

王玉泉,付丽娜,胡喜贵,等.小麦种子发芽期内源激素、种子活力与相关基因表达分析[J].山西农业科学,2025,53(2):132-141.

WANG Y Q, FU L, HU X G, et al. Analysis of endogenous hormones of, seed vigor, and associated genes expression at germination stage of wheat Seed[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(2): 132-141.

doi:10.3969/j.issn.1002-2481.2025.02.16

小麦种子发芽期内源激素、种子活力与相关基因表达分析

王玉泉,付丽娜,胡喜贵,刘明久

(河南科技学院农学院,河南新乡453003)

摘要:激素在种子活力调控中发挥重要作用。为了解种子发芽不同时期内源激素含量的变化及其与种子活力的关系,比较分析了小麦育成品种和地方品种的种子活力差异,并利用液相色谱的方法检测了发芽6、12、24、48、72 h的内源赤霉素、生长素、玉米素、脱落酸含量。结果表明,地方品种发芽指数、幼苗长度分别分布在47~50、10~14 cm,活力指数、幼苗鲜质量分别分布在2.5~3.5、5~7 g,而育成品种发芽指数、幼苗长度分布在45~49、9~12 cm,活力指数、幼苗鲜质量分别分布在2.5~4.0、5~9 g;育成品种幼苗长度、幼苗鲜质量、活力指数显著高于地方品种。在种子发芽的过程中,育成品种和地方品种种子中赤霉素和生长素含量呈现增加的趋势,脱落酸含量呈现下降的趋势,玉米素含量变化较小。相关性分析结果发现,赤霉素、生长素和玉米素与种子活力呈显著正相关关系,脱落酸含量与种子活力呈显著负相关关系。种子发芽12 h和48 h的 α -淀粉酶和TaGA3ox2基因表达量在育成品种的表达式显著高于地方品种。

关键词:地方品种;育成品种;种子活力;内源激素;液相色谱;相关性分析;基因表达分析

中图分类号:S512.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2481(2025)02-0132-10

Analysis of Endogenous Hormones of, Seed vigor, and Associated Genes Expression at Germination Stage of Wheat Seed

WANG Yuquan, FU Lina, HU Xigui, LIU Mingjiu

(School of Agriculture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: Hormones play important roles in the regulation of seed vigor. To understand the content change of endogenous hormones in different germination stages and the relationship between endogenous hormones and seed vigor, in this study, seed vigor difference between wheat improved varieties and local varieties was compared and analyzed, the contents of endogenous gibberellin, auxin, zeatin, and abscisic acid at 6h, 12h, 24h, 48h, and 72h after germination were tested with liquid chromatography. The results showed that the germination index, seedling length, vigor index, and seedling fresh weight of the local varieties were distributed between 47-50 cm, 10-14 cm, 2.5-3.5 cm, and 5-7 g, respectively, while those of the improved varieties were distributed between 45-49 cm, 9-12 cm, 2.5-4.0 cm, and 5-9 g, respectively. The seedling length, seedling fresh weight, and vigor index of the improved varieties were significantly higher than those of the local varieties. During the process of germination, the content of gibberellin and auxin in the seeds of the improved varieties and local varieties increased, while the content of abscisic acid decreased, and the content of zeatin showed minor changes. Correlation analysis showed that gibberellin, auxin, and zeatin were significantly positively correlated with seed vigor, while abscisic acid content was significantly negatively correlated with seed vigor. The expression levels of α -amylase and TaGA3ox2 genes at 12 and 48 hours after germination were significantly higher in the improved varieties than those in the local varieties.

Keywords: local variety; improved variety; seed vigor; endogenous hormones; liquid chromatography; correlation; gene expression analysis

收稿日期:2024-11-29

基金项目:河南科技攻关项目(242102110251)

作者简介:王玉泉,副教授,博士,主要从事小麦基因组与遗传育种研究,E-mail:wyyq315705686@126.com

通信作者:刘明久,教授,主要从事种子学的教学与科学研究,E-mail:mingjiuliu@126.com

种子是重要的农业生产资料,高质量的种子是作物增产的关键^[1-3]。种子活力不仅是种子质量的综合反映,而且是衡量种子质量的重要指标。实际生产中,高活力种子出苗快,出苗率高,苗齐苗壮,抗逆性强,能够应对复杂多变的生物和非生物胁迫,为高产奠定基础^[4-5]。

种子活力是一个复杂的综合性状,受遗传和环境双重调节^[6]。种子萌发速度和休眠时间是反映种子活力的重要指标,受多种小分子物质和代谢途径调控。激素作为一种信号物质,在种子萌发和休眠调控中发挥关键作用。脱落酸(ABA)和赤霉素(GAs)是种子萌发的关键调控因子,二者对种子萌发调控具有拮抗效应,GAs提高种子活力促进萌发,而ABA则通过促进休眠抑制种子活力。种子萌发过程中的主要能量来源于淀粉分解, α -淀粉酶是淀粉分解的主导酶,其可以诱导降解二糖的催化酶活性升高,加快糖分解,促进种子胚分化,加速萌发,正向调控种子活力^[7]。编码 α -淀粉酶基因是GAs和ABA的共同靶标基因,GAs通过调控MYB转录因子激活 α -淀粉酶基因的转录,促进种子萌发,ABA则通过抑制GAMYB的转录进而降低 α -淀粉酶的含量,抑制种子萌发^[7-9]。已有研究表明,ABA/GAs的阈值范围也是调控种子活力的重要因子^[10-13]。除ABA和GA外,细胞分裂素、生长素等激素或信号分子也参与种子萌发和种子活力调控,不同激素间相互作用表现出协同或拮抗效应^[13-14]。细胞分裂素(CTKS)可以解除ABA对种子萌发的抑制,促进萌发,提高发芽指数^[15]。不同类型的种子对生长素(IAA)浓度的敏感性也不同,高浓度抑制种子活力,低浓度则增加

种子活力^[16-17]。因此,激素对种子活力调控发挥关键作用,但调控方式比较复杂。杂交小麦种子不同发芽时期的内源ABA、GA3、CTKS和IAA含量对种子活力的影响存在差异^[18]。在普通小麦中,外源激素已被广泛应用于种子活力的调控,而对内源激素的变化及其与种子活力的关系进行解析,将为种子活力改良提供理论支撑。

小麦是我国最重要的粮食作物之一,产量直接关系到国家粮食安全。高活力种子是粮食高产稳产的基础,激素在种子活力调控过程中发挥关键作用,检测种子不同发芽时期的激素水平,并研究其与种子活力的关系,有助于揭示激素在种子活力调控和幼苗发育过程中的调控网络,为高活力种子培育提供帮助。

本研究以小麦地方品种和育成品种为研究对象,分析了地方品种和育成品种的种子活力差异,检测了种子发芽6~72 h内的内源激素变化及其与种子活力的关系,分析了种子活力相关基因 α -淀粉酶基因和TaGA3ox2的表达模式,为揭示小麦地方品种和育成品种种子活力差异奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为71份小麦品种,其中,育成品种35份,地方品种36份,均由中国农业科学院作物科学研究所张学勇老师提供。所有材料于2018年种植于河南科技学院朗公庙试验基地,每份材料种植2行,行长2 m,正常大田管理,材料详细情况见表1。

表1 试验材料信息

Tab.1 Information of materials tested

编号 Number	育成品种 Improved variety	育种单位 Breeding institute	编号 Number	地方品种 Local variety	收集单位 Collecting institute
1	烟农15	烟台市农业科学研究院	1	黄瓜先	中国农业科学院作物科学研究所
2	郑州6号	河南省农业科学院小麦研究所	2	扁头光壳麦	中国农业科学院作物科学研究所
3	济南17	山东省农业科学院作物研究所	3	红狗豆	中国农业科学院作物科学研究所
4	小偃6号	西北植物研究所	4	牛趾甲	中国农业科学院作物科学研究所
5	农大183	中国农业大学	5	假红麦	中国农业科学院作物科学研究所
6	碧蚂4号	西北农林科技大学	6	白齐麦	中国农业科学院作物科学研究所
7	丰产3号	西北农林科技大学	7	小口红	中国农业科学院作物科学研究所
8	济南2号	山东省农业科学院作物育种栽培研究所	8	兰花麦	中国农业科学院作物科学研究所
9	冀麦38	石家庄农业科学院	9	猪屎麦	中国农业科学院作物科学研究所
10	吕早328	山东省聊城市农业科学研究院	10	望水白	中国农业科学院作物科学研究所
11	东方红3号	中国农业大学	11	白芒麦	中国农业科学院作物科学研究所
12	蜀万8号	万县地区农科所	12	早五天	中国农业科学院作物科学研究所

续表1 试验材料信息

Tab.1(C ontinued) Information of materials tested

编号 Number	育成品种 Improved variety	育种单位 Breeding institute	编号 Number	地方品种 Local variety	收集单位 Collecting institute
13	繁6	四川农业大学	13	半截芒	中国农业科学院作物科学研究所
14	克丰3号	黑龙江省农科院克山农科所	14	大玉花	中国农业科学院作物科学研究所
15	贵农10号	贵州农业大学	15	白火麦	中国农业科学院作物科学研究所
16	云麦34	云南省农业科学院粮食作物研究所	16	红抢场	中国农业科学院作物科学研究所
17	绵阳26	绵阳市农业科学院研究院	17	蚰子麦	中国农业科学院作物科学研究所
18	农大311	中国农业大学	18	成都光头	中国农业科学院作物科学研究所
19	鲁麦1号	山东农业大学	19	有芒白稈	中国农业科学院作物科学研究所
20	莱州953	山东莱州市农业科学研究所	20	小白芒	中国农业科学院作物科学研究所
21	中优9507	中国农业科学院作物科学研究所	21	线麦	中国农业科学院作物科学研究所
22	石家庄54	石家庄是农业科学院	22	红花早	中国农业科学院作物科学研究所
23	晋麦8号	山西省农业科学院小麦研究所	23	江东门	中国农业科学院作物科学研究所
24	丰抗2号	中国农业科学院作物科学研究所/北京市农林科学院作物科学研究所	24	白花麦	中国农业科学院作物科学研究所
25	百农3217	河南科技学院	25	六柱头	中国农业科学院作物科学研究所
26	浙麦1号	浙江省农业科学院	26	蝉不吱	中国农业科学院作物科学研究所
27	温麦6号	温县祥云镇农技站	27	白蒲	中国农业科学院作物科学研究所
28	西农6028	西北农林科技大学	28	平原50	中国农业科学院作物科学研究所
29	骊英5号	沈骊英	29	红老麦	中国农业科学院作物科学研究所
30	苏麦3号	江苏里下河地区农业科学研究所	30	老齐麦	中国农业科学院作物科学研究所
31	扬麦158	江苏里下河地区农业科学研究所	31	白麦子	中国农业科学院作物科学研究所
32	复壮30	北京市农林科学院作物研究所	32	红皮冬麦	中国农业科学院作物科学研究所
33	鄂麦6号	湖北省农业科学院粮食作物研究所	33	酱麦	中国农业科学院作物科学研究所
34	兴义4号	兴安盟农业科学研究所	34	红麦	中国农业科学院作物科学研究所
35	北京8号	北京市农林科学院作物研究所	35	紫皮	中国农业科学院作物科学研究所
			36	洋麦	中国农业科学院作物科学研究所

1.2 试验方法

1.2.1 激素含量测定 激素测定仪器包括安捷伦高效液相色谱仪(Agilent Technologies 1290 Infinity II)、可变波长检测器(Agilent 1260)、紫外分光光度计(Cary 100)、低温冷冻离心机(MIKRO220R)、智能光照培养箱(浙江托普仪器有限公司GTOP-1000B)。

激素测定标准品赤霉素(GA3)、生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、玉米素(ZT)均购自Sigma公司。有机溶剂甲醇、80%甲醇、45%甲醇、乙腈均为色谱级,均由天津市科密欧化学试剂有限公司生产。实验用水为超纯水。所有试剂在使用前均经0.45 μm微孔滤膜过滤。样品处理参照CHEN等^[19]和CAI等^[20]的方法并予以改进和优化。每份材料设置3个重复,每个重复选取500粒种子,在20℃人工培养箱中培养。在试验开始后分别于6、12、24、48、72 h取样并加液氮研磨成粉,称取4 g粉末并加入10 mL预冷的80%甲醇,浸提18 h(4℃)。6 000 r/min离心10 min(4℃),抽取上清液,残渣加入80%甲醇(8 mL)继续浸提18 h,离心后合并上清液。将上清液过已经用4 mL乙腈

和超纯水先后预活化和中和C18小柱,取1 mL超纯水冲洗C18小柱,2 mL 45%甲醇洗脱。取1 mL洗脱液过0.45 μm滤膜后上机检测。

采用外标法测定激素含量。反相色谱柱(Agilent C18 ZORBAX, 150 mm×4.6 mm, 5 μm, Agilent公司),柱温35℃,检测器波长254 nm。流动相A为甲醇,B为0.075%乙酸水溶液,进样量为20 μL,流速为0.5 mL/min。激素生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA3)、玉米素(ZT)的标准曲线与付丽娜等^[18]一致。

1.2.2 种子活力分析 标准种子发芽试验参照张自阳等^[21]的方法并予以优化和改进。每份材料设置3次重复,每个重复选取100粒种子,人工气候箱培养(20℃),分别在第4天和第7天统计发芽势和发芽率,发芽结束后统计正常幼苗鲜质量、幼苗长度、幼苗主根长,计算发芽指数、发芽率、发芽势、活力指数。

1.2.3 qRT-PCR分析 选取地方品种(半截芒、白秃子头、红和尚头)和育成品种(济南2号、郑州6号、小偃6号)发芽12 h和48 h的种子提取总RNA,反转录成cDNA,并检测目标基因表达量。qRT-PCR

试剂为 SYBRgreen, 仪器型号为 ABI ViiA7, 引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成。扩增程序为: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 10 s, 60 °C 复性 1 min, 40 个循环。以 *Actin* 为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算表达量。

1.3 数据分析

统计分析采用 SPSS 30.0 软件, 数据处理采用 Excel 2016, 制图使用 Origin 2018 软件。

2 结果与分析

2.1 育成品种和地方品种种子活力相关指标分析

对参试的 35 份育成品种和 36 份地方品种的

活力指数进行分析, 结果表明, 育成品种和地方品种发芽指数、活力指数、幼苗长度、幼苗主根长、幼苗鲜质量符合正态分布, 而发芽率、发芽势符合偏分布(图 1-A、B)。育成品种和地方品种发芽率均高于 97%(图 1-A), 发芽势均高于 87%(图 1-B)。地方品种和育成品种的发芽指数分别分布在 47~50 和 45~49(图 1-C), 幼苗长度分别分布在 10~14 cm 和 9~12 cm(图 1-D), 活力指数分别为 2.5~3.5 和 2.5~4.0(图 1-E), 幼苗鲜质量分别为 5~7 g 和 5~9 g(图 1-F), 幼苗主根长度分别为 5~13 cm 和 5~11 cm(图 1-G)。

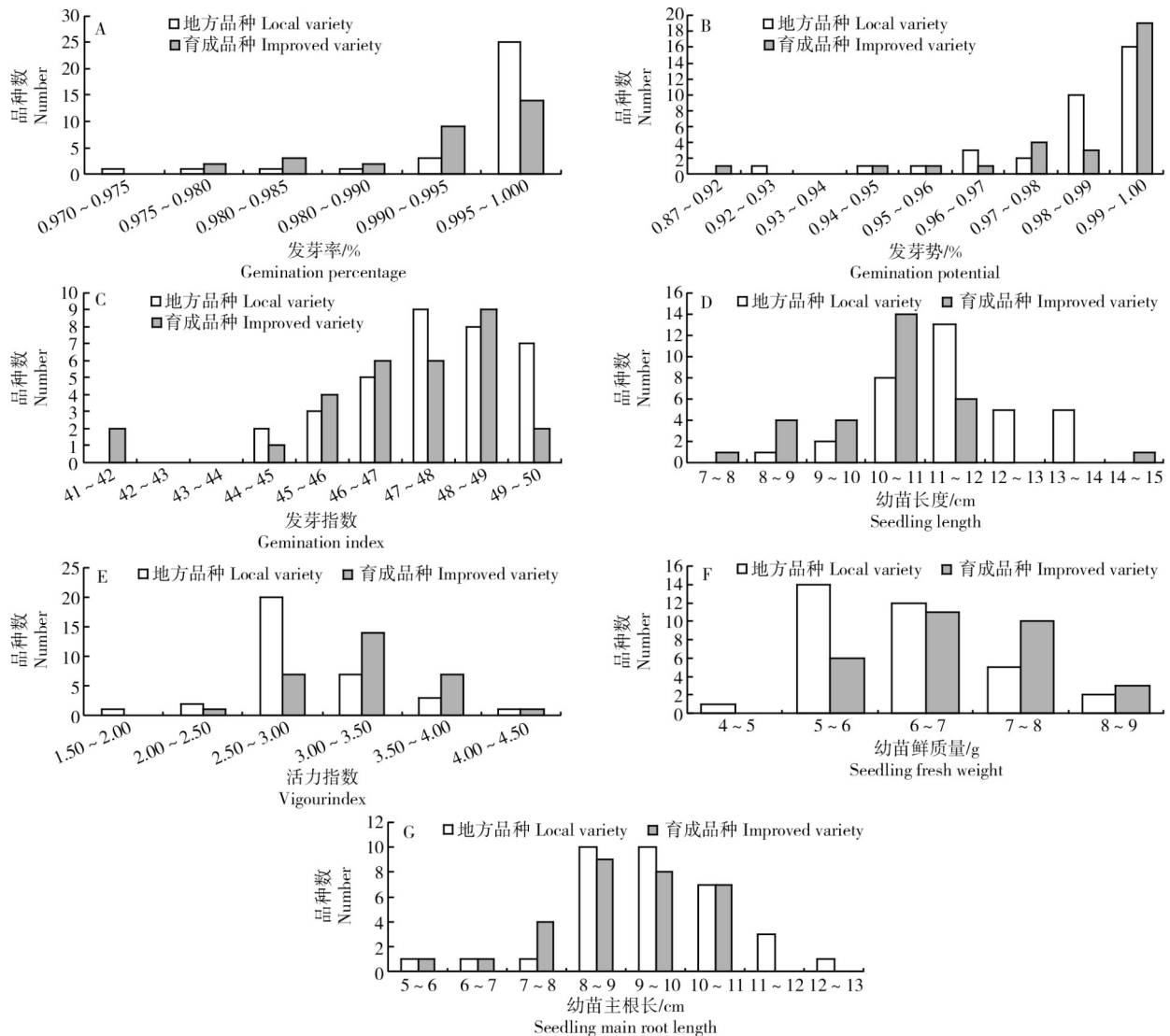


图 1 育成品种和地方品种种子活力分析

Fig.1 Analysis of seed vigor of improved varieties and local varieties

2.2 育成品种和地方品种种子活力比较

从表 2 可以看出, 地方品种发芽指数、发芽率、

幼苗长度、幼苗主根长度高于育成品种, 而幼苗鲜质量和活力指数低于育成品种, 统计分析表明, 地

方品种和育成品种的幼苗长度、幼苗鲜质量、种子活力具有显著性差异($P<0.05$),而发芽指数、发芽率、发芽势和幼苗主根长度差异不显著。从种子活力相关指数变化范围来看,地方品种的活力

指数、幼苗主根长度、幼苗鲜质量变化范围大于育成品种,而发芽指数、发芽势、幼苗长度的变化范围小于育成品种。

表2 育成品种和地方品种种子活力比较

Tab.2 The seed vigor comparison of improved varieties and local varieties

项目 Item	发芽指数 Germination index		发芽率/% Germination percentage		发芽势/% Germination		幼苗长度/cm Seedling length		幼苗鲜质量/g Seedling fresh weight		幼苗主根长度/cm Main root length		活力指数 Vigor index	
	育成	地方	育成	地方	育成	地方	育成	地方	育成	地方	育成	地方	育成	地方
品种数 Number	30	34	30	34	30	34	30	34	30	34	30	34	30	34
平均值± 标准误 Mean±SE	46.95± 0.35a	47.63± 0.25a	0.992± 0.001a	0.995± 0.001a	0.983± 0.004a	0.982± 0.003a	10.44± 0.26aA	11.46± 0.20bB	6.88± 0.15aA	6.28± 0.15bB	8.93± 0.22a	9.37± 0.22a	3.23± 0.07a	2.99± 0.07b
指数变 化范围 Range of seed vigor associated indexes	41.51~ 49.19	44.46~ 49.58	0.97~ 1.00	0.97~ 1.00	0.88~ 1.00	0.92~ 1.00	7.46~ 15.29	8.94~ 13.98	5.69~ 8.88	4.28~ 8.79	5.85~ 10.72	5.46~ 12.08	2.45~ 4.03	1.98~ 4.29

注:不同小写字母表示不同材料间差异显著性 $P<0.05$;不同大写字母表示不同材料间差异显著性 $P<0.01$ 。

Note: Different lowercase letters indicated significance between different materials with $P<0.05$; capital letters indicated significance between different materials with $P<0.01$.

2.3 不同发芽时期内源激素含量分析

育成品种和地方品种种子发芽6~72 h内,赤霉素和生长素含量呈上升趋势(图2)。5个时间段

内,育成品种种子的赤霉素含量均高于地方品种,育成品种种子在6、12、48、72 h的赤霉素含量显著高于地方品种的的赤霉素含量($P<0.05$)(表3)。

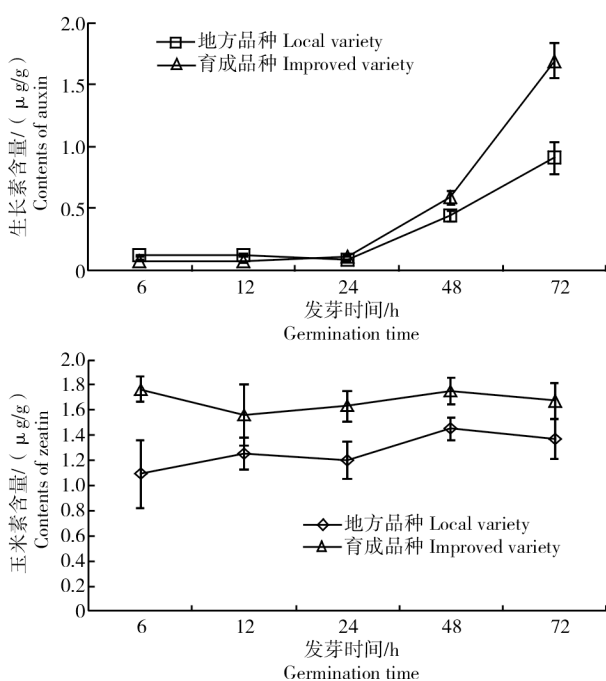
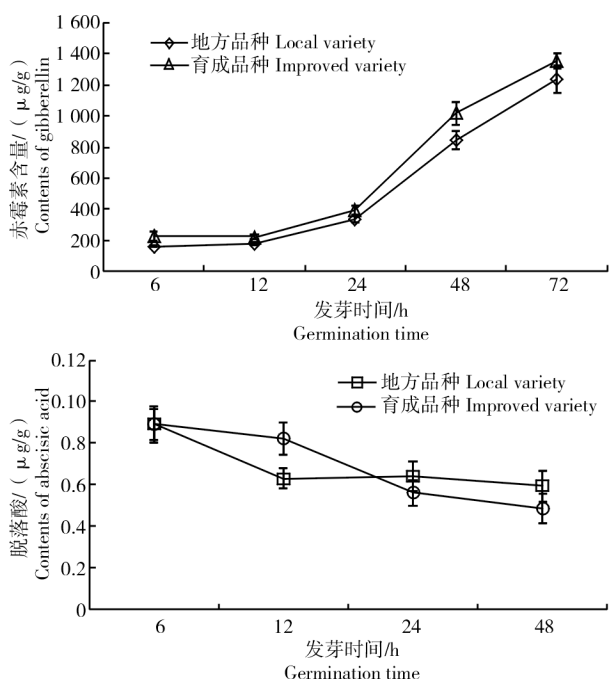


图2 育成品种和地方品种内源激素含量变化

Fig.2 Change of contents of endogenous hormone in improved varieties and local varieties

表 3 育成品种和地方品种种子内源激素含量差异性分析

Tab.3 Analysis of the endogenous hormone content differences of improved varieties and local varieties

时间/ h Time	品种类别 Category	生长素 Auxin			赤霉素 Gibberellin			脱落酸 Abscisic acid			玉米素 Zeatin		
		品种数 Num- ber	含量/ ($\mu\text{g/g}$) Content	<i>F</i>	品种数 Num- ber	含量/ ($\mu\text{g/g}$) Content	<i>F</i>	品种数 Num- ber	含量/ ($\mu\text{g/g}$) Content	<i>F</i>	品种数 Num- ber	含量/ ($\mu\text{g/g}$) Content	<i>F</i>
6	育成品种	23	0.07± 0.01	5.067**	27	229.25± 27.41	5.221*	27	0.089± 0.007	0.662	29	1.76± 0.27	1.328*
	地方品种	28	0.11± 0.11		29	162.54± 7.29		29	0.089± 0.008		31	1.09± 0.10	
12	育成品种	27	0.07± 0.01	0.235***	27	221.40± 15.52	3.715*	27	0.082± 0.007	3.539*	27	1.56± 0.12	0.500
	地方品种	28	0.12± 0.01		32	175.73± 11.22		31	0.062± 0.005		33	1.25± 0.25	
24	育成品种	26	0.11± 0.01	0.490*	28	392.80± 33.49	0.460	24	0.055± 0.006	0.187*	29	1.63± 0.14	0.003*
	地方品种	32	0.08± 0.01		32	331.99± 18.1		22	0.075± 0.007		31	1.19± 0.12	
48	育成品种	28	0.58± 0.05	1.837*	32	1 019.64± 74.08	2.001*	9	0.048± 0.007	0.012	28	1.75± 0.09	1.578*
	地方品种	28	0.45± 0.03		26	846.37± 58.64		9	0.059± 0.007		31	1.45± 0.11	
72	育成品种	30	1.69± 0.14	0.067***	34	1 355.18± 50.21	3.036*				21	1.67± 0.15	0.260
	地方品种	31	0.91± 0.13		26	1 236.45± 90.76					23	1.37± 0.14	

注:*,**,***分别表示不同材料间在0.05,0.01,0.001水平上差异显著。

Note: *, **, *** indicated significant differences between different materials at the 0.05, 0.01, and 0.001 levels, respectively.

生长素含量在6~12 h内变化平稳,育成品种的生长素含量显著低于地方品种($P<0.05$),24 h后含量迅速增加且育成品种的生长素含量显著高于地方品种($P<0.05$)(表3)。5个时间段内,脱落酸含量呈下降趋势,其中,地方品种的脱落酸含量在6~24 h内降低速率高于育成品种,24 h后育成品种的脱落酸含量的降低速率高于地方品种(图2);育成品种种子在12 h的脱落酸含量显著高于地方品种($P<0.05$),而在24 h时其脱落酸含量显著低于地方品种($P<0.05$)(表3)。5个时间段内,地方品种玉米素含量低于育成品种且变化幅度均较小(图2);其中,地方品种种子在6、24、48 h玉米素含量显著低于育成品种玉米素含量($P<0.05$)(表3)。

2.4 种子内源激素与种子活力的相关性

发芽6~72 h内,不同时期内源激素与种子活力的相关性分析表明(表4),地方品种和育成品种发芽不同时期与活力指标间相关性一致性较高,仅个别时期不同。发芽24 h时,地方品种和育成品种种子赤霉素含量均与鲜质量、活力指数呈显

著正相关关系($P<0.05$),与发芽率、发芽势均呈极显著正相关关系($P<0.01$)。发芽后24 h,地方品种和育成品种种子的生长素含量与发芽率呈极显著相关关系($P<0.01$)。48 h时,地方品种生长素含量与发芽指数呈显著相关关系($P<0.05$),与鲜质量、活力指数均呈极显著相关关系($P<0.01$);育成品种生长素含量与发芽率、发芽指数、活力指数均呈显著相关关系($P<0.05$)。发芽后72 h,地方品种中生长素含量与发芽指数呈显著相关关系($P<0.05$),育成品种生长素含量与发芽率、发芽指数均呈显著相关关系。发芽后24 h,育成品种的玉米素含量与发芽率呈显著正相关关系($P<0.05$);48 h时,育成品种的玉米素含量与幼苗鲜质量和活力指数均呈显著正相关关系($P<0.05$)。育成品种种子发芽12 h时,脱落酸含量与根长、发芽率均呈显著负相关关系($P<0.05$);24 h时,脱落酸含量与幼苗鲜质量和活力指数均呈显著负相关关系($P<0.05$);而在地方品种中发芽12 h时,脱落酸含量与种子活力指数呈显著负相关关系($P<0.05$)。

表4 种子发芽不同时期内源激素与种子活力相关性分析

Tab.4 Correlation analysis between endogenous hormones and seed vigor at different germination stages

激素 Hormone	品种类型 Category	时间 Time	幼苗主根长 Root length	幼苗长度 Seeding length	幼苗鲜质量 Seedling fresh weight	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination potential	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
赤霉素 Gibberellin	地方	6	0.230	0.149	0.003	0.307	0.207	0.198	0.076
		12	0.289	0.180	0.010	0.118	0.095	0.180	0.023
		24	0.367	0.033	0.334*	0.400**	0.150**	0.315*	0.153*
		48	0.036	0.222	0.052	0.221	0.105	0.067	0.013
		72	0.319	0.045	0.052	0.016	0.048	0.053	0.089
	育成	6	0.105	0.386*	0.138	0.004	0.037	0.124	0.105
		12	0.155	0.338	0.195	0.175	0.151	0.011	0.183
		24	0.038	0.211	0.219*	0.411**	0.312**	0.364*	0.231*
		48	0.010	0.205	0.250	0.093	0.063	0.017	0.229
		72	0.427*	0.092	0.012	0.265	0.006	0.039	0.002
生长素 Auxin	地方	6	0.311	0.134	0.198	0.111	0.336	0.321	0.263
		12	0.108	0.166	0.328	0.179	0.128	0.062	0.318
		24	0.128	0.001	0.474	0.412**	0.092	0.365*	0.186
		48	0.065	0.161	0.433**	0.185	0.044	0.120*	0.503**
		72	0.261	0.103	0.150	0.157	0.141	0.231*	0.146
	育成	6	0.276	0.105	0.147	0.176	0.014	0.133	0.183
		12	0.087	0.045	0.076	0.172	0.209	0.186	0.106
		24	0.428*	0.128	0.139	0.390**	0.037	0.179*	0.071
		48	0.192	0.066	0.072	0.085*	0.085	0.258*	0.386*
		72	0.338	0.192	0.138	0.365*	0.201	0.236*	0.193
玉米素 Zeatin	地方	6	0.152	0.033	0.047	0.233	0.125	0.159	0.013
		12	0.163	0.032	0.005	0.219	0.089	0.105	0.029
		24	0.206	0.128	0.043	0.138	0.042	0.048	0.036
		48	0.165	0.000	0.031	0.121	0.069	0.052	0.041
		72	0.464*	0.149	0.012	0.036	0.018	0.111	0.043
	育成	6	0.120	0.326	0.397*	0.077	0.193	0.017	0.363
		12	0.022	0.123	0.008	0.099	0.141	0.071	0.022
		24	0.136	0.345	0.015	0.518**	0.097	0.272	0.069
		48	0.178	0.257	0.482**	0.015	0.074	0.083	0.414*
		72	0.415	0.171	0.100	0.101	0.053	0.113	0.117
脱落酸 Abscisic acid	地方	6	-0.090	0.007	-0.110	0.009	0.181	0.235	-0.047
		12	0.039	0.268	0.327	-0.104	-0.004	0.105	-0.363*
		24	-0.021	0.203	0.124	0.042	0.122	0.084	0.142
	育成	6	-0.279	0.352	-0.203	-0.219	0.136	0.136	-0.138
		12	-0.485*	0.115	0.236	-0.466**	-0.055	-0.211	0.143
		24	0.097	0.100	-0.488*	0.028	0.069	0.322	-0.526**

注: *和**分别表示在0.05和0.01水平上显著相关。

Note: * and ** indicated that there was significant correlation at the 0.05 level and extremely significant correlation at the 0.01 level, respectively.

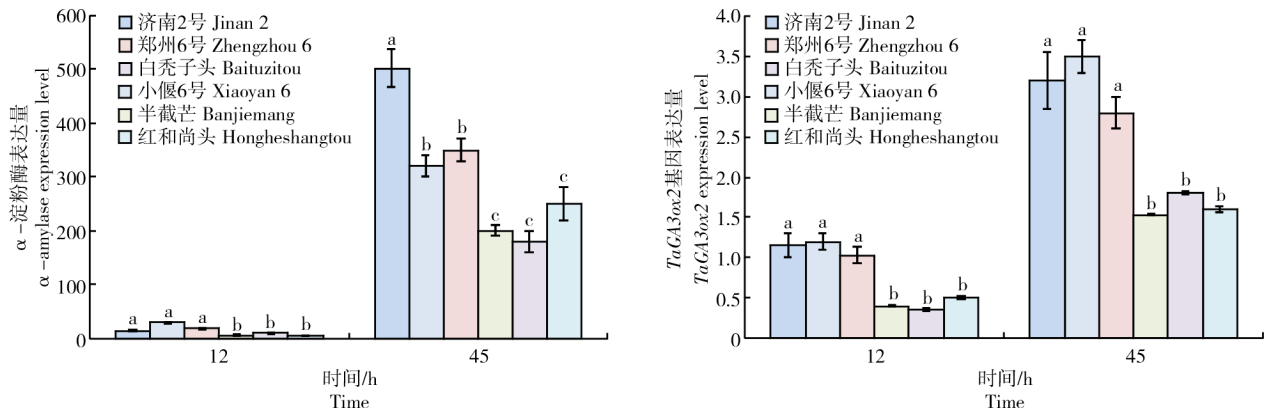
2.5 种子活力相关基因表达分析

赤霉素和 α -淀粉酶在种子萌发过程中发挥重要作用,为了解地方品种和育成品种种子萌发过程中 α -淀粉酶和赤霉素变化的遗传基础,本研究

分别选择3个育成品种和3个地方品种,分析了种子发芽12 h和48 h时 α -淀粉酶基因和赤霉素合成相关基因(*TaGA3ox2*)的表达模式(图3)。结果表明发芽12 h和48 h的种子中,育成品种 α -淀粉酶

基因和 *TaGA3ox2* 的表达量均显著高于地方品种 ($P < 0.05$)。不同的品种间表达量有差异,如发芽

48 h, 育成品种济南 2 号 α -淀粉酶基因表达量显著高于小偃 6 号和郑州 6 号 ($P < 0.05$)。



不同小写字母表示不同品种间差异显著性 $P < 0.05$

Different lowercase letters indicated significance among different varieties with $P < 0.05$.

图3 种子活力相关基因表达量分析

Fig.3 Analysis of expression levels of gene associated with seed vigor

3 结论与讨论

种子是农业生产的基础,高质量种子为国家粮食安全提供了基础保障。种子活力是一个综合性状,其形成过程受自然环境、发育快慢、成熟度等因素影响^[22]。已有研究表明,激素在种子活力形成过程中发挥关键作用,且调控机制在不同的植物中高度保守^[23]。ABA有“休眠素”之称,其可以促进种子休眠,抑制种子萌发和幼苗生长;而赤霉素 GA_3 通过提高种子水解酶的活性而解除休眠,并可以对细胞膜进行修复,提高种子发芽率和发芽势,进而提高种子活力,IAA通过参与胚根分化的精细调控进而影响种子萌发,CTK和IAA共同决定根顶端分生组织的形成^[24-27]。本研究中,发芽24 h时,种子赤霉素含量与幼苗鲜质量、活力指数呈显著正相关关系,与发芽率、发芽势呈极显著正相关关系,种子的生长素含量与发芽率呈极显著正相关关系。48 h时,地方品种生长素含量与发芽指数呈显著正相关关系,与鲜质量、活力指数呈极显著正相关关系,育成品种生长素含量与发芽率、发芽指数、活力指数呈显著正相关关系,表明赤霉素和生长素对种子活力的提高具有正向作用。而发芽12 h时,种子脱落酸含量与幼苗主根长、发芽率呈显著负相关关系,发芽24 h种子脱落酸含量与幼苗鲜质量和活力指数均呈显著负相关关系(表4),表明脱落酸负向调控种子活力,这与前人报道

一致,但具体的调控机制还需要深入的研究。

在种子全生育过程中,内源激素含量始终处于动态变化中,不同时期的内源激素含量对种子活力形成的影响不同。付丽娜等^[18]对杂交小麦种子发芽不同时期内源激素含量的变化进行分析,结果表明,发芽24 h时赤霉素含量和48~72 h生长素含量均与活力指数、发芽指数、发芽势呈极显著相关关系,但6~12 h的赤霉素含量与种子活力相关性不显著,没有检测到6~24 h的生长素含量。本研究中,种子发芽6~72 h内,内源激素含量变化表明12~24 h GA_3 含量和24 h时 IAA 含量迅速增加,且均与活力指数、发芽指数、幼苗鲜质量、根长等活力指标呈显著相关关系,这与杂交小麦研究结果具有一定的一致性^[18]。同时,本研究结果也表明,发芽不同时期内源激素对种子活力的影响程度不同,而12~24 h的赤霉素、生长素和脱落酸含量可能在种子萌发和幼苗发育过程中发挥至关重要的作用。

在小麦自然驯化和人工选择的过程中,地方品种含有较多的优异基因,受人工选择的压力较小,性状多样性高,但广适性较差,而育成品种由于经历了较强的人工选择,性状多样性显著降低,而环境适应性提高^[28-29],小麦遗传多样性的研究为此提供了充足的证据^[30-31]。RAMSHINI等^[32]研究了地方品种和现代育成品种在胁迫下种子萌发相关性状的变化,结果表明,种子活力相关性状是人

工选择的重点,老品种根部性状多样性高于现代育成品种,而且基因多样性研究结果与表型结果一致。本研究中,地方品种活力指数、幼苗主根长度、幼苗鲜质量变化范围大于育成品种,表明活力指数、幼苗主根长、幼苗鲜质量多样性高于育成品种,此结果与RAMSHINI等^[32]研究结果一致。这些研究结果表明,从地方品种到育成品种的驯化,缩小了种子活力的变异范围,提高了育成品种的种子活力,而发芽指数,发芽势、幼苗长度变化范围增加,增强了其环境适应性,扩大了品种适应范围。

种子萌发过程中,物质和能量的供给主要依赖淀粉分解, α -淀粉酶在淀粉分解过程中起主导作用。 α -淀粉酶受生长素和赤霉素共同调控^[33-34]。*TaGA3ox2*是小麦赤霉素生物合成途径的关键基因。陈蕾太等^[35]认为种子发芽过程中, α -淀粉酶含量逐渐升高,但60 h后下降,基因表达量分析表明,发芽48 h后表达量下降。黄霞^[36]研究发现,种子萌发过程中,*TaGA3ox2*基因表达量显著升高。本研究测定的种子发芽12 h和48 h后, α -淀粉酶基因和*TaGA3ox2*基因表达量均显著升高,此结果与陈蕾太等^[35]研究结果一致。育成品种的种子活力,发芽后的赤霉素、生长素、玉米素等激素含量均高于地方品种。种子活力相关基因表达量分析表明,育成品种中 α -淀粉酶基因和*TaGA3ox2*表达量显著高于地方品种,激素测定结果与基因表达趋势一致。这些研究结果为育成品种和地方品种的种子活力研究提供了理论参考。

综上,通过对育成品种和地方品种种子活力及发芽不同时期4种内源激素含量进行研究,发现发芽后6~72 h,育成品种和地方品种种子赤霉素和生长素含量变化较大且均呈上升趋势,脱落酸和玉米素含量变化较小,其中,脱落酸含量呈下降趋势,玉米素含量在育成品种和地方品种变化幅度较小。进一步分析发现,不同激素含量与发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、幼苗长度、幼苗主根长度、幼苗鲜质量的相关性差异较大,说明发芽不同时期内源激素对种子活力的影响不同。种子活力相关基因表达量分析表明,育成品种的 α -淀粉酶基因和*TaGA3ox2*基因表达量显著高于地方品种。本研究结果对于理解种子发芽过程中激素的调控作用具有一定的帮助。种子活力的形成是多个生理生化过程相互作用的结果,只有综合

运用代谢水平、激素调控、核酸修复、环境影响等多方面的技术进行系统的研究,才可能揭开种子活力的本质。

参考文献:

- [1] CHÂTELAIN E, SATOUR P, LAUGIER E, et al. Evidence for participation of the methionine sulfoxide reductase repair system in plant seed longevity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(9):3633-3638.
- [2] SHI Y Y, GAO L L, WU Z C, et al. Genome-wide association study of salt tolerance at the seed germination stage in rice[J]. BMC Plant Biology, 2017, 17(1):92.
- [3] RAJJOUL L, DUVAL M, GALLARDO K, et al. Seed germination and vigor[J]. Annual Review of Plant Biology, 2012, 63: 507-533.
- [4] AHMAD F, KAMAL A, SINGH A, et al. Seed priming with gibberellic acid induces high salinity tolerance in *Pisum sativum* through antioxidants, secondary metabolites and up-regulation of antiporter genes[J]. Plant Biology, 2021, 23(Suppl 1):113-121.
- [5] HEDDEN P, THOMAS S G. Gibberellin biosynthesis and its regulation[J]. Biochemical Journal, 2012, 444(1):11-25.
- [6] KAYA G. The efficiency of prechilling and gibberellic acid (GA3) for breaking thermodormancy in lettuce[J]. Journal of Seed Science, 2022, 44:e202244032.
- [7] VANSTRAELEN M, BENKOVÁ E. Hormonal interactions in the regulation of plant development[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2012, 28:463-487.
- [8] FAHAD S, HUSSAIN S, MATLOOB A, et al. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review[J]. Plant Growth Regulation, 2015, 75(2):391-404.
- [9] GÓMEZ-CADENAS A, ZENTELLA R, WALKER-SIMMONS M K, et al. Gibberellin/abscisic acid antagonism in barley aleurone cells: site of action of the protein kinase PKABA1 in relation to gibberellin signaling molecules[J]. The Plant Cell, 2001, 13(3):667-679.
- [10] NAMBARA E, OKAMOTO M, TATEMATSU K, et al. Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination[J]. Seed Science Research, 2010, 20(2):55-67.
- [11] YAMAGUCHI S. Gibberellin metabolism and its regulation [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59:225-251.
- [12] MORRIS K, LINKIES A, MÜLLER K, et al. Regulation of seed germination in the close *Arabidopsis* relative *Lepidium sativum*: a global tissue-specific transcript analysis[J]. Plant Physiology, 2011, 155(4):1851-1870.
- [13] LINKIES A, MÜLLER K, MORRIS K, et al. Ethylene interacts with abscisic acid to regulate endosperm rupture during germination: a comparative approach using *Lepidium sativum* and *Arabidopsis thaliana*[J]. The Plant Cell, 2009, 21(12):3803-3822.
- [14] SUBBIAH V, REDDY K J. Interactions between ethylene, abscisic acid and cytokinin during germination and seedling establishment in *Arabidopsis*[J]. Journal of Biosciences, 2010, 35(3):451-458.

- [15] 李娜,王丹琳. 6-BA 拮抗脱落酸缓解渗透胁迫对种子萌发的抑制[J]. 植物生理学报, 2014, 4(2): 389-394.
LI N, WANG D L. Alleviation of 6-BA antagonizing ABA on the inhibition of seed germination by osmotic stress[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 4(2): 389-394.
- [16] 张红生,程金平,王健康,等. 水稻种子活力相关基因鉴定及分子调控机制[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(2): 191-200.
ZHANG H S, CHENG J P, WANG J K, et al. Advances in identification of genes related to seed vigor and molecular mechanism in regulation in rice[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2019, 42(2): 191-200.
- [17] CHIWOCHA S, VON ADERKAS P. Endogenous levels of free and conjugated forms of auxin, cytokinins and abscisic acid during seed development in Douglas fir[J]. Plant Growth Regulation, 2002, 36(3): 191-200.
- [18] 付丽娜,王玉泉,张自阳,等. 杂交小麦种子发芽不同时期内源激素的变化与种子活力的关系[J]. 种子, 2020, 39(11): 26-30.
FU L N, WANG Y Q, ZHANG Z Y, et al. Relationship between endogenous hormone changes and seed vigor in different stages of seed germination in hybrid wheat[J]. Seed, 2020, 39(11): 26-30.
- [19] CHEN Y L, YANG L, ZHANG W F, et al. Simultaneous analysis of two phytohormones in chili and wheat using HPLC using novel calixarene as SPE sorbent[J]. Journal of Chromatographic Science, 2016, 55(3): 358-365.
- [20] CAI W J, YE T T, WANG Q, et al. A rapid approach to investigate spatiotemporal distribution of phytohormones in rice[J]. Plant Methods, 2016, 12: 47.
- [21] 张自阳,朱俊华,程媛,等. 不同成熟度小麦种子活力及其与生理性状的相关性研究[J]. 河南农业科学, 2014, 43(12): 6-9.
ZHANG Z Y, ZHU J H, CHENG Y, et al. Seed vigor and its correlation with physiological characteristics of different maturity wheat seeds[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2014, 43(12): 6-9.
- [22] 张安鹏,钱前,高振宇. 水稻种子活力的研究进展[J]. 中国水稻科学, 2018, 32(3): 296-303.
ZHANG A P, QIAN Q, GAO Z Y. Research advances on rice seed vigor[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2018, 32(3): 296-303.
- [23] 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.
SONG S Q, LIU J, YANG H, et al. Research progress in seed development, dormancy and germination regulated by cytokinin[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2021, 56(2): 218-231.
- [24] 罗珊,康玉凡,夏祖灵. 种子萌发及幼苗生长的调节效应研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(2): 28-32.
LUO S, KANG Y F, XIA Z L. Study advances of regulating effect for seed germination and sprouts growing[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(2): 28-32.
- [25] XING Y Z, ZHANG Q F. Genetic and molecular bases of rice yield[J]. Annual Review of Plant Biology, 2010, 61: 421-442.
- [26] WOLTERS H, JÜRGENS G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development[J]. Nature Reviews Genetics, 2009, 10(5): 305-317.
- [27] SHU K, LIU X D, XIE Q, et al. Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. Mol Plant. 2016, 9(1): 34-45.
- [28] REIF J C, ZHANG P, DREISIGACKER S, et al. Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 110(5): 859-864.
- [29] 代资举,李文旭,杨会民,等. 480 份小麦种质条锈病抗性鉴定与评价[J]. 河南农业科学, 2024, 53(9): 1-15.
HOU J N, QIN M M, WU Z Q, et al. Identification and evaluation of resistance to stripe rust of 480 wheat germplasm[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2024, 53(9): 1-15.
- [30] EIVAZI A R, NAGHAVI M R, HAJHEIDARI M, et al. Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity using quality traits, amplified fragment length polymorphisms, simple sequence repeats and proteome analysis[J]. Annals of Applied Biology, 2008, 152(1): 81-91.
- [31] KHODADADI M, FOTOKIAN M H, MIRANSARI M. Genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes based on cluster and principal component analyses for breeding strategies[J]. Australian Journal of Crop Science, 2014, 5: 17-24.
- [32] RAMSHINI H, MIRZAZADEH T, MOGHADDAM M E, et al. Comparison of old and new wheat cultivars in Iran by measuring germination related traits, osmotic tolerance and ISSR diversity[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2016, 22(3): 391-398.
- [33] ELLOUZI H, BEN SLIMENE DEBEZ I, AMRAOUI S, et al. Effect of seed priming with auxin on ROS detoxification and carbohydrate metabolism and their relationship with germination and early seedling establishment in salt stressed maize[J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1): 704.
- [34] GUO Z T, ZHAO J J, WANG M P, et al. Sulfur dioxide promotes seed germination by modulating reactive oxygen species production in maize[J]. Plant Science, 2021, 312: 111027.
- [35] 陈蕾太,孙爱清,杨敏,等. 逆境条件下小麦种子活力与种子萌发相关酶活性及其基因表达的关系[J]. 应用生态学报, 2017, 28(2): 609-619.
CHEN L T, SUN A Q, YANG M, et al. Relationships of wheat seed vigor with enzyme activities and gene expression related to seed germination under stress conditions[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(2): 609-619.
- [36] 黄霞. *Bacillus subtilis* QM3 促进小麦种子萌发与赤霉素的相关性研究[D]. 临汾:山西师范大学, 2022.
HUANG X. Study on the correlation between *Bacillus subtilis* QM3 promoting wheat seed germination and gibberellin[D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2022.