

Iron-dependent modifications of the flower transcriptome, proteome, metabolome and hormonal content in an *Arabidopsis* ferritin mutant

Damien Sudre, Elain Gutierrez-Carbonell, Giuseppe Lattanzio, Rubén Rellán-Álvarez, Frédéric Gaymard, Gert Wohlgemuth, Oliver Fiehn, Ana Álvarez-Fernández, Angel M Zamarreño, Eva Bacaicoa, Daniela Duy, Jose-María García-Mina, Javier Abadía, Katrin Philippar, Ana-Flor López-Millán and Jean-Francois Briat *

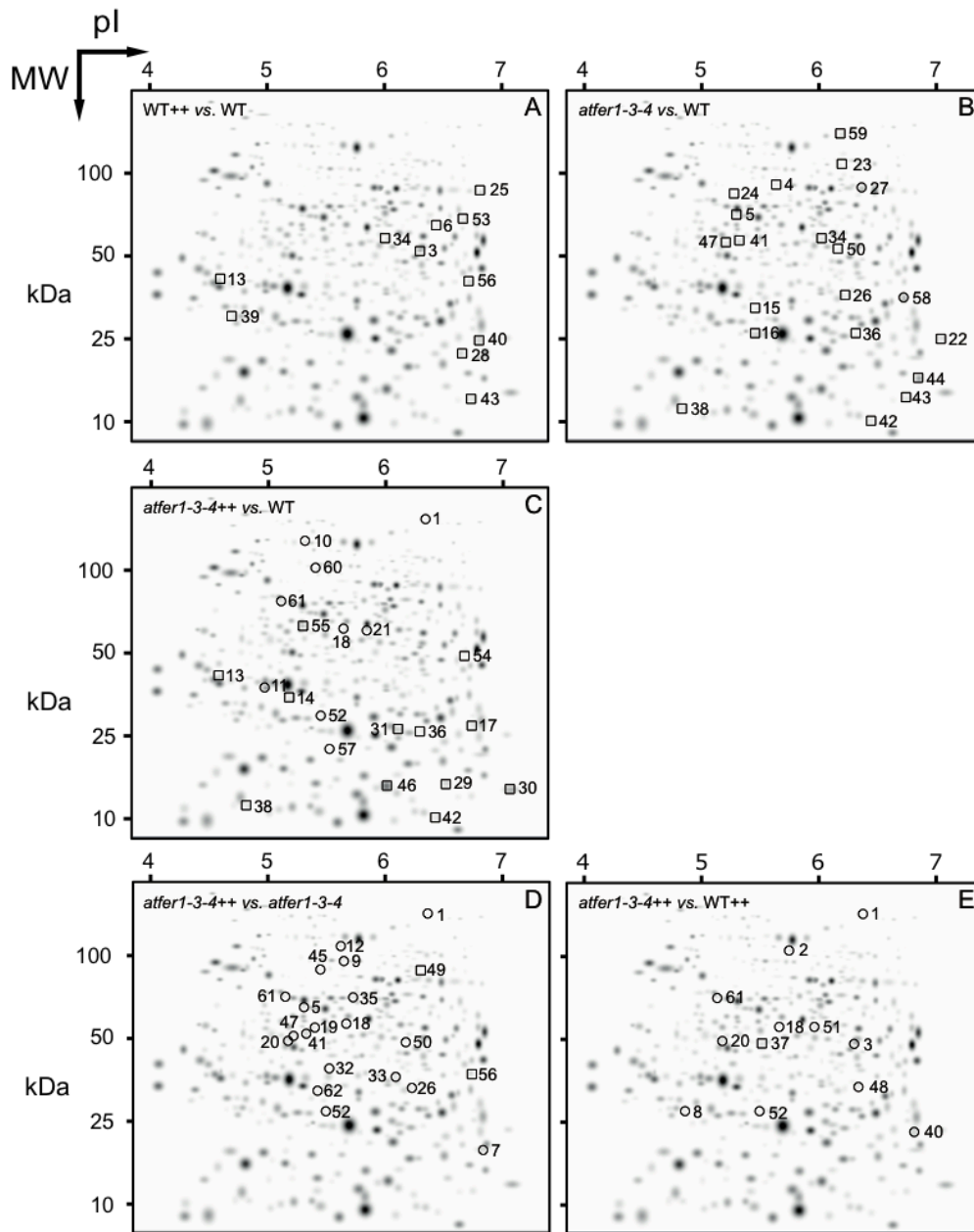


Figure S1. Protein species identified in extracts of Arabidopsis flowers. Proteins exhibiting significant and ≥ 2 -fold relative abundance changes when compared to the control and with significant homologies to proteins present in databases (using MALDI MS/MS and MASCOT, described in detail in Table P1) were annotated on virtual composite gel images. A): Changes in WT++ using WT as control. B): Changes in *atfer1-3-4* using WT as control. C): Changes in *atfer1-3-4++* using WT as control. D): Changes in *atfer1-3-4++* using *atfer1-3-4* as control.

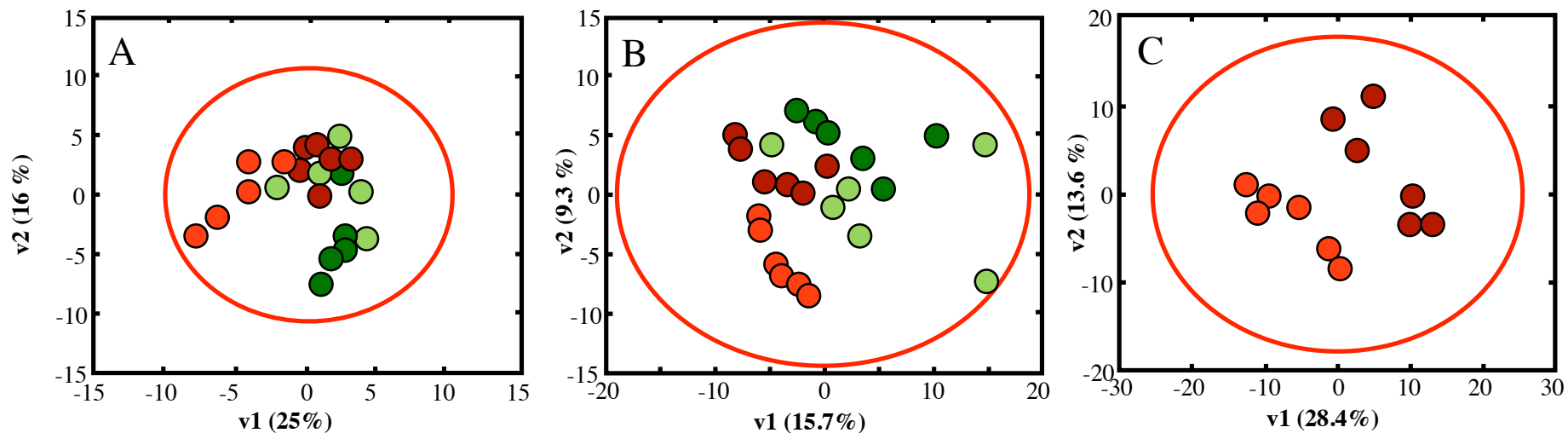


Figure S2. Partial Least Square (PLS) analysis of *Arabidopsis* flower protein species and metabolites. A) Score scatter plot of PLS vector 1 (v1) vs. PLS vector 2 (v2) of all identified protein species in WT (dark green circles), WT++ (light green circles), *atfer1-3-4* (dark red circles) and *atfer1-3-4++* (light red circles). B) Score scatter plot of PLS vector 1 (v1) vs. PLS vector 2 (v2) of all detected metabolites (identified ones plus unknowns) in WT (dark green circles), WT++ (light green circles), *atfer1-3-4* (dark red circles) and *atfer1-3-4++* (light red circles). C) Score scatter plot of PLS vector 1 (v1) vs. PLS vector 2 (v2) of all detected metabolites (identified ones plus unknowns) in *atfer1-3-4* (dark red circles) and *atfer1-3-4++* (light red circles). In all cases the percentage of variability explained by each vector is indicated in parenthesis in the corresponding axes.

Table S1. Verification of DNA microarray data by quantitative RT-PCR

To verify transcriptomic data, differential expression of several genes from Tables 1, 2, and 3 was analysed by quantitative real-time RT-PCR on samples used for microarray analysis. qRT PCR was performed on n=3 replicates per treatment on *atfer1-3-4* mutants and wild type, although statistical analysis and hierarchical clustering of microarrays resulted in exclusion of one replicate each. The fold change of the transcript content for each comparison (n=2-3 ± SD) is given. For significance analysis the signals in n=3 samples were compared by a student's T-test (exception: n=2 for RPS16, CYP82C2, IAA31, in *atfer1-3-4* and for GDH3 in *atfer1-3-4++*). Green background indicates significant changes (p < 0.05) with identical regulation as determined by microarray analysis. Red background indicates non-significant differences and for IAA31 in *atfer1-3-4++* vs. WT, a regulation which is contradictory to microarrays.

Table 1		<i>atfer1-3-4</i> vs. WT			<i>atfer1-3-4++</i> vs. WT			<i>atfer1-3-4++</i> vs. WT++		
		SD	T-Test	SD	T-Test	SD	T-Test	SD	T-Test	
RPS16	AtCg00050	3,5	1,6	0,00353354	9,43	4,1	0,00066089	6,59	2,8	0,00085844
Oxidoreductase	At1g26390	33,4	19,3	0,0082836	20,74	14,5	0,01279191	27,65	20,8	0,01228497
CYP82C2	At4g31970	91,6	45,5	0,01739976	83,04	33,4	0,00319474	98,45	49,5	0,0031733
IAA31	At3g17600	-2,0	1,4	0,11985135	-1,38	1,0	0,21272797	-2,11	0,9	0,0079362
SQE6	At5g24160	2,5	1,7	0,04402486	4,33	2,2	0,00232152	5,02	2,5	0,00183257

Table 2		<i>atfer1-3-4++</i> vs. WT++		
		SD	T-Test	
FRO3	At1g23020	1,32	0,1	0,00237261
disease-resistance	At2g15120	1,98	0,8	0,03210152
ALS3	At2g37330	1,49	0,3	0,00711918
DTX41	At3g59030	-2,93	-0,9	0,00052471
CAT6	At5g04770	1,18	0,1	0,00339647

Table 3		<i>atfer1-3-4++</i> vs. WT			WT++ vs. WT		
		SD	T-Test	SD	T-Test		
GDH3	At3g03910	-2,62	1,1	0,02850871	-2,6	0,9	0,00821683
ACCD	AtCg00500	8,13	6,9	0,03866377	1,5	0,6	0,29377909

please note that ACCD is not regulated in WT++ vs. WT (compare Table 3)

Method:

Quantitative real-time RT-PCR was performed by a LightCycler instrument (Roche) as described in Duy et al., (2007). Relative signal intensity of the respective genes was normalised to signals of the housekeeping genes Actin 2, 8 and PRAT3. Oligonucleotide primers used are as follows:

Gene	AGI	Primer Name	Sequence 5'-3'
RPS16	AtCg00050	RPS16 LCfw	GCAACGAGCCGTTTAT
		RPS16 LCrev	AGTCTTTCACATCCTCTTTTAT
Oxidoreductase	At1g26390	Berb LCfw	GCCACAATGAGTAGCCT
		Berb LCrev	CACATGCCACATAGC
CYP82C2	At4g31970	CYP LCfw	AACGAATTCGACCAGAG
		CYP LCrev	CACACATAAAGCCCTTCC
IAA31	At3g17600	IAA LCfw	GGCCACCGATAAAGTC
		IAA LCrev	ATGCCTAAATCTTACACGTC
SQE6	At5g24160	SQE LCfw	ACTAATTGGATCAACGGATG
		SQE LCrev	ACTGCAATACACGTTTACC
FRO3	At1g23020	FRO3 LCfw	TACGTCTACGGTCGCT
		FRO3 LCrev	ACTCACCAGTTGAACTAAT
disease-resistance	At2g15120	FAe LCfw	GGACGGACGAAAGGAG
		FAe LCrev	AGCCCTTGTTAGAGCC
ALS3	At2g37330	ALS3 LCfw	GGCATTGGCACTAGGAG
		ALS3 LCrev	AGTTTCAATCTGAGGAGAAG
DTX41	At3g59030	DTX41 LCfw	TCTTCTGCGGTTTCC
		DTX41 LCrev	CTTAAACACCTGCGTTAGC
CAT6	At5g04770	CAT6 fw	AACTTGTGCCGGAAGG
		CAT6 LCrev	AAAGATCCATTGCTTCAG
GDH3	At3g03910	GDH3 LCfw	GTGCTAATCACCCAAGT
		GDH3 LCrev	CAAAGCAAATCAACAACATAGAA
ACCD	AtCg00500	ACCD LCfw	GGAGCACGAATGCAAG
		ACCD LCrev	ACTCGCTCAGAACACC
CysP*	At1g06260	CysP LCfw	GAGGCGAGCCTACAAA
		CysP LCrev	AGGTTCTAACGCTTATGG
XTH13*	At3g25050	XTH3 LCfw	AAGCCTATGCAAGTCGAG
		XTH3 LCrev	GTTTGGTACTTAGAGCGATCA
Actin 2	At3g18780	Actin2/8 LCfw	GGTGATGGTGTGTCT
		Actin2/8 LCrev	ACTGAGCACAATGTTAC
PRAT3	At2g42210	PRAT3 LCfw	TGCTGGGACTATTTACGG
		PRAT3 LCrev	TCTCGACGGTGAAGG

Table S2. Overview of the metabolite reporting list.

GC-TOF-MS metabolites

Experiment title: Iron-dependent modifications of the flower transcriptome, proteome, metabolome and hormonal content in an Arabidopsis ferritin mutant
 Organism/Plant species: *Arabidopsis thaliana*
 Organ/tissue: flowers
 Analytical tool: GC-TOF-MS

metabolite name	Structure	Mol Weight	Formula	CID	PubChem Link	PUBCHEM IUPAC CAS NAME	PUBCHEM_NIST_INCHIKEY
urea		60.06	CH4N2O	1176	CID: 1176	urea	XSQUKJUFZCRTK-UHFFFAOYSA-N
suberyl glycine		229.2298	C10H15NO5	16069996	CID: 16069996	8-[(carboxymethyl)amino]-8-oxooctanoic acid	HXATVKDSYDWTCX-UHFFFAOYSA-L
2-hydroxyglutaric acid		148.11402	C5H8O5	43	CID: 43	2-Hydroxy-Pentanedioic acid	HWXBTNAVRSUQR-UHFFFAOYSA-N
proline		115.13	C5H9NO2	145742	CID: 145742	(2S)-2-pyrrolidinecarboxylic acid	ONIBWKKTOPOVIA-BYPYZCNSA-N
threonine acid		136.10	C4H8O5	151152	CID: 151152	(2S,3R)-2,3,4-trihydroxybutanoic acid	JPIJQSOTBSSVTP-GBXUSLDSA-N
gluconic acid lactone		178.14	C6H10O6	5027	CID: 5027	1,5-Gluconolactone	PHOQVHOSTUBQOK-SQOUGZDYSA-N
homoglutamine		160.17108	C6H12N2O3	4153392	CID: 4153392	2,6-diamino-6-oxohexanoic acid	YZJSUQOZGCHHNQ-UHFFFAOYSA-N
phenylalanine		165.18914	C9H11NO2	6140	CID: 6140	3-Phenylalanine	COLNVLHDYKWLRT-QMMMGPOBSA-N
tyrosine		181.19	C9H11NO3	6057	CID: 6057	(2S)-2-amino-3-(4-hydroxyphenyl)propanoic acid	OUYCCASOSFEME-QMMMGPOBSA-N
palmitic acid		256.42	C16H32O2	985	CID: 985	palmitic acid	IPCSVZSSVZVGE-UHFFFAOYSA-N
methyl heptadecanoic acid		270.45	C17H34O2	10465	CID: 10465	heptadecanoic acid	KEMQGTTRYUADPNZ-UHFFFAOYSA-N
3,6-anhydrogalactose		162.1406	C6H10O5	16069996	CID: 16069996	3,6-Anhydro-D-galactose	WZYRMLAWNVOIEX-BGPJRIDNSA-N
heptadecanoic acid methyl ester		284.48	C18H36O2	15609	CID: 15609	heptadecanoic acid methyl ester	HUEBIMLTDXXKIPR-UHFFFAOYSA-N
stearic acid		284.48	C18H36O2	5281	CID: 5281	stearic acid	QIOXTHOIDDYFRH-UHFFFAOYSA-N
levoglucosan		162.14	C6H10O5	79029	CID: 79029	6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane-2,3,4-triol	TWNIBLMSKIRAT-UHFFFAOYSA-N
glycerol		92.09	C3H8O3	753	CID: 753	glycerol	PEDCOBHMVGVHV-UHFFFAOYSA-N
glucose		180.15588	C6H12O6	79025	CID: 79025	alpha-D-glucose	WOZGKKKJUFFOK-DVKNGEFBSA-N
N-acetyl-D-hexosamine		221.2078	C8H15NO6	439916	CID: 439916	N-[(6R)-2,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-3-yl]acetamide	OVRNDRQMDRJTHS-BKJPEWSUSA-N
pelargonic acid		158.24	C9H18O2	8158	CID: 8158	nonanoic acid	FBUKWVPYBMRYJY-UHFFFAOYSA-N
maltose		342.30	C12H22O11	6255	CID: 6255	(2R,3S,4S,5R,6R)-2-((hydroxymethyl)-6-[(2R,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-trihydroxy-2-(hydroxymethyl)-3-tetrahydropyran-3-yl]oxy)tetrahydro pyran-3,4,5-triol	GUBGYTABKSRVRQ-QUYVBERFLSA-N
malonic acid		104.06	C3H4O4	867	CID: 867	malonic acid	OFOBLEOULBTSOW-UHFFFAOYSA-N
threose		120.10	C4H8O4	439665	CID: 439665	(2S,3R)-2,3,4-trihydroxybutanal	YTBSYETUWUMLBZ-QWWZVWQMSA-N
salicin		286.27782	C13H18O7	439503	CID: 439503	2-(Hydroxymethyl)phenyl beta-D-glucopyranoside	NGFMICBWJZIBI-UJPOAAUSA-N
ascorbic acid		176.12	C6H8O6	5785	CID: 5785	(2R)-2-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]-4,5-dihydroxy-3-furanone	TYQCGQRZGCHNB-JLAZNSOCSA-N

Table S3. Optimal parameters for the detection of IAA and ABA used in the HPLC-ESI-MS/MS analysis of Arabidopsis plants.

Compound	Transition	Dwell (ms)	DP	EP	CEP	CE	CXP
IAA	174.0 > 130.1	150	-30	-3.0	-12	-14	-4
ABA	263.1 > 153.1	150	-25	-3.5	-20	-16	-4
² H ₅ IAA	179.0 > 135.2	150	-20	-7.0	-12	-14	-4
² H ₆ ABA	269.1 > 159.2	150	-25	-12	-14	-14	-4

Abbreviations: DP, declustering potential; EP, entrance energy; CEP, collision cell entrance potential; CE, collision energy; CXP, collision cell exit potential.

Table S4. Optimal parameters for the multiple reaction monitoring detection of CKs used in the HPLC-ESI-MS/MS analysis of Arabidopsis plants.

Compound ^z	Transition		Dwell Time (ms)	Ionization and collision parameters ^y				
	Q1 (uma)	Q3 (uma)		DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (V)	CXP
tZ	220	136	40	36	3.5	16	25	4
	220	119	40	36	3.5	16	43	4
DHZ	222	136	40	41	3.0	16	29	4
	222	148	40	41	3.0	16	31	4
d-tZ	225	137	40	31	3.5	16	27	4
	225	119	40	31	3.5	16	43	4
tZR	352	220	40	46	4.5	19	25	4
	352	136	40	46	4.5	19	45	4
cZR	352	220	40	46	4.5	19	25	4
	352	136	40	46	4.5	19	45	4
DHZR	354	222	40	36	4.0	19	27	4
	354	136	40	36	4.0	19	49	4
d-tZR	357	225	40	31	6.0	20	25	4
	357	137	40	31	6.0	20	41	4
iP	204	136	40	31	4.0	14	21	4
	204	148	40	31	4.0	14	17	4
d-iP	210	137	40	31	5.0	14	21	4
	210	148	40	31	5.0	14	19	4
iPR	336	204	40	36	4.0	19	23	4
	336	136	40	36	4.0	19	41	4
d-iPR	342	210	40	61	4.5	20	25	4
	342	137	40	61	4.5	20	47	4
BA	226	91	40	46	7.5	14	33	4
	226	65	40	46	7.5	14	71	4
d-BA	233	98	40	46	5.0	14	37	4
	233	70	40	46	5.0	14	71	4
BAR	358	226	40	36	6.0	22	29	4
	358	91	40	36	6.0	22	53	4
d-BAR	365	233	40	36	4.5	18	29	4
	365	98	40	36	4.5	18	59	4
m-T	242	107	40	46	4.5	16	33	4
	242	77	40	46	4.5	16	63	4
m-TR	374	242	40	46	4.5	18	29	4
	374	107	40	46	4.5	18	51	4
o-T	242	136	40	31	4.0	16	25	4
	242	107	40	31	4.0	16	35	4
¹³ C-oT	247	141	40	31	4.5	16	25	4
	247	107	40	31	4.5	16	33	4
o-TR	374	136	40	41	4.0	20	41	4
	374	242	40	41	4.0	20	25	4

^zZ = trans-zeatin, DHZ = dihydrozeatin, d-tZ = [²H⁵] trans-zeatin, tZR = trans- zeatin riboside, cZR = cis- zeatin riboside, DHZR = dihydrozeatin riboside, d-tZR = [²H⁵] trans-zeatin riboside, iP = N6-isopentenyladenine, d-iP = [²H⁶] N6-isopentenyladenine, iPR = N6-isopentenyladenosine, d-iPR = [²H⁶] N6-isopentenyladenosine, BA = N6-benzyladenine, d-BA = [²H⁷] N6-benzyladenine, BAR = N6-benzyladenosine, d-BAR = [²H⁷] N6-benzyladenosine, mT = meta-topolin, mTR = meta-topolin riboside, oT = ortho-topolin, ¹³C-oT = [¹³C⁵] ortho-topolin, o-TR = ortho-topolin riboside.

^y DP = declustering potential, EP = entrance energy, CEP = collision cell entrance potential, CE = collision energy, CXP = collision cell exit potential.

Year	Month	Day	Time	Location	Activity	Remarks
2018	1	1	08:00
2018	1	2	08:00
2018	1	3	08:00
2018	1	4	08:00
2018	1	5	08:00
2018	1	6	08:00
2018	1	7	08:00
2018	1	8	08:00
2018	1	9	08:00
2018	1	10	08:00
2018	1	11	08:00
2018	1	12	08:00
2018	1	13	08:00
2018	1	14	08:00
2018	1	15	08:00
2018	1	16	08:00
2018	1	17	08:00
2018	1	18	08:00
2018	1	19	08:00
2018	1	20	08:00
2018	1	21	08:00
2018	1	22	08:00
2018	1	23	08:00
2018	1	24	08:00
2018	1	25	08:00
2018	1	26	08:00
2018	1	27	08:00
2018	1	28	08:00
2018	1	29	08:00
2018	1	30	08:00
2018	1	31	08:00
2018	2	1	08:00
2018	2	2	08:00
2018	2	3	08:00
2018	2	4	08:00
2018	2	5	08:00
2018	2	6	08:00
2018	2	7	08:00
2018	2	8	08:00
2018	2	9	08:00
2018	2	10	08:00
2018	2	11	08:00
2018	2	12	08:00
2018	2	13	08:00
2018	2	14	08:00
2018	2	15	08:00
2018	2	16	08:00
2018	2	17	08:00
2018	2	18	08:00
2018	2	19	08:00
2018	2	20	08:00
2018	2	21	08:00
2018	2	22	08:00
2018	2	23	08:00
2018	2	24	08:00
2018	2	25	08:00
2018	2	26	08:00
2018	2	27	08:00
2018	2	28	08:00
2018	2	29	08:00
2018	2	30	08:00
2018	2	31	08:00
2018	3	1	08:00
2018	3	2	08:00
2018	3	3	08:00
2018	3	4	08:00
2018	3	5	08:00
2018	3	6	08:00
2018	3	7	08:00
2018	3	8	08:00
2018	3	9	08:00
2018	3	10	08:00
2018	3	11	08:00
2018	3	12	08:00
2018	3	13	08:00
2018	3	14	08:00
2018	3	15	08:00
2018	3	16	08:00
2018	3	17	08:00
2018	3	18	08:00
2018	3	19	08:00
2018	3	20	08:00
2018	3	21	08:00
2018	3	22	08:00
2018	3	23	08:00
2018	3	24	08:00
2018	3	25	08:00
2018	3	26	08:00
2018	3	27	08:00
2018	3	28	08:00
2018	3	29	08:00
2018	3	30	08:00
2018	3	31	08:00
2018	4	1	08:00
2018	4	2	08:00
2018	4	3	08:00
2018	4	4	08:00
2018	4	5	08:00
2018	4	6	08:00
2018	4	7	08:00
2018	4	8	08:00
2018	4	9	08:00
2018	4	10	08:00
2018	4	11	08:00
2018	4	12	08:00
2018	4	13	08:00
2018	4	14	08:00
2018	4	15	08:00
2018	4	16	08:00
2018	4	17	08:00
2018	4	18	08:00
2018	4	19	08:00
2018	4	20	08:00
2018	4	21	08:00
2018	4	22	08:00
2018	4	23	08:00
2018	4	24	08:00
2018	4	25	08:00
2018	4	26	08:00
2018	4	27	08:00
2018	4	28	08:00
2018	4	29	08:00
2018	4	30	08:00
2018	4	31	08:00
2018	5	1	08:00
2018	5	2	08:00
2018	5	3	08:00
2018	5	4	08:00
2018	5	5	08:00
2018	5	6	08:00
2018	5	7	08:00
2018	5	8	08:00
2018	5	9	08:00
2018	5	10	08:00
2018	5	11	08:00
2018	5	12	08:00
2018	5	13	08:00
2018	5	14	08:00
2018	5	15	08:00
2018	5	16	08:00
2018	5	17	08:00
2018	5	18	08:00
2018	5	19	08:00
2018	5	20	08:00
2018	5	21	08:00
2018	5	22	08:00
2018	5	23	08:00
2018	5	24	08:00
2018	5	25	08:00
2018	5	26	08:00
2018	5	27	08:00
2018	5	28	08:00
2018	5	29	08:00
2018	5	30	08:00
2018	5	31	08:00
2018	6	1	08:00
2018	6	2	08:00
2018	6	3	08:00
2018	6	4	08:00
2018	6	5	08:00
2018	6	6	08:00
2018	6	7	08:00
2018	6	8	08:00
2018	6	9	08:00
2018	6	10	08:00
2018	6	11	08:00
2018	6	12	08:00
2018	6	13	08:00
2018	6	14	08:00
2018	6	15	08:00
2018	6	16	08:00
2018	6	17	08:00
2018	6	18	08:00
2018	6	19	08:00
2018	6	20	08:00
2018	6	21	08:00
2018	6	22	08:00
2018	6	23	08:00
2018	6	24	08:00
2018	6	25	08:00
2018	6	26	08:00
2018	6	27	08:00
2018	6	28	08:00
2018	6	29	08:00
2018	6	30	08:00
2018	6	31	08:00
2018	7	1	08:00
2018	7	2	08:00
2018	7	3	08:00
2018	7	4	08:00
2018	7	5	08:00
2018	7	6	08:00
2018	7	7	08:00
2018	7	8	08:00
2018	7	9	08:00
2018	7	10	08:00
2018	7	11	08:00
2018	7	12	08:00
2018	7	13	08:00
2018	7	14	08:00
2018	7	15	08:00
2018	7	16	08:00
2018	7	17				

Table S6. Summary of the 2-DE protein profiling study results. Flower fresh weight (g FW), protein per sample (μg), protein yield ($\mu\text{g prot/g flower FW}$), average number of spots, total number of spots changing significantly in relative abundance (t-test at $p < 0.10$) and above a two-fold threshold, and number of spots newly detected, showing increased and decreased relative abundance and no longer detected. Numbers in brackets indicate identified proteins

	WT	WT++	<i>atfer1-3-4</i>	<i>atfer1-3-4++</i>		
Flowers FW (g)	1	1	1	1		
Protein per sample (μg)	165	215	218	243		
Protein yield ($\mu\text{g protein/g flower FW}$)	165	215	218	243		
Number of spots (mean \pm SD)	362 \pm 35	328 \pm 39	341 \pm 25	350 \pm 40		
		WT++	<i>atfer1-3-4</i>	<i>atfer1-3-4++</i>	<i>atfer1-3-4 ++</i>	<i>atfer1-3-4 ++</i>
		vs. WT	vs. WT	vs. WT	vs. <i>atfer1-3-4</i>	vs. WT++
Spots with significant intensity changes	-	11 (11)*	20 (20)	21 (21)	22 (21)	12 (12)
Number of new spots	-	0	0	1 (1)	2 (2)	1 (1)
Number of spots with increased intensity	-	0	2 (2)	8 (8)	18 (17)	10 (10)
Number of spots with decreased intensity	-	11 (11)	17 (17)	10 (10)	1 (1)	1 (1)
Number of lost spots	-	0	1 (1)	2 (2)	1 (1)	0

*In parentheses, number of identified spots

Table S7. Complete list of identified and unknown metabolites

Identified metabolites						
Response ratios						
		WT++	atfer1-2-3 vs.	atfer1-2-3++	atfer1-2-3++ vs.	atfer1-2-3++ vs.
	name	vs. WT	WT	vs. WT	WT++	atfer1-2-3
1	xylose	-1,1	1,5	1,1	1,2	-1,4
2	xylonic acid	-1,1	1,1	1,1	1,2	-1,0
3	valine	1,1	1,1	-1,0	-1,1	-1,2
4	urea	2,1	2,0	9,8	4,7	4,9
5	UDP GlcNAc	1,6	1,3	-1,1	-1,7	-1,4
6	tyrosine	-1,2	-1,4	-1,5	-1,3	-1,1
7	tryptophan	-1,1	1,0	1,1	1,1	1,0
8	trans-4-hydroxyproline	-1,0	1,2	1,1	1,1	-1,1
9	threose	1,4	-1,1	-1,4	-2,0	-1,3
10	threonine	-1,1	1,0	1,4	1,5	1,4
11	threonic acid	1,1	1,8	2,0	1,8	1,1
12	sulfuric acid	-1,3	1,3	-1,5	-1,2	-2,0
13	sucrose	-1,3	1,2	-1,3	1,0	-1,6
14	succinic acid	-1,3	1,2	1,1	1,4	-1,2
15	suberyl glycine	-1,9	-2,9	-1,2	1,6	2,5
16	stearic acid	2,0	1,0	-1,5	-3,0	-1,6
17	shikimic acid	-1,3	1,1	1,0	1,4	-1,0
18	serine	-1,3	-1,3	1,1	1,4	1,3
19	salicin	-1,5	-1,6	-4,1	-2,7	-2,5
20	ribonic acid	-1,8	-1,5	-1,6	1,1	-1,1
21	rhamnose	-1,4	1,1	-1,3	1,1	-1,4
22	putrescine	-1,8	-1,4	-1,3	1,4	1,1
23	proline	1,5	-1,6	1,3	-1,1	2,1
24	phosphoric acid	-1,2	1,3	-1,0	1,1	-1,4
25	phenylalanine	-1,4	-1,3	1,1	1,6	1,5
26	pelargonic acid	2,1	-1,0	-1,7	-3,7	-1,7
27	palmitic acid	1,5	1,0	-1,5	-2,2	-1,5
28	palatinitol	2,4	2,3	1,3	-1,9	-1,8
29	oxoproline	-1,0	1,3	1,3	1,3	-1,0
30	oleic acid	2,0	1,1	-1,0	-2,0	-1,1
31	octadecanol	1,9	-1,1	-1,5	-2,7	-1,4
32	O-acetylserine	-1,5	-1,6	-1,4	1,1	1,2
33	N-methylalanine	1,3	-1,2	-1,2	-1,6	-1,0
34	N-acetyl-D-mannosamine	-1,8	-1,1	-1,4	1,3	-1,3
35	N-acetyl-D-hexosamine	-1,4	-1,0	-1,7	-1,2	-1,7
36	myristic acid	1,7	1,1	-1,2	-2,0	-1,4
37	mucic acid	1,1	1,3	-1,0	-1,1	-1,3
38	monopalmitin-1-glyceride	2,2	1,1	-1,4	-3,1	-1,5
39	monomyristin	2,2	1,1	-1,5	-3,2	-1,6
40	methylhexadecanoic acid	1,9	1,0	-1,4	-2,7	-1,5
41	maltose	-1,5	-1,2	-2,1	-1,4	-1,8
42	malonic acid	-1,5	1,4	-1,3	1,2	-1,8
43	malic acid	-1,1	1,3	1,1	1,3	-1,1
44	levoglucosan	-1,6	1,2	-1,3	1,2	-1,6
45	levanbiose	1,1	1,2	1,1	-1,0	-1,1
46	leucine	1,6	1,5	1,7	1,0	1,1
47	lactic acid	2,2	1,4	-1,6	-3,6	-2,2
48	isomaltose	1,2	1,6	1,2	-1,0	-1,3
49	isoleucine	1,4	1,1	1,3	-1,0	1,2
50	Inositol-myo	-1,4	-1,1	-1,4	-1,0	-1,2
51	inositol-4-monophosphate	1,2	1,1	-1,1	-1,2	-1,1
52	indole-3-acetonitrile	-1,4	1,4	1,1	1,5	-1,2
53	idonic acid	-1,0	1,1	1,1	1,1	-1,0
54	hydroxylamine	2,6	-1,2	-1,7	-4,3	-1,4
55	homoglutamine	1,0	1,5	1,5	1,4	-1,0
56	heptadecanoic acid monoglycerol ester	2,1	1,1	-1,4	-3,0	-1,6
57	heptadecanoic acid monoacylglycerol ester	1,9	1,1	-1,4	-2,7	-1,6
58	glycolic acid	-1,1	-1,0	-1,5	-1,4	-1,5
59	glycine	-2,0	-2,0	-1,9	1,1	1,0
60	glycerol-alpha-phosphate	1,0	1,4	1,3	1,3	-1,1
61	glycerol	2,2	1,1	-1,4	-3,1	-1,6
62	glyceric acid	-1,4	-1,1	-1,4	-1,0	-1,3
63	glutamine	-1,2	1,1	1,1	1,3	1,0

64	glutamic acid	-1,4	-1,1	1,1	1,6	1,3
65	glucose-6-phosphate	-1,0	1,1	-1,2	-1,2	-1,3
66	glucose	-1,4	1,3	-1,2	1,1	-1,6
67	glucose-1-phosphate	-1,3	1,3	1,0	1,3	-1,3
68	glucose	1,8	1,3	-1,3	-2,2	-1,7
69	gluconic acid lactone	1,5	1,5	2,0	1,3	1,3
70	gluconic acid	-1,1	1,3	1,2	1,4	-1,1
71	glucoheptulose	-1,2	1,1	-1,1	1,1	-1,2
72	galactose-6-phosphate	-1,1	1,1	-1,3	-1,2	-1,4
73	galactonic acid	-1,3	1,3	1,0	1,4	-1,2
74	galactinol	-1,3	1,1	-1,2	1,0	-1,3
75	fumaric acid	-1,4	1,3	-1,0	1,4	-1,3
76	fucose 1 + rhamnose 2	-1,1	1,2	-1,0	1,0	-1,2
77	fructose-6-phosphate	-1,2	1,1	-1,3	-1,0	-1,4
78	fructose 1	-1,5	1,3	1,0	1,6	-1,2
79	erythronic acid lactone	-1,1	-1,3	-1,8	-1,6	-1,4
80	erythritol	-1,1	1,5	1,3	1,4	-1,2
81	dehydroascorbate	-1,5	1,8	1,7	2,5	-1,0
82	citric acid	-1,1	1,0	1,3	1,4	1,2
83	citramalic acid	1,2	1,1	1,0	-1,2	-1,1
84	cellobiotol	4,7	-12,0	-6,7	-31,4	1,8
85	beta-alanine	1,0	-2,1	-1,4	-1,5	1,5
86	benzoic acid	2,4	1,0	-1,5	-3,6	-1,5
87	aspartic acid	-1,0	-1,1	1,2	1,3	1,4
88	asparagine	-1,1	1,2	1,4	1,5	1,2
89	ascorbic acid	-4,8	-3,2	-5,0	-1,0	-1,6
90	arachidic acid	2,4	1,2	-1,3	-3,3	-1,6
91	arabinose	-1,0	1,1	-1,0	-1,0	-1,2
92	alpha ketoglutaric acid	-1,2	-1,1	1,2	1,5	1,3
93	alanine	-1,5	-1,3	-1,2	1,3	1,0
94	agmatine	1,1	1,6	-1,3	-1,5	-2,0
95	aconitic acid	-1,2	-1,1	-1,3	-1,1	-1,2
96	4-hydroxyphenyl-2-ethylglucopyranoside	1,0	-1,3	-1,6	-1,7	-1,2
97	3-hydroxypropionic acid	1,0	1,0	-1,4	-1,4	-1,5
98	3,6-anhydrogalactose	-1,0	-1,2	-1,6	-1,6	-1,3
99	2-oxogluconic acid	1,2	1,3	1,5	1,2	1,1
100	2-monopalmitin	2,6	1,2	-1,3	-3,4	-1,5
101	2-hydroxyglutaric acid	-1,1	2,0	2,5	2,7	1,3
102	2,3-dihydroxybutanoic acid	1,4	1,4	1,4	1,0	1,0
103	1-monostearin	2,4	-1,0	-1,6	-3,7	-1,5

Unknowns						
Response ratios						
	name	WT++ vs. WT	atfer1-2-3 vs. WT	atfer1-2-3++ vs. WT	atfer1-2-3++ vs. WT++	atfer1-2-3++ vs. atfer1-2-3
1	447146	1,1	-1,3	-1,8	-1,9	-1,4
2	446955	-1,1	1,7	1,6	1,8	-1,0
3	446888	-1,1	1,4	1,1	1,3	-1,3
4	446884	1,1	1,3	1,5	1,3	1,1
5	446874	1,5	1,5	1,7	1,1	1,1
6	446868	6,6	1,1	6,5	-1,0	6,0
7	446863	1,1	1,5	1,5	1,3	-1,0
8	446861	8,2	-1,0	10,9	1,3	11,1
9	446856	-1,4	1,3	1,4	1,9	1,0
10	446849	1,3	1,5	1,7	1,4	1,2
11	446842	-1,1	1,3	-1,1	1,0	-1,5
12	446831	12,5	1,1	20,6	1,6	19,5
13	446801	1,5	1,3	1,4	-1,0	1,1
14	446789	1,0	-1,0	-1,4	-1,5	-1,4
15	446787	-1,0	1,3	1,2	1,3	-1,1
16	446777	-1,9	-1,0	-1,0	1,8	1,0
17	446762	1,3	1,6	1,3	1,0	-1,2
18	446758	2,3	1,1	-1,3	-3,1	-1,5
19	446633	1,4	-1,2	-2,1	-2,9	-1,8
20	446067	1,5	-1,2	-2,1	-3,1	-1,8
21	445546	2,3	-1,6	1,2	-1,9	1,9
22	445039	2,8	-1,1	-1,5	-4,3	-1,5
23	443451	2,4	1,5	2,5	1,0	1,7

24	438061	3,2	1,1	-1,4	-4,5	-1,6
25	438058	-1,0	1,3	1,2	1,2	-1,2
26	427262	2,5	1,1	-1,4	-3,7	-1,6
27	424915	1,3	1,7	1,5	1,2	-1,1
28	424906	-1,0	1,8	1,3	1,4	-1,3
29	419631	1,5	-1,2	-2,1	-3,3	-1,8
30	408731	2,0	1,1	-1,3	-2,5	-1,4
31	408490	2,2	1,0	-1,4	-3,2	-1,5
32	407649	1,3	-1,1	1,7	1,3	1,9
33	404754	3,5	1,2	-1,2	-4,0	-1,4
34	404568	1,3	1,3	1,6	1,3	1,2
35	404516	1,2	1,4	1,1	-1,0	-1,2
36	382318	2,8	-1,1	-1,6	-4,5	-1,6
37	374901	1,1	1,6	1,3	1,1	-1,3
38	374786	-1,4	-1,3	-1,4	-1,0	-1,1
39	367932	2,3	1,1	-1,4	-3,1	-1,5
40	352980	-1,2	1,2	1,1	1,3	-1,2
41	352777	-1,5	-1,0	-1,3	1,2	-1,3
42	338572	1,1	-1,0	-1,0	-1,1	1,0
43	318412	1,6	1,4	-1,8	-2,8	-2,5
44	317187	-1,2	1,1	-1,3	-1,0	-1,4
45	314770	-1,6	-1,2	-1,8	-1,1	-1,5
46	312308	2,1	1,1	-1,4	-3,0	-1,5
47	310785	-1,3	-1,6	-2,0	-1,6	-1,3
48	310413	1,3	3,5	2,9	2,3	-1,2
49	310380	-1,0	-1,3	-1,9	-1,9	-1,5
50	310006	1,2	1,5	1,7	1,4	1,1
51	305055	2,1	-1,5	-2,6	-5,6	-1,8
52	303870	2,1	1,1	1,1	-1,9	-1,0
53	301584	2,8	1,1	-2,8	-8,0	-3,3
54	299509	-1,1	1,1	-1,1	-1,0	-1,2
55	299396	1,0	-1,1	-1,5	-1,6	-1,4
56	293849	2,6	1,1	-1,4	-3,5	-1,5
57	293672	1,1	1,5	-1,0	-1,1	-1,6
58	288810	2,0	1,2	1,3	-1,6	1,1
59	285065	1,2	-1,1	-1,1	-1,3	-1,0
60	272849	3,5	1,1	-1,3	-4,6	-1,5
61	271416	2,1	1,1	-1,2	-2,6	-1,4
62	270066	2,5	1,1	-1,4	-3,7	-1,5
63	269984	1,4	1,1	-1,0	-1,4	-1,1
64	268707	-1,1	-1,0	-1,3	-1,2	-1,2
65	268610	-1,9	-1,2	-1,6	1,2	-1,3
66	268509	1,2	1,4	1,4	1,1	-1,0
67	268365	-4,7	-8,7	-3,3	1,4	2,7
68	268353	-1,0	1,2	-1,3	-1,3	-1,6
69	268343	1,2	-1,2	-1,1	-1,4	1,0
70	268305	-1,2	1,3	1,2	1,5	-1,1
71	242417	3,0	1,3	-1,1	-3,4	-1,4
72	238506	-1,1	1,2	-1,1	1,1	-1,3
73	237392	1,4	1,3	1,0	-1,4	-1,2
74	236890	-1,1	1,1	1,1	1,2	1,0
75	235965	2,5	-1,3	-2,4	-6,0	-1,8
76	235436	1,6	-1,0	2,3	1,4	2,4
77	233455	2,8	1,1	-1,4	-3,9	-1,5
78	232188	2,2	-1,0	-1,3	-2,9	-1,3
79	231576	-1,2	-1,0	-1,4	-1,2	-1,4
80	231248	-1,2	1,3	-1,2	-1,0	-1,6
81	228911	1,0	1,1	-1,1	-1,2	-1,2
82	228249	1,3	-1,1	1,2	-1,0	1,4
83	228018	-1,1	-1,1	1,1	1,2	1,2
84	227724	-1,5	1,4	-1,2	1,2	-1,8
85	227597	-1,2	1,3	1,8	2,3	1,4
86	226064	1,1	1,6	1,1	1,1	-1,4
87	225867	1,3	3,8	3,8	3,0	1,0
88	225863	1,0	1,3	-1,0	-1,0	-1,4
89	225446	2,0	1,1	1,2	-1,7	1,0
90	225384	2,7	1,3	1,1	-2,4	-1,2
91	224843	-1,3	-1,1	-1,2	1,1	-1,1

92	224635	-1,0	-1,1	1,5	1,5	1,6
93	224597	1,6	1,2	1,6	-1,0	1,4
94	224592	1,1	1,4	1,2	1,1	-1,2
95	223871	1,1	1,3	1,2	1,1	-1,0
96	223865	-1,4	1,1	-1,4	-1,0	-1,5
97	223834	8,5	-1,2	-2,2	-18,6	-1,8
98	223830	-1,1	-1,2	1,1	1,1	1,3
99	223629	-1,3	1,1	-1,4	-1,1	-1,6
100	223505	1,5	1,3	-1,1	-1,6	-1,4
101	222541	1,0	-1,1	-1,1	-1,1	1,0
102	222093	-1,8	-3,7	-1,5	1,2	2,4
103	218759	-1,3	1,3	1,1	1,4	-1,2
104	218755	1,4	1,9	1,2	-1,2	-1,6
105	218739	-1,0	1,4	1,3	1,3	-1,1
106	218694	-1,4	1,1	1,2	1,6	1,1
107	217849	1,2	1,9	1,3	1,2	-1,4
108	217809	-1,3	-1,4	-1,9	-1,4	-1,3
109	217783	3,8	1,4	1,2	-3,1	-1,2
110	215062	-1,3	1,5	1,1	1,5	-1,3
111	214680	-1,2	-1,3	-1,1	1,2	1,2
112	214528	-1,1	1,3	-1,1	-1,0	-1,5
113	214416	1,0	1,5	1,1	1,1	-1,4
114	214287	1,2	1,5	1,5	1,2	1,0
115	213288	-1,8	-1,3	-1,4	1,3	-1,1
116	213230	-3,8	-3,1	-4,9	-1,3	-1,6
117	213198	-1,6	-1,3	-2,5	-1,6	-1,9
118	213194	-1,1	-1,0	-1,7	-1,5	-1,7
119	213193	-1,2	1,3	1,2	1,5	-1,1
120	213182	-2,6	-3,0	-6,5	-2,5	-2,2
121	213154	1,2	-1,0	1,1	-1,0	1,1
122	213143	-1,2	1,3	1,3	1,6	-1,1
123	212279	2,3	-1,1	1,4	-1,6	1,5
124	212261	-1,4	1,1	-1,1	1,3	-1,2
125	212254	1,3	1,6	1,4	1,1	-1,1
126	212251	1,3	-1,1	-1,8	-2,3	-1,6
127	212235	1,3	1,5	1,8	1,4	1,2
128	212016	1,4	1,5	1,4	-1,0	-1,0
129	211977	1,0	1,5	1,4	1,4	-1,0
130	211956	1,1	1,6	1,6	1,5	-1,0
131	211949	-1,2	1,3	1,2	1,5	-1,0
132	211932	1,1	1,3	1,5	1,4	1,2
133	211921	-1,2	1,5	-1,0	1,2	-1,6
134	211903	1,1	1,8	1,4	1,2	-1,3
135	211896	-1,0	-1,1	-1,5	-1,5	-1,4
136	208897	-1,0	1,3	1,4	1,4	1,1
137	208850	1,6	1,2	2,0	1,2	1,6
138	208812	1,3	1,3	1,1	-1,1	-1,2
139	208687	1,1	-1,2	-1,1	-1,2	1,0
140	208686	-1,1	1,3	1,1	1,2	-1,2
141	204448	1,4	1,1	-1,4	-2,0	-1,6
142	204375	1,7	1,0	-1,4	-2,3	-1,4
143	204344	2,9	1,1	-1,4	-3,9	-1,5
144	202856	-1,2	1,2	1,0	1,3	-1,2
145	202834	-1,0	1,5	1,0	1,1	-1,5
146	202572	-1,1	-1,1	-1,0	1,1	1,1
147	202178	-1,2	1,2	1,1	1,3	-1,0
148	201005	-2,0	-2,3	-1,5	1,4	1,6

Table S8: Metabolite X-weights in the Partial Least Square (PLS) analysis of *Arabidopsis* flowers shown in Figure S2B. The X-weight values indicate the relative weight of each metabolite in the explanation of the discrimination between the four classes (WT, WT⁺⁺, *atfer1-3-4* and *atfer1-3-4*⁺⁺).

Positive X-weight value		Negative X-weight value	
213182	0.1056	225867	-0.1978
cellobiotol	0.1042	310413	-0.1695
447146	0.1019	2-hydroxyglutaric acid	-0.1603
threose	0.0953	erythritol	-0.1539
erythronic acid lactone	0.0848	215062	-0.1432
217809	0.0844	threonic acid	-0.1355
305055	0.0789	310006	-0.1354
3,6-anhydrogalactose	0.0743	homoglutamine	-0.1339
N-methylalanine	0.0655	211956	-0.1322
212251	0.0654	446856	-0.1216
213230	0.0650	218694	-0.1197
212279	0.0650	446888	-0.1192
222093	0.0610	212235	-0.1191
310380	0.0608	446849	-0.1190
211896	0.0606	glucose-1-phosphate	-0.1170
445546	0.0578	218759	-0.1159
213194	0.0479	indole-3-acetonitrile	-0.1157
285065	0.0474	urea	-0.1151
204375	0.0441	446863	-0.1137
213198	0.0437	208686	-0.1136
301584	0.0418	211932	-0.1127
salicin	0.0406	218739	-0.1070
beta-alanine	0.0403	227597	-0.1068
446789	0.0387	fumaric acid	-0.1056
299396	0.0384	211977	-0.1046

Table S9. Metabolite X-weights in the Partial Least Square (PLS) analysis of *atfer1-3-4* flowers shown in Figure S2C. The X-weight values indicate the relative weight of each metabolite in the explanation of the discrimination between the *atfer1-3-4* and the *atfer1-3-4++* classes.

Positive X-weight value		Negative X-weight value	
N-acetyl-D-hexosamine	0.1213	446831	-0.1333
malonic acid	0.1136	urea	-0.1253
217809	0.1123	446861	-0.1206
301584	0.1088	268365	-0.1120
318412	0.1085	proline	-0.1114
213198	0.1081	407649	-0.1063
rhamnose	0.1058	446868	-0.0977
223629	0.1051	threonine	-0.0914
223865	0.1015	235436	-0.0907
446842	0.1014	443451	-0.0858
maltose	0.1006	201005	-0.0829
214528	0.0999	phenylalanine	-0.0827
213182	0.0987	serine	-0.0814
levoglucosan	0.0968	glutamic acid	-0.0793
204448	0.0967	suberyl glycine	-0.0788
427262	0.0953	208850	-0.0741
299396	0.0953	aspartic acid	-0.0712
231248	0.0950	228249	-0.0711
446633	0.0949	212235	-0.0666
202834	0.0927	222093	-0.0599
glucose	0.0917	2-hydroxyglutaric acid	-0.0585
268353	0.0917	211932	-0.0578
methylhexadecanoic acid	0.0903	446849	-0.0550
N-acetyl-D-mannosamine	0.0902	isoleucine	-0.0545
palmitic acid	0.0895	224635	-0.0517