

基于非靶向代谢组学研究邻苯二甲酸二丁酯对菜心代谢产物组成的影响

唐崇杰, 洗陈洁, 陈梦华

引用本文:

唐崇杰, 洗陈洁, 陈梦华. 基于非靶向代谢组学研究邻苯二甲酸二丁酯对菜心代谢产物组成的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(4): 786–798.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0359>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

邻苯二甲酸酯降解菌的筛选、降解特性及土壤修复研究

杨婧, 郭楚玲, 刘沙沙, 党志, 卢桂宁

农业环境科学学报. 2018, 37(5): 933–940 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1689>

微塑料对DBP胁迫下生菜光合作用及品质的影响

王成伟, 刘禹, 宋正国, 高敏苓

农业环境科学学报. 2021, 40(3): 508–516 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1134>

2株邻苯二甲酸酯高效降解菌的筛选鉴定及其降解性能

潘琪, 孙淑, 周震峰

农业环境科学学报. 2019, 38(10): 2354–2361 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0220>

中国地膜产品塑化剂特点及风险评价

丁伟丽, 刘琪, 刘秋云, 严昌荣

农业环境科学学报. 2021, 40(5): 1008–1016 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1331>

不同老化过程对生物炭理化性质及吸附邻苯二甲酸酯的影响

闵露娟, 柳金明, 张鹏, 肖辉, 孙红文

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 806–814 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1105>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

唐崇杰, 洗陈洁, 陈梦华. 基于非靶向代谢组学研究邻苯二甲酸二丁酯对菜心代谢产物组成的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(4): 786–798.

TANG C J, XIAN C J, CHEN M H. Impact of Di-n-butyl phthalate (DBP) on the metabolite composition of the Chinese flowering cabbage based on non-targeted metabolomics[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(4): 786–798.



开放科学 OSID

基于非靶向代谢组学研究邻苯二甲酸二丁酯对菜心代谢产物组成的影响

唐崇杰^{1,2}, 洗陈洁¹, 陈梦华^{1,2*}

(1. 湛江市生态环境技术中心, 广东 湛江 524000; 2. 湛江市固体废物污染防控中心, 广东 湛江 524000)

摘要:为研究邻苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP)胁迫对菜心代谢产物组成的影响,本文基于非靶向代谢组学,通过主成分分析、偏最小二乘判别分析等多元统计分析方法,对DBP胁迫下菜心不同组织代谢产物的差异及其关键通路进行研究。结果发现:不同DBP浓度胁迫下菜心不同组织存在明显差异的代谢产物有105种,主要分布在36条代谢途径中。 $P<0.05$ 的代谢途径有3条,即色氨酸代谢(Tryptophan metabolism)、苯丙氨酸代谢(Phenylalanine metabolism)和丁酸代谢(Butanoate metabolism)。研究表明,基于非靶向代谢组学可直观反映DBP对菜心代谢产物组成的影响,为后续开发农作物关键通路上的靶向化学调控剂提供科学依据。

关键词:非靶向代谢组学;邻苯二甲酸二丁酯(DBP);菜心;不同组织;代谢产物

中图分类号:S634.5;X53;X173 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)04-0786-13 doi:10.11654/jaes.2023-0359

Impact of di-n-butyl phthalate (DBP) on the metabolite composition of the Chinese flowering cabbage based on non-targeted metabolomics

TANG Chongjie^{1,2}, XIAN Chenjie¹, CHEN Menghua^{1,2*}

(1. Zhanjiang Eco-environmental Technology Centre, Zhanjiang 524000, China; 2. Zhanjiang Solid Waste Pollution Prevention and Control Centre, Zhanjiang 524000, China)

Abstract: To study the impact of di-n-butyl phthalate (DBP) on the metabolite composition of the Chinese flowering cabbage, this study analyzed the differences in the metabolites and their pathways in the different tissues of the Chinese flowering cabbages under DBP stress based on non-targeted metabolomics; principal component analysis and partial least squares-discriminant analysis were used. The results showed that there were 105 different metabolites in the different tissues of Chinese flowering cabbages under different DBP concentrations, which are mainly distributed in 36 metabolic pathways. There were three metabolic pathways ($P<0.05$), namely tryptophan metabolism, phenylalanine metabolism, and butanoate metabolism. Our results indicate that the effect of DBP on the metabolite composition of the Chinese flowering cabbage is directly reflected based on non-targeted metabolomics and provides a scientific basis for the further development of targeted chemical regulators on the key pathways of crops under DBP stress.

Keywords: non-targeted metabolomic; di-n-butyl phthalate (DBP); Chinese flowering cabbages; different tissues; metabolites

收稿日期:2023-05-09 录用日期:2023-08-10

作者简介:唐崇杰(1980—),男,广东湛江人,硕士,高级工程师,研究方向为生态环境污染评价。E-mail:1074763@qq.com

*通信作者:陈梦华 E-mail:chanmenghua@163.com

基金项目:湛江市科技计划项目(2021B01027)

Project supported:Zhanjiang Science and Technology Project(2021B01027)

邻苯二甲酸酯(Phthalic acid esters, PAEs)被广泛应用于各行各业,并大量进入环境。尤其PAEs作为增塑剂在塑料制品中含量高达60%,而农田塑料薄膜(地膜、塑料大棚)的广泛使用导致我国农田土壤和农作物PAEs污染问题日益突出^[1-2]。邻苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP)是PAEs中最常见的一种,其在农业土壤中的检出量可高达 $57.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,显著高于PAEs中的其他种类^[3-4]。DBP是一类典型的环境内分泌干扰物,具有三致效应和雌激素效应,可危害人体健康和生态环境,被美国和中国列为优先控制的环境污染物^[5]。DBP属于疏水性、较难被降解的污染物,容易在土壤中富集,易被蔬菜等农作物吸收累积,日常食用含DBP的蔬菜会导致长期低剂量暴露,极大增加人体DBP暴露风险^[6]。研究表明,我国大龄儿童DBP的摄入量是欧洲的17倍,摄入量高的主要原因来自对设施蔬菜的消费^[7]。面对农田土壤-作物系统DBP污染的严峻形势,为降低农作物DBP的吸收累积,探索DBP对农作物代谢及品质影响的信号调控机制,对于保障农产品安全和人体健康具有重要的科学和现实意义。

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学后,新发展起来的“组学”,其主要研究对象是作为代谢路径底物和产物的小分子代谢物(分子量 <1000)^[8]。通过对植物代谢组学的研究,不仅可以了解植物生理状态在代谢水平的反映,还可以分析代谢物的变化及积累模式,从整体上认识代谢物及其调控,为解析植物发育及其应对逆境胁迫的调控奠定基础^[9-10]。按照研究目的,代谢组学可分为靶向代谢组学和非靶向代谢组学。其中非靶向代谢组学是无偏向性地分析样品中尽可能广泛的代谢产物,有利于发现新的代谢通路,目前已广泛应用于生物学、临床医学、药学、食品等生命科学领域^[11-14]。Wang等^[15]利用非靶向代谢组学揭示了邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯胁迫对紫花苜蓿(*Medicago sativa*)根系分泌物的影响。罗庆等^[16]利用非靶向代谢组学方法对镉、铅胁迫下东南景天根系分泌物进行研究,发现了对东南景天耐受或富集重金属起主要作用的关键根系分泌物质及关键通路。

本研究为揭示DBP对农产品代谢及品质影响的信号调控机制,采用非靶向代谢组学方法研究DBP胁迫下菜心不同组织代谢产物的变化。基于主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)等多元统计分析方法,分析菜心不同组织代谢产物的差异及其关键通路,以期为后续开发关键通路上的靶向化学

调控剂提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 水培实验

在恒温(25.0 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 和相对湿度 $60\% \pm 2\%$ 的人工气候箱内培养菜心幼苗。在前人工作的基础上,制备了改良的8692营养液^[17]。生长18 d后,选择3株体积相近的幼苗,在50 mL玻璃离心管中分别暴露于DBP[0(对照,CK)、10、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]3 d。基于幼苗的相对生长抑制率分别达到0、20%和75%时推导得出3种不同的有效浓度(EC_{0} 、 EC_{20} 和 EC_{75}),再根据以上3种不同的有效浓度确定DBP溶液的浓度。每个处理进行4个生物学重复。为最大限度地减少水的蒸发并防止藻类生长,离心管上覆盖了铝箔。

1.2 代谢产物的收集与提取

取菜心不同组织的样本200 $\text{mg} (\pm 1\%)$,放入2 mL的EP管中。向管中准确加入0.6 mL的 -20°C 的甲醇配制2-氯苯丙氨酸($4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),使用涡旋振荡器充分振荡30 s;添加100 mg的玻璃珠,将EP管中的混合物放入组织研磨仪中,在60 Hz下研磨90 s;使用超声波设备在室温下处理样品15 min。在 25°C 和 $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的条件下离心10 min,取上清液300 μL 过滤。过滤液通过 $0.22 \mu\text{m}$ 膜过滤后,加入到检测瓶中。通过液相色谱-质谱(LC-MS)联用技术进行检测。从每个待测样本中取出20 μL 样品混合,用于质量控制以校正分析结果偏差和仪器误差,剩余待测样本进行LC-MS检测^[18-19]。

1.3 代谢产物的分析

采用高效液相色谱仪(Thermo Scientific™ Vanquish™ Core HPLC, 赛默飞, 美国), 配备ACQUITY UPLC® HSS T3($2.1 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}, 1.8 \mu\text{m}$)色谱柱, 设置自动进样器的温度为 8°C , 流速为 $0.25 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温为 40°C , 进样量为2 μL , 进行梯度洗脱。正离子模式的流动相为0.1%甲酸水(B1)和0.1%甲酸乙腈(A1); 负离子模式的流动相为5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵水(B3)和乙腈(A3)。梯度洗脱程序: 0~1 min, 2%的A1/A3; 1~9 min, 2%~50%的A1/A3; 9~12 min, 50%~98%的A1/A3; 12~13.5 min, 98%的A1/A3; 13.5~14 min, 98%~2%的A1/A3; 14~20 min, 2%的A1-正模式(其中, 14~17 min, 2%的A3-负模式)^[20]。

使用质谱仪(Thermo Scientific™ Q Exactive™ Plus, 赛默飞, 美国), 采用电喷雾离子源和正负离子电离模式。正离子喷雾电压设定为3.50 kV, 负离子

喷雾电压设定为 2.50 kV,鞘气设定为 9 000 mL·min⁻¹,辅助气设定为 3 000 mL·min⁻¹。毛细管温度设置为 325 ℃,在 70 000 分辨率下进行全扫描,扫描范围 81~1 000,二级裂解采用高能碰撞解离(HCD)技术,碰撞电压设定为 30 eV,同时采用动态排除功能去除无关的 MS/MS 信息^[20]。

1.4 数据分析

使用 Proteowizard 软件(v3.0.8789)将原始数据转换成 mzXML 格式(xcms 输入文件格式)^[21]。然后利用 R(v3.3.2)中的 XCMS 程序包进行峰识别、峰过滤、峰对齐。此过程中的主要参数:bw=5,ppm=15,peakwidth=c(5,30),mzwid=0.015,mzdiff=0.01,method="centWave"。通过这些步骤得到包括质核比、保留时间和峰面积等信息的数据矩阵。为确保不同量级的数据可进行比较,对数据进行了峰面积的批次归一化。

应用 PCA 对样品进行分类,在此过程中无外加的人为因素,因此可获得代谢组数据的原始状态。同时采用 PLS-DA 区分各组间代谢的总体差异,进而筛

选差异代谢产物。

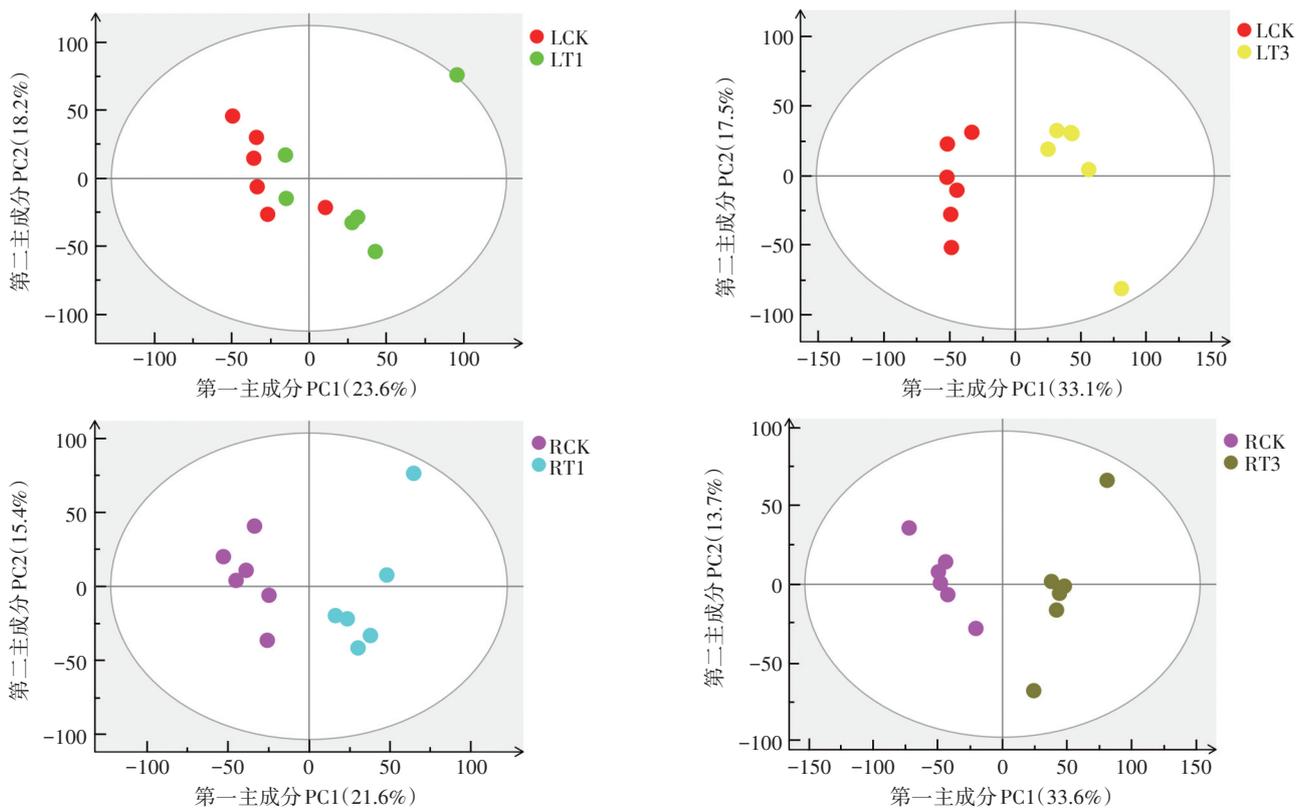
采用聚类热图对富集在通路上的显著差异代谢产物表达量进行分析。不同颜色的区域为不同的聚类分组信息,即具有相似代谢模式的代谢产物被聚合在一起。这种聚类可以提供关于代谢产物功能的推测,因为同一组内的代谢产物可能具有相似的功能或参与相同的生物学过程。通过这种方式,我们可以推断已知或未知代谢产物的生物学功能。利用差异代谢产物的 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)进行通路富集分析,获得代谢通路富集结果。

2 结果与分析

2.1 菜心不同组织代谢产物的差异分析

2.1.1 PCA

菜心不同组织代谢产物 PCA 得分如图 1 所示,在得分图中,两个样品的距离越近,它们属于同一类别的可能性就越大,在主成分空间中更具有相似的特征。叶部样品中,LT1(DBP 10 mg·L⁻¹)与 LCK(对照)



LCK:叶对照组;LT1:叶组 1,DBP 10 mg·L⁻¹;LT3:叶组 3,DBP 100 mg·L⁻¹;RCK:根对照组;RT1:根组 1,DBP 10 mg·L⁻¹;RT3:根组 3,DBP 100 mg·L⁻¹。下同。

LCK:leaf control;LT1:leaf,DBP 10 mg·L⁻¹;LT3:leaf,DBP 100 mg·L⁻¹;RCK:root control;RT1:root,DBP 10 mg·L⁻¹;RT3:root,DBP 100 mg·L⁻¹。

The same below.

图1 菜心不同组织代谢产物 PCA 得分

Figure 1 PCA score plot of metabolites from different tissues of Chinese flowering cabbages

两组样品有部分重叠,说明DBP处理浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品与对照组代谢产物间没有显著差异。LT3 (DBP $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 分布于第1象限和第4象限,LCK分布于第2象限和第3象限,表明DBP处理浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品与对照组代谢产物间有显著差异,代谢模式都与DBP处理浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品不同。与叶部样品不同的是,根部样品在DBP $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (RT1)和 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (RT3)的处理下都与LCK有显著差异,说明DBP胁迫对根部代谢产物的影响比对叶部代谢产物的影响大。PCA不仅有助于全面了解菜心不同组织代谢产物的总体情况,而且有助于检测和排除异常样品,从而提高模型的准确性。

2.1.2 PLS-DA

菜心不同组织代谢产物PLS-DA得分如图2所示,不同DBP浓度处理的代谢产物均与对照组存在明显分离,表明不同DBP浓度处理下代谢产物与对照组存在显著差异。全部样品组都位于置信区间内,同时参数模型(对Y变量数据集)可解释度(R^2Y)和模型可预测度(Q^2)都大于0.8(表1),说明模型的稳定性较好,数据可靠,这表明DBP胁迫导致了菜心分泌物的变化。经过PLS-DA置换检验发现, Q^2 点从左到右均低于最右边的原始的蓝色的 Q^2 点,且 $Q^2 < 0$, R^2 和 Q^2 的回归线与横坐标交叉或者 < 0 ,说明评估模型没有发生过拟合。以上结果表明PLS-DA模型能有效区分各组样本,具有较好的预测能力,并且预测有效,可用于后续的差异成分分析。其中,DBP处理浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的叶部样品在PCA中没有明显分离,但在PLS-DA下明显分离,表明PLS-DA的分析效果更佳。

2.2 差异代谢产物的筛选与鉴别

根据PLS-DA生成的第1主成分变量重要性值投影(Variable importance in the projection, VIP),并结合一维方差分析(One-way ANOVA, P -value)来筛选组间差异代谢产物($P \leq 0.01$ 且 $VIP \geq 1$),共筛选到105种显著差异代谢产物。对DBP不同浓度处理下叶、根分别进行组间比较,在LT1、LT3、RT1、RT3组中分别筛选到5、26、21、65个差异代谢产物(表2)。将不同浓度处理下的不同组织特有的差异代谢产物和共有差异代谢产物进行交集分析(图3),发现LT1、LT3、RT1、RT3特有的差异代谢产物分别有1、20、15、59个。3个及以上样本共有差异代谢产物为Sebacic acid。

2.3 差异代谢产物热图分析

为了更直观地展示样本之间的关系及代谢产物在不同样本之间的表达差异,对富集在通路上的显著

差异代谢产物表达量进行了聚类热图分析。如图4所示,使用颜色来表示代谢产物的含量,其中红色为含量高表达,紫色为含量低表达。从图中条带可以看出各样品中都有明确的高表达或者低表达区域,说明差异代谢产物在不同样品中的含量有明显差异,且筛选的显著差异代谢产物能作为标志物将两组区分开。聚在一簇的代谢产物具有相似功能或共同参与同一代谢途径。热图分析发现差异代谢产物在根部样品和叶部样品中的含量有明显区分,如叶部组织样品中,4-异丙基苯(甲)醛(4-Isopropylbenzaldehyde)、吲哚乙酸(Indoleacetic acid)、油酰胺(Oleamide)等代谢产物的含量相对较高,根部组织样品中,尿酸(Uric acid)、棕榈油酸(Palmitoleic acid)、二苯乙内酰脲(Phenytol)等代谢产物的含量相对较高,说明在DBP胁迫下,不同组织中代谢产物种类和含量均有差异,其代谢方式和代谢途径也不同。这有助于后续开发关键通路上的靶向化学调控剂。

2.4 代谢产物代谢途径分析

通过KEGG数据库进一步对差异代谢产物进行通路富集分析。如图5所示,差异代谢产物主要分布在36条代谢途径中,其中 $P < 0.05$ 的代谢途径有3条,分别是色氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、丁酸代谢。其中,色氨酸代谢通路最为显著, P 值为0.017, $-\lg P$ 为1.759,主要有3个被检测到的差异代谢产物富集于此代谢通路上,分别为3-吲哚乙腈(3-Indoleacetone nitrile)、吲哚-3-乙酰胺[(Indol-3-yl)acetamide]、吲哚乙酸(Indole-3-acetate),三者均为植物激素,与植物逆境环境下的生长和积累密切相关。富集在苯丙氨酸代谢通路上的差异代谢产物为苯乙酸(Phenylacetic acid)和反式肉桂酸酯(trans-Cinnamate)。富集在丁酸代谢通路上的差异代谢产物为丁酸(Butanoic acid)和 α -酮戊二酸(2-Oxoglutarate)。

3 讨论

非靶向代谢组学是无偏向性地分析样品中尽可能广泛的代谢产物,可以从整体上反映代谢产物的变化,有助于新代谢通路的发现,可直观比较不同样品间的代谢特征^[22]。本文采用非靶向代谢组学结合多元统计方法,对常见农作物菜心的不同组织进行分析,总共筛选出105个显著差异代谢产物,主要参与色氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、丁酸代谢、甜菜碱生物合成等36条代谢途径。其中色氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、丁酸代谢较为显著,可能为影响DBP胁迫下菜心

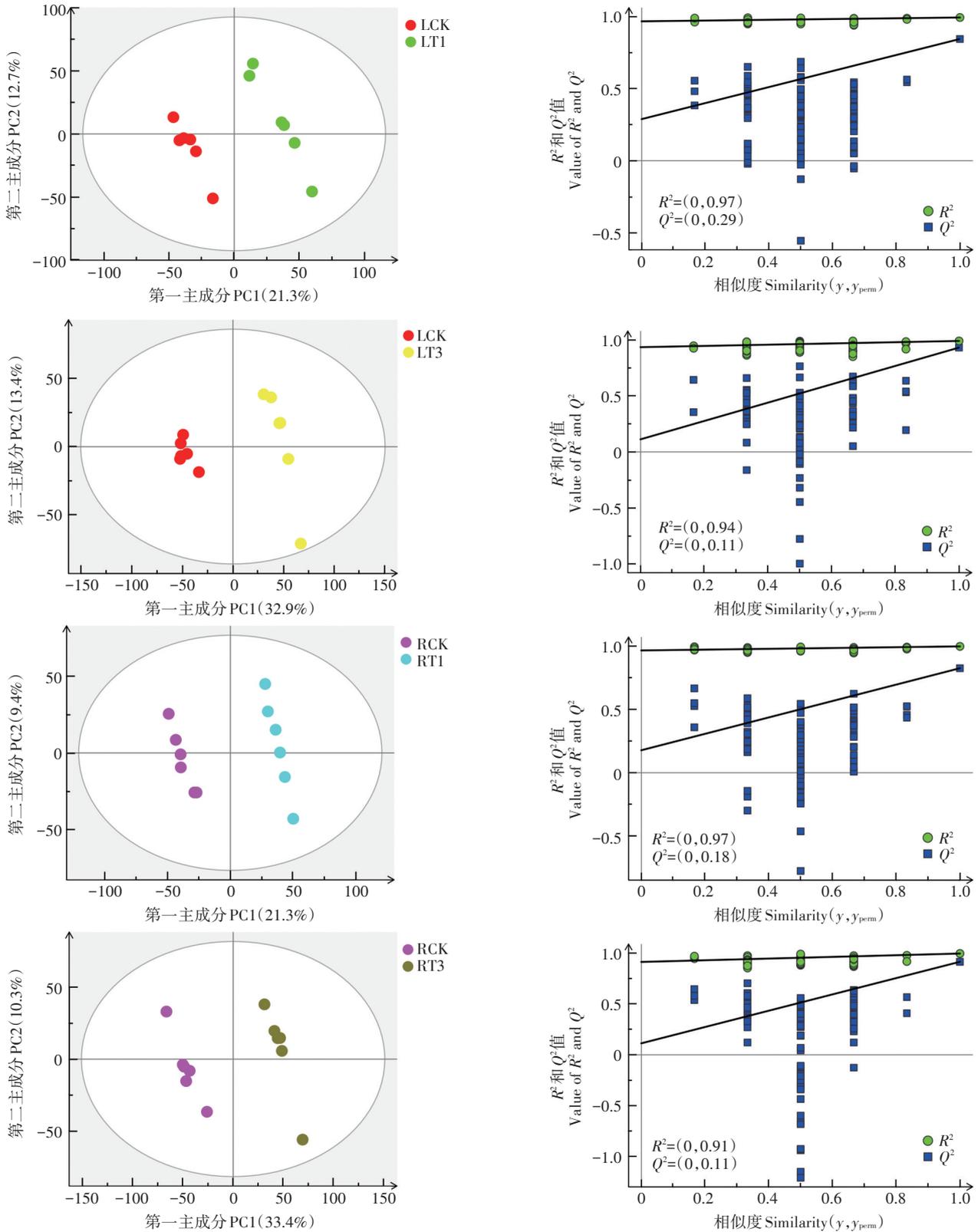


图2 菜心不同组织的代谢产物PLS-DA模型得分图和置换检验图

Figure 2 PLS-DA score plot and replacement test chart of metabolites from different tissues of Chinese flowering cabbages

代谢及品质的关键通路。因此,本文将重点讨论这3条代谢途径。

3.1 色氨酸代谢

色氨酸作为植物自身合成的氨基酸之一,在植物

表1 PLS-DA模型的 R^2Y 与 Q^2 值Table 1 R^2Y and Q^2 values of PLS-DA model

比较组 Comparable group	主成分数目 Number of principal components	R^2Y (cum)	Q^2 (cum)
对照组-叶组1(DBP 10 mg·L ⁻¹) LCK vs LT1(DBP 10 mg·L ⁻¹)	2	0.994	0.845
对照组-叶组3(DBP 100 mg·L ⁻¹) LCK vs LT3(DBP 100 mg·L ⁻¹)	2	0.991	0.932
对照组-根组1(DBP 10 mg·L ⁻¹) RCK vs RT1(DBP 10 mg·L ⁻¹)	2	0.997	0.825
对照组-根组3(DBP 100 mg·L ⁻¹) RCK vs RT3(DBP 100 mg·L ⁻¹)	2	0.995	0.914

注: R^2Y ,模型(对 Y 变量数据集)可解释度; Q^2 ,模型可预测度。

Note: R^2Y , model interpretability (for Y variable data sets); Q^2 , model predictability.

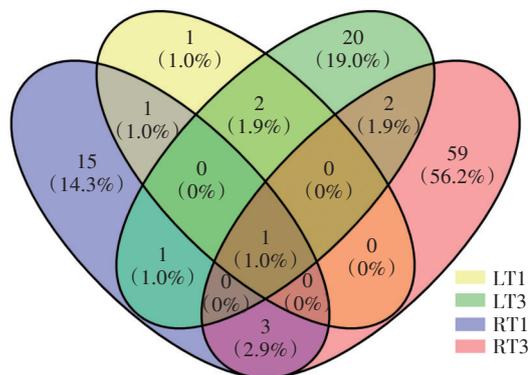


图3 菜心不同组织差异代谢产物的韦恩图

Figure 3 Venny plot of differential metabolites from different tissues of Chinese flowering cabbages

表2 DBP胁迫下菜心代谢产物的鉴定信息

Table 2 Identification information of differential metabolites in Chinese flowering cabbages

ID	代谢产物 Metabolite	质荷比 m/z	保留时间 Retention time/min	KEGG ID	VIP	P	LT1	LT3	RT1	RT3
1	Sebacic acid	185.11	535.52	C08277	2.205 6	0.005 1	●	●	●	●
2	Ethylmethylacetic acid	85.07	31.59	C18319	2.200 7	0.005 1	●	○	●	○
3	p-Hydroxymandelic acid	168.04	81.14	C11527	2.187 5	0.008 2	○	○	●	●
4	Cortisone	361.20	786.28	C00762	2.147 3	0.005 1	●	●	○	○
5	Nicotine	163.12	38.54	C00745	1.956 8	0.005 1	○	○	●	○
6	N-Carbamoylputrescine	132.10	829.80	C00436	1.941 3	0.008 2	○	○	●	○
7	Arachidic acid	311.30	835.73	C06425	1.922 0	0.005 1	○	●	○	○
8	Dehydroepiandrosterone	269.21	837.16	C01227	1.894 4	0.005 1	○	●	○	○
9	2-Pyrrolidinone	100.08	31.61	C11118	1.879 9	0.005 1	○	○	●	○
10	S-Hexyl-glutathione	391.29	754.44	C02886	1.857 8	0.005 1	○	○	●	○
11	L-Dopa	197.10	802.34	C00355	1.855 2	0.008 2	○	○	●	○
12	Diphenylamine	170.10	789.22	C11016	1.842 3	0.005 1	○	○	●	○
13	trans-trans-Muconic acid	143.03	58.50	C02480	1.826 6	0.005 1	○	○	●	○
14	Aflatoxin B1	312.36	825.44	C06800	1.823 9	0.005 1	○	○	●	●
15	Benzocaine	166.08	719.98	C07527	1.820 9	0.002 8	○	○	●	○
16	(2S,5S)-trans-Carboxymethylproline	174.09	122.21	C17366	1.780 0	0.005 1	○	○	●	○
17	Dodecanedioic acid	213.15	682.18	C02678	1.767 4	0.008 2	○	●	●	○
18	Prostaglandin F2a	354.26	746.29	C00639	1.735 8	0.005 1	○	○	○	●
19	Piperidine	84.08	31.91	C06181	1.730 5	0.005 1	○	○	○	●
20	Cyanuric acid	128.01	639.57	C06554	1.729 4	0.005 1	○	●	○	○
21	Phenyl acetate	134.89	836.33	C00548	1.726 8	0.008 2	○	●	○	○
22	Methyleugenol	179.11	760.17	C10454	1.702 2	0.005 1	○	●	○	○
23	L-Fucose	163.01	167.96	C00507	1.700 2	0.005 1	○	●	○	○
24	Dimethylbenzimidazole	145.04	158.75	C03114	1.692 6	0.008 2	○	○	○	●
25	Putrescine	89.51	827.88	C00134	1.689 5	0.008 2	●	○	○	○
26	Palmitoleic acid	255.23	811.84	C08362	1.666 2	0.005 1	○	○	○	●
27	trans-Cinnamate	128.96	86.00	C00423	1.646 0	0.008 2	○	○	○	●

注:●表示该行的代谢产物属于该列的差异代谢产物;○表示该行的代谢产物不属于该列的差异代谢产物。

Note: ● indicates that the metabolite in the row belongs to the differential metabolites in the column; ○ indicates that the metabolite in the row does not belong to the differential metabolites in the column.

续表2 DBP胁迫下菜心代谢产物的鉴定信息

Continued table 2 Identification information of differential metabolites in Chinese flowering cabbages

ID	代谢产物 Metabolite	质荷比 <i>m/z</i>	保留时间 Retention time/min	KEGG ID	VIP	<i>P</i>	LT1	LT3	RT1	RT3
28	Homo-L-arginine	188.13	101.40	C01924	1.638 9	0.002 8	○	○	●	○
29	Oxoglutaric acid	129.13	783.77	C00026	1.627 1	0.005 1	○	●	○	○
30	Methyl jasmonate	225.15	733.05	C11512	1.615 2	0.005 1	○	○	○	●
31	Myristoleic acid	209.19	775.37	C08322	1.615 1	0.005 1	○	○	○	●
32	(S)-2-Phenylloxirane	119.05	101.55	C20782	1.609 3	0.005 1	○	○	○	●
33	Oleamide	282.28	767.99	C19670	1.606 3	0.005 1	○	○	●	○
34	Herniarin	177.05	750.85	C09268	1.596 9	0.008 2	○	○	●	○
35	Geranylgeraniol	273.25	708.96	C09094	1.592 8	0.005 1	○	●	○	○
36	erythro-3-Hydroxy-Ls-aspartate	149.02	31.12	C03961	1.567 1	0.005 1	○	○	●	○
37	Nitrobenzene	122.02	253.96	C06813	1.564 9	0.002 8	●	●	○	○
38	Chavicol	135.08	749.60	C16930	1.564 7	0.005 1	○	○	○	●
39	Phenylacetic acid	137.13	31.53	C07086	1.560 7	0.005 1	○	○	●	○
40	Hexadecanedioate	285.21	649.58	C19615	1.548 5	0.005 1	○	●	○	○
41	Cyclic AMP	328.04	300.42	C00575	1.537 1	0.002 8	○	○	○	●
42	cis-1,2-Dihydrobenzene-1,2-diol	112.05	756.66	C04091	1.536 9	0.005 1	○	●	○	○
43	Retinoyl b-glucuronide	476.27	761.21	C11061	1.536 2	0.005 1	○	●	○	●
44	3,4-Dihydro-2H-1-benzopyran-2-one	149.06	789.22	C02274	1.535 3	0.005 1	○	●	○	○
45	Benzoate	123.04	196.05	C00180	1.524 0	0.005 1	○	○	○	●
46	Galactitol	182.08	281.60	C01697	1.521 9	0.008 2	○	●	○	●
47	3-Indoleacetonitrile	156.12	741.82	C02938	1.516 4	0.005 1	○	●	○	○
48	Porphobilinogen	226.18	649.59	C00931	1.497 5	0.005 1	○	○	○	●
49	Sinapic acid	225.08	485.99	C00482	1.477 7	0.005 1	○	○	○	●
50	D-Phenyllactic acid	166.06	196.15	C05607	1.467 9	0.008 2	○	○	○	●
51	2-Aminophenol	110.06	97.76	C01987	1.467 8	0.005 1	○	○	○	●
52	Androsterone	291.19	714.43	C00523	1.460 8	0.005 1	○	○	○	●
53	Triethylamine	101.10	31.53	C14691	1.460 0	0.008 2	○	○	○	●
54	Coumarin	147.04	195.64	C05851	1.457 8	0.005 1	○	○	○	●
55	5-Acetamidovalerate	159.09	308.47	C03087	1.449 5	0.005 1	○	○	○	●
56	Phenytol	253.10	505.10	C07443	1.447 8	0.008 2	○	○	○	●
57	Mannitol	183.08	196.14	C00392	1.447 5	0.005 1	○	○	○	●
58	4-Isopropylbenzaldehyde	149.10	556.33	C06577	1.446 3	0.005 1	○	○	○	●
59	Falcarindiol	261.18	794.08	C08449	1.429 1	0.005 1	○	○	○	●
60	Homovanillic acid	183.07	496.07	C05582	1.425 5	0.005 1	○	○	○	●
61	cis-4-Hydroxy-D-proline	131.97	35.10	C03440	1.421 3	0.005 1	○	○	○	●
62	Carnosol	331.19	713.97	C09069	1.421 3	0.005 1	○	○	○	●
63	6-Hydroxynicotinic acid	138.02	93.50	C01020	1.416 7	0.008 2	○	○	○	●
64	2-Methylserine	119.05	196.05	C02115	1.416 1	0.005 1	○	○	○	●
65	Mevalonic acid-5P	229.03	179.57	C01107	1.415 8	0.008 2	○	○	○	●
66	Fomepizole	83.06	755.32	C07837	1.415 5	0.002 8	○	○	●	○
67	Pyriproxyfen	322.14	345.34	C18605	1.412 7	0.008 2	○	●	○	○
68	all-trans-5,6-Epoxyretinoic acid	299.20	754.12	C16680	1.407 6	0.005 1	○	○	○	●
69	L-Methionine	150.06	124.05	C00073	1.405 9	0.005 1	○	○	○	●
70	Adrenosterone	301.18	794.56	C05285	1.394 2	0.005 1	○	○	○	●

注:●表示该行的代谢产物属于该列的差异代谢产物;○表示该行的代谢产物不属于该列的差异代谢产物。

Note:● indicates that the metabolite in the row belongs to the differential metabolites in the column; ○ indicates that the metabolite in the row does not belong to the differential metabolites in the column.

续表2 DBP胁迫下菜心代谢产物的鉴定信息

Continued table 2 Identification information of differential metabolites in Chinese flowering cabbages

ID	代谢产物 Metabolite	质荷比 <i>m/z</i>	保留时间 Retention time/min	KEGG ID	VIP	<i>P</i>	LT1	LT3	RT1	RT3
71	4-Amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine	140.08	100.23	C01279	1.391 2	0.005 1	○	●	○	○
72	Tetrahydropteridine	136.07	35.75	C05650	1.388 0	0.008 2	○	○	○	●
73	Myclobutanil	289.13	331.26	C18477	1.374 5	0.005 1	○	○	○	●
74	L-Cystathionine	223.07	242.00	C02291	1.374 0	0.008 2	○	●	○	○
75	Pantothenic acid	220.12	322.71	C00864	1.372 4	643.000 0	○	○	○	●
76	Timolol	317.17	685.57	C07141	1.363 2	0.005 1	○	○	○	●
77	Perillic acid	167.11	587.09	C11924	1.352 7	0.005 1	○	○	○	●
78	o-Xylene	107.09	632.55	C07212	1.339 1	0.008 2	○	○	○	●
79	Andrographolide	333.20	794.92	C20214	1.338 4	0.005 1	○	○	○	●
80	Butyric acid	88.08	830.44	C00246	1.335 6	0.005 1	○	●	○	○
81	L-Arabinono-1,4-lactone	147.03	493.72	C01114	1.334 0	0.005 1	○	●	○	○
82	3,4-Dihydroxyphenylpropanoate	165.05	165.63	C10447	1.320 1	0.005 1	○	○	○	●
83	Pyridoxine	170.08	153.53	C00314	1.306 5	0.005 1	○	○	○	●
84	1H-Indole-3-acetamide	175.09	402.74	C02693	1.301 3	0.005 1	○	○	○	●
85	Sodium deoxycholate	415.21	767.91	C11171	1.300 4	0.005 1	○	○	○	●
86	Indoleacetic acid	197.15	809.15	C00954	1.296 2	0.005 1	○	●	○	○
87	Thyrotropin releasing hormone	363.18	587.96	C03958	1.292 2	0.005 1	○	○	○	●
88	Amphetamine	136.11	328.72	C07514	1.276 3	0.008 2	○	○	○	●
89	10-Deoxymethynolide	279.19	731.81	C11993	1.253 5	0.008 2	○	○	○	●
90	Alpha-D-Glucose	161.05	280.79	C00267	1.244 2	0.002 8	○	●	○	○
91	N-Methyltyramine	152.11	350.94	C02442	1.237 6	0.005 1	○	○	○	●
92	Pyrimidodiazepine	221.09	268.58	C02587	1.232 5	0.005 1	○	○	○	●
93	Uric acid	169.03	148.37	C00366	1.219 5	0.008 2	○	○	○	●
94	2,5-Dioxopentanoate	131.03	123.84	C00433	1.213 3	0.005 1	○	○	○	●
95	Hydroxylaminobenzene	108.05	93.93	C02720	1.208 5	0.008 2	○	○	○	●
96	N-Methyl-L-glutamic acid	144.07	279.09	C01046	1.205 9	0.008 2	○	○	○	●
97	m-Cresol	109.10	31.97	C01467	1.192 6	0.005 1	○	○	●	○
98	Desmosterol	384.31	702.91	C01802	1.190 2	0.005 1	○	○	○	●
99	Adenosine	268.10	255.76	C00212	1.145 4	0.005 1	○	○	○	●
100	Abacavir	287.16	776.29	C07624	1.125 9	0.008 2	○	○	○	●
101	Glucosamine 6-phosphate	260.05	197.67	C00352	1.095 0	0.005 1	○	○	○	●
102	4-Aminosalicylate	152.04	366.15	C02518	1.077 6	0.005 1	○	●	○	○
103	meso-2,6-Diaminoheptanedioate	190.11	179.38	C00680	1.074 7	0.008 2	○	○	○	●
104	Prostaglandin E2	353.25	748.21	C00584	1.066 6	0.005 1	○	○	○	●
105	N-Acetyl-L-aspartic acid	176.06	188.74	C01042	1.056 1	0.005 1	○	○	○	●

注:●表示该行的代谢产物属于该列的差异代谢产物;○表示该行的代谢产物不属于该列的差异代谢产物。

Note:● indicates that the metabolite in the row belongs to the differential metabolites in the column; ○ indicates that the metabolite in the row does not belong to the differential metabolites in the column.

体内广泛存在。其不仅为植物蛋白质合成提供必要的原料,而且是许多重要次生代谢物(如植物生长素、生物碱、血清素等)的前体,在植物生长和发育过程中扮演着关键的角色^[23]。在DBP胁迫下,色氨酸可能在多个方面发挥作用,包括植物生长调控、抗逆性增强以及次生代谢物的合成。

色氨酸是苯丙氨酸的前体,它参与了苯丙氨酸代谢途径的调节。DBP胁迫下,色氨酸的积累可能促进苯丙氨酸代谢途径的活化,进而影响植物生长和发育。而苯丙氨酸代谢途径涉及合成多种重要物质,如植物激素。植物激素在植物的根系发育、生理调节、光合作用和植物抵抗逆境等方面发挥着关键作用^[24]。

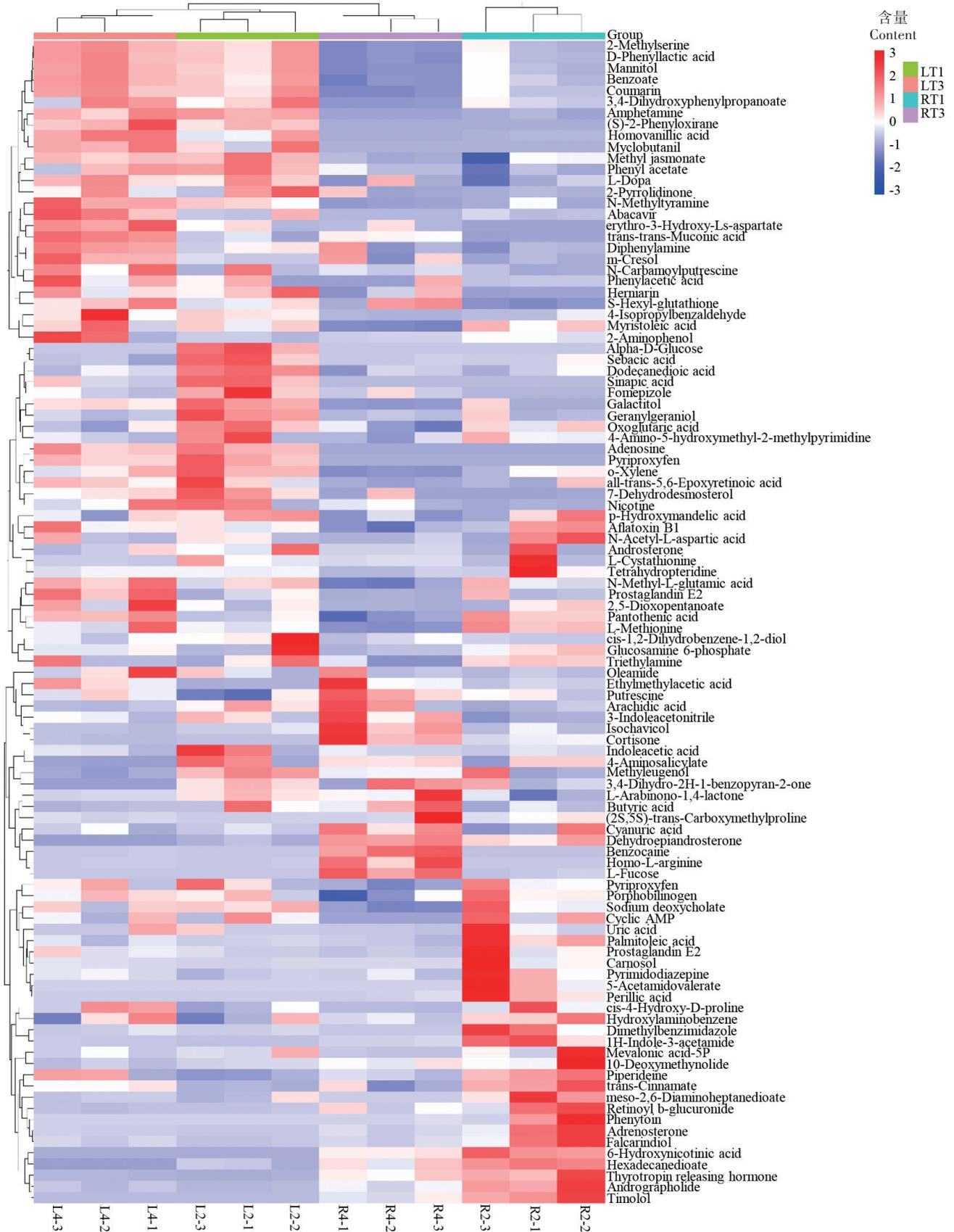
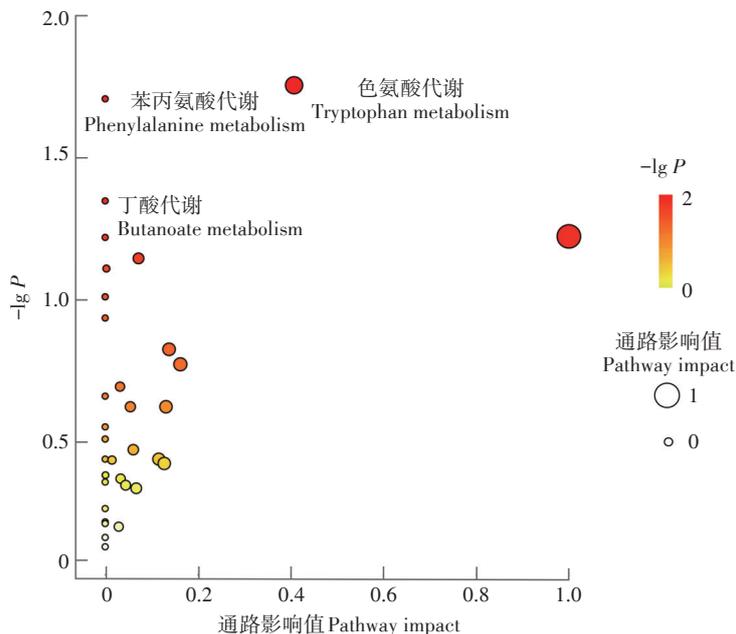


图4 菜心不同组织差异代谢产物的聚类热图分析

Figure 4 Cluster analysis of differential metabolites from different tissues of Chinese flowering cabbages



图中圆圈表示所有匹配的代谢通路,圆圈颜色和大小分别依据代谢通路的 P 值和通路影响值确定。

The circles represent all the matching metabolic pathways, the color and size of the circles are based on the P value of the metabolic pathway and the pathway impact value, respectively.

图5 差异代谢产物的通路富集分析

Figure 5 Enrichment analysis of differential metabolite pathways of Chinese flowering cabbages

DBP胁迫下,菜心显著差异代谢产物中的植物生长素吲哚乙酸富集于色氨酸代谢途径,而吲哚乙酸的合成依赖于色氨酸代谢途径,这说明色氨酸在DBP胁迫下可能通过调节苯丙氨酸代谢途径,影响植物的生长和发育过程。此外,色氨酸在抗逆性调节中起着重要作用^[25]。色氨酸可以参与植物的抗氧化防御系统,它是合成类黄酮类化合物的前体,这些物质具有抗氧化性质,可以帮助植物对抗氧化应激,被认为与植物的抗逆性密切相关^[26-27]。

3.2 苯丙氨酸代谢

苯丙氨酸代谢是一种植物重要的次生代谢途径,研究表明,一切含有苯丙烷骨架的物质都是由这一途径直接或间接生成的,因此在一个植物细胞中,有20%以上的代谢会通过这条途径,其中主要包括苯丙烷代谢和异黄酮合成代谢^[28]。苯丙氨酸代谢途径在植物生长调控、抗逆性增强以及次生代谢物合成方面起重要作用,通过该途径能合成异黄酮类植物防御素、木质素和苯丙氨酸解氨酶(PAL)等多种抗病物质^[29]。

苯丙氨酸是许多重要生物活性物质的前体,包括植物激素生长素、抗逆素和次生代谢物等。在DBP胁迫下,苯丙氨酸的代谢通路可能受到调节,导致其积累或降低。苯丙氨酸代谢通路的激活可能会参与调控植物的生长和发育过程^[30]。生长素是植物生长

的主要激素,能促进细胞分裂和伸长,对根系和茎叶的发育起关键作用。抗逆素参与植物对逆境的响应,增强植物的逆境适应能力。因此,在DBP胁迫下,苯丙氨酸的代谢调控可能通过影响生长素和抗逆素的合成和信号传递,影响植物的生长和发育。DBP胁迫会对植物产生氧化应激和细胞膜损伤等不利影响。苯丙氨酸可以参与合成类黄酮类化合物,这些化合物能够中和活性氧自由基,保护细胞免受氧化损伤^[31]。苯丙氨酸还参与合成其他抗氧化物质,如过氧化物酶和抗坏血酸等,从而进一步增强植物的抗氧化能力。苯丙氨酸还可能调节编码抗氧化酶和抗逆蛋白的基因,从而增强植物对DBP胁迫的适应能力^[32]。此外,苯丙氨酸在苯丙氨酸解氨酶的作用下可以转化为多种次生代谢物,如酚类物质、碱类化合物和酯类化合物等^[33],这些次生代谢物在DBP胁迫下积累,可能参与植物对污染物的解毒和排斥,从而保护植物的生理功能和生存能力。

3.3 丁酸代谢

丁酸是一种简单的有机酸,在DBP胁迫下可能发挥多种作用,如代谢调控、使抗氧化和抗逆性增强、激活防御反应以及减轻毒害效应等。丁酸可以通过参与丁酸代谢途径和相关代谢通路的调控,调节植物的能量代谢和物质合成^[34]。此外,丁酸还可以作为三

羧酸循环的一个旁路在植物体内参与调节细胞质pH,参与植物生长发育及形态建成等多种生理生化及代谢过程,调节与逆境胁迫相关的基因表达及蛋白质的合成,进而增强植物抗逆性等一系列重要的生命活动^[35]。丁酸还可能通过调节抗逆相关基因的表达,如编码抗氧化酶和抗逆蛋白的基因,增强植物对DBP胁迫的适应能力^[36]。

DBP胁迫可能引发植物的防御反应,而丁酸可能在调节防御基因表达和激活防御反应方面发挥作用。丁酸可以参与信号转导通路和基因表达调控,从而激活植物的防御反应^[37]。这包括激活与逆境响应相关的转录因子、激素信号通路和防御相关基因的表达,进而增强植物的抵抗力和适应能力。丁酸还可能通过调节细胞膜的渗透性和稳定性,减少DBP进入细胞的量和速率,从而降低DBP对植物的毒性^[38]。

富集在丁酸代谢途径上的差异代谢产物 α -酮戊二酸(2-oxoglutarate)是连接丁酸代谢和三羧酸循环的关键中间产物,在丁酸代谢途径中扮演重要的角色。它能为植物提供能量,可以作为合成多个重要代谢产物的前体分子,如谷氨酸、谷胱甘肽、丝氨酸和色氨酸等,是植物维持正常生理和适应环境变化的重要分子之一^[39]。在植物的抗逆性和防御机制中,它可能通过参与氧化还原反应,抑制活性氧的产生,从而减轻DBP胁迫引起的氧化损伤^[40]。它还可以通过参与调节基因表达、激素合成和信号传导等生物化学过程,调控植物对环境胁迫的响应^[41]。

因此,通过调控这些关键代谢途径及其中的代谢产物来调控菜心的表达,可以减少污染物累积的发生,提高农作物的品质,在后期的研究中,将在非靶向代谢组的基础上利用靶向代谢组学对菜心代谢产物做进一步定性和定量的研究。

4 结论

(1)DBP胁迫下,菜心不同组织代谢产物存在显著差异,共筛选出105种显著差异代谢产物,其中色氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、丁酸代谢为关键的代谢通路。

(2)DBP胁迫下,3条关键代谢通路可能发挥的作用主要包括影响植物生长调控、增强抗逆性以及合成次生代谢物等。

(3)DBP胁迫下,菜心的代谢产物含量不仅在不同组织间存在差异,而且在不同浓度下的代谢方式也不同。

参考文献:

- [1] HE L Z, GIELEN G, BOLAN N S, et al. Contamination and remediation of phthalic acid esters in agricultural soils in China: a review[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(2): 519-534.
- [2] NIU L L, YANG X, XU C, et al. Status of phthalate esters contamination in agricultural soils across China and associated health risks[J]. *Environmental Pollution*, 2014, 195: 16-23.
- [3] SHI C X, WU Q Q, LIU Q L, et al. Spatial distributions and factors of phthalic acid esters in agricultural soils in China: a review[J]. *Journal of Ecology and Rural Environmen*, 2023, 95: 27-34.
- [4] 关卉,王金生,万洪富,等. 雷州半岛典型区域土壤邻苯二甲酸酯(PAEs)污染研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 622-628. GUAN H, WANG J S, WAN H F, et al. PAEs pollution in soils from typical agriculture area of Leizhou peninsul[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(2): 622-628.
- [5] 靳拓,许丹丹,薛颖昊,等. 我国59个长期覆膜样地的表层土壤中邻苯二甲酸酯污染状况分析[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(6): 462-471. JIN T, XU D D, XUE Y H, et al. Analysis of phthalate esters pollution in 59 topsoils of long-term film mulching plots in China[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2022, 17(6): 462-471.
- [6] 冯宇希,涂茜颖,冯乃宪,等. 我国温室大棚邻苯二甲酸酯(PAEs)污染及综合控制技术进展[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(10): 2239-2250. FENG Y X, TU X Y, FENG N X, et al. Current status of phthalate acid esters (PAEs) in greenhouses in China and comprehensive control technology: a review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(10): 2239-2250.
- [7] 李海峰,任红松,刘河江,等. 农业土壤邻苯二甲酸酯污染对农产品质量安全的影响及其防治对策[J]. 江西农业学报, 2020, 32(7): 85-89. LI H F, REN H S, LIU H J, et al. Influence of phthalate pollution in agricultural soil on quality and safety of agricultural products and its countermeasures[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2020, 32(7): 85-89.
- [8] 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 G W, LU X, YANG S L. Recent advances in metabonomics[J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2007, 29(6): 701-711.
- [9] 何怡,管娇,郭笑维,等. 外源CBD缓解烟草Cd胁迫的代谢组学分析[J]. 中国烟草学报, 2023, 29(6): 72-81. HE Y, GUAN J, GUO X W, et al. Metabolomic analysis of mitigative effects of exogenous cannabidiol on tobacco under Cd stress[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2023, 29(6): 72-81.
- [10] 费莹莹,张蕾. 植物代谢组学在重金属毒性机理研究中的应用[J]. 北方园艺, 2023(6): 119-124. FEI Y Y, ZHANG L. Application of plant metabonomics in the study of heavy metal toxicity mechanism [J]. *Noethern Horticulture*, 2023(6): 119-124.
- [11] 张越,刘潇威,张艳伟,等. 不同浓度全氟辛烷磺酸对拟南芥叶片的代谢损伤机制[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(9): 1897-1907. ZHANG Y, LIU X W, ZHANG Y W, et al. Metabolic damage mechanism of different concentrations of PFOS on *Arabidopsis thaliana* leaves[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(9): 1897-1907.

- [12] 高凯,李勇慧,朱华祺,等.基于代谢组学对芍药根系黄酮类代谢物质的差异表达分析[J/OL].分子植物育种,1-15(2023-05-05)[2023-05-09].<https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230505.0853.004.html>. GAO K, LI Y H, ZHU H Z, et al. Differential expression analysis of flavonoids metabolites in the roots of *Paeonia lactiflora* based on metabolomics[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 1-15[2023-05-09]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230505.0853.004.html>.
- [13] 生弘杰,卢素文,郑暄昂,等.基于广泛靶向代谢组学的葡萄种子代谢物鉴定与比较分析[J].中国农业科学,2023,56(7):1359-1376. SHENG H J, LU S W, ZHENG X A, et al. Identification and comparative analysis of metabolites in grape seed based on widely targeted metabolomics[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(7): 1359-1376.
- [14] 王磊,贾玉龙,罗彦玉,等.基于UHPLC-MS非靶向代谢组学分析乳杆菌发酵方竹笋超细全浆的代谢差异[J].食品科学,2023,44(18):200-213. WANG L, JIA Y L, LUO Y Y, et al. Untargeted metabolomics based on ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry for analysis of differential metabolites in *Lactobacillus*-fermented ultra-fine whole pulp of *Chimonobambusa quadrangularis* shoot[J]. *Food Science*, 2023, 44(18):200-213.
- [15] WANG Y T, REN W J, LI Y, et al. Nontargeted metabolomic analysis to unravel the impact of di(2-ethylhexyl) phthalate stress on root exudates of alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 646:212-219.
- [16] 罗庆,孙丽娜,胡筱敏.镉超富集植物东南景天根系分泌物的代谢组学研究[J].分析化学,2015,43(1):7-12. LUO Q, SUN L N, HU X M. Metabonomics study on root exudates of Cd hyperaccumulator *Sedum alfredii* [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 43(1):7-12.
- [17] FENG Y X, YU X Z, MO C H, et al. Regulation network of sucrose metabolism in response to trivalent and hexavalent chromium in *Oryza sativa* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67: 9738-9748.
- [18] DE VOS R C, MOCD S, LOMMEN A, et al. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. *Nature Protocols*, 2007, 2(4):778-791.
- [19] SANGSTER T, MAJOR H, PLUMB R, et al. A pragmatic and readily implemented quality control strategy for HPLC-MS and GC-MS-based metabonomic analysis[J]. *The Analyst*, 2006, 131(10):1075-1078.
- [20] HUSERMET C. Analysis of serum samples by UPLC-MS[R]. New York: The HUSERMET Project, 2008.
- [21] SMITH C A, WANT E J, O' MAILLE G, et al. XCMS: processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching, and identification[J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78: 779-787.
- [22] 吴海兰,潘欣,余中亮,等.基于非靶向代谢组学的大熊猫主食竹代谢产物分析[J].野生动物学报,2020,41(4):851-860. WU H L, PAN X, YU Z L, et al. Analysis of metabolites of giant panda staple food bamboo based on non-targeted metabolomics[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2020, 41(4):851-860.
- [23] 苗玉焕.色氨酸代谢与棉花抗黄萎病免疫调控[D].武汉:华中农业大学,2019:10-12. MIAO Y H. Signalling and regulatory roles of tryptophan metabolites in cotton immune system to *Verticillium dahliae* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019:10-12.
- [24] 李邦,刘春娟,郭俊杰,等.低氮胁迫下外源色氨酸对高粱幼苗根系伸长的调控作用[J].作物学报,2023,49(5):1372-1385. LI B, LIU C J, GUO J J, et al. Effects of exogenous tryptophan on root elongation of sorghum seedlings under low nitrogen stress[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(5):1372-1385.
- [25] 谷闻东,刘春娟,李邦,等.外源色氨酸对低氮胁迫下高粱苗期叶片碳氮平衡和衰老特性的影响[J].中国农业科学,2023,56(7):1295-1310. GU W D, LIU C J, LI B, et al. Effects of exogenous tryptophan on C/N balance and senescence characteristics of sorghum seedlings under low nitrogen stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(7):1295-1310.
- [26] 朱星宇.色氨酸处理对油菜生长发育及CdCl₂抗性的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2020:13-15. ZHU X Y. Effects of tryptophan treatment on growth and resistance to CdCl₂ in rape[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2020:13-15.
- [27] 蒋佳,朱星宇,李晶.外源色氨酸对油菜幼苗色氨酸下游代谢网络及生长发育的影响[J].西北植物学报,2020,40(9):1549-1557. JIANG J, ZHU X Y, LI J. Effect of exogenous tryptophan on the downstream metabolic network of tryptophan and growth in rapa seedlings [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, 40(9):1549-1557.
- [28] 屠小菊,汪启明,骆鹰,等.苯丙氨酸合成代谢途径与陆地棉植株矮化的相关性研究[J].基因组学与应用生物学,2018,37(7):3028-3034. TU X J, WANG Q M, LUO Y, et al. Relationship between phenylalanine biosynthetic pathway, metabolic pathway and the dwarfism of upland cotton[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(7):3028-3034.
- [29] 杨琳,张杭颖,李晚忱,等.福建金线莲和台湾金线莲苯丙氨酸代谢产物的比较[J].分子植物育种,2020,18(13):4443-4449. YANG L, ZHANG H Y, LI W C, et al. Comparison of the phenylalanine metabolites of *A. roxburghii* and *A. formosanus* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(13):4443-4449.
- [30] 姜宇,陶猛,张雪,等.外源L-苯丙氨酸对番茄幼苗生长及根系形态的影响[J].江苏农业科学,2022,50(22):131-138. JIANG Y, TAO M, ZHANG X, et al. Impacts of exogenous L-phenylalanine on seedling growth and root morphology of tomato[J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2022, 50(22):131-138.
- [31] 程水源,陈昆松,刘卫红,等.植物苯丙氨酸解氨酶基因的表达调控与研究展望[J].果树学报,2003,20(5):351-357. CHENG S Y, CHEN K S, LIU W H, et al. Regulation and expression of the PLA in plant and its outlook[J]. *Journal of Fruit Science*, 2003, 20(5):351-357.
- [32] 孙朝霞,侯思宇,杨武德.苯丙氨酸与UV-C对苦苣荬丁含量影响及相关基因表达分析[J].中国农业科学,2011,44(23):4772-4780. SUN Z X, HOU S Y, YANG W D. Effect of exogenous L-phenylalanine and UV-C on the accumulation of rutin compounds and

- the expression of rutin biosynthesis genes in *Fagopyrum tartaricum* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(23):4772-4780.
- [33] 张宽朝, 金青, 蔡永萍, 等. 苯丙氨酸解氨酶与其在重要次生代谢产物调控中的作用研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(12):59-62. ZHANG K Z, JIN Q, CAI Y P, et al. Research progress of PAL and its control function of important secondary metabolites[J]. *Bulletin of Chinese Agronomy*, 2008, 24(12):59-62.
- [34] 穆小民, 沈黎明, 吴显荣. 高等植物体内 γ -氨基丁酸代谢的酶学研究进展(综述)[J]. 中国农业大学学报, 1996, 1(1):29-33. MU X M, SHEN L M, WU X R. Enzymological progress on the study of γ -aminobutyrate metabolism[J]. *Journal of China Agricultural University*, 1996, 1(1):29-33.
- [35] 杨泽伟, 王龙海, 朱莉, 等. γ -氨基丁酸代谢旁路在植物响应逆境胁迫中的作用机制研究[J]. 生物技术进展, 2014, 4(2):77-84. YANG Z W, WANG L H, ZHU L, et al. Research on the mechanism of gamma-aminobutyric acid shunt in plant response to adversity stresses[J]. *Current Biotechnology*, 2014, 4(2):77-84.
- [36] 李敬蕊, 夏庆平, 高洪波. γ -氨基丁酸浸种对低氧胁迫下甜瓜种子萌发及芽苗生长和活性氧代谢的影响[J]. 河北农业大学学报, 2013, 36(1):28-31. LI J R, XIA Q P, HONG H B. Effect of seeds soaking with γ -aminobutyric acid on seed germination and bud seedling growth and active oxygen species metabolism of melon under hypoxia stress[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2013, 36(1):28-31.
- [37] 白明月, 吕爽爽, 夏秀英. γ -氨基丁酸对越橘试管苗生长及相关生理代谢的影响[J]. 植物生理学报, 2022, 58(3):577-586. BAI M Y, LÜ S S, XIA X Y. Effects of γ -aminobutyric acid on the growth and related physiological characteristics of vaccinium plantlets in vitro [J]. *Plant Physiology Journal*, 2022, 58(3):577-586.
- [38] 吴晓蕾, 李敬蕊, 刘天丽, 等. γ -氨基丁酸喷施时间对高氮水平下油菜、生菜叶片硝酸盐代谢的影响[J]. 河北农业大学学报, 2016, 39(4):47-51. WU X L, LI J R, LIU T L, et al. Effects of different time points of spraying γ -aminobutyric acid on the nitrate metabolism in leaves of rape and lettuce under high nitrogen level treatment[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2016, 39(4):47-51.
- [39] CHROBOK D, LAW S R, BROUWER B, et al. Dissecting the metabolic role of mitochondria during developmental leaf senescence[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(4):2132-2153.
- [40] LI B, LI Q, XU Y, et al. 2-Oxoglutarate enhances defense responses and resistance against *Botrytis cinerea* in tomato[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(8):1965-1979.
- [41] NHAM N T, CHAKRABORTY M, SHIN M, et al. 2-oxoglutarate mediates MYC2-dependent transcriptional regulation of jasmonate signaling in *Arabidopsis*[J]. *New Phytologist*, 2019, 221(4):2097-2113.

(责任编辑:李丹)