

## 基于LC-MS的干旱胁迫下党参代谢组学分析

原静静, 孙晓琛, 栗锦鹏, 杜骏, 王惠珍\*

(甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000)

**[摘要]** 目的:通过对采收期党参根部代谢组测定,探索党参适应干旱的生物学机制。方法:利用非靶向代谢组学液相色谱-质谱法(LC-MS),通过多元统计分析、单变量统计分析和代谢通路富集分析,对党参干旱胁迫下差异代谢物进行筛选。结果:①轻度干旱胁迫(LD)与正常(CK)组显著差异代谢物274个,其中142个上调,132个下调;中度干旱胁迫(MD)与CK组显著差异代谢物284个,其中157个上调,127个下调;重度干旱胁迫(SD)与CK组显著差异代谢物317个,其中133个上调,184个下调。②差异代谢物被注释到京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库得到82条差异代谢通路,其中鞘脂类代谢为极显著富集的差异代谢通路( $P<0.01$ ),精氨酸和脯氨酸代谢、色氨酸代谢、丙氨酸代谢、半乳糖代谢、烟酸及烟酰胺代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、花生四烯酸代谢、亚麻酸代谢和甘油酯类代谢为显著富集的差异代谢物通路( $P<0.05$ )。③对富集前后3个对比组的差异代谢物进行分类分析,发现主要集中在脂肪酰基、羧酸类及其衍生物、有机氧化物3类,其次在鞘脂类、吡啶类及其衍生物、有机氮化合物、甘油磷脂、嘧啶及其衍生物、类肽、甘油酯等类;与糖类相关的代谢物在党参干旱胁迫中表现为上调,脂类相关的代谢物脂肪酰基表现为下调,其余均表现为上调。结论:阐明了干旱胁迫下党参根中代谢物的变化,其中糖类和脂类相关代谢物是党参受干旱刺激后的主要产物,且此类物质可能是提高党参抵御干旱能力的主要原因,这为后期深入研究党参抗旱机制奠定基础。

**[关键词]** 党参; 干旱胁迫; 代谢组; 差异代谢物; 代谢通路

**[中图分类号]** R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)23-0145-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211415

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211009.1113.001.html>

**[网络出版日期]** 2021-10-09 12:05

### Metabolomics Analysis of *Codonopsis pilosula* Under Drought Stress Based on LC-MS

YUAN Jing-jing, SUN Xiao-chen, LI Jin-peng, DU Tao, WANG Hui-zhen\*

(College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** The biological mechanism of *Codonopsis pilosula* adaptation to drought was explored by determining the root metabolome of *C. pilosula* during harvesting. **Method:** Non-targeted metabolomics LC-MS was used to screen differential metabolites by multivariate statistical analysis, univariate statistical analysis and metabolic pathway enrichment analysis. **Result:** ① There were 274 metabolites in LD vs CK group, 142 of which were up-regulated and 132 of which were down-regulated. There were 284 metabolites with significant difference in MD vs CK group, of which 157 were up-regulated and 127 were down-regulated. There were 317 metabolites with significant difference in SD vs CK group, of which 133 were up-regulated and 184 were down-regulated. ② Differential metabolites were annotated into Kyoto Encyclopedia of Gene and Genomes (KEGG) database and 82 differential metabolic pathways were obtained, among which sphingolipids metabolism was significantly enriched ( $P<0.01$ ). Metabolism of arginine and proline, tryptophan, alanine,

**[收稿日期]** 20210526(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81760683,81960683);国家现代农业产业技术体系建设项目(CARS-21);甘肃省教育厅“双一流”科研重点项目(GSSYLXM-05);甘肃省教育厅优秀研究生“创新之星”项目(2021CXZX-754)

**[第一作者]** 原静静,在读硕士,从事药用植物抗逆生理生态学研究,E-mail:1278808175@qq.com

**[通信作者]** \*王惠珍,博士,教授,从事药用植物栽培及生理生态研究,E-mail:whz1974828@163.com

galactose, nicotinic acid and nicotinamide, cysteine and methionine, arachidonic acid, linolenic acid and glycerides were significantly enriched in different metabolite pathways ( $P < 0.05$ ). ③ The metabolites of the three comparison groups before and after enrichment were classified and analyzed. It was found that they were mainly concentrated in fatty acyls group, carboxylic acid and derivatives, and organ oxygen compounds, followed by sphingolipids, indoles and derivatives, organonitrogen compounds, glycerophospholipids, pyridines and derivatives, peptidomimetics, glycerolipids and so on. In the drought stress of *C. codonopsis*, carbohydrate related metabolites were mainly up-regulated, lipid related metabolites were mainly down-regulated, and all other metabolites were up-regulated. **Conclusion:** The changes of metabolites in the roots of *C. pilosula* under drought stress were elucidated. carbohydrate and lipid-related metabolites were the main products of *C. pilosula* under drought stress, and these metabolites may be the main reason to improve the ability of *C. pilosula* to resist drought, which laid a foundation for further study on the mechanism of *C. pilosula* to resist drought.

**[Keywords]** *Codonopsis pilosula*; drought stress; metabolic group; differential metabolites; metabolic pathways

党参为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula*, 素花党参 *C. pilosula* var. *modesta* 或川党参 *C. tangshen* 的干燥根<sup>[1]</sup>, 为大宗中药材, 具有悠久药用历史。党参在全国各地均有分布, 其中党参和素花党参主要分布甘肃省渭源、陇西和文县等干旱半干旱地区<sup>[2]</sup>。因此干旱是制约党参生长发育和药效物质积累的重要非生物胁迫因素之一。而目前党参抗逆研究主要集中在铜胁迫<sup>[3]</sup>、镉胁迫<sup>[4]</sup>、盐碱胁迫<sup>[5]</sup>、水涝胁迫<sup>[6]</sup>对其种子萌发和幼苗生长及生理特性的影响等方面, 团队也仅在党参抗旱生理方面做了研究<sup>[7]</sup>, 并不能全面揭示党参抗旱机制。

随着生物信息学和现代分析技术的快速发展, 代谢组学已经成为分析生物学问题的有效手段, 被广泛应用于冬小麦<sup>[8]</sup>、野生大豆<sup>[9]</sup>、藜麦<sup>[10]</sup>、紫花苜蓿<sup>[11]</sup>、长白落叶松<sup>[12]</sup>、高羊茅<sup>[13]</sup>、黄芪<sup>[14]</sup>等的抗旱研究, 从中可以看出脂类、糖类和氨基酸类代谢物是影响较大的几类, 另外在其他逆境胁迫中也有大量应用, 如盐胁迫<sup>[15-17]</sup>、温度胁迫<sup>[18-22]</sup>等, 说明代谢组学更能反映植物的生理和生化状态, 揭示植物的抗逆机制。基于此, 本研究采用非靶向代谢组学液相色谱质谱联用(LC-MS)技术, 以党参为研究对象, 采用室外盆栽控水试验研究不同干旱胁迫下党参根部小分子代谢物的变化, 通过多元统计分析、单变量统计分析和代谢通路富集分析, 进行差异代谢物筛选。探索干旱胁迫下党参体内代谢物的变化, 以期揭示党参抗旱机制奠定基础。

## 1 材料

本研究所用党参种苗来自甘肃省渭源县清源镇党参种植基地, 经甘肃中医药大学杜弢教授鉴定为党参 *C. pilosula*; 按照《中药材种子种苗党参种

苗》(T/CACM 1056.134—2019)中二级质量标准筛选种苗。试验用上口直径 25 cm, 高 30 cm 的营养盆。土壤为沙壤土, pH 8.12, 有机质 0.32%, 全氮 0.10%, 速效磷 53.2 mg·kg<sup>-1</sup>, 速效钾 147.32 mg·kg<sup>-1</sup>, 田间最大持水量为 25.0%。

甲醇、甲酸、水、乙腈(CNW公司, 货号分别为 CAEQ-4-003302-4000, CAEQ-4-000303-0050, CAEQ-4-003513-4000, CAAH-1-00030-4008), L-2-氯苯丙氨酸(上海恒创生物科技有限公司, 货号 CAS103616-89-3)。所有化学药品和溶剂均为分析纯或色谱级。JXFSTPRP-24/32型全自动样品快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司); SB-5200DT型超声波清洗机(宁波新芝生物科技有限公司); TYXH-I型漩涡振荡器(上海汗诺仪器有限公司); TGL-16MS型台式高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司); LNG-T98型冷冻浓缩离心干燥器(太仓市华美生化仪器厂); QE型高分辨质谱仪, Dionex U3000 UHPLC高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技公司); ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm, 美国Waters)

本试验在党参主产区甘肃省渭源县清源镇刘家河村周家山社田间遮雨棚内(35°9'51"N, 104°12'45"E)进行。将党参种苗于2020年4月初移栽于装有7.5 kg风干土的盆中, 每盆3株。先以田间最大持水量的90%~85%管理直至出苗后30 d(5月25日), 选取长势一致植株分成4组, 每组20盆, 按占田间最大持水量的百分数进行胁迫处理, 设4个水平, 分别为正常供水(CK组90%~85%), 轻度干旱胁迫(LD组70%~65%), 中度干旱胁迫(MD组55%~50%)和重度干旱胁迫(SD组40%~35%)。每

日 18:00 称重补水(由于党参植株约 0.5~15 g/株,占水分处理的 0.1%~7.5%,因此在称重中忽略不计,CK 控制在 9.2~9.1 kg,LD 控制在 8.8~8.7 kg,MD 控制在 8.5~8.4 kg,SD 控制在 8.2~8.1 kg),其他管理措施同大田生产。于采收期(11月5号)分别取4个处理下党参根作为试验材料,各6次重复,用蒸馏水清洗干净后,吸水纸吸干表面水分,迅速放于液氮中冻存,当天带回实验室后转入(-80 °C 冰箱保存用于代谢组测定。测定结果均与CK作比较)。

## 2 方法

**2.1 样品制备及检测** 参考赵春旭等<sup>[18]</sup>的方法提取样品,用注射器吸取上清液 150  $\mu\text{L}$  通过有机相针孔过滤器(0.22  $\mu\text{m}$ ) 过滤后,转移到 LC 进样小瓶,-80 °C 冰箱保存,进行 LC-MS 分析。质控样本由所有样本提取液等体积混合制备,体积与样本相同。

**2.2 液相色谱-质谱分析** 本试验仪器通过 Dionex U3000 UHPLC 超高效液相和 QE 高分辨质谱仪串联组成。

色谱条件:ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ );柱温 45 °C;流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~2 min, 5%B; 2~4 min, 5%~30%B; 4~8 min, 30%~50%B; 8~10 min, 50%~80%B; 10~14 min, 80%~100%B; 14~15 min, 100%B; 15~15.1 min, 100%~5%B; 15.1~16 min, 5%B),流速 0.35 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>;进样体积 2  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件:采用电喷雾离子源(ESI),通过正负离子扫描模式进行样品质谱信号采集,质量扫描范围  $m/z$  100~1 000。

**2.3 数据处理与分析** 原始数据经软件 Progenesis QI v2.3 预处理,使用 The Human Metabolome Database(HMDB),Lipidmaps(v2.3)和 METLIN 数据库进行化合物定性,代谢通路分析基于京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库。对提取到的数据,删除组内缺失值均(0值)>50%的离子峰,并将0值以最小值的一半替换,根据化合物定性结果打分(Score)进行筛选,筛选标准为 $\geq 36$ 分(满分60分)。将正负离子数据合并成一个数据矩阵表,采用多元统计主成分分析(PCA),偏最小二乘法判别分析(PLS-DA),正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)和单变量统计分析  $t$  检验相结合的办法,来筛选组间差异代谢产物,利用富集分析对差异代谢物通路进行综合分析,进一步确定党参耐旱性相关差

异代谢物。

## 3 结果

**3.1 质控分析** 由于分析的样本数量较多,为了排除由仪器或方法不稳定而产生的测试结果差异,造成分析干扰,因此将样本的正负离子流图进行重叠比较。结果表明各色谱峰响应强度和保留时间基本一致,表明实验过程中仪器状态稳定和分析方法重复性良好。

**3.2 液相质谱测定结果** 对不同干旱胁迫处理的党参样本进行 LC-MS 分析,经数据采集共得到 20 571 个物质峰。基于精确质量数、二级碎片以及同位素分布进行化合物鉴定,使用 HMDB, Lipidmaps 和 METLIN 数据库进行化合物定性,得到 8 253 个代谢物。其中正离子扫描到 14 590 个物质峰,定性的代谢物有 6 347 个;负离子扫描到 5 981 个物质峰,定性的代谢物 1 906 个。以正负离子模式下 CK 样本为例,见图 1,2。

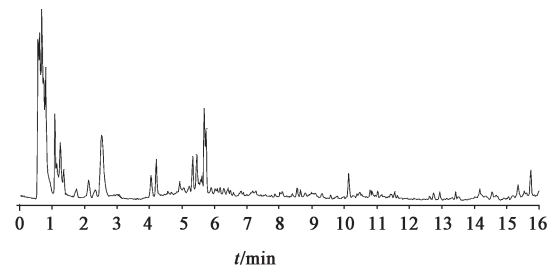


图1 CK组正离子模式下的总离子流

Fig. 1 Total ion chromatograms (TIC) with positive ion mode of CK samples

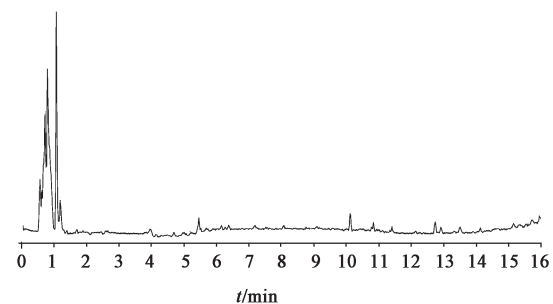


图2 CK在负离子模式下的TIC

Fig. 2 Total ion chromatograms(TIC) with negative ion mode of CK samples

**3.3 PCA, PLS-DA 和 OPLS-DA** 首先对代谢物进行 PCA 分析,见图 3。从图中可以看出,单个样本在得分图上的位置相对较远,说明样本间差异显著,但组间差异不明显,存在离散点;在此基础上又采用 PLS-DA,加入了分组变量,弥补了 PCA 方法的不足,其中 LD 和 CK,MD 和 CK,SD 和 CK 的参数解释率  $R^2(\text{cum})$  分别为 0.987,0.992 和 0.969,均接近 1,

说明此模型能更好地解释两组样本之间的差异,但SD与CK的预测率 $Q^2(\text{cum})$ 较低,预测能力较差,因此又引入OPLS-DA,在PLS-DA的基础上进行修正,提高模型的解析能力和有效性,最大化地凸显模型内部不同组别之间的差异,结果表明两组样本

在OPLS-DA得分图上具有显著差异,见图4。依据OPLS-DA模型筛选差异代谢物,见图5,LD和CK,MD和CK,SD和CK均被分开且均匀地分布于PC1左右两侧,由此表明干旱处理组与对照组相比,党参根中代谢物发生了显著变化。

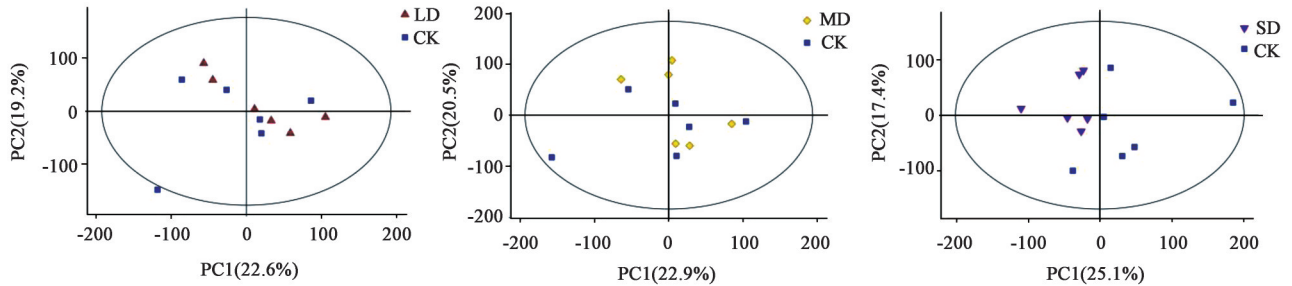


图3 3个对比组的PCA模型分析

Fig. 3 PCA model analysis of three drought stress contrast groups

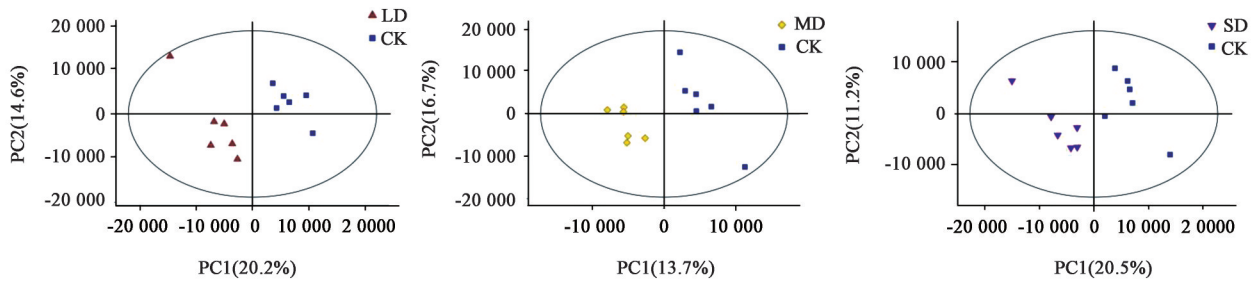


图4 3个对比组的PLS-DA模型分析

Fig. 4 PLS-DA model analysis of three drought stress contrast groups

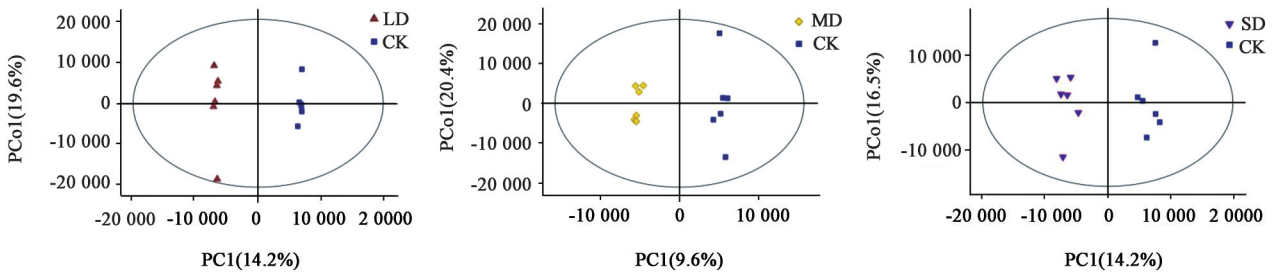


图5 3个对比组的OPLS-DA模型分析

Fig. 5 OPLS-DA model analysis of three drought stress contrast groups

采用七次循环交互验证和200次响应排序检验(RPT)的方法来防止OPLS-DA模型过拟合并考察模型的质量,见图6。结果表明,LD与CK的 $R^2$ 截距为0.996, $Q^2$ 截距为-0.039,MD与CK的 $R^2$ 截距为0.975, $Q^2$ 截距为-0.018,SD与CK的 $R^2$ 截距为0.97, $Q^2$ 截距为-0.102,说明这三组OPLS-DA模型可靠。

**3.4 差异代谢物的筛选** 试验采取将t检验和OPLS-DA的VIP值相结合( $P < 0.05$ 和 $VIP > 1$ )的方法来筛选差异代谢物,再通过KEGG数据库比对并注释差异代谢物,见表1。从表中结果看出,LD与CK,MD与CK和SD与CK 3个对比组的差异代谢物数目依次为274,284和317;LD与CK,MD与

CK,差异代谢物上调多于下调,而SD与CK中,下调多于上调。结合火山图能更加全面地反映差异数据的变化规律,更利于差异代谢物筛选。

对所有显著及VIP值前50差异代谢物的表达量进行层次聚类,3个对比组样本均被分为2类,第1类是干旱胁迫的6个重复,第2类是CK的6个重复,说明组内的重复性较好,且筛选出的代谢物在组间存在差异。

**3.5 差异代谢物的分类** 将KEGG数据库比对并注释得到的差异代谢物划分为21个类和30个亚类,见表2。从表中可以看出包含差异代谢物数量排名前三的类是脂肪酰基类、羧酸类和其衍生物、

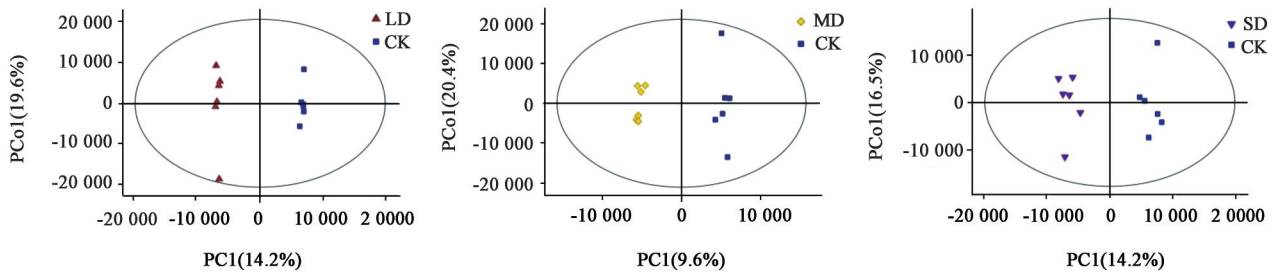


图6 3个对比组的OPLS-DA模型置换检验

Fig. 6 OPLS-DA model permutation test of three drought stress contrast groups

表1 3个对比组中筛选出来的差异代谢物数量

Table 1 Statistics information of differential metabolites from several perspectives

项目	LD与CK	MD与CK	SD与CK
差异代谢物/个	274	284	317
上调代谢物/个	142	157	133
下调代谢物/个	132	127	184
KEGG ID号	55	41	51
在KEGG中注释的数量	26	25	29

有机氧化物,排名前四的亚类为脂肪酸及其衍生物、氨基酸和多肽及其相似物、糖类及其衍生物、一代二酰甘油酯。

**3.6 KEGG 通路富集分析** 通过KEGG通路富集分析发现,LD与CK中一共有30条富集差异代谢通路,其中显著富集差异代谢通路( $P < 0.05$ )3条(精氨酸和脯氨酸代谢、色氨酸代谢、丙氨酸代谢)。参与这3条通路的差异代谢物有8种,3种上调(L-色氨酸、吡啶丙酮酸和泛酸),5种下调(N-乙酰-L-谷氨酸盐5-半醛,吡啶甲酸,N-琥珀酰-L-谷氨酸盐5-半醛, $\beta$ -丙氨酰-L-赖氨酸和L-精氨酸磷酸盐)。

MD与CK中有28条富集差异代谢通路,其中显著富集3条(半乳糖代谢、烟酸及烟酰胺代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢),参与这3条通路的差异代谢物有6种,均表现上调,为棉子糖,半乳糖,顺丁烯二酸同聚物,5-甲硫核糖1-磷酸盐,烟酰胺核糖核苷和5-甲基硫代核酮糖1-磷酸盐。

SD与CK中有24条富集差异代谢通路,其中极显著富集( $P < 0.01$ )1条,为鞘脂类代谢,参与这1条的差异代谢物有3种,为二氢鞘氨醇、葡萄糖神经酰胺、半乳糖神经酰胺,均表现上调;显著富集4条(花生四烯酸代谢、亚麻酸代谢、甘油酯类代谢、半乳糖代谢),参与这4条的差异代谢物有9种,3种上调(磷脂酸、甘油三酯、半乳糖1-磷酸盐),6种下调(白三烯A4,6-酮-生长因子1 $\alpha$ ,14,15-DiHETrE, $\gamma$ -亚麻油酸,9-OxoODE, $\beta$ -皮五醇)。

将KEGG通路显著或极显著富集的差异代谢物汇总见表3,发现参与这11条显著代谢通路的主要代谢物依然是脂肪酰基类、有机氧化物和羧酸类及其衍生物,这与富集前的分类结果一致,脂肪酰基类属于膜脂类,有机氧化物主要是糖类,羧酸类及其衍生物主要是氨基酸类,说明这三类差异代谢物可能参与党参的渗透调节进而抵御干旱胁迫,也可能是党参在胁迫条件下细胞伤害的产物。

#### 4 讨论

糖类代谢与干旱胁迫密切相关,一方面可产生大量渗透调节物质,减轻细胞失水,另一方面可为植物提供能量,维持正常生理活动。另外,糖类、糖醇类等的大量积累对植物在干旱胁迫下的抗氧化和自由基清除、增加耐受性等方面也起重要作用<sup>[12]</sup>。本实验结果表明,半乳糖1-磷酸盐,半乳糖,棉子糖,5-甲硫核糖1-磷酸盐,烟酰胺核糖核苷等在干旱胁迫下较CK均表现为上调,说明糖代谢可能是党参抵御干旱胁迫的重要代谢通路,其中半乳糖代谢通路在中度和重度干旱胁迫处理中均显著富集;有研究表明<sup>[23-25]</sup>棉子糖和肌醇半乳糖苷在植物抵御干旱、盐和低温胁迫中均起重要作用,在本研究中发现,棉子糖在MD中上调,肌醇半乳糖苷在重度干旱胁迫中下调。根据半乳糖代谢通路可知,肌醇半乳糖苷可通过AT1G55740(SIP1),AT3G57520(SIP2),AT5G20250(DIN10),AT5G40390(SIP1)合成酶合成棉子糖,说明这2种物质可以转化。

植物受到干旱胁迫后,膜脂组分的改变对于维持细胞膜稳定性、保护细胞组分免受逆境胁迫的危害十分重要<sup>[13]</sup>。本试验结果表明,干旱胁迫下,党参体内膜脂组分脂类代谢物(脂肪酰基类、鞘脂类、甘油磷脂类、甘油酯类和鞘氨醇等)发生明显变化。其中脂肪酰基类除顺丁烯二酸同聚物在轻度干旱胁迫表现为上调外,其余均在重度干旱胁迫表现为下调;鞘脂类、甘油磷脂类、甘油酯类和鞘氨醇均在

表2 3个对比组中筛选出来的差异代谢物的分类

Table 2 Classification information of all differential metabolites at level of class and subclass

类	亚类	差异代谢物/个		
		LD与CK	MD与CK	SD与CK
嘧啶核苷	嘧啶 2-脱氧核苷	1	1	1
脂肪酰基	脂肪酸及其衍生物	1	2	2
	类花生酸	0	1	2
	亚油酸及其衍生物	0	0	2
羧酸类及其衍生物	氨基酸,多肽及其相似物	5	1	3
异戊烯醇磷脂	二萜化合物	1	0	0
	类异戊二烯	1	1	0
	醌类和氢醌类脂类	1	0	0
有机氧化物	糖类及其衍生物	3	5	5
	醇类和多元醇类	1	0	0
	羰基化合物	0	1	1
酚类化合物	甲氧基苯酚	2	1	1
吡啶类及其衍生物	吡啶羧酸及其衍生物	2	0	0
嘧啶及其衍生物	嘧啶甲酸及其衍生物	2	0	1
有机氮化合物	季铵盐	1	0	1
	胺类	0	0	1
聚酮类	芳香多酮类化合物	1	0	0
	黄酮类	0	2	1
甘油酯	一代二酰甘油酯	1	2	2
模拟肽,类肽	多肽类	1	0	0
蝶啶类色素及其衍生物	蝶呤类及其衍生物	0	1	0
嘌呤核苷	嘌呤 2-脱氧核苷	0	1	0
甘油磷脂	甘油磷酸胆碱	0	4	0
	甘油磷酸酯	0	0	1
苯和被取代的衍生物	苯乙酸	0	1	0
鞘脂类	鞘糖脂	0	0	2
酮酸及其衍生物	$\gamma$ -酮酸及其衍生物	0	0	1
环庚三烯酮	未分类	1	0	1
苯并咪唑核糖核苷和核糖核苷酸	未分类	1	1	0
吗啡烷类	未分类	0	0	1

重度干旱胁迫中表现为上调,说明脂类代谢可能是党参抵御干旱胁迫的重要代谢通路。鞘脂是质膜和液泡膜的主要成分,对于植物适应冷冻、冷害和干旱至关重要,也是重要信号分子,参与程序性细胞死亡及ABA介导的气孔关闭等<sup>[26-27]</sup>。目前发现鞘脂代谢相关基因参与的非生物胁迫主要有氧化胁迫、盐胁迫和低温胁迫<sup>[28-31]</sup>,已有结果表明,耐寒植物细胞膜中葡萄糖神经酰胺的含量低于冷敏感植物,且随温度的升高葡萄糖神经酰胺的含量降

低,说明植物可以通过调节鞘脂中葡萄糖神经酰胺含量来抵抗冷害和冻害<sup>[32]</sup>,也有研究发现用鞘氨醇处理可提高愈伤组织的耐胁迫能力<sup>[27]</sup>,但在干旱胁迫方面研究较少。本研究发现,鞘脂类代谢在党参重度干旱胁迫中极显著富集,且通路中显著富集的差异代谢物二氢鞘氨醇、半乳糖神经酰胺、葡萄糖神经酰胺与鞘氨醇可以相互转化,且转化方向受酶活性影响,酶活性又受相关基因调控,但调控基因表达情况需做下一步深入研究。

表3 参与11条被显著富集到的代谢通路的代谢物及组间差异倍数

Table 3 Fold change of main metabolites involved in 11 prominent pathways which were enriched in KEGG analysis

类	亚类	代谢物	差异倍数		
			LD与CK	MD与CK	SD与CK
脂肪酰基	脂肪酸及其衍生物	顺丁烯二酸同聚物	-	1.348	-
		白三烯 A4	-	-	0.376
	类花生酸	14, 15-DiHETrE	-	-	0.690
		6-酮-生长因子 1 $\alpha$	-	-	0.464
	亚油酸及其衍生物	9-OxoODE	-	-	0.649
	$\gamma$ -亚麻油酸	-	-	0.681	
有机氧化物	醇类和多元醇类	泛酸	1.503	-	-
	羰基化合物	5-甲基硫代核酮糖 1-磷酸盐	-	1.392	-
		糖类及其衍生物	5-甲硫核糖 1-磷酸盐	-	1.339
		半乳糖	-	3.025	-
		烟酰胺核糖核苷	-	2.123	-
		棉子糖	-	1.513	-
		$\beta$ -皮五醇	-	-	0.452
		半乳糖 1-磷酸盐	-	-	1.509
羧酸类及其衍生物	氨基酸, 多肽及其相似物	L-精氨酸磷酸盐	0.461	-	-
		N-乙酰-L-谷氨酸盐 5-半醛	0.617	-	-
		N-琥珀酰-L-谷氨酸盐 5-半醛	0.442	-	-
鞘脂类	鞘糖脂	半乳糖神经酰胺	-	-	4.672
		葡萄糖神经酰胺	-	-	2.228
有机氮化合物	胺类	二氢鞘氨醇	-	-	1.639
吡啶类及其衍生物	吡啶羧酸及其衍生物	吡啶丙酮酸	2.090	-	-
		L-色氨酸	2.038	-	-
甘油磷脂	甘油磷酸脂	磷脂酸	-	-	1.621
嘧啶及其衍生物	嘧啶甲酸及其衍生物	嘧啶甲酸	0.539	-	-
模拟肽, 类肽	多肽类	$\beta$ -丙氨酰-L-赖氨酸	0.515	-	-
甘油酯	一代二酰甘油酯	甘油三酯	-	-	1.892

综上所述,党参在干旱胁迫下显著富集的两类代谢物(脂类和糖类物质)是受干旱刺激后产生的重要代谢组成分,且脂类代谢物积累可使党参细胞膜维持稳定水平、糖类代谢物积累可增加党参细胞渗透势。因此,两大类代谢物既是细胞受干旱胁迫后的产物,也可能是提高党参抗旱潜力的主要原因。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:293-294.  
[2] 李成义,刘书斌,李硕,等. 甘肃党参栽培现状调查分析[J]. 中国现代中药,2016,18(1):102-105.

[3] 冉瑞兰,张牡丹,谢佳佳,等. 铜胁迫下基质中添加凹凸土对党参幼苗生理指标的影响[J]. 北方园艺,2018(15):140-148.  
[4] 冉瑞兰,张牡丹,赛闹汪青,等. 镉胁迫下凹凸棒石粘土对党参幼苗的保护作用[J]. 中药材,2019,42(6):1231-1236.  
[5] 韩多红,郑秀芳,王恩军,等. 不同盐碱胁迫对党参种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 中药材,2013,36(7):1039-1043.  
[6] 王赞文,梁宗锁,韩蕊莲. 水涝胁迫对党参的生长、生理特性及多糖含量的影响[J]. 浙江理工大学学报:自然科学版,2017,37(6):893-900.  
[7] 王惠珍,陆国弟,陈红刚,等. 干旱胁迫对成药期党参生理特性的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(3):72-76.

- [8] 封富. 冬小麦品种幼苗抗旱性差异的代谢组学分析[D]. 北京:中国农业科学院,北京,2020.
- [9] 符辉. 干旱胁迫下野大豆(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.)和大豆(*Glycine max* L.)幼苗叶片代谢组学比较研究[D]. 长春:东北师范大学,2020.
- [10] 时羽杰, 郭晓勇, 唐媛, 等. 藜麦花期水分胁迫下的代谢组学分析[J]. 河南农业大学学报, 2020, 54(6): 921-930.
- [11] 徐洪雨, 李向林. 控水处理对紫花苜蓿抗寒性影响的代谢组学分析[J]. 草业学报, 2020, 29(1): 106-116.
- [12] 熊欢欢, 张含国, 张磊, 等. 干旱胁迫下长白落叶松的代谢组学分析[J]. 东北林业大学学报, 2019, 47(4): 1-7.
- [13] 李小冬, 王小利, 王茜, 等. 干旱胁迫下高羊茅叶片的代谢组学分析[J]. 中国草地学报, 2016, 38(5): 59-65.
- [14] 刘洋. 应用代谢组学对比研究两种黄芪响应UV-B和干旱胁迫的代谢基础[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2018.
- [15] 张彩峡, 吴洪新, 毕玉芬. NaCl胁迫下多年生黑麦草的代谢组学分析[J]. 中国草地学报, 2020, 42(4): 62-72.
- [16] 李焕勇, 杨秀艳, 唐晓倩, 等. 盐胁迫下西伯利亚白刺根代谢组学分析[J]. 植物生理学报, 2020, 56(7): 1617-1626.
- [17] 刘子修. 基于组学的盐胁迫下夏枯草品质形成机制研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2020.
- [18] 赵春旭, 张然, 牛奎举, 等. 青海野生草地早熟禾响应低温胁迫的代谢组学研究[J]. 草地学报, 2020, 28(4): 904-914.
- [19] 赵旭. 基于多组学联合分析的香菇高温胁迫研究[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2019.
- [20] 段二龙. 红花玉兰和白玉兰的低温代谢组学研究[D]. 北京:北京林业大学, 2019.
- [21] 张虹. 高温胁迫下莲草直胸跳甲的代谢响应机制[D]. 北京:中国农业科学院, 2019.
- [22] 段凯莉. 脐橙响应冷害胁迫的代谢组学研究[D]. 南昌:南昌大学, 2018.
- [23] GU H, LU M, ZHANG Z P, et al. Metabolic process of raffinose family oligosaccharides during cold stress and recovery in cucumber leaves[J]. J Plant Physiol, 2018, 224/225: 112-120.
- [24] GEORGE S, MANOHARAN D, LI J, et al. Drought and salt stress in *Macrotyloma uniflorum* leads to common and specific transcriptomic responses and reveals importance of raffinose family oligosaccharides in stress tolerance[J]. Gene Rep, 2018, 10: 7-16.
- [25] JORGE T F, FLORÊNCIO M H, ANTÓNIO C. Porous graphitic carbon liquid chromatography-mass spectrometry analysis of drought stress-responsive raffinose family oligosaccharides in plant tissues[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1631: 279.
- [26] 戴光义, 王铃艳, 黄骊群, 等. 植物鞘脂结构、代谢和功能的研究进展[J]. 植物生理学报, 2018, 54(12): 1748-1762.
- [27] 郑晓洁. 鞘氨醇对紫花苜蓿和黄瓜愈伤组织诱导及抗逆性影响的初步研究[D]. 保定:河北大学, 2006.
- [28] KIMBERLIN A N, HAN G, CHEN M, et al. ORM expression alters sphingolipid homeostasis and differentially affects ceramide synthase activity [J]. Plant Physiol, 2016, 172(2): 889-900.
- [29] CHEN M, MARKHAM J E, CAHOON E B. Sphingolipid  $\Delta 8$  unsaturation is important for glucosylceramide biosynthesis and low-temperature performance in *Arabidopsis* [J]. Plant J, 2012, 69(5): 769-781.
- [30] WU J X, LI J, LIU Z, et al. The *Arabidopsis* ceramidase AtACER functions in disease resistance and salt tolerance[J]. Plant J, 2015, 81(5): 767-780.
- [31] LI J, YIN J, RONG C, et al. Orosomucoid proteins interact with the small subunit of serine palmitoyltransferase and contribute to sphingolipid homeostasis and stress responses in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2016, 28(12): 3038-3051.
- [32] 王倩. 调控黄瓜花叶病毒复制的寄主脂质因子的研究[D]. 杭州:浙江理工大学, 2019.

[责任编辑 顾雪竹]