植物资源与环境学报, 2026, **35**(5): 49-62
Journal of Plant Resources and Environment

石蒜自然开花进程及干旱胁迫下生理指标与开花相关基因和脯氨酸代谢基因表达的关联分析

许筱小[a,b], 柳传祺[a,b], 朱统超[a,b], 王　宁[a,b], 张凤姣[a,b], 束晓春[a,b], 王　忠[a,b,①]

〔江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园): a. 江苏省植物分类与资源保护利用重点实验室, b. 江苏省园林植物资源与种质创新工程研究中心, 江苏 南京 210014〕

摘要: 结合石蒜〔*Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb.〕自然开花进程,系统分析干旱胁迫对其生理特性及开花相关基因和脯氨酸代谢基因表达的调控作用。结果表明:在自然开花进程中,石蒜的脯氨酸和可溶性蛋白质含量持续上升,可溶性糖含量和超氧化物歧化酶活性总体先升后降,过氧化物酶和过氧化氢酶活性先降后升。促花基因 *LrFCA* (Unigene33609)、*LrFCA* (Unigene48784)、*LrVIN3* (CL157.Contig2)、*LrGI* (CL7790.Contig5)和 *LrGI* (CL7790.Contig11)在盛花期前上调表达,抑花基因 *LrSVP* (CL9409.Contig10)持续下调表达,脯氨酸合成途径关键酶基因 *LrP5CS1*、*LrP5CS2*、*LrP5CR* 和 *LrOAT* 持续上调表达。干旱胁迫延迟石蒜开花,且开花时间随着胁迫程度的增加而延迟。与对照组相比较,干旱胁迫下石蒜的丙二醛含量及上述生理指标总体显著升高($P<0.05$),其中,脯氨酸含量随着胁迫时间的延长和胁迫程度的增加而上升。总体上看,随着干旱胁迫时间的延长,促花基因 *LrFCA* (Unigene33609)和 *LrGI* (CL7790.Contig11)的表达持续下降,抑花基因 *LrSVP* (CL9409.Contig10)以及脯氨酸合成途径关键酶基因 *LrP5CS1* 和 *LrP5CR* 的表达持续上升。关联分析结果显示:石蒜自然开花进程中,脯氨酸含量与 *LrSVP* (CL9409.Contig10)的相对表达量呈极显著负相关($P<0.01$);而在干旱胁迫下,二者呈极显著正相关。综上所述,脯氨酸在石蒜开花调控中具有显著的背景依赖性:在正常发育程序中,其渐进式积累是开花进程的内在需求;而在干旱胁迫下,其爆发性积累则与开花抑制基因的激活同步发生,暗示其参与了干旱胁迫诱导的开花延迟响应。据此推测,脯氨酸不仅作为渗透调节物质,更可能作为整合内部发育时序与外部环境胁迫信号的关键生理枢纽,通过重编程下游开花基因网络实现生存与繁殖的权衡。

关键词: 石蒜; 干旱胁迫; 开花时间; 脯氨酸; 基因表达

中图分类号: Q786; Q945.78; S682.2^{+}9　　**文献标志码**: A　　**文章编号**: 1674-7895(2026)05-0049-14
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2026.05.05

Correlation analysis of physiological indices with the expression of flowering-related genes and proline metabolism genes in *Lycoris radiata* during the natural flowering process and under drought stress

XU Xiaoxiao[a,b], LIU Chuanqi[a,b], ZHU Tongchao[a,b], WANG Ning[a,b], ZHANG Fengjiao[a,b], SHU Xiaochun[a,b], WANG Zhong[a,b,①] [Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen): a. Jiangsu Provincial Key Laboratory for Plant Taxonomy, Resource Conservation and Utilization, b. Jiangsu Engineering Research Center for Landscape Plant Resources and Germplasm Innovation, Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2026, **35**(5): 49-62

Abstract: Combined with the natural flowering process of *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb., the regulatory

收稿日期: 2026-01-14
基金项目: 2025 年省级现代农业发展补助专项(JS-ZW-04); 中央财政林业科技示范推广项目[Su(2024)TG06]; 江苏省植物资源研究与利用重点实验室开放基金项目(JSPKLB202403); 南京中山国家植物园科研专项(JSPKLB202519)
作者简介: 许筱小(2000—),女,江苏宜兴人,硕士研究生,主要从事石蒜开花生理及植物分子生物学方面的研究。
[①]通信作者 E-mail: wangzhong@ cnbg.net
引用格式: 许筱小, 柳传祺, 朱统超, 等. 石蒜自然开花进程及干旱胁迫下生理指标与开花相关基因和脯氨酸代谢基因表达的关联分析[J]. 植物资源与环境学报, 2026, 35(5): 49-62.

effects of drought stress on its physiological characteristics and the expression of flowering-related genes and proline metabolism genes were systematically analyzed. The results show that during the natural flowering process, the contents of proline and soluble protein in *L. radiata* continuously increase, the soluble sugar content and superoxide dismutase activity generally increase first and then decrease, and the peroxidase and catalase activities first decrease and then increase. The flowering-promoting genes *LrFCA* (Unigene33609), *LrFCA* (Unigene48784), *LrVIN3* (CL157.Contig2), *LrGI* (CL7790.Contig5), and *LrGI* (CL7790.Contig11) are upregulated before the full blooming stage, the floral repressor gene *LrSVP* (CL9409.Contig10) is continuously downregulated, and the key enzyme genes *LrP5CS1*, *LrP5CS2*, *LrP5CR*, and *LrOAT* in the proline synthesis pathway are continuously upregulated. Drought stress delays the flowering of *L. radiata*, and the flowering time is delayed with the increase of stress levels. Compared with the control group, the malondialdehyde content and the above physiological indices of *L. radiata* are significantly increase ($P<0.05$) in general under drought stress, among which, the proline content increases with the prolongation of stress time and the increase of stress levels. Overall, with the prolongation of drought stress time, the expression of flowering-promoting genes *LrFCA* (Unigene33609) and *LrGI* (CL7790.Contig11) continuously decrease, while the expression of the floral repressor gene *LrSVP* (CL9409.Contig10) and the key enzyme genes *LrP5CS1* and *LrP5CR* in the proline synthesis pathway continuously increase. The correlation analysis result shows that during the natural flowering process of *L. radiata*, the proline content shows an extremely significant negative correlation ($P<0.01$) with the relative expression of *LrSVP* (CL9409.Contig10); while under drought stress, they show an extremely significant positive correlation. In conclusion, proline exhibits significant context-dependent effects in the regulation of *L. radiata* flowering: during normal development, its gradual accumulation is an intrinsic requirement for the flowering process; while under drought stress, its explosive accumulation occurs synchronously with the activation of floral repressor genes, suggesting its involvement in the drought stress-induced flowering delay response. It is speculated that proline not only acts as an osmotic regulator but may also serve as a key physiological hub integrating internal developmental timing and external environmental stress signals, achieving a trade-off between survival and reproduction by reprogramming the downstream flowering gene network.

Key words: *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb.; drought stress; flowering time; proline; gene expression

石蒜〔*Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb.〕,又名老鸦蒜、龙爪花[1],是石蒜科(Amaryllidaceae)石蒜属(*Lycoris* Herb.)的多年生球根花卉。全世界该属植物有30余种[2],主要分布于中国长江以南及日本、韩国等东亚国家[3]。石蒜属植物花期多集中于夏末秋初(7—9月),部分可延至10月初,具有"花叶不相见"的特殊生物学习性。该属植物花色艳丽、花型丰富,观赏价值极高。然而,石蒜存在花期不一致的问题,加之其花前长达2个多月的休眠期(地表无叶),常规花期调控手段效果有限,严重制约其在园林造景中的应用。已有研究多聚焦于温度[4]、光照[5]等因子对石蒜花芽分化的影响,但这些单一因子的调控效果不稳定,难以实现花期精准调控。作者所在课题组在前期田间观察中发现,花前休眠期的自然干旱明显推迟石蒜开花,因此探究干旱对石蒜开花时间的影响具有重要的实践意义。

干旱是限制植物生长和作物生产力的主要非生物胁迫之一。缺水条件下,植物通过快速积累脯氨酸以应对干旱胁迫;逆境解除后,脯氨酸迅速分解又可以为其提供能量,这对于植物响应和适应干旱胁迫至关重要[6]。研究表明:过表达 *P5CS* 基因的籼稻(*Oryza sativa* subsp. *indica* Kato.)、烟草(*Nicotiana tabacum* Linn.)等植物中的脯氨酸含量显著升高,其渗透调节与抗旱能力也随之增强[7-8]。此外,在花、花序和花药等生殖器官中,脯氨酸生物合成基因 *P5CS* 和 *P5CR* 以及转运基因 *ProT* 的表达均上调[9-11],提示脯氨酸可能直接参与植物开花调控。

干旱的强度和持续时间共同决定植物提前或延迟开花[12-13]。延迟开花常被认为是一种胁迫耐受策略,使植物在逆境结束后再进行繁殖;而提前开花则属于胁迫逃避反应[14]。近年来,植物开花时间与抗逆性的关联受到广泛关注[13,15]。许多开花相关基因参与植物的抗逆调控。如短营养期基因 *SVP* 与脱落酸分解代谢通路基因 *CYP707A1/3* 和 *AtBG1* 的启动子区域结合,在植物抗旱中发挥重要作用[16]。柑橘属(*Citrus* Linn.)的 *CiFRI* 启动子与其油菜素唑抗性

转录因子CiBZR1 结合可增强转基因柠檬〔*Citrus* × *limon*（Linn.）Osbeck〕的耐旱性[17]。

上述研究结果表明：脯氨酸不仅参与植物成花过程，在干旱环境下还可能作为信号分子与成花因子互作，进而调节开花时间以适应逆境。然而，关于脯氨酸如何通过调控开花基因网络影响石蒜开花进程的分子机制，目前尚不清楚。鉴于此，本研究系统比较了石蒜在自然开花进程与干旱胁迫下的生理特性及开花相关基因和脯氨酸代谢基因的表达差异，旨在阐明脯氨酸在石蒜开花调控与干旱响应中的双重作用机制，解析其作为整合发育与逆境信号的生理节点如何调控开花时间，以期为石蒜花期精准调控提供理论依据与应用参考。

1　材料和方法

1.1　材料

供试石蒜采集于江苏省中国科学院植物研究所石蒜种植园（地理坐标为北纬 32°03′22.15″、东经 118°50′14.72″），在石蒜 5 个开花时期进行取样，分别为出葶期（S1）、花葶伸长初期（S2）、花葶伸长后期（S3）、始花期（S4）和盛花期（S5）（图 1）。每个时期随机挖取 18 株生长状况良好、种球大小基本一致、无病虫害的石蒜。每 6 株混合，作为 1 个生物学重复，共 3 个重复。取其鳞茎盘和内层鳞片，锡纸包裹后于−80 ℃冰箱保存、备用。

S1：出葶期 Scape emergence stage；S2：花葶伸长初期 Early stage of scape elongation；S3：花葶伸长后期 Late stage of scape elongation；S4：始花期 Initial flowering stage；S5：盛花期 Full blooming stage.

图 1　石蒜开花时期划分

Fig. 1　Division of flowering stage of *Lycoris radiata*（L'Hér.）Herb.

选取 400 个生长状况良好、种球大小基本一致、无病虫害的健康石蒜种球，随机分为 4 组，每组 100 个。将种球移栽至遮雨棚内的塑料盆（口径 12.0 cm、底径 9.5 cm、高 13.0 cm）中，每盆 3 个种球。栽培基质由草炭土、蛭石和珍珠岩按体积比 1∶1∶1 混合配置。根据石蒜耐旱特性及预实验结果，设置对照、轻度干旱、中度干旱和重度干旱 4 个处理，土壤体积含水量分别为［35%，50%］、［25%，35%）、［20%，25%）和［10%，20%）。于花前 3 个月（6 月上旬，石蒜花前休眠期），在江苏省中国科学院植物研究所实验基地进行干旱处理。每天18∶00，使用 SN−3001−TRREC−N01 土壤水分测定仪（山东塞恩电子科技有限公司）测定土壤体积含水量，并通过人工滴灌的方式补水以维持设定水分梯度。处理 58 d 后（对照组处于盛花期）进行第 1 次取样，之后每 6 d 取样 1 次，直至重度干旱组进入盛花期。每个处理组每次随机挖取 18 株生长状况良好、种球大小基本一致、无病虫害的石蒜。每 6 株混合，作为 1 个生物学重复，共 3 个重复。

1.2　方法

1.2.1　生理指标测定　取鳞茎内层鳞片进行生理指标测定。采用酸性茚三酮法[18]测定脯氨酸含量；采用蒽酮硫酸水合热法[19]测定可溶性糖含量；采用考马斯亮蓝法[20]测定可溶性蛋白质含量；采用氮蓝四唑光化还原法[21]测定超氧化物歧化酶（SOD）活性；采用愈创木酚法[22]测定过氧化物酶（POD）活性；采用紫外吸收法[23]测定过氧化氢酶（CAT）活性；采用硫代巴比妥酸法[24]测定丙二醛含量。每个指标测定 3 次。

1.2.2　RNA 提取及 cDNA 合成　取鳞茎盘，液氮研磨后，使用多糖/多酚植物 RNA 提取试剂盒（北京华越洋生物科技有限公司）提取总 RNA，使用 NanoDrop 2000 核酸蛋白仪（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）检测 RNA 纯度，使用质量体积分数 1%琼脂糖凝胶电泳检测完整性。以提取的 RNA 为模板，使用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser（Perfect Real Time）〔宝生物工程（大连）有限公司〕反转录获得 cDNA，稀释 5 倍后置于−20 ℃保存。

1.2.3　目的基因的实时荧光定量逆转录 PCR（RT−qPCR）分析　基于课题组已有的转录组数据，筛选石

蒜开花相关基因,包括促花基因 *LrSPL9*(CL14636.Contig5)、*LrFT*(CL4073.Contig2)、*LrFCA*(Unigene29371)、*LrFCA*(Unigene33609)、*LrFCA*(Unigene48784)、*LrVIN3*(CL157.Contig2)、*LrGI*(CL7790.Contig3)、*LrGI*(CL7790.Contig5)和 *LrGI*(CL7790.Contig11),抑花基因 *LrFLC*(CL8268.Contig4)、*LrFLC*(CL8268.Contig6)和 *LrSVP*(CL9409.Contig10)。同时选取脯氨酸代谢基因 *LrP5CS1*、*LrP5CS2*、*LrP5CR*、*LrOAT*、*LrP5CDH* 和 *LrProDH*。利用 NCBI 数据库设计 qRT-PCR 引物(表1),由通用生物(安徽)股份有限公司合成。以 *TIP41* 为内参基因[25],反应体系总体积 15.0 μL,包括 TB Green Premix *Ex Taq* Ⅱ 7.5 μL,10 μmoL·L^{-1}正向和反向引物各 0.6 μL,cDNA 模板 2.0 μL,加 ddH_2O 补足剩余体积。所有操作均在冰上进行,反应程序:95 ℃预变性 30 s;95 ℃变性 5 s、60 ℃退火/延伸 31 s,35 次循环。每个模板设置 3 个重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法[26]计算基因的相对表达量。

1.3 数据分析

利用 EXCEL 2013 软件统计和计算实验数据,利用 SPSS 27.0 软件进行单因素方差分析和 Spearman 等级相关分析,其中,单因素方差分析的显著性采用 *F* 检验计算 *P* 值,Spearman 等级相关分析的显著性采用 *t* 分布近似计算 *P* 值(当样本量小于或等于 10 时,通过精确排列检验计算双侧 *P* 值)。利用 Origin 2024 软件作图。

表 1 实时荧光定量逆转录 PCR 所用引物
Table 1 Primers used for quantitative reverse transcription PCR

基因 Gene	基因 ID Gene ID	引物序列(5′→3′) Primer sequence (5′→3′)	
		正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
促花基因 Flowering-promoting gene			
LrSPL9	CL14636.Contig5	CACCTCCTGGTCCTCTATC	AGGTGGTAATAGAAGGGAAGA
LrFT	CL4073.Contig2	CCACAGCTGAGGGTTTAAG	CAAGGAGTGTGGCCATTAG
LrFCA	Unigene29371	GGTGCTCTGATGGTTAATGG	GCACATAAGGGAGACAATGG
LrFCA	Unigene33609	GTAAGGGTTGTGAGGGTAAAG	CCATTCAGAGGTGCAGAAG
LrFCA	Unigene48784	GTTGGCCGTGGCTTTAT	GATGATGTTGGTGAGGGAAA
LrVIN3	CL157.Contig2	CGGCTGTTATGACGAGTTT	GACTGCTCTGCTTGATTGT
LrGI	CL7790.Contig3	GGTGAGAGGAATGGCATTTA	CAGTCACCTTTCGGCTATG
LrGI	CL7790.Contig5	GGAGGCGATACTACGAAGA	GGACCACATACCAACATGAG
LrGI	CL7790.Contig11	GCCCTTTGTGATGTTGTTTC	CCTTGCTCGTCATCTCTTG
抑花基因 Floral repressor gene			
LrFLC	CL8268.Contig4	GGAGCTACAAGAATGGGTATG	GGAGCCTTTGAGAACGTATT
LrFLC	CL8268.Contig6	ATGACGAGGAGGTGAGATG	CATCGCCTCTAGCACAATAC
LrSVP	CL9409.Contig10	GACAAGTGGTGGACATGAG	CACCTGAATGTGAGGCATTA
脯氨酸代谢基因 Proline metabolism gene			
LrP5CS1		GCAGGCACACCAGTCGTAAT	CGTGAGGCAACTGCCATTTC
LrP5CS2		GCACGTGAGATGGCTGTTTC	TTTTGGGCAGCAACAACGTC
LrP5CR		GGTAACATGGCGGAGAGCAT	CCGAAAGACCGGAAGGAGTC
LrOAT		GGTGGAACTTGCTAAACGCC	CAACAGCACCCATTGTACGC
LrProDH		GGAGGGGTTTCTTACTGGGC	CGACCGACCCCAAACCTTTA
LrP5CDH		TGCGTATTTAACAGCCGCAG	GTGATTTTGCGGAGCACCTG

2 结果和分析

2.1 石蒜自然开花进程中生理指标与基因表达

2.1.1 生理指标变化 不同开花时期石蒜内层鳞片的生理指标见表 2。结果显示:随着开花进程推进,石蒜内层鳞片中脯氨酸含量呈上升趋势,在盛花期达最高,显著高于($P<0.05$)其他时期。可溶性糖含量总体呈先升后降趋势,在花葶伸长初期达到峰值,显著高于其他时期。可溶性蛋白质含量呈上升趋势,在始花期和盛花期显著高于其他时期。超氧化物歧化酶活性呈先升后降趋势,在花葶伸长后期达到峰值,在出葶期最低,差异达显著水平。过氧化物酶和过氧化氢酶活性则呈先降后升趋势,二者在花葶伸长后期

表 2　不同开花时期石蒜内层鳞片的生理指标($\bar{X}\pm SD$)[1)]
Table 2　Physiological indices of inner bulb scales of *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb. at different flowering stages ($\bar{X}\pm SD$)[1)]

开花时期[2)] Flowering stage[2)]	w_{Pro}/(μg·g^{-1})	w_{SS}/(mg·g^{-1})	w_{SP}/(mg·g^{-1})	A_{SOD}/(U·g^{-1})	A_{POD}/(U·g^{-1})	A_{CAT}/(U·g^{-1})
S1	58.99±3.69d	7.87±0.32b	2.23±0.08d	286.37±6.38e	857.14±95.24c	111.91±10.91b
S2	83.40±3.53c	10.30±0.20a	2.90±0.10c	400.79±3.97c	825.40±109.97c	85.71±7.14c
S3	98.59±4.50b	7.69±0.33b	2.92±0.12c	538.36±16.04a	809.52±67.34c	69.05±10.91d
S4	104.06±2.69b	6.58±0.24c	3.95±0.10b	464.95±8.95b	1 174.60±54.99b	126.19±8.25ab
S5	149.63±3.26a	6.74±0.25c	4.12±0.07a	335.32±5.95d	1 555.56±109.97a	138.10±4.12a

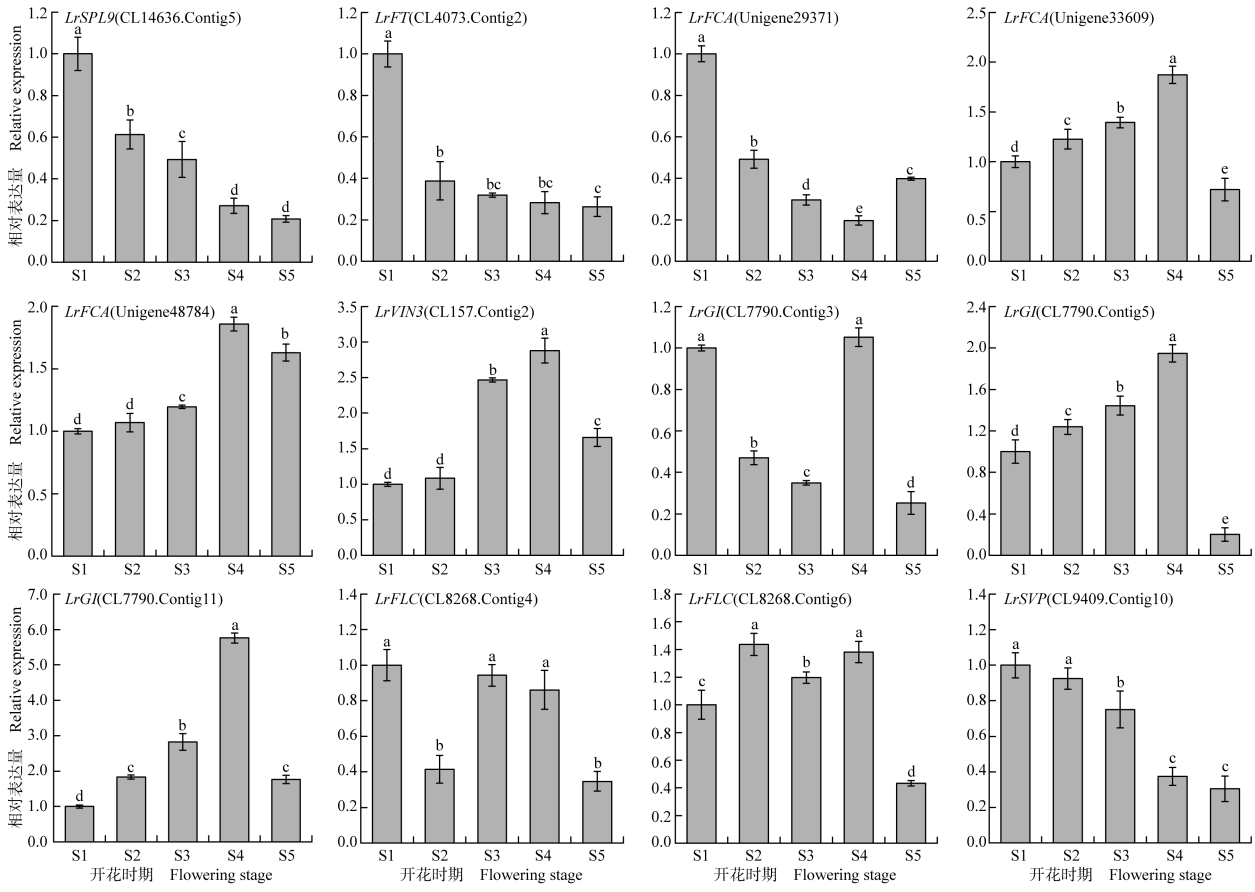
[1)] w_{Pro}：脯氨酸含量 Proline content；w_{SS}：可溶性糖含量 Soluble sugar content；w_{SP}：可溶性蛋白质含量 Soluble protein content；A_{SOD}：超氧化物歧化酶活性 Superoxide dismutase activity；A_{POD}：过氧化物酶活性 Peroxidase activity；A_{CAT}：过氧化氢酶活性 Catalase activity. 同列中不同小写字母表示不同开花时期之间差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P<0.05$) between different flowering stages.

[2)] S1：出葶期 Scape emergence stage；S2：花葶伸长初期 Early stage of scape elongation；S3：花葶伸长后期 Late stage of scape elongation；S4：始花期 Initial flowering stage；S5：盛花期 Full blooming stage.

降至最低，在盛花期最高，差异达显著水平。

2.1.2　开花相关基因表达模式　不同开花时期石蒜开花相关基因的表达水平见图 2。

2.1.2.1　促花基因　由图 2 可见：随着开花进程推进，促花基因中 *LrSPL9*（CL14636. Contig5）和 *LrFT*（CL4073.Contig2）的相对表达量呈下降趋势；*LrFCA*（Unigene29371）的相对表达量先降后升，在始花期最低；*LrFCA*（Unigene33609）、*LrFCA*（Unigene48784）、



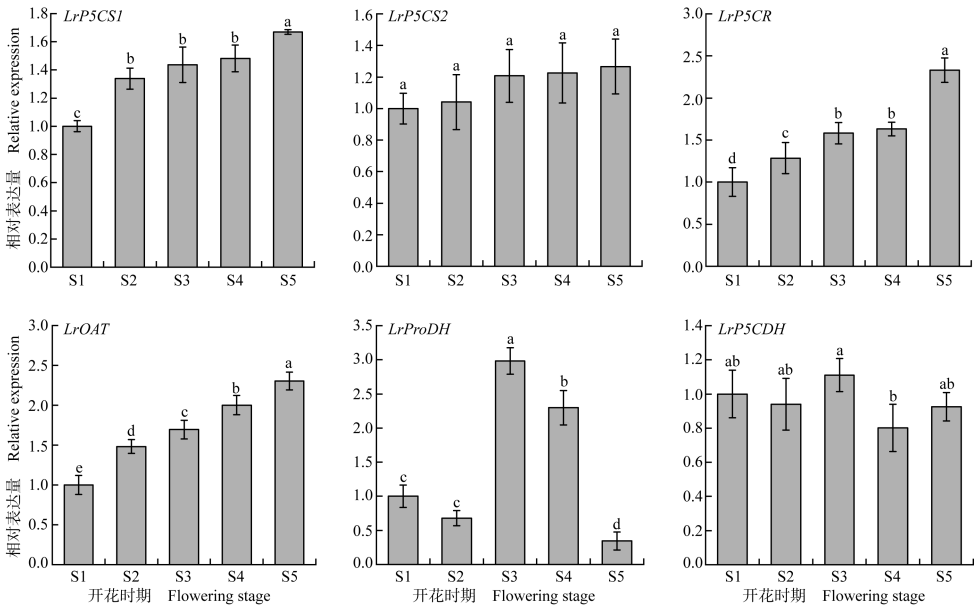
同一图中柱子上方不同小写字母表示不同开花时期之间差异显著($P<0.05$) Different lowercases above the bars in the same graph indicate the significant differences ($P<0.05$) between different flowering stages. S1：出葶期 Scape emergence stage；S2：花葶伸长初期 Early stage of scape elongation；S3：花葶伸长后期 Late stage of scape elongation；S4：始花期 Initial flowering stage；S5：盛花期 Full blooming stage.

图 2　不同开花时期石蒜开花相关基因的表达水平
Fig. 2　Expression levels of flowering-related genes in *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb. at different flowering stages

LrVIN3(CL157.Contig2)、*LrGI*(CL7790.Contig5)和*LrGI*(CL7790.Contig11)的相对表达量均呈先升后降趋势,均在始花期达峰值,之后显著降低;*LrGI*(CL7790.Contig3)的相对表达量呈先降后升再降趋势,在始花期最高。

2.1.2.2 抑花基因 由图2还可见:随着开花进程推进,*LrFLC*(CL8268.Contig4)的相对表达量先降后升再降,在盛花期最低。*LrFLC*(CL8268.Contig6)的相对表达量波动变化,在盛花期显著低于其他时期。*LrSVP*(CL9409.Contig10)的相对表达量呈下降趋势。

2.1.3 脯氨酸代谢基因表达模式 不同开花时期石蒜脯氨酸代谢基因的表达水平见图3。由图3可见:随着开花进程推进,脯氨酸合成途径关键酶基因*LrP5CS1*、*LrP5CS2*、*LrP5CR*和*LrOAT*的相对表达量呈上升趋势;脯氨酸降解途径关键酶基因*LrProDH*的相对表达量呈先降后升再降趋势;而*LrP5CDH*的相对表达量小幅波动,仅花葶伸长后期的相对表达量显著高于始花期。



同一图中柱子上方不同小写字母表示不同开花时期之间差异显著($P<0.05$) Different lowercases above the bars in the same graph indicate the significant differences ($P<0.05$) between different flowering stages. S1: 出葶期 Scape emergence stage; S2: 花葶伸长初期 Early stage of scape elongation; S3: 花葶伸长后期 Late stage of scape elongation; S4: 始花期 Initial flowering stage; S5: 盛花期 Full blooming stage.

图3 不同开花时期石蒜脯氨酸代谢基因的表达水平

Fig. 3 Expression levels of proline metabolism genes in *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb. at different flowering stages

2.2 石蒜自然开花进程中生理指标与开花时期、开花相关基因表达的关联

2.2.1 生理指标与开花时期的相关性分析 石蒜自然开花进程中生理指标与开花时期的Spearman等级相关系数见表3。结果显示:脯氨酸含量和可溶性蛋白质含量均与开花时期呈极显著正相关($P<0.01$)。可溶性糖含量与开花时期呈负相关,虽未达显著水平,但趋势明显。3种抗氧化酶活性与开花时期的相关性均未达显著水平。

2.2.2 生理指标与开花相关基因表达水平的相关性分析 石蒜自然开花进程中生理指标与开花相关基因表达水平的Spearman等级相关系数见表4。结果

表3 石蒜自然开花进程中生理指标与开花时期的Spearman等级相关系数(ρ)

Table 3 Spearman rank correlation coefficient (ρ) between physiological indices and flowering stages during the natural flowering process of *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb.

生理指标 Physiological index	与开花时期的ρ值[1)] ρ value with flowering stage[1)]
脯氨酸含量 Proline content	1.0 **
可溶性糖含量 Soluble sugar content	−0.8
可溶性蛋白质含量 Soluble protein content	1.0 **
超氧化物歧化酶活性 Superoxide dismutase activity	0.3
过氧化物酶活性 Peroxidase activity	0.6
过氧化氢酶活性 Catalase activity	0.6

[1)] **: $P<0.01$.

表 4　石蒜自然开花进程中生理指标与开花相关基因表达水平的 Spearman 等级相关系数(ρ)[1)]
Table 4　Spearman rank correlation coefficient (ρ) between physiological indices and expression levels of flowering-related genes during the natural flowering process of *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb.[1)]

生理指标 Physiological index	与各基因相对表达量的 ρ 值　ρ value with relative expression of each gene					
	LrSPL9 (CL14636.Contig5)	*LrFT* (CL4073.Contig2)	*LrFCA* (Unigene29371)	*LrFCA* (Unigene33609)	*LrFCA* (Unigene48784)	*LrVIN3* (CL157.Contig2)
w_{Pro}	−1.0 **	−1.0 **	−0.7	0.5	0.5	0.7
w_{SS}	0.8	0.8	0.5	−0.9 *	−0.5	−0.8
w_{SP}	−1.0 **	−1.0 **	−0.7	0.5	0.5	0.7
A_{SOD}	−0.3	−0.3	0.1	0.1	−0.1	0.3
A_{POD}	−0.6	−0.6	−0.1	0.4	−0.3	0.1
A_{CAT}	−0.6	−0.6	−0.1	0.4	−0.3	0.1
生理指标 Physiological index	与各基因相对表达量的 ρ 值　ρ value with relative expression of each gene					
	LrGI (CL7790.Contig3)	*LrGI* (CL7790.Contig5)	*LrGI* (CL7790.Contig11)	*LrFLC* (CL8268.Contig4)	*LrFLC* (CL8268.Contig6)	*LrSVP* (CL9409.Contig10)
w_{Pro}	0.1	0.0	0.3	−0.7	0.1	−1.0 **
w_{SS}	−0.3	−0.2	−0.6	0.8	−0.1	0.8
w_{SP}	0.1	0.0	0.3	−0.7	0.1	−1.0 **
A_{SOD}	0.3	0.3	0.3	−0.1	0.3	−0.3
A_{POD}	0.7	0.6	0.9 *	−0.3	0.6	−0.6
A_{CAT}	0.7	0.6	0.9 *	−0.3	0.6	−0.6

[1)] w_{Pro}：脯氨酸含量 Proline content；w_{SS}：可溶性糖含量 Soluble sugar content；w_{SP}：可溶性蛋白质含量 Soluble protein content；A_{SOD}：超氧化物歧化酶活性 Superoxide dismutase activity；A_{POD}：过氧化物酶活性 Peroxidase activity；A_{CAT}：过氧化氢酶活性 Catalase activity. *：$P<0.05$；**：$P<0.01$.

显示：脯氨酸含量和可溶性蛋白质含量均与促花基因 *LrSPL9*(CL14636.Contig5)、*LrFT*(CL4073.Contig2)及抑花基因 *LrSVP*(CL9409.Contig10)的相对表达量呈极显著负相关。可溶性糖含量与 *LrFCA*(Unigene33609)的相对表达量呈显著负相关($P<0.05$)。3 种抗氧化酶活性与开花相关基因相对表达量的相关性普遍较弱，仅过氧化物酶活性和过氧化氢酶活性与 *LrGI*(CL7790.Contig11)呈显著正相关。

2.3　干旱胁迫下石蒜的生理指标与基因表达

2.3.1　*对开花时间的影响*　处理 58 d 时，对照组进入盛花期，轻度、中度和重度干旱组石蒜的开花时间有不同程度的延迟，其中，轻度干旱组进入始花期，中度干旱组介于出葶期至花葶伸长初期之间，重度干旱组仍处于休眠期。直至处理 76 d，重度干旱组才进入盛花期。

2.3.2　*生理响应*　不同干旱胁迫程度下石蒜内层鳞片的生理指标见表 5。结果显示：与对照组相比较，干旱胁迫下石蒜内层鳞片的生理指标总体显著升高($P<0.05$)。干旱胁迫下，石蒜内层鳞片中丙二醛和脯氨酸含量总体随着处理时间的延长和干旱胁迫程度的增加而上升。随着处理时间的延长，轻度和重度干旱组的可溶性糖含量呈先升后降趋势，分别于处理 70 和 64 d 达到峰值；中度干旱组的可溶性糖含量呈持续上升趋势。同一处理时间下，处理 58 和 64 d 的可溶性糖含量均随着干旱胁迫程度的增加呈上升趋势，处理 70 和 76 d 则呈先升后降趋势。随着处理时间的延长，轻度干旱组的可溶性蛋白质含量呈持续上升趋势；中度和重度干旱组的可溶性蛋白质含量则呈先升后降趋势，均于处理 64 d 达到峰值。同一处理时间下，处理 58 和 64 d 的可溶性蛋白质含量均随着干旱胁迫程度的增加呈上升趋势，处理 70 和 76 d 则呈先升后降趋势。随着处理时间的延长，轻度干旱组的超氧化物歧化酶活性呈先升后降趋势，于处理 70 d 达到峰值；中度和重度干旱组的超氧化物歧化酶活性呈逐渐下降趋势。同一处理时间下，处理 58 和 64 d 的超氧化物歧化酶活性随着干旱胁迫程度的增加呈上升趋势，处理 70 和 76 d 则呈下降趋势。随着处理时间的延长，轻度和中度干旱组的过氧化物酶活性呈先升后降趋势，均于处理 70 d 达到峰值；重度干旱组的过氧化物酶活性呈先降后升趋势，于处理 70 d 最低。同一处理时间下，过氧化物酶活性均随着干旱胁迫程度的增加呈先升后降趋势。随着处理时间的延长，轻度和中度干旱组的过氧化氢酶活性呈先升后降趋势，于处理 64 d 达到峰值；重度干旱组的过氧化氢酶活性呈逐渐下降趋势。同一处理时间下，处理 58 和 64 d 的过氧化氢酶活性随着干旱胁迫程度的增加

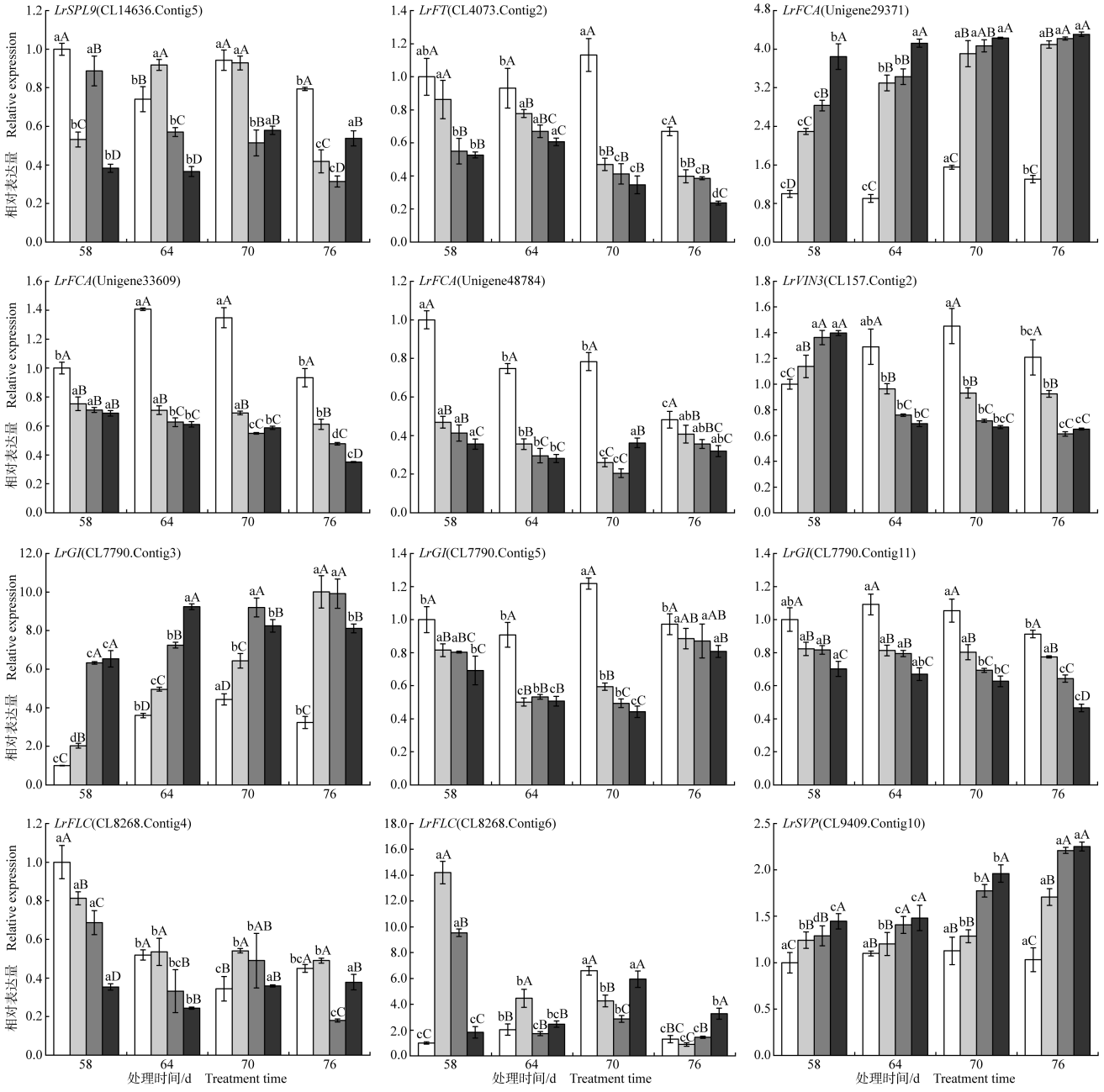
表 5 不同干旱胁迫程度下石蒜内层鳞片的生理指标($\bar{X}\pm SD$)[1)]
Table 5 Physiological indices of inner bulb scales of *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb. under different drought stress levels ($\bar{X}\pm SD$)[1)]

处理 Treatment	不同处理时间的丙二醛含量/(μmol·g^{-1}) Malondialdehyde content at different treatment times			
	58 d	64 d	70 d	76 d
对照 The control	3.44±0.49aD	3.72±0.33aC	3.76±0.28aD	4.00±0.22aC
轻度干旱 Mild drought	6.07±0.79cC	10.68±0.93bB	13.07±1.01aC	14.38±0.70aB
中度干旱 Moderate drought	19.38±0.98cB	21.92±0.88bA	23.55±0.98bB	26.43±0.63aA
重度干旱 Severe drought	21.30±1.06bA	21.87±0.78bA	26.15±2.14aA	28.07±1.67aA
处理 Treatment	不同处理时间的脯氨酸含量/(μg·g^{-1}) Proline content at different treatment times			
	58 d	64 d	70 d	76 d
对照 The control	110.51±9.46aC	115.66±7.00aD	116.81±10.03aC	110.22±17.37aC
轻度干旱 Mild drought	235.94±8.61dB	261.71±6.45cC	307.53±3.87bB	324.43±6.89aB
中度干旱 Moderate drought	288.63±5.25cA	298.94±9.50bcB	313.55±7.80bB	373.40±8.65aA
重度干旱 Severe drought	301.23±4.32cA	314.12±5.85cA	344.47±10.88bA	377.12±6.03aA
处理 Treatment	不同处理时间的可溶性糖含量/(mg·g^{-1}) Soluble sugar content at different treatment times			
	58 d	64 d	70 d	76 d
对照 The control	8.05±0.10bD	8.06±0.12bC	8.56±0.13aD	8.26±0.12bD
轻度干旱 Mild drought	9.47±0.15cC	10.81±0.23bB	11.51±0.07aB	11.07±0.10bB
中度干旱 Moderate drought	10.08±0.19cB	11.21±0.08bA	11.82±0.18aA	11.93±0.23aA
重度干旱 Severe drought	10.49±0.13cA	11.54±0.27aA	11.00±0.12bC	9.07±0.22dC
处理 Treatment	不同处理时间的可溶性蛋白质含量/(mg·g^{-1}) Soluble protein content at different treatment times			
	58 d	64 d	70 d	76 d
对照 The control	0.97±0.04bD	1.20±0.07aD	1.22±0.02aD	1.24±0.07aC
轻度干旱 Mild drought	1.30±0.07cC	2.00±0.10bC	2.49±0.06aC	2.58±0.09aB
中度干旱 Moderate drought	1.99±0.15bB	3.17±0.03aB	3.15±0.04aA	3.08±0.07aA
重度干旱 Severe drought	2.80±0.29bA	3.38±0.07aA	2.67±0.04bB	2.62±0.06bB
处理 Treatment	不同处理时间的超氧化物歧化酶活性/(U·g^{-1}) Superoxide dismutase activity at different treatment times			
	58 d	64 d	70 d	76 d
对照 The control	94.18±4.65bD	94.97±0.56bD	107.67±3.00aC	73.54±10.57cC
轻度干旱 Mild drought	105.16±6.06dC	121.16±7.71cC	161.64±1.65aA	134.92±7.05bA
中度干旱 Moderate drought	142.33±8.74aB	132.01±2.42abB	125.93±8.74bB	92.86±3.46cB
重度干旱 Severe drought	160.58±3.30aA	145.50±4.65bA	101.85±4.51cC	78.31±5.16dC
处理 Treatment	不同处理时间的过氧化物酶活性/(U·g^{-1}) Peroxidase activity at different treatment times			
	58 d	64 d	70 d	76 d
对照 The control	619.05±16.50bC	628.57±58.70bC	647.62±32.99abC	704.76±32.99aB
轻度干旱 Mild drought	786.15±94.27bB	838.10±32.99abB	952.38±87.29aB	788.74±74.66bB
中度干旱 Moderate drought	1 085.71±57.14aA	1 161.90±87.29aA	1 218.10±88.54aA	1 066.67±65.98aA
重度干旱 Severe drought	835.67±102.31aB	819.05±32.99aB	666.67±32.99bC	742.86±57.14abB
处理 Treatment	不同处理时间的过氧化氢酶活性/(U·g^{-1}) Catalase activity at different treatment times			
	58 d	64 d	70 d	76 d
对照 The control	85.71±7.14aB	64.29±10.10bB	73.81±5.05abB	71.43±5.05abC
轻度干旱 Mild drought	111.90±10.10bAB	128.57±7.14aA	107.14±7.14bA	104.76±10.91bA
中度干旱 Moderate drought	128.57±12.37aA	133.33±10.91aA	121.43±14.29abA	100.00±7.14bAB
重度干旱 Severe drought	140.48±25.08aA	135.71±7.14abA	109.52±5.05bcA	88.10±4.12cB

[1)] 同行中不同小写字母表示不同处理时间之间差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant differences ($P<0.05$) between different treatment times; 同列中不同大写字母表示不同处理之间差异显著($P<0.05$) Different uppercases in the same column indicate the significant differences ($P<0.05$) between different treatments.

呈上升趋势,处理 70 d 呈先升后降趋势,处理 76 d 则呈下降趋势。

2.3.3 开花相关基因的表达响应 不同干旱胁迫程度下石蒜开花相关基因的表达水平见图 4。



同一图中柱子上方不同小写字母表示不同处理时间之间差异显著（$P<0.05$）Different lowercases above the bars in the same graph indicate the significant differences ($P<0.05$) between different treatment times; 同一图中柱子上方不同大写字母表示不同处理之间差异显著（$P<0.05$）Different uppercases above the bars in the same graph indicate the significant differences ($P<0.05$) between different treatments.

图 4　不同干旱胁迫程度下石蒜开花相关基因的表达水平

Fig. 4　Expression levels of flowering-related genes in *Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb. under different drought stress levels

2.3.3.1　促花基因　由图 4 可见：根据表达模式差异，石蒜促花相关基因可分为 4 类。

1）复杂波动型，包括 *LrSPL9*（CL14636.Contig5）和 *LrVIN3*（CL157.Contig2）。作为关键促花基因，这 2 个基因对干旱胁迫表现出高度敏感的非线性响应。总体上看，与对照组相比，除处理 64 d 轻度干旱组 *LrSPL9*（CL14636.Contig5）相对表达量显著升高外，其余处理时间 3 个干旱胁迫组显著降低；处理 58 d，3 个干旱胁迫组 *LrVIN3*（CL157.Contig2）相对表达量显著高于对照组，而其余处理时间显著降低。随着处

理时间延长,轻度干旱组 *LrSPL9*(CL14636.Contig5)的相对表达量呈先升后降趋势,于处理 70 d 最高;中度干旱组则持续下降;重度干旱组处理 58 和 64 d 的相对表达量变化不显著,处理 70 d 显著升高,之后变化不显著。同一处理时间下,处理 58 d *LrSPL9*(CL14636.Contig5)的相对表达量随着干旱胁迫程度的增加呈先升后降趋势;处理 64 d 呈逐渐下降趋势;处理 70 和 76 d 呈先降后升趋势,分别为轻度和重度干旱组最高。随着处理时间的延长,3 个干旱胁迫组 *LrVIN3*(CL157.Contig2)的相对表达量均呈持续下降趋势,处理 58~64 d 期间降幅最大,之后降幅趋缓。同一处理时间下,处理 58 d *LrVIN3*(CL157.Contig2)的相对表达量随干旱胁迫程度的增加而上升;处理 64、70 和 76 d 总体呈下降趋势,但中度与重度干旱组之间差异不显著。

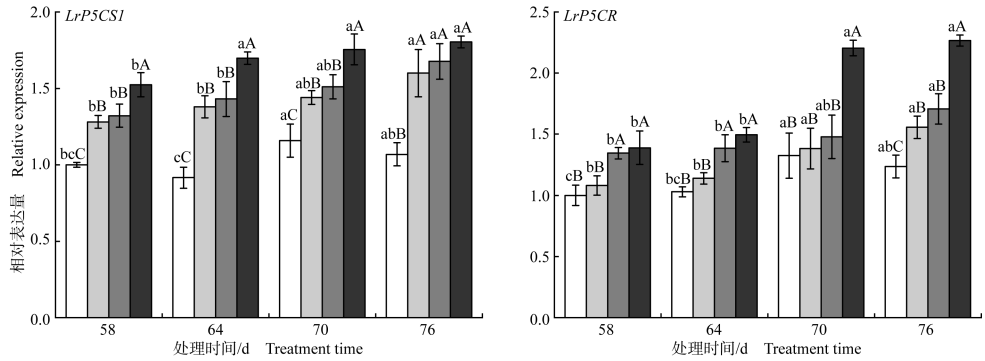
2)正向响应型,包括 *LrFCA*(Unigene29371)。该基因的表达模式与多数促花基因相反。干旱胁迫下,*LrFCA*(Unigene29371)的相对表达量均显著高于对照组,且随着处理时间的延长和干旱胁迫程度的增加而上升。

3)持续抑制型,包括 *LrFT*(CL4073.Contig2)、*LrFCA*(Unigene33609)、*LrFCA*(Unigene48784)、*LrGI*(CL7790.Contig5)和 *LrGI*(CL7790.Contig11)。该类型基因在干旱胁迫下整体表现为表达受抑制,且受抑制程度随着干旱胁迫程度的增加而增加。随着处理时间的延长,轻度干旱组 *LrFT*(CL4073.Contig2)的相对表达量呈下降趋势,中度和重度干旱组则呈先升后降趋势,于处理 64 d 最高。同一处理时间下,*LrFT*(CL4073.Contig2)的相对表达量随着干旱胁迫程度的增加呈下降趋势。干旱胁迫下,*LrFCA*(Unigene33609)的相对表达量总体随着处理时间的延长和干旱胁迫程度的增加而下降。随着处理时间的延长,轻度和中度干旱组 *LrFCA*(Unigene48784)的相对表达量呈先降后升趋势,于处理 70 d 降至最低;重度干旱组则呈先降后升再降趋势,于处理 64 d 最低。同一处理时间下,处理 58、64 和 76 d *LrFCA*(Unigene48784)的相对表达量随着干旱胁迫程度的增加而下降,处理 70 d 则先降后升。随着处理时间的延长,3 个干旱胁迫组 *LrGI*(CL7790.Contig5)的相对表达量均呈先降后升趋势,分别于处理 64、70 和 70 d 降至最低。同一处理时间下,处理 58、70 和 76 d *LrGI*(CL7790.Contig5)的相对表达量随着干旱胁迫程度的增加呈下降趋势,处理 64 d 不同干旱胁迫组间差异不显著。随着处理时间的延长,3 个干旱胁迫组 *LrGI*(CL7790.Contig11)的相对表达量呈下降趋势,其中,轻度干旱组下降较平缓,不同处理时间之间差异不显著;而中度和重度干旱组均在处理 76 d 显著下降。同一处理时间下,*LrGI*(CL7790.Contig11)的相对表达量随干旱胁迫程度增加而下降。

4)胁迫诱导型,包括 *LrGI*(CL7790.Contig3)。该基因表现出独特的逆境激活特征。3 个干旱胁迫组 *LrGI*(CL7790.Contig3)的相对表达量均显著高于对照组。随着处理时间的延长,轻度和中度干旱组 *LrGI*(CL7790.Contig3)相对表达量逐渐上升;重度干旱组则先升后降,于处理 64 d 达到峰值。随着干旱胁迫程度增加,处理 58 和 64 d *LrGI*(CL7790.Contig3)的相对表达量逐渐上升,处理 70 d 呈先升后降趋势,处理 76 d 呈逐渐下降。

2.3.3.2 抑花基因 由图 4 还可见:随着处理时间的延长,轻度干旱组 *LrFLC*(CL8268.Contig4)的相对表达量呈先降后趋于稳定趋势,中度干旱组呈先降后升再降趋势,二者均于处理 58 d 最高,处理 76 d 最低;重度干旱组呈先降后升趋势,于处理 64 d 最低。同一处理时间下,3 个干旱胁迫组中,轻度干旱组 *LrFLC*(CL8268.Contig4)的相对表达量最高,其中,处理 58~70 d *LrFLC*(CL8268.Contig4)的相对表达量随着干旱胁迫程度的增加而下降,处理 76 d 则呈先降后升趋势。随着处理时间的延长,轻度干旱组 *LrFLC*(CL8268.Contig6)的相对表达量呈逐渐下降趋势;中度干旱组呈先降后升再降趋势,于处理 76 d 最低;重度干旱组呈先升后降趋势,于处理 70 d 最高。同一处理时间下,处理 58 d *LrFLC*(CL8268.Contig6)的相对表达量随着干旱胁迫程度的增加呈下降趋势;处理 64 和 70 d 呈先降后升趋势,轻度和重度干旱组的相对表达量分别最高;处理 76 d 呈上升趋势。干旱胁迫下,*LrSVP*(CL9409.Contig10)的相对表达量总体随处理时间的延长和干旱胁迫程度的增加而上升。

2.3.4 脯氨酸代谢基因的表达响应 在石蒜自然开花进程中,脯氨酸降解途径关键酶基因无明显规律,而脯氨酸合成途径关键酶基因的相对表达量均持续上升,对其中具有代表性的基因 *LrP5CS1* 和 *LrP5CR* 在干旱胁迫下的表达水平进行了研究。干旱胁迫下,*LrP5CS1* 和 *LrP5CR* 的相对表达量随处理时间的延长和干旱胁迫程度的增加而上升(图 5)。



同一图中柱子上方不同小写字母表示不同处理时间之间差异显著（$P<0.05$）Different lowercases above the bars in the same graph indicate the significant differences（$P<0.05$）between different treatment times；同一图中柱子上方不同大写字母表示不同处理之间差异显著（$P<0.05$）Different uppercases above the bars in the same graph indicate the significant differences（$P<0.05$）between different treatments.

图 5　不同干旱胁迫程度下脯氨酸代谢基因 *LrP5CS1* 和 *LrP5CR* 的表达水平

Fig. 5　Expression levels of proline metabolism genes *LrP5CS1* and *LrP5CR* in *Lycoris radiata*（L'Hér.）Herb. under different drought stress levels

2.4　干旱胁迫下石蒜生理指标与开花相关基因、脯氨酸代谢基因表达的关联

干旱胁迫下石蒜生理指标与开花相关基因、脯氨酸代谢基因表达水平的 Spearman 等级相关系数见表 6。结果显示：石蒜中丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白质含量与促花基因 *LrFT*（CL4073.Contig2）、*LrFCA*（Unigene33609）、*LrFCA*（Unigene48784）、*LrVIN3*（CL157.Contig2）、*LrGI*（CL7790.Contig11）的相对表达量呈显著（$P<0.05$）或极显著（$P<0.01$）负相关，与 *LrFCA*（Unigene29371）、

表 6　干旱胁迫下石蒜生理指标与开花相关基因、脯氨酸代谢基因表达水平的 Spearman 等级相关系数（ρ）[1)]

Table 6　Spearman rank correlation coefficient（ρ）between physiological indices and expression levels of flowering-related genes and proline metabolism genes in *Lycoris radiata*（L'Hér.）Herb. under drought stress[1)]

生理指标 Physiological index	与各基因相对表达量的 ρ 值　ρ value with relative expression of each gene						
	LrSPL9（CL14636.Contig5）	*LrFT*（CL4073.Contig2）	*LrFCA*（Unigene29371）	*LrFCA*（Unigene33609）	*LrFCA*（Unigene48784）	*LrVIN3*（CL157.Contig2）	*LrGI*（CL7790.Contig3）
w_{MDA}	−0.30	−0.66 **	0.60 *	−0.52 *	−0.58 *	−0.60 *	0.55 *
w_{Pro}	−0.35	−0.72 **	0.64 **	−0.57 *	−0.64 **	−0.65 **	0.58 *
w_{SS}	−0.27	−0.60 *	0.53 *	−0.44 *	−0.55 *	−0.51 *	0.46 *
w_{SP}	−0.31	−0.68 **	0.61 **	−0.53 *	−0.60 *	−0.62 **	0.54 *
A_{SOD}	−0.19	−0.42	0.39	−0.29	−0.31	−0.35	0.33
A_{POD}	0.17	−0.14	0.21	−0.16	−0.44	−0.15	0.28
A_{CAT}	−0.22	−0.51 *	0.44 *	−0.33	−0.38	−0.42	0.41

生理指标 Physiological index	与各基因相对表达量的 ρ 值　ρ value with relative expression of each gene						
	LrGI（CL7790.Contig5）	*LrGI*（CL7790.Contig11）	*LrFLC*（CL8268.Contig4）	*LrFLC*（CL8268.Contig6）	*LrSVP*（CL9409.Contig10）	*LrP5CS1*	*LrP5CR*
w_{MDA}	−0.22	−0.43 *	0.00	−0.22	0.58 *	0.71 **	0.67 **
w_{Pro}	−0.19	−0.48 *	−0.03	−0.27	0.62 **	0.75 **	0.71 **
w_{SS}	−0.15	−0.39	0.05	−0.19	0.51 *	0.62 **	0.58 *
w_{SP}	−0.23	−0.45 *	−0.01	−0.24	0.59 *	0.70 **	0.66 **
A_{SOD}	−0.08	−0.23	0.12	−0.06	0.36	0.44 *	0.41
A_{POD}	−0.41	−0.13	−0.25	0.14	0.10	0.16	0.23
A_{CAT}	−0.04	−0.26	0.08	−0.11	0.10	0.52 *	0.48 *

[1)] w_{MDA}：丙二醛含量 Malondialdehyde content；w_{Pro}：脯氨酸含量 Proline content；w_{SS}：可溶性糖含量 Soluble sugar content；w_{SP}：可溶性蛋白质含量 Soluble protein content；A_{SOD}：超氧化物歧化酶活性 Superoxide dismutase activity；A_{POD}：过氧化物酶活性 Peroxidase activity；A_{CAT}：过氧化氢酶活性 Catalase activity.　*：$P<0.05$；**：$P<0.01$.

LrGI(CL7790.Contig3)的相对表达量呈显著或极显著正相关;与抑花基因 *LrSVP*(CL9409.Contig10)以及脯氨酸代谢基因 *LrP5CS1*、*LrP5CR* 的相对表达量呈显著或极显著正相关,但与脯氨酸含量相比较,可溶性糖含量和可溶性蛋白质含量与上述基因相对表达量的 Spearman 等级相关系数绝对值略小。抗氧化酶活性与开花相关基因相对表达量的相关性较弱,仅过氧化氢酶活性与 *LrFT*(CL4073.Contig2)的相对表达量呈显著负相关,与 *LrFCA*(Unigene29371)的相对表达量呈显著正相关。超氧化物歧化酶活性与脯氨酸代谢基因 *LrP5CS1* 的相对表达量呈显著正相关,过氧化氢酶活性与 *LrP5CS1*、*LrP5CR* 的相对表达量呈显著正相关。

3 讨论和结论

3.1 石蒜自然开花进程中的生理指标和基因表达变化及关联性

植物开花是一个需要能量物质和信号分子协同作用的复杂生理过程,受到多种因子的共同影响。石蒜自然开花进程中,脯氨酸含量持续上升,这与不结球白菜(*Brassica campestris* subsp. *chinensis* Makino)的研究结果一致[27],且与开花时期呈极显著正相关($P<0.01$),表明脯氨酸积累可能是开花程序的内在需求。石蒜中可溶性糖含量总体呈先升后降的趋势,与中粒咖啡(*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner)开花过程相似[28],反映了开花后期糖类被大量消耗用于花器官发育。石蒜自然开花进程中,可溶性蛋白质含量持续上升,且与开花时期呈极显著正相关,也支持营养物质向生殖器官转运的观点[29-30]。抗氧化酶活性的动态变化,包括超氧化物歧化酶活性呈先升后降趋势,过氧化物酶和过氧化氢酶活性则呈先降后升趋势,表明其在清除开花过程中产生的活性氧、保护细胞免受氧化损伤方面发挥协同作用,这与杨山牡丹(*Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang)品种'凤丹'('Fengdan')[31]和大丽菊(*Dahlia pinnata* Cav.)[32]的研究结果相似。

在基因表达层面,石蒜促花基因 *LrFCA*(Unigene33609)、*LrFCA*(Unigene48784)、*LrVIN3*(CL157.Contig2)、*LrGI*(CL7790.Contig5)和 *LrGI*(CL7790.Contig11)的表达在盛花期前均呈现上升趋势,证实了其正向调控石蒜开花的保守功能,这与枇杷〔*Eriobotrya japonica*(Thunb.)Lindl.〕品种'解放钟'('Jiefangzhong')中 *EjFCA* 的表达模式类似[33]。*LrGI*(CL7790.Contig3)的相对表达量在盛花期前先降后升,推测其在花葶伸长初期和花葶伸长后期受到其他生物节律钟基因的抑制而没有先表达[34]。抑花基因 *LrSVP*(CL9409.Contig10)相对表达量持续下降,推测是其解除开花抑制、启动成花的必要条件[35]。脯氨酸合成途径关键酶基因的表达随着自然开花进程推进而升高,与脯氨酸含量的上升相吻合,从分子水平上印证了脯氨酸的合成需求。关联分析进一步揭示了自然开花进程下石蒜生理指标与基因表达的协同关系。脯氨酸含量与 *LrSVP*(CL9409.Contig10)的相对表达量呈极显著负相关,表明其积累与开花抑制的解除同步进行,可能通过提供能量和碳骨架[36-38],为开花程序的顺利推进提供保障。

3.2 干旱胁迫下石蒜的生理指标和基因表达变化及关联性

干旱胁迫延迟石蒜开花,且开花时间随着干旱胁迫程度的增加而延迟,这体现了植物在逆境胁迫下通过延迟生殖生长以保存生存能力的策略[13,15]。在干旱胁迫下,脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白质的积累是典型的渗透调节响应[39-40]。石蒜中脯氨酸随干旱胁迫程度的增加和处理时间的延长持续大量积累,与苎麻〔*Boehmeria nivea*(Linn.)Gaudich.〕[41]、柳树(*Salix* spp.)[42]等的研究结果相似。然而,重度干旱胁迫下石蒜中可溶性糖和可溶性蛋白质含量在处理后期的下降,以及丙二醛的持续积累和抗氧化酶活性的下降,表明胁迫超过了石蒜的自我调节阈值,导致了细胞损伤[43]。

在分子层面,干旱胁迫下促花基因 *LrFCA*(Unigene33609)和 *LrGI*(CL7790.Contig11)的表达普遍受抑制,而抑花基因 *LrSVP*(CL9409.Contig10)表达持续上调,形成了一个明确的分子开关,将资源从生殖生长转向胁迫响应。此外,*LrFCA*(Unigene29371)和 *LrGI*(CL7790.Contig3)在干旱胁迫下的表达模式与其他促花基因基本相反,暗示这2个基因可能进化出新的功能,参与胁迫信号的响应而非直接影响开花。

干旱胁迫下石蒜生理指标与基因表达的关联分析揭示了关键的调控网络。丙二醛含量与 *LrSVP*(CL9409.Contig10)相对表达量的显著正相关($P<0.05$)进一步证实了膜脂过氧化损伤与开花抑制的关

联[44]。脯氨酸含量与 *LrSVP*(CL9409.Contig10)的相对表达量呈极显著正相关($P<0.01$),与 *LrFT*(CL4073.Contig2)等促花基因的相对表达量呈极显著负相关,并与自身合成基因 *LrP5CS1*、*LrP5CR* 的相对表达量呈极显著正相关。这表明干旱胁迫通过激活脯氨酸合成通路,导致其大量积累。脯氨酸可能不仅是能量物质,同时也作为一种胁迫信号或其一部分,与脱落酸等激素协同作用[16],上调 *LrSVP*(CL9409.Contig10)等抑花基因,同时抑制促花通路,最终导致开花延迟。可溶性糖含量和可溶性蛋白质含量与上述基因相对表达量的相关性模式与脯氨酸含量基本一致,但 Spearman 等级相关系数绝对值略小,提示可溶性糖和可溶性蛋白质作为渗透调节物质与脯氨酸协同作用,共同参与资源重分配。过氧化氢酶活性与 *LrFT*(CL4073.Contig2)相对表达量呈显著负相关,与 *LrFCA*(Unigene29371)相对表达量呈显著正相关,表明氧化胁迫可能间接影响开花基因表达,但并非主要调控因子。*LrFCA*(Unigene29371)和 *LrGI*(CL7790.Contig3)的表达与丙二醛及渗透调节物质含量呈显著或极显著正相关,与多数促花基因相反,暗示这些基因在干旱胁迫下可能承担特殊功能,如响应胁迫信号而非直接促进开花。

3.3　脯氨酸:发育与逆境下调控开花时间的背景依赖性枢纽

值得注意的是,石蒜中脯氨酸含量与 *LrSVP*(CL9409.Contig10)相对表达量的相关性在自然开花进程与干旱胁迫条件下完全相反:自然开花进程中脯氨酸含量与 *LrSVP*(CL9409.Contig10)相对表达量呈极显著负相关($P<0.01$),促进开花;而干旱胁迫下脯氨酸含量与 *LrSVP*(CL9409.Contig10)相对表达量呈极显著正相关,抑制开花。这一现象提示,脯氨酸并非单纯的线性信号,其作用具有背景依赖性:在正常发育程序中,脯氨酸的积累是受内在发育程序驱动的、有序的代谢过程,主要为生殖生长提供能量和前体,其信号输出是促进开花模式;而在干旱胁迫下,脯氨酸的积累是受逆境胁迫驱动的、爆发性的渗透调节过程,此时脯氨酸可能整合了胁迫信号(如脱落酸、活性氧),形成了一个不同于发育信号的胁迫复合信号,进而重编程下游开花基因网络,将输出模式切换为抑制开花。因此,脯氨酸远不止是一个简单的渗透调节物质,更是一个关键的生理枢纽,负责整合内部发育时序与外部环境胁迫信号,使植物能够根据自身状态和环境条件做出最优的开花决策,实现生存与繁殖的权衡[45]。未来的研究应通过外源施加脯氨酸及脱落酸合成抑制剂,并结合基因编辑技术敲除 *P5CS*,进一步验证脯氨酸在石蒜开花决策中的因果作用,并深入探究其与脱落酸、SVP 等因子互作的具体分子机制。

参考文献:

[1] 令狐昱慰, 李多伟. 石蒜属植物的研究进展(综述)[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(2): 73-76.

[2] Shu Xiaochun, Lu Ruisen, Heslop-Harrison P, et al. Unraveling the evolutionary complexity of *Lycoris*: insights into chromosomal variation, genome size, and phylogenetic relationships[J]. Plant Diversity, 2025, 47(6): 931-943.

[3] 王仁师. 关于石蒜属(*Lycoris*)的生态地理[J]. 西南林学院学报, 1990, 10(1): 41-48.

[4] 李　莹, 郑玉红, 郭晓云, 等. 不同温度处理对石蒜属植物开花时间的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(2): 170-172.

[5] 蔡军火, 魏绪英, 张　露. 遮光对石蒜叶片生长及开花期性状的影响[J]. 草业科学, 2011, 28(12): 2092-2095.

[6] Hong Zonglie, Lakkineni K, Zhang Zhongming, et al. Removal of feedback inhibition of Δ^1-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress[J]. Plant Physiology, 2000, 122(4): 1129-1136.

[7] Kumar V, Shriram V, Kavi Kishor P B, et al. Enhanced proline accumulation and salt stress tolerance of transgenic *indica* rice by over-expressing *P5CSF129A* gene[J]. Plant Biotechnology Reports, 2010, 4(1): 37-48.

[8] 李　健, 杜成忠, 王露蓉, 等. 甘蔗 Δ^1-吡咯啉-5-羧酸合成酶基因转化烟草的抗旱性分析[J]. 华中农业大学学报, 2018, 37(2): 34-42.

[9] Schwacke R, Grallath S, Breitkreuz K E, et al. LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine, and γ-amino butyric acid in tomato pollen[J]. The Plant Cell, 1999, 11(3): 377-391.

[10] Verbruggen N, Villarroel R, Van Montagu M. Osmoregulation of a pyrroline-5-carboxylate reductase gene in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Physiology, 1993, 103(3): 771-781.

[11] Savouré A, Hua X J, Bertauche N, et al. Abscisic acid-independent and abscisic acid-dependent regulation of proline biosynthesis following cold and osmotic stresses in *Arabidopsis thaliana*[J]. Molecular and General Genetics, 1997, 254(1): 104-109.

[12] Pajoro A, Biewers S, Dougali E, et al. The (r)evolution of gene regulatory networks controlling *Arabidopsis* plant reproduction: a two-decade history[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(17): 4731-4745.

[13] Takeno K. Stress-induced flowering: the third category of flowering response[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(17): 4925-4934.

[14] Liang Minting, Xiao Shimin, Cai Jiajia, et al. OXIDATIVE STRESS 3 regulates drought-induced flowering through *APETALA 1* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 519(3): 585-590.

[15] Kazan K, Lyons R. The link between flowering time and stress tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(1): 47-60.

[16] Wang Zhen, Wang Fuxing, Hong Yechun, et al. The flowering repressor SVP confers drought resistance in *Arabidopsis* by regulating abscisic acid catabolism[J]. Molecular Plant, 2018, 11(9): 1184-1197.

[17] Xu Yuanyuan, Zeng Renfang, Zhou Huan, et al. Citrus FRIGIDA cooperates with its interaction partner dehydrin to regulate drought tolerance[J]. The Plant Journal, 2022, 111(1): 164-182.

[18] Bates L S, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies[J]. Plant and Soil, 1973, 39(1): 205-207.

[19] 林炎坤. 常用的几种蒽酮比色定糖法的比较和改进[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(4): 53-55.

[20] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.

[21] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels [J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 276-287.

[22] Herzog V, Fahimi H D. A new sensitive colorimetric assay for peroxidase using 3,3′-diaminobenzidine as hydrogen donor [J]. Analytical Biochemistry, 1973, 55(2): 554-562.

[23] Aebi H. Catalase *in vitro*[J]. Methods in Enzymology, 1984, 105: 121-126.

[24] 张清航, 张永涛. 植物体内丙二醛(MDA)含量对干旱的响应[J]. 林业勘查设计, 2019, 48(1): 110-112.

[25] Ma Rui, Xu Sheng, Zhao Yucheng, et al. Selection and validation of appropriate reference genes for quantitative real-time PCR analysis of gene expression in *Lycoris aurea*[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 536.

[26] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.

[27] 杜正香, 侯瑞贤, 李晓峰, 等. 不结球白菜抽薹前后的生理生化研究[J]. 上海农业学报, 2011, 27(1): 60-64.

[28] 林兴军, 马福生, 陈 鹏, 等. 咖啡开花过程中叶片碳水化合物含量的变化动态[J]. 热带农业科学, 2019, 39(1): 5-9.

[29] 王桂兰, 乔永旭, 陈 超, 等. 蝴蝶兰催花及开花过程中可溶性蛋白含量变化的研究[J]. 北方园艺, 2007, 31(4): 121-124.

[30] 王凤华, 李光远, 李 盛, 等. 低温春化对樱桃萝卜种子萌发及成花的影响[J]. 北方园艺, 2016, 40(5): 39-42.

[31] 王朵朵, 魏冬峰, 郭 琪, 等. 不同花型牡丹成花过程中表型及理化指标动态变化[J]. 林业科学, 2025, 61(10): 26-37.

[32] 阚雪芹, 孙 悦, 苏 媚, 等. 大丽菊花瓣衰老过程中保护酶活性变化的研究[J]. 北方园艺, 2010, 34(19): 124-127.

[33] 吴毕莎, 范金连, 林授锴, 等. 两种枇杷成花基因 *EjFCA* 的表达[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27(3): 768-775.

[34] Karlgren A, Gyllenstrand N, Källman T, et al. Conserved function of core clock proteins in the gymnosperm Norway spruce (*Picea abies* L. Karst)[J]. PLoS ONE, 2013, 8(3): e60110.

[35] Jang S, Torti S, Coupland G. Genetic and spatial interactions between *FT*, *TSF* and *SVP* during the early stages of floral induction in Arabidopsis[J]. The Plant Journal, 2009, 60(4): 614-625.

[36] Trovato M, Mattioli R, Costantino P. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development [J]. Rendiconti Lincei, 2008, 19(4): 325-346.

[37] Lehmann S, Funck D, Szabados L, et al. Proline metabolism and transport in plant development[J]. Amino Acids, 2010, 39(4): 949-962.

[38] Ghosh U K, Islam M N, Siddiqui M N, et al. Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms [J]. Plant Biology, 2022, 24(2): 227-239.

[39] Chaves M M, Oliveira M M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(407): 2365-2384.

[40] 安玉艳, 梁宗锁, 郝文芳. 杠柳幼苗对不同强度干旱胁迫的生长与生理响应[J]. 生态学报, 2011, 31(3): 716-725.

[41] 黄承建, 赵思毅, 王龙昌, 等. 干旱胁迫对杂交苎麻脯氨酸积累、膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国麻业科学, 2013, 35(2): 57-62.

[42] 台秀国, 杨振亚, 李 波, 等. 持续干旱下4个柳树无性系生理生态适应性研究[J]. 山东科学, 2016, 29(3): 97-104.

[43] 张燕红, 吴永波, 刘 璇, 等. 高温和干旱胁迫对杨树幼苗光合性能和抗氧化酶系统的影响[J]. 东北林业大学学报, 2017, 45(11): 32-38.

[44] Miller G, Suzuki N, Rizhsky L, et al. Double mutants deficient in cytosolic and thylakoid ascorbate peroxidase reveal a complex mode of interaction between reactive oxygen species, plant development, and response to abiotic stresses[J]. Plant Physiology, 2007, 144(4): 1777-1785.

[45] Mattioli R, Francioso A, Trovato M. Proline affects flowering time in *Arabidopsis* by modulating *FLC* expression: a clue of epigenetic regulation? [J]. Plants, 2022, 11(18): 2348.

(责任编辑: 张明霞)