

# 人工老化处理对种子生理活性影响的研究进展

土登群配<sup>1,2</sup>, (小) 普布卓玛<sup>1,2</sup>, (大) 普布卓玛<sup>1,2</sup>, 洛桑塔青<sup>1,2</sup>, 桑旦<sup>1,2</sup>, 索朗旦增<sup>3\*</sup>

(1. 西藏自治区农科院草业科学研究所, 西藏 拉萨 850000; 2. 省部共建青稞和牦牛种质资源与遗传改良国家重点实验, 西藏 拉萨 850000; 3. 西藏自治区林芝市米林县丹娘乡农牧综合服务中心, 西藏 林芝 860000)

**摘要:**种子老化是种子生活史的一个重要环节, 具有生活力的种子在生理成熟期活力达到最高, 之后种子活力降低。人工老化处理种子是当前人们最常用的模拟种子老化的一种技术。本文主要综述了人工老化处理对种子生理活性的影响, 对内源激素、生理生化特性、遗传多样性等进行论述。并对人工老化种子的修复技术进行探讨, 对未来人工老化处理种子及种子修复技术进行展望。

**关键词:**人工老化; 种子; 生理生化; 基因多样性; 修复

**中图分类号:**S330.2 **文献标识码:**A

## Research Progress of Effect of Artificial Aging Treatment on Seed Physiological Activity

Tudengqunpei<sup>1,2</sup>, Pubuzhuoma<sup>1,2</sup> (Jr.), Pubuzhuoma<sup>1,2</sup> (Sr.), Luosangtaqing<sup>1,2</sup>, Sangdan<sup>1,2</sup>, Suolangdan-zeng<sup>3\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Hulled Barley and Yak Germplasm Resources and Genetic Improvement, Tibet Lhasa 850000, China; 2. Grassland Science Research Institute, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850000, China; 3. Agriculture and Animal Husbandry Comprehensive Service Center, Danniang Township, Milin County, Linzhi City, Tibet Autonomous Region, Tibet Linzhi 860000, China)

**Abstract:** Seed aging is an important part of seed life history. Viable seeds reach the highest vigor in the physiological maturity period, and then the seed vigor decreases. Artificial aging of seeds is the most commonly used technology to simulate seed aging. This article mainly reviews the effects of artificial aging on the physiological activities of seeds, including endogenous hormones, physiological and biochemical characteristics, genetic diversity, etc. The restoration technology of artificially aged seeds is discussed, and the future artificially aged seeds and seed restoration techniques are prospected.

**Key words:** Artificial aging; Seeds; Physiology and biochemistry; Gene diversity; Repair

## 1 种子活力概念

种子活力是种子在发芽和出苗期间的活性强度及特性的综合表现, 高活力种子在生长发育过程中有明显的生长优势和生产潜力, 且对不良环境的抗性强, 低活力种子对不良环境的抵抗力弱, 有的甚至不出苗, 种子活力的高低主要受遗传、种子发育期间

的环境条件及贮藏条件三方面的影响<sup>[1]</sup>。种子活力在生理成熟期达到最高, 其后活力开始发生不可逆的下降, 即种子劣变<sup>[2]</sup>。

## 2 人工老化种子研究现状

对种子老化机理和调控的研究一直广受关注, 采用人工老化处理模拟自然老化过程, 是研究种子老化常用的方法, 人工加速老化处理 (Accelerating Aging Treatment, AAT) 即通过高温高湿法加速供试种子生理生化劣变, 从而更直接、快速地考察和判定种子老化特性以及最优活力检测条件<sup>[2]</sup>。目前, 对人工老化种子的研究很广泛, 在花生 (*Arachis hypogaea*)、辣椒 (*Capsicum annuum*)、菘蓿豆 (*Medicago ruthenica*)、大豆 (*Glycine max*)、甜辣椒 (*Capsicum*

收稿日期: 2020 - 10 - 12

基金项目: 国家牧草产业技术体系拉萨综合试验站项目 (CARS-34) 资助

作者简介: 土登群配 (1978 - ), 男, 本科, 兽医师 (中级), 主要从事牧草种质资源与牧草育种研究, Tel: 13322515500, E-mail: 918898960@qq.com; \* 为通讯作者: 索朗旦增 (1990 - ), 男, 本科, 助理农艺师, 主要从事乡镇农业技术推广工作, E-mail: 954108336@qq.com。

*annuum*)、玉米 (*Zea mays*)、芝麻 (*Sesamum indicum*)、垂穗披碱草 (*Elymus nutans*) 和黑麦草 (*Lolium perenne*) 以及柔枝松、毛竹 (*Phyllostachys edulis*)、油松种等树木种子<sup>[3-13]</sup>上都有研究。

对于人工老化种子与自然老化种子机制是否一致这个问题之前也有人研究过,但其还存在分歧,有人认为人工老化种子与自然老化种子机制是一样的<sup>[14-15]</sup>,人工老化处理种子加快了种子老化的速度,而有些研究人员则表示两者的研究机制不同<sup>[16-17]</sup>。李稳香,颜启传<sup>[18]</sup>1997 年对杂交水稻进行相关研究表明:人工老化种子的细胞膜系统受到的损害大于自然老化种子,耐藏性不如自然老化种子,但其发芽和生理生化特性及播于田间后的生长性能均好于自然老化种子。随着老化时间的延长,自然老化种子的植株变矮,生育期缩短,而人工老化种子的株高及生育期均无变化,显示二者老化机制有异。这与 Gang li 和 Sen-Mandi<sup>[19]</sup>的研究一致,他们认为人工老化种子的胚利用外源蔗糖的能力明显强于自然老化种子。人工老化种子生理生化特性比较优越,为其后来在大田的表现较优越打下了基础,可以说二者是相一致的。

### 3 人工老化处理对种子生理活性的影响

#### 3.1 种子生理生化特性

近年来在人工老化处理种子对其生理生化特性影响方面的研究很多,主要通过测定种子发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数以及种子丙二醛 (MDA)、过氧化物酶、超氧化物歧化酶过氧化物酶 (POD) 及谷胱甘肽还原酶 (GR) 周小梅等<sup>[20]</sup>通过人工老化处理芝麻种子测定了其生理生化特性。王小丽等<sup>[21]</sup>通过 58 ℃ 恒温人工老化处理扁蓊豆种子依次处理 0、6、12、18、24、30、36 和 42 min 后取出种子测定其生理生化特性,研究表明扁蓊豆种子的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数和简易活力指数,均随老化时间的延长整体上呈下降趋势;扁蓊豆种子老化 6 min 后,其生活力比对照高;种子浸出液电导率、丙二醛 (MDA) 含量和可溶性含糖量均随老化时间的延长而升高。随之吴聚兰等<sup>[22]</sup>研究发现对大豆种子采用 40 ℃、100 % RH 高温高湿老化方法老化处理种子并测定了其活力和生理生化特性。结果表明:随着种子老化加深种子的各发芽指标均逐渐降低,这与之前的研究相一致,相对电导率、外渗可溶性糖和丙二醛含量逐渐升高,铜锌和总超氧化物歧化酶随老化时间延长而增加,锰超氧化物歧化酶呈

波浪式变化,过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶活性变化的总趋势是随老化时间延长而降低,而过氧化氢酶呈先升后降趋势。祝煜中等<sup>[23]</sup>以甜玉米品种‘农甜 88’和‘农甜 99’为试验材料,采用人工老化的方法处理玉米种子并测定生理活性指标,结果表明:2 个品种种子的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数、DHA 活性和 POD 活性逐渐降低,而 REC 和 MDA 含量则逐渐升高。以上实验都表明种子老化对种子生理生化特性影响比较大。不同物种种子衰老的生理特性具有一致性,从目前的研究进展看,并非单一因素造成种子劣变的发生,首先涉及到品种的遗传特异性(耐老特性,单双子叶等),其次关乎其内外环境的水热条件(干燥、水合等),再次与种子本身所处的生理状态(老化阶段以及程度)都具有不同程度的相关性,而蛋白羰基化作用则是促进种子老化的最主要因素之一。

#### 3.2 种子遗传多样性

蛋白质组 (proteome) 为一种基因组所表达的全部蛋白质,即某个生物个体、器官、组织或细胞在特定条件下所表达的全部蛋白质<sup>[24]</sup>。对豌豆 (*Pisum sativum*) 种子进行人工老化,使用基因芯片技术比较正常种子与不同老化时间 (8, 12, 15 d) 种子的转录水平基因表达差异,结果表明,在种子老化的过程中,共有 717 个差异表达的基因,其中 330 个上调,387 个下调,并且在 15 d 时差异表达的基因相对较多,这些基因多与蛋白翻译后加工、翻转,核糖体结构等相关,分析发现转录组重编程能够影响细胞程序性死亡的进程,并降低抗氧化能力,最终种子生活力下降<sup>[25]</sup>。祝煜等<sup>[26]</sup>研究发现以甜玉米品种‘农甜 88’和‘农甜 99’为试验材料,采用 SRAP 标记检测不同处理时间种子的遗传多样性,分析种子生理指标和遗传多样性与种子活力的关系。遗传多样性分析结果表明,2 个甜玉米品种的等位基因数、有效等位基因数和基因多样性均随着老化时间的增加而下降。

#### 3.3 胚乳内源激素

种子老化往往伴随着体内激素的变化,通常赤霉素类 (GA)、CTK 及乙烯等诱发种子萌发的激素物质减少,脱落酸类 (ABA) 物质增加 (Harrington, 1973)<sup>[27]</sup>。人工老化处理毛竹 (*Phyllostachys edulis*)<sup>[28]</sup>种子,结果表明:伴随老化程度的加深,毛竹种子表现出赤霉素 (GA)、生长素 (IAA) 含量降低,而脱落酸 (ABA) 含量增加。关于 GA 可以显著促进老化种子萌发力的作用也早在芝麻<sup>[29]</sup>和秋葵 (*Abelmoschus esculentus*)<sup>[30]</sup>种子的研究中得到验证。

王凤等<sup>[31]</sup>研究采用高温高湿人工老化处理的方法,研究老化对大麦种子萌发早期胚乳内源激素的影响。结果表明:人工老化处理使 4 个大麦种子胚乳中赤霉素(GA3)、吲哚乙酸(IAA)、玉米素核苷(ZR)、脱落酸(ABA)、油菜素内酯(BR)和茉莉酸甲酯(MeJA)含量发生明显的变化。在种子吸水阶段,经老化处理的种子胚乳内 GA3、ZR 和 BR 含量均低于未老化处理,而 IAA 和 MeJA 含量高于未老化处理;随着种子萌发,经老化处理的 GA3、ZR 和 BR 含量逐渐高于未老化处理,而 IAA 和 MeJA 含量低于未老化处理;经老化处理的 ABA 含量在萌发过程中始终高于未老化处理。进一步证实了种子老化对胚乳内源激素的影响。

## 4 老化处理种子的修复作用

有研究表明,可以通过物理、化学方法对种子活力进行修复<sup>[32]</sup>。马俊华<sup>[33]</sup>等研究以玉米自交系 Mo17 种子为试材,对不同老化水平的玉米种子进行氯化钙(CaCl<sub>2</sub>)、抗坏血酸(AsA)、聚乙二醇(PEG)、青霉素(Penicillin)和赤霉素(GA3)修复处理。氯化钙、抗坏血酸和青霉素处理后,其活力能得到一定的修复提高,而聚乙二醇、赤霉素处理对老化玉米种子的修复作用不大。抗坏血酸对老化后种子的修复作用最有效。崔路路等<sup>[34]</sup>也证实了聚乙二醇对老化甘蓝种子具有修复作用。张姣等<sup>[35]</sup>以高粱品种吉杂 123 和吉杂 127 为材料进行高温老化处理种子,再将这些人工作老化种子分别用 20 % 聚乙二醇(PEG)、500 mg · L<sup>-1</sup> 赤霉素(GA3)和 500 mg · L<sup>-1</sup> 抗坏血酸(AsA)3 种溶液进行修复,研究不同修复方法对老化高粱种子萌发特性的作用。研究结果表明:人工老化的高粱种子各发芽指标均得到改善,发芽率、发芽势、发芽指数以及活力指数的提高达到极显著水平( $P < 0.01$ ),其中发芽率提高最为显著。老化程度高的种子修复效果更大,2 个品种对于不同修复剂的响应不同。3 种不同修复处理后,吉杂 123 与吉杂 127 种子的电导率、MDA 含量、可溶性糖含量与对照相比大多显著下降,而 POD 酶活性出现一定程度的提高,这些指标的变化是种子修复作用的生理机制。综合各研究指标,3 种试剂对高粱种子的修复效果为 AsA > PEG > GA3。同时,AsA 成本低,是一种经济实用且效果良好的修复剂。以上研究证实了不管是人工老化种子还是自然老化种子,通过某种化学处理后其活性可以被修复。

## 5 结论与展望

人工老化处理种子不仅影响种子的生理生化特

性包括:种子发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数以及种子丙二醛、过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶及谷胱甘肽还原酶(GR)活性而且影响种子的基因多样性和种子的内源激素。老化处理后的种子可以通过物理或化学水平进行修复。

### 参考文献:

- [1] 李金华,王丰,廖亦龙,等. 水稻种子活力的生理生化及遗传研究[J]. 分子植物育种, 2009, 7(4): 772 - 777.
- [2] 颜启传. 种子学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 110 - 116, 425 - 431.
- [3] 陈志德,王州飞,刘永惠,等. 花生种子人工老化对萌发期种子活力的影响[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(6): 1411 - 1413.
- [4] Demirkaya M. Relationships between antioxidant enzymes and physiological variations occur during ageing of pepper seeds[J]. Horticulture Environment & Biotechnology, 2013, 54(2): 97 - 102.
- [5] 王凤,齐军仓,林立昊,等. 人工老化处理对大麦种子萌发早期胚乳内源激素的影响[J]. 作物杂志, 2016(6): 160 - 167.
- [6] Kaewnaree P, Vichitphan S, Klanrit P, et al. Effect of accelerated ageing process on seed quality and biochemical changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) seeds[J]. Biotechnology, 2011, 10(2): 175 - 182.
- [7] 刘明久,王铁固,陈士林,等. 玉米种子人工老化过程中生理特性与种子活力的变化[J]. 核农学报, 2008, 22(4): 510 - 513.
- [8] 梅鸿献,刘艳阳,武轲,等. 芝麻种子老化处理生理特性变化及种子活力适宜检测方法研究[J]. 华北农学报, 2013, 28(5): 169 - 174.
- [9] 吴浩,周青平,颜红波,等. 垂穗披碱草种子老化过程中生理生化特性的研究[J]. 青海大学学报: 自然科学版, 2014, 32(3): 6 - 10.
- [10] 李淑梅,王付娟,董丽平,等. 黑麦草老化处理后种子活力和生理生化特性的变化[J]. 黑龙江农业科学, 2015, 1(1): 133 - 135.
- [11] 马书燕,李吉跃,彭祚登. 人工老化过程中柔枝松种子内源激素含量变化的研究[J]. 种子, 2010 29(2): 4 - 8.
- [12] 蔡春菊,范少辉,刘凤,等. 毛竹种子人工老化过程中生理生化变化[J]. 林业科学, 2013, 49(8): 29 - 34.
- [13] 陈雨培,杨博,沈永宝. 油松种子萌发初始阶段胚乳内源激素含量变化研究[J]. 北京林业大学学报, 2012, 34(6): 30 - 33.
- [14] 吕凤金,马缘生. 作物种质资源保存研究论文集[C]. 学术期刊出版社, 1989: 173 - 193.
- [15] 黄上志,傅家瑞. 杂交水稻和不育系种子的劣变与生理生化变化[J]. 植物生理与分子生物学学报, 1987(3): 229 - 235.
- [16] Koos tra P T, Harrington J F. Proc Int Seed Test AS S, 1969 (34): 329 - 340.
- [17] Pet rez zelli L, Carel la G[J]. J Exp Bot, 1983, 34: 221 - 225.
- [18] 李稳香,颜启传. 杂交水稻自然老化种子与人工老化种子性能差异研究[J]. 杂交水稻, 1997(3): 26 - 28.
- [19] Gangli S, Sen-Mandi[J]. Seed Sci & Technol, 1990(18): 507 - 514.
- [20] 周小梅,王自霞,乔燕祥. 人工老化处理对芝麻种子生理生化特性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(4): 460 - 463.
- [21] 王小丽,李鸿雁,李志勇,等. 人工老化对扁蓿豆种子活力与生

- 理特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(1):515-517.
- [22] 吴聚兰, 周小梅, 范玲娟, 等. 人工老化对大豆种子活力和生理生化特性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(6):582-587.
- [23] 祝煜中, 夏黎明, 竺思仪, 等. 人工老化的甜玉米种子活力、生理特性和遗传多样性的变化[J]. 华南农业大学学报, 2018(1):1-6.
- [23] 刘娟, 归静, 高伟, 等. 种子老化的生理生化与分子机理研究进展[J]. 生态学报, 2016, 36(16):4997-5006.
- [25] Wasinger V C, Cordwell S J, Cerpa-Poljak A, et al. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes; *Mycoplasma genitalium*[J]. Electrophoresis, 1995, 16(7):1090-1094.
- [26] Chen H, Osuna D, Colville L, et al. Transcriptome-Wide Mapping of Pea Seed Ageing Reveals a Pivotal Role for Genes Related to Oxidative Stress and Programmed Cell Death[J]. Plos One, 2013, 8(10):e78471.
- [27] Harrington J F. Biochemical basis of seed longevity[J]. Seed Science and Technology, 1973(1):453-461.
- [28] 蔡春菊, 范少辉, 刘凤, 等. 毛竹种子人工老化过程中生理生化变化[J]. 林业科学, 2013, 49(8):29-34.
- [29] Tabatabaei S A. The Effect of priming on germination and enzyme activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds after accelerated aging[J]. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2013, 9(4):132-138.
- [30] Raj D, Dahiya O S, Arya R K, et al. Improvement in germination characteristics in artificially aged seeds of okra (*Abelmoschus esculentus*) by osmoconditioning[J]. Indian Journal of Agricultural Sciences, 2013, 83(7):699-702.
- [31] 王凤, 齐军仓, 林立昊, 等. 人工老化处理对大麦种子萌发早期胚乳内源激素的影响[J]. 作物杂志, 2016(6):160-167.
- [32] 乔爱民, 傅家瑞. PEG 渗透引发处理对菜菔老化种子 DNA 损伤的修复作用[J]. 园艺学报, 2000, 27(1):62-64.
- [31] 吴旭红, 冯晶, 常志敏. 青霉素对老化香瓜种子萌发和酶活性的影响[J]. 生物技术, 2003, 13(1):28-29.
- [33] 马俊华, 刘建军, 乔燕祥, 等. 老化玉米种子修复处理后的活力效应研究[J]. 玉米科学, 2012, 20(4):101-104.
- [34] 崔路路, 于海霞, 李景富, 等. 聚乙二醇对老化甘蓝种子活力的影响[J]. 北方园艺, 2013(24):31-34.
- [35] 张姣, 韩熠, 孙韵璧, 等. PEG、GA3 和 AsA 对高温老化处理高粱种子的修复作用[J]. 沈阳农业大学学报, 2017, 48(3):265-270.