

储藏过程中种子老化机制的研究进展

普布卓玛^{1,2}, 索朗旦增³, 仁增旺姆⁴, (大)普布卓玛^{1,2},
罗 增^{1,2}塔给多吉⁵, 尼玛仓决^{1,2*}

(1. 省部共建青稞和牦牛种质资源与遗传改良国家重点实验室 西藏 拉萨 850000, 2. 西藏自治区农牧科学院 草业科学研究所, 西藏 拉萨 850000; 3. 西藏林芝市米林县丹娘乡农牧综合服务中心 西藏 林芝 860500; 4. 日喀则市农牧业科学研究推广中心 西藏 日喀则 857000; 5. 阿里地区草原站 西藏 阿里 859000)

摘 要:种子老化(或称种子劣变)是指种子本身生存能力下降而导致种子丧失活力和萌发力的不可逆转变化现象,亦是一个随着种子贮藏时间延长而发生变化,且不可避免的过程。种子老化能引起种子活力下降、造成优质种质缺乏,十分严重的情况下甚至会影响生态环境及人类生存。种子老化的生理生化过程可以通过种子萌发、幼苗生长、酶活性、呼吸及能量系统、核酸和蛋白质合成能力等方面来阐述。

关键词:储藏;种子;老化

中图分类号:S325

文献标志码:A

Research Progress on Seed Aging Mechanism During Storage

Pubuzhuoma^{1,2}, Suolangdanzeng³, Renzengwangmu⁴, (DA) Pubuzhuoma^{1,2}, Luo Zeng^{1,2}, Tageduoji⁵, Nima Cangjue*

(1. State Key Laboratory of Highland Barley and Yak Germplasm Resources and Genetic Improvement, Tibet Lhasa 850000, China; 2. Institute of Pratacultural, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850000, China; 3. Agriculture and Animal Husbandry Comprehensive Service Center, Danniang Township, Milin County, Nyingchi City, Tibet Nyingchi 860500, China; 4. Shigatse Agricultural and Animal Husbandry Scientific Research and Promotion Center, Tibet Shigatse 857000, China; 5. Grassland Station in Ngari Area, Tibet Ngari 859000, China)

Abstract: Seed aging (or seed deterioration) refers to an irreversible change with the decrease of seed viability resulting in loss of vigor and germination capacity. This is an inevitable process with the prolonged storage time of seeds. Seed aging can cause the decline of seed vigor, lack of high-quality germplasm, and even affect the ecological environment and people's survival in very serious cases. The physiological and biochemical process of seed aging can be explained from the aspects of seed germination, seedling growth, enzyme activity, respiration and energy system, nucleic acid and protein synthesis ability.

Key Words: storage; seed; aging

种子引发最早由 Heydecker 等^[1]提出,是指在控制条件下种子缓慢吸水并回干的过程,从而使种子达到胚根即将突破种皮时的早期萌发状态。其原理是控制种子的吸水作用到一定水平,然后使种子处于一种代谢状态^[2]。

为评估老化对种子质量的影响,并研究种子老化与种子引发之间的相互作用, Ghasemi 等^[3]研究

发现种子老化降低了种子的发芽率、发芽指数、幼苗长度、正常出苗率、幼苗干质量、过氧化氢酶和抗坏血酸过氧化物酶活性,提高了平均发芽时间和电导率。加氢引发可以改善老化种子质量并增加酶活性。杜雄明等^[4]也证实用聚乙二醇作为种子引发剂,可以提高种子活力、萌发、出苗整齐及种子抗逆性。对于活力丧失严重的种子,也可以利用引发的方法恢复其活力,以实现对一些临亡种质的抢救^[5]。基于抗氧化剂能够有效地清除自由基,减少膜脂的过氧化,很多研究者常用抗坏血酸、谷胱甘肽、茶多酚、PEG 等^[6-8]作为引发剂来提高种子活力。因此,引发是一种可用于改善老化种子萌发和幼苗生长特性的手段。

收稿日期:2022-01-22

项目基金:国家牧草产业技术体系拉萨综合试验站项目(CARS-34)

作者简介:普布卓玛(1991-),女,研究实习员,主要从事植物逆境生物学研究,E-mail:puzhuo050509@nwfafu.edu.cn;*为通讯作者:尼玛仓决(1988-),研究实习员,主要从事牧草育种研究,E-mail:nmcj1993@163.com。

种子质量是影响作物生产潜力的主要因素之一。种子质量取决于母体植物的身体状况,并在加工和储存过程中变质。一些条件或因素会降低种子质量,其中基本原因有温度、相对湿度、种子含水量、微生物和昆虫的入侵以及组织受到的损害。由于种子在贮藏过程中老化导致种子质量下降,可能会导致种子发育迟缓,幼苗出现异常,甚至不能出苗,严重降低种子品质^[9]。本文依据中外种子研究的最新进展,从以下方面说明种子储藏过程中的老化机制。

大多数植物产生干燥耐受的种子,它们可以在干燥状态下长期存活,这种特性被利用于种子库中的种子储存,是一种能够广泛使用并用于非原生境保存植物多样性的方法。种子的寿命长度依赖于储存条件,特别是湿度和温度。低湿度和低温度可以延长种子的寿命,并且这是许多种子库的储存条件^[10]。但库存种子生活力监测表明,部分种子的活力在低温下仍出现了明显的下降,活力丧失严重^[11]。即使在最佳的储存条件下,由于细胞组分氧化损伤的积累,种子也会逐渐变质直至死亡。监测储存期间的种子活力十分必要。

1 储藏过程中种子的生理变化

种子老化指标主要有种子发芽迟缓、正常幼苗比例下降、抗氧化酶活性发生变化等。引发应用于种子种植前,特别是在非生物胁迫条件下用来改善种子特性^[12]。种子保存过程中活力会逐渐衰退,其生理指标也在不断变化。王勇等^[13]研究表明,贮藏超过6年的老芒麦种子活力极大地丧失。生理指标测试显示,种子浸出液电导率随贮藏年限增加而升高、过氧化物酶及TTC含量则降低。酶促抗氧化系统在维持种子活力,调节植物生长发育方面起着重要的作用,可清除种子老化过程中产生的过量活性氧,并调节植物发育过程中这些化合物的水平^[14]。陈玲玲等^[15]研究表明,敖汉苜蓿种子随着贮藏时间延长,种子可溶性蛋白含量降低,SDO、POD、CAT、脯氨酸和MDA积累量增加,种子质量下降,不正常种苗数和死种子数增多,种子活力下降。储藏过程中种子的酶活性普遍降低了呼吸能力,进而降低了能量(ATP)并同化了发芽的种子,同时也证明了抗氧化酶降低与加速老化和发芽特性的降低有关。Tabatabaei^[16]提出了抗氧化酶能力与种子活力之间的正相关关系。长时间贮藏的种子淀粉

和可溶性蛋白质水平显着降低。此外,高浓度还原糖的存在会导致蛋白质糖基化,进而导致脂质过氧化,增加了电解质泄漏,并随后引起广泛的胚胎损伤或恶化^[17]。但Veselova等^[18]发现早熟老化过程中与种子劣化相关的是碳水化合物非酶促水解,而脂质过氧化是非决定性因子。

2 储存过程中种子的生化变化

种质资源库可以最大限度地延长耐脱水种子(即正常型种子)的寿命,且干燥和储存被认为是获得优质种子的重要条件^[19]。然而,即便是优越的储存条件,种子最终仍将面临死亡。因此,解析种子老化过程对于种质资源库的储存至关重要。陈虹颖^[20]研究发现,种子老化是一个由基因控制的过程,而且老化过程启动了细胞程序性死亡,最终导致种子活力丧失。

2.1 种子中RNA的变化

种子萌发过程中的活力受RNA合成的影响。研究表明,老化能有效减少RNA的合成^[21]。而引发则会促进RNA的合成,其作用可能是通过对核糖体亚基、转录起始因子和延长因子的调节而进行的。对棉花种子肌动蛋白基因进行PCR分析表明,引发可诱导RNA的合成^[22]。Coolbear等^[23]引发番茄种子过程中发现RNA的含量有所增加,这主要归结于rRNA的合成。rRNA增加有助于提高核糖体的完整性,从而促进蛋白合成。

2.2 种子中DNA的变化

引发也会促进DNA合成。玉米、小麦种子中DNA含量经引发后明显高于未引发种子中的DNA含量,表明引发促进了DNA复制,这为萌发时细胞分裂做好了前期的生理准备^[24]。有报道称老化能促进DNA积累并引起DNA损伤,其中引发对DNA有修复作用,且对DNA的修复发生在复制前^[25]。Andreev等^[26]研究核染色质环结构域中的DNA结构组织,发现了一种可溶性核蛋白显示核酸酶活性,该酶活性随着发芽率降低而下降,这也解释了在基质附着区域减少的DNA片段化现象,证明该现象变化的主要原因是由于染色质环结构域切除酶活性降低所致。

2.3 种子中蛋白质丰度变化

Gao等^[27]对两个水稻杂交品种进行了平行分析,它们具有相同的恢复系,但在种子储存方面存在显着差异。贮藏2年后,两杂交品种的发芽率存

有显著差异,且发芽率低的品种中丙二醛水平出现逆转。经研究发现,两者胚胎中的蛋白质存在显著差异,发芽率较低的品种中一些疾病或防御蛋白(包括DNA损伤修复或耐受蛋白)及推定的晚期胚胎发生蛋白丰富度显著下调;而另一个杂交品种中它们的水平并没有发生变化。由此,推测这些种子的储藏蛋白可能与种子老化相关。经蛋白质组学分析表明,种子老化与特定蛋白质丰富度变化有关,并揭示了种子老化的其他机制。蛋白质1-异柠檬酸O-甲基转移酶(PIMT)可以限制种子中ROS积累及脂质过氧化等,特别是在老化过程中,有助于增强种子活力和延长寿命^[28-29]。

2.4 种子中线粒体代谢的变化

线粒体是真核生物细胞内重要的细胞器,是细胞能量合成和物质代谢的中心,也是活性氧产生的主要位点,而活性氧是导致种子老化的主要因素。种子老化过程中呼吸速率和氧化磷酸化效率的降低,是由于线粒体结构逐渐被破坏所导致的抗氧化功能发生改变^[30]。Miquel等^[31]于1980年提出了衰老的线粒体学说,该学说将线粒体、ROS和衰老联系到一起。Berjack等^[32]认为,种子老化首先会出现线粒体损伤。线粒体的电子传递链是种子内源性ROS产生的主要部位,细胞内生物大分子的氧化损伤,从而引起细胞功能异常是种子在老化过程中线粒体ROS生成量增加的结果^[33]。Ying^[34]等研究表明,氧化修饰伴随着电压依赖性阴离子通道(VDAC)功能的改变和苹果酸脱氢酶活性的丧失,并发现ROS喷发诱导改变和修改特定的线粒体蛋白,可能参与了线粒体恶化过程,最终导致种子活力损失。

2.5 种子老化的遗传性影响

Daniel等^[35]研究表明,在老化过程中引起的遗传退化在特定生理基准储存中种子的遗传完整性可能丧失。Adeboye等^[36]进行了两项实验来评估衰老诱导的遗传变化,并确定了在老化或水稻种子贮藏期间丧失遗传完整性的生理阈值。收集当年种子与库中保存种子进行比较,通过Direct TM PCR试剂盒的简单重复序列技术(SSR)标记评估衰老期间的遗传变化。使用PAST TM软件计算遗传距离指数,并从遗传距离矩阵估计百分比遗传完整性。在基因库存试验中,贮藏1年和2年后种子萌发率均在80%以上,各品种之间没有显著差异,所有材料的SSR谱也相似,从而确定了可用于再生

储存的稻米种子,以便在存储过程中保持最佳的遗传完整性。引发会增加质体DNA和线粒体DNA的含量,因此经引发的种子其线粒体含量显著增高^[37],同时也表明种子老化引起的染色体畸变不能传递到下一代^[38]。

3 展望

近年来,我国牧草种子的引发研究还处于起步阶段,引发技术还很欠缺。随着对引发技术研究的深入,如用PEG引发处理种子的一些问题仍然值得注意,其处理机制仍需进一步研究。研究种子引发会对濒危牧草的保护起到积极作用。

早期研究认为,活性氧累积是造成种子老化的主要因素,但目前活性氧与种子老化间的具体机理仍不清楚。利用蛋白质组学研究种子线粒体与老化的关系,从分子角度探究种子老化的机理,是未来种子老化机理研究的发展方向。由于线粒体分离、纯化技术的局限性以及线粒体数据库的贫乏,种子线粒体蛋白质组学研究仍需进一步探索。

种子质量控制的趋势是提高效率,包括开发新的测试技术,以非破坏性的方式快速获得种子批次之间准确的数据。通过对种子活力及生理生化变化的研究,找出其活力下降的主要原因及生理生化变化规律,进一步探讨种子劣变的机理,为延缓种子劣变过程提供理论依据,同时对合理贮藏种子,保持或提高种子活力,确保其播种质量,满足种子生产都具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] Heydecker W, Higgins J, Gulliver R L. et al. Accelerated Germination by Osmotic Seed Treatment [J]. Nature, 1973, 246(5427): 42-44.
- [2] McDonald M B. Seed Technology and Its Biological Basis [M]. Florida: CRC Press, 2000.
- [3] Ghasemi E, Ghahfarokhi M G, Darvishi B, et al. The Effect of Hydro-Priming on Germination Characteristics, Seedling Growth and Antioxidant Activity of Accelerated Aging Wheat Seeds [J]. Cercetari Agronomice in Moldova, 2014, 47(4): 41-48.
- [4] 杜雄明,潘家驹,汪若海. 棉纤维细胞分化和发育[J]. 棉花学报, 2000, 12(4): 212-217.
- [5] 赵玥,辛霞,王宗礼,等. 种子引发机理研究进展及牧草种子引发研究展望[J]. 中国草地学报, 2012, 34(3): 102-108.
- [6] Basu R N. An Appraisal of Research on Wet and Dry Physiological Seed Treatments and Their Applicability with Special Reference to Tropical and Subtropical Countries [J]. Seed Sci. Technol. 1994, 22: 107-126.
- [7] Tavili S, Zare A E. Hydropripping Ascorbic and Salicylic acid Influ-

- ence on Germination of *Agropyron Elongatum* Host [J]. Research Journal of Seed Science, 2009, 2(1):16-22.
- [8] 夏方山,毛培胜,王明亚,等. PEG引发对老化燕麦种子抗氧化性能的影响[J]. 草地学报, 2016, 24(5):933-938.
- [9] L. Yang, B. Wen. Seed Quality[M]. Elsevier Ltd:2017.
- [10] L. Colville. Seed Storage[M]. Elsevier Ltd:2017.
- [11] Walters C, Wheeler L M, Grotenhuls J M. Longevity of Seeds Stored in a Genebank: Species Characteristics [J]. Seed Sci. Res.2005, 15:1-20.
- [12] Ghasemi E, Ghahfarokhi M G, Darvishi B, et al. The Effect of Hydro-Priming on Germination Characteristics, Seedling Growth and Antioxidant Activity of Accelerated Aging Wheat Seeds[J]. Cercetari Agronomice in Moldova, 2015, 47(4): 41-48.
- [13] 王勇,徐春波,韩磊. 不同贮藏年限老芒麦种子活力研究[J]. 种子, 2012, 31(8):14-17.
- [14] Yao Z, Liu L, Gao F, et al. Developmental and Seed Aging Mediated Regulation of Antioxidative Genes and Differential Expression of Proteins During Pre-and Post-germinative Phases in Pea [J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(15): 1477-1488.
- [15] 陈玲玲,程航,张阳阳,等. 不同贮藏年限敖汉苜蓿种子活力及生理特性的研究[J]. 种子, 2017, 36(3):23-27, 32.
- [16] Tabatabaei S A. The Changes of Germination Characteristics and Enzyme Activity of Barley Seeds under Accelerated Aging [J]. Cercetari Agronomice in Moldova, 2015, 48(2): 61-67.
- [17] Moncaleano-Escandon J, Silva B C F, Silva S R S, et al. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 44: 684-690.
- [18] Veselova T V, Veselovsky V A, Obroucheva N V. Deterioration Mechanisms in Air-dry Pea Seeds During Early Aging[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2015, 87: 133-139.
- [19] Cristiane Fernandes Lisboa, Rodrigo Starnek Lopes De Araújo, Itamar Rosa Teixeira, et al. Influence of Water Content on the Quality of Pigeonpea Seeds[J]. American Journal of Plant Sciences, 2017, 8(10):2397-2406.
- [20] 陈虹颖. 种子老化由基因控制[J]. 种子科技, 2013, 31(12): 41.
- [21] 王彦荣,刘友良,沈益新. 种子劣变的生理学研究进展综述[J]. 草地学报, 2001, 9(3): 159-163.
- [22] Shinde P Y. Evaluation and Enhancement of Seed Quality in Cotton [M]. New Delhi: Indian Agricultural Research Institute, 2008.
- [23] Coolbear P, Slater R J, Bryant J A. Changes in Nucleic Acid Levels Associated with Improved Germination Performance of Tomato Seeds After Low Temperature Presowing Treatment[J]. Annals of Botany, 1990, 65(2): 187-195.
- [24] Sung F J M, Chang Y H. Biochemical Activities Associated with Priming of Sweet Corn Seeds to Improve vigor[J]. Seed Science and Technology, 1990, 65(1): 21-26.
- [25] Thornton J M, Collins A R S, Powell A A. The Effect of Aerated Hydration on DNA Synthesis in Embryos of *Brassica Oleracea* L. [J]. Seed Science Research, 1993, 3(3): 195-199.
- [26] Andreev I O, Spiridonova E V, Kunakh V A, et al. Aging and Loss of Germination in Rye Seeds is Accompanied by a Decreased Fragmentation of Nuclear DNA at Loop Domain Boundaries[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2004, 51(2): 241-248.
- [27] Gao J, Fu H, Zhou X, et al. Comparative Proteomic Analysis of Seed Embryo Proteins Associated with Seed Storability in Rice (*Oryza sativa* L.) During Natural Aging[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 103: 31-44.
- [28] Min C W, Kim Y J, Gupta R, et al. High-throughput Proteome Analysis Reveals Changes of Primary Metabolism and Energy Production Under Artificial Aging Treatment in Glycine Max Seeds [J]. Applied Biological Chemistry, 2016, 59(6): 841-853.
- [29] Petla B P, Kamble N U, Kumar M, et al. Rice Protein 1-Isoaspartyl Methyltransferase Isoforms Differentially Accumulate During Seed Maturation to Restrict Deleterious IsoAsp and Reactive Oxygen Species Accumulation and Are Implicated in Seed Vigor and Longevity[J]. New Phytologist, 2016, 211(2): 627-645.
- [30] 朱艳乔,闫慧芳,夏方山,等. 线粒体与种子老化的关系[J]. 草业科学, 2016, 33(2):290-298.
- [31] Miquel J, Economos A C, Fleming J, et al. Mitochondrial Role in Cell Aging[J]. Experimental Gerontology, 1980, 15(6): 575-591.
- [32] BERJAK P, Villiers T A. Ageing in Plant Embryos[J]. New Phytologist, 1970, 69(4): 929-938.
- [33] 田茜,辛霞,卢新雄,等. 植物种子衰老与线粒体关系的研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(2): 283-287.
- [34] Ying Li, Yu Wang, Hua Xue, et al. Pritchard, Changes in the Mitochondrial Protein Profile due to ROS Eruption During Ageing of Elm (*Ulmus pumila* L.) Seeds [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 114:72-87.
- [35] Daniel I O, Adabale O W, Adeboye K A, et al. Evaluation of Genetic Integrity of Tomato Seeds During Ageing by Microsatellite Markers[J]. Nigerian Journal of Genetics, 2014, 28(2): 29-33.
- [36] Adeboye K A, Adabale O W, Adetumbi J A, et al. SSR Analysis of Genetic Changes During Artificial Ageing of Rice Seeds Stored Under Gene Bank Management[J]. Plant Breeding and Seed Science, 2015, 71(1): 37-45.
- [37] Portis E, Lanteri S. Relationship Between Beta-tubulin Accumulation and Nuclear Replication in Osmoprimed *Capsicum Annuum* L. Seeds [J]. Capsicum and Eggplant Newsletter, 1999, 18: 87-90.
- [38] Murata M, Tsuchiya T, Roos E E. Chromosome Damage Induced by Artificial Seed Aging in Barley [J]. Tag Theoretical and Applied Genetics, 1984, 67(2): 161-170.