S S, et al. Proteomics reveals the adaptability mechanism of *Brassica napus* to short - term boron deprivation [J]. Plant and Soil,2011,47:195-210.
- [60] Alves M, Moes S, Jenö P, et al. The analysis of *Lupinus albus* root proteome revealed cytoskeleton altered features due to long - term boron deficiency [J]. Journal of Proteomics,2011,74(8):1351-1363.
- [61] Harrigan G G, Goodacre R. Metabolic profiling: its role in biomarker discovery and gene function analysis [M]. London: Kluwer Academic Publishers,2003:223-256.
- [62] Dunn W B, Ellis D I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies [J]. Trends in Analytical Chemistry,2005,24(4):285-294.
- [63] Dunn W B, Broadhurst D I, Atherton H J, et al. Systems level studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Chemical Society Reviews,2011,40(1):387-426.
- [64] 郑海慧, 陈明毅, 钟丹敏, 等. 定量代谢组学研究进展 [J]. 药学进展,2017,41(4):254-262.
- [65] Quéro A, Jousse C, Lequart - Pillon M, et al. Improved stability of TMS derivatives for the robust quantification of plant polar metabolites by gas chromatography - mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B,2014,970:36-43.
- [66] Yang S, Sadilek M, Synovec R E, et al. Liquid chromatography - tandem quadrupole mass spectrometry and comprehensive two - dimensional gas chromatography - time - of - flight mass spectrometry measurement of targeted metabolites of methylobacterium extorquens AM1 grown onto two different carbon sources [J]. Journal of Chromatography A,2009,1216(15):3280-3289.
- [67] Li Q H, Zhao C X, Li Y, et al. Liquid chromatography/mass spectrometry based metabolic profiling to elucidate chemical differences of tobacco leaves between Zimbabwe and China [J]. Journal of Separation Science,2011,34(2):119-126.
- [68] Ott K H, Aranibar N, Singh B J, et al. Metabonomics classifies pathways affected by bioactive compounds. Artificial neural network classification of NMR spectra of plant extracts [J]. Phytochemistry,2003,62(6):971-985.
- [69] Tang Y P, Shen U, Kai J, et al. Comparative metabolomics analysis for the compatibility and incompatibility of kansui and licorice with different ratios by UHPLC - QTOF/MS and multivariate data analysis [J]. Journal of Chromatography B,2017,1057:40-45.
- [70] Berkov S, Bastida J, Viladomat F, et al. Development and validation of a GC - MS method for rapid determination of galanthamine in *Leucojum aestivum* and *Narcissus* ssp. : a metabolomic approach [J]. Talanta,2011,83(5):1455-1465.
- [71] 尹 恒, 李曙光, 白雪芳, 等. 植物代谢组学的研究方法及其应用 [J]. 植物学报,2005,22(5):532-540.
- [72] 刘亚林, 吴秀文, 闫 磊, 等. 植物硼钙效应及其在细胞壁中互作机制的研究 [J]. 植物科学学报,2018,36(5):767-773.
- [73] Roessner U, Patterson J H, Forbes M G, et al. An investigation of boron toxicity in barley using metabolomics [J]. Plant Physiology,2006,142:1087-1101.
- [74] Marta A, Helena M, Candido P R, et al. Metabolic analysis revealed altered amino acid profiles in *Lupinus albus* organs as a result of boron deficiency [J]. Physiologia Plantarum,2011,142(3):224-232.
- [75] Liu G D, Dong X C, Jiang C C, et al. Metabolic profiling reveals altered pattern of central metabolism in navel orange plants as a result of boron deficiency [J]. Physiologia Plantarum,2015,153(4):513-524.
- [76] Dong X C, Yan L, Jiang C C, et al. Different metabolite profile and metabolic pathway with leaves and roots in response to boron deficiency at the initial stage of citrus rootstock growth [J]. Plant Physiology and Biochemistry,2016,108:121-131.