

研究报告

基于代谢组揭示蒴腐病对芝麻蒴果成分的影响

安启源, 程洪森, 孙会杰, 那艳斌, 高德学*

辽宁省经济作物研究所, 辽宁 辽阳 111000

安启源, 程洪森, 孙会杰, 那艳斌, 高德学. 基于代谢组揭示蒴腐病对芝麻蒴果成分的影响[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1206-1218.

AN Qiyuan, CHENG Hongsen, SUN Huijie, NA Yanbin, GAO Dexue. Metabolomics reveals the effects of capsule rot on the metabolites of sesame capsules[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1206-1218.

摘要:【背景】作为一种重要的油料作物, 芝麻(*Sesamum indicum* L.)受到链格孢菌(*Alternaria alternata*)的侵染后会导致其产量降低, 进而影响粮食安全和质量。【目的】研究链格孢菌侵染芝麻蒴果后的差异代谢物及通路, 以期了解该病害对芝麻蒴果的影响。【方法】基于非靶向代谢组学技术, 结合多元统计分析方法, 分析链格孢菌侵染芝麻蒴果后的代谢物差异及代谢途径变化。【结果】代谢组结果显示, 在果皮和籽粒中一共注释到 247 种代谢物, 分为 11 类。相较于对照组, 链格孢菌侵染导致果皮和籽粒中的代谢物分别有 126 和 231 个上调, 27 和 118 个下调。差异代谢物的 KEGG 富集分析表明链格孢菌侵染影响到芝麻果皮和籽粒的氨基酸代谢、糖代谢、核苷酸代谢, 从而影响到芝麻的食品质量。【结论】链格孢菌侵染芝麻蒴果后, 主要通过影响芝麻蒴果的果皮和籽粒的氨基酸代谢和糖代谢来影响芝麻的品质, 为病害的发生提供了思路。

关键词: 芝麻; 链格孢菌; 气相色谱法-质谱法联用

Metabolomics reveals the effects of capsule rot on the metabolites of sesame capsules

AN Qiyuan, CHENG Hongsen, SUN Huijie, NA Yanbin, GAO Dexue*

Liaoning Research Institute of Cash Crops, Liaoyang 111000, Liaoning, China

Abstract: [Background] Sesame (*Sesamum indicum* L.) is an important oilseed crop susceptible to the infection by *Alternaria alternata*, which reduces the yield and subsequently impacts the security and quality of sesame. [Objective] This study investigated the differential metabolites and pathways in the sesame capsules infected by *A. alternata*, aiming to unveil the

资助项目: 辽宁省农业科学院院长基金(2023QN2409)

This work was supported by the President's Fund of Liaoning Academy of Agricultural Sciences (2023QN2409).

*Corresponding author. E-mail: gaodexue2005@163.com

Received: 2024-06-07; Accepted: 2024-06-25; Published online: 2024-07-19

effects of this disease on sesame capsules. **[Methods]** Non-targeted metabolomics and multivariate statistical analysis were employed to analyze the metabolite differences and metabolic pathway changes in sesame capsules after infection by *A. alternata*. **[Results]** The metabolomic analysis revealed a total of 247 differential metabolites categorized into 11 classes in the capsule peel and seeds. Compared with the control group, *A. alternata* infection led to the up-regulation of 126 and 231 metabolites and down-regulation of 27 and 118 metabolites in the peel and seeds, respectively. The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis of the differential metabolites indicated that *A. alternata* infection significantly affected the amino acid, carbohydrate, and nucleotide metabolism in the peel and seeds, thereby impacting sesame quality. **[Conclusion]** *A. alternata* infection affects the quality of sesame by influencing amino acid and carbohydrate metabolism in the capsule peel and seeds. This study provides clues for revealing the disease mechanism and managing this pathogen, thereby contributing to agricultural sustainability.

Keywords: *Sesamum indicum* L.; *Alternaria alternata*; gas chromatography-mass spectrometry

芝麻(*Sesamum indicum* L.)属于胡麻科植物,是世界上最古老的油料作物之一。芝麻的种子中含油量超过 50%,蛋白质的含量在 20%–30%,并且在芝麻中也富含多种天然抗氧化物质,所以芝麻在食品、饮料、医药行业有广泛的应用前景^[1-3]。而真菌性病害作为芝麻病害的重要来源,严重影响芝麻的产量和品质。其中芝麻蒴腐病作为由链格孢菌(*Alternaria alternata*)侵染导致的芝麻蒴果病害,发病初期会在蒴果表面形成褐色或者深褐色斑点,病斑逐渐扩散到整个蒴果,最终导致蒴果开裂,种子变黑,产量损失严重^[4-5]。

链格孢属(*Alternaria*)是全球分布最广,危害最大的真菌(半知菌类)之一。链格孢属真菌可以侵染多种作物,包括谷类作物(小麦、水稻和高粱等),油料作物(油菜、大豆、向日葵等),蔬菜瓜果(番茄、马铃薯、茄子、辣椒、苹果、梨等),观赏花卉(芦荟、菊花等)和中药材(人参、田七等),以及包括棉花、烟草在内的多种经济作物^[6]。链格孢菌可以造成叶片卷缩干枯脱落^[7],果实和枝条产生大量黑斑^[8],还可以造成贮藏期的腐烂^[9]。链格孢菌产生的链格孢毒素除

了影响植物的生产之外,人或动物一旦摄入会致癌、致畸^[6]。因此,预防链格孢菌病害的发生并预防其产生的食品安全问题成为重要的研究方向。

随着测序技术的发展,多组学在植物生长发育、胁迫响应、代谢合成的动态解析为我们提供了重要的参考价值。代谢组作为反映生物在不同状态下代谢物成分变化情况的组学,在研究病原菌侵染及植物抗病机制等方面具有积极作用,也为病害研究提供了新思路^[10]。本研究采用前期分离到的链格孢菌^[4]侵染芝麻的果实并进行代谢组测序,研究链格孢菌侵染对芝麻蒴果的危害,以期为后续病害造成的危害及其他组学的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品

以‘辽芝 8 号’为试验品种,在辽宁省经济作物研究所的阳光温室大棚里进行芝麻盆栽种植。链格孢菌(*Alternaria alternata*) ZMHG12 的 NCBI 登录号为 MW418181 (ITS)和 MW700316 (ERF- α)^[4]。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基, 青岛海博生物技术有限公司。

甲醇、三氟乙酰胺、三甲基氯硅烷, 上海安谱实验科技股份有限公司; 氯仿和吡啶, 上海阿达玛斯试剂有限公司; 甲氧胺盐, 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司; L-2-氯苯氨基酸, 上海恒柏生物科技有限公司; 饱和脂肪酸甲酯, 上海泰坦科技股份有限公司。

气相色谱仪和色谱柱, 安捷伦科技有限公司; 飞行时间质谱仪, 力可仪器(上海)有限公司; 离心机和超低温冰箱, 赛默飞世尔科技有限公司; 分析天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; 研磨仪, 上海净信科技有限公司; 超声仪, 深圳市方奥微电子有限公司; 烘箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 真空干燥仪, 太仓华大实验仪器科技有限公司。

1.3 病原菌孢子悬浮液的制备及芝麻的接种试验

将菌株 ZMHG12 接种至 PDA 培养基, 28 °C 培养 7 d, 直至菌落长满整个平板后用葡萄糖溶液进行洗刷, 经医用脱脂纱布过滤得到链格孢菌的孢子悬浮液, 调整其浓度为 5×10^6 CFU/mL^[4]。对种植在阳光温室大棚里开花期的芝麻进行菌液的喷施, 对喷施后 50 d 的蒴果进行采样, 以健康植株的果皮(CKP)和籽粒(CKS)为对照组, 以感染病原菌的果皮(TP)和籽粒(TS)为处理组, 每组 3 个重复。采样后迅速置于液氮中冷冻, 并在 -80 °C 进行保存, 以备后续进行代谢组测序。

1.4 代谢物提取液的制备和样品的质控

将样本真空冷冻干燥后用研磨仪研磨至粉末状。用预冷提取液(甲醇:水体积比为 3:1, 含 L-2 氯苯丙氨酸)溶解粉末, 旋涡 30 s, 研磨 4 min, 冰水浴超声(40 Hz, 重复 3 次) 5 min, 4 °C、13 800×g 离心 15 min 后吸取上清液, 混

合得到质控的样本。真空干燥上清液, 得到提取物后加入 40 μL 甲氧胺试剂(甲氧胺盐酸盐溶于吡啶 20 mg/mL)混匀, 在 80 °C 孵育 30 min。然后在样品中加入 60 μL 三氟乙酰胺(含有 1% 三甲基氯硅烷)于 70 °C 孵育 1.5 h, 冷却至室温后加入 5 μL 饱和脂肪酸甲酯, 用于后续超高效液相色谱和串联质谱对样品进行物质鉴定。

1.5 高效液相色谱数据采集条件

使用气相色谱仪与飞行时间质谱仪, 用 DB-5MS 毛细管柱(30 m×250 μm×0.25 μm)对采集的芝麻蒴果样品进行气相色谱-四级杆-飞行时间质谱分析(gas chromatography-time of flight-mass spectrometry, GC-TOF-MS)。按照上海百趣生物医学科技有限公司设定的参数操作。

1.6 样本质控

依据 Kind 等^[11]方法, 采用软件 ChromaTOF v4.3x 对质谱数据进行分析。采用 LECO-Fiehn Rtx5 数据库对物质进行定性(质谱匹配及保留时间指数匹配)。最后对标准品(quality control)的物质进行质检, 即将检出率 50%以下或峰面积的相对标准偏差>30%的峰去除^[12]。

1.7 数据预处理与数据分析

通过对原始数据进行整理(整理方法: 偏离值过滤、缺失值过滤、缺失值填补和标准化处理), 降低系统误差的影响, 突显生物学意义^[12]。使用软件 SIMCA v16.0.2 对数据进行对数转换及中心化格式化处理, 并进行主成分分析(principal component analysis, PCA)^[13-14]。以 *t* 检验的 $P < 0.05$ 为标准, 筛选差异代谢物, 以韦恩图展示组间差异代谢物的数量关系, 并以火山图的形式对差异代谢物的整体分布情况进行可视化^[15]。对每组的差异代谢物进行比对, 将得到的差异代谢物进行 z-score 标准化并进行 K 均值(K-means)聚类分析, 通过差异代谢物的定量值对差异代谢物进行聚类分析, 以热图的方式进行

可视化展示^[16],可以清晰地展示差异代谢物的积累情况。通过在KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)网站对差异代谢物进行通路的注释,得到差异代谢物的代谢通路富集图^[17-18]。

2 结果与分析

2.1 链格孢菌对芝麻蒴果的危害情况

对开花期的芝麻蒴果进行病原菌的喷施,分析对芝麻蒴果的危害情况。结果发现,喷施病原菌后造成芝麻蒴果表面积累病斑,颜色由青绿色变成深褐色,同时造成果皮的干枯;同时造成芝麻籽粒由白色变为深褐色(图 1A)。同时对果皮和籽粒的重量进行测定,发现感染病原菌后果皮的重量由 3.39 g 下降到 2.81 g (图 1B);而籽粒的千粒重由 2.83 g 下降到 2.33 g

(图 1C)。

2.2 病原菌侵染对芝麻蒴果代谢物成分的影响

利用代谢组分析病原菌感染对芝麻蒴果(果皮和籽粒)代谢成分的影响,可以发现一共可以注释到的代谢物有 247 种,其中包括有机酸及其衍生物(65 种, 26.32%)、有机氧化合物(49 种, 19.84%)、脂质及类脂分子(38 种, 15.38%)、有机杂环化合物(20 种, 8.10%)、苯环类化合物(10 种, 4.05%)、苯丙烷类和聚酮类化合物(6 种, 2.43%)、核苷类、核苷酸类和类似物(6 种, 2.43%)、有机氮化合物(6 种, 2.43%)、均相非金属化合物(2 种, 0.81%)、木脂素、新木脂素及相关化合物(1 种, 0.40%)以及一些其他类化合物(44 种, 17.81%) (图 2)。

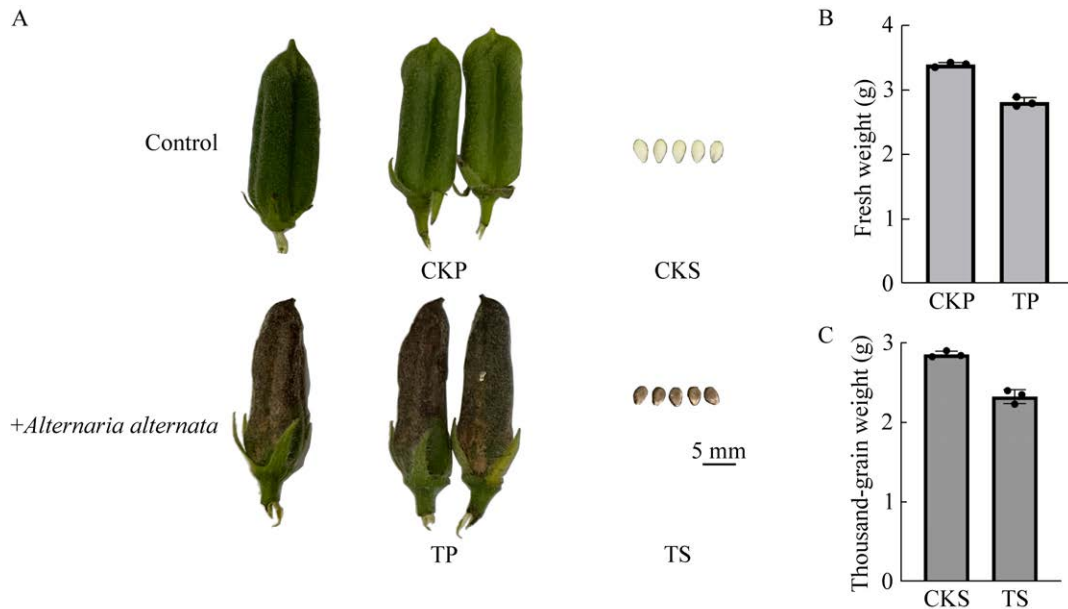


图 1 病原菌侵染后芝麻果皮和籽粒的表型 A: 对照组的果皮(CKP)与籽粒(CKS), 以及链格孢菌侵染后(+*Alternaria alternata*)的果皮(TP)和籽粒(TS)的表型图; B: 真菌侵染后芝麻果皮的鲜重的变化; C: 真菌侵染后芝麻籽粒千粒重的变化。

Figure 1 Phenotypes of sesame peel and seed after pathogen infection. A: The symptoms of sesame peel (CKP) and seed (CKS) in the control group, as well as peel (TP) and seed (TS) after pathogen infection (+*Alternaria alternata*); B: The changes of fresh weight of sesame pericarp after pathogen infection; C: The changes in 1 000-grain weight of sesame seed after pathogen infection.

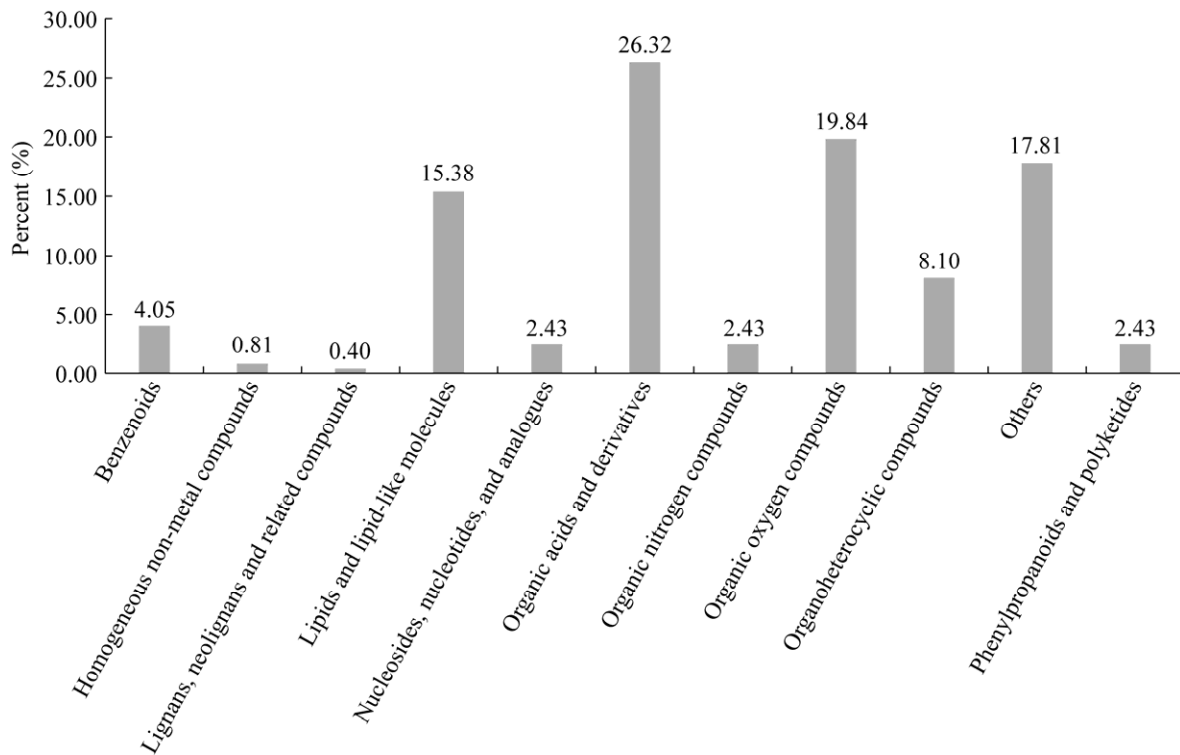


图 2 芝麻蒴果的果皮和籽粒所有代谢物分类及占比分析

Figure 2 Classification and proportion analysis of all metabolites in sesame peel and seed.

2.3 病原菌侵染后芝麻的果皮和籽粒的主成分分析

主成分分析的结果反映了代谢组数据总体的分布趋势和组间样本的差异程度。通过对感染病原菌的芝麻果皮和籽粒的代谢组数据进行主成分分析,发现所有样本都处于 95%置信区间内。每个散点代表一个样本,散点的颜色和形状表示不同的分组,而各组内样本间的聚合度高,组内重复性良好;组间样本的代谢物又呈现分离趋势,说明组间代谢物具有明显差异(图 3)。

2.4 病原菌侵染后芝麻的果皮和籽粒的差异代谢物分析

比对果皮和籽粒之间的差异代谢物,发现相较于对照组,感染病原菌后的果皮有 126 个代谢物含量显著上调,27 个显著下调(图 4A);在籽粒

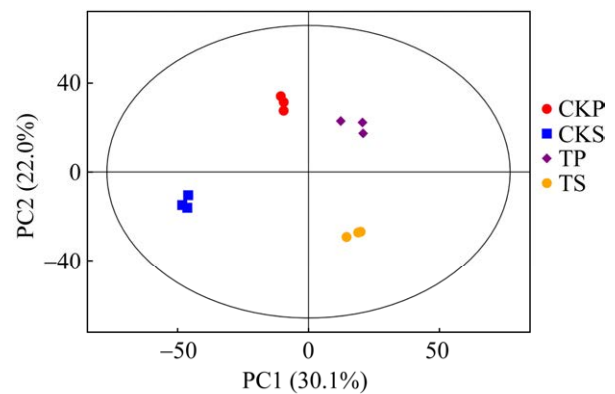


图 3 病原菌侵染后芝麻果皮和籽粒代谢物的主成分分析 CKP: 对照组的果皮; CKS: 对照组的籽粒; TP: 处理组的果皮; TS: 处理组的籽粒。

Figure 3 Principal component analysis of metabolites in sesame peel and seed after pathogen infection. CKP: The sesame peel in the control group; CKS: The sesame seed in the control group; TP: The sesame peel after pathogen infection; TS: The sesame seed after pathogen infection.

中则有 231 个代谢物含量显著上调, 118 个代谢物显著下调(图 4B)。在受到病原菌侵染后导致差异变化的代谢物中, 有 74 个代谢物是果皮与籽粒中含量都显著变化的, 而病原菌侵染后有 196 个代谢物仅在籽粒中显著变化, 49 个代谢物仅在果皮中显著变化(图 4C)。

2.5 病原菌侵染后芝麻果皮和籽粒的差异代谢物的 K 均值聚类

为了研究代谢物在不同分组中的相对含量变化趋势, 进行了组间差异代谢物的 K 均值(K-means)聚类分析和层次聚类分析。K-means 聚类分析将差异代谢物分为 9 簇, 其中 Cluster 1 有 47 种代谢物(在感染病原菌的籽粒中明显高

于其他 3 组), Cluster 2 和 Cluster 8 分别有 12 种和 19 种代谢物(在感染前后的籽粒中的含量要高于果皮中的含量), Cluster 4、Cluster 5 和 Cluster 6 (17、26 和 21 种)则呈现在病原菌侵染后的果皮中含量高的趋势, Cluster 3 (10 种)在未感染病原菌的果皮中含量较高, Cluster 7 含有 30 种代谢物在病原菌侵染后的果皮和籽粒中含量较高, 含有最少的 8 种代谢物的 Cluster 9 在正常的果皮中含量高于籽粒(图 5)。

2.6 病原菌侵染后芝麻果皮和籽粒中差异代谢物的 KEGG 富集分析

通过在 KEGG 数据库对差异代谢物进行代谢通路的富集分析, 结果显示, 相较于对照组,

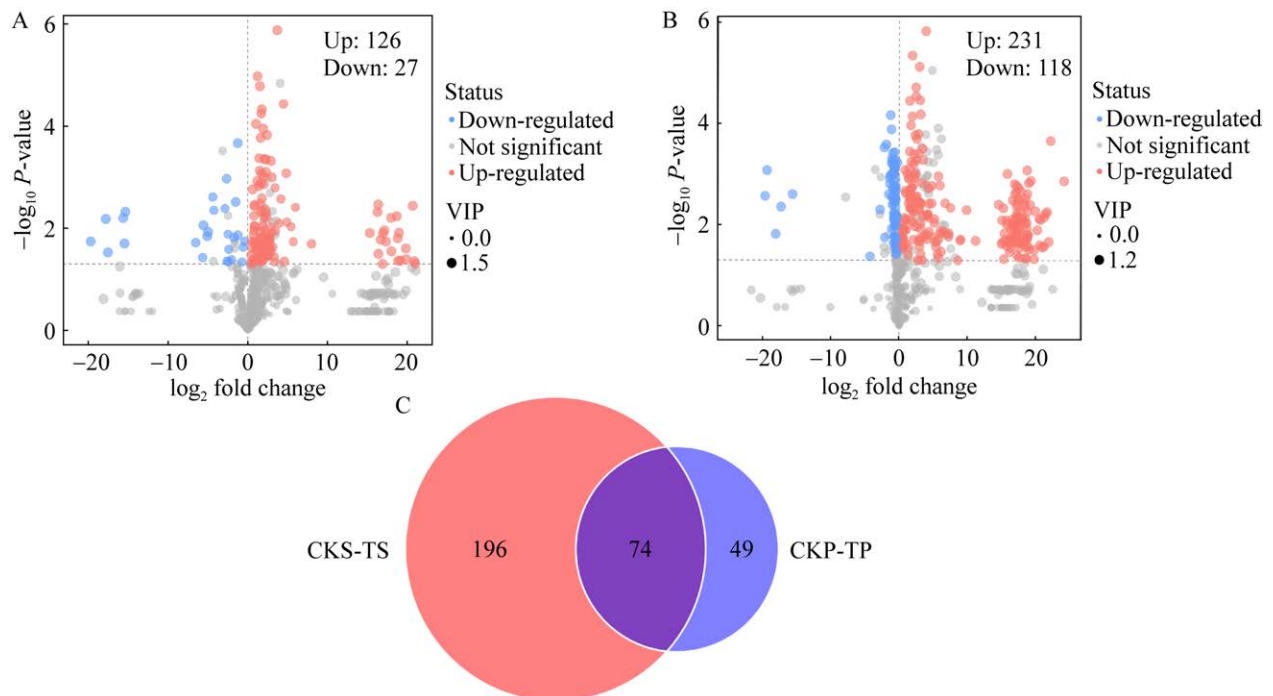


图 4 病原菌侵染后芝麻果皮和籽粒差异代谢物的分析 A: 病原菌侵染后果皮差异代谢物的火山图分析; B: 病原菌侵染后籽粒差异代谢物的火山图分析; C: 病原菌侵染后果皮与籽粒之间的差异代谢物的韦恩分析(CKP: 对照组的果皮; CKS: 对照组的籽粒; TP: 处理组的果皮; TS: 处理组的籽粒)。

Figure 4 Analysis of differential metabolites in sesame peel and seed after pathogen infection. A: Volcano plot analysis of differential metabolites in peel after infection; B: Volcano plot analysis of differential metabolites in seed after infection; C: Venn analysis of differential metabolites between peel and seed after pathogen infection (CKP: The sesame peel in the control group; CKS: The sesame seed in the control group; TP: The sesame peel after pathogen infection; TS: The sesame seed after pathogen infection).

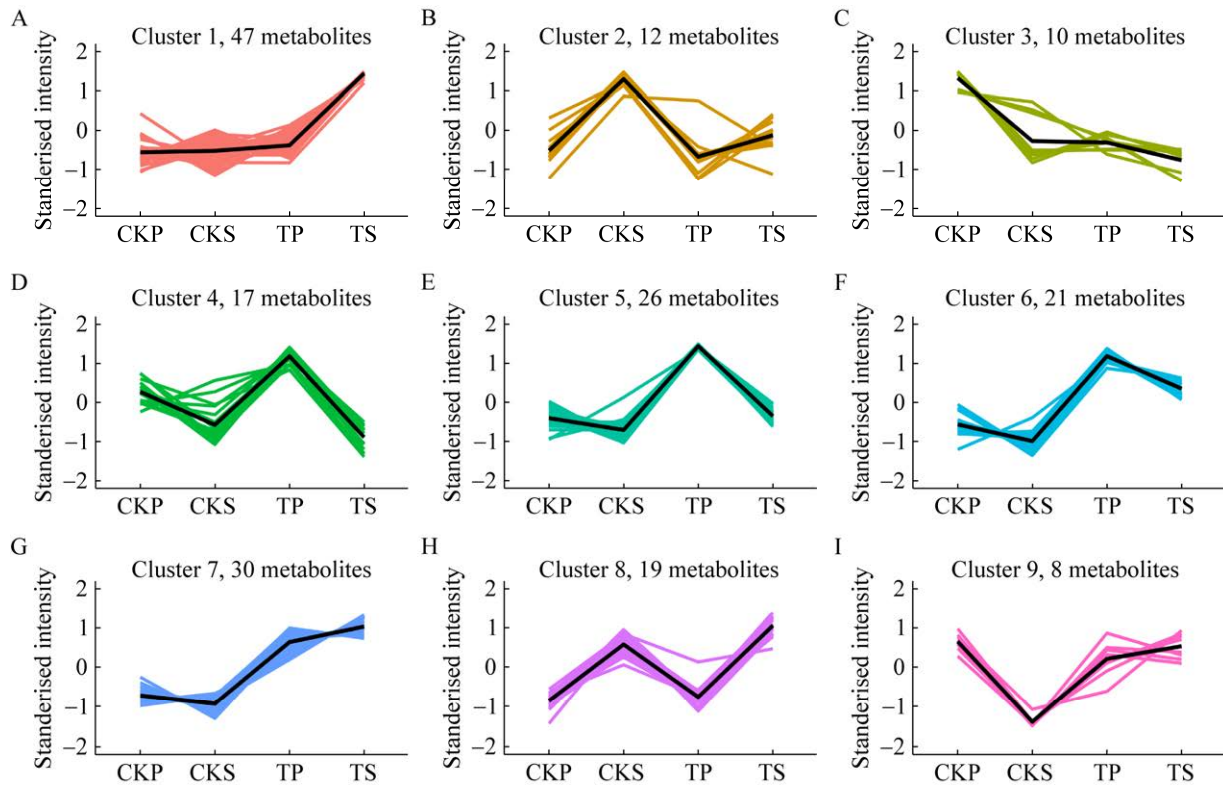


图 5 病原菌侵染后芝麻果皮和籽粒差异代谢物的 K 均值聚类分析 A-F: 差异代谢物的聚类分析形成的不同的簇。CKP: 对照组的果皮; CKS: 对照组的籽粒; TP: 处理组的果皮; TS: 处理组的籽粒。

Figure 5 K-means clustering analysis of differential metabolites in sesame peel and seed after pathogen infection. A-F: The cluster analysis of differential metabolites forming different clusters. CKP: The sesame peel in the control group; CKS: The sesame seed in the control group; TP: The sesame peel after pathogen infection; TS: The sesame seed after pathogen infection.

病原菌侵染的果皮的差异代谢物富集到缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成(valine, leucine and isoleucine biosynthesis)、戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway)、半乳糖代谢(galactose metabolism)、维生素 C 和花生四烯酸代谢(L-ascorbic acid and aldarate metabolism)、丙酸盐代谢(propanoate metabolism)、C5-支链二元酸代谢(C5-branched dibasic acid metabolism)、代谢途径(metabolic pathways)、核苷酸代谢(nucleotide metabolism)、脂肪酸生物合成(fatty acid biosynthesis)、ABC 转运体(ABC transporters)、泛酸盐与辅酶 A 生物合成(pantothenate and

CoA biosynthesis)、 β -丙氨酸代谢(beta-alanine metabolism)、氰氨基酸代谢(cyanoamino acid metabolism)、嘧啶代谢(pyrimidine metabolism)及氨酰 tRNA 生物合成(aminoacyl-tRNA biosynthesis)(图 6A)。而比对对照组与病原菌侵染后籽粒的代谢物富集通路,可以发现主要富集在精氨酸生物合成(arginine biosynthesis)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism)、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(glycine, serine and threonine metabolism)、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成(valine, leucine and isoleucine biosynthesis)、乙醛酸和二羧酸代谢

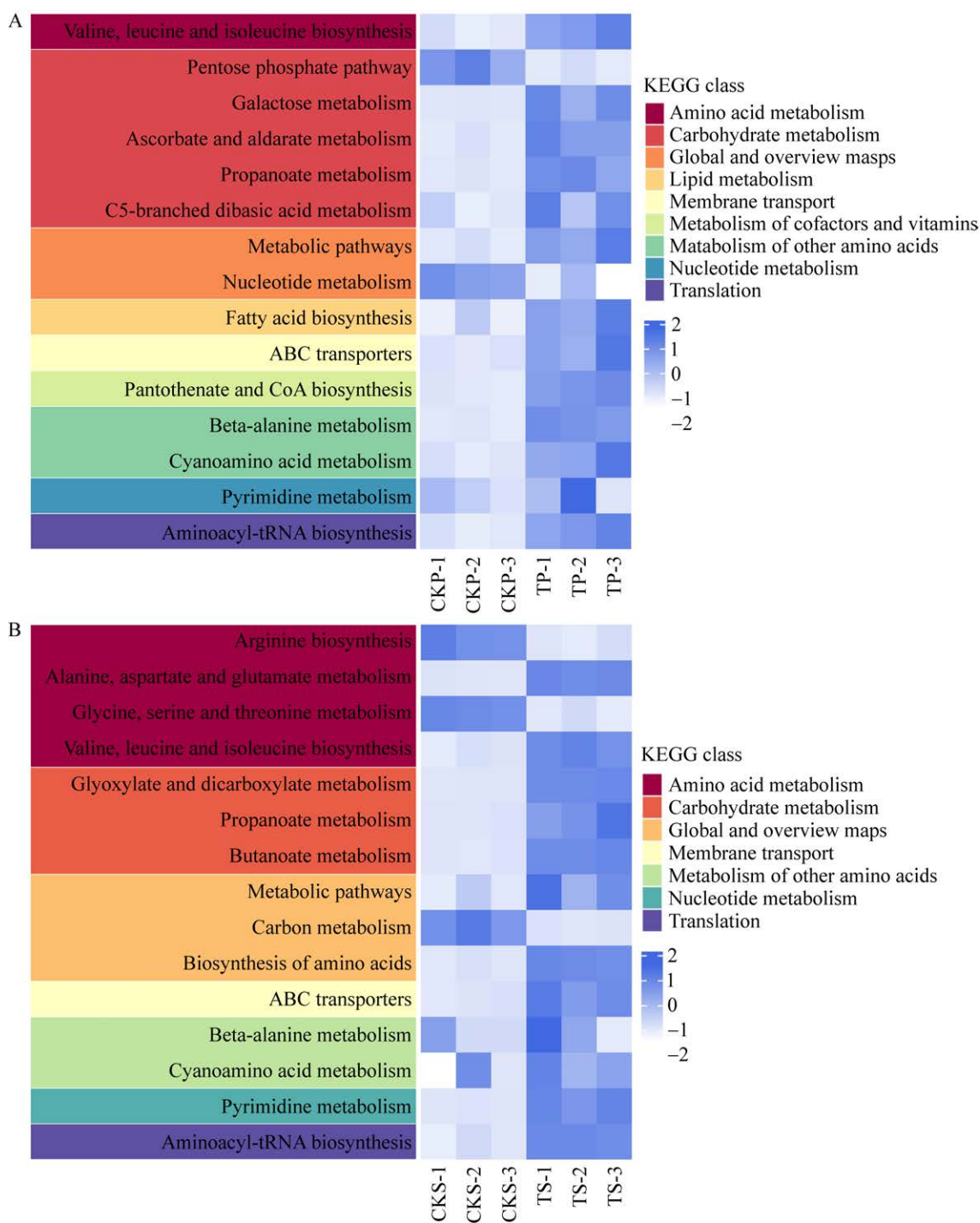


图6 病原菌侵染后芝麻果皮和籽粒的差异代谢物的KEGG富集分析 A:果皮中富集到的代谢途径; B:籽粒中富集到的代谢途径。CKP:对照组的果皮;CKS:对照组的籽粒;TP:处理组的果皮;TS:处理组的籽粒。

Figure 6 KEGG enrichment analysis of differential metabolites in sesame peel and seed after pathogen infection. A: Metabolic pathways enriched in the peel; B: Metabolic pathways enriched in the seed. CKP: The sesame peel in the control group; CKS: The sesame seed in the control group; TP: The sesame peel after pathogen infection; TS: The sesame seed after pathogen infection.

(glyoxylate and dicarboxylate metabolism)、丙酸盐代谢(propanoate metabolism)、丁酸甲酯代谢(methyl butyrate metabolism)、代谢途径(metabolic pathways)、碳代谢(carbon metabolism)、氨基酸的生物合成(biosynthesis of amino acids)、ABC转运体(ABC transporters)、 β -丙氨酸代谢(beta-alanine metabolism)、氰氨基酸代谢(cyanoamino acid metabolism)、嘧啶代谢(pyrimidine metabolism)及氨酰 tRNA 生物合成(aminoacyl-tRNA biosynthesis) (图 6B)。

在显著富集的代谢通路中, 我们着重关注氨基酸代谢和糖代谢, 其中链格孢菌侵染后的果皮中共有 3 条氨基酸相关的代谢通路和 5 条糖代谢相关的代谢通路被富集到, 而籽粒中有 6 条氨基酸相关的代谢通路和 3 条糖代谢相关的代谢通路被富集到。在果皮被富集到的 8 条代谢通路中, 一共有 19 个差异代谢物, 有 15 个代谢物上调, 4 个代谢物下调。在籽粒被富集到的 9 条代谢通路中, 一共富集到 30 个差异代谢物, 其中有 25 个代谢物上调, 5 个代谢物下调(表 1)。

3 讨论

作为世界最古老的油料作物中的一种, 芝麻(*Sesamum indicum* L.)因其含油量高、风味独特被誉为“油料皇后”。链格孢菌是导致芝麻蒴腐病的致病真菌, 在东北地区多发生于每年 8 月下旬至 9 月下旬的雨季。发病初期会造成芝麻蒴果表面出现圆形、椭圆形或者不规则的病斑, 颜色会变为褐色, 并导致果皮逐渐失绿, 最终扩展至整个蒴果。而在果实未完全开裂的情况下, 依然可以侵染籽粒, 导致籽粒由白色变为黄褐色, 最终变为黑色、干瘪, 从而导致芝麻大量减产^[4-5]。

真菌侵染植物果实后导致其腐烂变质, 消耗糖等营养物质, 影响果实的颜色和味道, 降低果实的质量, 产生的毒素也会带来食品安全的问题^[19-22]。链格孢属(*Alternaria*)是分布最广, 经济上危害最大的真菌之一, 可以造成番茄和马铃薯的早疫病、瓜类作物的黑斑病、烟草的赤星病、小麦的黑胚病和叶斑病、人参属植物

表 1 链格孢菌侵染后芝麻蒴果中显著富集的代谢通路中的差异代谢物

Table 1 Differentially metabolites in significantly enriched metabolic pathways of the capsules of sesame after infection by *Alternaria alternata*

分组 Group	代谢通路分类 Classification of metabolic pathway	代谢通路 Metabolic pathway	代谢物 Metabolite	对照组的平均值 Mean of the control group	处理组的平均值 Mean for treatment group	P 值 P value
CKP vs. TP	氨基酸代谢 Amino acid metabolism	缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成 Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	L-缬氨酸 L-valine 柠康酸 Citraconic acid L-苏氨酸 L-threonine	0.099 286 694 0.029 440 274 0.035 959 411	0.228 106 917 0.019 877 071 0.063 599 729	0.001 195 0.023 226 0.008 980
	糖代谢 Carbohydrate metabolism	戊糖磷酸途径 Pentose phosphate pathway	肌醇半乳糖苷二水合物 Galactinol	4.460 051 180	0.132 889 772	0.014 302
		半乳糖代谢 Galactose metabolism	D-核糖 D-ribose D-半乳糖酸 D-galactonic acid D-塔格糖 D-tagatose 乳糖 Lactose	0.473 913 783 0.087 243 651 0.151 870 087 0.027 694 170	1.338 561 518 0.205 800 643 1.503 012 268 0.127 933 158	0.015 776 0.041 350 0.036 309 0.005 266

(待续)

(续表 1)

分组 Group	代谢通路分类 Classification of metabolic pathway	代谢通路 Metabolic pathway	代谢物 Metabolite	对照组的平均值 Mean of the control group	处理组的平均值 Mean for treatment group	P 值 P value
		维生素 C 和花生四烯酸代谢 L-ascorbic acid and aldarate metabolism	维生素 C L-ascorbic acid	0.036 104 521	0.146 327 999	0.001 367
		丙酸盐代谢 Propanoate metabolism	黏酸 Mucic acid β -丙氨酸 Beta-alanine 丙酮醇 Acetol	0.002 531 148 0.006 226 167 0.005 081 508	0.016 469 412 0.033 370 519 0.015 303 061	0.016 037 0.000 150 0.011 651
		C5-支链二元酸代谢 C5-branched dibasic acid metabolism	柠康酸 Citraconic acid 反式-乌头酸 (E)-aconitic acid	0.029 440 274 0.000 000 150	0.019 877 071 0.025 150 01	0.023 226 0.018 234
	其他氨基酸代谢 Metabolism of other amino acids	β -丙氨酸代谢 Beta-alanine metabolism	3-酰脲丙酸 3-ureidopropionate N-乙酰- β -丙氨酸 N-acetyl-beta-alanine	0.022 997 072 0.000 928 716	0.066 301 375 0.026 489 787	0.000 017 0.000 839
		氰氨基酸代谢 Cyanoamino acid metabolism	L-丙氨酸 L-alanine L-缬氨酸 L-valine β -氰基-L-丙氨酸 3-cyano-L-alanine	0.349 360 296 0.099 286 694 0.047 719 485	1.036 952 602 0.228 106 917 0.340 051 419	0.020 022 0.001 195 0.029 918
CKS vs. TS	氨基酸代谢 Amino acid metabolism	精氨酸生物合成 Arginine biosynthesis	天冬氨酸 Aspartic acid 富马酸 Fumaric acid 尿素 Urea L-瓜氨酸 L-citrulline	3.614 226 398 0.315 877 993 0.053 961 423 0.048 107 362	1.512 286 699 0.829 439 196 0.174 452 518 0.359 845 131	0.000 068 0.001 217 0.003 385 0.000 383
		丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	天冬氨酸 Aspartic acid 天冬酰胺 Asparagine 富马酸 Fumaric acid 柠檬酸 Citric acid 琥珀酸 Succinic acid 4-氨基丁酸 4-aminobutyric acid	3.614 226 398 0.573 330 552 0.315 877 993 1.452 124 837 0.383 567 195 0.644 594 348	1.512 286 699 1.125 604 618 0.829 439 196 7.964 833 992 2.816 087 863 2.914 309 649	0.000 068 0.002 355 0.001 217 0.000 019 0.020 460 0.001 584
		甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 Glycine, serine and threonine metabolism	天冬氨酸 Aspartic acid D-甘油酸 D-glyceric acid 甘氨酸 Glycine L-苏氨酸 L-threonine L-高丝氨酸 L-homoserine 2-酮丁酸 2-ketobutyric acid 肌氨酸 Sarcosine 胍基乙酸 Glycocyanine	3.614 226 398 0.252 133 043 0.344 825 620 0.251 630 656 0.000 000 150 0.000 000 150 0.000 000 150 0.000 000 150	1.512 286 699 0.724 615 218 1.015 307 332 0.458 942 286 0.013 333 460 0.029 820 602 0.000 000 100 0.048 726 605	0.000 068 0.000 776 0.003 002 0.000 824 0.017 446 0.009 635 0.006 497 0.003 638
		缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成	L-缬氨酸 L-valine L-苏氨酸 L-threonine L-亮氨酸 L-leucine	1.241 174 224 0.251 630 656 0.000 000 150	2.025 330 148 0.458 942 286 2.816 287 407	0.009 836 0.000 824 0.001 352

(待续)

(续表 1)

分组 Group	代谢通路分类 Classification of metabolic pathway	代谢通路 Metabolic pathway	代谢物 Metabolite	对照组的平均值 Mean of the control group	处理组的平均值 Mean for treatment group	P 值 P value
		Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	2-酮丁酸 2-ketobutyric acid	0.000 000 150	0.029 820 602	0.009 635
	糖代谢 Carbohydrate metabolism	乙醛酸和二羧酸 代谢 Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	柠康酸 Citraconic acid D-甘油酸 D-glyceric acid 柠檬酸 Citric acid 琥珀酸 Succinic acid 甘氨酸 Glycine 乙醇酸 Glycolic acid 草酸 Oxalic acid 中康酸 2-methylfumarate	0.024 824 882 0.252 133 043 1.452 124 837 0.383 567 195 0.344 825 620 0.129 864 195 0.079 209 986 0.000 000 150	0.011 278 781 0.724 615 218 7.964 833 992 2.816 087 863 1.015 307 332 0.303 718 221 0.051 255 062 0.005 871 587	0.000 129 0.000 776 0.000 019 0.020 460 0.003 002 0.000 975 0.001 966 0.004 623
		丙酸盐代谢 Propanoate metabolism	琥珀酸 Succinic acid 3-羟基丙酸 3-hydroxypropionic acid β-丙氨酸 Beta-alanine 甲基丙二酸 Methylmalonic acid 2-酮丁酸 2-ketobutyric acid 丙酮醇 Acetol	0.383 567 195 0.008 109 518 0.011 602 165 0.070 181 776 0.000 000 150	2.816 087 863 0.026 976 444 0.097 823 395 0.046 462 695	0.020 460 0.002 485 0.018 357 0.010 306
		丁酸甲酯代谢 Butanoate metabolism	富马酸 Fumaric acid 琥珀酸 Succinic acid 4-氨基丁酸 4-aminobutyric acid 4-羟基丁酸钠 4-hydroxybutyrate (R)-3-羟基丁酸 3-hydroxybutyric acid	0.315 877 993 0.383 567 195 0.644 594 348 0.012 523 114 0.000 000 150	0.829 439 196 2.816 087 863 2.914 309 649 0.089 326 396 0.035 921 435	0.001 217 0.020 460 0.001 584 0.000 159 0.005 279
	其他氨基酸代谢 Metabolism of other amino acids	β-丙氨酸代谢 Beta-alanine metabolism	天冬氨酸 Aspartic acid 4-氨基丁酸 4-aminobutyric acid 3-羟基丙酸 3-hydroxypropionic acid β-丙氨酸 Beta-alanine 3-脲丙酸 3-ureidopropionate N-乙酰-β-丙氨酸 N-acetyl-beta-alanine	3.614 226 398 0.644 594 348 0.008 109 518 0.011 602 165 0.022 205 039 0.000 343 504	1.512 286 699 2.914 309 649 0.026 976 444 0.097 823 395 0.063 938 732 0.053 350 281	0.000 068 0.001 584 0.002 485 0.018 357 0.002 725 0.016 907
		氰氨基酸代谢 Cyanoamino acid metabolism	L-缬氨酸 L-valine 天冬氨酸 Aspartic acid 天冬酰胺 Asparagine 甘氨酸 Glycine β-氰基-L-丙氨酸 3-cyano-L-alanine	1.241 174 224 3.614 226 398 0.573 330 552 0.344 825 620 0.024 594 122	2.025 330 148 1.512 286 699 1.125 604 618 1.015 307 332 0.162 919 368	0.009 836 0.000 068 0.002 355 0.003 002 0.003 587

的黑斑病,以及十字花科蔬菜的黑斑病等病害,这些病害是我国农业生产上的突出病害问题,造成了重要的经济损失^[23]。

本研究通过 GC-MS 法分析链格孢菌侵染芝麻蒴果后代谢物的变化,以进行芝麻果皮和籽粒的差异代谢通路的分析。通过差异代谢物的 KEGG 富集分析可以发现,链格孢菌的侵染影响到芝麻果皮和籽粒的氨基酸代谢(缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、 β -丙氨酸代谢、羧氨基酸代谢),糖代谢(丙酸盐代谢),核苷酸代谢(嘧啶代谢)以及转运过程中的氨酰 tRNA 生物合成,说明这些通路是链格孢菌侵染芝麻果皮和籽粒后的潜在靶点。通过影响氨基酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢以及丁酸甲酯代谢来影响芝麻籽粒的质量。芝麻蒴果受到链格孢菌的侵染,从而影响芝麻蒴果中氨基酸的积累,可能与氨基酸通过参与植物体内的生理代谢增强关键酶活性从而增强植物对逆境的适应性有关,并且氨基酸作为蛋白质的结构成分参与植物激素前体的合成,在调节植物应对生物胁迫也可能具有重要作用^[24]。在植物中,糖不仅是能源和结构物质,同时也是信号转导分子,在调节植物的生命活动以及响应与适应逆境中起着重要作用^[25]。接种链格孢菌后,芝麻蒴果的糖代谢也受到显著影响,说明了在芝麻蒴果中糖代谢可能是响应链格孢菌侵染的重要代谢通路。因此,果皮中的 L-缬氨酸、 β -丙氨酸以及籽粒中的天冬氨酸、琥珀酸等可能作为标记代谢物来响应蒴腐病的发生。而水杨酸作为植物的抗病免疫的信号分子,在链格孢菌侵染芝麻蒴果后,芝麻蒴果中的水杨酸含量也显著增加,说明了其在芝麻抗病中也起到至关重要的作用^[26]。

4 结论

本研究通过对链格孢菌侵染的芝麻蒴果进

行代谢组测序分析,探究该病害的发生对芝麻的危害。后续可以通过 RNA 测序技术进行转录组学的分析,全面了解链格孢菌与芝麻蒴果之间的基因表达变化,揭示关键的侵染相关基因和途径,进一步深入探究链格孢菌与芝麻蒴果相互作用的机制。此外,链格孢菌产生的毒素影响食品安全,后续结合质谱技术和专门的毒素数据库进行毒素的鉴定,并利用体外和体内试验验证这些毒素的生物活性。开发特异性引物或探针来检测链格孢菌的 DNA 或 RNA,以实现更加灵敏和准确的侵染检测。本研究通过深入了解链格孢菌侵染芝麻蒴果的代谢组,为揭示芝麻病害的发生机制提供了依据,对提高农业生产的可持续性具有重要意义。

REFERENCES

- [1] 宫慧慧,赵逢涛,裴伟,孟庆华.芝麻种质资源及相关分子生物学研究进展[J].植物遗传资源学报,2016,17(3):517-522.
GONG HH, ZHAO FT, PEI W, MENG QH. Advances in sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm resources and molecular biology research[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(3): 517-522 (in Chinese).
- [2] 盛晨,张艳欣,于景印,高媛,黎冬华,周璐,张秀荣,王林海.芝麻赤霉素合成相关基因鉴定与表达分析[J].中国油料作物学报,2019,41(3):399-408.
SHENG C, ZHANG XY, YU JY, GAO Y, LI DH, ZHOU R, ZHANG XR, WANG LH. Identification and expression analysis of GA related genes in sesame[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2019, 41(3): 399-408 (in Chinese).
- [3] 周芳,赵应忠,周婷,杨远霄,刘红艳.近40年来中国芝麻新品种的国家区域试验进展及建议[J].分子植物育种,2022,20(4):1383-1392.
ZHOU F, ZHAO YZ, ZHOU T, YANG YX, LIU HY. Progress and prospective of Chinese national field trails for sesame new varieties in the past 40 years[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(4): 1382-1392 (in Chinese).
- [4] CHENG HS, GAO DX, SUN HJ, NA YB, XU J. First report of fruit blight caused by *Alternaria alternata* on sesame in Northeast China[J]. Plant Disease, 2021, 105(10): 3299-3299.
- [5] 程洪森,孙会杰,那艳斌,高德学.芝麻种质对蒴腐病和黑斑病抗性鉴定与评价[J].植物遗传资源学报,2022,23(4):996-1003.
CHENG HS, SUN HJ, NA YB, GAO DX. Identification and evaluation of sesame germplasm resources resistant to black spot and capsule rot[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(4): 996-1003 (in Chinese).

- [6] THOMMA BPHJ. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite[J]. Molecular Plant Pathology, 2003, 4(4): 225-236.
- [7] 朱启寒, 何剑鹏, 张晓阳, 李庚花, 刘冰, 熊桂红, 蒋军喜. 莴笋链格孢叶斑病原鉴定及室内生防菌剂筛选[J]. 江西农业大学学报, 2023, 45(2): 395-403. ZHU QH, HE JP, ZHANG XY, LI GH, LIU B, XIONG GH, JIANG JX. Identification and indoor biocontrol agents screening of *Alternaria* leaf spot of lettuce[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2023, 45(2): 395-403 (in Chinese).
- [8] 丁荔, 叶全, 夏营, 姜颖霖, 王龙, 曹洪建, 吕鹏超, 刘甜甜, 姜宏浩, 于伟健. 无花果黑点病原鉴定及防控药剂室内初步筛选[J]. 中国果树, 2023(4): 68-72, 141. DING L, YE Q, XIA Y, JIANG YL, WANG L, CAO HJ, LÜ PC, LIU TT, JIANG HH, YU WJ. Identification of the pathogen causing black spot disease of fig and preliminary screening of control agents in laboratory[J]. China Fruits, 2023(4): 68-72, 141 (in Chinese).
- [9] 宋雨萌, 刘文杰, 王敏, 袁忠林, 罗兰. 青岛地区大白菜黑斑病原菌分离鉴定与致病性研究[J]. 中国蔬菜, 2023(4): 57-63. SONG YM, LIU WJ, WANG M, YUAN ZL, LUO L. Studies on pathogenicity and isolate identification of pathogen causing Chinese cabbage black spot in Qingdao region[J]. China Vegetables, 2023(4): 57-63 (in Chinese).
- [10] LI H, QAMAR MTU, YANG L, LIANG JC, YOU J, WANG LH. Current progress, applications and challenges of multi-omics approaches in sesame genetic improvement[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(4): 3105.
- [11] KIND T, WOHLGEMUTH G, LEE DY, LU Y, PALAZOGLU M, SHAHBAZ S, FIEHN O. FiehnLib: mass spectral and retention index libraries for metabolomics based on quadrupole and time-of-flight gas chromatography/mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(24): 10038-10048.
- [12] DUNN WB, BROADHURST D, BEGLEY P, ZELENKA E, FRANCIS-MCINTYRE S, ANDERSON N, BROWN M, KNOWLES JD, HALSALL A, HASELDEN JN, NICHOLLS AW, WILSON ID, KELL DB, GOODACRE R, CONSORTIUM THSM. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. Nature Protocols, 2011, 6: 1060-1083.
- [13] LEVER J, KRZYWINSKI M, ALTMAN N. Principal component analysis[J]. Nature Methods, 14: 641-642.
- [14] WIKLUND S, JOHANSSON E, SJÖSTRÖM L, MELLEROWICZ EJ, EDLUND U, SHOCKCOR JP, GOTTFRIES J, MORITZ T, TRYGG J. Visualization of GC/TOF-MS-based metabolomics data for identification of biochemically interesting compounds using OPLS class models[J]. Analytical Chemistry, 2008, 80(1): 115-122.
- [15] SACCENTI E, HOEFSLOOT HCJ, SMILDE AK, WESTERHUIS JA, HENDRIKS MMWB. Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data[J]. Metabolomics, 2014, 10(3): 361-374.
- [16] CHEN CJ, CHEN H, ZHANG Y, THOMAS HR, FRANK MH, HE YH, XIA R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [17] KANEHISA M, SATO Y, KAWASHIMA M, FURUMICHI M, TANABE M. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation[J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(D1): D457-D462.
- [18] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(1): 27-30.
- [19] 马进花, 马宽, 赵鲁迺克, 李佳怡, 周月丽, 罗丽, 刘慧燕, 王军节. 链格孢感染对枸杞鲜果挥发性物质释放的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(10): 50-58. MA JH, MA K, ZHAO L, LI JY, ZHOU YL, LUO L, LIU HY, WANG JJ. Effects of volatile substances from fresh fruit of *Lycium barbarum* L.[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(10): 50-58 (in Chinese).
- [20] VAZQUEZ-HERNANDEZ M, NAVARRO S, SANCHEZ-BALLESTA MT, MERODIO C, ESCRIBANO MI. Short-term high CO₂ treatment reduces water loss and decay by modulating defense proteins and organic osmolytes in Cardinal table grape after cold storage and shelf-life[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 234: 27-35.
- [21] GONG D, BI Y, JIANG H, XUE SL, WANG ZY, LI YC, ZONG YY, PRUSKY D. A comparison of postharvest physiology, quality and volatile compounds of 'Fuji' and 'Delicious' apples inoculated with *Penicillium expansum*[J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 150: 95-104.
- [22] MORATH SU, HUNG R, BENNETT JW. Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential[J]. Fungal Biology Reviews, 2012, 26(2/3): 73-83.
- [23] 李朋华. 部分链格孢属真菌的形态学及多基因鉴定[D]. 郑州: 河南农业大学硕士学位论文, 2016. LI PH. Identification of partial *Alternaria* by morphology and multiple-gene analysis[D]. Zhengzhou: Master's Thesis of Henan Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [24] 宋奇超, 曹凤秋, 巩元勇, 程晓园, 毕昕媛, 刘来华. 高等植物氨基酸吸收与转运及生物学功能的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(6): 1507-1517. SONG QC, CAO FQ, GONG YY, CHENG XY, BI XY, LIU LH. Current research progresses of amino acids uptake, transport and their biological roles in higher plants[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(6): 1507-1517 (in Chinese).
- [25] 陈宏艳, 李小二, 李忠光. 糖信号及其在植物响应逆境胁迫中的作用[J]. 生物技术通报, 2022, 38(7): 80-89. CHEN HY, LI XE, LI ZG. Sugar signaling and its role in plant response to environmental stress[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(7): 80-89 (in Chinese).
- [26] 汪尚, 徐鹭芹, 张亚仙, 曾后清, 杜立群. 水杨酸介导植物抗病的研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(5): 581-590. WANG S, XU LQ, ZHANG YX, ZENG HQ, DU LQ. Recent advance of salicylic acid signaling in plant disease resistance[J]. Plant Physiology Journal, 2016, 52(5): 581-590 (in Chinese).