

植物种子寿命的生理及分子机制研究进展

周文冠, 孟永杰, 陈 锋, 帅海威, 罗晓峰, 杨文钰, 舒 凯*

(四川农业大学 农学院生态农业研究所, 农业部西南作物生理生态与耕作重点实验室, 四川省作物带状复合种植工程技术中心, 成都 611130)

摘 要: 种子寿命是衡量种子质量高低的关键指标之一, 直接关系到种子萌发、萌发后幼苗的生长发育以及作物产量高低。种子寿命的调控是一个复杂的生物学过程, 影响种子寿命的因素包括环境因素、种子自身的结构、营养成分组成及含量以及调控种子寿命相关的关键基因。研究储藏过程中种子生理生化指标的变化, 以及相应关键基因的生物学功能, 掌握调控种子寿命的生理及分子机制, 对于减少种子内部能量消耗, 进一步延长种子寿命具有重要意义。该文综述了近年来国内外有关调控种子寿命的生理及分子机制, 重点阐述了调控种子寿命的相关关键基因的研究进展, 并讨论了各种外部因素对种子寿命的调控机理。

关键词: 种子寿命; 环境胁迫; 生理机制; 基因调控

中图分类号: Q945.6; Q789 **文献标志码:** A

Advances in Studies of Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Seed Longevity

ZHOU Wenguan, MENG Yongjie, CHEN Feng, SHUAI Haiwei,
LUO Xiaofeng, YANG Wenyu, SHU Kai*

(Key Laboratory of Crop Ecophysiology and Farming System in Southwest China, Ministry of Agriculture, Institute of Ecological Agriculture, Sichuan Agricultural University, Sichuan Engineering Research Center for Crop Strip Intercropping System, Chengdu 611130, China)

Abstract: As one of the key parameters of seed quality, seed longevity is directly related to seed germination, the growth and development of young seedlings, and finally the crop yield. Seed longevity is a complex biological process which regulated by numerous exogenous and endogenous factors, such as structure, nutrient composition and related key genes. Investigating the changes of physiological and biochemical indices, biological function of the related genes during seed storage process to reduce the energy consumption of seed, is great significant to further extend the longevity of seed. In this review paper, we summarized the physiological and molecular mechanisms, related key genes which have dominant roles on the changing of seed longevity. Furthermore, the regulation mechanisms of various external indices on seed longevity are discussed. Finally, we discussed probable research directions in the future.

Key words: seed longevity; environmental stress; physiological mechanism; gene regulation

收稿日期: 2016-09-25; 修改稿收到日期: 2016-12-08

基金项目: 四川省教育厅科研项目(16ZB0040); 中国博士后科学基金(2014M552377, 2016T90868); 国家重点基础研究发展计划(973计划, 2011CB100402)

作者简介: 周文冠(1992—), 男, 硕士研究生, 主要从事植物遗传学、分子生物学研究。E-mail: wenguanzhou@126.com

* 通信作者: 舒 凯, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事植物遗传学、分子生物学研究。E-mail: kshu@sicau.edu.cn

植物种子寿命的变化是一个复杂的由量变到质变的生物学过程,是各种生理生化反应的综合体现^[1]。种子收获后,随着贮藏时间的延长,其内部生理生化状态会发生一系列变化,包括膜结构和功能、呼吸作用、酶活性、合成能力、贮藏物质、超微结构的损伤和内源激素含量等方面^[2]。上述因素均会导致种子质量降低,活力下降。如禾本科作物种子的衰老、霉变,油料作物种子中脂肪酸的酸败,产生有毒有害物质,使种子寿命急剧缩短^[3]。这些因素通过直接或间接地对种子寿命的影响,进而影响人类的生产和生活。在农业生产上,种子作为植物繁殖的主要方式^[4],其寿命直接关系到田间出苗率、植物学性状和经济性状^[5];在食品安全方面,种子质量还关系到食品品质的优劣及膳食安全。

通过对调控种子寿命的生理和分子机制的研究,掌握各因素对种子寿命的影响机理,尽可能地创造适宜的储藏条件,降低种子储藏过程中物质的消耗和 DNA 损伤,以延长种子的贮藏年限。这既保持了原品种所特有的典型性状,使种子质量保持在一个较高水平,又能有效地减少病虫害的发生,节省了人力、物力以及经济上的投入。本文对影响种子寿命的各种主要因素研究进展情况进行综述,讨论了储存环境、种皮结构、储藏物质及酶活性等对种子寿命调控的生理及分子机制,并重点介绍了参与种子寿命调控的关键基因,为农业生产和粮食储存提供理论指导。

1 种子寿命

种子寿命(seed longevity)是指种子群体在一定的环境条件下保持生活力的最长期限,即种子能存活的时间^[6-7]。植物种子的寿命主要因物种的不同而表现出差异,不同的科、属、种之间种子的寿命有明显的差异。Ewart 认为种子的寿命可以分为 3 类,即短寿命种子(microbiotic seed),如杨(*Populus*)、柳(*Salix babylonica*)、花生(*Arachis hypogaea*)、柑橘(*Citrus reticulata*)等;中等寿命种子(mesobiotic seed),如小麦(*Triticum aestivum*)、大豆(*Glycine max*)、水稻(*Oryza glaberrima*)等;长寿命种子(Macrobiotic seed),如绿豆(*Vigna radiata*)、小豆(*Vigna angularis*)、芝麻(*Sesamum indicum*)、白菜(*Brassica pekinensis*)等^[8-9]。不同种子之间的寿命差异非常大,如沉睡在古墓中的莲子(*Nelumbo nucifera*)寿命可达千年之久,而柳树(*Salix babylonica*)种子的寿命只有短短几十个

小时^[10-11]。

种子寿命主要受种子自身结构以及与寿命相关的关键基因调控,同时还受制于母株在种子成熟过程中的环境条件和收获后的储存条件^[12]。如种子在生长发育过程中,气候条件的改变以及病虫害、农药对母株造成的损伤,收获、运输、脱粒过程中的机械损伤等,将直接影响种子质量或种子完整度,使种子的功能和结构发生变化,导致种子寿命缩短。此外,种子收获后在储藏过程中随着时间延长或受到环境胁迫影响,造成种子内生物大分子的损伤积累,如蛋白质、脂类、核酸的损伤积累等^[13-14],影响种子质量和衰老速率,最终影响种子寿命。种子寿命的缩短不仅影响种子的萌发,而且会导致出苗时间的延长及出苗不齐,幼苗成活率降低,并会影响株高等植物学特性,甚至会有畸形苗的产生^[15]。

2 外在因素对种子寿命的影响

影响种子寿命的主要外在因素包括储存时的初始含水量、贮藏温度、湿度、种皮质量和储存环境氧含量,以及非生物胁迫的影响等^[16]。不同植物的种子由于自身结构特点和内部储存的生物大分子种类及含量不同,导致不同种子的最佳储存环境存在差异。为了进一步提高种子储存水平,需要掌握各因素影响种子衰老的机理^[17],并采用适当的方法以延长种子寿命。

2.1 环境温度对种子寿命的影响

温度主要通过改变种子中酶的活性影响种子寿命。种子内储存物质消耗的速率主要由呼吸强度决定。一般而言,温度和含水量在影响种子寿命过程中共同发挥作用^[18]。在一定范围内,温度和含水量越高,种子呼吸作用越强。因此,合理控制环境温度,会降低种子内生理生化反应速率,可以适当延长种子寿命^[19]。

2.2 含水量及空气湿度对种子寿命的影响

种子中的含水量是影响种子寿命的因素之一^[20],含水量的高低在一定程度上决定了化学反应速率。在一定范围内,含水量与种子衰老速率成正比关系。随着含水量的增加,电解质的渗透加强,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(hydrogen peroxidase, CAT)等一系列抗氧化酶的活性下降^[21],种子应对氧胁迫的能力减弱,种子寿命缩短。经过适度干燥处理后的种子,代谢速率比未干燥的种子低,膜完整性以及各种酶的活性都得到了较好的保存,最大限度地保持了种子寿

命^[21]。但如果过度干燥处理,导致种子含水量低于临界水分时,使结合了束缚水的一些生物大分子的结构发生变化,失去原有的生物活性,种子活力降低^[22-24],种子寿命受到影响。另外,种子储存在空气湿度大的环境中,自由水和束缚水的比例增大,呼吸速率升高^[20]。在消耗大量的营养物质的同时,产生对种子有毒害作用的代谢产物,释放热量加速蛋白质变性,从而影响种子寿命。

2.3 环境中的电离辐射及氧含量对种子寿命的影响

Schwember 等通过对短寿命种子洋葱(*Allium cepa* L.)和莴苣(*Lactuca sativa* L.)的研究,认为空气中的 O₂ 参与了种子的劣变。活性氧(reactive oxygen species, ROS)能与许多大分子(脂质、核酸和蛋白质)发生氧化或过氧化反应,使细胞结构变化、有机体损伤^[25-27]。有研究表明,在低氧含量(0~2%)条件下储存种子,虽然有利于延长种子寿命,但是低氧环境只能降低有氧呼吸速率和 ROS 含量,并不能完全控制种子在长期储藏过程中因物质消耗而导致的种子质量下降^[28]。

罗宗洛等^[29]研究证明,电离辐射主要作用于细胞组织中的生物大分子。在种子细胞中,除无机盐以离子形式存在外,大多数元素以生物大分子形式存在,如碳水化合物、各种结构蛋白、组织蛋白、核糖、核酸等。环境中的电离辐射使生物大分子的结构和状态发生改变,导致细胞亚显微结构发生一系列物理化学变化^[29]。这些变化引起种子通透性的改变,使电解质由胞内渗透到胞外^[30],从而使其它的一些生理指标发生变化,如水势、等电点等。电离辐射同时使细胞内酶的活性变化^[29],营养物质发生氧化,形成醛、酮等化合物或者其氧化态。用电离辐射处理后的种子,其损伤程度与储存时间有关,随着时间的延长,导致种子内有关基因的损伤程度加重,甚至形成畸形的染色体^[31-32],最终导致细胞死亡。

3 种子自身因素对其寿命的影响

种皮对种子生长发育和种子内部营养物质的保护有重要作用^[33]。种子内部含有大量的营养物质,在种子存储的过程中,种子的寿命与储存物质的代谢速率有关,包括种子中各种酶活性改变、生物膜结构变化、脂肪酸的氧化与过氧化等,使种子的寿命缩短^[34]。研究种子自身因素对寿命的影响,了解种子中物质、能量的消耗过程以及一些修复机制,并结合种子存储的现状,应用于实际生产中,使种子寿命得

到更好的维持。

3.1 种皮结构对种子寿命的影响

种皮是由珠被发育而来的,伴随着一些细胞的特化、色素的沉积,构成了保护种子的屏障^[35]。种皮作为种子内部物质与外界环境之间进行物质和能量交换的重要通道,其结构组成在一定程度上决定了种子的寿命。一般认为,种皮厚且质地较密、机械强度较大、伴随有角质化或有蜡质层的硬实种子,能有效阻止种子内部与外界环境中气体、水分的交换,以及微生物、蛀虫等侵蚀,种子寿命相对较长^[36];而种皮质地较薄、机械强度低的种子,在储藏过程中,种子内部与外界环境之间容易发生物质和能量交换,同时在种子运输过程中易造成机械损伤,破坏保护性组织,从而缩短种子的寿命。

3.2 种子内储藏性物质的变化

ROS 早已被广泛认为是影响种子寿命的重要因素,成熟后的种子在不良环境因素(高温、干旱和盐分)的胁迫下,为适应环境,将连续不断地产生 ROS^[27,37-38]。ROS 能与脂肪酸等物质发生反应,导致正常的生理生化过程发生变化^[3]。大豆种子脂肪酸的含量较高,其中以不饱和脂肪酸(亚油酸、油酸、亚麻酸)为主。Priestley 等^[39]通过实验表明,大豆种子在长期储存过程中,其中含有的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)发生氧化或过氧化,使种子生活力降低,并加速了其衰老。ROS 通过损伤的种皮,直接与种子内部储藏物质接触,发生自由基的链式反应,使生物膜氧化或过氧化反应速率加快,并产生毒性很强的脂肪醛等醛类化合物。这类化合物能与蛋白质结合生成聚合物,导致蛋白质的功能和稳定性发生变化^[3,25]。同时,ROS 还会导致细胞结构发生不可逆转的变化,膜脂的流动性降低,进而促使 Amadori 和 Maillard 非酶促反应的发生,产物的累积使生物大分子,如 DNA、蛋白质等结构发生损伤。其反应产物对多糖的水解有促进作用,将进一步减少细胞内糖含量,最终引起细胞死亡^[40]。研究表明,维生素 E(vitamin E)可以作为该链式反应的终止剂,清除过多的脂质过氧化自由基,限制多不饱和脂肪酸的过氧化,对种子寿命的延长有重要意义^[41]。

3.3 种子中 DNA 连接酶活性对种子寿命的影响

基因修复对维持种子基因组完整性有重要意义,对种子吸胀、萌发等阶段 DNA 累积损伤的修复,以及对环境胁迫下种子的萌发发挥着重要作用^[42]。植物种子在储藏和萌发过程中遭遇各种环

境因素胁迫,包括紫外线、环境温度、湿度、电离辐射等,将导致 DNA 损伤积累、种子活力下降,缩短种子寿命^[43]。这需要高度有效的 DNA 损伤修复系统进行修复,以抵消基因组的损伤。研究表明,DNA 连接酶可以修复植物单链 DNA 或者双链 DNA 损伤^[44],*LIG4* 通过非同源性末端结合的特殊途径修复双链 DNA^[45],高水平的修复机制发生在陈种子中,并伴随着 DNA 的复制和萌发延迟^[46]。将 Col-0 野生型拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 种子与突变体 *atlig6* 和 *atlig4* 种子接受 100 Gray 的 X 光照射处理,种子萌发后,*atlig6* 的幼根长度与 Col-0 相似,而 *atlig4* 从萌发后幼根不再生长,导致最终死亡,为致死突变。这表明,*LIG4* 对种子寿命非常重要,是必须的,而 *LIG6* 没有在 DNA 损伤修复中发挥主导作用,或在此阶段备用的连接酶无法弥补 *ATLIG6* 的缺失^[42,47]。同时,*atlig6* 和 *atlig4* 突变体还表现出显著的低温超敏反应,这对种子老化也有着重要调控作用。将拟南芥种子置于 2 °C 条件下萌发,14 d 后野生型 (Col-0) 发芽率达到 82%,突变体 *atlig4-5* 只达到了 52%,而突变体 *atlig6-1* 和 *atlig6-1atlig4-5* 没有胚芽出现,只表现出种皮破裂。这表明 *ATLIG6* 和 *ATLIG4* 对低温胁迫有抵御作用,在低温下对种子的萌发起着重要作用^[42]。

此外,毒性物质甲萘醌 (menadione) 能够诱导 DNA 的氧化损伤。将野生型 Col-0 与 *atlig6-1*、*atlig6-2* 和 *atlig6-1 atlig4-5* 用甲萘醌处理 24 h,确保种子在萌发前充分吸收毒素。结果显示,甲萘醌降低了种子的发芽率,Col-0 在第 8 天达到最高萌发率 52%,而 *atlig6-1* 与 *atlig6-2* 和 *atlig6-1 atlig4-5* 的萌发时间显著延迟,且最终发芽率相对 Col-0 较低。这表明,在遗传毒性物质诱导 DNA 氧化损伤环境下,*LIG6* 对拟南芥种子的萌发起着重要作用^[42]。

4 关键基因对种子寿命的影响

种子寿命除了受环境及自身因素的影响外,与寿命相关的基因对种子寿命调控同样发挥着必不可少的作用^[48]。成熟的种子通过相关基因的表达,形成逆境响应蛋白和对 DNA 或蛋白质损伤有修复作用的酶等生物大分子,提高种子响应环境胁迫的能力^[49],延长种子寿命 (表 1)。

4.1 *NIC-2* 基因对种子寿命的影响

多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (poly (ADP-ribose) polymerase, PARP), 是真核生物中一种蛋白

修饰酶,在细胞损伤、修复以及细胞死亡中有重要作用。它能有效识别 DNA 损伤片段,并激活 PARP 进行 DNA 修复。高活性的 PARP 是细胞分裂到 S 期之前进行 DNA 检测修复所必需的。PARP 以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 为底物,催化其生成烟酰胺 (nicotinamide, NAM) 等物质。NAM 对 PARP 的活性有抑制作用,影响 DNA 损伤的检查修复,使种子质量降低、寿命缩短。研究表明,在拟南芥种子中 *NIC-2* 基因与烟酰胺酶的编码调控有关。在种子发育、后熟、休眠与萌发的过程中,突变体 *nic2-1* 种子由于缺乏烟酰胺酶,导致了 NAD⁺ 和 NAM 的积累,使 PARP 活性受到抑制、发芽势降低;同时,*nic2-1* 对 ABA 敏感,且对 ABA 分解代谢有抑制作用,使种子萌发延迟^[50]。除此之外,拟南芥 *nic2-1* 种子延迟萌发还可能是低效率 DNA 损伤点检查引起的^[51],这与 NAM 抑制绿豆生长的结果一致^[52]。而 *NIC-2* 基因高效率的表达,使 NAM 正常代谢,PARP 的抑制被释放,使种子内 NAD⁺ 保持在正常水平,恢复对 DNA 的修复能力,使种子正常萌发^[51]。

4.2 *PER1* 蛋白对种子寿命的影响

PER1 (1-cys peroxiredoxin) 最初在水化后休眠的黑麦状雀麦 (*Bromus secalinus*) 种子中发现,*PER1* 蛋白虽不能维持其休眠^[53-54],但其最重要的作用是解除各种 ROS,包括过氧化氢 (H₂O₂)、羟自由基和烷基氢过氧化物的毒害^[55-56]。其功能通常和抵御环境压力有关,*PER1* 调控基因 *R1C-PRX* 在转基因烟草中异位表达,转基因烟草表现出了更高的抗氧化性能^[57]。其同源基因 *NnPER1* 存在于长寿命种子莲子中,能抵御 ROS 氧化系统对 DNA 的氧化,控制种子的衰老。*NnPER1* 基因在拟南芥中的异位表达,提高了经过人工老化处理 (controlled deterioration treatment, CDT) 后种子的发芽率,使 ROS 释放水平和脂质过氧化水平明显低于野生型。同时,ROS 在细胞中具有信号通路的作用,H₂O₂ 参与了 ABA 调节气孔的关闭^[25],ROS 通过提高 ABA 的表达和抑制其退化提高细胞中的 ABA 含量^[58-60]。这表明 *NnPER1* 提高了转基因植物的种子寿命,同时参与了耐热性和 ABA 的信号通路。为了进一步证明 *NnPER1* 抵抗环境的胁迫能力,将莲花种子置于 45 °C 和高浓度 ABA (50 μmol/L) 的条件下培养,3 h 后 *NnPER1* 在胁迫环境中的转录水平显著高于正常环境,证明 *NnPER1* 基因具有响应环境压力的特性^[61]。

4.3 MT 蛋白对种子寿命的影响

有研究表明,拟南芥种子中金属硫蛋白(metallothioneins, MTs)的高水平表达提高了种子对加速老化处理(accelerated aging, AA)的耐受性,这意味着转基因 MTs 种子寿命将会提高^[57]。*NnMT2a*、*NnMT2b* 和 *NnMT3* 在莲子成熟和萌发过程中的高水平表达,显著提高了种子对于干旱^[62]、重金属^[63]、氧胁迫^[64]、盐胁迫^[65]的耐受能力。拟南芥种子中 *NnMT2a* 和 *NnMT3* 过量表达对加速衰老处理有明显的抵抗作用,表明它们对种子寿命与活力有正向调控作用。进一步研究表明, *NnMT2a* 和 *NnMT3* 的转基因拟南芥种子在氯化钠(NaCl)和甲基紫罗碱(methyl viologen, MV)胁迫下的萌发率比野生型种子显著提高。可见, *NnMT2a* 和 *NnMT3* 的过表达显著提高了拟南芥种子在加速老化和非生物因素胁迫下的发芽率^[66]。

4.4 PIMT 基因对种子寿命的影响

异天冬氨酸甲基转移酶(protein-L-isoaspartate methyltransferase, PIMT)普遍存在于所有生物系统中,通常与控制生物有机体的衰老和应对胁迫有关,对生物体有保护作用^[67-69]。大多数植物中 PIMT 的活动仅限于种子中,说明这种酶对种子活力的保持是必要的^[70]。细胞内由于氨基酸异构体的存在,会造成蛋白质损伤,使蛋白质结构和生物活性发生变化,导致种子活力下降^[71]。氨基酸异构体多肽链的扭曲折叠活动异常,损害有机体。其中一部分异常氨基酸的形成与种子储存时间相关,这种损伤是可以逆转修复的, PIMT 可以催化残基异常的 L-天冬氨酸转化为具有正常生理功能的 L-天冬氨酸。在干燥成熟的拟南芥种子中, PIMT 活性主要来源于 *PIMT1* 基因的表达^[72]。拟南芥中 *AtPIMT1* 基因对种子寿命有重要的调控作用,若 *AtPIMT1* 高水平表达,使异天冬氨酸(iso-Asp)的累积量处于较低的水平,种子的活力较高^[49];若 *AtPIMT1* 表达处于较低的水平, iso-Asp 的累积量相应的上升,种子在盐分和甘露醇等环境胁迫条件下,种子的发芽率降低,衰退速率加快^[71]。

4.5 拟南芥 *SRIT* 基因对种子寿命的影响

SIRT1(sirtuin type 1)属于 NAD⁺ 家族依赖的组蛋白脱乙酰化酶,在细胞代谢和氧化应激反应中具有重要作用^[73]。拟南芥种子中 *SIRT1* 基因的表达一般在生命活动比较旺盛的细胞中,并且其表达还受环境因素的影响,例如光照条件下的表达水平要高于黑暗条件下。相比于野生型(Col-0),其 *T-*

DNA 插入的突变体种子萌发速率更快、生长更加旺盛,幼苗的鲜重显著增加;而其过量表达后表现出子叶发黄、结实率降低、表现早衰的症状。将过量表达的株系置于无糖培养基上进行培养,在其萌发后表现出莲座叶发黄,成苗后的叶片表现早衰、结实率下降。说明 *AtSIRT1* 基因与能量的利用及代谢水平相关联^[74],但具体的作用方式和机理尚需进一步研究。

4.6 DT 基因对种子寿命的影响

脱水耐性(desiccation tolerance, DT)在种子储存过程中,是影响种子质量的关键因素。DT 被认为与保护性分子的诱导合成有关,如胚胎晚期丰富蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA)、还原糖、热激蛋白(HSP)和各种压力蛋白^[75-77]。成熟的拟南芥种子从干燥、吸胀到萌发的过程中,种皮破裂阶段对干燥最为敏感^[77],并且具有脱水耐性。伴随着它们的萌发,脱水耐性丧失^[78-79],但是经过脱落酸(ABA)的处理可以恢复其脱水耐性^[80]。通过对基因共同表达网络分析发现,在早期响应区域(early response, ER)和晚期响应区域(late response, LR)有 2 个区域中,ER 区域的基因与 DT 的获得、种子的休眠、信号的放大以及细胞的感应和保护机制有关,如 LEA;LR 区域的基因主要促进适应压力条件和调节种子的寿命。干旱响应基因(*DREB2A*、*XERO1*)、LEA 基因和 ABA 响应基因(*EM1*、*GEA6*、*RAB18*、*LTI65*、*RD29B*)形成了 DT 基因家族。其中,在突变体 *dreb2a* 中, *DREB2A* 的过量表达,表现出对于干旱胁迫的耐受性增加,同时 *DREB2A* 对水分诱导基因有调节作用^[81]。

AT3G53040 编码 LEA 蛋白,具有典型的 α -螺旋特征,被列入 *LEA-4* 基因家族,其表达与 ABA 密切相关; *AT4G25580* 编码一种胁迫响应的蛋白质,其与耐寒冷的 *CAP160* 蛋白高度类似^[82]。在菠菜中, *CAP160* 蛋白质主要存在于胞质中,在干旱胁迫下与相关膜、核糖体和细胞骨架元素的稳定性有关^[83]。对突变体表型分析表明,突变体(*at3g53040* 和 *at4g25580*)重建 DT 的能力相比于野生型显著提高^[84]。

有研究证明, *ABI3*(abscisic acid insensitive 3)对拟南芥种子的成熟及其寿命方面发挥重要作用^[85]。*ABI3* 作为调控种子发育和成熟的重要转录因子(transcription factors, TF),和 ABA 一起参与保护干燥的胚胎^[86-87]。同时, *ABI3* 对种子的发育以及萌发有调控作用^[88]。种子发育至成熟的过程

中,叶绿素得不到完全降解,形成的绿色种子直接使种子质量和种子寿命下降,*ABI3* 通过独立的通路,调节种子中的叶绿素降解,延长种子的寿命^[5]。为证明 *ABI3* 具有独立的通路,对长寿命种子中与胁迫响应相关的基因进行研究。结果表明,一般长寿基因的转录水平在蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)种子中没有改变,突变体 *wrky3* 和 *nfxl1* 通过对寿命有关的转录因子的影响,改变了长寿基因的转录水平,缩短了种子的寿命^[89]。而 *WRKY3* 和 *NFXL1* 表达不会使 *abi3* 突变体发生变化,证明 *ABI3* 功能是独立于 *WRKY3* 与 *NFXL1* 通路,并对种子的寿命调控有重要作用。

4.7 热激蛋白对种子寿命的影响

热休克蛋白 HSFA9(heat shock factor A9)转录激活特定的小热休克蛋白(small heat shock protein,sHSP)基因,进而调节种子寿命^[90-91]。在植物中 *sHSP* 和 *HSP101* 与种子耐热性相关^[92]。拟南芥种子在成长过程中,*HSFA9* 表达受转录因子 *ABI3* 调控。*HSFA9* 在成熟种子中过量表达时,诱导 *HSP101* 和 *sHSP* 两种蛋白的积累,对寡糖和胚胎晚期丰富蛋白(LEA)没有影响^[93]。在突变体 *hs-fa9* 中 *HSP101* 积累水平下降,种子耐热性较低^[94],种子寿命缩短。特别在转基因的烟草种子中,*HaHSFA9* 与一个有较强阻遏能力的 *SRDX* 结

合。用 *ds10* 启动子和控制序列^[93] 进行种子人工老化处理发现,*hahsfa9-srdx* 抑制 *HSFA9* 基因表达,种子热休克蛋白(sHSP)的积累大幅减少,使 *hahsfa9-srdx* 种子寿命显著缩短。尽管 *HSFA9* 影响 *hahsfa9-srdx* 突变体种子寿命,但是其生存、发展、干燥、胚胎发育和随后的萌发并没有发生变化,推断 *HSFA9* 只是部分有助于种子的脱水耐性和长寿^[95]。

4.8 LOX3 基因调节种子的寿命

脂氧合酶(Lipoxygenase, LOX)催化 FUFA 形成脂肪酸的氢过氧化物,对有机体产生消极作用^[96],主要影响种子寿命和种子的活力^[97]。水稻品种 DawDam 的种子,由于缺少 *LOX3* 基因,表现耐储藏的特性^[98],进一步说明 *LOX* 基因与种子的寿命息息相关。Xu 等为进一步证实此结论,对普通水稻进行了 *LOX3* 反义转基因处理,胚乳中 *LOX3* 基因表达受到抑制,形成突变体 *ts-91*;将突变体 *ts-91* 与野生型种子(WT)在相同条件下进行自然老化处理,虽然反义突变体和 WT 表现一致的变化趋势,但是发芽率存在差异;在 18 个月后,*ts-91* 的发芽率显著高于 WT,使用 RT-PCR 定量分析后证实 WT 种子中 *LOX3* 的转录水平显著低于 *ts-91*^[99],表明 *LOX3* 是种子衰老中重要的酶^[100]。

表 1 种子寿命相关的基因及调控功能
Table 1 List of genes that are involved in seed longevity

基因名 Gene name	基因符号 Gene ID	主要生物学功能描述 Main biological function description	参考文献 Reference
<i>LIG4/LIG6</i>	<i>AT5G57160/AT1G66730</i>	编码 DNA 连接酶,修复环境压力等导致的 DNA 单链和双链的损伤 Encoding DNA ligase, repairing DNA single-stranded and double-stranded damage caused by environmental stresses	[42-43]
<i>NIC-2</i>	<i>AT5G23230</i>	编码烟酰胺酶,降低 NAD ⁺ 累积,使烟酰胺的代谢处于正常的水平 Encoding nicotinamide enzymes, reducing NAD ⁺ cumulative and make nicotinamide metabolism at normal level	[47]
<i>R1C-PRX/NnPER1</i>	<i>LOC4344045/AT1G48130</i>	编码半胱氨酸过氧化物还原酶,抵御活性氧对种子的氧化 Encoding cysteine peroxide reductase, resisting oxidation of reactive oxygen species in seeds	[56] [60]
<i>MT2a/MT3</i>	<i>AT3G09390/AT3G15353</i>	产生金属硫蛋白,作为金属离子的螯合剂,增强种子的抗逆境能力 Producing metallothionein, as chelate metal ions, thereby enhanced the seeds of adversity resistance ability	[56][62] [65]
<i>PIMT1</i>	<i>AT3G48330</i>	编码蛋白异天冬氨酸甲基转移酶 1 Encoding proteins of aspartic acid methyltransferase 1	[67-69]
<i>SIRT1</i>	<i>AT5G04590</i>	与能量的代谢和利用有关 Related to energy metabolism and utilization	[74]
<i>ABI3</i>	<i>AT3G24650</i>	种子成熟过程中的重要的转录因子,保护干燥的种子 An important transcription factor to protect the dry seeds during seed maturation	[77]
<i>DREB2A</i>	<i>AT5G05410</i>	干旱响应结合蛋白 Drought response binding protein	[81]
—	<i>AT3G53040</i>	编码 LEA 蛋白和抵御干旱等 Encoding LEA proteins and resisting drought stress	[82]
<i>HSFA9</i>	<i>AT5G54070</i>	与氧化胁迫有关 Related to cope with oxidative stress	[85]
<i>NFXL1</i>	<i>AT1G10170</i>	调控与植物抗逆性相关基因的表达 Regulation of expression of genes related to plant stresses resistance	[89]
<i>HSP101</i>	<i>AT1G74310</i>	编码热休克蛋白 Encodingheat shock protein	[94]

5 展 望

种子寿命调控,既是值得关注的基础科学问题,又具有重要的现实生产需要。延长种子的寿命对良种的保存和植物多样性的保护有重要意义。影响种子寿命的因素很多,储存环境的变化和种子自身的一些结构、保护性组织的改变,均会影响种子的寿命。种子中含有的营养物质和具有一定调控功能的生物大分子的不同,使不同种系间种子的寿命存在差异性。深入理解与种子寿命调控有关的环境因素、种子的内在因素和关键基因对种子寿命的影响机理,不仅为种质资源和群体基因库的保护提供了理论依据,而且对农业生产有重要的实践意义。首先,种子作为一个重要而又复杂的繁殖材料,退化是随时发生的。一般来说,在低温、干燥、低氧含量的条件下储存种子,可以延长其寿命,但也不是绝对的。这需要根据种子自身的结构和性质的不同,研究导致退化的关键因素,将不同植物的种子进行分类,分别创造各自适宜的储藏环境,尽可能减缓退化速率。其次,确定种子中与寿命有关的基因,具体分析通过增加还是降低长寿基因的表达水平,改变了哪些酶、蛋白质等一系列生物大分子的含量,进而达到使种子寿命延长的目的。哪些物质对长寿基因的表达有抑制作用,通过什么通路抑制,这些都值得我

们下一步进行研究。再次,在研究与种子寿命相关的基因时,不仅要考虑直接作用于种子寿命的目的基因进行分析,而且还要考虑基因在什么样的环境条件下使优良的性状得到充分表现。不同环境条件下基因的表达存在差异,导致有机体内的激素含量有变化,这种结果可能会打破种子内的激素平衡,使种子寿命受到影响^[88]。最后,种子寿命直接影响种子萌发,而种子萌发与植物激素尤其是 ABA、GA 紧密相关^[101-103]。因此,研究种子在储藏、衰老的过程中 ABA/GA 的含量变化、信号转导变化等内容,也是将来非常重要的研究方向。深入研究种子储藏过程中激素(主要是 ABA 与 GA)互作的机理、激素与环境的互作机理,是种子寿命研究领域的重要方向。

影响种子寿命的因素有很多,但主要影响因素还是环境条件和与寿命相关的基因^[104],环境条件改变了种子内生物大分子结构的变化,从而使相应的生物学功能改变或丧失;为适应环境的改变使相关的基因表达水平变化,这些都会影响种子的寿命。而这些结论大多数是通过对模式植物水稻和拟南芥的研究获得的,但在小麦、玉米、大豆等作物中的研究和实际应用较少。因此,今后应将研究结果应用于主要作物中,生产出种子寿命长、抗逆性强、抗病虫能力强、高产、稳产、优质的农产品,使种子寿命研究进一步服务于农业生产。

参考文献:

[1] CLERKX E J M, VRIES B D, RUYS G J, *et al.* Genetic differences in seed longevity of various *Arabidopsis* mutants [J]. *Physiologia Plantarum*, 2004, **121**(3): 448-461.

[2] GHIVE D V, BARABDE N P, POTE S R. Seed viability and factors affecting seed storage[J]. *Asian Journal of Bio Science*, 2007, (2):1-2.

[3] WINGER A M, TAYLOR N L, HEAZLEWOOD J L, *et al.* The cytotoxic lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal covalently modifies a selective range of proteins linked to respiratory function in plant mitochondria[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, **282**(52): 37 436-37 447.

[4] RAJJOU L, DEBEAUJON I. Seed longevity: survival and maintenance of high germination ability of dry seeds [J]. *Comptes rendus Biologies*, 2008, **331**(10): 796-805.

[5] RIGHETTI K, VU J L, PELLETIER S, *et al.* Inference of longevity-Related genes from a robust coexpression network of seed maturation identifies regulators linking seed storability to biotic defense-related pathways [J]. *Plant Cell*, 2015, **27**(10): 2 692-2 708.

[6] 董新红,宋 明. 种子寿命研究进展[J]. 生物学杂志,2001, (6):7-9.

[7] DONG X H, SONG M. Research progress on seed longevity [J]. *Journal of Biology*. 2001, (6): 7-9.

[8] 汤学军,傅家瑞,黄上志. 决定种子寿命的生理机制研究进展 [J]. 种子,1996, (6):29-32.

[9] TANG X J, FU J R, HUANG S Z. Research progress on physiological mechanism of seed longevity [J]. *Seed*, 1996, (6): 29-32.

[10] CORBINEAU F, CÔME D. Seeds of ornamental plants and their storage[J]. *Acta Horticulturae*, 1991, 298: 313-322.

[11] CLARK J R, MOOREJN. Longevity of rubus seeds after long-term cold storage [J]. *Hortscience*, 1993, **28** (9): 929-930.

[12] MING R, VANBUREN R, LIU Y, *et al.* Genome of the long-living sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) [J]. *Genome Biology*, 2013, **14**(5): 241-251.

[13] SHEN-MILLER J, BERGER R. Exceptional seed longevity

- and robust growth: ancient sacred lotus from China[J]. *American Journal of Botany*, 1995, **82**(11): 1 367-1 380.
- [12] AGACKA-MOLDOCH M, ARIF M A, LOHWASSER U, *et al.* The inheritance of wheat grain longevity: a comparison between induced and natural ageing[J]. *Appl. Genet.*, 2016; 1-5.
- [13] WATERWORTH W M, BRAY C. M, WEST C E. The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, **66**(12): erv080.
- [14] SANO N, RAJJOU L, NORTH H M, *et al.* Staying alive: molecular aspects of seed longevity[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2016, **57**(4): 660-674.
- [15] 孙 群, 王建华, 孙宝启. 种子活力的生理和遗传机理研究进展[J]. 中国农业科学, 2007, **40**(1): 48-53.
- SUN Q, WANG J H, SUN B Q. Research progress on physiological and genetic mechanism of seed vigor[J]. *China Agricultural Science*, 2007, **40**(1): 48-53.
- [16] MCDONALD M B. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment[J]. *Seed Science & Technology*. 1999, **27**(1): 177-237.
- [17] STANWOOD P C. Storage and viability of ornamental plant seeds[J]. *Germination of Ornamental Plant Seeds XXII Ihc*, 1986, 202: 49-56.
- [18] 刘 强, 任 敏, 刘祥君. 种子耐贮藏性研究进展[J]. 内蒙古师范大学学报(自然科学版), 2003, **32**(3): 248-255.
- LIU Q, REN M, LIU X J. Research progress of seed storage tolerance[J]. *Journal of Inner Mongolia Normal University* (Natural Science Edition), 2003, **32**(3): 248-255.
- [19] ELLIS R H, ROBERTS E H. Improved equations for the prediction of seed longevity[J]. *Annals of Botany*, 1980, **45**(1): 13-30.
- [20] ROBERTSON D, LUTE A, GARDNER R. Effect of relative humidity on viability, moisture content, and respiration of wheat, oats and barley seed in storage[J]. *Agric. Res.*, 1939, 59: 281-291.
- [21] ZENG X Y, CHEN R Z, FU J R, *et al.* The effects of water content during storage on physiological activity of cucumber seeds[J]. *Seed Science Research (United Kingdom)*, 1998, **224**(1): 1-10.
- [22] WALTERS C, RAO N K, HU X R. Optimizing seed water content to improve longevity in ex situ genebanks[J]. *Seed Science Research*, 1998, **8**(5): 15-22.
- [23] VERTUCCI C W, ROOS E E, CRANE J. Theoretical basis of protocols for seed storage III. Optimum moisture contents for pea seeds stored at different temperatures[J]. *Annals of Botany*, 1994, **74**(5): 531-540.
- [24] VERTUCCI C W, ROOS E E. Theoretical basis of protocols for seed storage[J]. *Plant Physiology*, 1990, **94**(3): 1 019-1 023.
- [25] MITTLERR. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, **7**(9): 405-410.
- [26] APEL K, HIRT H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, **55**(1): 728-749.
- [27] ALSCHER R G, DONAHUE J L, CRAMER C L. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells[J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, **100**(2): 224-233.
- [28] SCHWEMBER A R, BRADFORD K J. Oxygen interacts with priming, moisture content and temperature to affect the longevity of lettuce and onion seeds[J]. *Seed Science Research*. 2011, **21**(3): 175-185.
- [29] 罗宗洛. 低剂量的电离辐射对植物的影响[J]. 植物生理学报, 1965, (3): 8.
- LUO Z L. Effects of low dose ionizing radiation on plants[J]. *Plant Physiology*, 1965, (3): 8.
- [30] 罗景桂, 邱炳源, 李婉坤, 等. 电离辐射对大豆种子通透性的影响[J]. 吉林农业科学, 1964, (1): 89-95.
- LUO J G, QIU B Y, LI W K, *et al.* Effects of ionizing radiation on the permeability of soybean seeds[J]. *Jilin Agricultural Science*, 1964, (1): 89-95.
- [31] LI B J, QIU Q F, CHEN S H, *et al.* Study on the effect of ionizing radiation on the permeability of the cell[J]. *Journal of Zhongshan University (Natural Science Edition)*, 1963, (Z1): 94-100.
- [32] 彭永康, 阎炳宗, 王 坚, 等. 不同剂量⁶⁰钴 γ -射线辐射对高粱种子发芽率, 幼苗生长及过氧化物酶的影响[J]. 植物生理学通讯, 1984, 4: 18-20.
- PENG Y K, YAN B Z, WANG J, *et al.* Different dose of ⁶⁰Co γ -ray radiation on sorghum seed germination, seedling growth and peroxidase[J]. *Plant Physiology Communications*, 1984, 4: 18-20.
- [33] JOHNSON D A. Seed coats: Structure, development, composition, and biotechnology[J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology -Plant*, 2013, **41**(5): 620-644.
- [34] 闫慧芳, 夏方山, 毛培胜. 种子老化及活力修复研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, (3): 20-26.
- YAN H F, XIA F S, MAO P S. Research progress of seed aging and vigor repair[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, (3): 20-26.
- [35] MOÏSE J A, HAN S, GUDYNAITĖ-SAVITCH L, *et al.* Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology[J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology -Plant*, 2005, **41**(5): 620-644.
- [36] MOHAMED-YASSEEN Y, BARRINGER S A, SPLITTSTOESSER W E, *et al.* The role of seed coats in seed viability[J]. *Botanical Review*, 1994, **60**(60): 426-439.
- [37] EL-MAAROUF-BOUTEAU H, BAILLY C. Oxidative sig-

- naling in seed germination and dormancy[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2008, **3**(3): 175-182.
- [38] FOYER C H, SHIGEOKA S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis [J]. *Plant Physiology*, 2010, **155**(1): 93-100.
- [39] PRIESTLEY D A, CARL L A. Lipid changes during natural aging of soybean seeds[J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, **59**(3): 467-470.
- [40] 朱 诚, 曾广文, 吴 平, 等. 洋葱种子含水量与贮藏温度对其寿命的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2001, **27**(3): 261-266.
- ZHU C, ZENG G W, WU G P, *et al.* Effect of seed moisture content and storage temperature on the life of onion[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2001, **27**(3): 261-266.
- [41] SATTTLER S E, GILLILAND L U, MAGALLANESLUNDBACK M, *et al.* Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination [J]. *Plant Cell*, 2004, **16**(6): 1 419-1 432.
- [42] WATERWORTH W M, MASNAVI G, BHARDWAJ R M, *et al.* A plant DNA ligase is an important determinant of seed longevity[J]. *Plant Journal*, 2010, **63**(5): 848-860.
- [43] CHEAH K S, OSBORNE D J. DNA lesions occur with loss of viability in embryos of ageing rye seed[J]. *Nature*, 1978, **272**(5 654): 593-599.
- [44] WATERWORTH W M, KOZAK J, PROVOST C M, *et al.* DNA ligase 1 deficient plants display severe growth defects and delayed repair of both DNA single and double strand breaks[J]. *BMC Plant Biology*, 2009, 9: 79.
- [45] CRITCHLOW S E, BOWATER R P, JACKSON S P. Mammalian DNA double-strand break repair protein XRCC4 interacts with DNA ligase IV[J]. *Current Biology* (CB), 1997, **7**(8): 588-598.
- [46] OSBORNE D J, DELL'AQUILA A, ELDER R H. DNA repair in plant cells. An essential event of early embryo germination in seeds[J]. *Folia Biologica*, 1984, 30 Spec No: 155-169.
- [47] FRIESNE R J, BRITTA B. Ku80-and DNA ligase IV-deficient plants are sensitive to ionizing radiation and defective in T-DNA integration[J]. *The Plant Journal : for Cell and Molecular Biology*, 2003, **34**(4): 427-440.
- [48] 柳武革, 王 丰, 李金华, 等. 水稻耐储藏特性相关基因的 QTL 及上位性分析[J]. 作物学报, 2005, **31**(12): 1 672-1 675.
- LIU W G, WANG F, LI J H, *et al.* QTL and the host of related genes in rice resistance to storage characteristics[J]. *Journal of Crop Science*, 2005, **31**(12): 1 672-1 675.
- [49] 刁丽荣, 魏毅东, 魏林艳等. 水稻种子活力和耐储性研究进展[J]. 福建农业学报, 2016, **31**(4): 437-443.
- DIAO L R, WEI Y D, WEI L Y, *et al.* Research progress on rice seed vigor and resistance to storage[J]. *Fujian Agricultural Journal*, 2016, **31**(4): 437-443.
- [50] 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 Physiol.*, 2006, **141**(1): 97-107.
- [51] HUNT L, HOLDSWORTH M J, GRAY J E. Nicotinamide activity is important for germination[J]. *Plant Journal*, 2007, **51**(3): 341-351.
- [52] ZHENG X Q, HAYASHIBE E, ASHIHARA H. Changes in trigonelline (N-methylnicotinic acid) content and nicotinic acid metabolism during germination of mungbean (*Phaseolus aureus*) seeds[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **56**(416): 1 615-1 623.
- [53] HASLEKAS C, STACYR A, NYGAARD V, *et al.* The expression of a peroxiredoxin antioxidant gene, *AtPer1*, in *Arabidopsis thaliana* is seed-specific and related to dormancy [J]. *Plant Mol. Biol.*, 1998, **36**(6): 833-845.
- [54] HASLEKAS C, VIKEN M K, GRINI P E, *et al.* Seed 1-cysteine peroxiredoxin antioxidants are not involved in dormancy, but contribute to inhibition of germination during stress[J]. *Plant Physiol.*, 2003, **133**(3): 1 148-1 157.
- [55] CHAE H Z, ROBISON K, POOLE L B, *et al.* Cloning and sequencing of thiol-specific antioxidant from mammalian brain; alkyl hydroperoxide reductase and thiol-specific antioxidant define a large family of antioxidant enzymes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, **91**(15): 7 017-7 021.
- [56] BAIER M, DIETZ K J. The plant 2-Cys peroxiredoxin BAS1 is a nuclear-encoded chloroplast protein: its expressional regulation, phylogenetic origin, and implications for its specific physiological function in plants[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 1997, **12**(1): 179-190.
- [57] CHEN H H, CHU P, ZHOU Y, *et al.* Ectopic expression of *NnPER1*, a *Nelumbo nucifera* 1-cysteine peroxiredoxin antioxidant, enhances seed longevity and stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Journal*, 2016, doi: 10. 1111/tpj. 13 286.
- [58] HUANG G T, MA S L, BAI L P, *et al.* Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants[J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, **39**(2): 969-987.
- [59] SONG Y, MIAO Y, SONG C P. Behind the scenes; the roles of reactive oxygen species in guard cells[J]. *New Phytologist*, 2014, **201**(4): 1 121-1 140.
- [60] DASZKOWSKA-GOLEC A, SZAREJKO I. Open or close the gate-stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, **4**(2): 138-138.

- [61] LEE K O, JANG H H, JUNG B G, *et al.* Rice 1Cys-peroxiredoxin over-expressed in transgenic tobacco does not maintain dormancy but enhances antioxidant activity[J]. *Febs Letters*, 2000, **486**(2): 103-106.
- [62] YANG Z, WU Y, LI Y, *et al.* OsMT1a, a type 1 metallothionein, plays the pivotal role in zinc homeostasis and drought tolerance in rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, **70**(1-2): 219-229.
- [63] COBBETT C, GOLDSBROUGH P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2002, **53**(1): 159-182.
- [64] XUE T, LI X, ZHU W. *et al.* Cotton metallothionein GhMT3a, a reactive oxygen species scavenger, increased tolerance against abiotic stress in transgenic tobacco and yeast[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, **60**(1): 339-349.
- [65] WU Y, WANG Q, MA Y, CHU C. Isolation and expression analysis of salt up-regulated ESTs in upland rice using PCR-based subtractive suppression hybridization method[J]. *Plant Science*, 2005, **168**(3): 847-853.
- [66] ZHOU Y, CHU P, CHEN H, *et al.* Overexpression of *Nelumbo nucifera* metallothioneins 2a and 3 enhances seed germination vigor in *Arabidopsis*[J]. *Planta*, 2012, **235**(3): 523-537.
- [67] YAMAMOTO A, TAKAGI H, KITAMURA D, *et al.* Deficiency in protein L-isoaspartyl methyltransferase results in a fatal progressive epilepsy[J]. *Journal of Neuroscience the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 1998, **18**(6): 2 063-2 074.
- [68] VISICK J, CAI HS. The L-isoaspartyl protein repair methyltransferase enhances survival of aging *Escherichia coli* subjected to secondary environmental stresses[J]. *Journal of Bacteriology*, 1998, **180**(180): 2 623-2 629.
- [69] KIM E, LOWENSON J D, MACLAREN D C, *et al.* Deficiency of a protein-repair enzyme results in the accumulation of altered proteins, retardation of growth, and fatal seizures in mice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, **94**(12): 6 132-6 137.
- [70] MUDGETT M B, LOWENSON J D, CLARKE S. Protein repair L-isoaspartyl methyltransferase in plants. Phylogenetic distribution and the accumulation of substrate proteins in aged barley seeds[J]. *Plant Physiology*, 1997, **115**(4): 1 481-1 489.
- [71] DINKINS R D, MAJEE S M, NAYAK N R, *et al.* Changing transcriptional initiation sites and alternative 5' and 3' splice site selection of the first intron deploys *Arabidopsis* PROTEIN ISOASPARTYL METHYLTRANSFERASE2 variants to different subcellular compartments[J]. *The Plant Journal*, 2008, **55**(1): 1-13.
- [72] OGÉ L, BOURDAIS G, BOVE J, *et al.* Protein repair L-isoaspartyl methyltransferase1 is involved in both seed longevity and germination vigor in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2008, **20**(11): 3 022-3 037.
- [73] WANG Y, LIANG X, CHEN Y, *et al.* Screening SIRT1 activators from medicinal plants as bioactive compounds against oxidative damage in mitochondrial function[J]. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2016: 4206392.
- [74] 陈 勇. 拟南芥 SIRT 基因产物的亚细胞定位及其功能的初步研究[D], 杭州:浙江大学, 2012.
- [75] INGRAM J, BARTELS D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1996, **47**(1): 377-403.
- [76] HOEKSTRA F A, GOLOVINA E A, BUITINK J. Mechanisms of plant desiccation tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2001, **6**(9): 431-438.
- [77] MAIA J, DEKKERS B J W, PROVART N J, *et al.* The re-establishment of desiccation tolerance in germinated *Arabidopsis thaliana* seeds and its associated transcriptome[J]. *PLoS One*, 2011, **6**(12): 2 053-2 056.
- [78] DAWS M I, BOLTON S, BURSLEM D F R P, *et al.* Loss of desiccation tolerance during germination in neo-tropical pioneer seeds: implications for seed mortality and germination characteristics[J]. *Seed Science Research*, 2007, **17**(4): 273-281.
- [79] BUITINK J, VU B L, SATOUR P, *et al.* The re-establishment of desiccation tolerance in germinated radicles of *Medicago truncatula* Gaertn. seeds[J]. *Seed Science Research*, 2003, **13**(4): 273-286.
- [80] GAFF D F, LOVEYS B R. Absciscic acid content and effects during dehydration of detached leaves of desiccation tolerant plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1984, **35**(158): 1 350-1 358.
- [81] SAKUMAY, MARUYAMAK, OSAKABEY, *et al.* Functional analysis of an *Arabidopsis* transcription factor, DREB2A, involved in drought-responsive gene expression[J]. *Plant Cell*, 2006, **18**(5): 1 292-1 309.
- [82] FANG L, HOU X, LEE L Y C, *et al.* AtPV42a and AtPV42b redundantly regulate reproductive development in *Arabidopsis thaliana*[J]. *PLoS One*, 2011, **6**(4): e19033.
- [83] KAYE C, NEVEN L, HOFIG A, *et al.* Characterization of a gene for spinach CAP160 and expression of two spinach cold-acclimation proteins in tobacco[J]. *Plant Physiology*, 1998, **116**(4): 1 367-1 377.
- [84] COSTA M C D, RIGHETTI K, NIJVEEN H, *et al.* A gene co-expression network predicts functional genes controlling the re-establishment of desiccation tolerance in germinated *Arabidopsis thaliana* seeds[J]. *Planta*, 2015, **242**(2): 435-449.

- [85] BEDI S, SENGUPTA S, RAY A, *et al.* ABI3 mediates dehydration stress recovery response in *Arabidopsis thaliana* by regulating expression of downstream genes[J]. *Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology*, 2016, 250: 125-140.
- [86] HEISEL T J, LI C Y, GREY K M, *et al.* Mutations in HISTONE ACETYLTRANSFERASE1 affect sugar response and gene expression in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4(2): e70-e75.
- [87] MÖNKE G, SEIFERT M, KEILWAGEN J, *et al.* Toward the identification and regulation of the *Arabidopsis thaliana* ABI3 regulon[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(17): 8 240-8 254.
- [88] 帅海威, 孟永杰, 罗晓峰, 等. 生长素调控种子的休眠与萌发[J]. 遗传, 2016, 38(4): 314-322.
- SHUAI H W, MENG Y J, LUO X F, *et al.* The roles of auxin in seed dormancy and germination[J]. *Hereditas*, 2016, 38(4): 314-322.
- [89] MACH J. A sleep like death: Identification of genes related to seed longevity in *Medicago truncatula* and *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2015, 27(10): 2 671-2 671.
- [90] ALMOGUERA C, PRIETO-DAPENA P, DÍAZ-MARTÍN J, *et al.* The HaDREB2 transcription factor enhances basal thermotolerance and longevity of seeds through functional interaction with HaHSFA9[J]. *BMC Plant Biology*, 2009, 9(2): 75-75.
- [91] PRIETO-DAPENA P, CASTAÑO R, ALMOGUERA C, *et al.* Improved resistance to controlled deterioration in transgenic seeds[J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(3): 1 102-1 112.
- [92] QUEITSCH C, HONG S W, VIERLING E, *et al.* Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2000, 12(4): 479-492.
- [93] PRIETO-DAPENA P, CASTAÑO R, ALMOGUERA C, *et al.* Improved resistance to controlled deterioration in transgenic seeds[J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(3): 1 102-1 112.
- [94] WEHMEYER N, VIERLING E. The expression of small heat shock proteins in seeds responds to discrete developmental signals and suggests a general protective role in desiccation tolerance[J]. *Plant Physiol*, 2000, 122(4): 1 099-1 108.
- [95] TEJEDOR-CANOJ, PRIETO-DAPENA P, ALMOGUERA C, *et al.* Loss of function of the HSFA9 seed longevity program[J]. *Plant Cell & Environment*, 2010, 33(8): 1 408-1 417.
- [96] LONG Q, ZHANG W, WANG P, *et al.* Molecular genetic characterization of rice seed lipoxygenase 3 and assessment of its effects on seed longevity[J]. *Journal of Plant Biology*, 2013, 56(4): 232-242.
- [97] MA L, ZHU F, LI Z, *et al.* TALEN-based mutagenesis of lipoxygenase LOX3 enhances the storage tolerance of rice (*Oryza sativa*) seeds [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0143877.
- [98] 宋美, 张瑛, 吴敬德, 等. 水稻脂质氧化酶同工酶种质储藏特性的研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(2): 65-68.
- SONG M, ZHANG Y, WU J D, *et al.* Lipid oxidation of rice germplasm storage of isozyme characteristics[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(2): 65-68.
- [99] XU H, WEI Y, ZHU Y, *et al.* Antisense suppression of LOX3 gene expression in rice endosperm enhances seed longevity[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13(4): 526-539.
- [100] YASUHIRO SUZUKI, KAZUO ISE, CHENGYUN LI, *et al.* Volatile components in stored rice [*Oryza sativa* (L.)] of varieties with and without lipoxygenase-3 in seeds[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1999, 47(3): 1 119-1 124.
- [101] SHU K, LIU X, XIE Q, *et al.* Two faces of one seed: Hormonal regulation of dormancy and germination[J]. *Mol. Plant*, 2016, 9(1): 34-45.
- [102] SHU K, ZHANG H, WANG S, *et al.* ABI4 regulates primary seed dormancy by regulating the biogenesis of abscisic acid and gibberellins in *Arabidopsis*[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(6): e1003577.
- [103] SHU K, MENG Y J, SHUAI H W, *et al.* Dormancy and germination: How does the crop seed decide[J]. *Plant Biology*, 2015, 17(6): 1 104-1 112.
- [104] WANG J H, SUN B Q. Advances on seed vigor physiological and genetic mechanisms[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2007, 6(9): 1 060-1 066.

(编辑:裴阿卫)