

超高效液相色谱-串联质谱法快速测定 水稻中的 13 种植物激素含量

张庆, 李诚至, 林钰涓, 于晓章*

(桂林理工大学环境科学与工程学院, 广西桂林 541006)

摘要: 建立了一种快速高效的分析水稻中的 13 种植物激素超高效液相色谱-串联质谱法。实验优化了色谱分离条件和质谱检测参数。采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, i.d. 1.7 μm) 分离, 以甲酸-乙腈 (含 0.04% 甲酸, V/V) 和甲酸-水 (含 0.04% 甲酸, V/V) 溶液为流动相进行梯度洗脱, 在 11 min 内基本实现了基线分离。质谱采用电喷雾离子源电离、以负离子扫描, 多反应监测模式检测。结果表明, 13 种待测物在 1~500 ng/mL 质量浓度范围内线性良好, 相关系数均大于 0.9980; 回收率为 81.90%~118.80% 范围内, 相对标准偏差 (RSD, n=3) 介于 2.45%~8.12% 之间。该方法操作简单, 灵敏度高, 结果准确可靠, 可用于水稻中 13 种植物激素含量的测定, 对深入研究水稻的生长与发育过程以及鉴定植物激素残留限量等提供技术支持。

关键词: 水稻; 植物激素; 超高效液相色谱-串联质谱法 (UPLC-MS/MS)

文章编号: 1673-9078(2021)09-271-278

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.1190

Rapid Analysis of 13 Kinds of Plant Hormones in Rice by Ultra-performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

ZHANG Qing, LI Cheng-zhi, LIN Yu-juan, YU Xiao-zhang*

(School of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China)

Abstract: A rapid and efficient method based on ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was established for the analysis of 13 plant hormones in rice. The conditions for chromatographic separation and mass spectrometry detection were optimized. The target compounds were separated by ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, id 1.7 μm) with gradient elution using acetonitrile (0.04% V/V formic acid) and water (0.04% V/V formic acid) solutions as the mobile phase; baseline separation was achieved within 11 min. The 13 plant hormones were determined in the electrospray positive ionization (ESI+) and multiple reactions monitoring (MRM) modes. Analysis of the results indicated that the 13 plant hormones had good linearity in the concentration range from 1 to 500 ng/mL, and the correlation coefficients were all greater than 0.9980; the recoveries ranged between 81.9% and 118.8%, and the relative standard deviations (RSD, n=3) were between 2.45% and 8.12%. The method is simple, sensitive, accurate, and reliable; therefore, it is suitable for determining the contents of 13 kinds of plant hormones in rice. Furthermore, it can provide technical support for detailed examination of the growth and development process of rice and the identification of plant hormone residue limits.

Key words: rice; plant hormones; ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

引文格式:

张庆,李诚至,林钰涓,等.超高效液相色谱-串联质谱法快速测定水稻中的 13 种植物激素含量[J].现代食品科技,2021,37(9):271-278

ZHANG Qing, LI Cheng-zhi, LIN Yu-juan, et al. Rapid analysis of 13 kinds of plant hormones in rice by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 271-278

收稿日期: 2020-12-22

基金项目: 广西自然科学基金重点项目 (2018GXNSFDA281024); 国家自然科学基金项目 (41877493); 广西高校中青年骨干教师科研基础能力提升项目 (2020KY06038); 广西自然科学基金青年项目 (2021GXNSFBA075041); 桂林理工大学科研启动基金 (GUTQDJJ2020051)

作者简介: 张庆 (1984-), 男, 高级实验师, 研究方向: 样品前处理、色谱分析, E-mail: 1291034842@qq.com

通讯作者: 于晓章 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 毒理分析, E-mail: xzyu@glut.edu.cn

植物激素是植物产生的痕量的并对植物生长发育起至关重要作用的信号分子物质^[1-3]。吲哚乙酸 (IAA)、脱落酸 (ABA)、赤霉素 3 (GA₃) 参与了植物从种子休眠、萌发、营养生长到生殖生长, 以及成熟和衰老的整个生命过程, 茉莉酸 (JA)、水杨酸 (SA) 是 2 种主要的胁迫激素, 受到胁迫的调控, 在植物的胁迫耐受性和抗逆性中发挥着重要作用^[4-6]。但是, 植物激素在大多数组织中的含量很低^[7,8], 通常在 10⁻⁶~10⁻⁹ g 之间, 性质不稳定, 与其共存的成分非常复杂, 检测时容易受到干扰。同时有些植物材料非常珍贵, 材料量少, 因此要求检测的方法必须简便、快速、灵敏、专一^[9-11]。

目前植物激素的使用不当或滥用现象导致的食品安全问题日益增多^[3], 从食品安全的角度来看, 建立一种实用准确的水稻中植物激素残留分析方法显得非常必要。目前, 植物激素的测定主要采用色谱/质谱联用技术^[12-18]。气相色谱 (GC) /质谱 (MS) 联用在灵敏度问题上能满足植物激素的测定要求, 但样品需要纯化、浓缩和衍生化处理, 增加了样品前处理步骤^[19,20]。超高效液相色谱 (UPLC) -串联质谱 (MS/MS) 具有高灵敏度和高选择性, 可以满足植物粗提液中植物激素的定量测定, 同时还很大程度上简化了样品前处理程序。

目前, 基于液相色谱 (LC) -串联质谱 (MS/MS) 联用方法对植物激素的分析, 大多集中在生长素 (IAA)、赤霉素 3 (GA₃)、脱落酸 (ABA)、茉莉酸 (JA) 和水杨酸 (SA) 等几种植物激素, 存在可检测的植物激素种类偏少等问题^[2,4,7]。本实验采用超高效液相色谱-串联质谱法, 建立一种同时测定水稻中赤霉素 3 (GA₃)、赤霉素 1 (GA₁)、异戊烯基腺嘌呤 (IPA)、水杨酸 (SA)、吲哚乙酸 (IAA)、脱落酸 (ABA)、茉莉酸 (JA)、赤霉素 7 (GA₇)、赤霉素 4 (GA₄)、茉莉酸异亮氨酸 (JA-ILE)、油菜素甾酮 (CS)、12 氧代植物二烯酸 (12-OPDA) 和香蒲甾醇 (TY) 等 13 种植物激素含量的分析方法, 为水稻中植物激素的分析提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1290 超高效液相色谱仪串联 AB SCIEX 5500 Qtrap 质谱仪。美国 MET QL-866 涡旋混匀仪 (13111-V-220)。冷冻离心机 (H1650-W)。色谱柱

Waters, ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, i.d. 1.7 μm)。甲酸购自 Fluka, 乙腈、甲醇购自 Merck。所有植物激素的标准品均购自 Olchemim。实验用水均为 Milli-Q plus 去离子水。

1.2 标准物质的配制

准确称取 1.0 mg 的赤霉素 3、赤霉素 1、异戊烯基腺嘌呤、水杨酸、吲哚乙酸、脱落酸、茉莉酸、赤霉素 7、赤霉素 4、茉莉酸异亮氨酸、油菜素甾酮、12 氧代植物二烯酸和香蒲甾醇溶解在甲醇溶液中, 配制成浓度为 1 mg/mL 的单标储备溶液。取适量的单标准储备溶液, 配制成混合标准储备溶液。其中, 各植物激素浓度为 1 μg/mL。将上述溶液用甲醇逐级稀释, 用于绘制标准工作曲线。

1.3 色谱质谱条件

色谱条件: 流动相, A 液为 0.04%甲酸-水溶液, B 液为 0.04%甲酸-乙腈溶液。样品置于 4 °C 自动进样器中, 柱温 45 °C, 流速为 400 μL/min, 进样量 4 μL。梯度洗脱设置如下: 0~10 min, B 液从 2%线性变化到 98%, A 液相应的从 98%线性变化到 2%; 10~11.1 min, B 液从 98%线性变化至 2%, A 液相应的从 2%线性变化到 98%; 11.1~13 min, B 液维持在 2%, A 液相应的维持在 98%。

质谱条件: 电喷雾电离源 (ESI), 扫描方式为负离子扫描多反应监测模式 (MRM)。ESI 条件如下: Source Temperature (离子源温度): 500 °C; Ion Source Gas1 (辅助加热气 1): 45; Ion Source Gas2 (辅助加热气 2): 45; Curtain Gas (气帘气): 30; Ion Sapary Voltage Floating (电喷雾电压): -4500 V。

1.4 植物激素的提取

植物激素的提取参考文献^[21,22]。具体实验方法如下, 将水稻叶片组织样品液氮研磨, 取 100 mg 样品于 2 mL 离心管中, 加入 1 mL 甲醇-乙腈-水溶液 (40:40:20, V/V), 震荡混匀 2 min; 4 °C 避光抽提 12 h, 14000 r/min 离心 10 min, 取上清液 800 μL, 氮气吹干, 用 200 μL 甲醇-水溶液 (50:50, V/V) 定溶, 14000 r/min 离心 10 min, 取上清液进样分析。

2 结果与讨论

2.1 定容溶剂选择

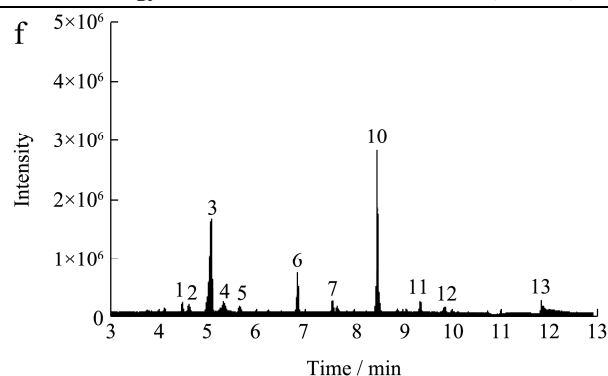
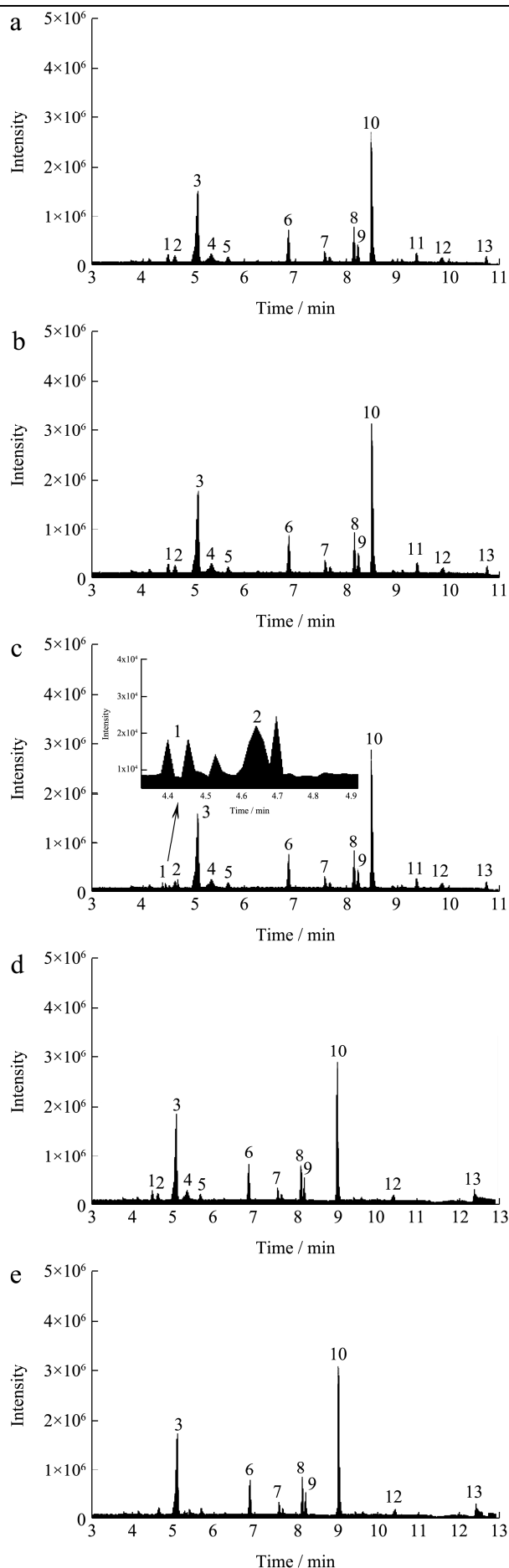


图1 不同定容溶剂时13种植物激素的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram (TIC) of thirteen plant hormones at different solvents

注: a: 水; b: 甲醇-水 (50:50, V/V); c: 甲醇; d: 乙腈; e: 甲醇-乙腈 (50:50, V/V); f: 乙腈-水 (50:50, V/V)。1: 赤霉素3; 2: 赤霉素1; 3: 异戊烯基腺嘌呤; 4: 水杨酸; 5: 吲哚乙酸; 6: 脱落酸; 7: 茉莉酸; 8: 赤霉素7; 9: 赤霉素4; 10: 茉莉酸异亮氨酸; 11: 油菜素甾酮; 12: 12 氧代植物二烯酸; 13: 香蒲甾醇。

实验比较了水、甲醇-水 (50:50, V/V)、甲醇、乙腈、甲醇-乙腈 (50:50, V/V) 和乙腈-水 (50:50, V/V) 6种定容溶液的对植物激素峰形、响应强度以及出峰时间的影响^[21,22], 结果分别如图 1a、1b、1c、1d、1e 和 1f 所示。结果表明, 纯水作为定容溶剂, 部分目标分析物 (3号峰异戊烯基腺嘌呤和10号峰茉莉酸异亮氨酸) 响应强度较低 (图 1a)。甲醇作为定容溶剂, 出峰时间较早的目标分析物如赤霉素3、赤霉素1等的色谱峰出现明显分叉 (图 1c)。含有乙腈的溶液 [乙腈-水 (50:50, V/V)、乙腈和甲醇-乙腈 (50:50, V/V)], 出峰时间普遍较长 (图 1d、1e 和 1f), 并且吲哚乙酸、12 氧代植物二烯酸、香蒲甾醇峰形拖尾严重。定容溶剂选择甲醇-水 (50:50, V/V) 时目标分析物的响应强度较高, 且目标分析物峰形均较好 (图 1b)。综合考虑, 本文以甲醇-水 (50:50, V/V) 为定容溶剂。

2.2 色谱柱的选择

对于植物激素这类弱极性物质, 实验选择 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱。ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱具备 pH=1~12 范围内的化学稳定性, 能够影响可电离化合物的保留性、选择性和灵敏性, 同时还能在低 pH 和高 pH 条件下保持优异的柱稳定性。

2.3 色谱条件优化

考察了流动相对分离的影响, 直接以乙腈-水溶液

作为流动相时, 13种植物激素的混合标准样品不能完全分离, 色谱峰拖尾严重。甲酸可以抑制样品基质的电离, 改善色谱峰的拖尾现象, 因此流动相中需要加入甲酸。

实验对流动相中甲酸的用量 (0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%) 进行了考察, 发现甲酸含量为 0.04% 时分离效果最佳, 既保证了 13 种植物激素混合标样的有效分离, 又改善了拖尾现象。因此最终确定流动相 A 为甲酸-水溶液 (0.04:99.6), B 为甲酸-乙腈溶液 (0.04:99.6), 并采用梯度洗脱方式进行洗脱。

2.4 质谱条件优化

植物激素的检测有采用正离子模式, 也有采用负离子模式^[12,13]。在正离子模式下, 部分物质产生了 $[M+Na]^+$ 、 $[M+K]^+$ 的离子峰。其中, $[M+Na]^+$ 和 $[M+K]^+$ 可能是水中的 Na^+ 、 K^+ 引起的。在负离子模式 ESI(-) 下, 13 种植物激素都产生了响应较强的 $[M-H]^-$ 。综合考虑, 本实验选择负离子模式 [ESI(-)]。其次, 优化化合物的子离子和碰撞能量, 选择丰度较高的两个子离子作为化合物的特征离子对, 并对电喷雾电压、离子源温度、碰撞气、扫描驻留时间, 去簇电压及碰撞电压等参数优化, 确定出最佳的质谱参数。所有植物激素的质谱参数见表 1。最佳色谱质谱条件下的 13 种植物激素总离子流图如图 1b 所示。

表 1 13 种植物激素的质谱参数

Table 1 The mass spectrum of thirteen plant hormones

中文名称	英文名称缩写	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)
赤霉素 3	GA ₃	4.50	345.0	220.9/143.1*
赤霉素 1	GA ₁	4.65	347.1	302.1/273.0*
异戊烯基腺嘌呤	IPA	5.09	336.0	204.1*/148.0
水杨酸	SA	5.36	137.0	93.0*/45.0
吲哚乙酸	IAA	5.69	176.0	130.0*/103.0
脱落酸	ABA	6.87	263.1	219.1/153.0*
茉莉酸	JA	7.58	209.1	151.0/59.1*
赤霉素 7	GA ₇	8.16	329.1	284.1/223.1*
赤霉素 4	GA ₄	8.23	331.0	286/257.4*
茉莉酸异亮氨酸	JA-ILe	8.50	322.0	265/130.0*
油菜素甾酮	CS	9.40	465.3	429.4*/305.3
12 氧代植物二烯酸	12-OPDA	9.89	291.1	165.0*/148.1
香蒲甾醇	TY	10.76	449.4	431.4*/275.4

注: *定量离子。

表 2 13 种植物激素的线性方程、相关系数、检出限 (LOD)

Table 2 Linearity, correlation coefficient (R^2) and detection limits of thirteen plant hormones

植物激素	线性方程	线性范围/(ng/mL)	相关系数	检出限/(ng/mL)
GA ₃	$y=0.0163x-0.0210$	1~500	0.9990	0.310
GA ₁	$y=0.0057x+0.0089$	1~500	0.9992	0.421
IPA	$y=0.0330x+0.0035$	1~500	0.9997	0.351
SA	$y=0.0280x+0.3146$	1~500	0.9999	0.332
IAA	$y=0.0005x-0.0002$	1~500	0.9991	0.507
ABA	$y=0.0396x-0.0364$	1~500	0.9980	0.377
JA	$y=0.4727x+0.2448$	1~500	0.9994	0.421
GA ₇	$y=0.0881x+0.0687$	1~500	0.9998	0.394
GA ₄	$y=0.0077x+0.0185$	1~500	0.9993	0.421
JA-ILe	$y=0.0004x-0.2823$	1~500	0.9996	0.450
CS	$y=0.0082x+0.01455$	1~500	0.9992	0.512
12-OPDA	$y=0.2921x+0.1508$	1~500	0.9995	0.433
TY	$y=0.4206x-0.3235$	1~500	0.9997	0.375

表3 回收率与相对标准偏差试验结果

Table 3 Recovery and relative standard deviation (RSD) of thirteen plant hormones (n=3)

植物激素	添加量 (ng/mL)	测得量 (ng/mL)	回收率/%	RSD/%
GA ₃	1	0.87	87.0	8.12
	50	45.8	91.6	7.82
	100	110.4	110.4	5.11
GA ₁	1	0.82	82.0	3.41
	50	51.4	102.8	6.55
	100	89.5	89.5	7.34
IPA	1	1.13	113.0	6.42
	50	55.4	110.8	7.45
	100	85.7	85.7	2.45
SA	1	0.83	83.0	7.81
	50	56.2	112.4	4.53
	100	112.6	112.6	5.76
IAA	1	1.11	111.0	7.12
	50	42.8	85.6	6.12
	100	87.3	87.3	5.45
ABA	1	0.82	82.0	5.43
	50	57.9	118.8	6.17
	100	86.9	86.9	7.12
JA	1	0.86	86.0	7.82
	50	54.3	108.6	6.14
	100	111.9	111.9	4.17
GA ₇	1	1.14	114.0	5.65
	50	48.1	96.2	6.99
	100	115.0	115.0	7.65
GA ₄	1	0.88	88.0	5.24
	50	47.6	95.2	4.23
	100	109.3	109.3	7.11
JA-ILe	1	1.04	104.0	6.29
	50	55.5	111.0	7.51
	100	89.9	89.9	6.77
CS	1	0.87	87.0	5.65
	50	42.9	85.8	7.57
	100	86.5	86.5	7.43
12-OPDA	1	0.82	81.9	5.34
	50	41.6	83.2	6.55
	100	83.8	83.8	5.43
TY	1	1.16	116.0	6.85
	50	42.3	84.6	7.01
	100	108.9	108.9	6.34

2.5 线性关系和检出限

标准物质储备液用甲醇稀释配制成 10 μg/mL 标准溶液, 然后再稀释至 ng/mL 标准工作液系列。以上述色谱质谱条件, 对系列标准工作液进行分析, 以植物激素浓度为 x 轴, 所对应的峰面积为 y 轴, 绘制标准曲线, 并进行线性回归, 得到回归方程和相关系数 (R^2), 以信噪比 (S/N) 为 3 确定化合物的检出限 (LOD), 具体见表 2。线性范围在 1~500 ng/mL 之间, R^2 均大于 0.9980, LOD 最低至 0.310 ng/mL。

2.6 回收率和精密度

在处理的样品中添加标准混合溶液, 制备 1、50、100 ng/mL 三个浓度加标水平的样品, 每个浓度水平设 3 个平行样品。用本方法进行测定, 平均回收率和相对标准偏差见表 3。添加 3 个不同浓度 (1、50、100 ng/mL) 的植物激素标准溶液, 13 种植物激素的平均加标回收率为 81.90%~118.80%, RSD 均小于 8.12%, 方法的准确度和精密度均符合检测要求。各植物激素在保留时间区域内无干扰, 故本方法具有较好的选择性。

2.7 实际样品分析

表4 水稻样品中的 13 种植物激素含量

Table 4 The content of thirteen plant hormones in rice samples

植物激素	植物激素含量/(ng/g)		
	湘早籼 45 号	汕优 63 号	桂朝 2 号
GA ₃	120.32	214.33	113.36
GA ₁	1.21	1.08	2.45
IPA	4.00	4.25	9.30
SA	2.65	2.57	2.16
IAA	15.33	17.56	5.98
ABA	325.99	212.15	376.05
JA	35.04	45.11	27.49
GA ₇	6.16	6.88	7.67
GA ₄	10.77	15.79	19.76
JA-ILe	20.08	27.06	22.02
CS	10.87	8.58	17.79
12-OPDA	60.15	62.11	56.19
TY	30.35	30.34	20.35

研究选取湘早籼 45 号、汕优 63 号和桂朝 2 号三个品种的水稻样品。将测得的植物激素的峰面积代入上述工作曲线中, 经过换算, 得到相应的水稻中植物激素含量, 如表 4 所示。从表 4 中可以看出, 三个品

种水稻中 GA3 和 ABA 含量较多, 研究表明 GA3 和植物生长、细胞伸长相关并且促进代谢, 而 ABA 对植物成花的诱导和发育具有重要调控作用^[21]。此外, GA4 是具有生物活性的赤霉素, 能够促进茎的生长^[21]; GA7 可以打破某些种子的休眠, 提高结实率^[22];

JA-Ile 可以增强植物遭遇损伤或者虫鸟取食后产生局部防御反应能力^[22]; CS 是一种能促进植物茎秆伸长和细胞分裂的高活性物质, 亦可防御环境胁迫^[23,24]。最后, 通过比较可以看出, 不同品种的水稻中植物激素含量有些差异。

表5 植物激素测定方法的检出限对比

Table 5 Detection limit comparison of plant hormones

植物激素	本文检出限/(ng/mL)	测定方法	文献检出限/(ng/mL)
GA ₃	0.310	UPLC-MS/MS ^[5] ; HPLC ^[21] ; HPLC-MS ^[22]	0.675 ^[5] ; 2.28 ^[21] ; 1.32 ^[22]
GA ₁	0.421	-	-
IPA	0.351	-	-
SA	0.332	UPLC-MS/MS ^[5]	0.581 ^[5]
IAA	0.507	HPLC ^[21] ; HPLC-MS ^[22]	0.41 ^[21] ; 3.14 ^[22]
ABA	0.377	HPLC ^[22]	0.71 ^[22]
JA	0.421	UPLC-MS/MS ^[5] ; HPLC-MS ^[23] ; HPLC-MS/MS ^[25]	0.529 ^[5] ; 1.88 ^[23] ; 1.0 ^[25]
GA ₇	0.394	-	-
GA ₄	0.421	-	-
JA-Ile	0.450	-	-
CS	0.512	UPLC-MS/MS ^[5]	1.057 ^[5]
12-OPDA	0.433	-	-
TY	0.375	-	-

注: -表示无参考值(无测定方法)。

2.8 方法对比分析

将本研究所得的结果与文献中的检测方法检出限进行了对比, 结果如表5所示。从表5中我们可以看出, 本研究建立的多种激素测定方法大部分都比文献中所报道的检测方法检出限更低, 并且检出的植物激素种类更多。关于 GA1、IPA、GA4、GA7、JA-Ile、CS、12-OPDA 和 TY 含量测定的方法文献中鲜有报道。本研究建立的测定方法, 能够很好地应用于 GA1、IPA、GA4、GA7、JA-Ile、CS、12-OPDA 和 TY 等植物激素含量的检测。

3 结论

本研究建立了超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水稻组织中赤霉素 3, 赤霉素 1, 异戊烯基腺嘌呤, 水杨酸, 吲哚乙酸, 脱落酸, 茉莉酸, 赤霉素 7, 赤霉素 4, 茉莉酸异亮氨酸, 油菜素甾酮, 12 氧代植物二烯酸和香蒲甾醇的方法。该方法简便快速, 能够满

足水稻中植物激素含量的要求, 具有一定的实际应用价值。这将对深入研究水稻生长与发育过程、揭示水稻响应生物与非生物环境机制、提高水稻产量和品质以及鉴定植物激素残留限量等方面具有重要的实际应用与参考价值。

参考文献

- [1] Franks Kamgang Nzekoue, Giovanni Caprioli, Massimo Ricciutelli, et al. Development of an innovative phytosterol derivatization method to improve the HPLC-DAD analysis and the ESI-MS detection of plant sterols/stanols [J]. Food Research International, 2020, 131: 108998
 - [2] 朱莉莉, 陈雅雯, 王棚涛, 等. HPLC-MS/MS 同时测定植物 6 种内源激素含量方法的优化[J]. 河南大学学报(自然科学版), 2020, 50(3): 298-304
- ZHU Li-li, CHEN Ya-wen, WANG Peng-tao, et al. Optimization of HPLC-MS/MS method for simultaneous quantification of six classes of endogenous hormones in

- plants [J]. Journal of Henan University (Natural Science), 2020, 50(3): 298-304
- [3] 朱松,袁晓晴,戴军,等.QuEChERS/HPLC/DAD 法同时检测果蔬中多种植物激素残留[J].分析测试学报,2017,36(4): 513-518
- ZHU Song, YUAN Xiao-qing, DAI Jun, et al. Simultaneous determination of different phytohormones residues in fruits and vegetables by QuEChERS/DAD/HPLC [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(4): 513-518
- [4] 邓文红,赵欣蕊,张俊琦,等.UPLC-MS/MS 测定植物组织中植物激素的含量[J].北京林业大学学报,2019,41(8):154-160
- DENG Wen-hong, ZHAO Xin-rui, ZHANG Jun-qi, et al. Determination of plant hormones in plant tissues by UPLC-MS/MS [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2019, 41(8): 154-160
- [5] 卢玉秋,宋阿琳,唐治玉,等.UPLC-MS/MS 同时测定土壤中 19 种植物激素方法的建立和验证[J].植物营养与肥料学报, 2019,25(6):953-962
- LU Yu-qiu, SONG A-lin, TANG Zhi-yu, et al. Establishment and validation of UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of 19 phytohormones in soil [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25(6): 953-962
- [6] ZHANG Qing, FAN Liang-biao, LU Qiao-mei, et al. Preparation and application of molecularly imprinted polymer solid-phase microextraction fiber for the selective analysis of auxins in tobacco [J]. Journal of Separation Science, 2019, 42: 2687-2694
- [7] 夏群,辛培勇,褚金芳.全自动在线固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时检测水稻中 6 种内源性植物激素[J].分析化学, 2016,3(44):409-415
- XIA Qun, XIN Pei-yong, CHU Jin-fang. An automated on-line solid phase extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometric method for six endogenous phytohormones analysis in rice [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2016, 3(44): 409-415
- [8] 贾鹏禹,曾明飞,冯乃杰,等.在线固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时检测大豆不同部位的 4 种植物激素[J].分析化学,2014,42(12):1743-1749
- JIA Peng-yu, ZENG Ming-fei, FENG Nai-jie, et al. An automated dual-gradient liquid chromatography MS/MS method for simultaneous determination of four kinds of plants hormones in different parts of soya beans and its application to a real analysis [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2014, 42(12): 1743-1749
- [9] 陈吓倮,卢巧梅,程锦添,等.新型聚合物胶束电动色谱法分离 5 种植物激素[J].分析化学,2015,43(1):127-131
- CHEN Xia-di, LU Qiao-mei, CHENG Jin-tian, et al. Determination of plant hormones by capillary electrophoresis based on polymer micelles [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43(1): 127-131
- [10] ZHAO Peng-cheng, LIN Zi-yuan, WANG Ying-mu, et al. Facilitating effects of plant hormones on biomass production and nutrients removal by *Tetraselmis cordiformis* for advanced sewage treatment and its mechanism [J]. Science of the Total Environment, 2019, 693: 133650
- [11] LIU Yan, FANG Xu-ai, CHEN Guo-sheng, et al. Recent development in sample preparation techniques for plant hormone analysis [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2019, 113: 224-233
- [12] ZHANG Xiao-na, NIU Jia-hua, ZHANG Xiao-ting, et al. Graphene oxide-SiO₂ nanocomposite as the adsorbent for extraction and preconcentration of plant hormones for HPLC analysis [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1046: 58-64
- [13] Emilie Chanclud, Benoît Lacombe. Plant hormones: key players in gut microbiota and human diseases? [J] Trends in Plant Science, 2017, 22(9): 754-758
- [14] LU Yan-ke, LI Peng-fei, YANG Chun-liu, et al. One pot green synthesis of m-aminophenol-urea glyoxal resin as pipette tip solid-phase extraction adsorbent for simultaneous determination of four plant hormones in watermelon juice [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1623: 461214
- [15] WANG Ming-wei, LIANG Shi-ru, BAI Li-gai, et al. Green protocol for the preparation of hydrophilic molecularly imprinted resin in water for the efficient selective extraction and determination of plant hormones from bean sprouts [J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1064: 47-55
- [16] WANG Li-kai, QIAO Hong. Chromatin regulation in plant hormone and plant stress responses [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2020, 57: 164-170
- [17] LIN Jie-shun, Manuel Frank, Dugald Reid. No home without hormones: how plant hormones control legume nodule organogenesis [J]. Plant Communications, 2020, 1(5): 100104
- [18] WU Ying-jie, MA Lu-yao, LIU Qi-zhen, et al. The plant-growth promoting bacteria promote cadmium uptake by inducing a hormonal crosstalk and lateral root formation in a hyperaccumulator plant *Sedum alfredii* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 395: 122661
- [19] 张丹,孙萍,陈思瑾,等.液相色谱-串联质谱联用法同时测定

- 6种植物激素[J].甘肃农业大学学报,2020,44(5):98-103
- ZHANG Dan, SUN Ping, CHEN Si-jin, et al. Simultaneous determination of six plant hormones by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2020, 44(5): 98-103
- [20] WANG Lin, XU Jia-yang, JIA Wei, et al. Chloride salinity in a chloride-sensitive plant: focusing on photosynthesis, hormone synthesis and transduction in tobacco [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 153: 119-130
- [21] 杨君.水稻类核纤层蛋白 OsNMCP1 调控抗旱和根生长的功能研究[D].武汉:华中农业大学,2020
- YANG Jun. The functional study of lamin-like protein OsNMCP1 in regulating drought resistance and root growth in rice [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020
- [22] 李建召.脱落酸及相关激素调控梨芽休眠的分子机制研究[D].杭州:浙江大学,2019
- LI Jian-zhao. Studies on the molecular mechanism of ABA and related photohormones-regulated pear bud dormancy [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019
- [23] 郭建恒,张航航,黎莎莎,等.LC-MS 测定大花罗布麻中植物激素的方法学研究[J].西南民族大学学报(自然科学版), 2017,43(6):593-598
- GUO Jian-heng, ZHANG Hang-hang, LI Sha-sha, et al. LC-MS Determination of plant hormones in *Poa cynosuroides* [J]. Journal of Southwest Minzu University (Natural Science), 2017, 43(6): 593-598
- [24] 肖爱华,陈发菊,贾忠奎,等.梯度洗脱高效液相色谱法测定红花玉兰中 4 种植物激素[J].分析实验室,2020,39(3):249-254
- XIAO Ai-hua, CHEN Fa-ju, JIA Zhong-kui, et al. Determination of four plant hormones in *Magnolia wufengensis* by gradient elution high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2020, 39(3): 249-254
- [25] 钟冬莲,任传义,李祖光,等.HPLC-MS/MS 法同时测定马尾松松针中的水杨酸和茉莉酸[J].分析实验室,2019,36(2): 164-167
- ZHONG Dong-lian, REN Chuan-yi, LI Zu-guang, et al. Simultaneous determination of salicylic acid and jasmonic acid in *Pinus massoniana* by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2019, 36(2): 164-167
-
- (上接第 42 页)
- [15] Yoshioka H, Coates H W, Chua N K, et al. A key mammalian cholesterol synthesis enzyme, squalene monooxygenase, is allosterically stabilized by its substrate [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(13): 7150-7158
- [16] Furubayashi M, Li L, Katabami A, et al. Construction of carotenoid biosynthetic pathways using squalene synthase [J]. Febs Letters, 2014, 588(3): 436-442
- [17] Wang F, Jiang J G, Chen Q. Progress on molecular breeding and metabolic engineering of biosynthesis pathways of C30, C35, C40, C45, C50 carotenoids [J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(3): 211-222
- [18] Ortiz-Urquiza A, Keyhani N O. Stress response signaling and virulence: insights from entomopathogenic fungi [J]. Current Genetics, 2015, 61(3): 239-249
- [19] Liu G, Cao L, Rao Z, et al. Identification of the genes involved in growth characters of medicinal fungus *Ophiocordyceps sinensis* based on *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(6): 2663-2674
- [20] Lian T, Yang T, Liu G, et al. Reliable reference gene selection for *Cordyceps militaris* gene expression studies under different developmental stages and media [J]. Fems Microbiology Letters, 2014, 356(1): 97-104
- [21] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408
- [22] 殷林,林俊芳,钱璟,等.高产类胡萝卜素的蛹虫草液体培养基优化及其提取工艺研究[J].食品工业科技,2017,38(18): 79-84
- YIN Lin, LIN Jun-fang, QIAN Jing, et al. Optimization of the liquid culture medium composition for high carotenoid production by *Cordyceps militaris* and the investigation on the improvement of carotenoid extraction [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 38(18): 79-84
- [23] Furubayashi M, Li L, Katabami A, et al. Directed evolution of squalene synthase for dehydrosqualene biosynthesis [J]. Febs Letters, 2014, 588(18): 3375-3381