

CaCl₂ 引发对盐胁迫下高粱种子萌发期 GA 及 ABA 代谢的影响

邢艺凡¹, 陈小飞², 韩雷³, 史晓龙¹, 刘春娟¹, 刘畅¹, 周宇飞¹

(1. 沈阳农业大学农学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 安徽省农业科学院作物研究所, 安徽 合肥 230031;

3. 沈阳农业大学附属实验场, 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 以高粱品种‘辽杂15’为试验材料, 通过 CaCl₂ 引发和相关激素抑制剂的应用, 分析了盐胁迫下高粱种子的萌发特性、GA 和 ABA 含量以及相关基因的表达变化。结果表明, 盐胁迫显著抑制了高粱种子的萌发, 种子平均发芽时间、50%发芽时间分别显著增加 76.41% 和 92.75%; 高粱萌发种子中 GA₃ 的含量显著降低 63.01%, ABA 的含量显著增加 108.71%。CaCl₂ 引发显著促进了盐胁迫下高粱种子的萌发, 与盐胁迫相比, CaCl₂ 引发上调了 GA 合成酶基因 *GA20ox1B*、*GA20ox1D* 和 *GA20ox2* 的表达水平以及 ABA 分解酶基因 *ABA8ox1*、*ABA8ox2* 和 *ABA8ox3* 的表达水平, 使盐胁迫下高粱种子中 GA₃ 含量增加 117.19%, ABA 含量降低 30.40%, 使高粱种子的萌发率提高 114.94%, 芽长和根长分别显著增加 265.73% 和 190.37%。在引发剂中加入 GA 合成或 ABA 分解抑制剂后, GA₃ 含量显著降低 28.29%, ABA 含量显著增加 31.49%, 高粱种子萌发受到抑制; 使用钙抑制剂处理后, GA₃ 含量显著下降 41.25%, ABA 含量显著增加 29.45%, 进而抑制了高粱种子萌发。综上, CaCl₂ 引发可通过调控 GA 合成和 ABA 分解促进盐胁迫下高粱种子的萌发。

关键词: 高粱; 盐胁迫; 氯化钙引发; 萌发期; 赤霉素; 脱落酸

中图分类号: S514; Q945.78 **文献标志码:** A

Effects of CaCl₂ priming on GA and ABA metabolism during sorghum seed germination under salt stress

XING Yifan¹, CHEN Xiaofei², HAN Lei³, SHI Xiaolong¹,

LIU Chunjuan¹, LIU Chang¹, ZHOU Yufei¹

(1. College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866, China;

2. Crop Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031, China;

3. Affiliated Experimental Farm, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866, China)

Abstract: The sorghum variety ‘Liaoza 15’ was used as the test material. By employing CaCl₂ priming and the application of relevant hormone inhibitors, we analyzed the germination characteristics of sorghum seeds under salt stress, the content of gibberellins (GA) and abscisic acid (ABA), and the expression changes of associated genes. The results showed that salt stress significantly inhibited the germination of sorghum seeds. The average germination time and 50% germination time of sorghum seeds were significantly increased by 76.41% and 92.75%, respectively. The content of GA₃ in germinated sorghum seeds was significantly decreased by 63.01%, and the content of ABA was significantly increased by 108.71%. However, CaCl₂ priming significantly promoted the germination of sorghum seeds under salt stress. Compared to the control under salt stress, CaCl₂ priming upregulated the expression levels of GA synthesis genes *GA20ox1B*, *GA20ox1D*, and *GA20ox2*, as well as ABA catabolic genes *ABA8ox1*, *ABA8ox2*, and *ABA8ox3*. This led to a 117.19% increase in GA₃ content and a 30.40% decrease in ABA

收稿日期:2024-04-27

修回日期:2024-08-08

基金项目:财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-06-14.5-A17);辽宁省藏粮于技重大专项(2023JH1/10200001-03-01)

作者简介:邢艺凡(1996-),女,河北易县人,博士研究生,研究方向为作物生理生态。E-mail:yfxing1996@163.com

通信作者:周宇飞(1979-),男,辽宁朝阳人,教授,主要从事作物高产栽培技术和作物生理生态研究。E-mail:zhouyufei@syau.edu.cn

content in sorghum seeds under salt stress, resulting in a 114.94% increase in germination rate, and a significant increase in shoot length and root length by 265.73% and 190.37%, respectively. When GA synthesis or ABA degradation inhibitors were added to the priming agent, GA₃ content significantly decreased by 28.29%, and ABA content significantly increased by 31.49%, inhibiting the germination of sorghum seeds. After treatment with a calcium inhibitor, GA₃ content significantly decreased by 41.25%, and ABA content significantly increased by 29.45%, further inhibiting the germination of sorghum seeds. In conclusion, CaCl₂ priming promoted the germination of sorghum seeds under salt stress by regulating GA synthesis and ABA degradation.

Keywords: sorghum; salt stress; CaCl₂ priming; germination period; GA; ABA

盐胁迫作为一种重要的非生物胁迫,对作物的整个生育周期产生广泛影响^[1]。全世界约有 4.5×10⁷ hm² 的农田遭受盐分侵害,其中盐胁迫尤为严重^[2]。高粱作为世界第五大谷类作物,被称为“先锋作物”,具有较强的耐逆性,但是其在种子萌发阶段对盐胁迫十分敏感^[3]。于文波等^[4]研究指出,在盐胁迫下渗透势改变和离子毒害破坏了线粒体的膜结构,从而限制了高粱种子的萌发过程。盐胁迫可以通过抑制能量代谢来降低高粱种子萌发过程中糖代谢的能力^[5],从而抑制高粱种子的萌发以及幼苗的早期建成,并降低最终产量^[6]。

种子萌发不仅是植物生命周期的起始阶段,也是一个复杂的生物学过程,受多种环境因素和内源激素的共同调控^[7]。脱落酸(ABA)和赤霉素(GA)是影响种子萌发的 2 种关键激素,它们通过动态平衡共同调控种子从休眠到萌发的转变^[8]。种子萌发的开始也预示着 GA 的合成及 ABA 的分解^[9-10]。Okamoto 等^[11]研究指出,编码 ABA 生物合成酶基因的过表达或与 ABA 分解代谢酶相关的基因发生突变可增加种子中内源性 ABA 的含量,从而延长拟南芥种子的休眠期并抑制其萌发。GA 可促进种子萌发^[12],但盐胁迫下 GA 合成会受阻,进而抑制种子萌发^[13]。也有研究表明,盐胁迫抑制了拟南芥中参与 GA 合成的基因表达,通过下调 GA2ox7 等基因表达降低 GA 生物活性,进而降低拟南芥的生长速率^[14]。拟南芥谷氨酸受体同源物 3.5 (AtGLR 3.5) 可调节钙信号以减弱 ABA 对种子萌发的抑制作用^[15]。同时,AtGLR3.5 通过调节钙信号,影响 GA 和活性氧(ROS)的信号传导,从而调节拟南芥种子的萌发^[16]。可见,ABA 和 GA 具有拮抗作用,钙信号参与了 ABA 和 GA 对种子萌发的调控。

为提高植物对盐胁迫的耐受性,种子引发技术被广泛应用于植物生产^[17-18]。该技术在种子萌发前通过对其进行特定的化合物处理,诱导种子进入特定的生理状态,从而提高种子萌发质量和幼苗建成^[19]。水引发是一种基础的种子引发方法,化学试

剂如氯化钠(NaCl)、氯化钾(KCl)、氯化钙(CaCl₂)和聚乙二醇 6000(PEG-6000)等也被用于改善种子在盐胁迫下的萌发特性,特别是 CaCl₂具有最佳的引发效果^[20]。钙离子作为植物体内第二信使,在调节植物代谢中具有重要作用。Iqbal 等^[21]研究证明,CaCl₂引发调节了盐胁迫下小麦种子内游离 ABA 含量,可有效缓解盐胁迫对植株的不利影响,这也是 CaCl₂作为最佳引发剂的一个重要原因。

有研究表明 CaCl₂引发能够改善植物对盐胁迫的响应^[4],但其在高粱种子萌发过程中对 ABA 和 GA 代谢的影响尚不明确。因此,本研究通过探究 CaCl₂引发对盐胁迫下高粱种子萌发过程中 ABA 分解和 GA 合成的影响,揭示 CaCl₂引发调控盐胁迫下高粱萌发的作用机制,以期为促进高粱在不利生产条件下的萌发和生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料高粱杂交种‘辽杂 15’(‘Liaozha 15’)由辽宁省农业科学院提供。

1.2 试验设计

试验于 2022 年在沈阳农业大学高粱生理实验室进行。挑选大小均匀的种子,用 5%次氯酸钠溶液消毒 3~5 min,冲洗后拭干其表面水分,室温(25℃)黑暗条件下置于 6 g·L⁻¹的 CaCl₂溶液中引发 12 h^[20],种液比为 1:5(质量体积比),引发后的种子拭干表面水分,室温下回干至初始含水量备用。未引发种子分别在蒸馏水(NPN)和 150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫(NPS)下培养,水引发(HPS)和 CaCl₂引发(CaPS)种子均在盐胁迫下培养,在铺有双层滤纸的培养皿中进行发芽试验,加入 10 mL 蒸馏水或 NaCl 溶液。培养皿置于完全黑暗的人工气候培养箱中,温度(25±1)℃,湿度为 70%。

多效唑(paclobutrazol, PAC)用于抑制 GA 的生物合成,烯唑醇(diniconazole, Dinc)用于抑制 ABA 的分解代谢^[22],乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸

(ethylene glycol tetraacetic acid, EGTA) 用于钙离子螯合剂^[23], 氯化镧 (LaCl₃) 用于钙离子通道抑制剂。为探索引发促进盐胁迫下种子萌发的作用和 GA 生物合成及 ABA 分解代谢之间的关系, 在引发溶液中加入多效唑或烯唑醇, 使引发液中包含 10 μmmol · L⁻¹ 多效唑或烯唑醇, 即增加 4 个处理: PAC+HPS, Dinc+HPS, PAC+CaPS, Dinc+CaPS。同样地, 为了探究钙在引发过程中的作用及其与激素之间的关系, 在引发溶液中加入 EGTA 或 LaCl₃, 使引发液中包含 100 μmmol · L⁻¹ EGTA 或 500 μmmol · L⁻¹ LaCl₃, 因此又增加 4 个处理: EGTA+HPS, LaCl₃+HPS, EGTA+CaPS, LaCl₃+CaPS。共计 12 个处理, 每个处理 3 次重复, 每个重复 50 粒高粱种子。

1.3 试验方法

在萌发过程中观察种子发芽情况, 发现在萌发 72 h 时处理间表现出明显差异, 统计种子发芽数, 计算发芽率, 并测定根长和芽长, 每个重复测定 10 株, 取平均值, 发芽以胚根长与种子长等长、胚芽长为 50% 种子长为标准^[24]。其余样品则迅速置于液氮冷冻并保存在 -80℃ 条件, 用于测定内源激素含量及基因相对表达量, 每个处理 3 次重复。

发芽率 (%) = 发芽种子数 / 供试种子数 × 100

$$\text{发芽指数} = \sum \frac{\text{第 } t \text{ 天的发芽种子数}}{t}$$

$$\text{平均发芽时间} = \sum (n \times t) / \sum n$$

式中, t 为发芽时间 (h); n 为第 t 小时胚根突破 2 mm 的种子数。

50% 发芽时间指发芽率达到 50% 时所需要的时间。

GA₃ 和 ABA 含量测定采用酶联免疫吸附法 (ELISA), 试剂盒由长春百瑞基因生物科技有限公司提供。

1.4 RNA 提取

取新鲜幼苗在液氮中用 Trnzol universal 试剂充

分研磨, 迅速研磨不超过 1 min。取样品 0.1 g 加入 1 mL 该试剂进行研磨后在室温下放置 10 min, 以完全分离核酸-蛋白复合物。样品在 4℃、12 000 r · min⁻¹ (约 13 400×g) 离心机下离心 10 min, 吸取上清液。每使用 1 mL Trnzol universal 试剂加入 0.2 mL 氯仿, 剧烈摇晃 15 s, 于 25℃ 保存 3 min。然后在 4℃、12 000 r · min⁻¹ 条件下离心 15 min。样品将分为 3 层: 粉红色有机相、中层和上层无色水相, RNA 主要在水相中, 将水相 (约 500 μL) 转移到新的离心管中, 加入等体积的异丙醇 (99.9%), 混匀后室温放置 10 min, 于 4℃、12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 去除上清液。离心前的 RNA 沉淀通常是不可见的, 离心后的 RNA 会在管侧和管底形成凝胶状沉淀。加入 1 mL 75% 乙醇 (用 RNase-free ddH₂O 制备) 洗涤沉淀。每使用 1 mL TRNzol Universal 试剂应至少使用 1 mL 75% 乙醇以洗涤沉淀。于 4℃、10 000 r · min⁻¹ 下离心, 保留沉淀物。室温晾干约 2~3 min, 根据试验需要, 加入 30~100 μL RNase-free ddH₂O 反复吹打, 混匀, 使 RNA 充分溶解。基因引物信息如表 1 所示。

1.5 数据分析

使用 SPSS 18.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), 邓肯新复极差法评估处理间的最小显著差异, 使用 Graph Pad Prism 8 作图, 使用 Origin 2021 软件进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 CaCl₂ 引发对盐胁迫下高粱种子萌发速率的影响

由图 1 可知, 盐胁迫显著抑制了高粱种子萌发, HPS 和 CaPS 明显促进盐胁迫下高粱种子萌发。在盐胁迫下, 与 NPN 处理相比, 高粱种子平均发芽时间、50% 发芽时间分别显著增加 76.41% 和 92.75% (图 1A、1C), 发芽指数显著降低了 52.32% (图 1B)。HPS 和 CaPS 处理平均发芽时间分别比 NPS

表 1 用于 qRT-PCR 的引物信息

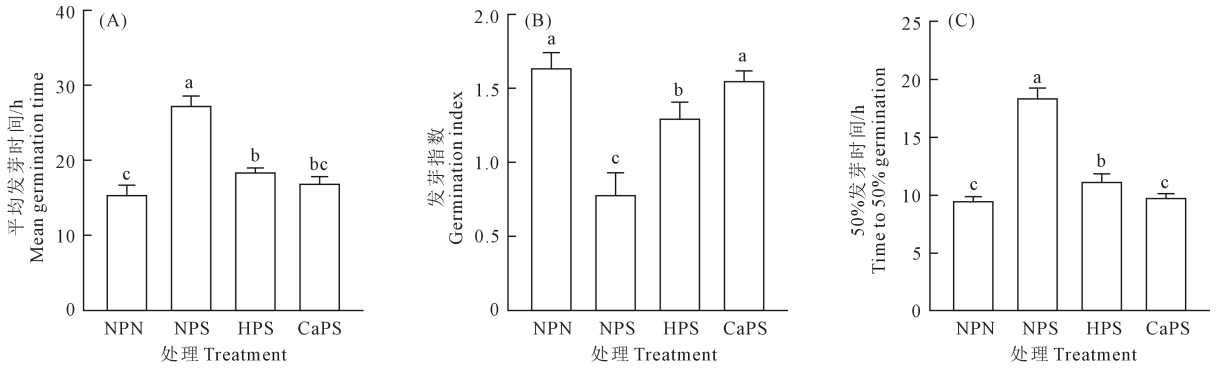
Table 1 Primer used for qRT-PCR analysis

基因名称/基因 ID Gene name/Gene ID	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
GA20ox1B/8060704	TCGCTCGCCTTCTTCTTCAAC	CGGTAATGCTTCTCGCTGAAC
GA20ox1D/8061378	TACTTCGTCGACAAGCTGGG	TTGAGCGGCATGATGGAGTC
GA20ox2/8063144	ATGCGGTGCAACTACTACCC	AAGGTGTCGCCGATGTTGAT
ABA80ox1/8073163	TGGAGGACGTGGAGTACCAA	GAGCAACCTCGAATCGGGAG
ABA80ox2/8083537	GGCTTCTCCTCGCTGTAG	TTGTTGTGATCCTGCTCCGT
ABA80ox3/8080193	GCTGATCGCGGAGACTTTCT	GCACGTACCTTGAACACC

处理显著降低 32.06%和 37.29%(图 1A),50%发芽时间分别显著降低 38.72%和 46.29%(图 1C),HPS 和 CaPS 处理的发芽指数较 NPS 处理分别显著增加 64.61%和 99.12%(图 1B)。

2.2 激素抑制剂对盐胁迫下高粱种子萌发的影响

GA 合成抑制剂 PAC 及 ABA 分解抑制剂 Dinc 对高粱种子萌发均有抑制作用(图 2A)。与 NPS 处理相比,HPS 处理的发芽率、芽长和根长分别显著升

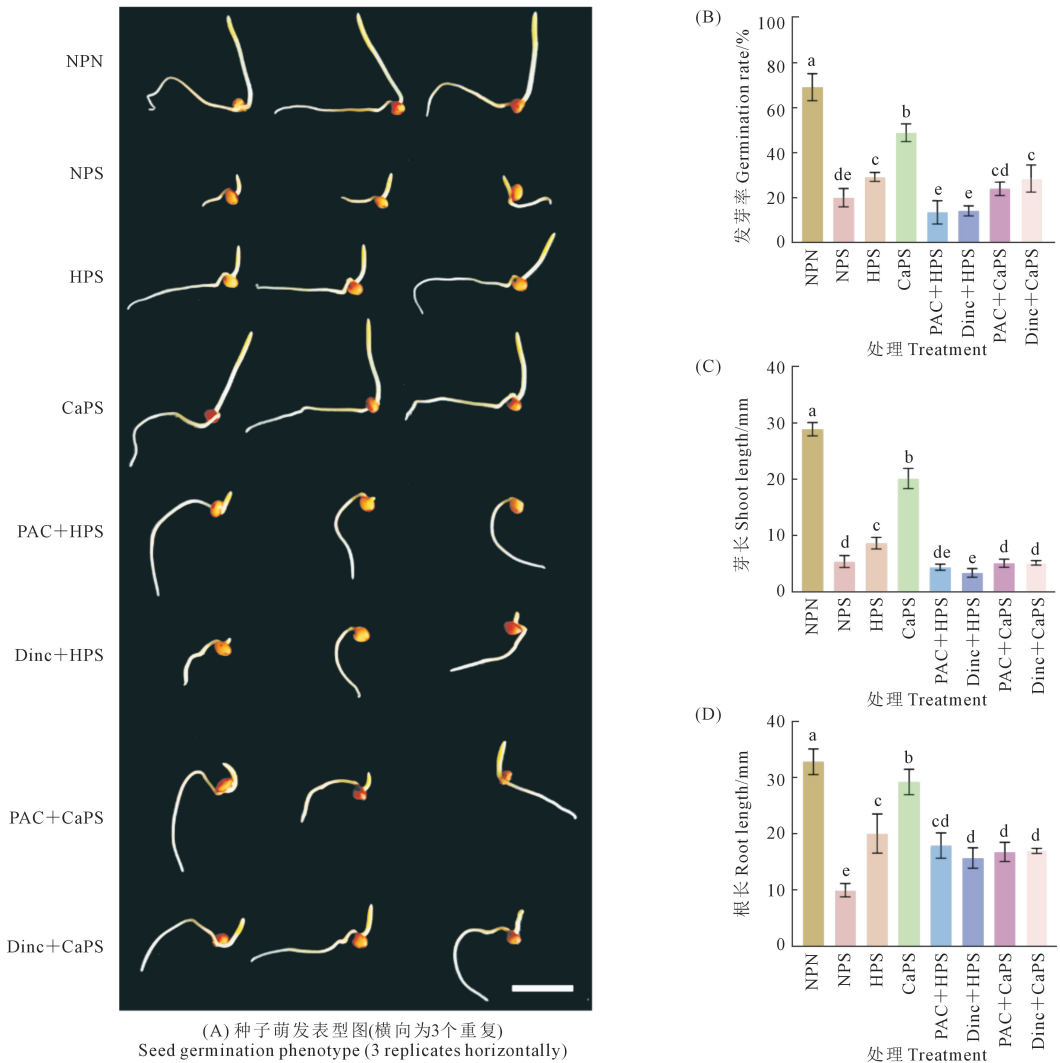


注:不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$),下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) among treatments. The same below.

图 1 种子引发对盐胁迫下高粱种子萌发速率和发芽指数的影响

Fig.1 Effects of seed priming on sorghum seed germination rate and germination index under salt stress



(A) 种子萌发表型图(横向为3个重复)
Seed germination phenotype (3 replicates horizontally)

图 2 GA 合成抑制剂及 ABA 分解抑制剂处理对盐胁迫下高粱种子萌发的影响

Fig.2 Effects of GA synthesis and ABA inhibitor on sorghum seed germination under salt stress

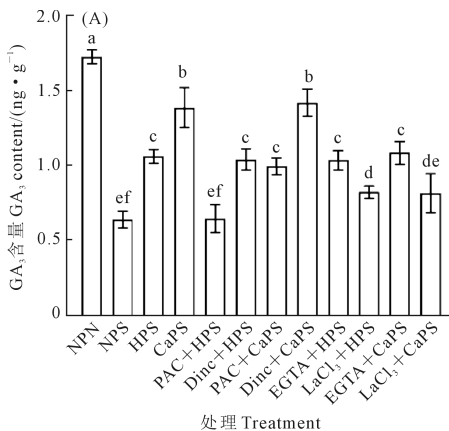
高 45.15%、37.08% 和 49.92%，CaPS 处理的发芽率、芽长和根长分别显著升高 141.94%、265.73% 和 190.37%。与 HPS 处理相比，PAC+HPS 和 Dinc+HPS 处理的发芽率分别显著降低 53.33% 和 51.11%，芽长分别显著降低 48.70% 和 59.89%；PAC+HPS 处理根长与 HPS 处理无显著差异，Dinc+HPS 处理根长较 HPS 处理显著降低 21.61%。与 CaPS 处理相比，PAC+CaPS 和 Dinc+CaPS 处理发芽率分别显著降低 50.67% 和 41.33%，芽长分别显著降低 74.16% 和 73.84%，根长分别显著降低 42.37% 和 41.74% (图 2B~2D)。

2.3 钙抑制剂对盐胁迫下高粱种子萌发的影响

钙螯合剂及钙离子通道抑制剂处理对盐胁迫下高粱种子萌发有显著抑制作用 (图 3A, 见 82 页)。与 HPS 处理相比，EGTA+HPS 处理发芽率、芽长及根长无显著差异，LaCl₃+HPS 处理发芽率、芽长及根长分别显著降低 33.90%、34.57% 和 17.53%。与 CaPS 处理相比，EGTA+CaPS 和 LaCl₃+CaPS 处理的发芽率分别显著降低 31.53% 和 18.92%，芽长分别显著降低 40.83% 和 39.49%，根长分别显著降低 24.57% 和 23.56% (图 3B~3D, 见 82 页)。

2.4 抑制剂对盐胁迫下高粱萌发种子 GA₃ 含量和 ABA 含量的影响

盐胁迫显著降低了高粱种子 GA₃ 含量 (图 4A)。与 NPS 处理相比，HPS 和 CaPS 处理的 GA₃ 含量分别显著增加 66.15% 和 117.19%。与 HPS 处理相比，PAC+HPS 和 LaCl₃+HPS 处理 GA₃ 含量分别显著降低 39.18% 和 22.57%，Dinc+HPS 和 EGTA+HPS 处理 GA₃ 含量无显著变化。与 CaPS 处理相比，Dinc+CaPS 处理对 GA₃ 含量无显著影响，PAC+CaPS、EGTA+CaPS 和 LaCl₃+CaPS 处理 GA₃ 含量分别显著降低 28.29%、21.82% 和 41.25%。



盐胁迫显著增加了萌发种子中 ABA 含量 (图 4B)。与 NPS 处理相比，HPS 和 CaPS 处理 ABA 含量分别显著降低 16.24% 和 30.40%。与 HPS 处理相比，PAC+HPS 和 EGTA+HPS 处理 ABA 含量无显著变化，Dinc+HPS 及 LaCl₃+HPS 处理 ABA 含量分别显著增加 17.83% 和 17.29%。与 CaPS 相比，PAC+CaPS 和 EGTA+CaPS 处理 ABA 含量无显著变化，Dinc+CaPS 和 LaCl₃+CaPS 处理 ABA 含量分别显著增加 31.49% 和 29.45%。

2.5 CaCl₂ 引发对盐胁迫下高粱萌发种子 GA 和 ABA 代谢基因相对表达量的影响

盐胁迫下，与 NPN 处理相比，NPS 处理的 GA 合成代谢酶基因 *GA20ox1B*、*GA20ox1D*、*GA20ox2* 及 ABA 分解代谢基因 *ABA8ox1*、*ABA8ox2*、*ABA8ox3* 均显著下调表达，相对表达量分别下调 61.49%、61.80%、88.64% 和 52.81%、68.95%、49.37%。与 NPS 处理相比，HPS 处理显著上调了 *GA20ox1B*、*GA20ox2*、*ABA8ox1* 和 *ABA8ox3* 的表达，相对表达量分别增加 32.54%、130.43%、37.74% 和 66.35%；CaPS 处理显著上调了 *GA20ox1B*、*GA20ox1D*、*GA20ox2*、*ABA8ox1*、*ABA8ox2* 和 *ABA8ox3* 的表达，相对表达量分别增加 107.08%、30.63%、514.20%、59.23%、135.57% 和 66.35% (图 5)。

2.6 盐胁迫下高粱萌发期种子 GA₃ 和 ABA 含量与 GA 合成及 ABA 分解代谢基因表达量的相关性分析

对盐胁迫下高粱种子萌发过程中的 GA₃、ABA 含量与其 GA 合成和 ABA 分解相关基因的表达量分别进行了相关性分析。由图 6 可知，GA₃ 含量与 GA 合成基因表达量呈显著正相关关系 ($P < 0.05$)，ABA 含量与 ABA 分解基因表达量呈显著负相关关系 ($P < 0.05$)。同时，GA₃ 含量和 ABA 含量间呈显著负相关关系 ($P < 0.05$)。

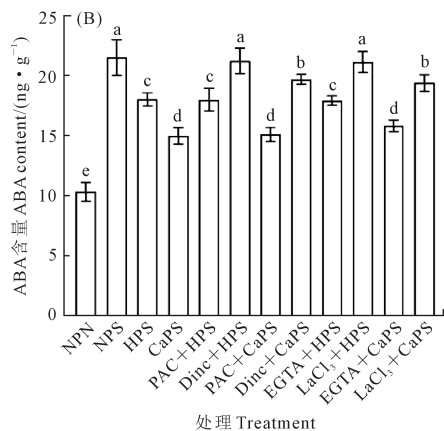


图 4 抑制剂处理对盐胁迫下高粱萌发种子 GA₃ 和 ABA 含量的影响

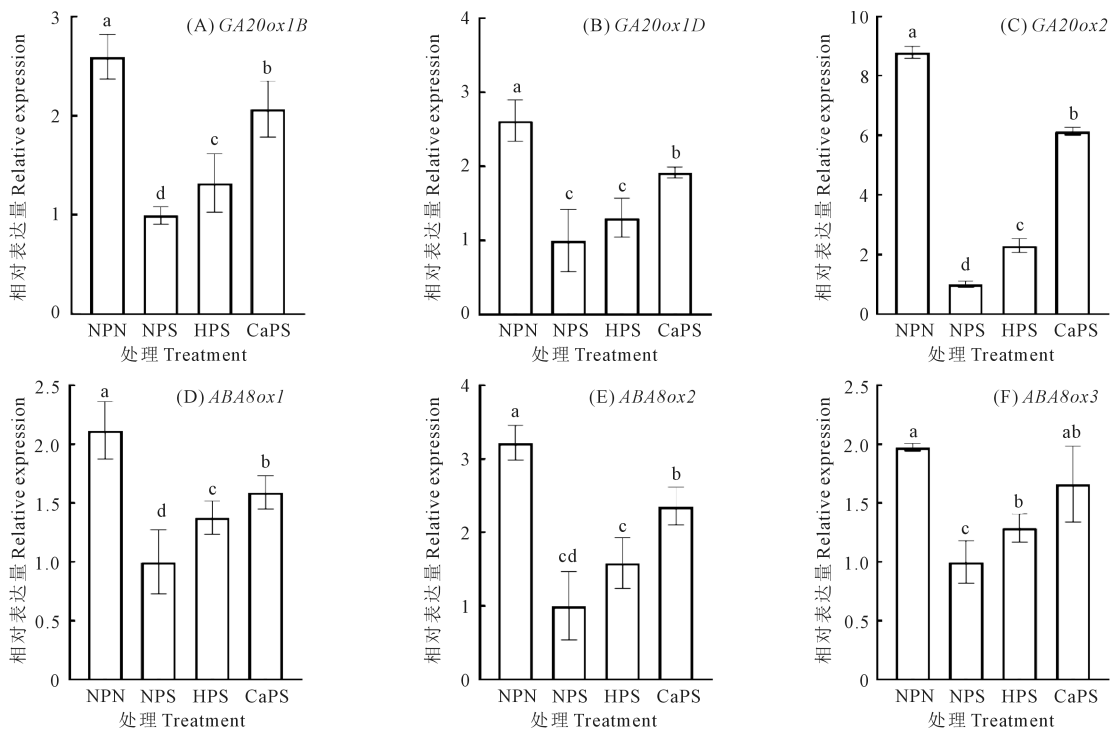


图 5 CaCl₂ 引发对盐胁迫下高粱萌发种子 GA 合成及 ABA 分解代谢基因的影响

Fig.5 Effects of CaCl₂ priming on relative expression of GA synthesis and ABA catabolism genes of sorghum seeds during germination under salt stress

3 讨论

种子萌发作为作物生命周期中的关键阶段,在许多非生物胁迫下较为敏感^[4]。盐胁迫对小麦^[25]、水稻^[26]、玉米^[27]、高粱^[4]等作物的种子萌发均有显著的抑制作用。本研究也得到相似的结果,盐胁迫显著降低了高粱种子的发芽率并增加了发芽时间,表明种子萌发受到盐胁迫的严重抑制。种子引发是缓解盐胁迫对种子萌发和幼苗生长抑制的有效途径^[5,28]。Iqbal 等^[21]研究发现,NaCl、KCl 和 CaCl₂ 引发种子减轻了盐胁迫对玉米幼苗的伤害,从而提高了幼苗的鲜质量和干质量。本研究中采用 CaCl₂ 引发显著提高了盐胁迫下的发芽率,促进了根和芽的生长,说明 CaCl₂ 在引发过程中对种子萌发起到积极的作用。鉴于钙在植物响应盐胁迫过程中的重要作用^[29],本研究推测 CaCl₂ 引发所起的积极作用很重要的原因可能是来源于钙离子。

GA 和 ABA 在种子发育过程中起着重要的信号传导和调控作用,是调节种子萌发和休眠的 2 个关键激素^[9]。有研究证明 ABA 可在种子萌发过程中被降解,使用 ABA 合成抑制剂后促进了盐胁迫下玉米种子的萌发^[27]。在非生物胁迫下 GA 促进植物的细胞分裂和发芽,打破芽休眠,促进高粱种子的萌发率^[30]。相关研究用 GA 合成抑制剂处理太子

参块根,发现内源 GA 含量显著降低,导致太子参生长延缓,说明 GA 可能是调节植物生长的关键调控因子^[31]。本研究分别使用激素合成或分解抑制剂处理引发种子发现,相比较单独 CaCl₂ 引发处理,高粱种子萌发受到抑制,间接验证了 CaCl₂ 引发对盐胁迫高粱萌发过程中 GA 合成及 ABA 分解代谢的增强作用。有证据表明,Ca²⁺ 信号通过与 ABA 和 GA 信号通路相互作用激发甜瓜种子萌发,减轻盐胁迫的毒害效应^[32]。本试验的研究结果与之基本一致。使用钙抑制剂引发后发现,高粱种子在萌发过程中 GA₃ 含量降低,而 ABA 含量增加,萌发受到抑制,表明 CaCl₂ 引发可通过促进 GA 合成及 ABA 分解代谢来抵抗盐胁迫,主要得益于 Ca²⁺ 信号的增强。

作物对盐胁迫的反应是一个复杂的生理过程,当作物受到盐胁迫时会合成编码盐胁迫相关蛋白的 RNA,通过对作物的代谢物合成来调控作物的代谢平衡^[30]。有研究发现,生菜种子引发后编码 ABA 合成的关键酶基因 *LsNCED4* 下调表达,编码 GA 合成的关键酶基因 *LsGA3ox1* 上调表达^[33]。番茄种子在引发后的萌发过程中也观察到了 GA₄ 生物合成的增强^[34]。在本试验中,CaCl₂ 引发使高粱种子在盐胁迫下萌发过程中 GA 合成相关基因(*GA20ox1B*、*GA20ox1D* 和 *GA20ox2*)及 ABA 分解相关基因(*ABA8ox1*、*ABA8ox2* 和 *ABA8ox3*)均上调表达,从而提高了种子中 GA₃ 的含

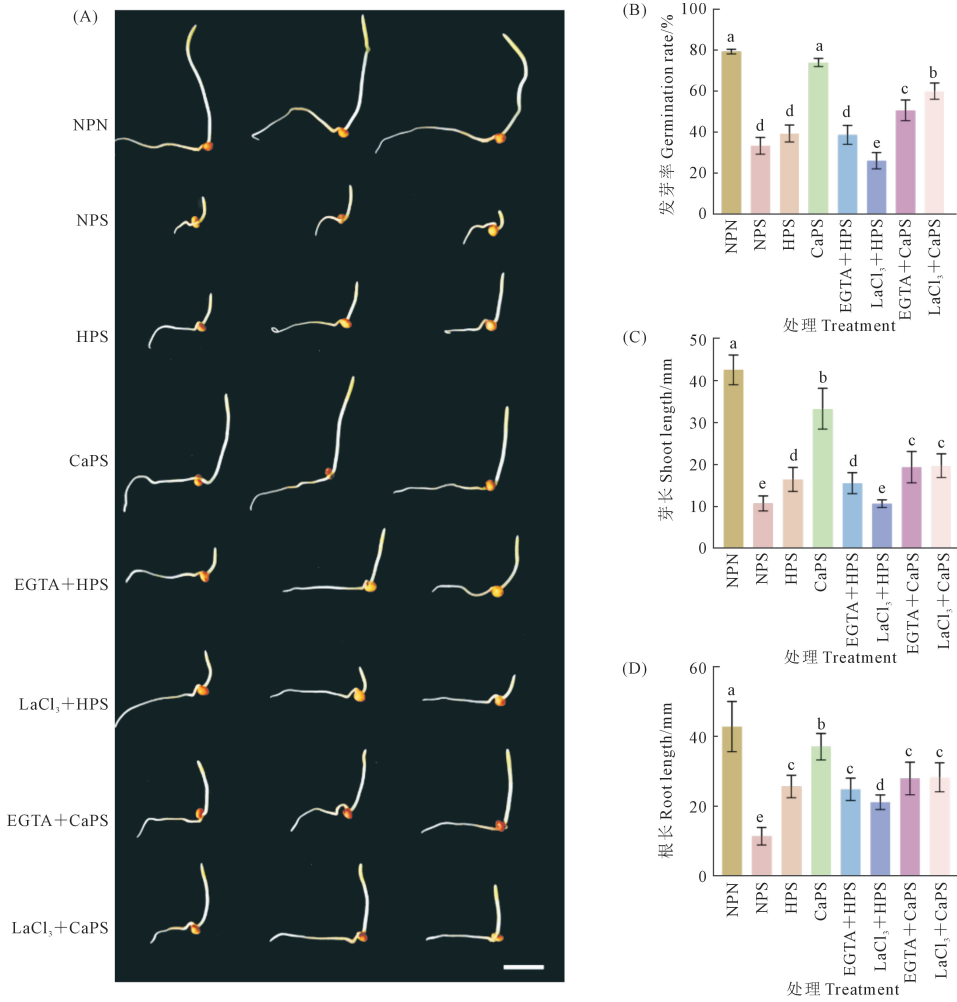


图 3 钙离子抑制剂处理对盐胁迫下高粱种子萌发的影响

Fig.3 Effects of Ca²⁺ inhibitors on sorghum seed germination under salt stress

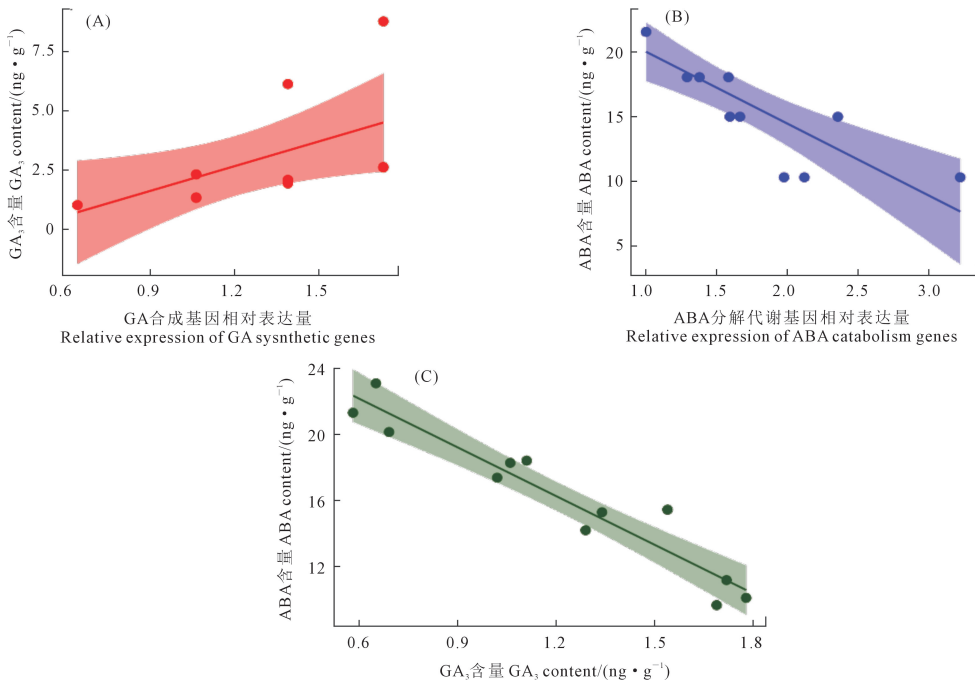


图 6 盐胁迫下高粱种子萌发期 GA₃ 和 ABA 含量与 GA 合成及 ABA 分解代谢基因表达量的相关性分析

Fig.6 Correlation analysis of GA₃ and ABA content with GA synthesis and ABA catabolic genes expression in sorghum seeds at germination stage under salt stress

量,降低了 ABA 的含量,表明 CaCl₂引发增强了高粱种子萌发过程中 GA 的合成及 ABA 的分解。相关性分析也说明 GA₃和 ABA 含量存在拮抗关系,较高水平的 GA₃含量促进了盐胁迫下高粱种子的萌发(图 6)。可见,在盐胁迫下,高粱能够通过调节 GA 和 ABA 代谢相关基因的表达,调整其激素水平的平衡关系以适应环境压力,进而影响种子的萌发。这种调节可能涉及复杂的信号网络,包括转录因子、激素互作以及其他环境信号的整合。Ju 等^[16]研究表明,AtGLR3.5 通过调节 Ca²⁺信号,正向调节 GA 的生物合成。在 AtGLR3.5 RNA 干扰细胞系种子中,GA 生物合成基因表达下调,表明 AtGLR3.5 对于 GA 的生物合成起促进作用。同时,ABI4 作为 GA 和 ABA 信号传导的关键节点,受到 AtGLR3.5 通过 Ca²⁺信号的调节。这些发现支持了钙信号参与了 GA 和 ABA 的调控作用,并且反映出植物体内存在复杂的信号网络,而钙信号是连接不同信号通路的关键节点。本研究发现,钙抑制剂处理种子后,高粱种子内的 GA₃含量下降,ABA 含量增加,导致其萌发受到抑制,进一步表明 Ca²⁺参与了 GA 和 ABA 代谢调控的种子萌发,缓解了盐胁迫对种子萌发过程中 GA 合成及 ABA 分解代谢的抑制作用,从而促进了高粱种子萌发。

4 结 论

盐胁迫抑制了高粱种子的萌发,降低了萌发种子中 GA₃的含量,增加了 ABA 的含量。CaCl₂引发有效缓解了盐胁迫对高粱种子萌发的抑制,促进了盐胁迫下高粱种子的萌发。分别使用 GA 合成抑制剂及 ABA 分解抑制剂处理高粱引发种子,种子萌发同样受到抑制。CaCl₂引发上调了盐胁迫下高粱种子萌发过程中 GA 合成及 ABA 分解代谢相关基因的表达,提高了高粱种子 GA₃的含量,降低了 ABA 的含量,从而促进了盐胁迫下高粱种子的萌发,而钙抑制剂抵消了 CaCl₂的引发效果。综上,CaCl₂引发是一种可有效提高高粱种子在盐胁迫条件下萌发能力的策略,为提高作物在不利环境条件下的生产力提供了重要的理论和实践依据。

参 考 文 献:

[1] 朱健康,倪建平. 植物非生物胁迫信号转导及应答[J]. 中国稻米, 2016, 22(6): 52-60.
ZHU J K, NI J P. Abiotic stress signaling and responses in plants[J].

China Rice, 2016, 22(6): 52-60.
[2] MUNNS R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651-681.
[3] CHEN X F, ZHANG R D, LI B, et al. Alleviation of oxidative damage induced by CaCl₂ priming is related to osmotic and ion stress reduction rather than enhanced antioxidant capacity during germination under salt stress in sorghum[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 881039.
[4] 于文波,崔彤,邢艺凡,等. 高粱种子耐盐萌发的最佳引发水势及生理效应[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2024, 44(3): 49-58.
YU W B, CUI T, XING Y F, et al. Optimal osmotic potential for salt tolerance germination of sorghum seeds and its physiological effects[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2024, 44(3): 49-58.
[5] XING Y F, CHEN X F, ZHANG M, et al. CaCl₂ priming promotes sorghum seed germination under salt stress by activating sugar metabolism [J]. Plant Growth Regulation, 2023, 101(2): 385-397.
[6] AMOMBO E, ASHILENJE D, HIRICH A, et al. Exploring the correlation between salt tolerance and yield: research advances and perspectives for salt-tolerant forage sorghum selection and genetic improvement[J]. Planta, 2022, 255(3): 71.
[7] AHMAD I, ZHU G L, ZHOU G S, et al. Pivotal role of phytohormones and their responsive genes in plant growth and their signaling and transduction pathway under salt stress in cotton[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 7339.
[8] WEISS D, ORI N M. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones[J]. Plant Physiology, 2007, 144(3): 1240-1246.
[9] LIU Y G, YE N H, LIU R, et al. H₂O₂ mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in *Arabidopsis* seed dormancy and germination [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(11): 2979-2990.
[10] NÉE G, XIANG Y, SOPPE W J. The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2017, 35: 8-14.
[11] OKAMOTO M, KUWAHARA A, SEO M, et al. CYP707A1 and CYP707A2, which encode abscisic acid 8'-hydroxylases, are indispensable for proper control of seed dormancy and germination in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2006, 141(1): 97-107.
[12] YAMAUCHI Y, OGAWA M, KUWAHARA A, et al. Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds[J]. The Plant Cell, 2004, 16(2): 367-378.
[13] KONG L Q, HUO H Q, MAO P S. Antioxidant response and related-gene expression in aged oat seed [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 158.
[14] ACHARD P, CHENG H, DE GRAUWE L, et al. Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals[J]. Science, 2006, 311(5757): 91-94.
[15] JU C L, KONG D D, LEE Y R, et al. Methionine synthase 1 provides methionine for activation of the GLR3.5 Ca²⁺ channel and regulation of germination in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental

- Botany, 2020, 71(1): 178-187.
- [16] JU C L, SONG Y N, KONG D D. *Arabidopsis* GLR3.5-modulated seed germination involves GA and ROS signaling[J]. Plant Signaling & Behavior, 2020, 15(3): 1729537.
- [17] PAPARELLA S, ARAÚJO S S, ROSSI G, et al. Seed priming: state of the art and new perspectives [J]. Plant Cell Reports, 2015, 34(8): 1281-1293.
- [18] 张飞, 朱凯, 王艳秋, 等. 种子引发对盐渍土壤条件下高粱芽苗生理特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2016, 34(5): 47-53.
ZHANG F, ZHU K, WANG Y Q, et al. Effects of seed priming on the physiological characteristics of sorghum seedlings under saline stress[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2016, 34(5): 47-53.
- [19] MARTHANDAN V, GEETHA R, KUMUTHA K, et al. Seed priming: a feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(21): 8258.
- [20] CHEN X F, ZHANG R D, XING Y F, et al. The efficacy of different seed priming agents for promoting sorghum germination under salt stress[J]. PLoS One, 2021, 16(1): e0245505.
- [21] IQBAL M, ASHRAF M, JAMIL A, et al. Does Seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plants under salt stress? [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2006, 48(2): 181-189.
- [22] TOH S, IMAMURA A, WATANABE A, et al. High temperature-induced abscisic acid biosynthesis and its role in the inhibition of gibberellin action in *Arabidopsis* seeds[J]. Plant Physiology, 2008, 146(3): 1368-1385.
- [23] SEGAL J. Cation chelators and their utilization in the preparation of low concentrations of calcium. Caution of use in biological systems with high affinity to calcium[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 1986, 8(5): 423-429.
- [24] 孙璐, 周宇飞, 汪澈, 等. 高粱品种萌发期耐盐性筛选与鉴定[J]. 中国农业科学, 2012, 45(9): 1714-1722.
SUN L, ZHOU Y F, WANG C, et al. Screening and identification of sorghum cultivars for salinity tolerance during germination [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(9): 1714-1722.
- [25] WANG J J, LV P H, YAN D, et al. Exogenous melatonin improves seed germination of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(15): 8436.
- [26] LIU F Z, LI N N, YU Y Y, et al. Insights into the regulation of rice-seed storability by seed tissue-specific transcriptomic and metabolic profiling[J]. Plants-Basel, 2022, 11(12): 1570.
- [27] YANG K J, ZHANG Y F, ZHU L H, et al. Omethoate treatment mitigates high salt stress inhibited maize seed germination[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2018, 144: 79-82.
- [28] JIANG X W, ZHANG C R, WANG W H, et al. Seed priming improves seed germination and seedling growth of *Isatis indigotica* fort. under salt stress[J]. HortScience, 2020, 55(5): 647-650.
- [29] 殷秀霞, 陈芹芹, 刘海双, 等. 钙信号在植物响应盐胁迫中的作用研究进展[J]. 分子植物育种, 2023, 21(3): 850-857.
YIN X X, CHEN Q Q, LIU H S, et al. Research progress in the role of calcium signaling in plant response to salt stress [J]. Molecular plant breeding, 2023, 21(3): 850-857.
- [30] LIU J, WU Y Q, DONG G C, et al. Progress of research on the physiology and molecular regulation of sorghum growth under salt stress by gibberellin[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(7): 6777.
- [31] 李军, 周涛, 郑伟, 等. 外源 GA₃ 对太子参块根发育及赤霉素生物合成的调控[J]. 分子植物育种, 2018, 16(20): 6867-6874.
LI J, ZHOU T, ZHENG W, et al. Regulation of GA₃ on the development of tuberous root and gibberellins biosynthesis of *Pseudostellaria heterophylla* [J]. Molecular plant breeding, 2018, 16(20): 6867-6874.
- [32] LI H, GUO Y L, LAN Z X, et al. Melatonin antagonizes ABA action to promote seed germination by regulating Ca²⁺ efflux and H₂O₂ accumulation[J]. Plant Science, 2021, 303: 110761.
- [33] SCHWEMBER A R, BRADFORD K J. A genetic locus and gene expression patterns associated with the priming effect on lettuce seed germination at elevated temperatures[J]. Plant Molecular Biology, 2010, 73(1/2): 105-118.
- [34] NAKAUNE M, HANADA A, YIN Y G, et al. Molecular and physiological dissection of enhanced seed germination using short-term low-concentration salt seed priming in tomato [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2012, 52: 28-37.