



低温诱导大百合鳞茎休眠解除与酚类代谢关系

蔡子安, 李荣琛, 赵志珩, 陈玉珍, 卢存福

引用本文:

蔡子安,李荣琛,赵志珩,陈玉珍,卢存福. 低温诱导大百合鳞茎休眠解除与酚类代谢关系[J]. 热带亚热带植物学报, 2024, 32(2): 209–218.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4741>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

东乡野生稻苗期响应低温胁迫的转录组分析

Transcriptome Analysis of Response to Low Temperature Stress in Dongxiang Wild Rice at Seedling Stage
热带亚热带植物学报. 2021, 29(6): 616–625 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4387>

铁皮石斛WOX转录因子的鉴定和分析

Identification and Analysis of WOX Transcription Factor in *Dendrobium officinale*
热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 301–310 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4294>

番石榴4个品种叶和幼果的生物活性和酚类成分研究

Biological Activities and Phenolic Constituents in Extracts from Leaves and Young Fruits of Four Guava Cultivars
热带亚热带植物学报. 2021, 29(6): 694–702 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4416>

接种丛枝菌根真菌对柑橘生长与次生代谢的影响

热带亚热带植物学报. 2020, 28(1): 78–83 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4087>

我国果蔬采后生理学进展

Advances in Postharvest Physiology of Fruits and Vegetables in China
热带亚热带植物学报. 2019, 27(5): 558–564 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4090>

向下翻页，浏览PDF全文

低温诱导大百合鳞茎休眠解除与酚类代谢关系

蔡子安¹, 李荣琛¹, 赵志珩², 陈玉珍^{1*}, 卢存福^{1*}

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 林木育种与生态修复国家工程研究中心, 北京 100083; 2. 广西壮族自治区林业科学研究院, 广西特色经济林重点实验室, 南宁 530002)

摘要: 大百合(*Cardiocrinum giganteum*)为多年生球根药食同源植物, 其鳞茎具有典型的生理休眠特性, 而低温是百合鳞茎解除休眠的重要环境因子。为揭示大百合鳞茎休眠解除的分子机制, 该研究对 4 °C 低温处理 0、30 和 60 d 的鳞茎分别进行代谢组和转录组分析。结果表明, 鳞茎休眠的解除与酚类物质的代谢相关, 酚类物质的降解有利于解除休眠, 其中苯丙氨酸解氨酶基因(*PALs*)在此过程中可能起主要作用。同时, bHLH、bZIP、MYB 和 MADS 等转录因子家族成员均与酚类代谢物显著相关, 且参与解除休眠。共表达分析证实 *PAL*、*CAD* 和 *POD* 是酚类代谢重要的调控基因, MYB4、MYB114 和 ICE1 参与了酚类代谢调控网络, 其中 ICE1 可能是连接温度信号和酚类代谢的关键因素。这些转录因子与酚类物质的共同作用可能对鳞茎打破休眠具有重要作用。

关键词: 低温; 酚类; 休眠解除; 转录组; 代谢组; 共表达

doi: 10.11926/jtsb.4741

Association Between Dormancy Release and Phenolic Metabolic Alteration Induced by Low Temperature in *Cardiocrinum giganteum* Bulbs

CAI Zian¹, LI Rongchen¹, ZHAO Zhiheng², CHEN Yuzhen^{1*}, LU Cunfu^{1*}

(1. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, National Engineering Research Center for Forest Tree Breeding and Ecological Remediation, Beijing 100083, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Region Forestry Research Institute, Guangxi Key Laboratory of Characteristic Economic Forest, Nanning 530001, China)

Abstract: *Cardiocrinum giganteum*, a perennial bulbous plant of family Liliaceae, is an important medicinal and food homologous plant. The bulbs have typical dormancy characteristics, and low temperature is a major environmental factor to relieve dormancy of lily bulbs. In order to reveal the molecular mechanism of dormancy dissolution of Lily bulbs, metabolome and transcriptome analysis were performed on bulbs treated at 4 °C for 0, 30 and 60 days, respectively. The results showed that dormancy release of bud was related to the metabolism of phenols, and the degradation of phenols was beneficial to the release of dormancy, among which *PALs* gene might play a major role in this process. Meanwhile, members of transcription factor families such as bHLH, bZIP, MYB and MADS were all significantly related with phenolic metabolites and involved in bulb dormancy release. Co-expression analysis further confirmed that *PAL*, *CAD* and *POD* were important regulatory genes for phenolic metabolism, MYB4, MYB114 and ICE1 were involved in the regulatory network of phenolic metabolism, and ICE1 might be the key factor connecting temperature signals and phenolic metabolism. Therefore, the interaction

收稿日期: 2022-10-28 接受日期: 2022-12-30

基金项目: #广西特色经济林培育与利用重点实验室开放课题(19-B-01-02); 广西创新驱动发展专项子课题(桂科 AA17204058-03); 北京林业大学优秀研究生导师团队建设(YSY-DSTD2022005)资助

This work was supported by the Open Project of Guangxi Key Laboratory of Cultivation and Utilization of Characteristic Economic Forest (Grant No. 19-B-01-02), the Special Project for Innovation-driven Development in Guangxi (Grant No. AA17204058-03), and the Project for Outstanding Graduate Tutor Team Construction of Beijing Forestry University (Grant No. YJSY-DSTD2022005).

作者简介: 蔡子安(1999年生), 女, 硕士, 研究方向为植物多组学及细胞生物学研究。E-mail: 768040062@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chenyzhen@bjfu.edu.cn; lucunfu@bjfu.edu.cn

of these transcription factors with phenols might play an important role in breaking dormancy of bulbs.

Key words: Low temperature; Phenols; Dormancy release; Metabolome; Transcriptome; Co-expression

大百合(*Cardiocrinum giganteum*)为百合科(Liliaceae)大百合属多年生鳞茎类草本植物,其花朵雅致芳香、鳞茎富含多种营养物质,集观赏、药用、食用价值为一体,应用价值高^[1-3]。大百合鳞茎具有自然休眠的特性,这是多年生植物在不利环境下暂时停止生长的现象^[4]。研究表明,未解除休眠的鳞茎种植后发芽率低且不能正常生长发育,多年生鳞茎必须经过一定的低温处理解除休眠后才能萌芽生长,如大蒜(*Allium sativum*)、百合(*Lilium brownii*)^[5]。在低温解除休眠过程中,生物体内的物质会产生一系列适应性变化,研究表明百合鳞茎在解除休眠进程中可溶性糖以及过氧化氢等产物会发生变化^[6]。此外,次生代谢产物在植物对环境适应和对逆境胁迫条件的克服中起到非常关键的作用,在低温解除休眠过程中也取得一定的研究进展^[7]。

酚类物质是指含有羟基芳香环的化合物,是植物苯丙烷类代谢过程中产生的次生代谢产物,普遍存在于植物组织中,并且在应对低温、干旱、紫外线辐射等非生物胁迫下积极响应^[8]。研究表明,植物中酚类物质与休眠调控机制的关系十分复杂,酚类物质生物合成及运输相关的基因与植物生长和发育密切相关^[9]。Fennell 等^[10]报道,木质素生物合成的咖啡酸-*O*-甲基转移酶可调控马铃薯(*Solanum tuberosum*)、覆盆子(*Rubus idaeus*)、杨树(*Populus*)的休眠过程,并可用作诱导休眠的标记基因。此外,在杏树(*Prunus armeniaca*)休眠期间大多数苯丙烷代谢产物的浓度随着休眠解除时间的推移而降低,表明苯丙烷代谢产物与杏树休眠期的花芽休眠解除直接相关^[11]。还有研究表明在解除休眠过程中,酚类化合物可能会影响植物体内的细胞分裂和蛋白质的合成^[12]。

转录因子是一种能与靶基因启动子区域中的顺式作用元件特异性结合并调控靶基因转录水平的蛋白质,其在植物休眠诱导、维持和解除中的调控作用已经得到广泛的研究^[13]。转录因子在调节苯丙烷代谢物的生物合成中起着核心作用^[8,14]。目前发现多种参与调节休眠过程的转录因子,包括 MYB、bHLH、WRKY、bZIP 等转录因子家族,在葡萄(*Vitis vinifera*)芽休眠期观察到 NAC 转录因子与木质素合成相关基因的变化^[15]。MYB 家族的 R2R3-

MYB 参与调控类黄酮合成,从而影响原花青素的含量以调控种子休眠^[16-17]。

目前使用组学分析休眠及其解除调节机制的方法已经在唐菖蒲(*Gladiolus hybridus*)^[18]、百合^[19]、大蒜^[20]、腊梅(*Chimonanthus praecox*)^[21]、桃(*Prunus persica*)^[22]等植物中取得了一定进展,而关于大百合的相关研究还相对滞后,仅有少量报道主要集中在引种栽培^[23]、组织培养^[24]、淀粉积累及种子休眠^[25]等方面,而关于大百合鳞茎解除休眠的研究还未见报道。实验室前期已经对大百合解除休眠过程的碳水化合物代谢、激素代谢和能量代谢进行了研究,但酚类物质对大百合休眠的调节作用尚未明确。所以本研究以 4 °C 低温处理的大百合鳞茎为材料,采用转录组和代谢组测序技术对深度休眠、休眠解除和休眠解除后 3 个时期鳞茎的转录和代谢水平进行检测,分析了不同休眠时期基因表达和代谢物的差异,挖掘与解除休眠相关的酚类物质差异基因,筛选关键差异基因和转录因子并构建其相关作用网络,为解析大百合鳞茎休眠的分子机制,合理利用和调节休眠,实现大百合高效栽培提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

选取无病虫害的独头大百合(*Cardiocrinum giganteum*)鳞茎,洗净后用 50%多菌灵可湿性粉剂 800 倍水溶液杀菌 30 min,晾干后放入 4 °C 冰箱中冷藏处理。低温处理阶段,在冷藏前对大百合鳞茎进行第 1 次取样处理,之后每 10 d 取样 1 次,每次随机取 3 个鳞茎,测量每个鳞茎幼芽生长顶点离鳞茎顶端的距离,将样品分成外层鳞片、中层鳞片、内层鳞片 3 部分后立即冷冻在液氮中并储存在 -80 °C 冰箱中待用。采用福林酚法分别测定外、中、内层鳞片的总酚含量,实验重复 3 次。

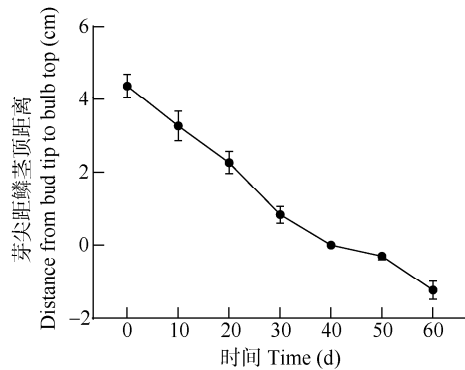
1.2 方法

转录组测序 使用 TIANGEN Biotech 的 RNA 试剂盒分别提取 4 °C 低温处理 0 (CK)、30 (A)和 60 d (B)大百合鳞茎混样的 RNA,每个时期 3 个生物学重复,对 RNA 质量进行浓度和完整性测定。评估后,送公司进行转录组测序样品制备和文库建

立; 进行转录本拼接、注释和分类; 对转录组数据进行差异表达量分析, 采用 FPKM 方法标准化转录本或基因表达量。使用 DESeq2 进行差异分析, 显著差异表达的阈值是 $\log_2(\text{fold-change})$ 的绝对值大于等于 1 且 P 值小于 0.05。使用 iTAK 软件对差异表达基因进行预测, 筛选转录因子。

代谢组提取和代谢谱分析 本研究使用 UPLC-MS/MS 进行广靶代谢组学分析, 设置重复 3 次, 对混合样品进行代谢物提取、上机检测、数据处理。分析仪器系统主要包括 UPLC HSS T3 色谱柱和 AB Sciex QTOF 高分辨质谱。对高分辨质谱数据, 使用自建的 BiotreeDB 数据库及 MAPS 软件进行数据分析。

相关性分析 对筛选得到的关键代谢物和差异基因进行进一步分析, 使用 Spearman 算法计算相关性, 筛选相关系数(Corr)的绝对值大于 0.85, 相关性 P 值小于 0.01 的建立相关网络。此外, 使用 Spearman 算法对转录因子的表达水平与关键代谢物的表达水平进行相关性分析。热图用于显示基因和代谢物之间的联系。



1.3 统计分析

使用 R 中的 Cor 程序计算 Spearman 相关系数以及进行相关性热图的制作。SPSS 21 用于数据分析, 采用 Waller-Duncan 单因素方差分析方法比较差异的显著性水平。图形用 Photoshop 6 生成, 网络图是由 Cytoscape 生成。

2 结果和分析

2.1 冷藏中芽伸长和总酚含量的变化

新芽伸长是百合鳞茎打破休眠的一个重要形态指标。如图 1 所示, 低温处理前新芽生长点到顶端的距离为 4.37 cm, 冷藏 30 d 时小于 1 cm, 此时幼芽处于将发端的前期, 表明鳞茎在 4 °C 低温处理 30 d 时解除休眠。在冷藏 60 d 后新芽长出鳞茎约 1 cm, 说明鳞茎已经打破休眠, 处于解除休眠后。外层、中层和内层鳞片的总酚含量都随着低温打破休眠时间的推移而降低, 冷藏 60 d 时内层鳞片的总酚含量为处理前的 65%, 且内层鳞片的总酚含量显著高于外层、中层鳞片。

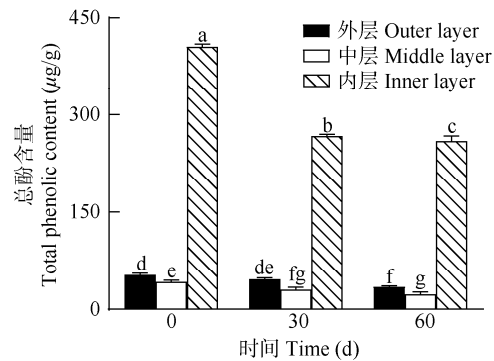


图 1 4 °C 冷藏过程中大百合鳞茎的形态生理变化。柱上不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 1 Changes in morphology and physiology of *Cardiocrinum giganteum* bulbs during cold storage at 4 °C. Different letters upon column indicate significant difference at 0.05 level.

2.2 解除休眠时期酚类代谢物变化

在大百合鳞茎解除休眠的代谢组中筛选到 10 种关键酚类代谢物。如图 2 所示, 咖啡酸和二氢槲皮素的含量随 4 °C 冷藏时间的延长不断增加, 在 60 d 完全打破休眠后达到峰值。肉桂酸、香豆素都是在 30 d 打破休眠时含量最高, 此时的肉桂酸、香豆素含量分别是 0 d 的 2 和 2.9 倍, 在冷藏 60 d 时有所下降。而对香豆酸、阿魏酸、香草酸、香兰素、水杨酸和琥珀酸都是 0 d 时的含量最高, 在冷藏 30

和 60 d, 即打破休眠时均有不同程度下降。

2.3 酚类代谢相关差异基因及转录因子的分析

在转录组中检测到 66 个与酚类代谢相关的差异表达基因(图 3), 包括苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶、查尔酮合酶等是苯丙烷途径中的关键结构基因, 大多数的表达水平在休眠解除过程中发生了变化, 说明低温处理打破休眠可以影响酚类代谢途径相关基因的表达。与结构基因类似, 转录因子也参与调节植物中的各种生物过程。因此, 本研究还分

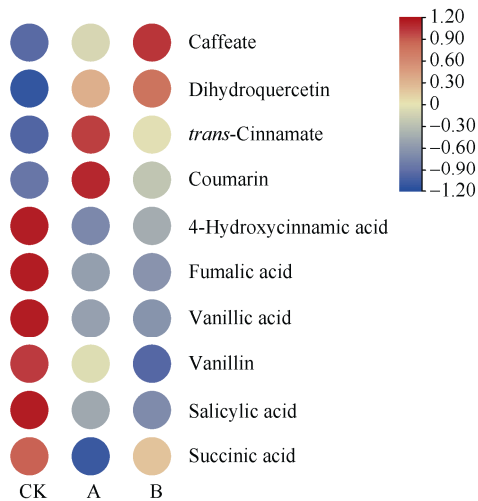


图 2 4 °C 冷藏处理后参与解除休眠的酚类代谢物热图。CK: 0 d; A: 30 d; B: 60 d。下同

Fig. 2 Heat map of phenolic metabolites involved in dormancy release under 4 °C. CK: 0 day; A: 30 days; B: 60 days. The same below

表 1 大百合解除休眠时期的转录因子(TFs)

Table 1 Transcriptional factors (TFs) during dormancy release in *Cardiocrinum giganteum*

TFs	总数 Total	A-CK (up/down)	B-CK (up/down)	B-A (up/down)
AP2/ERF	53	26(9/17)	38(2/36)	28(3/25)
bHLH	18	6(4/2)	12(7/5)	7(3/4)
bZIP	9	3(1/2)	8(1/7)	5(1/4)
MAD-box	10	6(0/6)	7(1/6)	3(1/2)
MYB	34	18(7/11)	25(6/19)	13(4/9)
NAC	18	7(2/5)	11(4/7)	7(5/2)
TCP	8	5(1/4)	5(1/4)	2(1/1)
WRKY	15	3(2/1)	12(2/10)	10(1/9)
ARF	6	3(1/2)	4(0/4)	2(2/0)
B3	12	8(2/6)	6(1/5)	6(2/4)

2.4 转录产物和代谢组的联合分析

为了解休眠解除过程中涉及的酚类调节网络,本研究对转录组和代谢组筛选得到的结果进行了联合分析。图 4 展现了关键酚类代谢物与其差异基因之间的相关性(正相关为 1, 负相关为-1), 3 个对比组共有 52 个差异表达基因与代谢物的 Corr 绝对值高于 0.85 且 P 值小于 0.01 相关。相关热图显示在解除休眠过程中, 水杨酸、香草酸、肉桂酸和香豆素高度相关, 因为它们相关的大多数 TFs 和 DEGs 是共有的。从图 5 可见, 在许多与休眠相关的转录因子家族中, TCP、bHLH、bZIP、MYB 和 MADS 的家族成员均与酚类物质高度相关。上述结果进一步证明, 解除休眠过程不仅涉及特定路径的变化, 还涉及多个路径的相互作用。

析了不同表达的转录因子(表 1), 包括 MYB、NAC、bHLH、WRKY、bZIP、TCP 和 ARF 家族, 这些转录因子中的大多数成员在后期表达呈下调趋势。

在低温处理的大百合鳞茎中调节苯丙烷代谢总通量的限速酶苯丙氨酸解氨酶的 4 个 DEGs 下调。在木质素合成过程中, 编码肉桂醇脱氢酶、4-香豆酸辅酶 A 连接酶、肉桂酰辅酶 A 还原酶以及编码过氧化物酶的 25 个 DEGs 都是在未低温处理时的表达最高, 冷藏 30 和 60 d 时均不同程度下降。检测到黄酮类代谢物合成中注释为查尔酮合酶的 3 个 DEGs、查尔酮异构酶的 1 个 DEGs 和黄酮醇合酶的 3 个 DEGs 也都随着低温时间延长下调表达。而注释为黄烷酮-4-还原酶的 1 个 DEGs 在冷藏 30 d 解除休眠时的表达量最低。在合成香豆素的过程中, 咖啡酰辅酶 A-*O*-甲基转移酶在冷藏 30 d 时上调表达, 60 d 时下调表达。

基于转录组和代谢组联合分析的结果, 进一步比较和筛选酚类代谢中涉及的 DEGs 和关键 TFs 以构建基因相关网络来探索其可能的相互作用(图 6)。结果表明, *PAL*、*CAD*、*CCR*、*POD*、*bgIB*、*CHS*、*GUS* 和 *BoGH3B* 高度相关, 所有这些基因都与转录因子如 MYB、bZIP 和 bHLH 家族相关, 且网络图中 bHLH 和 WRKY 的家族成员与差异基因均呈负相关。

3 结论和讨论

目前, 通常是以顶芽生长点距鳞茎顶端约 1 cm 作为百合冷藏解除休眠的形态依据^[26]。本研究结果表明低温处理前, 鳞茎处于深度休眠状态, 而

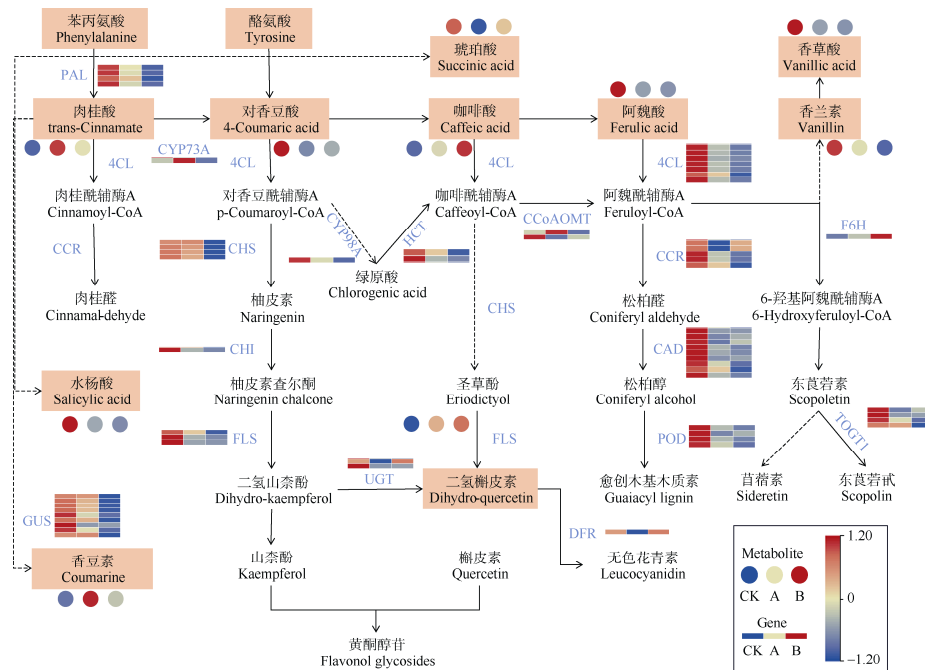


图 3 参与酚类代谢相关途径的代谢物及基因的热图。粉色方格表示关键代谢物，蓝色字表示差异表达基因。PAL: 苯丙氨酸解氨酶; 4CL: 4-香豆酸辅酶 A 连接酶; CCR: 肉桂酰辅酶 A 还原酶; CAD: 肉桂醇脱氢酶; POD: 过氧化物酶; CYP450: 细胞色素 P450; HCT: 莽草酸羟基肉桂酰转移酶; CCoAOMT: 咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶; F6H: 黄酮醇 6-羟化酶; TOGT1: 东莨菪碱葡萄糖基转移酶; CHS: 查尔酮合酶; CHI: 查尔酮异构酶; FLS: 黄酮醇合酶; DFR: 黄烷酮 4-还原酶; UGT: 黄酮醇 3-O-葡萄糖基转移酶; GUS: β -葡萄糖苷酶。

Fig. 3 Heat map of metabolites and genes involved in phenolic metabolism-related pathways. Pink squares denote key metabolites, blue words indicate differentially expressed genes. PAL: Phenylalanine ammonia lyase; 4CL: 4-Coumarate-CoA ligase; CCR: Cinnamoyl-CoA reductase; CAD: Cinnamyl-alcohol dehydrogenase; POD: Peroxidase; CYP450: Cytochrome P450; HCT: Shikimate *O*-hydroxycinnamoyltransferase; CCoAOMT: Caffeoyl-CoA *O*-methyltransferase; F6H: Flavonoid 6-hydroxylase; TOGT1: Scopoletin glucosyltransferase; CHS: Chalcone synthase; CHI: Chalcone isomerase; FLS: Flavonol synthase; DFR: Flavanone 4-reductase; UGT: Flavonol 3-*O*-glucosyltransferase; GUS: Beta-glucosidase.

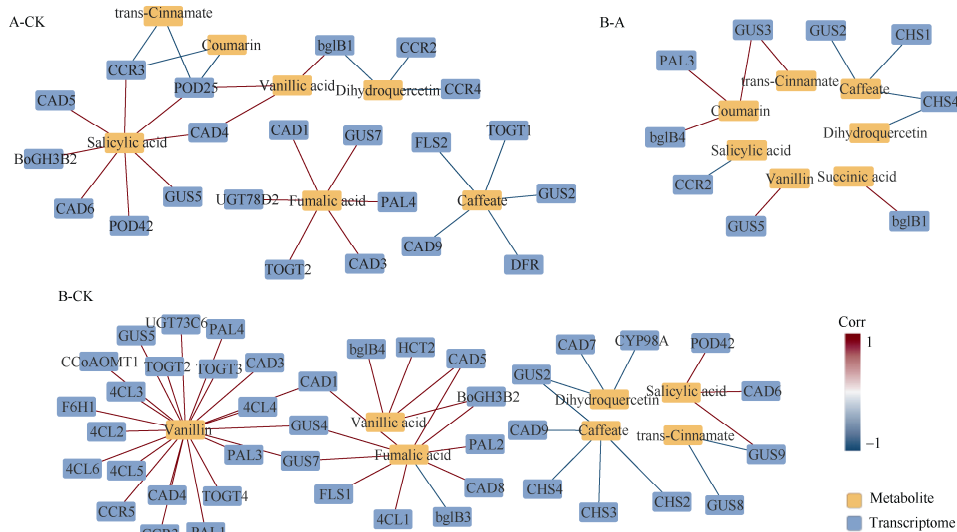


图 4 转录组和代谢组间的相关网络。蓝色方块: 差异基因; 黄色方块: 关键代谢物; 线代表代谢物和差异基因之间的相关系数。红线和蓝线分别表示正相关和负相关。

Fig. 4 Correlation network between the transcriptome and the metabolome. Blue square: DEGs; Yellow square: Key metabolites; Line: Correlation coefficient between metabolites and DEGs. Red and blue lines indicate positive and negative correlations, respectively.

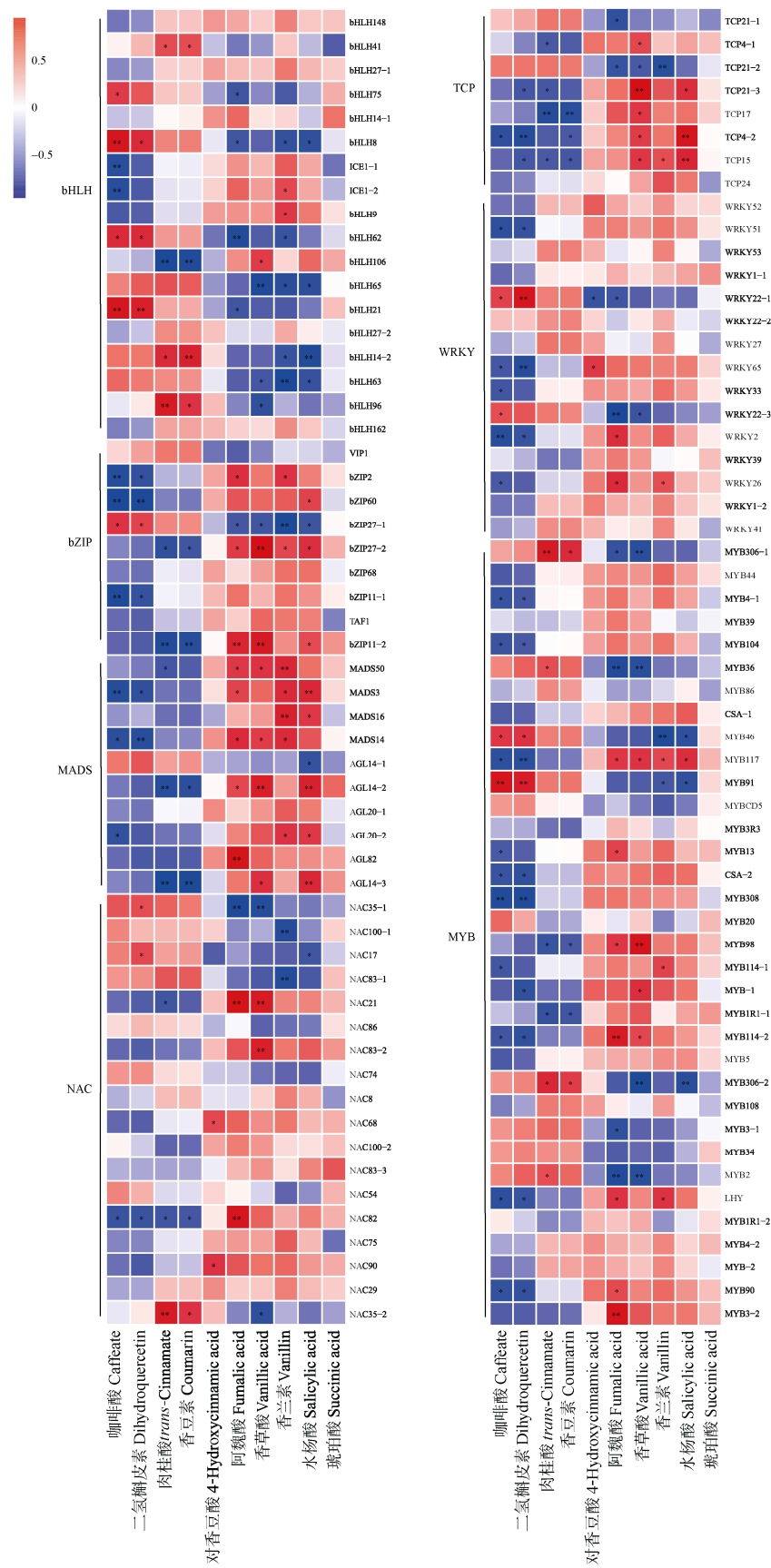


图 5 转录因子家族与代谢组关系的热图。*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。

Fig. 5 Heat map between TF family and metabolome. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

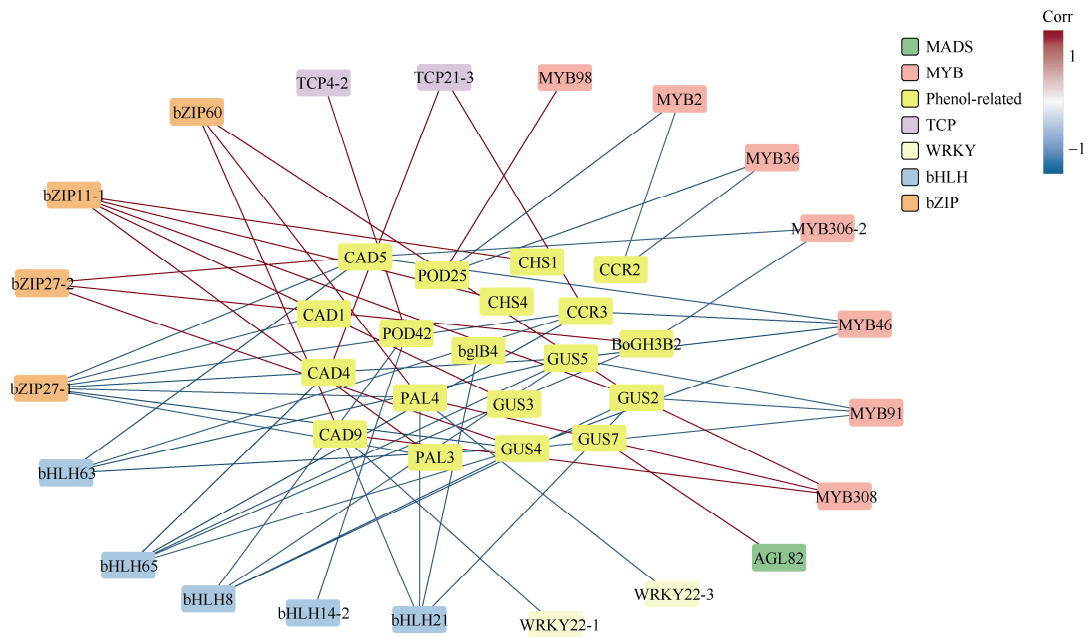


图 6 转录因子与关键差异基因的相关网络

Fig. 6 Correlation network between TFs and key DEGs

4 °C 处理 30 d 后, 顶芽生长点到顶端的距离小于 1 cm, 说明在 4 °C 处理 30 d 时大百合鳞茎打破休眠, 冷藏 60 d 时新芽冒出鳞茎顶端, 此时鳞茎已经完全解除休眠, 可以正常生长。

有研究表明酚类物质与植物的休眠相关, 杏树休眠时酚类代谢物水平降低, 其中总酚含量的降低还与寒冷时间的积累呈负相关^[27], 本研究结果与其相似。大百合休眠鳞茎中的阿魏酸、香兰素、琥珀酸等 6 种酚类物质的含量最高, 并且随着低温时间推移而降低, 表明这 6 种酚类物质的低水平表达有利于大百合鳞茎的萌发。有研究发现许多酚类物质和生物碱有抑制蛋白质合成的作用, 阿魏酸和香草酸可以通过减少大豆(*Glycine max*)根对 ³²P 和甲硫氨酸的吸收, 从而抑制蛋白质的合成^[28], 而可溶性蛋白大多数是植物体内参与各种代谢包括解除休眠过程的酶类^[29]。本研究结果表明阿魏酸和香草酸含量的下降, 降低了对蛋白质合成的影响, 从而影响大百合鳞茎打破休眠的过程。肉桂酸在冷藏 30 d 解除休眠时的含量最高, 因为肉桂酸可以作为抗氧化剂, 所以可能在解除休眠中的低温胁迫期间的氧化应激中发挥作用。

基于筛选得到的酚类关键代谢物及相关差异基因, 本研究构建了一个调节网络图, 描绘了 4 °C 低温诱导大百合鳞茎解除休眠的酚类代谢调控机制。对葡萄的研究表明, 苯丙烷代谢途径的基因表

达与休眠具有相关性^[15]。本研究筛选到 66 个差异表达基因, 包括 *PAL*、*4CL*、*CCR*、*CAD*、*POD* 等 17 个结构基因。低温处理后这些结构基因表达下调, 苯丙烷通路下调, 减少了酚类物质的合成, 其中 *PAL* 位于初生代谢和次生代谢分界处, 作为调节进入苯丙烷代谢总通量的限速酶, 已经在洋葱 (*Allium cepa*)、甜樱桃(*Prunus avium* ‘Hongdeng’)和桃等植物休眠过程中检测到 *PAL* 的变化, 喇叭水仙(*Narcissus pseudonarcissus*)鳞片中总酚含量在休眠解除过程中降低, 且与 *PAL* 呈正相关, 推测 *PAL* 是打破休眠的关键酶之一^[30]。共表达结果也表明 *PAL* 与香兰素、香豆素和阿魏酸含量显著正相关。*4CL*、*CCR*、*CAD*、*POD* 和 *HCT* 是木质素生物合成途径中的关键基因, 而这些差异表达基因在休眠鳞茎的表达水平最高, 表明在低温处理解除休眠后木质素的合成不活跃。此外, 黄酮类化合物如山奈酚和槲皮素是已知的生长素运输的负调节剂, 以及作为生长素分解代谢产物产生的活性氧的清除剂^[31-32]。二氢槲皮素作为槲皮素的上游物质, 在代谢组中检测到二氢槲皮素含量下降, 而且在调节二氢槲皮素转化为槲皮素的 *FLS* 中注释的 3 个 DEGs 表达量都下降, 从而减少酚类对生长素运输的影响, 进而促进解除休眠的进程。

共表达网络显示在解除休眠过程中, 大多数的差异表达基因与酚类物质都是正相关, 而且作为酚

类代谢途径的主要正调节因子的 *PAL* 表达水平在冷藏期间显著下调。因此本研究表明酚类物质的合成与大百合鳞茎解除休眠相关, 并且以降低酚类物质合成途径的方式参与调控解除休眠的进程, 表明 *PALs* 可能在大百合鳞茎的解除休眠过程中起主要作用。

近年来, 越来越多的转录因子家族(TFs)被证明参与植物休眠和发芽, 而且在调节酚类代谢物的生物合成中起着核心作用^[8]。基于转录组和代谢组的联合分析, 我们发现大百合鳞茎休眠与一些关键的 TFs 直接相关, 包括 TCP、bHLH、bZIP、MYB、MADS 家族的成员。MADS-box 是调控休眠解除的重要转录因子, *DAM* 与 *SVP* 基因被证实能够影响种子萌发与花发育, *DAM* 可能在休眠阶段转变和休眠解除的需冷量中发挥关键作用^[10, 33]。本研究筛选的 10 个 MADS-box 转录因子中 8 个成员在低温处理过程中下调表达, 表明低温处理可能下调 MADS-box 表达以调节休眠过程。MYB 转录因子影响植物各种发育过程, 本研究共筛选到 34 个 MYB 成员, 是转录因子筛选中数量第二多的家族, 其表达模式不尽相同。其中 *MYB4-2* 在解除休眠时期上调, *MYB4* 可以增加转基因拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和苹果(*Malus pumila*)的冷冻耐受性^[34]。而 *MYB114* 和 *MYB44* 在休眠鳞茎的表达量最高, 红梨(*Pyrus pyrifolia*)的 *PyMYB114* 可以正调控其花青素的合成代谢^[35], *AGL16-MYB44* 互作会影响种子的休眠与萌发及植物对高温诱导开花的适应过程^[36]。因此, MYB 家族在解除休眠过程中可能与温度和酚类代谢调节有关。*ICE1* 是 bHLH 家族中响应低温胁迫的成员, 还参与维持拟南芥种子萌发的稳态^[37]。bHLH、MYB 和 WD40 组成的 MBW 三元复合物对木质素和黄酮合成的结构基因的调控被认为是酚类物质合成的关键^[38]。本研究筛选到 2 个 *ICE1* 基因与咖啡酸含量呈显著负相关, 表明 MBW 复合物可能通过调控酚类代谢进而解除休眠。这表明大百合鳞茎打破休眠是一个复杂的过程, 涉及多种结构基因、转录因子和代谢物的变化及相互作用, 所以今后有必要对酚类代谢相关机制进行更深入的研究。

参考文献

- [1] GUAN W L, LI S F, LI Y F, et al. Analysis and assessment for nutrient contents in bulb of *Cardiocrinum giganteum* [J]. J W China For Sci, 2011, 40(1): 8–11. [关文灵, 李世峰, 李叶芳, 等. 大百合鳞茎营养成分分析与评价 [J]. 西部林业科学, 2011, 40(1): 8–11. doi: 10.3969/j.issn.1672-8246.2011.01.002.]
- [2] WAN Z Z, LONG C L, CHENG Z Y, et al. Advances in study of *Cardiocrinum* [J]. J Yunnan Agric Univ, 2007, 22(1): 30–34. [万珠珠, 龙春林, 程治英, 等. 重要野生花卉大百合属植物研究进展 [J]. 云南农业大学学报, 2007, 22(1): 30–34. doi: 10.3969/j.issn.1004-390X.2007.01.007.]
- [3] ZHAO Z H, LI R C, WANG X J, et al. The starch-sugar inter-conversion mechanism during bulb development of *Cardiocrinum giganteum* (Wall.) Makino revealed by transcriptome and metabolite analysis [J]. Ind Crops Prod, 2022, 187: 115318. doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115318.
- [4] SHU K, MENG Y J, SHUAI H W, et al. Dormancy and germination: How does the crop seed decide? [J]. Plant Biol, 2015, 17(6): 1104–1112. doi: 10.1111/plb.12356.
- [5] ZHAO Z H, LIANG W H, WANG W J, et al. Strategy and development trend of lily haploid breeding [J]. Plant Physiol J, 2020, 56(11): 2367–2372. [赵志珩, 梁文汇, 王伟娟, 等. 百合单倍体育种策略及发展趋势 [J]. 植物生理学报, 2020, 56(11): 2367–2372. doi: 10.13592/j.cnki.pj.2020.0005.]
- [6] LI Y F, XIN Q, ZHANG Y J, et al. Comparative metabolome analysis unravels a close association between dormancy release and metabolic alteration induced by low temperature in lily bulbs [J]. Plant Cell Rep, 2022, 41(7): 1561–1572. doi: 10.1007/s00299-022-02874-x.
- [7] VAGIRI M, EKHOLM A, JOHANSSON E, et al. Major phenolic compounds in black currant (*Ribes nigrum* L.) buds: Variation due to genotype, ontogenetic stage and location [J]. LWT Food Sci Technol, 2015, 63(2): 1274–1280. doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.006.
- [8] DONG N Q, LIN H X. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions [J]. J Integr Plant Biol, 2021, 63(1): 180–209. doi: 10.1111/jipb.13054.
- [9] ISFENDIYAROGU M, ÖZEKER E. The relation between phenolic compound and seed dormancy in *Pistacia* spp. [M]// AK B E. XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza: CIHEAM, 2001: 227–232.
- [10] NIU Q F, LI J Z, CAI D Y, et al. Dormancy-associated MADS-box genes and microRNAs jointly control dormancy transition in pear (*Pyrus pyrifolia* white pear group) flower bud [J]. J Exp Bot, 2016, 67(1): 239–257. doi: 10.1093/jxb/erv454.
- [11] CONRAD A O, YU J L, STATON M E, et al. Association of the phenylpropanoid pathway with dormancy and adaptive trait variation in apricot (*Prunus armeniaca*) [J]. Tree Physiol, 2019, 39(7): 1136–1148. doi: 10.1093/treephys/tpz053.

- [12] BI L. Study on changes of inclusions and metabolism during dormant period of Qiyuesu pear [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2009. [毕磊. 七月酥梨休眠期内含物变化及生理代谢研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2009.]
- [13] ZHANG Q Q, ZHU J H, NI Y M, et al. The structure and function of plant bHLH transcription factors [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2011, 19(1): 84–90. [张全琪, 朱家红, 倪燕妹, 等. 植物 bHLH 转录因子的结构特点及其生物学功能 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2011, 19(1): 84–90. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2011.01.013.]
- [14] HE S L. Transcription factors involved in plant secondary metabolism and its application in plant secondary metabolic engineering [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2004, 12(4): 374–380. [何水林. 参与植物次生代谢调控的转录因子及其在植物次生代谢遗传改良中的应用 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2004, 12(4): 374–380. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2004.04.017.]
- [15] FENNEL A Y, SCHLAUCH K A, GOUTHU S, et al. Short day transcriptomic programming during induction of dormancy in grapevine [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 834. doi: 10.3389/fpls.2015.00834.
- [16] SHIRLEY B W. Flavonoids in seeds and grains: Physiological function, agronomic importance and the genetics of biosynthesis [J]. *Seed Sci Res*, 1998, 8(4): 415–422. doi: 10.1017/S0960258500004372.
- [17] NESI N, JOND C, DEBEAUJON I, et al. The *Arabidopsis* *TT2* gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in developing seed [J]. *Plant Cell*, 2001, 13(9): 2099–2114. doi: 10.1105/TPC.010098.
- [18] WU J, SENG S S, SUI J J, et al. *Gladiolus hybridus* ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (*GhABI5*) is an important transcription factor in ABA signaling that can enhance *Gladiolus* corm dormancy and *Arabidopsis* seed dormancy [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 960. doi: 10.3389/fpls.2015.00960.
- [19] LI W Q, YONG Y B, ZHANG Y, et al. Transcriptional regulatory network of GA floral induction pathway in LA hybrid lily [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): 2694. doi: 10.3390/ijms20112694.
- [20] DONG Y H, GUAN M J, WANG L X, et al. Transcriptome analysis of low-temperature-induced breaking of garlic aerial bulb dormancy [J]. *Int J Genom*, 2019, 2019: 9140572. doi: 10.1155/2019/9140572.
- [21] LI Z N, LIU N, ZHANG W, et al. Integrated transcriptome and proteome analysis provides insight into chilling-induced dormancy breaking in *Chimonanthus praecox* [J]. *Hort Res*, 2020, 7: 198. doi: 10.1038/S41438-020-00421-X.
- [22] KANJANA W, SUZUKI T, ISHII K, et al. Transcriptome analysis of seed dormancy after rinsing and chilling in ornamental peaches (*Prunus persica* (L.) Batsch) [J]. *BMC Genom*, 2016, 17(1): 575. doi: 10.1186/s12864-016-2973-y.
- [23] LI R, YANG J, YANG J B, et al. Isolation and characterization of 21 microsatellite loci in *Cardiocrinum giganteum* var. *yunnanense* (Liliaceae), an important economic plant in China [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2): 1437–1443. doi: 10.3390/ijms13021437.
- [24] LI T T, LI N, LI B, et al. A preliminary study on tissue culture of buckwheat leaf lily [J]. *J Chifeng Univ (Nat Sci)*, 2020, 36(9): 22–26. [李婷婷, 李娜, 李波, 等. 荞麦叶大百合组织培养初步研究 [J]. *赤峰学院学报(自然科学版)*, 2020, 36(9): 22–26. doi: 10.13398/j.cnki.issn1673-260x.2020.09.006.]
- [25] PHARTYAL S S, KONDO T, BASKIN C C, et al. Seed dormancy and germination in the giant Himalayan lily (*Cardiocrinum giganteum* var. *giganteum*): An assessment of its potential for naturalization in northern Japan [J]. *Ecol Res*, 2012, 27(4): 677–690. doi: 10.1007/s11284-012-0940-x.
- [26] HE G F, XIA Y P, HUANG C H, et al. Morphological and physiological changes of oriental lily bulbs during dormancy release with low temperature storage [J]. *Acta Agric Zhejiang*, 2006, 18(3): 167–170. [何桂芳, 夏宜平, 黄春辉, 等. 东方百合鳞茎低温解除休眠过程中的形态和生理变化 [J]. *浙江农业学报*, 2006, 18(3): 167–170.]
- [27] LASLO V, VICAS S I. The correlation of the accumulation of cold units with biochemical processes in the floral buds of apricots (*Armeniaca vulgaris*) from Romania [J]. *Studia Univ “Vasile Goldis”, Ser Ştiinţ Vietii*, 2012, 22(4): 503–510.
- [28] BAZIRAMAKENGA R, LEROUX G D, SIMARD R R, et al. Allelopathic effects of phenolic acids on nucleic acid and protein levels in soybean seedlings [J]. *Can J Bot*, 1997, 3(75): 445–450. doi: 10.1139/b97-047.
- [29] WU X H, GAO J. Research into the change rule about soluble sugar and soluble protein of the bolting onions and the normal ones by means of vernalization [J]. *Xinjiang Agric Sci*, 2013, 50(2): 294–299. [吴学红, 高杰. 洋葱春化处理及可溶性糖和可溶性蛋白质变化规律的研究 [J]. *新疆农业科学*, 2013, 50(2): 294–299. doi: 10.6048/j.issn.1001-4330.2013.02.013.]
- [30] CHENG P, MA X H, SHI Y M. Changes of phenolic acid metabolism and related enzyme activities in *Narcissus pseudonarcissus* L. bulbs stored at low temperature for dormancy release [J]. *Plant Physiol J*, 2013, 49(2): 137–143. [程鹏, 马晓红, 史益敏. 低温解除休眠过程中喇叭水仙鳞片中酚酸类物质代谢及相关酶活性的变化 [J]. *植物生理学报*, 2013, 49(2): 137–143. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2013.02.002.]
- [31] BROWN D E, RASHOTTE A M, MURPHY A S, et al. Flavonoids act as negative regulators of auxin transport *in vivo* in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2001, 126(2): 524–535. doi: 10.1104/pp.126.2.524.

- [32] PEER W A, MURPHY A S. Flavonoids and auxin transport: Modulators or regulators? [J]. Trends Plant Sci, 2007, 12(12): 556–563. doi: 10.1016/j.tplants.2007.10.003.
- [33] WU R M, TOMES S, KARUNAIRETNAM S, et al. *SVP*-like MADS box genes control dormancy and budbreak in apple [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 477. doi: 10.3389/fpls.2017.00477.
- [34] PASQUALI G, BIRICOLTI S, LOCATELLI F, et al. *Osmyb4* expression improves adaptive responses to drought and cold stress in transgenic apples [J]. Plant Cell Rep, 2008, 27(10): 1677–1686. doi: 10.1007/s00299-008-0587-9.
- [35] WANG Y Y, ZHANG X D, ZHAO Y R, et al. Transcription factor PyHY5 binds to the promoters of *PyWD40* and *PyMYB10* and regulates its expression in red pear ‘Yunhongli No. 1’ [J]. Plant Physiol Biochem, 2020, 154: 665–674. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.07.008.
- [36] QIAN F M. Molecular genetic interaction between *AGL16* and *MYB44* and its effect on flowering and adaptation in *Arabidopsis thaliana* [D]. Kunming: Yunnan University, 2018. [钱富明. 拟南芥 *AGL16* 与 *MYB44* 的分子遗传互作及对开花、适应的影响 [D]. 昆明: 云南大学, 2018.]
- [37] HU Y R, HAN X, YANG M L, et al. The transcription factor INDUCER OF CBF EXPRESSION1 interacts with ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 and DELLA proteins to fine-tune abscisic acid signaling during seed germination in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2019, 31(7): 1520–1538. doi: 10.1105/tpc.18.00825.
- [38] OHTANI M, DEMURA T. The quest for transcriptional hubs of lignin biosynthesis: Beyond the NAC-MYB-gene regulatory network model [J]. Curr Opin Biotechnol, 2019, 56: 82–87. doi: 10.1016/j.copbio.2018.10.002.