



李东林,王文丽,邓来龙,等. 无土栽培干旱胁迫下番红花不同品种差异代谢物 KEGG 富集分析[J]. 黑龙江农业科学, 2025(7):79-87.

# 无土栽培干旱胁迫下番红花不同品种 差异代谢物 KEGG 富集分析

李东林<sup>1</sup>,王文丽<sup>1</sup>,邓来龙<sup>1</sup>,李仁杰<sup>2</sup>

(1. 阜阳职业技术学院 城乡建设学院,安徽 阜阳 236031; 2. 安徽农业大学 园艺学院,安徽 合肥 230036)

**摘要:**为促进番红花品种改良和资源优化利用,通过对干旱胁迫下番红花不同品种代谢物分析,筛选其差异代谢物,探索代谢物在番红花不同品种间的差异和变化规律。番红花不同品种采用室内无土亏水栽培,基于 UPLC-MS/MS 与 GC-MS 双检测平台和自建数据库检测番红花样本代谢物,对进行差异比较的分组样品进行主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA),选取变量重要性投影 VIP>1 和差异倍数(FC)值 Fold Change $\geq 2$  或 Fold Change $\leq 0.5$  来筛选差异代谢物,利用京都基因和基因组百科全书(KEGG)数据库进行功能注释和富集分析。共检测到 2 458 个代谢物,酚酸类占全部代谢物比例最高,达 13.22%,其次是黄酮类、萜类和脂质类。筛选出番红花不同品种差异显著代谢物数目 325 个,其中下调代谢物数目 244 个,上调 81 个。PCA 第一主成分(PC1)贡献率为 63.49%。总代谢物中被 KEGG 注释到的代谢物 489 个、差异显著代谢物 79 个。Metabolic pathways 代谢通路下的差异代谢物为 61 个,占被注释差异代谢物总数的比例为 77.22%。进一步对差异代谢物进行 KEGG 分析,发现国产番红花整体代谢物含量高于与原产地品种。

**关键词:**无土栽培;干旱胁迫;番红花;不同品种;代谢物;KEGG 分析

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



番红花(*Crocus sativus* L.)是我国药食同源多年生草本植物,属鸢尾科番红花属球根花卉,三倍体(3X=24)不育,被我国农业部列为重点发展的中草药植物品种之一<sup>[1-2]</sup>。番红花含有番红花酸、番红花素和氨基酸等有效成分,在医药上具有清凉解毒、活血安神等功效,在临床上也可治疗各种疾病,在国外还用作染色料和食品着色剂<sup>[3]</sup>。番红花开花晶莹剔透,成片种植观赏效果较好,亦可用于园林绿化和耐阴地被植物自然配置。番红花应用前景广阔,因其作用和需求量大而备受关注,被誉为“植物软黄金”<sup>[4]</sup>。国外对番红花研究多集中在有效成分、药物利用等方面<sup>[5-6]</sup>,国内对番红花栽培技术、肥料利用和生理生态等方面进行了相关研究<sup>[7-8]</sup>,关于在室内干旱胁迫下番红花的代谢物类型与变化规律资料鲜见报道。

番红花一般于 11 月开花,花丝是重要的医用材料,采花期遇连续阴雨天气易造成采花困难,影响花丝品质,导致番红花商品价值降低。随着番

红花价格走高和乡村振兴特色产业结构升级,国内番红花种植面积逐渐扩大,上海、浙江、安徽、河南等地栽培面积较大,国内学者对番红花生产应用与加工研究逐步深入。根据番红花生物学特性和本地环境条件,有学者探索了室内无土播种采花再进行大田种植的“二段式”栽培方式<sup>[9]</sup>。雨水偏少地区则用番红花种球在土壤下种植 1 次,每年连续采收地上花丝,2~4 年后再挖出种球的“一段式”生产方式,均取得较好的应用效果。本研究采用分段式番红花生产方式,在室内栽培架上进行无土种植番红花<sup>[10]</sup>,播种至采花期番红花在完全干旱亏水条件下生长发育,不用栽培基质和营养液,通过番红花种球自身营养和人为调控环境因子促进生长发育。

番红花原产地中海和伊朗地区,在 20 世纪 70 年代经西藏引入我国<sup>[11]</sup>。我国番红花品种资源较少,与原产地番红花相比,也存在种球退化和花丝品质参差不齐的现象。所以通过番红花不同

收稿日期:2025-04-10

基金项目:安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2021A1347);校级横向科研重大项目(2025FZYHXKYPT102);校级专项(成果转化)重点项目(2022KYXM14)。

第一作者:李东林(1979-),男,硕士,教授,从事植物种质资源开发应用与生理生态学研究。E-mail:ldlcareer@126.com。

品种代谢变化研究,对番红花科学生产、质量评价和绿色调控等具有重要意义。代谢组学分析是对样本所有的代谢物进行全面的定量和定性分析,不同的代谢物发挥不同功能<sup>[12-13]</sup>,因此对番红花代谢网络和代谢物的分析有利于对其进行基因改良或建立体外合成物质。

本研究以我国当地番红花主栽品种为主要材料,与原产地伊朗番红花品种进行比较,对样本代谢物进行全面地定性和定量分析。为了更加清楚地了解在无土栽培干旱胁迫下番红花不同品种代谢物的变化规律,采用分离和检测设备具有稳定性好、化合物定性分析能力强、分辨率和灵敏度高、检测速度快及动态检测范围宽的气相质谱平台(GC-MS)和液相质谱平台(LC-MS)<sup>[14]</sup>,研究完全亏水栽培条件下番红花不同品种代谢物差异与含量变化,利用京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库分析其代谢通路和富集变化,以期为实现番红花品种改良和资源优化利用提供参考依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 材料

本研究番红花种球分别来自安徽省亳州市谯城区番红花生产基地的“颍淮1号”(China)和伊朗马克亚尔贸易公司“Tarvand”(Iran)番红花品种。番红花种球大小一致,健壮无病虫害。开花期15~22 d,平均单个种球质量22.53 g,剔除10 g以下小种球。把种球放在室内冷凉黑暗通风处储藏,以顺利度过夏季生理休眠期。

UPLC-MS/MS和GC-MS双检测平台试剂甲醇、乙腈、正己烷采用Merck品牌标准品,甲酸试剂采用Aladdin品牌标准品,氯化钠用国药分析纯材料。

### 1.2 干旱胁迫处理

本研究采用无土栽培对番红花种球进行干旱胁迫处理的方法。试验按照番红花不同品种分为2个处理(Iran和China),不设置对照。1个栽培架为1个番红花品种处理,每个处理3次重复,每个处理设1个区组,区组随机排列。选取6个样品,分为2组进行代谢研究。试验在阜阳职业技术学院园艺生产示范基地进行。

2024年9月12日,番红花种球用1%多菌灵粉剂和0.5%高锰酸钾溶液集中浸泡消毒30 min,晾干后摆放于黑色塑料育苗穴盘(规格:48.0 cm×48.0 cm×5.0 cm)中,放置时种球顶芽向上。每穴盘均匀摆放30个种球,分级整齐摆放,穴盘放在钢制栽培架上。穴盘种球上架前,先进行室内密封用硫磺熏蒸消毒24 h,通风48 h后

使用,将摆满种球的穴盘放置在立体钢制栽培架上。立体架层间距约40 cm,宽度以并排放置2个穴盘为宜,高度180 cm,底层离地面约20 cm,栽培架间距60 cm,用于人工作业和倒盘调向。

### 1.3 生长管理

番红花发芽前期创造黑暗少光环境。温度控制在20~25℃,室内相对湿度(RH)50%~65%。定期向地面洒水、喷雾,随时挑出发霉腐烂种球。顶芽抽出并生长至约1.0 cm时,增加室内光照强度10%,达到500 lx,以散射光为主。花蕾出现时增加光照强度,有效光照强度达2 500 lx。开花期温度保持在12~17℃,相对湿度为60%~80%。11月花冠充分展开,雌蕊花柱和柱头成熟时采取花丝样本,低温保存处理并测定相关指标。

### 1.4 样品提取

取番红花花丝样品,将样品平均分成两份后进行不同平台的提取流程。

1.4.1 LC-MS平台样品提取 (1)花丝样品放置于冻干机(Scientz-100F)中真空冷冻干燥;(2)利用研磨仪(MM 400, Retsch)研磨(30 Hz, 1.5 min)至粉末状;(3)利用电子天平(MS105DM)称取50 mg样本粉末,加入1 200 μL -20℃预冷的70%甲醇水内标提取液(不足50 mg按每50 mg样本加入1 200 μL提取剂的比例加入);(4)每30 min涡旋1次,每次持续30 s,共涡旋6次;(5)离心(转速12 000 r·min<sup>-1</sup>, 3 min)后,吸取上清,用微孔滤膜(0.22 μm pore size)过滤样品,并保存于进样瓶中,用于UPLC-MS/MS分析。

1.4.2 GC-MS平台样品提取 (1)从-80℃冰箱中取出样品进行液氮研磨,涡旋混合均匀,每个样本称取约500 mg(液体1 mL)于顶空瓶中;(2)分别加入饱和NaCl溶液,10 μL(50 μg·mL<sup>-1</sup>)内标溶液;(3)全自动顶空固相微萃取HS-SPME进行样本萃取,以供GC-MS分析。

### 1.5 UPLC-MS/MS采集条件

数据采集仪器系统主要包括超高效液相色谱(UPLC)和串联质谱(MS/MS)。

液相条件主要包括,(1)色谱柱:Agilent SB-C18 1.8 μm, 2.1 mm×100.0 mm;(2)流动相:A相为超纯水(加入0.1%的甲酸),B相为乙腈(加入0.1%的甲酸);(3)洗脱梯度:0 min B相比比例为5%,9 min内B相比比例线性增加到95%,并维持在95% 1 min,10~11 min,B相比比例降为5%,并以5%平衡至14 min;(4)流速0.35 mL·min<sup>-1</sup>;柱温40℃;进样量2 μL。

质谱条件主要包括:电喷雾离子源(ESI)温度500℃;离子喷雾电压(IS)5 500 V(正离子模

式)/-4 500 V(负离子模式);离子源气体 I(GSI),气体 II(GSII)和帘气(CUR)分别设置为  $3.4 \times 10^2$ ,  $4.1 \times 10^2$  和  $1.7 \times 10^2$  kPa,碰撞诱导能量参数设置为高。QQQ 扫描使用 MRM 模式,并将碰撞气体(氮气)设置为中等。通过进一步的去簇电压(DP)和碰撞能(CE)优化,完成了各个 MRM 离子对的 DP 和 CE。根据每个时期内洗脱的代谢物,在每个时期监测一组特定的 MRM 离子对。

### 1.6 GC-MS 平台采集条件

HS-SPME 萃取条件:在 60 °C 恒温条件下,震荡 5 min,120  $\mu\text{m}$  DVB/CWR/PDMS 萃取头插入样品顶空瓶,顶空萃取 15 min,于 250 °C 下解析 5 min,然后进行 GC-MS 分离鉴定。采样前萃取头在 Fiber Conditioning Station 中 250 °C 下老化 5 min。

色谱条件:DB-5MS 毛细管柱(30.00 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ , Agilent J&W Scientific, Folsom, CA, USA),载气为高纯氮气(纯度不小于 99.999%),恒流流速 1.2 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,进样口温度 250 °C,不分流进样,溶剂延迟 3.5 min。程序升温:40 °C 保持 3.5 min,以 10 °C  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 升至 100 °C,再以 7 °C  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 升至 180 °C,最后以 25 °C  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 升至 280 °C,保持 5 min。

质谱条件:电子轰击离子源(EI),离子源温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,质谱接口温度 280 °C,电子能量 70 eV,扫描方式为选择离子检测模式(SIM),定性定量离子精准扫描(GB 23200.8-2016)。

## 2 结果与分析

### 2.1 代谢物定性定量分析

LC-MS 平台利用软件 Analyst 1.6.3 处理质谱数据。GC-MS 平台通过 MassHunter 软件处理质谱分析后的下机原始数据,用于定性定量分析。试验结果表明仪器稳定,分析操作重复性好。LC-MS 平台和 GC-MS 平台混样质控 QC 样本的总离子流图(TIC)及 LC-MS 平台 MRM 代谢物检测多峰图(XIC),详见 OSID 附图 1 和附图 2。

对于 LC-MS 平台,基于本地代谢数据库,对番红花样本的代谢物进行了质谱定性定量分析。OSID,附图 2 中多反应监测模式 MRM 代谢物检测多峰图展示了样本中能够检测到的物质,每个不同颜色的色谱峰代表检测到的一个代谢物<sup>[15]</sup>。通过三重四级杆筛选出每个物质的特征离子,在检测器中获得特征离子的信号强度(CPS),用 MultiQuant 软件打开样本下机质谱文件,进行色谱峰的积分和校正工作,每个色谱峰的峰面积(Area)代表对应物质的相对含量,最后导出所有色谱峰面积积分数据保存。

为了比较所有检测到的代谢物在不同样本中的物质含量差异,根据代谢物保留时间与峰型的信息,对每个代谢物在不同样本中检测到的色谱峰进行校正,以确保定性定量的准确。图 1 显示了随机抽取的代谢物在不同样本中的定量分析积分校正结果。

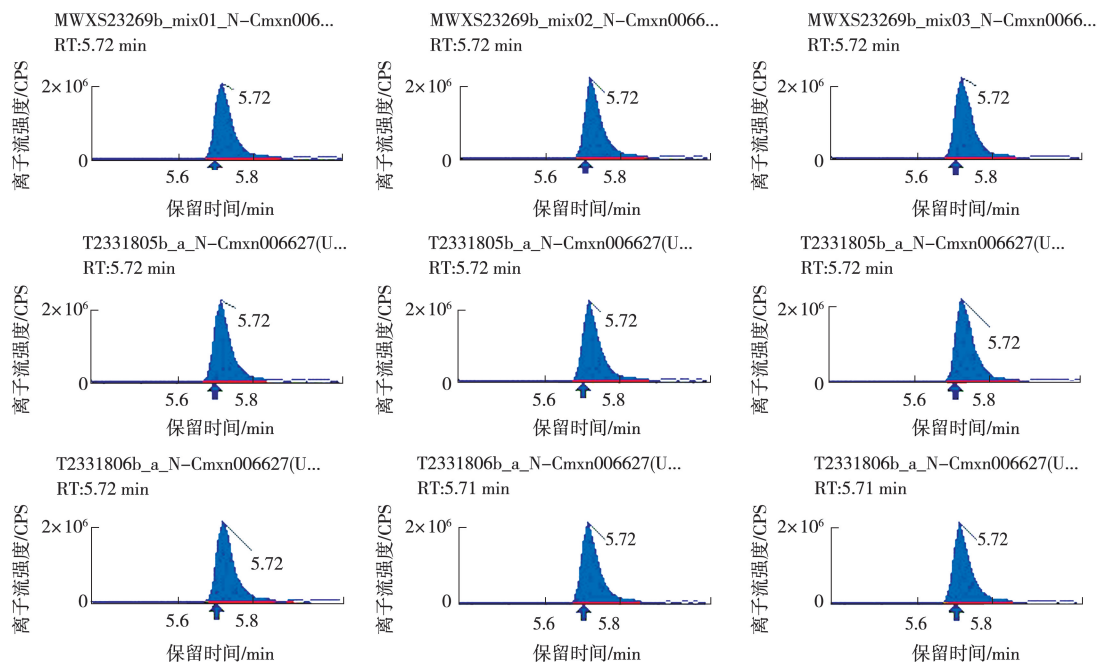


图 1 代谢物定量分析积分校正

代谢物的组成具有样本特异性,不同类型的样本所包含的代谢物类别及比例不同。本研究共检测定性 2 458 个代谢物,酚酸类占全部代谢物比例最高,达 13.22%,其次是黄酮类、萜类和脂质类,分别占比 11.15%、10.98%和 9.24%。占比最少的是卤代烃和鞣质类,分别为 0.04%和 0.08%。一共检测到 23 种黄酮类化合物,其中包括 13 种黄酮、5 种二氢黄酮、2 种黄酮醇、1 种花青素、1 种查尔酮和 1 种异黄酮。

### 2.2 主成分分析(PCA)

PCA 用 R 软件的内置统计 prcomp 函数,设

置参数  $scale = True$ 。对番红花不同品种花丝样本代谢物进行多元统计分析,比较各组样本之间的总体代谢物差异和组内样本之间的变异度大小<sup>[16]</sup>。如图 2 所示,PCA 分析结果显示第一主成分(PC1)贡献率为 63.49%,第二主成分(PC2)贡献率为 10.72%,第三主成分(PC3)贡献率为 10.33%。前 5 个主成分的解释率见图 3。PCA 结果表明番红花不同品种样本各组之间代谢组有分离趋势,样品组内代谢组分离不明显,说明样本在处理前后,样本代谢物发生了明显的变化,这与番红花花丝样本表型变化具有一致性。

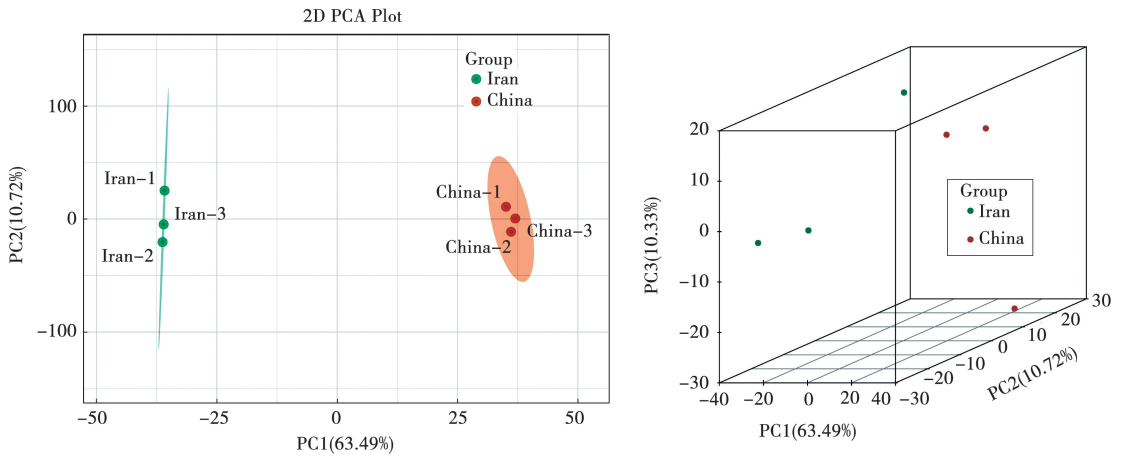


图 2 番红花不同品种 PCA 分析

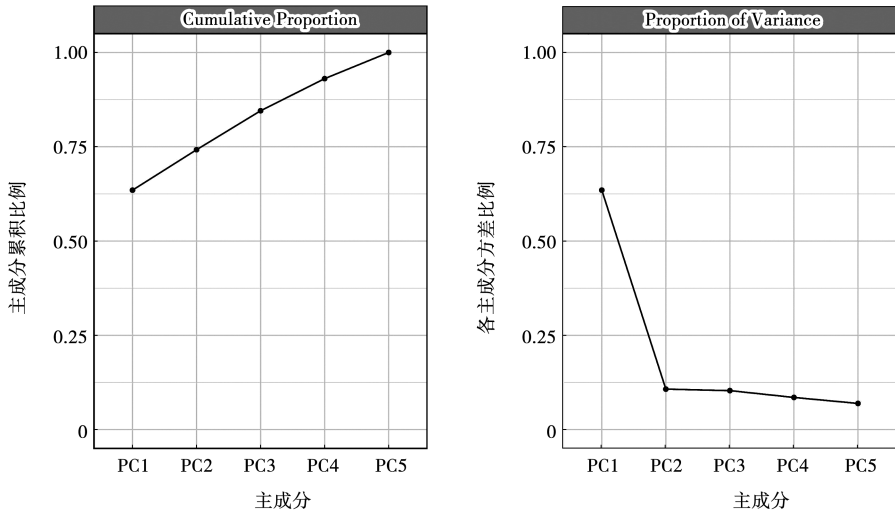


图 3 分组主成分分析解释率

### 2.3 代谢物 OPLS-DA 分析

本研究采用正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)<sup>[17]</sup>,结合了正交信号矫正(OSC)和 PLS-DA 方法,将 X 矩阵信息分解成与 Y 相关和

不相关的两类信息,通过去除不相关的差异来筛选和分析差异代谢物。OPLS-DA 在原始数据进行  $\log_2$  转换后,再进行中心化处理。其中 X 为样本定量信息矩阵,Y 为样本分组信息矩阵。

本研究 OPLS-DA 评价模型的预测参数有  $R_X^2$ ,  $R_Y^2$  和  $Q^2$ 。如图 4~5 所示,  $Q^2 > 0.98$  ( $P \leq 0.05$ ),  $R_X^2 = 0.723$ ,  $R_Y^2 = 1$ 。结果表明当前模型是稳定可靠的模型。OPLS-DA 的 S-plot 分析结果显示,越靠近右上角和左下角的代谢物表示其差异越显著(图 6),红色的点表明代谢物的  $VIP > 1$ ,绿色的点表示代谢物的  $VIP \leq 1$ 。

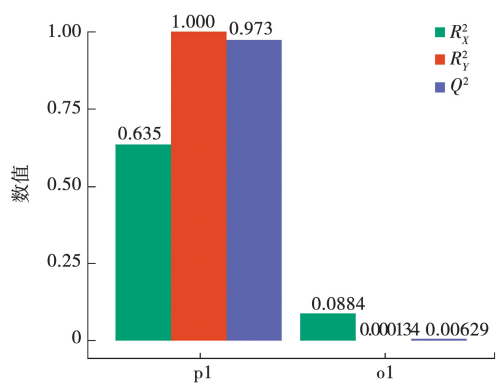


图 4 OPLS-DA 模型概要

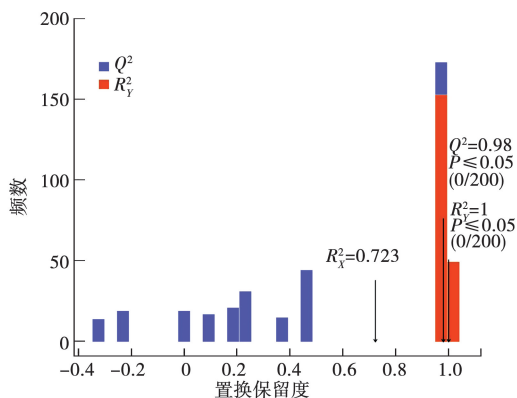


图 5 OPLS-DA 验证图

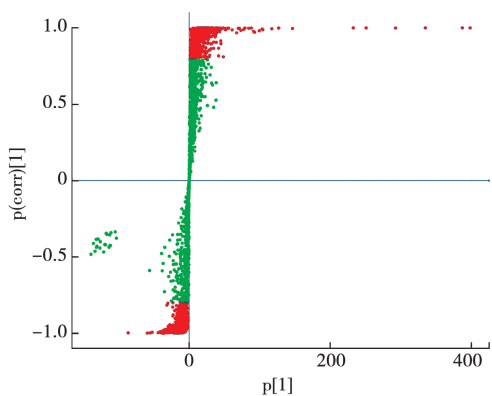


图 6 OPLS-DA S-plot

## 2.4 代谢物含量差异动态分布

为了更清楚地表达总体差异代谢物在番红花不同品种间的变化特征,本研究首先针对各比较组中代谢物进行差异倍数(Fold Change, FC)值进行计算。在此基础上,根据 FC 值从小到大的顺序对所有代谢物进行排列,绘制代谢物含量差异动态分布图。为进一步突出关键信息,对该分布图中 Iran 品种相比 China 品种上调和下调前的 10 个代谢物进行标注(图 7)。

## 2.5 差异代谢物筛选与分析

本研究基于 OPLS-DA 模型得到变量重要性投影(VIP),筛选出番红花不同品种间差异代谢物。同时结合单变量分析的 P-value/FDR(生物学重复 $\geq 2$ )或差异倍数(FC)值进一步筛选出差异代谢物。本研究差异代谢物筛选标准为选取  $VIP > 1$ ,  $FC \geq 2$  或  $FC \leq 0.5$  的代谢物。结果表明番红花不同品种差异显著代谢物数目 325 个, Iran 品种较 China 品种下调代谢物数目 244 个,上调代谢物数目 81 个。下调明显的化合物有酚酸类绿原酸(3-O-咖啡酰奎宁酸)、新绿原酸(5-O-咖啡酰奎宁酸)、隐绿原酸(4-O-咖啡酰奎宁酸)、黄酮类芹菜素-5-O-葡萄糖苷、芹菜素-7-O-(6''-对香豆酰)葡萄糖苷和萜类藏红花素 4。芳烃类苯乙烯、核苷酸及其衍生物尿苷二磷酸乙酰葡萄糖胺、萜类  $\alpha$ -马橄榄烯、黄酮类 4'-羟基-5,7-二甲氧基黄酮等表现上调趋势。

## 2.6 差异代谢物 KEGG 功能注释与分类

代谢物在生物体内相互作用,形成不同的通路。利用 KEGG 数据库对代谢物进行注释,形成含有差异代谢物的代谢通路<sup>[18]</sup>。腺苷对心血管系统和肌体的许多其他系统及组织均有生理作用。Adenosine(腺苷)是用于合成三磷酸腺苷(ATP)、Adenine(腺嘌呤)、Inosine(肌苷)的重要上游物质,转化合成的 Hypoxanthine(次黄嘌呤)可以降低体内脂肪, Xanthine(黄嘌呤)可作为中枢神经激活剂。

统计筛选出的差异显著的代谢物在 KEGG 数据库中的注释情况(表 1)。总代谢物中被 KEGG 注释到的代谢物共计 489 个,被 KEGG 注释到的差异显著代谢物共计 79 个。

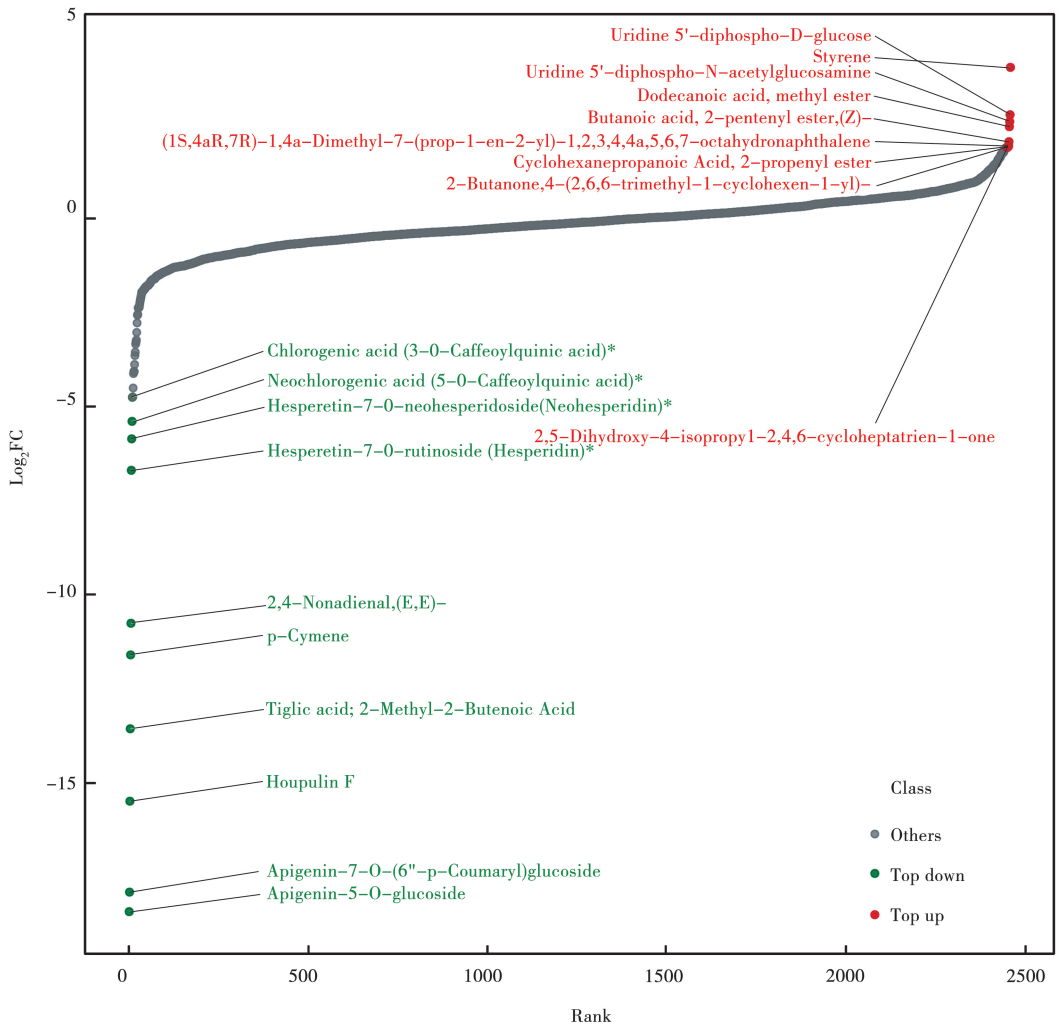


图7 代谢物含量差异动态分布

表1 KEGG 通路注释差异代谢物统计

KEGG 通路	ko 号	差异代谢物/个	代谢物/个	总差异代谢物/个	总代谢物/个
嘌呤代谢(Purine metabolism)	ko00230	13	25	79	489
咖啡碱代谢(Caffeine metabolism)	ko00232	3	5	79	489
代谢通路(Metabolic pathways)	ko01100	61	351	79	489
次生代谢物生物合成(Biosynthesis of secondary metabolites)	ko01110	28	191	79	489
核苷酸代谢(Nucleotide metabolism)	ko01232	17	29	79	489
ABC 运转蛋白(ABC transporters)	ko02010	7	46	79	489
辅因子生物合成(Biosynthesis of cofactors)	ko01240	13	61	79	489
玉米素生物合成(Zeatin biosynthesis)	ko00908	7	10	79	489
氧化磷酸化(Oxidative phosphorylation)	ko00190	2	6	79	489
光合作用(Photosynthesis)	ko00195	2	3	79	489
色氨酸代谢(Tryptophan metabolism)	ko00380	2	11	79	489
泛酸盐和辅酶 A 生物合成(Pantothenate and CoA biosynthesis)	ko00770	2	11	79	489
糖酵解/糖合成(Glycolysis / Gluconeogenesis)	ko00010	2	7	79	489
柠檬酸循环(TCA cycle)	ko00020	1	9	79	489
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解(Valine, leucine and isoleucine degradation)	ko00280	1	8	79	489
丙酸代谢(Propanoate metabolism)	ko00640	1	5	79	489

表 1 (续)

KEGG 通路	ko 号	差异代谢物/个	代谢物/个	总差异代谢物/个	总代谢物/个
氨基酸生物合成(Biosynthesis of amino acids)	ko01230	4	47	79	489
核苷酸糖生物合成(Biosynthesis of nucleotide sugars)	ko01250	4	15	79	489
类黄酮生物合成(Flavonoid biosynthesis)	ko00941	7	25	79	489
嘧啶代谢(Pyrimidine metabolism)	ko00240	9	20	79	489

对差异显著代谢物 KEGG 的注释结果按照 KEGG 中通路类型进行分类,分类图如图 8 所示。代谢途径下的差异代谢物 61 个,占被注释上的差异代谢物总数的比例为 77.22%。次生

代谢物的生物合成代谢通路下的差异代谢物 28 个,占 35.44%。柠檬酸循环、脂肪酸代谢、谷胱甘肽代谢等通路差异代谢物较少,占 1.27%。

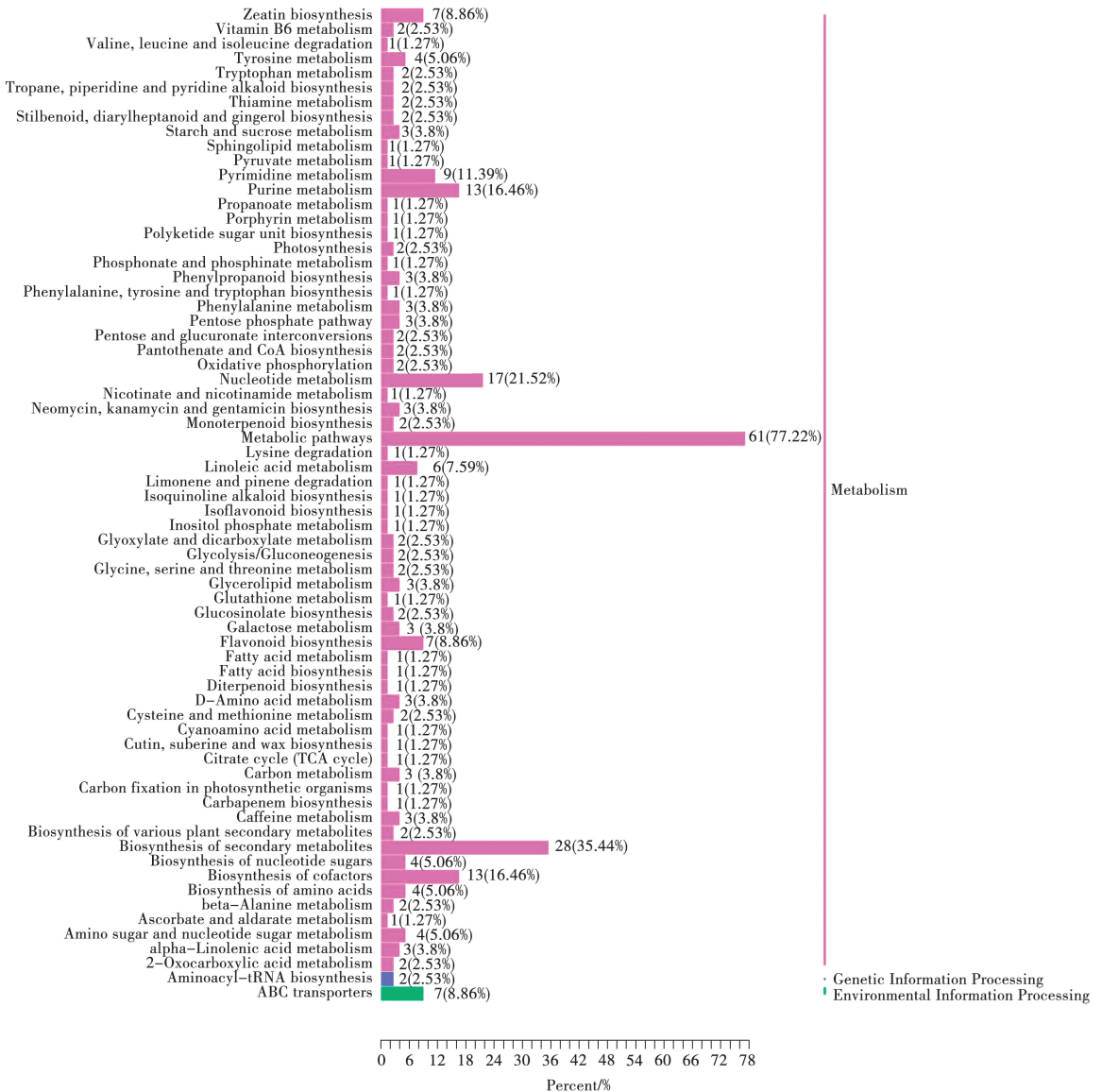


图 8 差异代谢物 KEGG 分类

### 3 讨论

代谢组学可以用于代谢途径或代谢网络的解析,不同生物个体的宏观表型现象的代谢基础研究,不同疾病、药物等物理、化学或病原生物刺激后代谢产物的应答机制,以及食品、药物等安全评价<sup>[19-20]</sup>。番红花生理代谢活性物质较多,前期研究约 50 种物质得到注释<sup>[21]</sup>,基于本研究对番红花不同品种代谢物的定性定量分析,总代谢物中被 KEGG 注释到的代谢物 489 个,被 KEGG 注释到的差异显著代谢物 79 个。番红花不同品种代谢物差异变化可能和原产地环境、品种特性及种植方式有关。也有研究发现,某类特定代谢物可能品种质量差异较大,代谢物在体内积累和相互转化是造成差异代谢物上调和下调的内在因素<sup>[22]</sup>。通过相关文献发现筛选出的差异代谢物与其药理作用密切相关<sup>[23]</sup>。本研究中酚酸类具有较广泛的抗菌和抗氧化作用,绿原酸(3-O-咖啡酰奎宁酸)、新绿原酸(5-O-咖啡酰奎宁酸)、隐绿原酸(4-O-咖啡酰奎宁酸)表现下调。

伊朗番红花品种原产地种植区平均海拔 >2 000 m,气候冷凉湿润,生产环境的变化会引起番红花生理生化活性物质的变化<sup>[24]</sup>。国产番红花生长发育适应性强,与伊朗品种比较总体代谢物有上调趋势,如黄酮类芹菜素-5-O-葡萄糖苷、芹菜素-7-O-(6"-对香豆酰)葡萄糖苷和萜类藏红花素 4。其中黄酮类化合物大部分为色原酮的衍生物,本研究中黄酮类化合物类型主要有黄酮、二氢黄酮。藏红花素是番红花主要的药理活性成分,由西红花酸和龙胆二糖或葡萄糖形成的一系列酯类化合物,国产藏红花素含量高于伊朗品种。

代谢通路途径下的差异代谢物 61 个,占被注释上的差异代谢物总数的比例为 77.22%。次生代谢物生物合成代谢通路下的差异代谢物 28 个,占 35.44%。KEGG 富集分析结果可为植物生理代谢的复杂变化活动研究提供基础信息依据<sup>[25]</sup>。代谢通路下差异代谢物数量可能是代谢物在不同代谢过程中消耗或累积的物质发生反应转变成其他物质,不同的代谢物发挥不同的功能,说明植物的初生代谢和次生代谢网络较为复杂,生命活动中产生的代谢物相互联系且存在差异<sup>[26]</sup>。

### 4 结论

本研究结果表明,在无土栽培干旱胁迫下,我国番红花品种花丝代谢物有效成分高于伊朗品种,生物合成的上游和中间物质含量较高,能为物

质转化和能量累积提供基础物质。为今后高效利用番红花品种和优化生产方式提供相关依据,同时为差异代谢物代谢途径、新物质合成等提供基础参考。此外,在不同的处理或生物过程中,番红花代谢物组成会发生改变,也会引起番红花表型的变化。关于番红花每个代谢通路的调控基因功能表达、蛋白质代谢及代谢产物利用可结合基因组、转录组等进一步研究分析。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部:2020 年版[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:252.
- [2] 宋芸,乔永刚,牛颜冰,等. 番红花染色体核型分析[J]. 草原与草坪,2011,31(3):32-34.
- [3] FERNANDEZ J A, Pandalai S G. Biology, biotechnology and biomedicine of saffron[J]. Recent Research Developments in Plant Science, 2004, 2: 127-159.
- [4] 徐象华,施林妹,朱波,等. 不同产地西红花开花与有效成分含量研究[J]. 浙江农业科学,2012,53(12):1639-1641.
- [5] HOSHYAR R, SEBZARI A, BALFOROUGH M, et al. The impact of *Crocus sativus* stigma against methotrexate-induced liver toxicity in rats[J]. Journal of Complementary and Integrative Medicine, 2020, 17(2): 20190201.
- [6] TAVAKKOL-AFSHARI J, BROOK A, MOUSAVI S H. Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(11): 3443-3447.
- [7] 滕一涤,周琳,杨柳燕,等. 西红花功能性成分分析、提取及产品开发研究进展[J]. 应用技术学报,2023,23(4):396-402.
- [8] 姚冲,刘兵兵,周桂芬,等. 影响西红花产量和品质的诸因素研究进展[J]. 中药材,2017,40(3):738-743.
- [9] 李东林,尚严严,左文会,等. 种植模式对番红花生长发育及品质的影响[J]. 绥化学院学报,2023,43(6):153-157.
- [10] 李东林,龚雪梅,任晓璐,等. 番红花室内外栽培环境调控技术研究[J]. 农村经济与科技,2022,33(21):58-60.
- [11] PARIZAD S, DIZADJI A, HABIBI M K, et al. The effects of geographical origin and virus infection on the saffron (*Crocus sativus* L.) quality[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 387-394.
- [12] 刘贤青,罗杰. 植物代谢组学技术研究进展[J]. 科技导报, 2015,33(16):33-38.
- [13] MAEDA H A, FERNIE A R. Evolutionary history of plant metabolism[J]. Annual Review of Plant Biology, 2021, 72: 185-216.
- [14] LI D L, ZUO W H, MA S, et al. Metabolomics characterization of two saffron from Iran and China using GC-MS and LC-MS methods[J]. Journal of Analytical Science and Technology, 2024, 15(1): 7.
- [15] FRAGA C G, CLOWERS B H, MOORE R J, et al. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics[J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(10): 4165-4173.

- [16] CHEN Y H, ZHANG R P, SONG Y M, et al. RRLC-MS/MS-based metabolomics combined with in-depth analysis of metabolic correlation network: finding potential biomarkers for breast cancer[J]. *The Analyst*, 2009, 134(10): 2003-2011.
- [17] THÉVENOT E A, ROUX A, XU Y, et al. Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS statistical analyses[J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, 14(8): 3322-3335.
- [18] KANEHISA M, GOTO S. KEGG Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30.
- [19] 阿基业,何骏,孙润彬.代谢组学数据处理:主成分分析十个要点问题[J].*药学报*,2018,53(6):929-937.
- [20] GHATAK A, CHATURVEDI P, WECKWERTH W. Metabolomics in plant stress physiology[J]. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 2018, 164: 187-236.
- [21] 楚溪,刘涛,韩雪,等.西红花的化学成分和心血管药理作用的研究概况[J].*广州化工*,2016,44(18):30-32.
- [22] 周德来,王苗,冯金梁,等.基于广泛靶向代谢组学研究甘草不同年限差异代谢物[J].*药物分析杂志*,2024,44(1): 144-157.
- [23] 李泽宇,郝二伟,李卉,等.甘草配伍应用的药理作用及机制分析[J].*中国实验方剂学杂志*,2022,28(14):270-282.
- [24] CARDONE L, CASTRONUOVO D, PERNIOLA M, et al. Evaluation of corm origin and climatic conditions on saffron (*Crocus sativus* L.) yield and quality[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(13): 5858-5869.
- [25] LI X R, PEI G S, LIU L S, et al. Metabolomic analysis and lipid accumulation in a glucose tolerant *Cryptocodinium cohnii* strain obtained by adaptive laboratory evolution[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 235: 87-95.
- [26] TANAKA Y, BRUGLIERA F, KALC G, et al. Flower color modification by engineering of the flavonoid biosynthetic pathway: practical perspectives [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2010, 74(9): 1760-1769.

## KEGG Enrichment Analysis of Differential Metabolites in Different Varieties of Saffron (*Crocus sativus* L.) Under Drought Stress in Soilless Culture

LI Donglin<sup>1</sup>, WANG Wenli<sup>1</sup>, DENG Lailong<sup>1</sup>, LI Renjie<sup>2</sup>

(1. School of Urban and Rural Construction, Fuyang Vocational and Technical College, Fuyang 236031, China; 2. Horticultural College, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**Abstract:** In order to promote the improvement of saffron varieties and optimize the utilization of resources, the differences and variation patterns of metabolites among different varieties of saffron were explored by experimental analysis of metabolites of different varieties of saffron under water deficit environment and Screening for differential metabolism. Different varieties of saffron were cultivated indoors without soil or water deficit, metabolites in saffron samples were detected using UPLC-MS/MS and GC-MS dual detection platforms and self built databases, differential grouped samples were compared with Principal Component Analysis (PCA) and Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis (OPLS-DA). Differential metabolites were screened on the base of variable importance projection (VIP>1) and difference fold change values (FC≥2 or FC≤0.5), and functional annotation and enrichment analysis of differential metabolites were studied using Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) database. A total of 2 458 metabolites were detected in the experimental platform, phenolic acids account for the highest proportion of all metabolites, reached 13.22%, followed by flavonoids, terpenoids, and lipids. The 325 significantly different metabolites were screened in different varieties of saffron, including 244 down-regulated metabolites and 81 up-regulated metabolites. The contribution rate of the first principal component (PC1) of PCA reached 63.49%. The 489 metabolites and 79 significantly different metabolites were annotated by KEGG among the total metabolites. There were 61 differentially metabolites in the metabolic pathways, accounting for 77.22% of the total annotated differentially metabolites. Further KEGG analysis of differential metabolites revealed that the overall metabolite content of domestically produced saffron was higher than that of the native variety.

**Keywords:** soilless culture; drought stress; saffron (*Crocus sativus* L.); different varieties; metabolites; KEGG analysis