

东北林下早春植物开花的生理特征研究

潘立本¹ 闫雪² 刘佳² 吴可心¹ 刘洋² 刘少冲^{3*}

(1. 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040; 3. 中国森林博物馆, 哈尔滨 150040)

摘要 为了探索早春开花植物在低温下的开花机制,本研究采集了5种典型早春开花植物和5种非早春开花植物。基于高效液相色谱-质谱代谢组学技术对比分析了早春时期两者之间在内源激素和次生代谢产物上的差异。结果显示:早春开花植物中的生长素(IAA)和玉米素(ZT)含量明显低于非早春开花植物,而赤霉素(GA₃)和脱落酸(ABA)的含量则显著高于非早春开花植物,表明GA₃和ABA可能在促进早春开花植物的开花过程具有调控作用;在次生代谢物方面,酚类代谢物的前体物质L-苯丙氨酸,C6C1结构的酚类化合物:香草酸、丁香酸和原儿茶酸,C6C3结构的化合物:阿魏酸、绿原酸和咖啡酸,以及黄酮类化合物芹菜素、染料木苷、橙皮素、白杨素和高良姜素在非早春开花植物中的含量普遍高于早春开花植物。这可能是由于早春开花植物的开花过程伴随着更多的能量消耗,从而降低了其次生代谢水平。研究结果表明了内源植物激素和次生代谢产物对早春开花植物开花的生理过程的调控,并为进一步理解低温条件下植物开花过程奠定了基础。

关键词 早春开花植物;内源激素;代谢组学;酚类代谢物

中图分类号:Q946.885 文献标志码:A doi:10.7525/j.issn.1673-5102.2022.04.015

Physiological Characteristics of Early Spring Flowering Plants under Northeast Forest

PAN Liben¹ YAN Xue² LIU Jia² WU Kexin¹ LIU Yang² LIU Shaochong^{3*}

(1. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040; 2. Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040; 3. China Forest Museum, Harbin 150040)

Abstract In order to explore the flowering strategies of early spring flowering plants at low temperatures, five early spring flowering plants and five non-early spring flowering plants were collected, and the endogenous hormones and secondary metabolites between early spring flowering plants and non-early spring flowering plants were analyzed by high performance liquid chromatography-mass spectrometry and metabolomics. The results showed that the content of auxin (IAA) and zeatin (ZT) in early spring flowering plants were significantly lower than that in non-early spring flowering plants, while gibberellin (GA₃) and abscisic acid (ABA) were significantly higher than that in non-early spring flowering plants, indicated that GA₃ and ABA might play a regulatory role in promoting the flowering process of early spring plants. In the secondary metabolites, L-phenylalanine, the precursor of phenolic metabolites, was usually higher in non-early spring flowering plants than in early spring flowering plants. In addition, there were C6C1 phenolic compounds, including vanillic

基金项目:东北林区禁伐区天然林重要野生经济植物资源价值评估(2019FY100505)

第一作者简介:潘立本(1997—),女,博士研究生,主要从事林下植物的生理生化研究。

* 通信作者:E-mail:lsenefu@126.com

收稿日期:2021-11-17

Foundation item: Value Evaluation of Important Wild Economic Plant Resources in Natural Forests in Forbidden Logging Zone in Northeast Forest Region(2019FY100505)

First author introduction: PAN Liben (1997—), female, Ph.D candidate, mainly engaged in the study of physiological and biochemical of understory plants.

* Corresponding author: E-mail: lsenefu@126.com

Received date: 2021-11-17

acid, syringic acid and protocatechuic acid; C6C3 phenolic compounds, including ferulic acid, chlorogenic acid and caffeic acid; Flavonoids, including apigenin, genistein, hesperidin, chrysin and galangin, were generally higher in non-early spring flowering plants than in early spring flowering plants. The changes of these secondary metabolites might be due to a large amount of material loss caused by the flowering process of flowering plants in early spring, which reduced the level of secondary metabolism. The results showed that endogenous plant hormones and secondary metabolites regulated the physiological process of flowering plants in early spring, and laid a foundation for further understanding the flowering process of plants under low temperatures.

Key words early spring flowering plants; endogenous hormones; metabolomics; phenolic metabolites

早春开花植物一般为生长在落叶阔叶林下的一些多年生植物,其生命周期短,在早春冰雪初融时迅速展叶,经过短暂的营养生长在早春开花,并在林冠上层植物展开叶片前完成生活史然后进入休眠状态,对林下低光潮湿的环境适应性较强,同时也具备一定的观赏和药用价值^[1]。在全球气候变暖的背景下,人们对早春开花植物的地理分布、资源价值、抗寒性、开花调控的生理机制等方面研究增多^[2-3]。其中,植物激素和次生代谢物是调控植物开花的关键物质,我们目前对此方面的理解还不够深入。

内源激素在植物整个生命周期都发挥着重要的调控作用^[4]。Khan等^[5]提出,调节植物生长和发育始终是多种植物激素共同作用的结果,植物激素对花发育的调节不是由任何单一激素决定的。韩忠海等^[6]的研究表明,在羊草拔节期,叶面喷施GA和KT对羊草的开花和结实有促进作用。还有研究发现,在罗汉果花芽分化过程中,GA₃和IAA含量上升,而ABA和ZR含量的降低,且高比值的ABA/GA₃和ZR/GA₃有利于花芽分化^[7]。

酚类代谢物属于植物的次生代谢产物,在植物中起着重要的作用,它们也参与了植物的开花过程^[8]。之前的研究在花中以及开花过程中发现了黄酮醇类物质的积累,进一步证明了关于黄酮醇可能在植物生殖发育中发挥关键作用的假说^[9]。另外,还有研究发现在花粉形成、花粉粒萌发和花粉管生长的过程中,IAA和类黄酮的含量均增加,说明雄性配子体的形成在很大程度上取决于内源性IAA和类黄酮的水平^[8]。在早春植物开花植物中酚类代谢物的含量及变化还有待进一步研究。

东北林下早春开花的草本植物主要集中在百合科(Liliaceae)、堇菜科(Violaceae)、毛茛科(Ranunculaceae)等。本研究选用的早春开花植物冰凌花(*Adonis amurensis* Regel et Radde)、黑水银莲花(*Anemone amurensis* (Korsh.) Kom.)、平贝母

(*Fritillaria ussuriensis* Maxim)、鹿药(*Smilacina japonica* A. Gray)、顶冰花(*Gagea lutea* (L.) Ker-Gawl.)以及非早春开花植物耬斗菜(*Aquilegia viridiflora* Pall.)、升麻(*Cimicifuga foetida* L.)、乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx.)、藜芦(*Veratrum nigrum* L.)和东北百合(*Lilium distichum* Nakai),它们都分布在百合科和毛茛科,是东北地区代表性的早春植物。目前对这些植物的研究主要集中在形态学、开花特性、繁殖与栽培、分子生物学和药用成分等方面。本研究通过对比分析早春开花植物和非早春开花植物在植物内源激素方面的差异,同时对二者之间的酚类代谢产物进行检测及分析,进一步揭示早春开花植物在低温下开花的生理特征变化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验选取的5种早春开花植物为:冰凌花、黑水银莲花、平贝母、鹿药、顶冰花,它们的花期都在4—5月;5种非早春开花植物为:升麻、乌头、耬斗菜、藜芦、东北百合,它们的花期在7—8月。采样时间为2019年4月中旬,在东北林业大学帽儿山实验林场老山地区(45°16'23.94"N, 127°34'35.67"E),首先建立1个10 m×10 m的典型样地,在样地内以四角及中心位置设置5个1 m×1 m的样方,在样方内随机采集10种目标植物,采集部位为植物中部成熟叶片,每种植物3个生物学重复。样品经蒸馏水清洗去除表面杂质,液氮速冻后保存至冰箱中-80 °C保存备用。

1.2 内源激素的提取、纯化与检测

参照Mornya等^[10]的方法进行内源激素赤霉素(gibberellin, GA₃)、生长素(indole-3-acetic acid, IAA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和玉米素(zeatin, ZT)的提取。将0.50 g叶片样品在10 mL含有1 mmol·L⁻¹ 2,6-二叔丁基对羟基甲苯的80%冷甲

醇中研磨成匀浆。将匀浆转移至试管中,并加入 20 mg 聚乙烯吡咯烷酮,充分混合均匀后在 4 °C 下孵育过夜。孵育结束后 6 000 r·min⁻¹离心 20 min,收集上清液,将沉淀在 2 mL 冷甲醇中萃取 12 h,离心后再次收集上清液。合并两次上清液,使用 1 mol·L⁻¹ HCl 将其 pH 值调节至 2.5~3.0,并用等体积的乙酸乙酯中提取 3 次。

通过 C18 Sep-Pak 柱 (Waters Corp., Milford, MA) 进行激素纯化。先后用纯甲醇和去离子水淋洗柱子 2 次,再用注射器将样品加入到柱中,最后用 1 mL 80% 的甲醇水溶液洗脱 2 次。洗脱后的组分用真空离心浓缩仪 LSE-3K (常州金坛良友仪器有限公司) 挥干,重新溶解于 0.2 mL 80% 的甲醇中,待测。

利用高效液相色谱 (UPLC) 系统和三重四极杆飞行时间 (Q-TOF) 串联质谱仪 (Xevo G2-XS QToF, Waters Corp., USA) 进行检测。检测参数为:毛细管电压 3500 V、碎裂电压 135 V、源温度 350 °C、雾化压力 40 psi。检测在 ESI+ 模式下进行,质荷比 (*m/z*) 范围为 50~1 200。流动相以 0.5 mL·min⁻¹ 的流速进行梯度洗脱:(A) 0.04% 乙酸-水,(B) 0.04% 乙酸-乙腈;从 0 min 时的 5% B 到 20 min 时的 95% B 到 22.1 min 时的 5% B,然后保持在 5% B 直到 28 min。

1.3 酚类代谢物的提取与检测

根据刘洋^[11]的方法进行样品制备:将植物叶的干燥粉末 0.5 g 放入 25 mL 离心管中,加入 70% 甲醇 10 mL,利用超声辅助提取法常温提取 45 min,然后 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液;再次加入 10 mL 的 70% 甲醇,超声后离心,将两次上清液合并;放入真空离心浓缩仪挥干后,加入 1 mL 的 70% 甲醇复溶,冰箱中-20 °C 保存。

用高效液相色谱 (UPLC) 系统和四极杆飞行时间 (Q-TOF) 串联质谱仪 (Xevo G2-XS QToF, Waters Corp., USA) 进行测定。参数如下:毛细管电压 3 000 V,源温度 500 °C,检测在 ESI+ 模式下进行,质荷比 (*m/z*) 为 50~1 200。通过 ACQUITY C18 色谱柱 (1.7 μm, 2.1 mm×50 mm; Waters, 中国上海) 进行样品的分离,梯度洗脱使用以下溶剂系统进行:(A) 0.05% 甲酸-水,(B) 0.05% 甲酸-乙腈;流速 0.5 mL·min⁻¹,从 0 min 时的 5% B 到 20 min 时的 95% B 到 22.1 min 时的 5% B,然后保持在 5% B 直到 28 min。

1.4 数据处理

使用软件 MassLynx 4.1 对 UPLC-MS 数据进行分析,按照标准曲线计算得到提取液中各内源激素和酚类化合物的含量 (μg·mL⁻¹)。用 SPSS 22.0 进行数据的统计、归一化处理以及方差分析,数据以“平均值±标准误”表示。总体比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA),组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,以 *P*<0.05 作为判断差异显著性的标准,*P*<0.01 表示有极显著差异。酚类化合物数据使用 MetaboAnalyst 5.0 网站进行聚类分析,其他试验数据用 GraphPad Prism 8 作图。

2 结果与分析

2.1 内源激素含量比较分析

植物的内源激素与开花的关系是复杂的,通过激素之间的相互作用,可以影响可溶性糖、蛋白质以及其他营养物质,从而控制植物开花。综合分析两类植物的内源激素 ABA, GA₃, IAA, ZT 的比例,我们发现早春开花植物中的 IAA/ABA, ZT/ABA, (IAA+GA₃)+ZT/ABA 值均显著低于非早春开花植物 (见图 1),而 GA₃/ABA 在两类植物中差异不显著。由图 2 可知,ABA/GA₃ 在两类植物中无显著差异,但 IAA/GA₃ 和 ZT/GA₃ 在早春开花植物中都显著低于非早春开花植物。早春开花植物与非早春开花植物中 IAA 的差异显著 (见图 3), GA₃/IAA, ABA/IAA, (GA₃+ABA+ZT)/IAA 的值在早春开花植物中显著高于未开花植物,由此可见早春开花植物中的 IAA 含量较低。同时,早春开花植物中 GA₃/ZT, ABA/ZT 和 (IAA+GA₃+ABA)/ZT 的值均显著高于非早春开花植物 (见图 4)。综上所述,在早春开花植物中分布较多的植物激素是 GA₃ 和 ABA,且 GA₃/IAA 和 ABA/IAA 的值与非早春开花植物相比普遍较大。

2.2 目标酚类化合物分布情况

本研究所检测的 31 种酚类化合物,按照其结构式判定芳香环上的碳被羟基替代情况、酚羟基的多少及分布状况和取代基的类型将化合物分为 C6C1 骨架、C6C3C6 骨架和 C6C3 骨架,及其他相关信息均列于表 1。将目标代谢物数据标准化后,进行聚类分析以获得两类植物叶片中酚类化合物分布的热图。如图 5 所示,在早春开花植物中显著积累的有 *L*-苯丙氨酸, C6C3 骨架化合物:迷迭香酸、对羟基肉桂酸和肉桂酸; C6C1 骨架化合物:龙

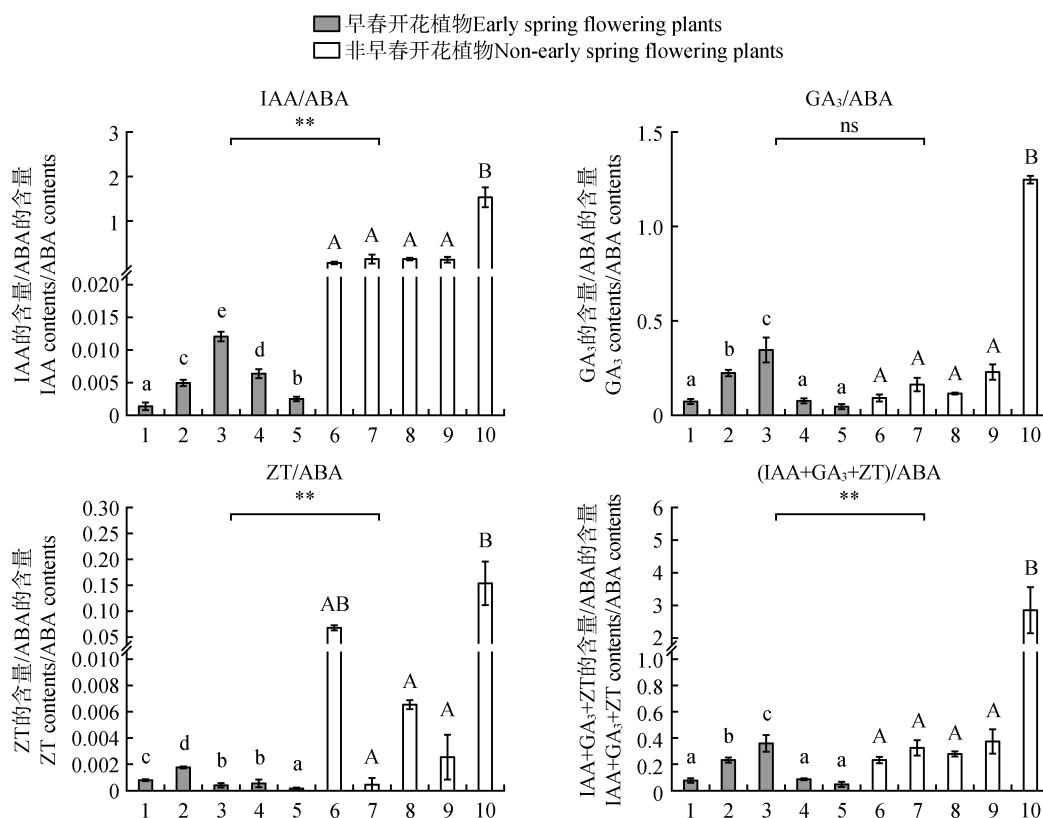


图1 早春开花植物和非早春开花植物中其他激素与 ABA 的比例

1. 冰凌花; 2. 黑水银莲花; 3. 平贝母; 4. 鹿药; 5. 顶冰花; 6. 耬斗菜; 7. 升麻; 8. 乌头; 9. 藜芦; 10. 东北百合; 不同小写字母表示早春开花植物差异显著 ($P < 0.05$); 不同大写字母表示非早春开花植物差异显著 ($P < 0.05$); *表示早春开花植物与非早春开花植物组间存在差异 ($P < 0.05$), **表示两组间差异极显著 ($P < 0.01$), ns 表示两组间无显著差异; 下同

Fig.1 The ratio of other hormones to ABA in early spring flowering plants and non-early spring flowering plants

1. *Adonis amurensis*; 2. *Anemone amurensis*; 3. *Fritillaria ussuriensis*; 4. *Smilacina japonica*; 5. *Gagea lutea*; 6. *Aquilegia viridiflora*; 7. *Cimicifuga foetida*; 8. *Aconitum carmichaeli*; 9. *Veratrum nigrum*; 10. *Lilium distichum*; Different small letters indicate the significant difference between early spring flowering plants ($P < 0.05$); Different capital letters indicate the significant difference between non early spring flowering plants ($P < 0.05$); * indicates the difference between early spring flowering plants and non-early spring flowering plants ($P < 0.05$), ** indicates the extremely significant difference between groups ($P < 0.01$), ns indicates that there is no significant difference between the two groups; The same as below

胆酸和苯甲酸; C6C3C6 骨架化合物: 甘草素、大豆苷元、芦丁、柚皮苷、紫云英苷、异槲皮苷和花旗松素。而 C6C3 骨架化合物: 咖啡酸、绿原酸、阿魏酸和芥子酸; C6C1 骨架化合物: 原儿茶酸、丁香酸和香草酸; C6C3C6 骨架化合物: 异甘草素、染料木素、芹菜素、木犀草素、山奈酚、橙皮素、柚皮素和染料木苷和白杨素在早春开花植物中积累较少, 它们大量积累于非早春开花植物中。

3 讨论

内源激素参与植物的整个生命过程, 并通过在植物体内建立复杂而完整的信号网络, 传输外源或内源信号来促进植物生长和发育。激素平衡假说最早由 Luckwill 提出, 植物的花芽分化可以通

过 CTK/GA 或 GA/CTK 的平衡进行调控, 同时控制各种营养物质的代谢。本研究对早春开花植物和非早春开花植物中的内源激素的比值进行了比较分析, 发现早春开花植物中其他激素与 IAA 的比值高于非早春开花植物, 而 IAA 与其他激素的比值显著较低 (见图 3), 表明早春开花植物中 IAA 的含量低于非早春开花植物。生长素在花原基的萌发和花的发育中起作用^[12]。先前的研究表明, 作为主要生长激素的生长素 (IAA) 可以响应低温刺激植物生长^[13], IAA 含量的降低促进了小麦 (*Triticum sativum*) 花的发育。Huang 等^[14]也发现 IAA 下调会降低 bra-miR393 的表达, 从而进一步调节植物开花。我们的研究结果进一步证实了 IAA 在植物响应低温和促进开花中的作用。有些

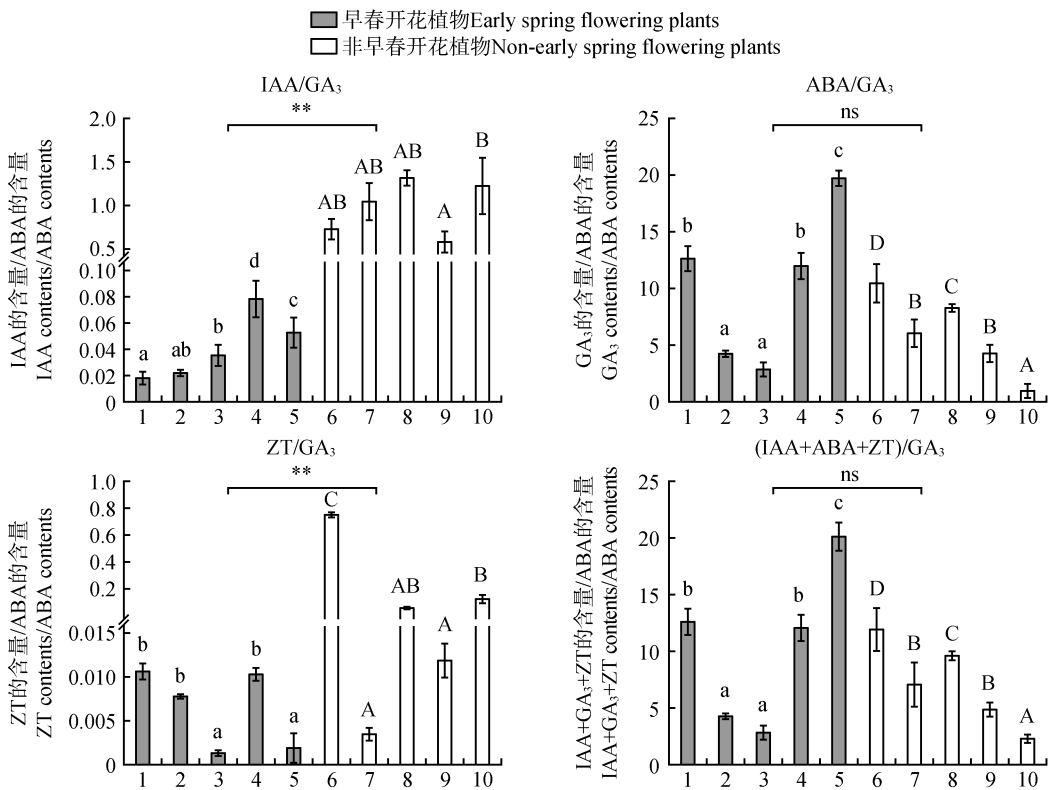


图2 早春开花植物和非早春开花植物中其他激素与GA₃的比例

Fig.2 The ratio of other hormones to GA₃ in early spring flowering plants and non-early spring flowering plants

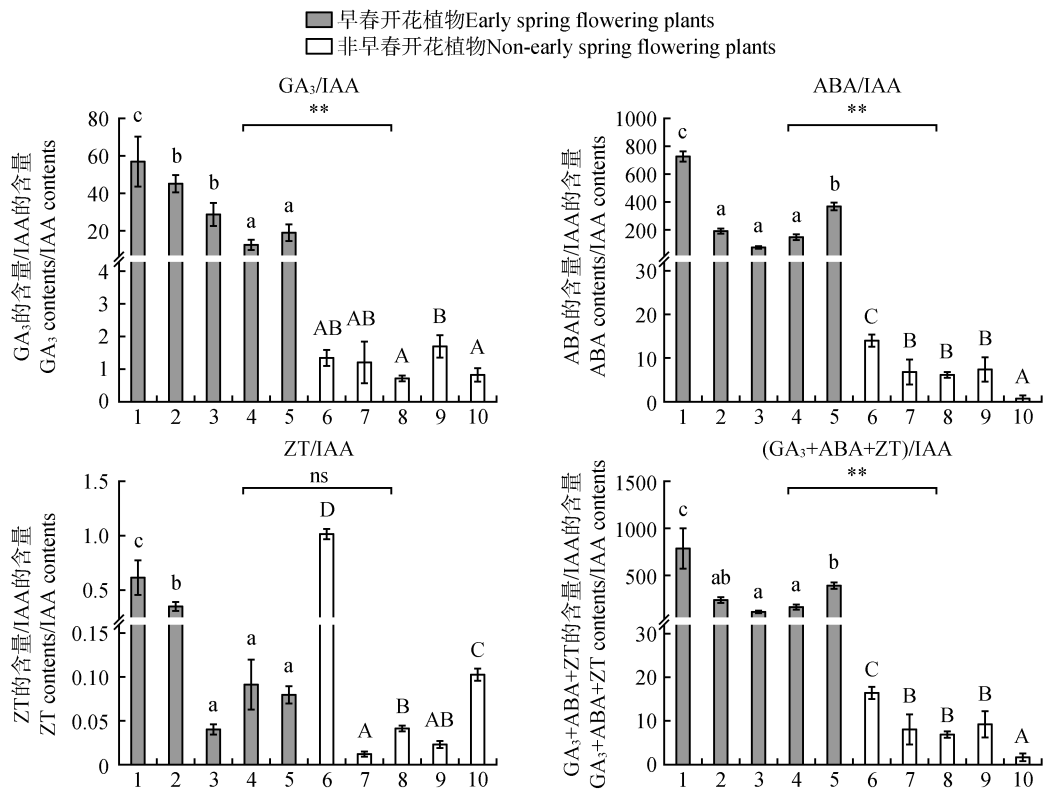


图3 早春开花植物和非早春开花植物中其他激素与IAA的比例

Fig.3 The ratio of other hormones to IAA in early spring flowering plants and non-early spring flowering plants

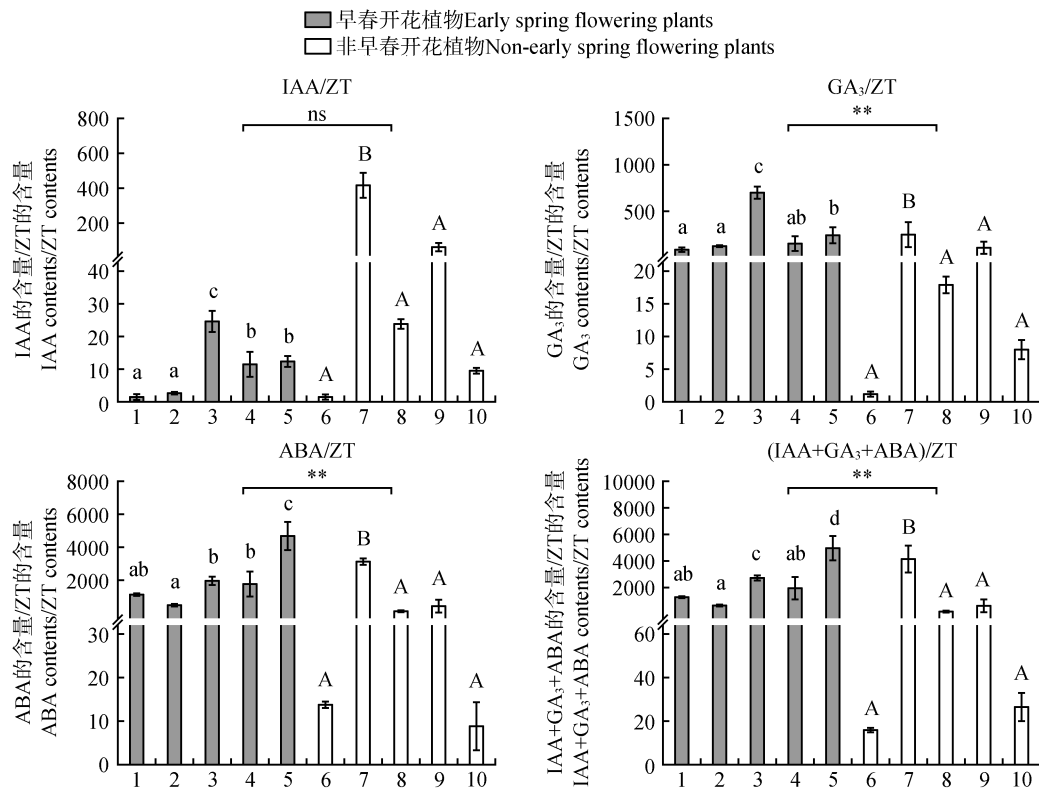


图4 早春开花植物和非早春开花植物中其他激素与ZT的比例

Fig.4 The ratio of other hormones to ZT in early spring flowering plants and non-early spring flowering plants

学者认为赤霉素可以参与植物的开花调控,诱导植物进入花期并调节花的发育,例如甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 开花过程中赤霉素的内源性水平上调^[15]。在本研究中,早春开花植物中 IAA/GA₃ 值低于非早春开花植物(见图2),也证明了赤霉素在早春开花植物中的含量较高。同时我们观察到,早春开花植物中 IAA/ABA, ZT/ABA, (IAA+GA₃+ZT)/ABA 的值均显著低于非早春开花植物(见图1),说明早春开花植物中 ABA 含量相对较高。生理研究表明,花蕾分化过程中苹果 (*Malus pumila*)^[16] 的 ABA 含量逐渐增加,可以看出高浓度的 ABA 促进花芽分化;但是 ABA 的含量过高会抑制龙眼花蕾的形成^[17]。在草本植物中,ABA 在菊花 (*Chrysanthemum*) 花芽分化过程中也逐渐增加^[18]。之前还有研究发现较高浓度的 ABA 在毛竹 (*Phyllostachys edulis*) 花的发育过程中起着促进作用^[19]。在本文研究结果中,GA₃/ZT, ABA/ZT 值以及 (IAA+GA₃+ABA)/ZT 在早春开花植物中显著高于非早春开花植物(见图4),由此可见,ZT 在早春开花植物中的含量有所降低。这一结果在先前的研究中也报道^[20],细胞分裂素在低温条件下根系合成的

细胞分裂素上运受阻,因而地上部含量较低,但是目前关于细胞分裂素在植物开花中的作用中还有待进一步研究。此外,早春植物中较低的 IAA 含量和较高的 ABA 和 GA₃ 含量也证明开花期间植物的激素调节趋于平衡,激素之间的这种平衡调控植物的开花过程。

植物激素可以调控植物的生长发育及其对环境的适应。已有研究发现,不同植物激素之间存在大量的互作,并且每种激素作用的发挥取决于特定激素的组合,而不是单个激素的作用^[21]。在激素的信号转导方面也是如此,植物激素的信号转导途径存在着复杂的交互作用,同一个调控蛋白也可能在多条信号途径中起作用。DELLA 蛋白在 GA 信号转导途径中作为核心负调控因子发挥功能,DELLA 蛋白还作为多个信号通路交叉互作的节点发挥功能,相关研究一直是热点。拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中的研究提供了由 DELLA 蛋白 RGA 介导的生长素和赤霉素信号串扰的直接证据^[22]。番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 中的研究表明果实萌发过程中生长素与赤霉素的信号串扰是通过 SIDELLA 和 SIARF7/SIIAA9 复合物介导

表 1 基于 LC-MS 测定的目标代谢物基本信息

Table 1 Basic information of target metabolites based on LC-MS

化合物 Compounds	保留时间 Retention time /min	质荷比 m/z	分子式 Molecular formula	碳骨架 Carbon skeleton	化合物 Compounds	保留时间 Retention time /min	质荷比 m/z	分子式 Molecular formula	碳骨架 Carbon skeleton
对羟基肉桂酸 <i>P</i> -hydroxycinnamic acid	4.26	164/146	C ₉ H ₈ O ₃	C6C3	柚皮苷 Naringin	4.93	581/272	C ₉ H ₁₁ NO ₂	C6C3C6
苯甲酸 Benzoic acid	5.69	123/78	C ₇ H ₆ O ₂	C6C1	山奈酚 Kaempferol	7.94	287/152.9	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	C6C3C6
龙胆酸 2,5-dihydroxybenzoic acid	3.06	154/136	C ₇ H ₆ O ₄	C6C1	甘草素 Liquiritigenin	6.58	257/136	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	C6C3C6
染料木素 Genistein	7.78	271/152	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	C6C3C6	高良姜素 Galangin	7.68	270/152	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	C6C3C6
芹菜素 Apigenin	7.79	271/91	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	C6C3C6	原儿茶酸 Protocatechuic acid	2.24	154/65	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	C6C1
大豆苷元 Daidzein	6.31	255/180	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	C6C3C6	芦丁 Rutin	3.99	611/302	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	C6C3C6
丁香酸 Syringic acid	3.31	199/140	C ₉ H ₁₀ O ₅	C6C1	异甘草素 Isoliquiritigenin	8.69	257/146	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	C6C3C6
柚皮素 Naringenin	7.83	273/152	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	C6C3C6	香草酸 Vanillic acid	3.24	169/92	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	C6C1
槲皮素 Quercetin	4.89	449/303	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	C6C3C6	染料木苷 Genistin	4.47	432.9/271	C ₈ H ₈ O ₄	C6C3C6
绿原酸 Chlorogenic acid	2.58	355/162	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	C6C3	白杨素 Chrysin	6.25	255/153	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	C6C3C6
阿魏酸 Ferulic acid	4.53	195/176	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	C6C3	紫云英苷 Astragaln	4.75	449.1/287.1	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	C6C3C6
木犀草素 Luteolin	6.68	287.1/152.5	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	C6C3C6	花旗松素 Taxifolin	4.72	305/231	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	C6C3C6
肉桂酸 Cinnamic acid	7.41	148/103	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	C6C3	迷迭香酸 Rosmarinic acid	5.32	361/163	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	C6C3
橙皮素 Hesperetin	8.14	303/177	C ₉ H ₈ O ₂	C6C3C6	异槲皮苷 Isoquercitrin	4.26	465.1/303	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	C6C3C6
咖啡酸 Caffeic acid	3.25	181/163	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	C6C3	芥子酸 Sinapic acid	4.40	225/207	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	C6C3
<i>L</i> -苯丙氨酸 <i>L</i> -phenylalanine	1.69	166/92	C ₉ H ₈ O ₄						

的^[23]。两者的协同作用对植株的生长调控具有重要意义, DELLA 蛋白可直接抑制 PIF (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR) 蛋白的转录活性, 而 PIF 蛋白对生长素的生物合成具有促进作用^[24]。同时, DELLA 蛋白在 ABA 的合成与信号转导中也发挥着重要作用。于磊^[25]研究表明, 水曲柳中 DELLA 可促进 ABA 的生物合成并在逆境条件下增强 ABA 信号转导。我们的研究也表明, 在早春开花植物中, GA 和 ABA 的含量较高时, IAA 会有所降低, 进一步证明激素在信号转导过程中存在互作。

植物中的大多数酚类物质都是通过莽草酸途

径合成的, 并以 *L*-苯丙氨酸为前体物质。早春开花植物中的 *L*-苯丙氨酸相对含量显著高于非早春开花植物, 说明酚类化合物积极参与了植物开花这一生理过程。Dai 等^[26]曾发现用苯丙氨酸拮抗剂 DL-P-氟代苯丙氨酸处理不同时期的日本牵牛花, 会抑制其开花, 与本研究一致。C6C1 骨架的酚类化合物香草酸、丁香酸和原儿茶酸在早春开花植物中的相对含量较低, 而龙胆酸和苯甲酸在开花植物中显著积累。原儿茶酸是植物多酚(如花青素)的主要酚类代谢产物, 在早春开花植物中观察到原儿茶酸的相对含量较低, 多酚含量在早春开花植物中可能也积累较少。有研究表明, 苯

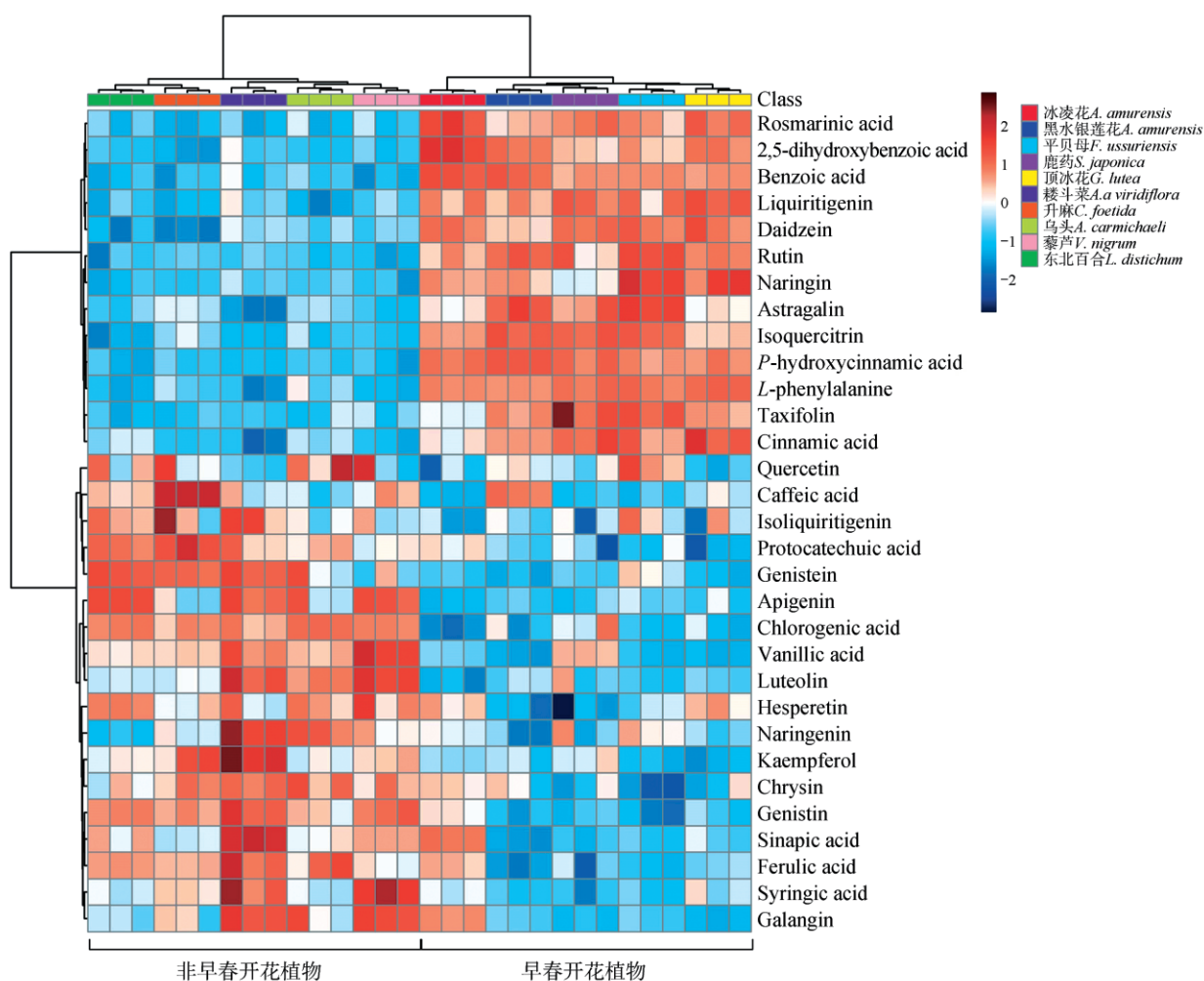


图5 两类植物叶片中酚类化合物的聚类分析

Fig.5 Hierarchical cluster analysis of phenolic compounds in two types of plant leaves

甲酸、肉桂酸在大麦根对磷和钾等营养元素的吸收过程中起阻抑作用^[27],且香豆素和苯甲酸使大麦胚的蔗糖含量增加,说明苯甲酸与糖类合成关系密切,本研究中苯甲酸在早春开花植物中显著积累,可以推测早春开花植物中糖类含量的增加。具有 C6C3 骨架的化合物对羟基肉桂酸、迷迭香酸,以及肉桂酸在早春开花植物中显著积累,而阿魏酸、绿原酸和咖啡酸在开花植物中含量较低。有研究发现 *P*-香豆酸和肉桂酸可以使氧化磷酸化与呼吸链的偶联遭到破坏,进而影响植物的呼吸作用。在我们的研究中,早春开花植物中肉桂酸含量的积累可能与其在低温环境中呼吸速率降低有一定关系。本研究发现具有 C6C3C6 结构的酚类化合物占最大比例,这些酚类化合物通常被归类为与植物花瓣颜色以及授粉相关的黄酮类物质。在本研究中,芦丁、柚皮苷、甘草素、大豆苷元

和异槲皮苷在早春开花植物中显著积累,而柚皮素、染料木苷、染料木素、橙皮素、白杨素、高良姜素和芹菜素在开花植物中含量较低。染料木苷、橙皮素、白杨素和高良姜素在非早春开花植物中有较多分布,这可能是由于它们在早春植物的开花过程中发挥了作用而引起了大量损耗,例如芹菜素。芹菜素是一种天然的黄酮类化合物,之前有研究发现芹菜素可能承担开花期间吸引传粉者的任务^[28]。本研究观察到芹菜素在两类植物中的分布差异很大,在未开花植物中积累较多,可能是由于早春开花植物将大量芹菜素用于授粉而导致的。目前关于植物中酚类化合物的研究报道很多,但同时针对多个物种类型的酚类化合物分析却很少。我们的研究发现,早春开花植物和非早春开花植物在酚类代谢物的分布上有很大差异,正是这种差异导致了早春开花植物通过外界低温

环境的刺激而完成开花调控,处在相同环境的未开花植物却仍处于营养生长阶段。这不仅有助于我们进一步了解早春开花植物的开花策略,同时也对早春植物的深入研究具有重要意义。

4 结论

本研究通过对早春开花植物与非早春开花植物的内源激素比值以及酚类代谢物含量进行综合分析,进而了解早春开花植物在低温环境下开花的生理特征。研究表明,早春开花植物中的 IAA 和 ZT 含量明显低于非早春开花植物中的 IAA 含量,而 GA₃ 和 ABA 含量较高。另外,酚类代谢物的前体物质 L-苯丙氨酸在早春开花植物中含量较高,表明酚类化合物积极响应了早春植物开花这一过程;同时, C6C1 骨架化合物香草酸、丁香酸和原儿茶酸, C6C3 骨架化合物阿魏酸、绿原酸和咖啡酸,以及黄酮类化合物芹菜素、染料木苷、橙皮素、白杨素和高良姜素在未开花植物中有较多分布,这可能是由于它们在早春植物的开花过程中发挥了作用而引起了大量损耗。这些发现不仅有助于我们对早春开花植物的进一步认识,并为早春开花植物的鉴定、人工生产、栽培和开发利用奠定了理论基础。

参 考 文 献

- [1] 刘晓春. 早春植物及其生态学特性初探[J]. 林业勘察设计, 2003(1): 28-30.
LIU X C. A preliminary study on early spring plants and their ecological characteristics[J]. Forest Investigation Design, 2003(1): 28-30.
- [2] 李群, 王萌, 阮成江. 五种早春开花木本植物花粉萌发的研究[J]. 北方园艺, 2013(21): 73-76.
LI Q, WANG M, RUAN C J. Study on germination of five species of early spring flowering woody plants[J]. Northern Horticulture, 2013(21): 73-76.
- [3] 李盼华, 石丽环, 沙翠云, 等. 10种早春开花植物花器官抗寒临界温度比较研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(8): 98-102.
LI P H, SHI L H, SHA C Y, et al. The cold critical temperature compare of 10 species of early spring flowering plants in Baoding[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(8): 98-102.
- [4] WOLTERS H, JÜRGENS G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development [J]. Nature Reviews Genetics, 2009, 10(5): 305-317.
- [5] KHAN M, ROZHON W, POPPENBERGER B. The role of hormones in the aging of plants—a mini-review[J]. Gerontology, 2014, 60(1): 49-55.
- [6] 韩忠海, 李晓宇, 张继涛, 等. 外源植物激素对羊草开花习性 & 结实特征的影响[J]. 中国农学通报, 2019, 35(35): 124-128.
HAN Z H, LI X Y, ZHANG J T, et al. Exogenous plant hormones affect blooming and fruiting characteristics of *Leymus chinensis* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(35): 124-128.
- [7] 覃喜军, 黄夕洋, 蒋水元, 等. 罗汉果花芽分化过程中内源激素的变化[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(9): 939-942.
QIN X J, HUANG X Y, JIANG S Y, et al. Changes in endogenous hormones during floral bud differentiation of *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey [J]. Plant Physiology Communications, 2010, 46(9): 939-942.
- [8] KOVALEVA L V, ZAKHAROVA E V, MINKINA Y V. Auxin and flavonoids in the progame phase of fertilization in *Petunia* [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2007, 54(3): 396-401.
- [9] YLSTRA B, TOURAEV A, MORENO R, et al. Flavonols stimulate development, germination, and tube growth of tobacco pollen [J]. Plant Physiology, 1992, 100(2): 902-907.
- [10] MORNYA P, CHENG F Y. The levels of hormone and carbohydrate in autumn and non-autumn flowering tree peonies [J]. Canadian Journal of Plant Science, 2011, 91(6): 991-998.
- [11] 刘洋. 应用代谢组学对比研究两种黄芪响应 UV-B 和干旱胁迫的代谢基础[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018.
LIU Y. Comparative metabolomics study on the metabolic basis of two varieties of *Astragalus* in response to UV-B and drought stress [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2018.
- [12] ALABADÍ D, BLÁZQUEZ M A, CARBONELL J, et al. Instructive roles for hormones in plant development [J]. The International Journal of Developmental Biology, 2009, 53(8/9/10): 1597-1608.
- [13] LIANG N G, CHENG D Y, LIU Q H, et al. Difference of proteomics vernalization-induced in bolting and flowering transitions of *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 123: 222-232.
- [14] HUANG F Y, WU X T, HOU X L, et al. Vernalization can regulate flowering time through microRNA mechanism in *Brassica rapa* [J]. Physiologia Plantarum, 2018, 164(2): 204-215.
- [15] ZANEWICH K P, ROOD S B. Vernalization and endogenous gibberellin in winter canola [J]. Plant Physiology, 2014, 164(2): 204-215.

- 1993, 102(1):9.
- [16] 曹尚银, 张俊昌, 魏立华. 苹果花芽孕育过程中内源激素的变化[J]. 果树科学, 2000, 17(4): 244-248.
CAO S Y, ZHANG J C, WEI L H. Studies on the changes of endogenous hormones in the differentiation period of flower bud in apple trees [J]. Journal of Fruit Science, 2000, 17(4): 244-248.
- [17] 黄羌维. 龙眼内源激素变化和花芽分化及大小年结果的关系[J]. 热带亚热带植物学报, 1996, 4(2): 58-62.
HUANG Q W. Changes in endogenous hormone contents in relation to flower bud differentiation and on-year or off-year fruiting of longan [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 1996, 4(2): 58-62.
- [18] 林贵玉, 郑成淑, 孙宪芝, 等. 光周期对菊花花芽分化和内源激素的影响[J]. 山东农业科学, 2008(1): 35-39.
LIN G Y, ZHENG C S, SUN X Z, *et al.* Effects of photoperiod on floral bud differentiation and contents of endogenous hormones in *Chrysanthemum* [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2008(1): 35-39.
- [19] 齐飞艳, 彭镇华, 胡陶, 等. 毛竹花期不同器官内源激素含量的变化[J]. 林业科学研究, 2013, 26(3): 332-336.
QI F Y, PENG Z H, HU T, *et al.* Changes of endogenous hormones in different organs during the flowering phase of moso bamboo [J]. Forest Research, 2013, 26(3): 332-336.
- [20] 王三根. 细胞分裂素在植物抗逆和延衰中的作用[J]. 植物学通报, 2000, 35(2): 121-126, 167.
WANG S G. Roles of cytokinin on stress-resistance and delaying senescence in plants [J]. Bulletin of Botany, 2000, 35(2): 121-126, 167.
- [21] 李钱峰, 鲁军, 余佳雯, 等. 油菜素内酯与脱落酸互作调控植物生长与抗逆的分子机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2018, 54(3): 370-378.
LI Q F, LU J, YU J W, *et al.* Advances in molecular mechanisms of brassinosteroid-abscisic acid crosstalk coordinating plant growth and stress tolerances [J]. Plant Physiology Journal, 2018, 54(3): 370-378.
- [22] OH E, ZHU J Y, BAI M Y, *et al.* Cell elongation is regulated through a central circuit of interacting transcription factors in the *Arabidopsis* hypocotyl [J]. eLife, 2014, 3: e03031.
- [23] HU Y R, HAN X, YANG M L, *et al.* The transcription factor inducer of CBF expression interacts with abscisic acid insensitive5 and DELLA proteins to fine-tune abscisic acid signaling during seed germination in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2019, 31(7): 1520-1538.
- [24] DU J B, JIANG H K, SUN X, *et al.* Auxin and gibberellins are required for the receptor-like kinase ERECTA regulated hypocotyl elongation in shade avoidance in *Arabidopsis* [J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 124.
- [25] 于磊. 水曲柳 DELLA 家族基因应答低温胁迫及参与被动休眠调控研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2021.
YU L. Response to low temperature stress and participates in passive dormancy regulation of DELLA family genes of *Fraxinus mandshurica* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2021.
- [26] DAI Y R, WANG J. Inhibition of photoperiodic induction of flowering by DL-p-Fluorophenylalanine in *Pharbitis nil* [J]. Acta Phytophysiological Sinica, 1988, 14(3): 304-307.
- [27] 王祥军, 齐军仓, 王仙, 等. 不同类型大麦品种籽粒中酚酸类化合物含量的差异[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(5): 847-852.
WANG X J, QI J C, WANG X, *et al.* Difference of phenolic acid contents in the kernels of different types of barley [J]. Journal of Triticeae Crops, 2010, 30(5): 847-852.
- [28] REPČÁK M, KRAUSOVÁ T. Phenolic glucosides in the course of ligulate flower development in diploid and tetraploid *Matricaria chamomilla* [J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 19-22.