

A Review of Microbial Metabolomics in Soil Environment Research

Yuanyuan Xiao, Haibo Li*, Yinghua Li, Zhongxin Yang

School of Resources & Civil Engineering, Northeastern University, Shenyang Liaoning
Email: yiamlhb@126.com

Received: Nov. 25th, 2017; accepted: Dec. 11th, 2017; published: Dec. 18th, 2017

Abstract

Soil is a complex environment of multi-media interaction, with specific characteristics of process diversity and anisotropy. There are some limitations, such as the large workload and the low detection, which the traditional methods such as DGGE or cloning cannot solve when we do research on the response mechanism of soil microbes to environmental and nutritional conditions. Nevertheless, adopting the non-targeted metabolomics method to analyze spectrum of low molecular weight metabolic may give us the new idea of the soil environment microbe research and break the shackles. This paper reviewed metabolomics especially microbial metabolomics research platform, research methods and research progress of soil microbial metabolomics, discussed the feasibility of using the metabolomics means to reveal the microbial mechanism of the wastewater land treatment system, and put forward some significant problems and challenges.

Keywords

Microbial Metabolomics, Soil Environment, Wastewater Land Treatment System, Review

微生物代谢组学及其在土壤环境中的研究进展

肖媛媛, 李海波*, 李英华, 杨忠新

东北大学资源与土木工程学院, 辽宁 沈阳
Email: yiamlhb@126.com

收稿日期: 2017年11月25日; 录用日期: 2017年12月11日; 发布日期: 2017年12月18日

摘要

土壤是多介质相互作用的复杂环境, 具有过程多样性和各向分异性特征, 采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)

*通讯作者。

文章引用: 肖媛媛, 李海波, 李英华, 杨忠新. 微生物代谢组学及其在土壤环境中的研究进展[J]. 微生物前沿, 2017, 6(4): 116-123. DOI: [10.12677/amb.2017.64015](https://doi.org/10.12677/amb.2017.64015)

或克隆文库等传统指纹图谱技术研究土壤微生物对外界环境、营养条件等变化的响应机理,存在工作量大,检测限低等局限性,采用非靶向代谢组学方法对低分子量代谢物全谱分析,有可能获得土壤环境微生物研究的新思路,从而突破这一束缚。本文综述了代谢组学特别是微生物代谢组学的分析平台、研究方法以及土壤环境微生物代谢组学的研究进展,讨论了利用代谢组学手段揭示污水土地处理系统微生物机制的可行性,提出了微生物代谢组学面临的关键问题与挑战。

关键词

微生物代谢组学, 土壤环境, 污水土地处理系统, 进展

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

代谢组学(Metabolomics)是对生物或细胞在特定生理时期内全部低分子量代谢产物同时进行定性和定量分析的一门新兴学科[1],以样本各项指标为变量,通过高通量的检测 and 数据处理手段,对数据信息进行建模与预测,研究生物体系(细胞、组织或生物体)在外界环境发生变化后其代谢产物的变化规律。

微生物代谢组学是代谢组学的一个研究领域,已在微生物表型分类、突变体筛选、代谢通路研究及发酵工艺监控、污染物的微生物降解及肠道微生物与宿主的代谢表型、病理关系等方面得到应用[2],具体内容涉及微生物功能基因组学[3]、食品中微生物污染物的检测[4]、与不同宿主细胞共生时微生物的表征等[5]。

目前,微生物代谢组学的应用集中在医学、食品和营养学等领域,研究对象多为单一菌群代谢物,而对群落微生物代谢物的研究鲜有报道。在土壤环境微生物研究方面,由于土壤环境复杂度极高,其微生物群落的多样性和各种微生物的生命活动造就了一个庞大的代谢物体系,因此其研究广度与复杂性远超单一菌群。尽管对土壤微生物代谢组学研究具有一定难度且成果甚少,但最近一些研究依然提示适用于微生物代谢组学的技术平台(GC-MS、LC-MS 等同样可用于土壤微生物代谢组学的研究(相关文献综述见第3部分:土壤环境微生物代谢组学研究方法与应用),在适当改进的基础上,仍可采用代谢组学方法对土壤环境微生物全部低分子量代谢产物进行定性和定量分析,得到可靠的生物学信息。

2. 微生物代谢组学技术平台

通过微生物代谢组学分析代谢物差异并鉴定微生物在不同环境下细胞的代谢差异,能更深入地了解外界环境所造成的微观物质变化,因此,代谢组学技术是研究微生物代谢与发展动力学的可靠工具。微生物代谢组学的研究流程包括:微生物培养、生物样本提取与猝灭、衍生化、仪器分析、数据分析、代谢物鉴定。以土壤环境微生物代谢组学为例,研究流程如图1。

2.1. 样品分析平台

代谢组学要求尽可能全面地分析生物体系中所有的小分子代谢产物,因此,整个实验操作方法与技术手段应保证能反映出代谢物全谱信息,基于此,应采用精确、灵敏、高通量的分析方法与技术平台,代谢组学主要分析技术包括 NMR (核磁共振技术)、LC-MS、GC-MS 和 CE-MS (毛细管电泳质谱联用技术)等。通常,质谱检测适用于研究植物与微生物代谢物,而核磁共振技术多用于对动物样品的分析[6]。

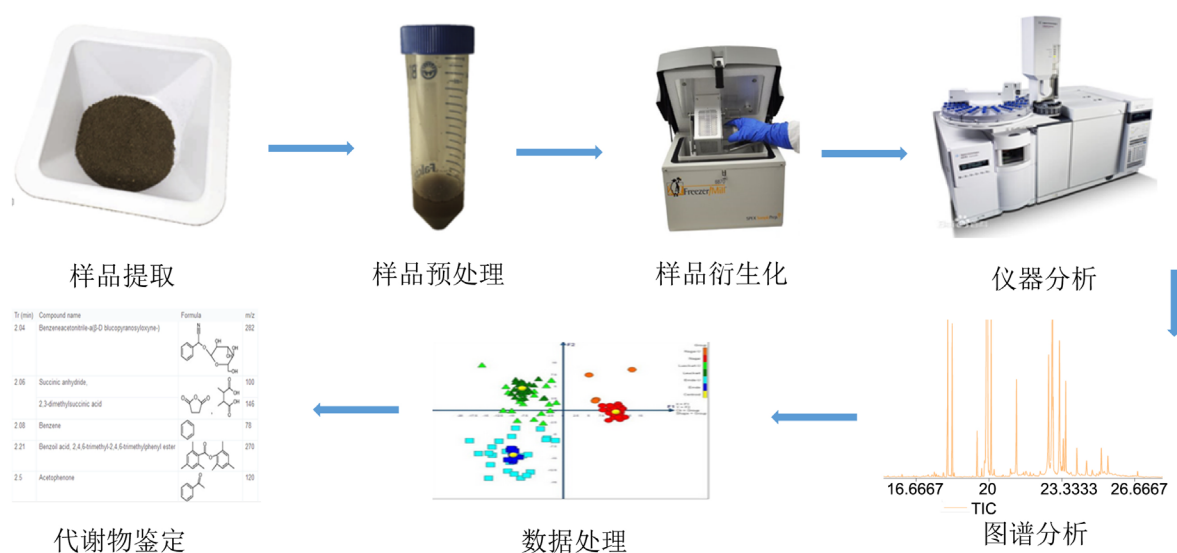


Figure 1. General research flow of microbial metabolomics in soil environment

图 1. 土壤环境微生物代谢组学一般研究流程

GC-MS 和 LC-MS 作为应用最广泛的分析技术，可以检测出数百种化合物，包含氨基酸、糖、醇、有机酸、脂肪酸等初级代谢产物以及萜类、聚酮类等次级代谢物。GC-MS 能够检测极性较大的化合物[7]，也能检测极性较小的化合物，同时还有标准谱库以备检索，能快速方便地对代谢物定性。LC-MS 具有强大的分离能力，且对样品预处理要求不复杂，适合分析难挥发性物质。毛细管电泳在代谢物分离方面潜力巨大，其效率优于 LC 和 GC。Hegeman 等[8]采用 LC-ESI-MS-MS 技术分析了葡萄糖冲击下的酿酒酵母的糖分解和三羧酸循环中间代谢产物。Ibanez 等[9]采用 CE-RP-UPLC (毛细管电泳 - 反相 - 超高效液相色谱)和 HILIC/UPLC-TOF-MS (亲水相互作用色谱/超高效液相色谱 - 飞行时间 - 质谱)联用技术研究了食品中多酚类物质对人体结肠癌 HT29 细胞抗增生的重要影响。已有研究表明，LC-LC-MS (液相质谱串联质谱技术)、LC-CE-MS (液相色谱 - 毛细管电泳 - 质谱联用技术)、HPLC-MS (高效液相色谱质谱联用技术)、毛细管 HPLC-MS、UPLC-MS (超高效液相色谱质谱联用技术)以及多维色谱等技术逐渐应用到代谢组学研究，大大提高了分辨率、重现性和灵敏度。

代谢物的复杂与多样性使得样品分析技术平台趋于多元化，不同分析技术的组合是现阶段的发展方向，应根据样品特性及研究目的选择适宜的分析技术。

2.2. 数据分析平台

通过大量的组间数据对比来得到差异显著的代谢产物，是微生物代谢组学图谱分析的核心思想。由于代谢物自身容易发生变化，受环境波动较为明显，从 GC-MS 等仪器得到的数据可能出现异常值，因此首先要采用一定的数据预处理方法来增加数据的稳定性和可靠性。通常采用批处理方法对多个图谱的数据同时进行处理，一维谱图的批处理包括填零及加窗函数变换、谱峰漂移校正，通过以上步骤将一维图谱中特定的、不需要的区域去除，接着采用 AMDIS、MetAlign 等数据处理软件对数据进行解卷积、峰识别、峰提取、峰对齐等预处理，得到的数据包括已定性的化合物名称、保留时间、峰面积等。

对预处理后得到的信息进行减相关性的差异性分析，是代谢组学数据分析的核心内容。由于代谢组学得到的数据十分繁杂且变量之间具有相关性，无法实现对所有数据进行详细且独立地分析，所以经过预处理得到的数据，就需要利用多变量分析法和模式识别技术来进行进一步分析，降低数据之间的相关

性, 放大数据之间的差异性, 得到对数据分类贡献显著的差异代谢物, 从而找到与生物体相关的生物学信息[10]。模式识别技术包括非监督学习方法和有监督学习方法。非监督学习方法主要有主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)、分线性映射、簇类分析等; 有监督学习方法包括偏最小二乘法-判别分析(Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA)、正交算法、人工神经网络及基于进化的计算算法。其中主成分分析和偏最小二乘法-判别分析是代谢组学研究中最常用的模式识别方法, 这两种方法能够使实验数据更加简化与可视化, 提取数据的本质特征。代谢组学通常采用 SIMCA-P 软件进行数据分析, 通常采用得分图和荷载图来分析样本的分类情况和对样本分类有贡献的变量, 贡献率大的变量可作为生物标志物, 并从中得到需要的生物学信息。SIMCA-P、SPSS、SAS、XCMS、MestReNova 是代谢组学数据分析常用软件。

3. 微生物代谢组学应用进展

在突变体筛选以及功能基因的研究方面, 微生物代谢组学已成功应用于区分动物细菌性肺炎的不同病原[11]以及对小儿感染性休克的早期诊断[12]。在食品与营养学方面, 微生物代谢组学开始应用于揭示病原体、毒素等的降解过程, 并已成功应用于食品中有毒物质的检测, 为食品安全监测提供了新方法。如 Ediage 等[13]采用 LC-MS-MS 技术检测了不同高粱品种, 对定性了的 23 种真菌毒素进行了定量分析; 席晓敏等[14]采用 GC-MS 技术探究了某些食品中的存在与微生物污染有关的代谢产物。

近年来, 运用基因组学、转录组学、蛋白组学以及代谢组学等方法探索乳酸菌等肠道微生物对肠道的影 响是本领域的热点之一。微生物代谢组学方法不仅能够检测到乳酸菌作用下肠道中代谢物变化, 而且能够阐明乳酸菌代谢通路对宿主细胞的影响[14]。此外, 肠道菌群也是目前系统生物学和代谢组学研究的重点之一[15]。Raman [16]、Ahmed [17]等采用基于 GC-MS 等技术的代谢组学方法对肠道菌群与宿主细胞代谢产物进行了研究, 探寻了肠道菌群与宿主健康与疾病的相互关系。

4. 土壤环境微生物代谢组学研究方法与应用

土壤微生物群落中小分子代谢物的产生和释放以及代谢活动的消耗构成了复杂的土壤微生物胞外代谢物体系, 而胞外代谢物正是微生物群落代谢状态的直接反映。研究不同条件下微生物群落的胞外代谢物能够引导我们更好地了解微生物的应激反应。

土壤环境复杂、土壤微生物代谢物样品处理与分析困难, 是目前土壤环境胞外代谢产物研究匮乏的原因之一。组成 SOM (土壤有机质) 的有机化合物存在于土壤的不同层次结构中并且其生物可利用度不同, 其中溶解性有机物最容易被土壤微生物利用。土壤中存在的溶解性有机物大部分由微生物代谢与细胞分解得来。由以上, 可以建立土壤有机质与微生物代谢物相关性的研究。

土壤微生物代谢组学研究中, 代谢物的提取是关键。目前土壤代谢物提取方法主要有盐溶液提取法、氯仿熏蒸法和有机溶剂提取法等三种。其中, 盐溶液提取法是土壤有机质提取的主要方法。Warren 等[18]采用震荡、离心、过滤的方法来提取土壤溶液中的有机质。Swenson 等[19]分别采用 $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ 溶液和 $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NH}_4\text{HCO}_3$ 溶液来提取土壤, 发现两种方法提取到的代谢产物无显著性差异。在研究土壤微生物的胞内及胞外代谢产物时, 为了单独获得胞内代谢产物, 传统方法是采用氯仿熏蒸溶解微生物细胞再进行代谢物提取[20]。Swenson 等[19]分别采用了熏蒸与非熏蒸方法来提取土壤样品并对代谢物轮廓进行比较, 发现熏蒸法得到的代谢物种类和数量有显著增加, 但需要将土壤样品长时间暴露在氯仿蒸汽中, 无法避免微生物继续进行生命活动而带来代谢物发生变化的影响[18]。Swenson 等[19]的这项土壤微生物代谢产物研究的具体流程为: 第一步: 土壤首先经 2 mm 筛子过筛, 再用氯仿熏蒸 24 h 以得到胞内代谢产物, 未被熏蒸到的部分得到胞外代谢产物; 第二步: 将土壤以 1:4 比例溶解(2 g 土壤: 8 mL

提取剂), 在 4°C 下、轨道式摇床中摇晃 1 h; 第三步: 将溶液离心, 得到的上清液通过 0.45 μm 的滤膜过滤; 第四步: 将滤液衍生化后进行 GC-MS 上机, 结果定性出了 100 多种胞内胞外代谢物。Warren 等[18]采用 CE-MS 技术研究了土壤中含氮代谢产物(溶解性有机氮, DON), 检测到接近 100 种含氮代谢物, 其中 57 种已定性。Kakumanu 等[21]分别采用氯仿熏蒸法和非熏蒸有机溶剂法提取土壤代谢物, 发现采用非熏蒸氯仿 - 硫酸钾溶液(V:V = 1:4)可得到胞内胞外代谢产物。Rochfort [22]等将冻干土壤用甲醇 - 水溶液(V:V = 4:1)溶解, 将该混合液进行 10 min 超声震荡, 得到了种类非常多的胞内胞外代谢物。

目前, 土壤微生物代谢组学的相关研究较少, 但从有限的研究中仍可发现研究技术与平台与代谢组学无太大差异。Chamam A 等[23]采用 RP-HPLC (DAD) (高效液相色谱技术, 配有二极管阵列检测器)和 LC-MS 技术研究水稻与细菌的相互作用, 对细菌产生的次级代谢产物(黄酮类、有机酸、间苯二酚)进行代谢物轮廓分析。FT-ICR-MS (傅里叶变换离子回旋共振质谱技术)是一种天然有机物的分析方法, 可以进行高质量精度和分辨率的离子检测, 已广泛应用于环境样品中复杂的有机混合物的特征研究中, FT-ICR-MS 是土壤 DOM 动态获取的高效技术, 碳水化合物、脂类、木质素、蛋白质等都可以通过该技术检测出[24]。核磁共振技术一般用来分析土壤中大分子物质及其结构, 在土壤中小分子代谢物的研究中应用较少。Jones 等[25]利用核磁共振技术分析了矿区土壤的提取物, 获得土壤群落微生物自然活动的糖类、氨基酸等代谢产物。选择何种分析方法取决于研究的重点和需要, 组合多种分析技术可能会提供更全面的分析结果。

在某些研究中, 土壤作为代谢组学研究的载体而存在。当前土壤微生物代谢组学的研究主要集中在微生物与植物相互作用机制的探索。土壤微生物与植物根际分泌物相互作用的研究较多, 植物根际分泌物主要成分为氨基酸和糖类, 还有黄酮类等次级代谢产物, 这些分泌物直接影响土壤微生物的结构和功能。还有研究者采用植物根系分泌物代谢组学方法研究了土壤 - 植物的相互作用对土壤多氯联苯(PCBs)生物修复的影响, 通过建立拟南芥 - 假单胞杆菌模型, 定性了 125 种化合物[26]。至今, 大部分文献集中于研究单一微生物对植物分泌物的应激反应, 极少见统筹考虑土壤中多种微生物的报道[27]。关于土壤环境微生物代谢组学的应用与分析方法研究进展可归纳为表 1。

5. 微生物代谢组学在污水土地处理系统中的应用

污水土地处理技术的核心是经过人工调制的特殊土壤(基质层), 污水在可控条件下(限定的水力负荷

Table 1. Application of different analytical techniques in soil microbial metabolomics

表 1. 不同分析技术在土壤微生物代谢组学中的应用

样品	土壤中幼苗和植株分泌物	土壤中的虫	土壤中植物根系分泌物	土壤	植物根系, 丛枝真菌菌根
处理方法	NaCl 和 NaHCO ₃ 溶液提取	不同土壤类型; 不同有机物类型	溶剂提取, 分馏	熏蒸, ¹³ C 标记	溶剂提取
技术平台	¹ H-NMR NOESY (D ₂ O, Na ₂ HPO ₄ , NaH ₂ PO ₄ , TSP)	¹ H-NMR (D ₂ O, TSP or CDCl ₃)	GC-MS (Rtx5Sil-MS column)	GC-MS (Rtx5Sil-MS column)	LC-ESI Q-TOF-MS (SunFire C18 analytical column)
代谢产物类型	氨基酸、有机酸等	氨基酸等	糖, 醇, 酚醛类, 氨基酸等	氨基酸, 有机酸, 糖醇等	氨基酸, 有机酸, 磷酸盐, 维生素等
研究目的	生物标志物, 确定最佳施肥浓度	生物标志物, 确定最佳施肥浓度	定性影响土壤微生物的代谢产物	完善土壤代谢组学研究流程	丛枝真菌菌根与茄科植物的相互关系
参考文献	[28] Pang <i>et al.</i> 2016	[29] Rochfort <i>et al.</i> 2009	[30] Badri <i>et al.</i> 2013	[27] Swenson <i>et al.</i> 2015b	[31] Rivero <i>et al.</i> 2015

与污染物负荷)投配到系统中, 污染物在基质层物理、化学和生物作用下得到去除。在此过程中, 污染物的去除与微生物的生命活动关系密切; 通过精准分析微生物代谢产物来揭示基质层微生物代谢通路, 能够突破长期以来污水土地处理理论的黑箱限制。

作者初步探讨了微生物代谢组学分析方法在地下渗滤系统(土地处理的主要类型)中应用的可行性, 以期通过代谢组学的视角揭示不同基质层剖面深度的特征微生物代谢行为与污水净化过程之间的定性、定量关系。采取的具体实验步骤为: 1) 建立稳定运行的模拟地下渗滤系统; 2) 定期分层取基质层土壤样品(土壤样本取自沈阳农业大学试验田表层壤土), 进行预处理: 将取出的土壤转移至冻干瓶中, 先于 -80°C 冰箱中预冻 8 小时, 再放入真空干燥机中冻干 2 小时后取出置于研钵中, 充分研磨后称取 500 mg, 放入 2 mL 离心管中, 加入 0.5 mL 乙酸乙酯, 0.5 mL (甲醇:氯仿体积比 = 3:1), 混匀后置于 -20°C 冰箱中保存; 3) 离心处理: 向研磨后冷藏保存的样品内加入 60 μL 浓度为 0.2 mg/mL 的核糖醇(溶解于纯净水), 涡旋 15 s 后放入冷冻微量离心机中, 12,000 $\times g$ 离心 15 分钟; 小心地取出 0.8 mL 上清液于 2 mL 进样瓶中, 并在真空浓缩仪中干燥备用; 4) 衍生化处理: 向干燥后的代谢物中加入 30 μL 盐酸甲氧胺溶液(20 mg/mL, 溶于吡啶中), 轻轻摇匀后, 放入烘箱中 80°C 孵 30 分钟, 之后向每个样品中迅速加入 40 μL MSTFA (N-甲基-N-(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺), 将混合物在 70°C 下孵 2 小时; 冷却至室温后, 经 0.45 μm 滤膜过滤至 GC 样品瓶中待测; 5) 仪器分析: 采用 GC-TOF-MS 技术对样品进行定性定量分析; 6) 图谱分析: 通过各谱峰的保留时间、荷质比、峰面积等数据, 采用主成分分析、正交偏最小二乘判别分析以及单变量统计分析, 寻找对应的代谢产物和潜在的生物标志物, 探究其中蕴含的生物学信息。作者对地下渗滤系统模拟装置好氧基质层与厌氧基质层中微生物进行代谢组学研究, 初步定性出 473 种代谢产物, 筛选出糖类、醇类、有机酸等 24 种差异代谢物, 具体见表 2。代谢产物的差异性表明, 基质层在好氧或厌氧条件下存在不同的代谢通路和优势微生物。根据基质层微生物代谢产物的差异, 可以反推出地下渗滤暗箱系统中微生物的生长环境发生了改变。

Table 2. Differential metabolites in aerobic matrix and anaerobic matrix

表 2. 好氧基质层与厌氧基质层的差异代谢物

好氧基质层显著性代谢产物		厌氧基质层显著性代谢产物	
英文名称	中文名称	英文名称	中文名称
trehalose	海藻糖	citraconic acid	柠康酸
1,2,4-benzenetriol	苯三酚	2-ketobutyric acid	酮丁酸
maltotriitol	麦芽三糖醇	lignoceric acid	木焦油酸
mannitol	甘露醇	glutaconic acid	戊烯二酸
cumic acid	异丙苯甲酸	pyrrole-2-carboxylic acid	吡咯-2-羧酸
methyl hexacosanoate	二十六烷酸甲酯	1,2-cyclohexanedione	1,2-环己二酮
sulfuric acid	硫磺酸	phosphomycin	磷霉素
2-ketoadipate	邻苯二酚	palmitoleic acid	棕榈油酸
urocanic acid	4-咪唑丙烯酸	3-hydroxypyridine	3-羟基吡啶
succinic acid	琥珀酸		
tartronic acid	羟基丙二酸		
sophorose	槐糖		
saccharopine	酵母氨酸		
3-hydroxybutyric acid	3-羟基丁酸		
farnesal	金合欢醛		

6. 总结与展望

迄今为止仍缺乏标准的取样与样品预处理方法, 建立标准化研究方法是未来的重要研究方向; 微生物代谢产物数据量庞大, 根据图谱鉴别代谢产物的化学结构也存在对比库信息量匮乏和图谱解译速度慢的问题, 因此, 将代谢组学与蛋白组学、基因组学相结合, 建立关联基因组、蛋白组及代谢组数据的大型数据库, 开发数据挖掘和分析软件, 构建高通量代谢物分析平台, 从而实现数据处理自动化, 是未来发展的热点。

将微生物代谢组学研究方法运用于探索复杂环境条件下、特别是土壤环境中微生物的代谢通路, 有助于从本质上阐明微生物降解的机理, 全面揭示微生物在生态修复中的作用。利用微生物代谢组学方法研究污水土地处理系统的生物代谢机制, 以代谢产物的角度反演污染物降解历程与系统健康度, 有望突破以往依赖具有明显滞后性的微生物种群结构鉴定结果来回答基质层微环境演变规律及其影响因子的局限性, 从而深入解译污水土地处理系统基质层的生物暗箱过程, 为微生物代谢组学研究开辟新的应用领域。

基金项目

国家自然科学基金面上项目资助(51578115, 41571455)。

参考文献 (References)

- [1] Nicholson, J., Lindon, J. and Holmes, E. (1999) Metabonomics: Understanding the Metabolic Responses of Living System to Pathophysiological Stimuli via Multivariate Statistical Analysis of Biological NMR Spectroscopic Data. *Xenobiotica*, **29**, 1181-1189. <https://doi.org/10.1080/004982599238047>
- [2] Allen, J., Davey, H.M., Broadhurst, D., *et al.* (2003) High-Throughput Classification of Yeast Mutants for Functional Genomics Using Metabolic Footprinting. *Nature Biotechnology*, **21**, 692-696. <https://doi.org/10.1038/nbt823>
- [3] Castrillo, J.I., Hayes, A., Mohammed, S., *et al.* (2003) An Optimized Protocol for Metabolome Analysis in Yeast Using Direct Infusion Electrospray Mass Spectrometry. *Phytochemistry*, **62**, 929-937. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00713-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00713-6)
- [4] Cevallos, J.M., Danyluk, M.D. and Reyes-De-Corcuera, J.I. (2011) GC-MS Based Metabolomics for Rapid Simultaneous Detection of *Escherichia coli* O157:H7, Salmonella Typhimurium, Salmonella Muenchen, and Salmonella Hartford in Ground Beef and Chicken. *Journal of Food Science*, **76**, M238-M246. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02132.x>
- [5] Russell, W.R. and Duncan, S.H. (2013) Advanced Analytical Methodologies to Study the Microbial Metabolome of the Human Gut. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **52**, 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.08.004>
- [6] Kell, D.B. (2004) Metabolomics and Systems Biology: Making Sense of the Soup. *Current Opinion in Microbiology*, **7**, 296-307. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.04.012>
- [7] Stitt, M. and Fernie, A.R. (2003) From Measurements of Metabolites to Metabolomics: An “on the Fly” Perspective Illustrated by Recent Studies of Carbon-Nitrogen Interactions. *Current Opinion in Biotechnology*, **14**, 136-144. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(03\)00023-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(03)00023-5)
- [8] Hegeman, A.D., Schulte, C.F., Cui, Q., *et al.* (2007) Stable Isotope Assisted Assignment of Elemental Compositions for Metabolomics. *Analytical Chemistry*, **79**, 6912-6921. <https://doi.org/10.1021/ac070346t>
- [9] Ibanez, C., Simo, C., Garcia, C.V., *et al.* (2012) CE/LC-MS Multiplatform for Broad Metabolomics Analysis of Dietary Polyphenols Effect on Colon Cancer Cells Proliferation. *Electrophoresis*, **33**, 2328-2336. <https://doi.org/10.1002/elps.201200143>
- [10] Luo, Q., Sun, L.N., Wang, H., *et al.* (2015) Metabolic Profiling Analysis of Root Exudates from the Cd Hyperaccumulator *Sedum alfredii* under Different Cd Exposure Concentrations and Times. *Analytical Methods*, **7**, 3793-3800. <https://doi.org/10.1039/C5AY00159E>
- [11] Hoerr, V., Zbytniuk, L., Leger, C., *et al.* (2012) Gram-Negative and Gram-Positive Bacterial Infections Give Rise to a Different Metabolic Response in a Mouse Model. *Journal of Proteome Research*, **11**, 3231-3245. <https://doi.org/10.1021/pr201274r>
- [12] Mickiewicz, B., Vogel, H.J., Wong, H.R., *et al.* (2013) Metabolomics as a Novel Approach for Early Diagnosis of Pediatric Septic Shock and Its Mortality. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **187**, 967-976. <https://doi.org/10.1164/rccm.201209-1726OC>

- [13] Ediage, E.N., Van Poucke, C. and De Saeger, S. (2015) A Multi-Analyte LC-MS/MS Method for the Analysis of 23 Mycotoxins in Different Sorghum Varieties: The Forgotten Sample Matrix. *Food Chemistry*, **177**, 397-404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.060>
- [14] 席晓敏, 张和平. 微生物代谢组学研究及应用进展[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 283-289.
- [15] Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., *et al.* (2009) The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, **19**, 2317-2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- [16] Raman, M., Ahmed, I., Gillevet, P.M., *et al.* (2013) Fecal Microbiome and Volatile Organic Compound Metabolome in Obese Humans with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **11**, 868-875. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.02.015>
- [17] Ahmed, I., Greenwood, R., Ostello, B.L., *et al.* (2013) An investigation of Fecal Volatile Organic Metabolites in Irritable Bowel Syndrome. *PLoS ONE*, **8**, e58204. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058204>
- [18] Warren, C.R. (2013) High Diversity of Small Organic N Observed in Soil Water. *Soil Biology and Biochemistry*, **57**, 444-450. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.09.025>
- [19] Swenson, T.L., Jenkins, S., Bowen, B.P., *et al.* (2015) Untargeted Soil Metabolomics Methods for Analysis of Extractable Organic Matter. *Soil Biology and Biochemistry*, **80**, 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.10.007>
- [20] Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G., *et al.* (1985) Chloroform Fumigation and the Release of Soil Nitrogen: A Rapid Direct Extraction Method to Measure Microbial Biomass Nitrogen in Soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**, 837-842. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(85\)90144-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(85)90144-0)
- [21] Kakumanu, M.L., Cantrell, C.L. and Williams, M.A. (2013) Microbial Community Response to Varying Magnitudes of Desiccation in Soil: A Test of the Osmolyte Accumulation Hypothesis. *Soil Biology and Biochemistry*, **57**, 644-653. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.08.014>
- [22] Rochfort, S., Ezernieks, V., Mele, P., *et al.* (2015) NMR Metabolomics for Soil Analysis Provide Complementary, Orthogonal Data to MIR and Traditional Soil Chemistry Approaches—A Land Use Study. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **53**, 719-725. <https://doi.org/10.1002/mrc.4187>
- [23] Chamam, A., Sanguin, H., Bellvert, F., *et al.* (2013) Plant Secondary Metabolite Profiling Evidences Strain-Dependent Effect in the *Azospirillum-Oryza Sativa* Association. *Phytochemistry*, **87**, 65-77. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.11.009>
- [24] Ohno, T., Parr, T.B., Gruselle, M.I., *et al.* (2014) Molecular Composition and Biodegradability of Soil Organic Matter: A Case Study Comparing Two New England Forest Types. *Environmental Science & Technology*, **48**, 7229-7236. <https://doi.org/10.1021/es405570c>
- [25] Jones, O.A.H., Sdepanian, S., Lofts, S., *et al.* (2014) Metabolomics Analysis of Soil Communities Can Be Used for Pollution Assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **33**, 61-64. <https://doi.org/10.1002/etc.2418>
- [26] Narasimhan, K., Basheer, C., Bajic, V.B., *et al.* (2013) Enhancement of Plant-Microbe Interactions using a Rhizosphere Metabolomics-Driven Approach and Its Application in the Removal of Polychlorinated Biphenyls. *Plant Physiology*, **132**, 146-153. <https://doi.org/10.1104/pp.102.016295>
- [27] Swenson, T.L., Bowen, B.P., Nico, P.S., *et al.* (2015) Competitive Sorption of Microbial Metabolites on an Iron Oxide Mineral. *Soil Biology and Biochemistry*, **90**, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.022>
- [28] Pang, Q., Zhang, A., Zang, W., *et al.* (2016) Integrated Proteomics and Metabolomics for Dissecting the Mechanism of Global Responses to Salt and Alkali Stress in *Suaeda acorniculata*. *Plant and Soil*, 1-16.
- [29] Rochfort, S., Ezernieks, V. and Yen, A. (2009) NMR-Based Metabolomics using Earthworms as Potential Indicators for Soil Health. *Metabolomics*, **5**, 95-107. <https://doi.org/10.1007/s11306-008-0140-4>
- [30] Badri, D.V., Chaparro, J.M., Zhang, R., *et al.* (2013) Application of Natural Blends of Phytochemicals Derived from the Root Exudates of *Arabidopsis* to the Soil Reveal That Phenolic Related Compounds Predominantly Modulate the Soil Microbiome. *Journal of Biological Chemistry*, **288**, 4502-4512. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.433300>
- [31] Rivero, J., Gamir, J., Aroca, R., *et al.* (2015) Metabolic Transition in Mycorrhizal Tomato Roots. *Frontiers in Microbiology*, **6**, 598. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00598>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2327-0810，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：amb@hanspub.org