

紫花苜蓿种子萌发过程中内源激素含量的动态变化

李浩天¹, 隋晓青^{1*}, 杨静¹, 石国庆¹, 王玉祥¹, 李雪峰²

(1. 新疆农业大学草业学院, 新疆草地资源与生态重点实验室, 西部干旱荒漠区草地资源与生态教育部重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆维吾尔自治区不动产登记中心, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:【目的】植物内源激素在调控种子休眠与萌发过程中具有极其重要的作用。【方法】利用高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)方法, 测定不同萌发时期紫花苜蓿(*Medicago sativa*)种子中生长素(IAA、ME-IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、玉米素核苷(ZR)及茉莉酸(JA、JA-ILE和H2JA)含量变化情况。【结果】紫花苜蓿种子萌发过程中, ABA、IAA及JA含量均维持在较高水平, GA₃、ZR、JA-ILE及H2JA含量全程较低。其中ABA、IAA、JA、JA-ILE含量均呈现下降的变化趋势; GA₃含量由干燥种子进入吸胀过程急剧上升, 萌发开始后开始下降, 到萌发后期出现小幅上涨; ME-IAA含量呈现出先升后降再升的趋势, 在种子开始萌动及萌动后期升高; ZR和H2JA表现一致, 均呈先升高后降低的趋势, 具体表现为种子吸胀进入萌动时含量升高, 萌动开始后开始降低; IAA/ABA比值在种子萌发进程中呈上升趋势; GA₃/ABA比值呈现出“升—降—升”的变化趋势, 种子萌动后期达最大值; ZR/ABA比值则表现出先升后降的趋势, 在种子进入萌动中期时达到最大值。【结论】ABA和GA₃虽是参与调节种子休眠和萌发的主要内源激素, 但它们并不总是起决定性作用, 其他内源激素, 如IAA、ME-IAA、JA、JA-ILE、H2JA和ZR, 在萌发过程中同样也扮演着重要的作用。

关键词: 紫花苜蓿; 内源激素; 种子萌发; UPLC-MS/MS

中图分类号: S541⁺.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1009-5500(2023)04-0072-09

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2023.04.010



种子休眠和萌发是高等植物生命周期的关键阶段, 是影响作物产量的重要性状, 这两个阶段都受到发育和环境信号的影响^[1]。萌发在所有高等植物的生命周期中都是非常重要的, 它有可能影响植物整个生命周期所表达的性状的进化^[2]。种子萌发是从休眠的种子吸收水分开始、当胚的一部分如胚根从种皮中出来时完成, 胚根通过种皮破裂而出现称为萌发的完

成。然而, 这一过程依赖于胚对水分的吸收及内部一系列生理调控^[3]。种子的萌发需要特定的环境条件, 种子对环境的敏感性是不断变化的。种子的萌发依赖于内源激素以及环境信号, 这些信号诱导休眠种子成功萌发^[4]。

植物内源激素是指在植物体内合成、从合成部位运往作用部位、对植物的生长发育产生显著调节作用的微量有机物质, 植物激素对植物生理活动的调节涉及自身浓度的变化, 种子的休眠与萌发过程均会受到内源激素的调控^[5]。在种子萌发过程中赤霉素(GA)能够通过增强细胞伸长来克服种皮带来的机械阻力^[6]。与之相反, 脱落酸(ABA)表现出抑制种子萌发并诱导种子休眠^[7]。随着研究的不断深入, 生长素、细胞分裂素也被发现在调控种子休眠与萌发中的重要

收稿日期: 2022-09-30; **修回日期:** 2022-11-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31960354); 新疆苜蓿良种繁育技术集成与应用(ZYYD2022C05)

作者简介: 李浩天(1996-), 男, 山东菏泽人, 硕士研究生。

E-mail: Eric-tian555@outlook.com

*通信作者。E-mail: sxq303@xjau.edu.cn

作用^[8-9],掌握植物体内激素的组成以及含量的变化情况有助于发现更多的植物激素间的相互作用,进而探索可能的作用机理。紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是豆科(Fabaceae)苜蓿属(*Medicago*)多年生草本植物,也是我国人工种植面积最大的草种,素有“牧草之王”之称^[10],目前对于紫花苜蓿种子萌发的研究大多集中于浸种对萌发的影响^[11-12],未见报道种子萌发过程中内源激素变化的研究。

液相色谱(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC)串联质谱(Tandem Mass Spectrometry, MS/MS)能够很好的检测到极性高、热稳定性差的化合物,并能够对物质进行精确的定量,是目前测定植物内源激素较为理想的一种方法^[13-14]。本研究选取紫花苜蓿种子为实验材料,采用UPLC-MS/MS方法,测定紫花苜蓿种子萌发过程中各激素含量变化,以期能够对内源激素调控植物种子萌发的机制有进一步的了解。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供试品种:新牧4号紫花苜蓿(*Medicago sativa* cv. XinMu No. 4),由新疆农业大学草业学院提供,供试材料种植于新疆农业大学三坪草业综合试验站,采集后的种子置于室外进行自然干燥。

1.2 实验设计

萌发实验:选择较为饱满的干燥后的紫花苜蓿种子用于萌发实验。

取50粒种子为一个重复,设3组重复,将种子用蒸馏水冲洗后均匀放置在铺有湿润滤纸的培养皿(Φ 9 cm)中,将培养皿置于20℃恒温培养箱中进行吸水萌发,光照强度3 000 lx,光照周期24 h,用称量法及时补充蒸馏水,防止各培养皿水势变动。

萌发时期确定:6 h快速吸胀期中期(Stage 1)、18 h吸水滞缓期中期(开始萌动时期,Stage 2)、30 h种子萌动达到50%(Stage 3)、42 h种子萌动达90%(Stage 4)。

1.3 测定内容及方法

1.3.1 样品采集 于萌发不同时期(Stage 1-Stage 4)对紫花苜蓿种子进行取样,每次取样0.8 g,每个时期

重复3次,取样完成后收集在液氮中速冻,移入-80℃冰箱保存,用于后续内源激素的测定。

1.3.2 样品内源激素的提取 植物样本内源激素提取参照Li^[15]的方法:取出超低温保存的生物样本,用研磨仪研磨(30 Hz, 1 min)至粉末状,称取50 mg研磨后的样本,分别加入10 μ L浓度为100 ng/mL的内标混合溶液,1 mL甲醇/水/甲酸(15:4:1, v/v/v)提取剂,混匀,涡旋10 min,于4℃,12 000 r/min条件下,离心5 min,取上清液至新的离心管中进行浓缩,浓缩后用100 μ L 80%甲醇/水溶液复溶,过0.22 μ m滤膜,置于进样瓶中,用于UPLC-MS/MS分析吲哚-3-乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)、吲哚-3-乙酸甲酯(Methyl indole-3-acetate, ME-IAA)、玉米素核甘(trans-Zeatin riboside, tZR)、脱落酸(Absciscic acid, ABA)、赤霉素(Gibberellin, GA₃)、茉莉酸(Jasmonic acid, JA)、二氢茉莉酸(Dihydrojasmonic acid, H₂JA)及茉莉酸-异亮氨酸(Jasmonoyl-L-isoleucine, JA-ILE)的含量。

1.3.3 液相色谱串联质谱检测 数据采集仪器系统主要包括UPLC和MS/MS。

(1)液相条件:色谱柱:Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C18柱(1.8 μ m, 100 mm $\times$ 2.1 mm i. d.);流动相:A相,超纯水(加入0.04%的乙酸);B相,乙腈(加入0.04%的乙酸);梯度洗脱程序:0 min A/B为95:5(V/V),1.0 min A/B为95:5(V/V),8.0 min为5:95(V/V),9.0 min为5:95(V/V),9.1 min为95:5(V/V),12.0 min为95:5(V/V);流速0.35 mL/min;柱温40℃;进样量2 μ L。

(2)质谱条件:电喷雾离子源(Electrospray Ionization, ESI)温度550℃,正离子模式下质谱电压5500 V,负离子模式下质谱电压-4 500 V,气帘气(Curtain Gas, CUR)35 psi。在Q-Trap 6500+中,每个离子对是根据优化的去簇电压(declustering potential, DP)和碰撞能(collision energy, CE)进行扫描检测。

1.3.4 激素样品定性分析 基于标准品构建数据库,对质谱检测的数据进行定性分析。在对各激素进行定性后,通过不同浓度的激素标准品溶液获取各个浓度标准品的对应定量信号的质谱峰强度数据;以外标与内标浓度比(Concentration Ratio)为横坐标,外标与内标峰面积比(Area Ratio)为纵坐标,绘制不同物

质的标准曲线。表1为激素标准品曲线线性方程及相关系数。

1.3.5 样品内源激素含量 将检测到的所有样本的积分峰面积比值代入标准曲线线性方程进行计算,进一步代入公式计算后,最终得到实际样本中该物质的含量。

样本中激素的含量(ng/g)= C×V/1 000/m

公式中各字母含义:

C:样本中积分峰面积比值代入标准曲线得到的浓度值(ng/mL)

V:复溶时所用溶液的体积(μL)

m:称取的样本质量(g)

1.4 数据处理

采用Excel 2021对数据进行统计,SPSS 26.0对不同萌发时期种子内源激素含量变化进行单因素方差分析(one-wayANOVA),GraphPadPrism 9.4.1绘制图形。

2 结果与分析

2.1 紫花苜蓿种子萌发过程中内源 IAA 的变化

干燥后的紫花苜蓿种子中,内源 IAA 含量为45.92 ng/g,种子吸水萌发后,内源 IAA 含量呈显著下降趋势($P<0.05$),Stage 1 内源 IAA 含量急剧下降到15.29 ng/g,内源 IAA 含量从干燥状态到 Stage 1 下降幅度较快,萌发开始后,变化较为平缓(图 1-A)。

表1 标准品线性方程及定量上下限

Table 1 Linear equation and upper and lower limits of quantification for the standards

指标	线性方程	相关系数	定量下限/(ng·mL ⁻¹)	定量上限/(ng·mL ⁻¹)
ABA	$y=0.103\,48x-0.003\,10$	0.998\,2	0.1	500.0
IAA	$y=0.012\,58x+2.061\,93e^{-4}$	0.996\,1	0.2	500.0
ME-IAA	$y=0.029\,19x+1.791\,29e^{-4}$	0.997\,3	0.2	500.0
ZR	$y=0.251\,69x-0.001\,87$	0.998\,8	0.1	500.0
GA ₃	$y=0.059\,37x+0.007\,77$	0.999\,2	1.0	500.0
JA	$y=0.123\,91x+0.002\,84$	0.997\,5	0.2	500.0
H2JA	$y=0.131\,31x+0.021\,98$	0.997\,7	0.5	500.0
JA-ILE	$y=0.369\,61x+0.004\,01$	0.998\,4	0.1	500.0

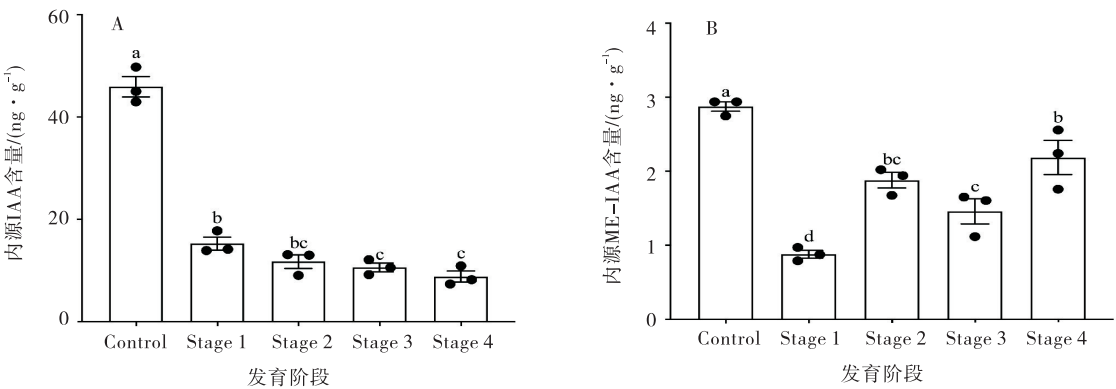


图1 不同萌发阶段紫花苜蓿种子内源 IAA、ME-IAA 含量

Fig. 1 Contents in alfalfa seeds at different germination stages of endogenous IAA and ME-IAA

注:不同的小写字母表示在0.05水平上差异显著,下同

ME-IAA 同样为植物体内一种生长素,和 IAA 协同调控种子的萌发。如图 1-B 所示,干燥种子内源 ME-IAA 含量为 2.87 ng/g,萌发阶段 ME-IAA 含量均显著小于对照组($P<0.05$),随种子萌发进程推

进呈现出先升后降再升的趋势,Stage1 阶段内源 ME-IAA 含量急剧下降到 0.88 ng/g,之后的阶段内源 ME-IAA 含量有所提升,尤其以种子开始萌动及萌动后期两阶段。

IAA/Me-IAA 的变化趋势整体与种子内源 IAA 含量的变化情况一致,在萌发阶段内呈下降趋势(图 2)。

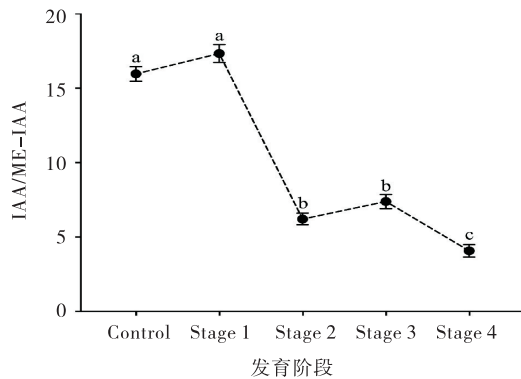


图 2 不同萌发阶段紫花苜蓿种子内源 IAA/ME-IAA 比值

Fig. 2 Endogenous IAA / ME-IAA ratio in alfalfa seeds at different germination stages

2.2 紫花苜蓿种子萌发过程中内源 ZR 的变化

干燥后的紫花苜蓿种子内源 ZR 含量为 0.30 ng/g,种子萌发开始后内源 ZR 的含量整体表现出降低趋势($P < 0.05$),Stage 1 种子吸水阶段内源 ZR 含量下降至 0.18 ng/g,进入萌动初期后,即 Stage 2 阶段,内源 ZR 含量出现小幅度升高,但不显著,而萌动开始后,内源 ZR 含量显著下降($P < 0.05$)(图 3)。

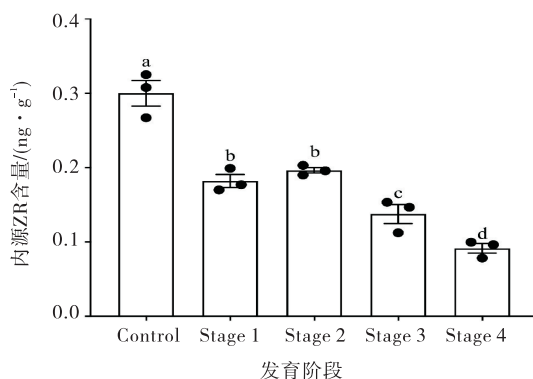


图 3 不同萌发阶段紫花苜蓿种子内源 ZR 含量

Fig. 3 Endogenous ZR content of alfalfa seeds at different stages of germination

2.3 紫花苜蓿种子萌发过程中内源 ABA 的变化

自然干燥后的紫花苜蓿种子中,内源 ABA 含量最高(150.52 ng/g)(图 4)。紫花苜蓿吸水萌发后,内源 ABA 含量呈下降趋势($P < 0.05$),Stage 1 内源 ABA 含量急剧下降至 45.23 ng/g,Stage 4 内源 ABA 含量为 8.90 ng/g,较 Stage 1 下降 80.32%。萌发后期

内源 ABA 含量下降速度减缓,但依旧维持在一定的水平。

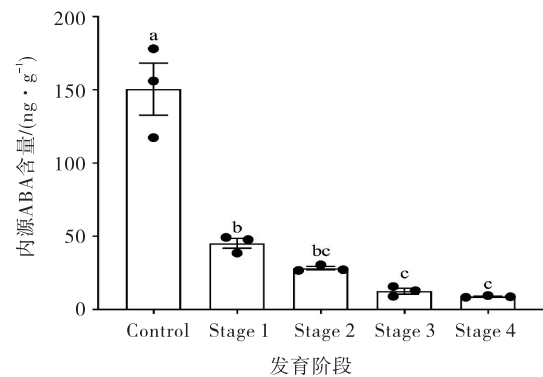


图 4 不同萌发阶段紫花苜蓿种子内源 ABA 含量

Fig. 4 Endogenous ABA content of alfalfa seeds at different stages of germination

2.4 紫花苜蓿种子萌发过程中内源 GA₃ 的变化

自然干燥后的紫花苜蓿种子中未检测出内源 GA₃ 含量,种子吸水萌发后,内源 GA₃ 含量呈现出上升的趋势($P < 0.05$),随萌发的进行,内源 GA₃ 含量表现出先升后降再升的趋势,Stage 1 内源 GA₃ 含量急剧升高(20.01 ng/g),之后开始降低,萌发后期(Stage 3—Stage 4)内源 GA₃ 含量出现小幅度升高,但未表现出差异性(图 5)。

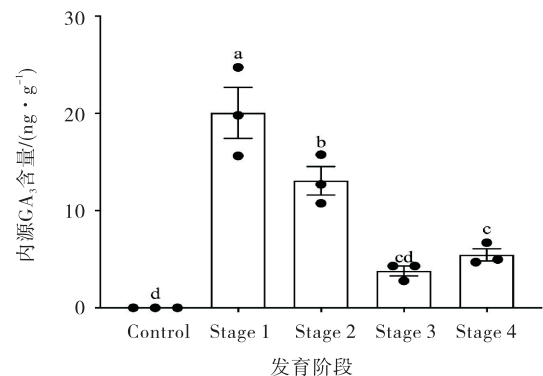


图 5 不同萌发阶段紫花苜蓿种子内源 GA₃ 含量

Fig. 5 Endogenous GA₃ content of alfalfa seeds at different stages of germination

2.5 紫花苜蓿种子萌发过程中内源 JA 类的变化

干燥后的紫花苜蓿种子内源 JA、JA-ILE 含量分别为 108.98 和 10.89 ng/g,种子吸水萌发后,内源 JA、JA-ILE 含量均呈下降趋势($P < 0.05$),Stage 1 内源 JA 含量急剧下降到 21.75 ng/g,内源 JA-ILE 含量急剧下降到 4.83 ng/g,且均表现出由干燥状态进入 Stage 1 时下降较为明显,而萌发后期,两者含量变化

均趋于平缓(图6-A、6-B)。

与JA、JA-ILE不同的是,种子吸水萌发后,内源H2JA含量呈先升后降的趋势,Stage 1内源H2JA含

量下降到0.91 ng/g,Stage 2、Stage 3内源H2JA含量显著上升($P<0.05$),而到了萌发后期(Stage 4)H2JA含量又出现了下降(图6-C)。

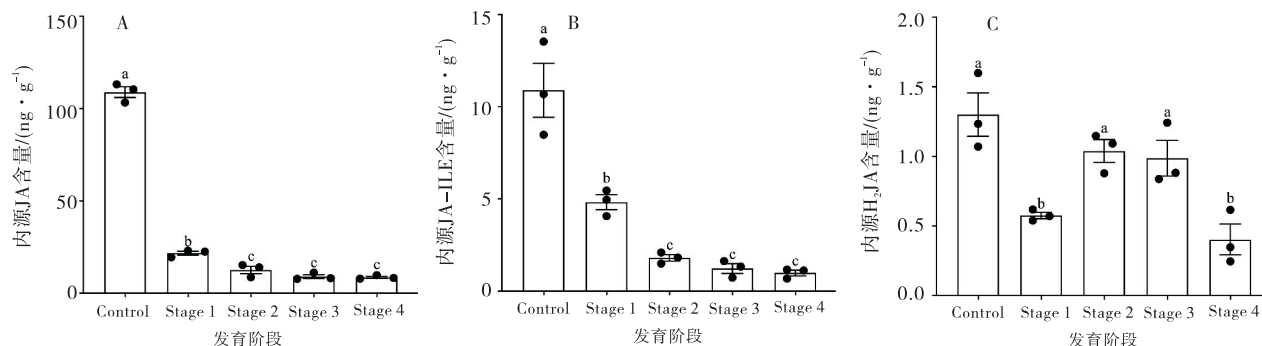


图6 不同萌发阶段紫花苜蓿种子内源GA₃含量

Fig. 6 Endogenous GA₃ content of alfalfa seeds at different stages of germination

2.5 紫花苜蓿种子萌发过程中内源激素比值的变化

IAA/ABA比值随着种子萌发呈上升趋势;GA₃/ABA比值在Stage 1~Stage 2出现小幅度升高,但无显著差异($P>0.05$),Stage 2~Stage 3 GA₃/ABA比值降低,而Stage 3~Stage 4 GA₃/ABA比值显著升高($P<0.05$);ZR/ABA比值在Stage 1~Stage 3阶段呈

上升状态,Stage 3~Stage 4出现小幅度下降,这与ZR含量在萌发时期的变化一致。综合分析各激素比值变化情况,在Stage 1~Stage 2、Stage 3~Stage 4均出现较为明显的变化,这说明种子由吸胀进入萌动以及萌动后期为紫花苜蓿种子萌发的关键时期。

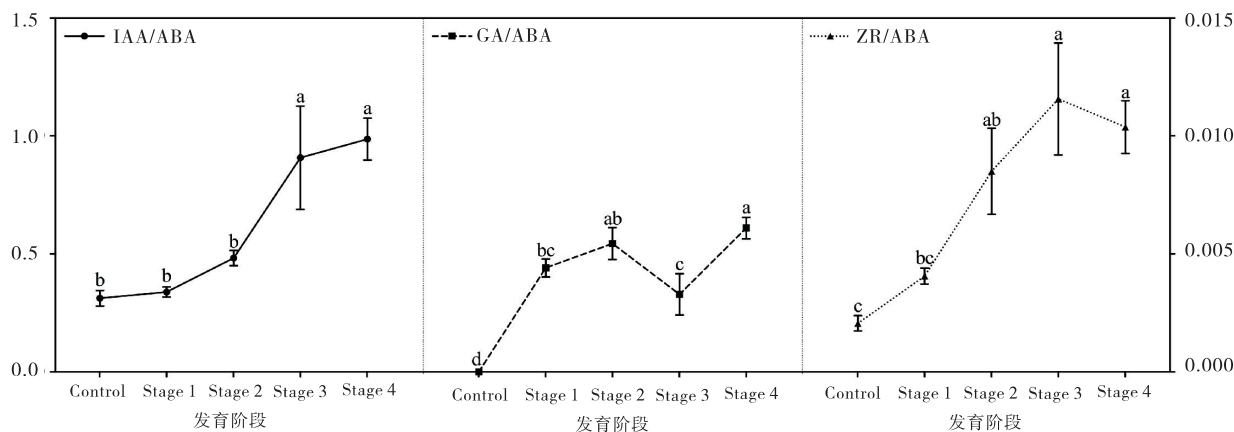


图7 紫花苜蓿种子IAA/ABA、GA₃/ABA及ZR/ABA比值

Fig. 7 IAA/ABA, GA₃/ABA, and ZR/ABA ratio in alfalfa seeds with germination stages

注:左侧Y轴数值为IAA/ABA、GA₃/ABA比值,右侧Y轴数值为ZR/ABA比值

3 讨论

紫花苜蓿种子萌发过程激素的动态变化说明种子的休眠与萌发并非仅依靠某一类激素来调控,而是多种激素共同作用下的结果。

ABA为促进种子休眠、抑制种子萌发类激素,而GA₃为解除种子休眠、促进种子萌发类激素,这两种激素对彼此的生物合成和信号途径均产生拮抗作用,特别是二者之间的平衡关系决定了种子的发芽能

力^[16-18]。紫花苜蓿种子萌发过程中,内源GA₃含量在吸胀时期显著增加,这种变化与GA₃解除种子休眠有关^[19],以往研究均证明内源GA₃可有效打破种子休眠促进萌发^[20]。在种子从吸胀进入萌动时期后,GA₃含量开始下降,可能是因为GA₃在促进种子萌发过程中代谢旺盛所致,说明GA₃在种子萌发过程并不是一个积累的过程^[21]。这与葛文静^[22]在小花草玉梅(*Anemone rivularis* var. *floreminore*)种子萌发研究结果一致。崔维佩^[23]等在研究花生(*Arachis hypogaea*)

种子萌发时,由于 GA₃打破种子休眠导致 ABA 代谢加剧,其含量随萌发进程呈现下降趋势。这与本研究中紫花苜蓿种子 ABA 含量在萌发阶段的变化趋势相吻合。

IAA 是主要的生长素类之一,植物可通过 IAA、Me-IAA、吲哚-3-丁酸(Indole-3-butyric acid, IBA)及其衍生物之间互相转化维持生长素梯度和稳态^[24], Me-IAA 是由 IAA 羧甲基转移酶 IAMT1 酯化而成, IAA 从酸性转化为非极性,可以促进其在细胞膜之间的运输,甲基酯酶 17(MES17)水解 Me-IAA 生成游离的 IAA,使其恢复生物活性^[25]。本研究中,紫花苜蓿种子在萌发过程中 IAA 含量在种子吸胀时期到萌动期表现为下降趋势,这种变化情况与王艳梅等^[26]在研究山桐(*Idesia polycarpa*)种子萌发过程中 IAA 的含量变化一致,对野生型水稻单独施加外源 IAA 时不能降低其发芽率,而同时施用 ABA 和 IAA 则会显著抑制种子萌发,表明 ABA 可能通过生长素信号途径抑制种子发芽^[27]。ABA 和 IAA 的含量都呈同一下降趋势,说明种子休眠在缓慢解除, Me-IAA 含量增多,但是 IAA/Me-IAA 的比值呈下降趋势,猜测可能是种子在萌发过程中有一小部分 IAA 逐渐被酯化为 Me-IAA 来维持生长素梯度和稳态,从而 IAA 含量降低, Me-IAA 含量上升。ZR 含量在种子萌发过程中表现出先升高后降低的趋势,说明 ZR 可以促进种子由吸胀进入萌动。云南重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*)种子萌发过程中也有类似的结果^[28]。

JA 及其衍生物通过干扰过氧化酶体的三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)结合盒转运体和 β 氧化过程来抑制种子萌发^[29], Dave^[30]研究发现 JA 生物合成过程中的关键代谢中间体 OPDA 与 ABA 在抑制种子萌发方面具有协同作用,但也有研究表明通过施加低浓度的外源 JA 可以促进烟草种子萌发^[31]。本研究中, JA 和 JA-ILE 含量随着萌发进行开始下降,但 H2JA 含量在 Stage 1~Stage 3 阶段快速上升,猜测 H2JA 跟 GA₃ 一样,与 ABA 呈拮抗作用,且较低浓度的 H2JA 可以促进紫花苜蓿的种子萌发。

解除种子休眠的促进物,与诱导并维持种子休眠的萌发抑制物存在一定的拮抗作用,激素含量的相对

平衡或者其相关关系也调节着种子的休眠和萌发^[32]。紫花苜蓿种子吸胀至萌动后期 GA₃/ABA 的变化整体表现出了升高趋势。ABA 在吸胀种子中诱导并维持休眠,相反, GA₃能够通过拮抗 ABA 的抑制作用破除种子休眠并促进种子萌发^[33]。Liu^[27]证明了生长素能够通过诱导生长素响应因子(Auxin response factor, ARF)调节的 ABI4 蛋白(ABAinsensitive 3, ABI3)的活性来促进 ABA 的信号通路以调控拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)种子的休眠。本研究中, IAA 可能为了促进 ABA 含量的升高而加剧自身代谢^[34],使得 IAA 含量由 Stage 1~Stage 2 阶段显著下降,随后由于 IAA 稳定在一定的水平,致使 ABA 含量开始下降,即 IAA/ABA 含量表现出上升的趋势。种子萌发过程中细胞分裂素能够通过下调 ABI5 蛋白(ABAinsensitive 5, ABI5)的基因表达,消除 ABA 对 GA₃的抑制作用,从而使 GA₃能够促进拟南芥种子的萌发^[35]。本研究中,由于 ABA 的变化使得 ZR/ABA 也随萌发时期呈现出先升高后降低的趋势。紫花苜蓿种子内源激素的动态平衡调控着种子的休眠与萌发,紫花苜蓿种子萌发过程中, ABA 和 GA₃虽是参与调节种子休眠和萌发的主要内源激素,但它们并不总是起决定性作用,萌发过程并不一定意味着 GA₃含量的升高或 ABA 含量的降低,又或者取决于 GA₃/ABA 比值的高低,其他内源激素,如 IAA、ME-IAA、JA、JA-ILE、H2JA 和 ZR,在萌发过程中同样也具有重要的作用。

4 结论

植物激素是种子萌发过程中产生的重要物质,随着紫花苜蓿种子萌发的进行,内源 ABA、IAA、JA 及 JA-ILE 含量开始下降, GA₃含量在种子吸胀时及萌动后期升高, ME-IAA 含量呈现出先升后降再升,整体表现为上升趋势, ZR 和 H2JA 表现一致,在种子萌发过程中表现出含量升高,激素含量的平衡亦在种子萌发过程中发挥着重要作用, IAA/ABA 比值在种子萌发进程中呈上升趋势, GA₃/ABA 比值呈现出“升—降—升”的变化趋势,而 ZR/ABA 比值则表现出先升高后降低的趋势。综合分析内源激素含量变化及平衡关系,紫花苜蓿种子萌发过程中由吸胀进入萌动以及萌动后期为紫花苜蓿种子萌发的关键时期。

参考文献:

- [1] Finch-Savage W E, Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination[J]. New phytologist, 2006, 171(3):501—523.
- [2] Donohue K, Rubio de Casas R, Burghardt L, *et al.* Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges[J]. Annual review of ecology, evolution, and systematics, 2010, 41(1):293—319.
- [3] Kucera B, Cohn M A, Leubner-Metzger G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination[J]. Seed science research, 2005, 15(4):281—307.
- [4] Holdsworth M J, Finch-Savage W E, Grappin P, *et al.* Post-genomics dissection of seed dormancy and germination[J]. Trends in plant science, 2008, 13(1):7—13.
- [5] 段娜, 贾玉奎, 徐军, 等. 植物内源激素研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2):159—165.
- [6] Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. Seed dormancy and germination[J]. Current opinion in plant biology, 2002, 5(1):33—36.
- [7] Nambara E, Marion-Poll A. ABA action and interactions in seeds[J]. Trends in plant science, 2003, 8(5):213—217.
- [8] Chiwocha S D, Cutler A J, Abrams S R, *et al.* The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination[J]. The Plant Journal, 2005, 42(1):35—48.
- [9] Steber C M, McCourt P. A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis* [J]. Plant physiology, 2001, 125(2):763—769.
- [10] 杨青川. 苜蓿生产与管理指南[M]. 北京:中国林业出版社, 2003.
- [11] 李硕, 李振松, 苗丽宏, 等. 5-ALA 浸种对干旱胁迫下紫花苜蓿种子萌发特性的影响[J]. 草原与草坪, 2021, 41(3):84—90.
- [12] 潘龙, 谷文英. 硝普钠浸种对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草业科学, 2013, 30:58—62.
- [13] Niu Q, Zong Y, Qian M, *et al.* Simultaneous quantitative determination of major plant hormones in pear flowers and fruit by UPLC/ESI-MS/MS[J]. Analytical Methods, 2014, 6(6):1766—1773.
- [14] Simura Jan, Antoniadi. Plant Hormonomics: Multiple Phytohormone Profiling by Targeted Metabolomics[J]. Plant physiology, 2018, 177(2):476—489.
- [15] Li Y, Zhou C, Yan X, *et al.* Simultaneous analysis of ten phytohormones in *Sargassum horneri* by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(10):1804—1813.
- [16] 宋松泉, 刘军, 杨华, 等. 细胞分裂素调控种子发育、休眠与萌发的研究进展[J]. 植物学报, 2021, 56(2):218—231.
- [17] 宋松泉, 刘军, 徐恒恒, 等. 脱落酸代谢与信号传递及其调控种子休眠与萌发的分子机制[J]. 中国农业科学, 2020, 53(5):857—873.
- [18] 操春燕, 陈熙, 吴燕. 脱落酸调控种子萌发和休眠的研究进展[J]. 生命科学, 2017, 29(6):582—588.
- [19] 杨荣超, 张海军, 王倩, 等. 植物激素对种子休眠和萌发调控机理的研究进展[J]. 草地学报, 2012, 20(1):1—9.
- [20] 宋松泉, 刘军, 黄荟, 等. 赤霉素代谢与信号转导及其调控种子萌发与休眠的分子机制[J]. 中国科学(生命科学), 2020, 50(6):599—615.
- [21] Ali F, Qanmber G, Li F, *et al.* Updated role of ABA in seed maturation, dormancy, and germination[J]. J Adv Res, 2022, 35:199—214.
- [22] 葛文静, 卜海燕, 王学经, 等. 小花草玉梅种子萌发过程中常见内源激素含量的变化及萌发机制[J]. 生态学杂志, 2020, 39(6):1974—1982.
- [23] 崔维佩, 唐桂英, 徐平丽, 等. 花生种子萌发过程中内源激素含量的变化[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(5):869—877.
- [24] Spiess G M, Hausman A, Yu P, *et al.* Auxin input pathway disruptions are mitigated by changes in auxin biosynthetic gene expression in *Arabidopsis* [J]. Plant physiology, 2014, 165(3):1092—1104.
- [25] JIANG Z-f, LIU D-d, WANG T-q, *et al.* Concentration difference of auxin involved in stem development in soybean[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2020, 19(4):953—964.
- [26] 王艳梅, 姚兵, 刘伟伟, 等. 休眠解除后山桐子种子萌发过程中内源激素的动态变化[J]. 林业科学, 2018, 54(6):44—52.
- [27] Liu X, Zhang H, Zhao Y, *et al.* Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3 activation in *Arabidopsis* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,

- 2013, 110(38):15485—15490.
- [28] 苏海兰, 周先治, 李希, 等. 云南重楼种子萌发过程内源激素含量及酶活性变化研究[J]. 核农学报, 2018, 32(1):141—149.
- [29] Garcia—Andrade J, Ramirez V, Flors V, *et al.* Arabidopsis ocp3 mutant reveals a mechanism linking ABA and JA to pathogen—induced callose deposition [J]. Plant J, 2011, 67(5):783—794.
- [30] Dave A, Hernandez M L, He Z, *et al.* 12—oxo—phytodienoic acid accumulation during seed development represses seed germination in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2011, 23(2):583—599.
- [31] 韩锦峰, 刘华山, 陈平华, 等. 茉莉酸对烟草种子萌发和初生芽生长的影响(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(3):193—195.
- [32] Shu K, Liu X D, Xie Q, *et al.* Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination[J]. Mol Plant, 2016, 9(1):34—45.
- [33] Finkelstein R, Reeves W, Ariizumi T, *et al.* Molecular aspects of seed dormancy[J]. Annu Rev Plant Biol, 2008, 59:387—415.
- [34] 宋松泉, 刘军, 唐翠芳, 等. 生长素代谢与信号转导及其调控种子休眠与萌发的分子机制[J]. 科学通报, 2020, 65(34):3924—3943.
- [35] Wang Y, Lin L, Ye T, *et al.* Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of Arabidopsis by down-regulating ABI5 expression[J]. The Plant Journal, 2011, 68(2):249—261.

Dynamics of endogenous hormones during seed germination in alfalfa

LI Hao-tian¹, SUI Xiao-qing^{1*}, YANG Jing¹, SHI Guo-qing¹, WANG Yu-xiang¹,
LI Xue-feng²

(1. College of Grassland Science, Xinjiang Agricultural University, Xinjiang Key Laboratory of Grassland Resources and Ecology, Key Laboratory of Grassland Resources and Ecology of Western Arid Region, Ministry of Education, Urumqi 830052, China; 2. Xinjiang Uygur Autonomous Region Real Estate Registration Center, Urumqi 830000, China)

Abstract: [Objective] Endogenous plant hormones play an extremely important role in regulating the dormancy and germination of seeds. [Method] In this study, we determined the changes of growth hormones (IAA, ME—IAA), abscisic acid (ABA), gibberellin (GA₃), zeatin nucleoside (ZR) and jasmonic acid (JA, JA—ILE and H₂JA) contents in alfalfa seeds during different germination periods by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC—MS/MS). [Result] The results showed that the contents of ABA, IAA and JA were maintained at a higher level during the germination of alfalfa seeds, while the contents of GA₃, ZR, JA—ILE and H₂JA were lower throughout. Among the hormones, ABA, IAA, JA and JA—ILE contents showed a decreasing trend; GA₃ content rose sharply from the dry seeds into the process of uptake, started to decline after the beginning of germination, and a small increase at the late germination stage. The ME—IAA content showed a trend of rising, then falling, then rising again, and were higher at the beginning and late germination of seeds. The ZR and H₂JA showed the same trend, both showed an increase and then a decrease, specifically when the seeds sucked up into germination, and began to decrease after the start of germination. IAA/ABA ratio showed an increasing trend with the process of seed germination. GA₃/ABA ratio showed a trend of rising—decreasing—rising and reached the maximum value at the late stage of seed germination. The ZR/ABA ratio showed firstly an increasing trend and then decreasing trend, and

reached the maximum value when the seeds entered the middle stage of germination. 【Conclusion】 In conclusion, although ABA and GA₃ are the main endogenous hormones involved in regulating seed dormancy and germination, they do not always play a decisive role, and other endogenous hormones, such as IAA, ME-IAA, JA, JA-ILE, H2JA and ZR, also play an important role in the germination process.

Key words: alfalfa; endogenous hormones; seed germination; UPLC-MS/MS

(上接 71 页)

Evaluation of germination characteristics and salt tolerance of 25 forage triticale seeds under NaCl stress

LI Xue-ying, GAO Zhi-hao, LAN Jian, HU Hai-ying*

(School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: 【Objective】 The aim of the study is to investigate the salt tolerance of different forage triticale germplasm. 【Method】 The germination potential, germination rate, germination index, shoot length, root length and vigor index of 25 forage triticale materials under 150 mmol/L NaCl stress were compared and analyzed. 【Result】 The experiments showed that the germination rate, germination potential, germination index, shoot length, root length and vigor index of 25 materials were significantly lower ($P < 0.01$) at 150 mmol/L NaCl concentration compared with the control (CK), and the difference between materials was highly significant ($P < 0.01$). The 25 materials could be divided into three types after comprehensive evaluation by the membership function method and systematic clustering method. The first type had three germplasm materials (Ji Forage No. 1, Shi Da No. 1 and Jian-18), which belonged to high salt tolerance type. The second type was made up of 17 germplasm materials (X-515, X-509, X522, TWXB-6, X-143, TWXB-3, Jian-46, TWXB-11, X-520, XJ-triticale, TWXB-4, X-516, TWXB-2, HN-triticale, TWXB-8, Jian-47, and JIN Forage No. 1), which were moderately salt-tolerant. The third type consisted of five germplasm materials (TWXB-1, TWXB-7, TWXB-5, TWXB-9, and TWXB-10), which were salt-sensitive. 【Conclusion】 This study could provide a basis for the selection and utilization of new salt-tolerant forage triticale varieties.

Key words: forage triticale; germination characteristics; salt resistance; comprehensive evaluation