

不同盐旱胁迫下青甘韭代谢差异分析

孙静波¹, 于天宇¹, 张西哲², 吴雨晨¹, 关志华¹, 王忠红^{1,2}

(¹西藏农牧大学植物科学学院, 林芝 860000; ²西藏农牧大学资源与环境学院, 林芝 860000)

摘要: 以野生葱属植物青甘韭为材料, 采用非靶标代谢组学技术, 分析了其在盐胁迫(NaCl)、干旱胁迫(PEG)及盐旱复合胁迫(NaCl_PEG)下的代谢响应差异, 旨在揭示青甘韭对盐旱胁迫的适应机制。试验设纯水对照、240 mmol/L NaCl胁迫、12% PEG-6000干旱胁迫、240 mmol/L NaCl+12% PEG-6000盐旱复合胁迫4个处理。通过超高效液相色谱-质谱联用技术检测代谢物, 结合主成分分析、火山图、层次聚类、韦恩图及KEGG通路富集分析, 3个比较组共鉴定到622个差异代谢物。盐旱复合胁迫对青甘韭代谢网络扰动最剧烈, 明确的差异代谢物数量(331种)高于盐胁迫(185种)和干旱胁迫(212种)。脂肪酸、萜类等为主要响应类群, 其中盐旱复合胁迫下脂肪酸上调52种, 表明渗透调节起主要作用。黄烷-3-醇类、齐墩果烷型三萜等前20种高变幅代谢物, 通过抗氧化、信号传导(如NAE(16:1)跨通路调控)和防御功能参与胁迫适应。盐胁迫富集核苷酸代谢, 干旱胁迫以乙二醛酸和碳代谢为主, 盐旱复合胁迫以ABC转运蛋白与氨基酸生物合成为主。K-Means聚类显示100种代谢物在盐旱复合胁迫下呈梯度上调, 涉及胁迫协同响应机制。本研究首次揭示了青甘韭对多胁迫的代谢响应特征, 筛选出的关键代谢物(如脂肪酸、萜类)和通路(如ABC转运蛋白)为抗逆分子机制解析提供了新靶点, 为青藏高原特色葱属植物资源的栽培管理和抗逆育种提供了理论基础。

关键词: 青甘韭; 盐胁迫; 干旱胁迫; 代谢组学; 差异代谢物

Metabolic Diversity Analysis of *Allium Przewalskianum* Regel under Different Salt and Drought Stress Treatments

SUN Jingbo¹, YU Tianyu¹, ZHANG Xizhe², WU Yuchen¹, GUAN Zhihua¹, WANG Zhonghong^{1,2}

(¹College of Plant Science, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000; ²College of Resources and Environment, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000)

Abstract: This study employed non-targeted metabolomics to analyze the differential metabolic responses of the wild onion species *Allium przewalskianum* Regel to salt stress (NaCl), drought stress (PEG), and combined salt-drought stress (NaCl_PEG), with the aim of elucidating its adaptation mechanisms. The experiment design included four treatments: a pure water control, 240 mmol/L NaCl stress, 12% PEG-6000 drought stress, and a combined stress of 240 mmol/L NaCl+12% PEG-6000. Metabolite profiling was conducted using ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS). Subsequent analyses including Principal Component Analysis (PCA), volcano plots, hierarchical clustering, Venn diagrams, and KEGG pathway enrichment, identified 622 differentially accumulated metabolites (DAMs). The results showed that combined stress induced the most severe perturbation in the metabolic network of *A. przewalskianum*, with a great number of DAMs (331) compared to salt stress (185) and drought stress (212). Fatty acids and terpenoids were identified as the major metabolite classes responsive to stress. Notably, 52 fatty acids were upregulated under combined stress, highlighting their role in osmoregulation. Among the top 20 metabolites with the highest

收稿日期: 2025-06-06 网络出版日期: 2025-09-03

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20250606002>

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: 1545813922@qq.com

通信作者: 王忠红, 研究方向为蔬菜种质资源创新利用, E-mail: wzhong2008bj@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(32360758); 林芝市科技计划项目(JLZX2024-01)

Foundation projects: National Natural Science Foundation of China (32360758); Science and Technology Plan Project of Linzhi City (JLZX2024-01)

variation, flavan-3-ols and oleanane-type triterpenoids participated in stress adaptation through antioxidant activity, signal transduction (e.g., cross-pathway regulation by NAE(16:1)), and defense functions. KEGG enrichment analysis revealed distinct pathway responses: salt stress affected nucleotide metabolism; drought stress primarily involved glyoxylate and carbon metabolism; while combined stress activated ABC transporters and amino acid biosynthesis. K-Means clustering identified a subset of 100 metabolites exhibiting gradual upregulation specifically under combined stress, suggesting synergistic response mechanisms. This study provides the first characterization of the metabolic responses of this species to multiple abiotic stresses. The key metabolites (e.g., fatty acids, terpenoids) and pathways (e.g., ABC transporters) offer new targets for elucidating molecular resistance mechanisms. These findings provide a theoretical basis for improving cultivation practices and enhancing stress resistance breeding of characteristic *Allium* plant resources on the Qinghai-Tibet Plateau.

Key words: *Allium przewalskianum* Regel; salt stress; drought stress; metabolomics; differential metabolites

青甘韭 (*Allium przewalskianum* Regel) 是百合科葱属多年生植物^[1-2], 主要分布在青藏高原及周边地区, 在海拔 2000~4800 m 的高寒干旱生境中均可生长^[3-4]。其风味独特、观赏性佳, 是良好的食用、观赏、饲草、蜜源等植物资源^[5-7], 不仅是当地农牧民的传统野菜资源, 更因其优异的适应性而具有重要的栽培开发潜力。在人工栽培实践中, 水分管理是决定青甘韭生长表现的主要环境因子。虽然葱属植物普遍具有低耗水特性, 但已有研究表明, 土壤干旱和盐渍化不仅会显著抑制葱属植物的种子萌发和幼苗生长^[8], 还会导致产量与品质的下降^[9]。目前, 关于栽培葱属作物(如洋葱、大葱等)在干旱和盐胁迫下的形态建成、生理响应、基因表达及转录调控等方面已有较深入的研究^[10-14], 但对野生葱属植物青甘韭耐旱耐盐机制的研究相对匮乏, 仅见赵金花等^[15]对其营养器官解剖结构的抗旱特征分析, 以及田沐荣^[16]关于种子萌发期耐旱耐盐性的研究报告, 未见从代谢组学层面系统揭示其应对复杂胁迫分子基础的相关研究。

在全球气候变化背景下, 干旱与盐渍化呈现加剧趋势且常伴随发生, 二者对植物代谢网络的协同影响及作用机制已成为植物抗逆生理与代谢组学领域的研究热点^[17]。干旱和盐渍化胁迫对植物的正常生长发育造成了干扰, 最终影响农作物产量^[18]。胁迫引发的代谢差异是基因与环境因素协同作用的结果, 直接反映了生物体的生理表型以及体内生化水平^[19], 因此探究胁迫引发的代谢差异意义重大。代谢组在连接植物体遗传特征与生理指标方面, 发挥着极为关键的基础作用^[20]。借助代谢组学方法, 深入研究青甘韭胁迫下代谢组的差异, 能够为揭示其在干旱胁迫、盐胁迫和盐旱互作胁迫条件下代谢物的差异性积累情况、解析相关代谢途

径, 以及阐释青甘韭抵御逆境胁迫的调控机制提供理论依据^[21]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

材料为本课题组采自西藏的野生青甘韭种子在学校资源圃培育而成的幼苗。

1.2 试验方法

1.2.1 胁迫处理 前期开展了 4 个 NaCl 浓度梯度 (60、120、180、240 mmol/L)、4 个 PEG-6000 浓度梯度 (3%、6%、9%、12%), 以及 16 个 NaCl_PEG 复合胁迫 (NaCl 和 PEG-6000 单一浓度交叉组合) 处理, 采用盆栽种植法, 每处理 3 次重复, 每个重复 6 株植株, 对苗期的形态指标 (株高、茎粗、叶粗、鲜叶数、枯叶数) 和生理指标 (超氧化物歧化酶活性、丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、VC 含量、叶绿素含量) 进行了测定, 发现青甘韭在苗期即表现出很强的抗盐、抗旱性, 基于此结果, 选择既能诱导植株产生显著生理和形态变化但又不会导致植株死亡的最高处理浓度, 即盐胁迫 NaCl 浓度为 240 mmol/L、旱胁迫 PEG-6000 浓度为 12%。

试验于 2024 年 4-12 月在西藏农牧大学实习农场进行。4 月 1 日育苗, 7 月 1 日将苗移植于大花盆中, 12 月 12 日通过浇灌法进行胁迫处理。设 4 个处理, 即纯水对照组 (CK)、12%PEG-6000 干旱胁迫 (PEG) 处理、240 mmol/L 盐胁迫 (NaCl) 处理和 12%PEG-6000+240 mmol/LNaCl 盐旱胁迫 (NaCl_PEG 处理), 每处理 6 次重复, 每个重复 8 株植株, 放入人工气候室中 (温度 25℃, 光照 12 h/黑暗 12 h), 处理 7 d 后取样, 每个处理取 6 株, 剪取叶片后马上放入干冰中, 后转移至 -80℃ 冰箱内保存备用。

1.2.2 代谢物鉴定 采用非靶标代谢组学检测手段对4种不同处理组的青甘韭叶片展开分析。利用超高效液相色谱仪,选用Phenomenex Kinetex C18色谱柱(规格为2.1 mm×50 mm,粒径2.6 μm)对目标化合物实施色谱分离操作。其中,液相色谱的A相为水相体系,含有0.01%的乙酸;B相则由异丙醇与乙腈按1:1(v/v)的比例混合而成。样品盘维持在4℃的温度条件,进样体积设定为2 μL。Orbitrap Exploris 120质谱仪在Xcalibur控制软件4.4版本(Thermo Fisher Scientific)的调控下,完成一级质谱与二级质谱的数据采集工作。基于相对标准偏差对质谱数据的偏离数值实施过滤操作。针对单个Feature进行筛选时,仅保留单组空值占比不超过50%,或所有组中空值占比均不超过50%的峰面积数据。针对质谱数据中的缺失值开展模拟处理,采用最小值的二分之一作为数值模拟方法进行填补。在质谱数据标准化处理环节,运用内标法对样品中的待测物实施归一化操作,消除系统误差。借助ProteoWizard软件将质谱数据转换为mzXML格式,使用自定义R包并基于BiotreeDB(V3.0标品库)和BT-Plant(V1.1植物专属库)开展代谢物鉴定。代谢物鉴定委托上海解码医学检验所有限公司完成。

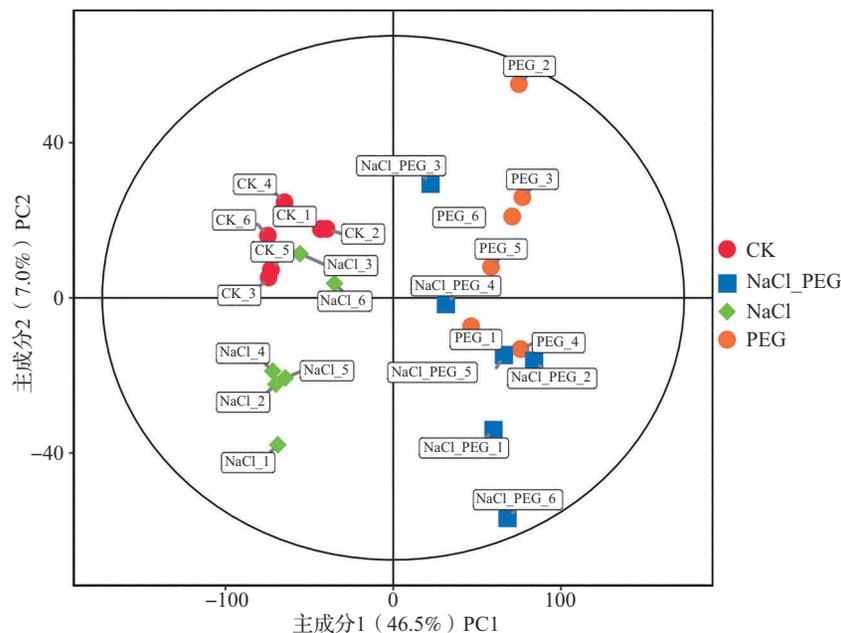
1.3 数据分析

使用SIMCAV18.0.1软件对样本进行可靠性检测即主成分分析,并对质谱数据进行对数(LOG)转换加中心化(CTR)格式化处理,之后用自主编写的R包绘制主成分得分图、火山图、韦恩图。筛选出差异常代谢物后($P < 0.05$),对不同样本中的差异代谢物做归一化处理,具体公式为: $z = (x - \mu) / \sigma$,其中 x 为某一具体分数, μ 为平均数, σ 为标准差;随后进行K均值(K-Means)聚类分析并用自主编写的R包绘制K-Means图。对差异代谢物进行KEGG(<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html>)差异代谢通路富集分析,依据 P 值($P < 0.05$)筛选出具有差异的代谢通路,并用自主编写的R包绘制KEGG富集图。

2 结果与分析

2.1 代谢组学数据有效性及可靠性检测

24个样本全部处于95%置信区间,从主成分得分图(图1)可以看出,4种处理各自呈聚集分布,数据较可靠。而青甘韭3种胁迫之间的样本点分离较明显,表明不同胁迫下青甘韭代谢差异较明显。综上所述,本研究的青甘韭在不同胁迫下所获得的差异代谢产物能够反映出各样本间实际存在的生物学差异。



CK: 对照组; NaCl_PEG: 复合胁迫组; NaCl: 盐胁迫组; PEG: 干旱胁迫组(PEG-6000); _1~_6为各处理的重复
 CK: Control group; NaCl_PEG: Compound stress group; NaCl: Salt stress group; PEG: Drought stress group(PEG-6000);
 _1 to _6 are repetitions of each treatment

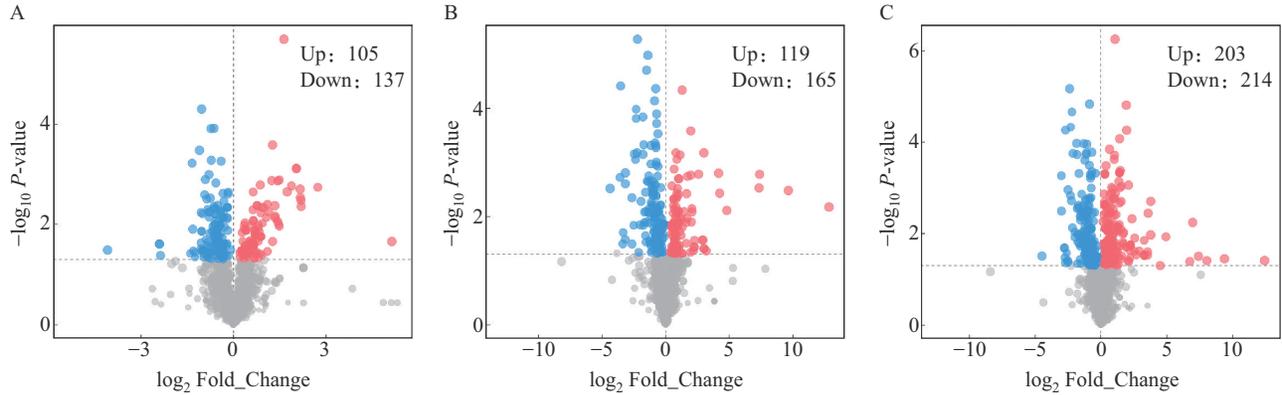
图1 样本主成分分析

Fig. 1 Principal component analysis of samples

2.2 不同胁迫下差异代谢物筛选

青甘韭在3种胁迫下与对照组经过对比保留了1842种代谢物,其中在盐胁迫下,有105种差异代谢物上调,137种差异代谢物下调,1600种代谢物无变

化(图2A)。在干旱胁迫下,有119种差异代谢物上调,165种差异代谢物下调,1558种代谢物无变化(图2B)。在盐旱复合胁迫下,有203种差异代谢物上调,214种差异代谢物下调,1425种代谢物无变化(图2C)。



A: CK组相较于盐胁迫组(CKvsNaCl);B:CK组相较于干旱胁迫组(CKvsPEG);C:CK组相较于复合胁迫组(CKvsNaCl_PEG);下同;散点的大小与VIP值呈正相关,散点越大表示VIP值越高;红色圆点为显著上调的代谢物,蓝色圆点为显著下调的代谢物,灰色圆点为无显著性差异的代谢物

A: CK group compared to salt stress group(CKvsNaCl); B: CK group compared to drought stress group (CKvsPEG); C: CK group compared to compound stress group(CKvsNaCl_PEG); The same as below; The size of the scatter is positively correlated with the VIP value, with a larger scatter indicating a higher VIP value; The red dots represent significantly upregulated metabolites, the blue dots represent significantly downregulated metabolites, and the gray dots represent metabolites with no significant differences

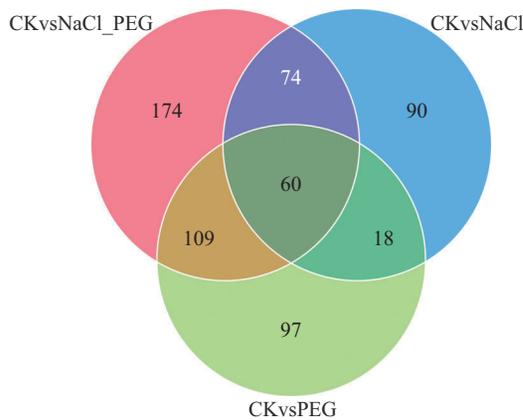
图2 对照组相较于各胁迫组的差异代谢物火山图

Fig. 2 Volcanic diagram of differential metabolites in CK group compared to each stress group

2.3 不同胁迫下差异代谢物分析

从图3能够看出,3个比较组总共有差异代谢物622种。其中,CKvsNaCl比较组存在242种差异代

谢物;CKvsPEG比较组存在284种差异代谢物;CKvsNaCl_PEG比较组存在417种差异代谢物。CKvsNaCl与CKvsPEG之间共有的差异代谢为78种;CKvsNaCl与CKvsNaCl_PEG之间共有的差异代谢物为134种;CKvsPEG与CKvsNaCl_PEG之间共有的差异代谢物为169种。



每个圆圈代表一个比较组,重叠区域的数字表示比较组之间共有的差异代谢物数量,未重叠区域的数字表示比较组特有的差异代谢物数量

Each circle represents a comparison group, the numbers in the overlapping area indicate the number of differential metabolites shared between the comparison groups, and the numbers in the non overlapping area indicate the number of differential metabolites unique to the comparison groups

图3 对照组相较于3种胁迫组的差异代谢物韦恩图

Fig. 3 Venn diagram analysis of differential metabolites in the CK group compared to three stress groups

由图4可知,CK组与3种胁迫组的代谢物存在显著性差异,其中代谢物变化幅度最大的前20种代谢物分别是黄烷-3-醇类(Sachaliside_2)、齐墩果烷型三萜(Madlongiside_C)、棕榈油酰基乙醇胺[NAE(16:1)]、胡萝卜烷型倍半萜([(1S,3R,3aS,4S,8aR)-1-acetyloxy-3-hydroxy-6,8a-dimethyl-3-propan-2-yl-1,2,3a,4,5,8-hexahydroazulen-4-yl]4-hydroxybenzoate)、2(3H)-苯并噻唑酮(3H-1,3-benzothiazol-2-one)、癸二酸(Sebacic acid)、二羧酸类(Undecanedioic acid)、帕莫司他(Patamostat)、Peonidin 3-(6"-acetyl-galactoside) [M]、黄酮类(8-[4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxyoxan-2-yl]-5,7-dihydroxy-2-(4-methoxyphenyl)chromen-4-one)、N-Eicosapentaenoyl methionine、二苯醚(Asterric acid)、M310T193、赖氨酸系生物碱(Tropinone)、哌

啉生物碱(Pseudopelletierine)、3,3-二甲基环己酮(3,3-Dimethylcyclohexanone)、艾里莫芬烷型倍半萜((4aR,5S)-9-hydroxy-3,4a,5-trimethyl-4,5,6,7,8,8a,9,9a-octahydrobenzo[f]benzofuran-2-one)、Thalictricoside、环烯醚萜([(1aS,1bS,2S,5aR,6S,

6aS)-6-hydroxy-2-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-2,5a,6,6a-tetrahydro-1bH-oxireno[5,6]cyclopenta[1,3-c]pyran-1a-yl)methyl(E)-3-phenylprop-2-enoate)、M411T198。

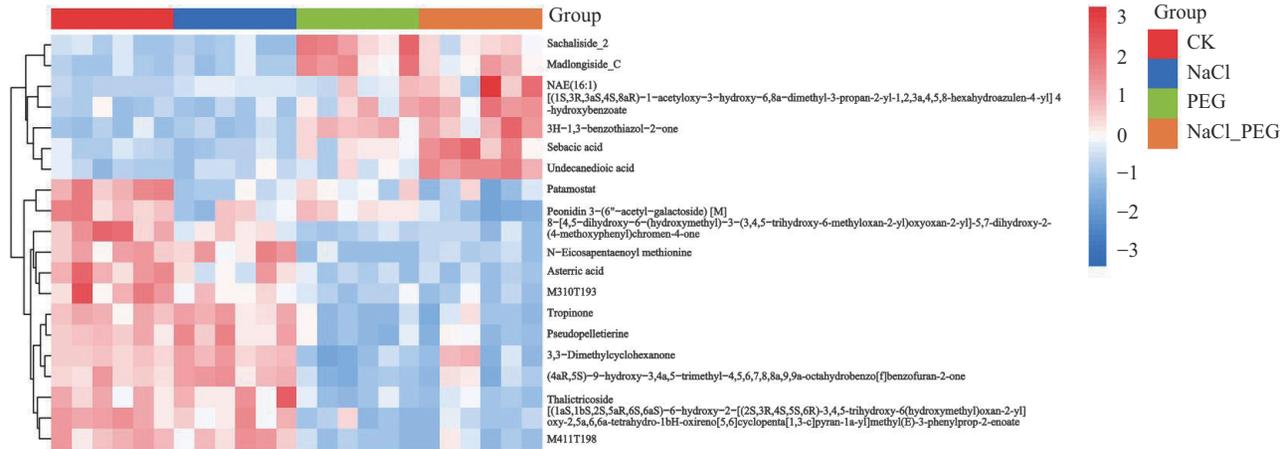


图4 CK组对3种胁迫组的层次聚类分析

Fig. 4 Hierarchical cluster analysis of the CK group compared to three stress groups

CKvsNaCl比较组共筛选到185种具有明确分类的差异代谢物,其中74种代谢物上调,包括脂肪酸16种、萜类13种、碳水化合物6种、生物碱15种、莽草酸及苯丙酸类13种、聚酮类2种、氨基酸及短肽9种;111种代谢物下调,包括脂肪酸23种、萜类15种、碳水化合物2种、生物碱13种、莽草酸及苯丙酸类43种、聚酮类10种、氨基酸及短肽5种。

CKvsPEG比较组共筛选到212种具有明确分类的差异代谢物,其中86种代谢物上调,包括脂肪酸31种、萜类23种、生物碱12种、莽草酸及苯丙酸类16种、聚酮类3种、氨基酸及短肽1种;126种代谢物下调,包括脂肪酸21种、萜类40种、碳水化合物1种、生物碱21种、莽草酸及苯丙酸类34种、聚酮类8种、氨基酸及短肽1种。

CKvsNaCl_PEG比较组共筛选到331种具有明确分类的差异代谢物,其中152种代谢物上调,包括脂肪酸52种、萜类33种、碳水化合物4种、生物碱22种、莽草酸及苯丙酸类18种、聚酮类4种、氨基酸及短肽19种;179种代谢物下调,包括脂肪酸23种、萜类40种、碳水化合物13种、生物碱29种、莽草酸及苯丙酸类61种、聚酮类12种、氨基酸及短肽1种。

由图5可知,其中变化趋势相同的代谢物可分为9类,分别包括99种、53种、68种、100种、44种、91种、64种、70种和33种代谢物。其中第1类99种代谢物,在盐旱复合胁迫下通过降低代谢物相对含

量来适应,降低的顺序NaCl<PEG<NaCl_PEG;第2类53种代谢物,在干旱胁迫下通过升高代谢物相对含量来适应,盐胁迫和盐旱复合胁迫则通过降低代谢物相对含量来适应,且降幅为NaCl_PEG<NaCl;第3类68种代谢物,在盐旱复合胁迫下通过降低代谢物相对含量来进行适应,降低的顺序为PEG<NaCl<NaCl_PEG;第4类100种代谢物,在盐旱逆境胁迫下通过升高代谢物相对含量来适应,升高的顺序为NaCl<PEG<NaCl_PEG;第5类44种代谢物,在盐胁迫下通过升高代谢物相对含量来适应,干旱胁迫和盐旱复合胁迫是通过降低代谢物相对含量来进行适应,且降幅为NaCl_PEG<PEG;第6类91种代谢物,在盐旱复合胁迫下通过升高代谢物相对含量来适应,升高的顺序为NaCl<NaCl_PEG<PEG;第7类64种代谢物,在盐旱复合胁迫下通过升高代谢物相对含量来适应,升高的顺序为PEG<NaCl<NaCl_PEG;第8类70种代谢物,在盐旱复合胁迫下通过降低代谢物相对含量来进行适应,降低的顺序为PEG<NaCl<NaCl_PEG;第9类33种代谢物在盐旱复合胁迫下通过升高代谢物相对含量来进行适应,升高的顺序为NaCl_PEG<PEG<NaCl。

2.4 KEGG差异代谢通路富集分析

将3个比较组中筛选出的显著性差异代谢物开展KEGG代谢通路富集分析。结果显示,CKvsNaCl比较组的差异代谢物共富集到55条代谢通路,经筛

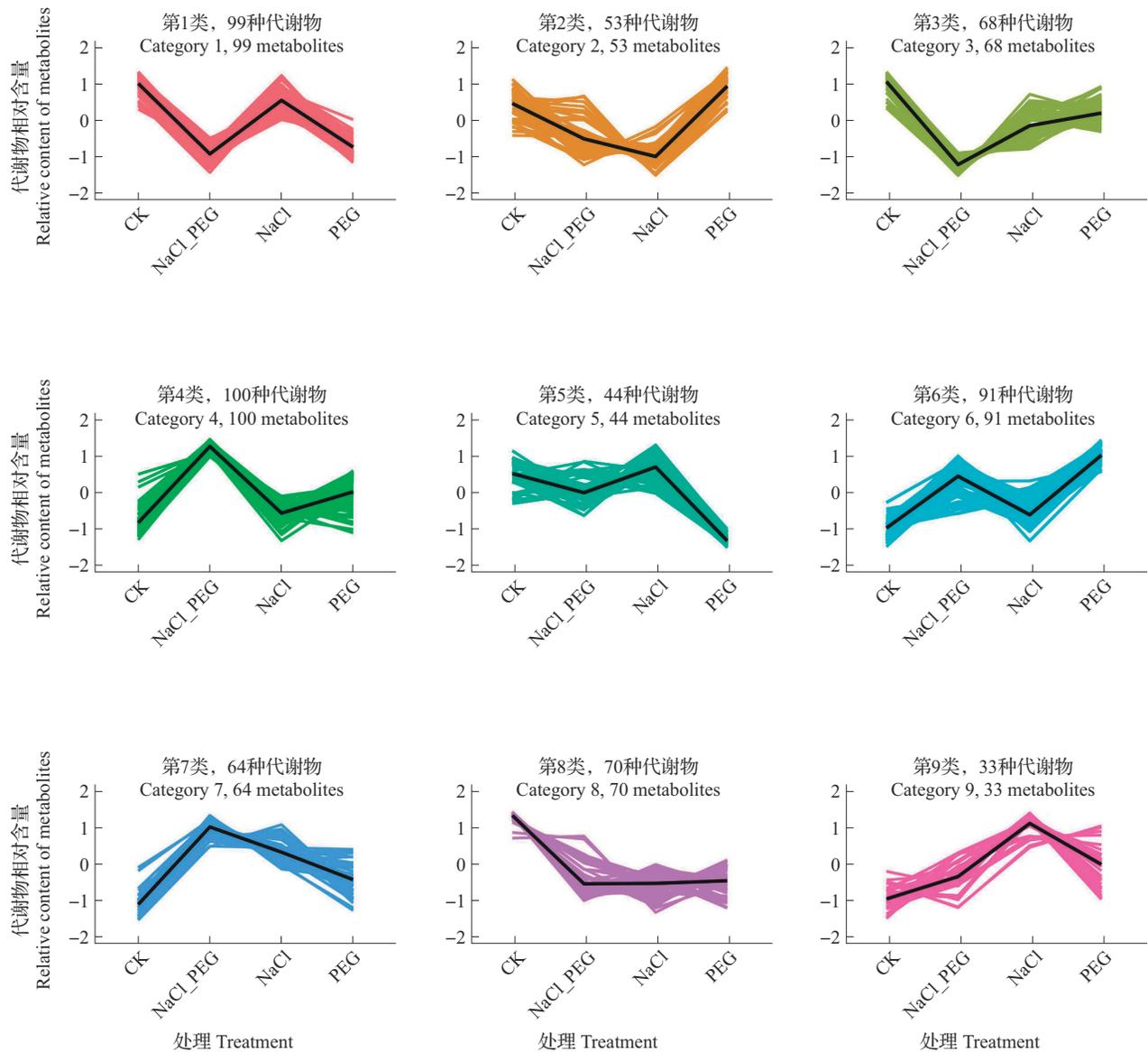


图5 各处理组对比的K-Means图

Fig. 5 K-Means diagram of comparison of each treatment group

选获得 15 条差异代谢通路,分别为核苷酸代谢 (Nucleotide metabolism),乙二醛酸和双羧酸代谢 (Glyoxylate and dicarboxylate metabolism),柠檬酸循环 [Citrate cycle (TCA cycle)],氨基酸的生物合成 (Biosynthesis of amino acids),甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 (Glycine, serine and threonine metabolism),丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 (Alanine, aspartate and glutamate metabolism),嘧啶代谢 (Pyrimidine metabolism),碳代谢 (Carbon metabolism),辅因子的生物合成 (Biosynthesis of cofactors),2-氧代羧酸代谢 (2-Oxocarboxylic acid metabolism),丁酸代谢 (Butanoate metabolism),嘌呤代谢 (Purine metabolism),精氨酸生物合成 (Arginine biosynthesis),泛醌和其他萜烯醌生物合成

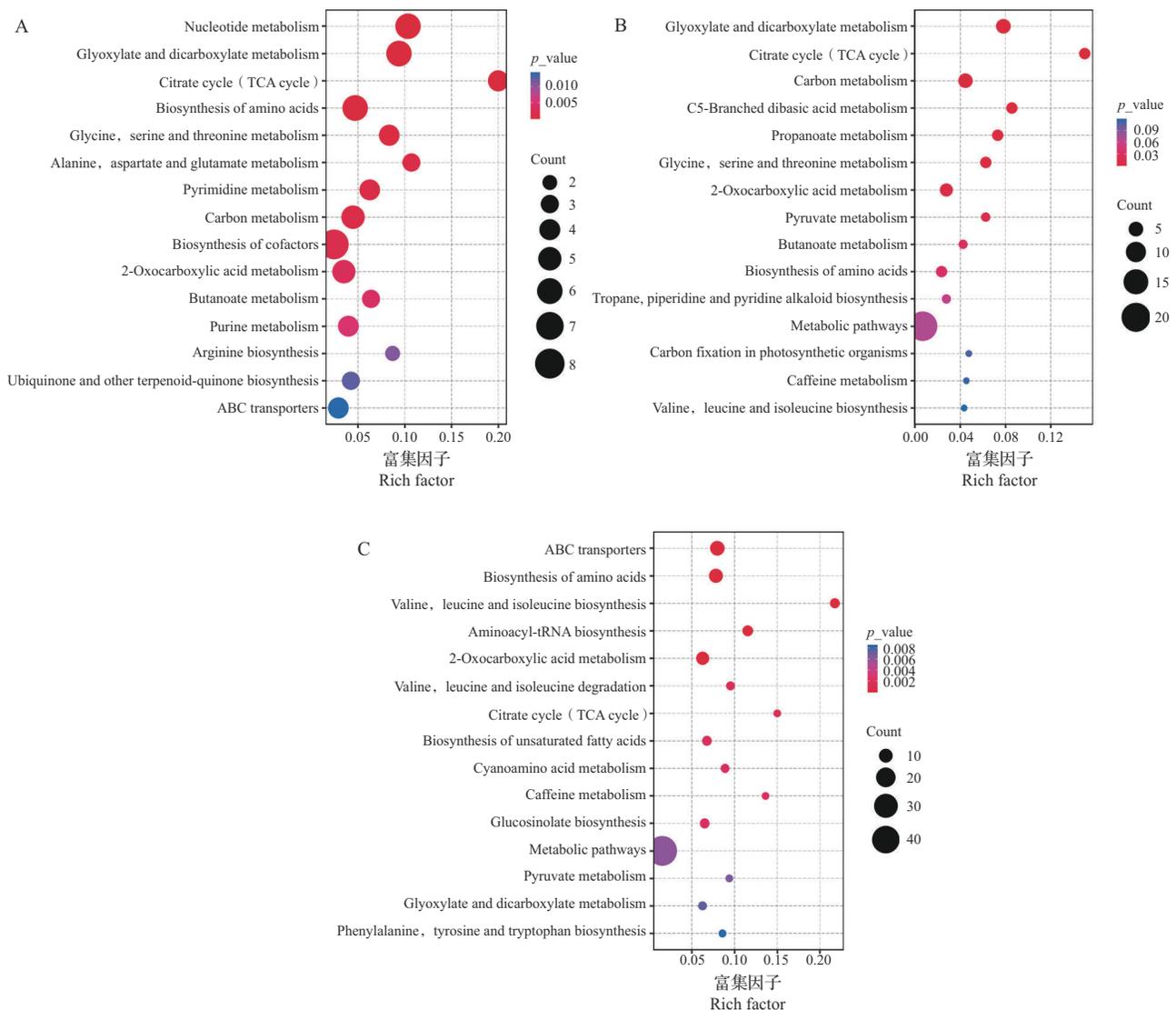
(Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis), ABC 转运蛋白 (ABC transporters) (图 6 A)。其中,核苷酸代谢的影响最为突出;其次是乙二醛酸和双羧酸代谢、柠檬酸循环和氨基酸的生物合成。核苷酸代谢通路中检测到 6 种差异代谢物,分别为谷氨酰胺、胸腺嘧啶、胞嘧啶、胸苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷。乙二醛酸和双羧酸代谢通路中检测到 6 种差异代谢物,分别为柠檬酸、2-酮戊二酸、乙醛酸、苹果酸、谷氨酰胺和异柠檬酸。在辅因子的生物合成通路中检测到的差异代谢物最多,有 8 种,分别是柠檬酸、孕二醇-3-葡萄糖醛酸苷、2-酮戊二酸、酪氨酸、3-[(1-羧基乙烯基)氧基]苯甲酸、谷氨酰胺、异柠檬酸和 4-羟基苯甲酸。

CKvsPEG 比较组的差异代谢物共富集到 36 条

代谢通路,筛选出 15 条差异代谢通路,涵盖了乙二醛酸和双羧酸代谢,柠檬酸循环,碳代谢,C5-分支二羧酸代谢(C5-Branched dibasic acid metabolism),丙酸代谢(Propanoate metabolism),甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,2-氧代羧酸代谢,丙酮酸代谢(Pyruvate metabolism),丁酸代谢,氨基酸的生物合成,以及托烷、哌啶和吡啶生物碱的合成代谢途径(Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis),代谢途径(Metabolic pathways),光合作用生物中的碳固定作用(Carbon fixation in photosynthetic organisms),咖啡因代谢(Caffeine metabolism),缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成(Valine, leucine and isoleucine biosynthesis)

(图 6 B)。其中影响最为显著的是乙二醛酸和双羧酸代谢;其次是碳代谢和柠檬酸循环。在乙二醛酸和双羧酸、碳代谢通路中检测到了相同的 5 种差异代谢物,分别为柠檬酸、乙醛酸、苹果酸、甘油酸和异柠檬酸。

CKvsNaCl_PEG 比较组的差异代谢物共富集到 57 条代谢通路,从中筛选出 15 条差异代谢通路,包括 ABC 转运蛋白,氨基酸的生物合成,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成,氨酰-tRNA 生物合成(Aminoacyl-tRNA biosynthesis),2-氧代羧酸代谢,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解(Valine, leucine and isoleucine degradation),柠檬酸循环,不饱和脂肪酸的生物合成(Biosynthesis of unsaturated fatty



A: CK 组相较于 NaCl 组; B: CK 组相较于 PEG 组; C: CK 组相较于 NaCl_PEG 组

A: CK group compared to NaCl group; B: CK group compared to PEG group; C: CK group compared to NaCl_PEG group

图 6 CK 组相较于各胁迫组的差异代谢物 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of differential metabolites in the CK group compared to three stress groups

acids), 氰基氨基酸代谢(Cyanoamino acid metabolism), 咖啡因代谢, 硫代葡萄糖苷生物合成(Glucosinolate biosynthesis), 代谢途径, 丙酮酸代谢, 乙二醛酸和双羧酸代谢, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成(Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis)(图 6 C)。其中影响最为显著的是 ABC 转运蛋白和氨基酸的生物合成;其次是缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成。在 ABC 转运蛋白通路中检测出了 11 种差异代谢物,分别为蔗糖、苯丙氨酸、亮氨酸、L-异亮氨酸、(2R, 3R, 4R)-2, 3, 4, 5, 6-五羟基己醛、缬氨酸、脯氨酸、甜菜碱、海藻糖、核黄素和 Digalacturonate(属于单糖)。氨基酸的生物合成通路中检测出了 10 种差异代谢物,分别为柠檬酸、苯丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸、L-异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、异柠檬酸、3-异丙基苹果酸和 2-异丙基苹果酸。

3 讨论

青甘韭在响应盐胁迫、干旱胁迫和盐旱复合胁迫的过程中,检测到的上调差异代谢物均小于下调差异代谢物,且差异代谢物随之增加。同一个植物不同胁迫下其代谢谱存在着差异。

不同胁迫处理下,青甘韭明确的差异代谢物数量呈现显著梯度:盐胁迫(185 种)<干旱胁迫(212 种)<盐旱复合胁迫(331 种),表明盐旱复合胁迫对青甘韭代谢网络的扰动更为剧烈。这与 Ming 等^[22]关于多重胁迫协同作用加剧代谢紊乱的结论一致。从代谢物类别看,脂肪酸、萜类、生物碱和莽草酸及苯丙酸类是主要响应类群。例如,盐胁迫下脂肪酸代谢呈现部分上调与部分下调的双向调控模式,可能与细胞膜流动性维持和能量代谢重组有关^[23];而干旱胁迫下脂肪酸上调比例显著增加,表明其在渗透调节中起关键作用。盐旱复合胁迫下脂肪酸上调数量达 52 种,进一步印证了其作为逆境信号分子和渗透保护剂的核心地位^[24]。黄烷-3-醇作为类黄酮衍生物,其显著上调增强植物抗氧化能力,抵御胁迫诱导的氧化损伤^[25];齐墩果烷型三萜则通过调控细胞膜稳定性或信号传导通路参与胁迫适应^[26]。棕榈油酰基乙醇胺[NAE (16:1)]在 3 组胁迫中均显著变化,该物质作为内源性大麻素类似物,可能在胁迫信号感知与转导中发挥跨通路调控作用^[27]。此外,环烯醚萜和倍半萜类化合物的广泛变化,可能与植物特有次生代谢产物的防御功能密切相关,例如艾里莫芬烷型倍半萜的羟基化修饰可能增强

其抗菌活性^[28]。

KEGG 富集分析显示,不同胁迫诱导的核心代谢通路存在显著差异,盐胁迫中核苷酸代谢通路显著富集,反映出盐胁迫下植物对能量代谢和渗透调节物质(如脯氨酸)合成的需求增加^[29]。干旱胁迫中乙二醛酸和双羧酸代谢通路主导响应,柠檬酸循环的激活可能通过增强有机酸积累维持细胞膨压^[30],而甘氨酸-丝氨酸代谢的变化与氧化应激防御相关^[31]。盐旱复合胁迫中 ABC 转运蛋白和氨基酸生物合成通路成为核心,11 种转运蛋白相关代谢物的上调表明植物通过跨膜转运增强离子平衡和渗透保护;同时,缬氨酸、亮氨酸等支链氨基酸的合成增加,可能作为渗透调节剂或能量替代底物^[32-34]。盐旱复合胁迫下,明确的差异代谢物数量较单一胁迫之和(185+212=397)减少 66 种,表明部分代谢通路存在交叉调控而非简单叠加。K-Means 聚类分析进一步揭示,100 种代谢物在不同胁迫下呈盐胁迫<干旱胁迫<复合胁迫的梯度上调模式,可能涉及胁迫记忆效应或协同诱导的代谢增强机制^[35-36]。本研究为青甘韭的抗逆生理机制解析提供了代谢组学证据,后续仍需结合多组学进一步阐明胁迫响应的分子调控网络。

4 结论

本研究通过非靶标代谢组学技术,系统分析了青甘韭在盐胁迫、干旱胁迫及盐旱复合胁迫下的代谢差异,主要结论如下。

(1)明确的差异代谢物数量随胁迫复杂度递增(盐胁迫 185 种→干旱胁迫 212 种→盐旱复合胁迫 331 种),表明复合胁迫对代谢网络的扰动最为剧烈。脂肪酸、萜类、生物碱和莽草酸及苯丙酸类是主要响应类群,其中脂肪酸在复合胁迫下上调 52 种,凸显其在渗透调节和膜稳定性维持中的核心作用。

(2)黄烷-3-醇类、齐墩果烷型三萜等前 20 种高变幅代谢物,可能通过抗氧化、信号传导和防御功能参与胁迫适应。棕榈油酰基乙醇胺[NAE (16:1)]在 3 组胁迫中均显著变化,提示其作为跨通路调控因子的潜在价值。环烯醚萜和倍半萜类的广泛变化,可能与葱属植物特有次生代谢防御机制密切相关。

(3)盐胁迫以核苷酸代谢为主,侧重能量与渗透调节;干旱胁迫以乙二醛酸代谢和碳代谢为主,强调有机酸积累与氧化应激防御;盐旱复合胁迫以 ABC 转运蛋白和氨基酸生物合成成为主,通过跨膜转

运和氨基酸代谢增强多重胁迫适应。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第十四卷. 北京: 科学出版社, 1980: 170
Editorial Committee of the Chinese Botanical Chronicle of Chinese Academy of Sciences. Chinese botanical chronicle: Volume 14. Beijing: Science Press, 1980: 170
- [2] 田沐荣, 张凤兰, 郝丽珍, 杨忠仁. 不同温度及浸种时间对山韭和青甘韭种子萌发的影响. 江西农业学报, 2014, 26 (9): 12-15, 19
Tian M R, Zhang F L, Hao L Z, Yang Z R. Effects of different temperatures and seed-soaking time on seed germination of *Allium senescens* and *Allium przewalskianum*. Acta Agriculturae Jiangxi, 2014, 26 (9): 12-15, 19
- [3] Yao B Q, Deng J M, Liu J Q. Variations between diploids and tetraploids of *Allium przewalskianum*, an important vegetable and/or condiment in the Himalayas. Chemistry & Biodiversity, 2011, 8: 686-691
- [4] 朗杰, 王陆州, 关志华, 德庆措姆, 王忠红. 青甘韭花叶开发利用现状与营养品质分析. 植物遗传资源学报, 2018, 19 (1): 96-102
Lang J, Wang L Z, Guan Z H, De Q C M, Wang Z H. The development and utilization status and nutritional quality analysis of flower & leaf of *Allium przewalskianum* Regel. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19 (1): 96-102
- [5] Negi K S. *Allium* species in Himalayas and their uses, with special reference to Uttaranchal. Ethnobotany, 2006, 18: 53-66
- [6] 王忠红, 关志华, 陈双臣. 野生葱属植物观赏价值评价及其应用. 南方农业学报, 2016, 47 (8): 1349-1355
Wang Z H, Guan Z H, Chen S C. Evaluation and application of ornamental value of wild *Allium* spp.. Journal of Southern Agriculture, 2016, 47 (8): 1349-1355
- [7] Pandey A, Pandey R, Negi K S. Realizing value of genetic resources of *Allium* in India. Genetic Resources and Crop Evolution, 2008, 55: 985-994
- [8] 田洁, 周倩怡, 铁原毓, 孙海宏, 黄思杰. 干旱胁迫下大蒜幼苗的代谢组学分析. 园艺学报, 2024, 51 (1): 133-144
Tian J, Zhou Q Y, Tie Y Y, Sun H H, Huang S J. Metabolomic analysis of garlic seedling under drought stress. Acta Horticulture Sinica, 2024, 51 (1): 133-144
- [9] 韩宇, 梁浣汀, 谷丽丽. 模拟干旱胁迫下5份野生披碱草属植物萌发期抗旱性评价. 草食家畜, 2024 (3): 36-44
Han Y, Liang R T, Gu L L. Evaluation of drought resistance of five wild *Elymus* plants during germination under simulated drought stress. Grass-Feeding Livestock, 2024 (3): 36-44
- [10] Tang N, Chen Q Z, Zhang W B J. Root transcriptome of *Allium mongolicum* regel under drought stress conditions. Ciencia e Investigación Agraria, 2022, 49 (1): 22-35
- [11] Bergui E O, Abouabdillah A, Bouriou M, Schmitz D, Biel M, Abouarrar M, Krauss M, Jomaa A, Romuli S, Mueller J, Fagroud M, Bouabi D R. Innovative solutions for drought: Evaluating hydrogel application on onion cultivation (*Allium cepa*) in Morocco. Water, 2023, 15 (11): 1972
- [12] Aghaev F, Asgarov A, Mustafayev Z, Hasanli K, Gadzhieva A. Influence of soil drought on some biomorphological indicators and *Allium cepa* L. Varieties Performance, 2024, 10 (3): 177-184
- [13] Liu X R, Zhang T T, Song Y, Sun S J, Wang B S, Cui S M. Effects of severe drought stress on the physiology and biochemistry characteristics of welsh onion (*Allium fistulosum* L. var. *Giganteum* Makino) seedlings. Horticultural Science, 2023, 50 (4): 297-307
- [14] Gke Z N Z, Gke A F, Junaid M D, Chaudhry U K. Morphological, physiological, and biochemical responses of onion (*Allium cepa* L.) breeding lines to single and combined salt and drought stresses. Euphytica, 2022, 218 (3): 1-12
- [15] 赵金花, 王霞, 才仁卓玛, 吴胡明. 青甘韭和贺兰韭营养器官解剖结构的抗旱性分析. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2021, 42 (1): 28-32
Zhao J H, Wang X, Cairen Z M, Wu H M. Drought resistance analysis of the anatomical structure of vegetative organs of *Allium przewalskianum* and *Allium eduardi*. Journal of Inner Mongolia Agricultural University: Natural Science Edition, 2021, 42 (1): 28-32
- [16] 田沐荣. 山韭和青甘韭种子萌发及耐旱耐盐性评价. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014
Tian M R. Effect of different temperatures and soaking time on seed germination and characteristics on drought and salt resistance of *Allium senescens* L. and *Allium przewalskianum* Regel. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014
- [17] 张凤, 陈伟. 代谢组学在植物逆境生物学中的研究进展. 生物技术通报, 2021, 37 (8): 1-11
Zhang F, Chen W. Research progress of metabolomics in plant stress biology. Biotechnology Bulletin, 2021, 37 (8): 1-11
- [18] 鲍根生. 植物应答非生物逆性的代谢组学研究进展. 青海畜牧兽医杂志, 2020, 50 (4): 57-62
Bao G S. Advances in metabolomic studies of plant responses to abiotic stress. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2020, 50 (4): 57-62
- [19] Kemble H, Eisenhauer C, Couce A. Flux, toxicity, and expression costs generate complex genetic interactions in a metabolic pathway. Science Advances, 2020, 6 (23): eabb2236
- [20] 薛守宇, 朱涛, 李冰冰, 李涛涛. 转录组和代谢组联合分析在植物中的应用研究. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2022, 42 (3): 1-13
Xue S Y, Zhu T, Li B B, Li T T. Application research of combined transcriptome with metabolome in plants. Journal of Shanxi Agricultural University: Natural Science Edition, 2022, 42 (3): 1-13
- [21] 张菡倩, 秦玉莹, 黄凯, 陈建军. 植物在非生物胁迫下代谢组学与转录组学的研究进展. 江西农业学报, 2022, 34 (1):

- 71-78
Zhang H Q, Qin Y Y, Huang K, Chen J J. Research progress in metabolomics and transcriptomics of plants under abiotic stress. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2022, 34 (1):71-78
- [22] Ming J K, Yi Z Y, Yan L, Zhi G Z, Nuo H X, Lan F, Jin F Z, Tao L, Zhi Q C, Hai F Q. Leaf metabolic influence of glyphosate and nanotubes on the *Arabidopsis thaliana* phyllosphere. *Journal of Environmental Sciences*, 2021, 106 (8):66-75
- [23] Xu X X, Zhang J J, Yan B W, Wei Y L, Ge S N, Li J X, Han Y, Li Z T, Zhao C J, Xu J Y. The adjustment of membrane lipid metabolism pathways in maize roots under saline-alkaline stress. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 635327
- [24] Meng X Q, Liu S Y, Dong T T, Xu T, Ma D F, Pan S Y, Li Z Y, Zhu M K. Comparative transcriptome and proteome analysis of salt-tolerant and salt-sensitive sweet potato and overexpression of *IbNAC7* confers salt tolerance in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 572540
- [25] 杨波,卫颖,梁长梅,张鹏飞,牛铁泉,樊玮鑫,温鹏飞.外源水杨酸对葡萄叶片黄酮-3-醇积累的影响. *山西农业科学*, 2020, 48(12):1916-1920
Yang B, Wei Y, Liang C M, Zhang P F, Niu T Q, Fan W X, Wen P F. Effect of exogenous salicylic acid on accumulation of flavan-3-ol in grape leaves. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2020, 48 (12):1916-1920
- [26] 栗真真,苏天琪,洪彪,朱辉,李玉山.齐墩果烷型三萜皂苷类化学成分的研究进展. *中国现代中药*, 2020, 22(7):1140-1150
Li Z Z, Su T Q, Hong B, Zhu H, Li Y S. Advances in chemical constituents of oleanane - type triterpenoid saponins. *Modern Chinese Medicine*, 2020, 22 (7):1140-1150
- [27] Cunningham C W. Plant-based modulators of endocannabinoid signaling. *Journal of Natural Products*, 2019, 82 (3):636-646
- [28] Rong C, Gulab S, Qun Z. Design, semisynthesis, insecticidal and antibacterial activities of a series of marine-derived geodin derivatives and their preliminary structure-activity relationships. *Marine Drugs*, 2022, 20 (2):82
- [29] 姜可,樊先雯,李静,由新颖,孟雨竹,秦淑凡,程杰山.外施褪黑素对盐胁迫下葡萄砧木 3309C 生理代谢的影响. *烟台果树*, 2025(2):12-16
Jiang K, Fan X W, Li J, You X Y, Meng Y Z, Qin S F, Cheng J S. Effects of exogenous melatonin application on physiological metabolism of grape rootstock 3309C under salt stress. *Yantai Fruits*, 2025 (2):12-16
- [30] 毕浩东,史久长,李秋剑,张力,王卫民,许嘉阳,韩丹,许自成,贾玮.基于代谢组学的烟草逆境胁迫及烟叶品质研究进展. *山东农业科学*, 2024, 56(6):165-172
Bi H D, Shi J C, Li Q J, Zhang L, Wang W M, Xu J Y, Han D, Xu Z C, Jia W. Progress of research on adversity stress and leaf quality of tobacco based on metabolomics. *Shandong Agricultural Sciences*, 2024, 56 (6):165-172
- [31] 董梦瑶,龙启福,邢江娃,高翔,李永臻.转录组学和代谢组学探究高盐胁迫对 *Virgibacillus salexigens* 羟基四氢嘧啶合成通路的影响. *中国生物化学与分子生物学报*, 2025, 41 (4): 586-596
Dong M Y, Long Q F, Xing J W, Gao X, Li Y Z. Transcriptomic and metabolomic investigations on the effects of high salt stress on hydroxyectoine biosynthesis in *Virgibacillus Saalexigens*. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2025, 41 (4):586-596
- [32] 吕博文,李军乔,闫格,王秀梅,李涛.蕨麻响应盐碱胁迫的形态及转录组分析. *种子*, 2024, 43(1):14-28
Lyu B W, Li J Q, Yan G, Wang X M, Li T. Morphological and transcriptome analysis on response of potentilla anserina to salt-alkali stress. *Seed*, 2024, 43 (1):14-28
- [33] 蒋天威,马培杰,李亚娇,陈才俊,刘晓霞,王小利.二穗短柄草对光周期的代谢响应分析. *生物技术通报*, 2025, 41(7): 237-247
Jiang T W, Ma P J, Li Y J, Chen C J, Liu X X, Wang X L. Metabolic response of *Brachypodium distachyon* to photoperiods. *Biotechnology Bulletin*, 2025, 41 (7):237-247
- [34] 刘威帆,屈小玉,刘昊,万猛虎,马凤兰,崔永,马小英,李涛,黄霖锋,吴娜,刘吉利.不同耐盐型玉米幼苗抵抗盐胁迫的途径及差异基因表达. *植物营养与肥料学报*, 2025, 31(4): 730-744
Liu W F, Qu X Y, Liu H, Wan M H, Ma F L, Cui Y, Ma X Y, Li T, Huang L F, Wu N, Liu J L. Pathways and differential gene expression in salt-tolerant and salt-sensitive maize seedlings under salt stress. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2025, 31 (4):730-744
- [35] 曹雨晴,刘梦璇,瞿方茜,王琪,周泓,夏宜平,王秀云.杜鹃花种质资源耐热性研究进展. *浙江大学学报:农业与生命科学版*, 2025, 51(1):1-17
Cao Y Q, Liu M X, Qu F Q, Wang Q, Zhou H, Xia Y P, Wang X Y. Research progress on heat resistance of *Rhododendron* germplasm resources. *Journal of Zhejiang University: Agriculture & Life Sciences*, 2025, 51(1):1-17
- [36] 庄婷婷,李佳欣,詹若挺,马新业.具胁迫“记忆”特征的白木香离体根的 miRNA 分析. *热带作物学报*, 2025, 46(4): 820-830
Zhuang T T, Li J X, Zhan R T, Ma X Y. MiRNAs analysis of *Aquilaria sinensis* vitro roots with stress memory characteristic. *Journal of Tropical Crops*, 2025, 46 (4):820-830