

草原龙胆高温诱导莲座化的代谢组学分析

郭 芮¹ 殷超群¹ 汪昱乔¹ 杨 梅¹
张 政¹ 褚文翔¹ 王 琴^{1,2} 胡惠蓉¹

1. 华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070;

2. 湖北工业大学土木建筑与环境学院, 武汉 430068

摘要 为揭示高温引起草原龙胆莲座化的代谢机制, 采用气相色谱-质谱法(GC-MS)结合代谢组学分析技术, 研究常温和高温处理下草原龙胆成熟叶片和茎尖的代谢差异。共鉴定出30种代谢产物, 偏最小二乘法判别分析显示不同温度下和不同组织中的代谢物均得到很好的分离。方差分析表明, 与常温处理相比, 高温下草原龙胆茎尖中的糖类含量降低, 有机酸含量升高, 而成熟叶片内的变化趋势刚好相反。推测草原龙胆在高温胁迫下茎尖的糖类含量下降可能导致其发生莲座化, 从而无法正常抽薹开花; 而成熟叶片中增加的可溶性糖有利于提高植株的渗透保护能力, 从而抵抗非生物逆境。在不同组织间, 高温下的差异明显小于常温下代谢物的差异。推测常温下茎尖与成熟叶较大的差异体现了异质性的发育趋势, 而高温下组织间差异的缩小体现了机体共同应对胁迫的系统防御机制。

关键词 草原龙胆; 代谢组学; 高温; 莲座化; 抗逆

中图分类号 S 682.1⁺9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)04-0015-06

草原龙胆 (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) 又名洋桔梗, 为龙胆科草原龙胆属观赏植物。原产北美洲, 为一二年生直立草本, 花冠呈美丽的杯状或钟状, 花色丰富, 有白色、粉红色、橘红色、浅绿色、紫色、蓝色及复色等, 成为十分受欢迎的高档切花, 位列“世界十大切花”之一。草原龙胆的开花伴随着抽薹现象, 前人研究发现, 其开花转变发生在茎伸长约 10 cm 之后^[1]。然而, 草原龙胆部分品种的幼苗在高温影响下会发生簇叶现象而出现莲座化, 不能正常抽薹和开花, 严重影响了其作为切花的经济价值^[2-3]。

作为基因表达的终产物, 生物体的代谢产物最能直观反映生物体对遗传结构和环境因素综合影响下的结果。逆境胁迫下植物代谢层面的响应机制是一个涉及众多代谢产物、代谢途径的复杂过程, 而随着质谱技术等代谢产物检测和鉴定技术的不断改进, 代谢组学已经成为分析这些复杂过程的有力工具^[4-5]。人们对拟南芥中温度胁迫的代谢响应机制已经进行了较为深入的研究^[6-8]。

‘阿琳娜’草原龙胆在 22 °C 正常抽薹开花, 而在 30 °C 时出现莲座^[9]。本试验采用 GC-MS 测定高温与常温环境下‘阿琳娜’草原龙胆不同组织中的代谢情况, 拟从代谢途径上探究高温引起草原龙胆莲座化现象的机制, 同时为解决这一生产问题提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与取样

本试验材料为‘阿琳娜’草原龙胆 (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. ‘Arena’) F₁ 代种子, 由浙江虹越花卉有限公司提供。将种子播种于东北泥炭土+蛭石+珍珠岩(体积比 2:1:1)混合的培养基质中, 置于华中农业大学花卉基地玻璃温室培育。至草原龙胆出现 2 片真叶时, 选择形态、大小较一致的植株上盆, 随机分为 2 组, 搬至光照培养箱内培育, 光照强度均为 11.5 μmol/(m²·s), 光周期 16 h/8 h(日/夜), 相对湿度 50%。设置对照组的温度为 22 °C, 高温组的温度为 30 °C。

收稿日期: 2016-07-05

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项(2662016PY042); 国家自然科学基金青年项目(31500577)

郭 芮, 硕士研究生。研究方向: 花卉开花生理与分子生物学。E-mail: mandyslight@163.com

通信作者: 胡惠蓉, 博士, 副教授。研究方向: 花卉开花生理与分子生物学。E-mail: huhuirong@mail.hzau.edu.cn

当植株生长 22 d 对照组第一株植株最早发生抽薹时,分别采集 2 种温度处理下的成熟叶片以及茎尖,各采取 6 个成熟叶片或茎尖作为重复,采用液氮冻存后置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱备用。

1.2 主要仪器与试剂

GC-MS 分析采用 Thermo DSQ II 气相色谱-质谱联用仪(Thermo Fisher Scientific 公司),甲醇、核糖醇、甲氧胺盐酸盐、吡啶、MSTFA(N-Methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide) 购于 Sigma-Aldrich 公司,氯仿购于 SCR 公司。

1.3 样品处理及分析条件

1) 代谢物萃取、衍生化。将样品用液氮研磨成粉末状,称取 50 mg 于离心管内,加入 750 μL 甲醇,涡旋混匀,再加入 31.5 μL 质量浓度为 0.2 mg/mL 的核糖醇水溶液,于室温条件下,在摇床上提取 15 min;14 000 r/min 离心 10 min,取 535 μL 上清液,加入 536 μL 氯仿和 1 071 μL 双蒸馏水,涡旋混匀;离心,取 400 μL 上清液,真空离心,彻底干燥。

代谢物的衍生化:向含有干燥代谢物的离心管加入 90 μL 质量浓度为 20 mg/mL 的甲氧胺盐酸盐吡啶溶液,在摇床上 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h;再加入 60 μL MSTFA,在摇床上 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min;14 000 r/min 离心,取 100 μL 上清液上样检测。

2) GC-MS 分析条件。色谱条件:HP-5MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);进样口温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$,载气为高纯氦气,流速 10.0 mL/min,按 10:1 分流比进行分流。升温程序: $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min,以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 3 min;传输线温度 $270\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

质谱条件:电子轰击(EI)离子源,其电子能量 70 eV;离子源温度 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$,质量扫描范围 50~500 m/z 。

1.4 物质鉴定

结合谱库检索技术与质谱图解析及保留指数定性方法,将 GC-MS 分析所得质谱图及 NSIT(2005) 谱库与标准物质的质谱图进行检索比对,再利用科瓦茨保留指数(Kovats' Retention Indices)确认,检索尺度为 1%。样品保留指数由相同升温程序下正构烷烃标准样品(C8-C30)计算得到。

1.5 数据分析

用 XCMS 软件对原始数据进行处理得到数据矩阵,导入 Excel 中进行峰面积归一化后导入 SIM-

CA-P11.5(Umetrics AB)进行偏最小二乘法判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA),对所有变量按 $\text{VIP} > 0.9$ 初步筛选含量差异代谢物;再采用 SPSS 软件进行方差分析,按 $P < 0.05$ 水平的显著性确认差异代谢物,并计算各个差异代谢物相对于对照的相对峰面积,结果用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示,确定差异代谢物含量变化的幅度。

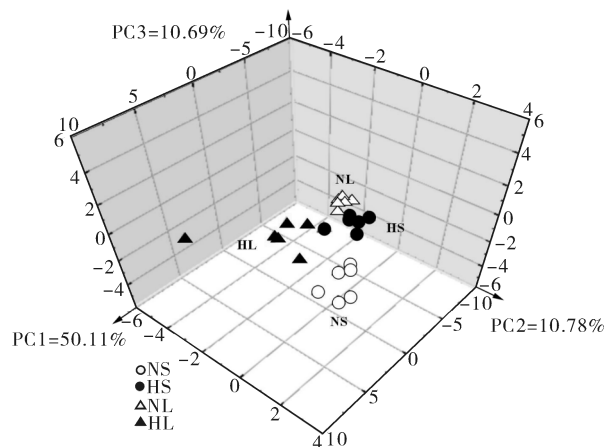
2 结果与分析

2.1 代谢物的定性分析

依据 GC-MS 总离子流图中各个峰的峰面积、信噪比等参数初步筛选出 91 个峰,并鉴定出其中 30 个峰对应的代谢物,见表 1。表 1 中甘氨酸、软脂酸、硬脂酸、丙酸、果糖、半乳糖和葡萄糖各对应 2 个峰,反映出同一代谢物在制样时形成了 2 个衍生物。代谢物有 6 类:氨基酸 7 种、有机酸 7 种、糖类 7 种、脂肪酸 4 种、醇 3 种、三羧酸循环中间酸 2 种。

2.2 草原龙胆代谢产物的 PLS-DA 分析

对代谢产物转换数据进行 PLS-DA 分析(图 1),结果显示,3 个主成分的方差累计贡献率为 71.58%,常温下的成熟叶片(NL)、茎尖(NS),高温下的成熟叶片(HL)、茎尖(HS)的代谢产物均能明显分离。常温下成熟叶片和茎尖的样本重复都较为集中,组内差距较小;而高温处理后,成熟叶片和茎



N: 常温($22\text{ }^{\circ}\text{C}$), H: 高温($30\text{ }^{\circ}\text{C}$), L: 成熟叶片, S: 茎尖. Note: N: Normal temperature ($22\text{ }^{\circ}\text{C}$); H: High temperature ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$); L: Mature leaf; S: Shoot tip.

图 1 不同温度下草原龙胆不同组织代谢产物的 PLS-DA 分析图

Fig.1 The PLS-DA analysis of metabolites in different tissues of *Eustoma grandiflorum* under different temperatures

尖的各个重复样本均相对分散,组内差距较大。同时,常温下成熟叶片和茎尖之间代谢产物的差异较大,而高温处理下成熟叶片和茎尖的差异较小。

2.3 草原龙胆不同温度下代谢产物变化的分析

进一步比较不同温度下草原龙胆的代谢产物变化(表 2),在成熟叶片中,高温处理下有 7 种代谢物变化显著,包括有机酸和糖 2 类。其中 3 种有机酸

含量显著下降,4 种糖类含量增多。而在茎尖分生组织中,高温处理下产生 6 种差异代谢物,包括氨基酸、有机酸、糖以及醇 4 类。其中氨基酸和有机酸中的丙酸含量均显著增加,而抗坏血酸和糖醇类含量均减少。比较茎尖与成熟叶片共有的 3 种差异代谢物,其含量在 2 种组织中的变化趋势刚好相反:高温诱导丙酸在叶片中含量减少、在茎尖增加;葡萄糖 1、2 则在叶中增加、茎尖减少。

表 1 草原龙胆茎尖和叶片中已鉴定的代谢物

Table 1 Metabolites that had been identified in shoot tips and mature leaves of *Eustoma grandiflorum*

代谢物类别 Metabolite type	保留时间/min Retention time	代谢物名称 Metabolite name	代谢物类别 Metabolite type	保留时间/min Retention time	代谢物名称 Metabolite name
氨基酸 Amino acid	10.63	丙氨酸 L-Alanine	糖 Sugar	11.91	草酸 Oxalic acid
	13.96	甘氨酸 1 L-Glycine 1		15.13	苯甲酸 Benzoic acid
	15.63	丝氨酸 L-Serine		15.87	磷酸 Phosphoric acid
	16.72	脯氨酸 L-Proline		17.56	丙酸 2 Propanoic acid 2
	16.78	甘氨酸 2 L-Glycine 2		29.68	抗坏血酸 Ascorbic acid
	23.03	苯丙氨酸 L-Phenylalanine		30.25	果糖 1 Fructose 1
	30.19	天冬酰胺 L-Asparagine		30.45	果糖 2 Fructose 2
三羧酸循环 TCA acid	21.71	苹果酸 Malic acid	30.65	葡萄糖 1 Glucose 1	
	29.20	柠檬酸 Citric acid	30.77	半乳糖 1 Galactose 1	
脂肪酸 Fatty acid	33.75	软脂酸 1 Hexadecanoic acid 1	30.99	半乳糖 2 Galactose 2	
	37.31	硬脂酸 1 Octadecanoic acid 1	31.11	葡萄糖 2 Glucose 2	
	42.90	软脂酸 2 Hexadecanoic acid 2	43.57	蔗糖 Sucrose	
有机酸 Organic acid	45.73	硬脂酸 2 Octadecanoic acid 2	醇 Alcohol	15.99	甘油 Glycerol
	9.16	丙酮酸 Pyruvic acid		31.46	甘露糖醇 D-Mannitol
	9.26	丙酸 1 Propanoic acid 1		34.45	肌醇 Myo-Inositol

表 2 草原龙胆不同温度下的代谢物差异

Table 2 Differences between metabolites of *Eustoma grandiflorum* under different temperatures

代谢物类别 Metabolite type	代谢物名称 Metabolite name	成熟叶 Mature leaf			茎尖 Shoot tip		
		常温 Normal temperature	高温 High temperature	变化 趋势 Trend	常温 Normal temperature	高温 High temperature	变化 趋势 Trend
氨基酸 Amino acid	苯丙氨酸 L-Phenylalanine				1.00±0.31	2.47±0.40	↑ *
有机酸 Organic acid	抗坏血酸 Ascorbic acid				1.00±0.14	0.40±0.11	↓ **
	苯甲酸 Benzoic acid	1.00±0.18	0.33±0.07	↓ **			
	草酸 Oxalic acid	1.00±0.28	0.27±0.09	↓ *			
	丙酸 1 Propanoic acid 1	1.00±0.09	0.44±0.04	↓ ***	1.00±0.18	2.32±0.46	↑ *
糖 Sugar	半乳糖 1 Galactose 1	1.00±0.28	8.53±2.25	↑ *			
	葡萄糖 1 Glucose 1	1.00±0.16	6.22±1.43	↑ *	1.00±0.21	0.29±0.08	↓ **
	葡萄糖 2 Glucose 2	1.00±0.14	8.06±1.82	↑ *	1.00±0.19	0.33±0.11	↓ *
	蔗糖 Sucrose	1.00±0.28	2.56±0.63	↑ *			
醇 Alcohol	甘油 Glycerol				1.00±0.06	0.33±0.07	↓ ***

注:数值为平均值±标准误;↑和↓分别代表含量增加和减少;*、**和***分别代表在0.05、0.01和0.001水平差异显著。下同。Note:Numbers are means±SE. The ↑ and ↓ stand for increase and decrease in content respectively. The *, ** and *** show significant difference at 0.05, 0.01 and 0.001 levels respectively. The same as follows.

2.4 草原龙胆不同组织间代谢产物差异的分析

对不同组织间草原龙胆代谢产物的差异进行比较(表 3),结果表明:在常温处理下,草原龙胆茎尖与成熟叶间存在 10 种差异代谢物,包括 1 种脂肪

酸、3 种有机酸、5 种糖类和 1 种醇类,其中糖醇类变化较为一致,茎尖中的含量均高于成熟叶片,而丙酸、苯甲酸的含量均显著低于成熟叶片;高温处理下 2 种组织间仅有 3 种差异代谢物,全部为糖类,且茎

表 3 草原龙胆不同组织间的代谢物差异

Table 3 Difference between metabolites of *Eustoma grandiflorum* in different tissues

代谢物类别 Metabolite type	代谢物名称 Metabolite name	常温 Normal temperature			高温 High temperature		
		成熟叶 Mature leaf	茎尖 Shoot tip	变化趋势 Trend	成熟叶 Mature leaf	茎尖 Shoot tip	变化趋势 Trend
脂肪酸 Fatty acid	软脂酸 1 Hexadecanoic acid 1	1.00±0.18	4.71±1.14	↑ *			
有机酸 Organic acid	抗坏血酸 Ascorbic acid	1.00±0.17	3.30±0.46	↑ ***			
	苯甲酸 Benzoic acid	1.00±0.18	0.20±0.08	↓ **			
	丙酸 1 Propanoic acid 1	1.00±0.09	0.30±0.05	↓ ***			
糖 Sugar	果糖 1 Fructose 1	1.00±0.21	4.98±1.46	↑ *			
	果糖 2 Fructose 2				1.00±0.35	0.09±0.03	↓ *
	半乳糖 1 Galactose 1	1.00±0.28	11.57±3.08	↑ *			
	葡萄糖 1 Glucose 1	1.00±0.16	2.99±0.05	↑ **	1.00±0.21	0.16±0.02	↓ *
	葡萄糖 2 Glucose 2	1.00±0.14	5.02±0.95	↑ **	1.00±0.23	0.21±0.06	↓ *
	蔗糖 Sucrose	1.00±0.28	3.47±0.48	↑ ***			
醇 Alcohol	甘油 Glycerol	1.00±0.11	2.50±0.16	↑ ***			

尖含量均较少。

3 讨论

糖代谢一直是花芽分化及抽薹开花生理过程中的研究热点,其中最为人们广泛接受的是由 Krebs 提出的 C/N 学说,即植物开花的本质是由 C/N 的改变引起,高 C/N 值对许多植物的成花转变均有促进作用。比如在春化的萝卜中,可溶性糖含量的增加促进了抽薹^[10]。白芥茎尖中蔗糖含量的增加早于细胞分裂活动的增加,而强烈的细胞分裂正是花芽分化的重要条件^[11],提示可溶性糖可能起到供能的作用。人们还发现细胞液浓度的升高有利于花芽分化,因此,可溶性糖可能是通过改变细胞液浓度来影响花芽分化的^[12]。而在拟南芥中,蔗糖能极大地促进春化必需品种的开花,同时还使得 *fve*、*fpa*、*fca*、*co* 和 *gi* 突变体开花提前^[13]。而后,在萝卜中也发现相似的现象^[14],提示蔗糖可能直接作为一种信号分子促进花芽分化。以上研究结果均显示碳水化合物含量变化与花芽分化呈正相关。在本试验中,常温处理下的茎尖组织中可溶性糖含量显著高于成熟叶片,植株均正常抽薹;而高温处理下的茎尖中可溶性糖含量显著低于常温下的茎尖及同温度的成熟叶片,可能是导致高温处理下植株一直处于莲座状态的主要原因之一。

高温处理下,植物会通过主动积累渗透调节物质来抵抗热胁迫的伤害^[15],有研究证实可溶性糖含量与植物抗高温能力之间呈正相关^[16-17],在拟南芥中,当受到热胁迫时,蔗糖还可以取代脯氨酸作为主要的渗透保护剂^[8]。本试验结果表明,高温处理下草原龙胆植株的成熟叶片可溶性糖含量显著升高,且明显高于茎尖,而无论是成熟叶片还是茎尖中,高温处理后脯氨酸含量均无显著变化。推测在草原龙胆中,可溶性糖也替代脯氨酸成为了主要的渗透保护剂,而成熟叶片作为蒸腾失水的主要器官,是抵御高温胁迫的主要部位,故在高温处理后可溶性糖大量累积以响应胁迫。

作物在不同生育期各有其生长中心,这些生长中心既是矿质元素的输入中心,也是同化物的分配中心^[18]。根据成花诱导营养物分配学说,在成花诱导条件下,各种环境因子均是通过改变植物体内的源/库关系,使同化产物向茎尖组织供应,以便茎尖获得比非诱导条件下更有利的同化物供应,从而保证花芽分化的正常进行。据此推测,常温条件下,草原龙胆在抽薹时期的生长中心为茎尖,叶片中生成的碳水化合物转移至茎尖组织中,优先供应茎尖进行花芽分化,同时蔗糖作为信号分子的积累也有利于促进细胞分裂活动,故而促进了草原龙胆的成花转变。而在高温下,植株进入了抵抗胁迫的状态,由

于需在叶片中主动积累可溶性糖类物质以提高植株的耐热水平,此时分配中心为成熟叶片,茎尖无法积累足量的可溶性糖来促进抽薹。这一推测与Byrne^[19]将高夜温导致芍药败育归结为花芽与叶芽竞争中代谢不足的结论相吻合。

除糖代谢外,抗坏血酸作为非酶类抗氧化剂在非生物胁迫中也一直受到重视,本研究中高温处理后成熟叶片中抗坏血酸含量虽有一定上升但并未发生显著变化,而茎尖中抗坏血酸含量反而显著下降,这可能是由于30℃高温所引起的胁迫程度还较轻,抗坏血酸暂未启动抗氧化胁迫系统。除参与非生物胁迫,抗坏血酸还在启动拟南芥^[20]、文心兰^[21-22]的抽薹以及开花调控中起着重要作用,但其在草原龙胆抽薹机制中如何发挥作用尚不明确,需要进一步研究。

目前已经确定的与草原龙胆莲座化相关的影响因子包括原产地、品种、苗龄、内源激素、温度等^[3]。其中温度受到较为广泛的关注,前人研究发现高温影响赤霉素(GAs)合成途径,通过抑制茎部伸长而导致莲座化,且高温处理超过14d即使再移至常温,茎的正常伸长仍无法恢复^[23]。同时,温度与光周期的互作也对不同品种草原龙胆的莲座化会产生不同的影响^[24]。除此之外,前人研究还发现春化能促进草原龙胆体内谷胱甘肽的合成,而后者则可以有效地促进草原龙胆抽薹^[25]。遗憾的是本研究未能检测到谷胱甘肽或其前体物质半胱氨酸,未能比较‘阿琳娜’在不同温度下的谷胱甘肽合成代谢是否存在差异。

从代谢产物的整体水平来看,常温处理下茎尖与成熟叶片间差异最为明显,高温处理后二者间差异逐渐减小,这种变化提示我们,可能正是由于高温引起的这种代谢水平整体的改变,使得草原龙胆产生莲座化,而系统的防御得以启动。本试验对于初级代谢产物的鉴定与分析有限,还需要通过更多的初级代谢产物鉴定并结合次生代谢物分析,以全面诠释高温引起草原龙胆莲座化现象的代谢机制。

参 考 文 献

- ZACCAI M, EDRI N. Floral transition in lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) [J]. *Scientia horticulturae*, 2002, 95 (4): 333-340.
- 赵习姮, 李进才, 西村安代. 洋桔梗种子低温春化处理对抽薹的影响[J]. *华北农学报*, 2011, 26(3): 124-127.
- 姜跃丽, 叶桦. 洋桔梗簇叶化现象探析[J]. *现代农业科技*, 2009 (17): 198-199.
- SHULAEV V, CORTES D, MILLER G, et al. Metabolomics for plant stress response [J]. *Physiologia plantarum*, 2008, 132 (2): 199-208.
- 胡立群, 徐庆国. 植物非生物胁迫代谢组学研究进展[J]. *作物研究*, 2014(4): 428-434.
- USADEL B, BLÄSING O E, GIBON Y, et al. Multilevel genomic analysis of the response of transcripts, enzyme activities and metabolites in *Arabidopsis* rosettes to a progressive decrease of temperature in the non-freezing range [J]. *Plant cell & environment*, 2008, 31(4): 518-547.
- KAPLAN F, KOPKA J, HASKELL D W, et al. Exploring the temperature-stress metabolome of *Arabidopsis* [J]. *Plant physiology*, 2004, 136(4): 4159-4168.
- LUDMILA R, HONGJIAN L, JOEL S, et al. When defense pathways collide: the response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress [J]. *Plant physiology*, 2004, 134(4): 1683-1696.
- 王琴. 光周期对草原龙胆生长发育的影响及相关基因的功能分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- TZAY-FA S, BODSON M, VERHOYEN M N J. Effect of day and night temperature variation and of high temperature on de-vernialization in radish [J]. *Acta horticulturae*, 1984, 33(514): 157-162.
- BERNIER G, LEJEUNE P. Physiological signals that induce flowering [J]. *Plant cell*, 1993, 5(10): 1147-1155.
- 许伟东, 郑诚乐, 郭亚市, 等. 杨梅花芽生理分化期叶片碳水化合物含量变化研究[J]. *江西农业学报*, 2009, 21(7): 75-77.
- ROLDÁN M, GÓMEZ-MENA C, RUIZ-GARCÍA L, et al. Effect of darkness and sugar availability to the apex on morphogenesis and flowering time of *Arabidopsis* [J]. *Flowering newsletter*, 1997(24): 18-24.
- 汪炳良, 邓艳英, 曾广文. 萝卜花芽分化过程中茎尖和叶片碳水化合物含量的变化[J]. *园艺学报*, 2004, 31(3): 375-377.
- 鞠冠华, 崔丽洁, 张书, 等. 植物耐热性的分子机制研究进展[J]. *长江蔬菜*, 2012(24): 5-11.
- 鲁福成, 王明启, 魏雪生, 等. 逆境条件下几种蔬菜作物生理指标的变化[J]. *天津农业科学*, 2001, 7(2): 6-10.
- 罗肖肖. 高温逆境对黄金葛叶片中渗透调节物质积累的影响[J]. *山西农业科学*, 2014, 42(4): 335-337.
- 王忠, 王三根, 李合生, 等. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- BYRNE H. Forcing herbaceous peonies [J]. *Journal of the American society for horticultural science*, 1986, 111 (3): 379-383.
- KOTCHONI S O, LARRIMORE K E, MUKHERJEE M, et al. Alterations in the endogenous ascorbic acid content affect flowering time in *Arabidopsis* [J]. *Plant physiology*, 2009, 149 (2): 803-815.
- SHEN C H, KRISHNAMURTHY R, YE H K W. Decreased *L-*

ascorbate content mediating bolting is mainly regulated by the galacturonate pathway in *Oncidium*. [J]. *Plant & cell physiology*, 2009, 50(5): 935-946.

[22] CHIN D C, SHEN C H, SENTHILKUMAR R, et al. Prolonged exposure to elevated temperature induces floral transition via up-regulation of cytosolic ascorbate peroxidase 1 and subsequent reduction of the ascorbate redox ratio in *Oncidium* hybrid orchid. [J]. *Plant & cell physiology*, 2014, 55(12): 2164-2176.

[23] OHKAWA K, KANO A, KANEMATSU K, et al. Effects of air

temperature and time on rosette formation in seedlings of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. [J]. *Scientia horticulturae*, 1991, 48(1/2): 171-176.

[24] HARBAUGH B K. Flowering of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. cultivars influenced by photoperiod and temperature [J]. *Hortscience*, 1995, 30(7): 1375-1377.

[25] YANAGIDA M, MINO M, IWABUCHI M, et al. Reduced glutathione is a novel regulator of vernalization-induced bolting in the rosette plant *Eustoma grandiflorum* [J]. *Plant & cell physiology*, 2004, 45(2): 129-137.

Metabolomics analyses of *Eustoma grandiflorum* rosette induced by high temperature

GUO Rui¹ YIN Chaoqun¹ WANG Yuqiao¹ YANG Mei¹
ZHANG Zheng¹ CHU Wenxiang¹ WANG Qin^{1,2} HU Huirong¹

1. *Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education /
College of Horticulture and Forestry Sciences,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;*
2. *School of Civil Engineering, Architecture and Environment,
Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China*

Abstract To explore the metabolic mechanisms of rosette induced by high temperature, GC-MS was used to study metabolic differences in mature leaves and shoot tips of *Eustoma grandiflorum* under normal (22 °C) and high (30 °C) temperatures. Thirty metabolites were identified and results of the PLS-DA analyses of them showed that the metabolites in different organs under different temperatures were separated clearly. Analyses of variance showed that many sugars were decreased and organic acids increased significantly in shoot tips under the high temperature compared with that under the normal temperature. The case in mature leaves was completely opposite. It is indicated that under the high temperature, the decrease of sugars in shoot apex caused the rosette, while the accumulation of sugars in mature leaves improved the stress resistance of *Eustoma grandiflorum*. The metabolite difference between mature leaf and shoot tip under the high temperature is less than that under the normal temperature. It is suggested that the larger difference under the normal temperature shows the different development direction between leaf and shoot, while the smaller difference implies the systematic mechanism of *Eustoma grandiflorum* in response to abiotic stress.

Keywords *Eustoma grandiflorum*; metabolomics; high temperature; rosette; stress

(责任编辑:张志钰)