

植物种子老化的生理学研究进展

韩沛霖¹, 李月明¹, 刘梓毫¹, 周万里¹, 杨帆¹, 王竞红¹, 阎秀峰^{1,2}, 蔺吉祥¹

1 东北林业大学 园林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

2 温州大学 生命与环境科学学院, 浙江 温州 325035

韩沛霖, 李月明, 刘梓毫, 周万里, 杨帆, 王竞红, 阎秀峰, 蔺吉祥. 植物种子老化的生理学研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(1): 77-88.

HAN PL, LI YM, LIU ZH, ZHOU WL, YANG F, WANG JH, YAN XF, LIN JX. The physiology of plant seed aging: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(1): 77-88.

摘 要: 种子品质的优劣对于农牧业生产、经济与遗传资源有效利用、生物多样性保护以及植物群落恢复与重建具有重要的作用。种子老化是其在贮藏过程中普遍存在的一种生理现象, 是随着种子贮藏时间延长而发生和发展的自然不可逆过程, 不仅关系到后续种、苗生长与产量、品质等问题, 还对植物种质资源的保存、利用和开发等均具有重要影响。种子老化的生理机制复杂多样, 现有研究往往仅进行常规的生理特征分析, 缺乏系统、全面的深入探讨。基于此, 文中对国内外关于种子老化的生理学研究进展进行了归纳与总结, 从种子老化的方法、老化对种子发芽的影响、种子老化的生理和分子机制几个方面进行了综述。针对种子老化过程中如种子活力、电导率 (electrical conductivity, EC)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量, 种子内贮藏物质、抗氧化酶活性、线粒体结构等一系列生理参数的变化; 并从种子的转录组、蛋白质组和老化相关基因功能等层面阐明了种子老化的机制, 为种子生物学的研究和种质资源保存与利用等科学问题提供了一定的理论依据。

关键词: 种子; 活力; 老化; 生理机制; 组学

Received: February 6, 2021; **Accepted:** May 17, 2021; **Published online:** August 18, 2021

Supported by: Postdoctoral Science Foundation of Heilongjiang Province, China (LBH-Q19063); Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, China (YQ2019C005)

Corresponding author: LIN Jixiang. Tel: +86-451-82191235; E-mail: linjixiang@nefu.edu.cn

基金项目: 黑龙江省博士后科研启动基金 (LBH-Q19063); 黑龙江省自然科学基金优秀青年基金 (YQ2019C005)

The physiology of plant seed aging: a review

HAN Peilin¹, LI Yueming¹, LIU Zihao¹, ZHOU Wanli¹, YANG Fan¹, WANG Jinghong¹, YAN Xiufeng^{1,2}, LIN Jixiang¹

1 College of Landscape Architecture, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China

2 School of Life & Environmental Sciences, Wenzhou university, Wenzhou 325035, Zhejiang, China

Abstract: Seed quality plays an important role in the agricultural and animal husbandry production, the effective utilization of genetic resources, the conservation of biodiversity and the restoration and reconstruction of plant communities. Seed aging is a common physiological phenomenon during storage. It is a natural irreversible process that occurs and develops along with the extension of seed storage time. It is not only related to the growth, yield and quality of seed and seedling establishment, but also has an important effect on the conservation, utilization and development of plant germplasm resources. The physiological mechanisms of seed aging are complex and diverse. Most studies focus on conventional physiological characterization, while systematic and comprehensive in-depth studies are lacking. Here we review the recent advances in understanding the physiology of seed aging process, including the methods of seed aging, the effect of aging on seed germination, and the physiological and molecular mechanisms of seed aging. The change of multiple physiological parameters, including seed vigor, electrical conductivity, malondialdehyde content and storage material in the seed, antioxidant enzyme activity and mitochondrial structure, were summarized. Moreover, insights into the mechanism of seed aging from the aspects of transcriptome, proteome and aging related gene function were summarized. This study may facilitate the research of seed biology and the conservation and utilization of germplasm resources.

Keywords: seed; vitality; aging; physiological mechanism; omics

在全世界范围内, 由于人口不断增加, 可耕地面积减少, 高质量的投入是提高农业生产效率的重要途径。种子是内含生命活力种质基因的活体, 也是农业生产的基础和关键, 其品质的优劣对农牧业的生产、经济与遗传资源有效利用、生物多样性保护以及植物群落恢复与重建等起着至关重要的作用^[1]。种子活力是一个衡量种子品质的重要表征参数。一般来说, 高活力的种子发芽、出苗较为迅速、整齐一致, 并具有较强的抗逆性, 农业上具有高产和优质的潜能^[2]。但是在生产实践中, 由于环境因素、贮藏方法的不得当以及种子自身的生理变化, 种子往往会发生老化现象, 对活力和后续苗期

生长产生一定的影响。

种子的“老化”(seed aging)或“劣变”(deterioration)是指种子生存能力降低、活力丧失及萌发能力的不可逆变化, 是伴随着种子贮藏时间延长而发生和发展的过程, 也是农牧业种子在贮藏过程中极其普遍的一种现象^[3]。种子老化不但关系到种、苗生长及产量与品质, 而且对种质资源的保存、利用和开发等均产生严重的影响^[4]。种子的老化常常伴随着膜脂过氧化、可溶性糖和蛋白质降解、相关基因表达紊乱以及核酸降解等一系列生理生化反应。一般来说, 老化种子颜色会变暗或失去光泽, 如谷物的种子会变为褐色, 棉花种子胚乳会变为绿色, 大

豆 (*Glycine max*) 和花生 (*Arachis hypogaea*) 种子颜色也会随着老化程度不断加深;与此同时,种子内部的膜系统也会受到严重的破坏,透性不断增加;并且抗氧化酶活性降低, O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量升高,有毒有害物质累积,对细胞造成的损伤加剧,种子会表现出发芽迟缓、出苗率低和长势差的一系列负面特征,甚至成为无用种子^[5]。

自然条件下种子老化时间相对较长,这给探索种子老化的生理机制带来一定的困难。因此,越来越多的研究发现,可以利用人为条件对种子进行加速老化处理来模拟其自然老化过程。人工加速老化会使种子活力迅速丧失,在较短的时间内加快了老化速度,从而能够较好地把握老化过程中种子的生理特征和活力的变化,这也为种子生理学的深入研究和生产实践中品质管理等提供重要的科学依据^[6]。

基于此,本文对国内外关于种子老化的生理学研究进展进行了归纳与总结,从种子老化的方法、老化对种子发芽的影响、种子老化的生理和分子机制几个方面进行了综述,针对种子老化过程中如种子活力、电导率 (electrical conductivity, EC)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量、种子内贮藏物质、抗氧化酶活性、线粒体结构等一系列生理参数的变化;并从种子的转录组、蛋白质组和老化相关基因功能等分子生物学层面阐明了种子老化的机制,旨在为种子生物学的研究和种质资源保存与利用等科学问题提供一定的理论依据。

1 种子老化的方法

目前种子老化的研究方法主要分自然老化和人工加速老化两种。对于自然老化,现有研究通常将种子放置在通风良好的室温条件下进行贮藏,具体时间会因植物种类和研究目的而

有所差异;对于人工加速老化,种子的处理方法主要包括高温高湿老化法 (HH)^[7]、甲醇老化法 (MS)^[8]、热水浴老化法 (HW)^[9] 和饱和盐加速老化法 (SSAA)^[10] (表 1)。

从现有报道来看,对于种子老化方法的研究多集中于人工老化法,而其中应用较广泛的仍属高温高湿老化法。许多学者用其对种子劣变的生理生化规律进行了研究,其中包括黄瓜 (*Cucumis sativus*)、油菜 (*Brassica napus*)、白菜 (*Brassica pekinensis*)、香椿 (*Toona sinensis*) 和大豆种子等^[14]。从现有研究来看,人工老化可以一定程度上反映出种子自然老化的状态,人工老化种子的细胞膜系统受到的损害往往大于自然老化的种子,耐藏性较自然老化种子低,但其发芽率和播种于田间后的幼苗生长状况却好于自然老化种子,在一定程度上可以模拟自然老化^[15]。因此,为了更切合实际地挖掘种子的老化机理,以及为生产中种质资源的保存和利用提供依据,在研究种子老化机理和表征时应尽可能将人工老化和自然老化相结合。

2 老化对种子发芽率与活力的影响

种子发芽的频率和均匀性是决定作物产量和品质的重要因素。种子的发芽率、发芽指数和活力指数等参数是衡量种子优劣的重要指标,直接影响到种子的田间出苗率,也是反映种子活力变化最可靠和直接的指标^[3]。老化使种子活力明显降低,在田间表现为出苗率低、出苗缓慢及幼苗的健壮程度差等特征,进而对最终的产量和品质产生巨大影响^[6]。

不同植物材料、老化时间及其交互作用下的种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数均存在显著差异^[16]。如在自然贮藏条件下,麻黄 (*Ephedra sinica*)、老芒麦 (*Elymus sibiricus*)、油菜、红麻 (*Hibiscus cannabinus*) 等种子的发

表 1 常见的四种人工老化方法

Table 1 Four common artificial aging methods

Aging methods	Treatment conditions	Pros	Cons	Applicable types
High temperature and high humidity accelerated aging method (HH) ^[7]	40–45 °C, 100% RH, constant temperature incubator	Suitable for most plants and easy to operate, and the conditions are close to the external factors of natural aging	The treatment time is relatively long, and the seeds are susceptible to microbial infection and mildew ^[11]	Rice (<i>Oryza sativa</i>), wheat (<i>Triticum aestivum</i>) and other crops
Methanol stress accelerated aging method (MS) ^[8]	50% methanol solution, constant temperature shaker	The aging effect is clear, the treatment time is short, and the seed is not easy to be mildewed ^[12]	The related aging mechanism needs to be further studied ^[13]	Wheat, radish (<i>Raphanus sativus</i>) and other crops
Hot-water bath accelerated aging method (HW) ^[9]	(58±1) °C, Distilled water, water bath kettle	Simple operation, clear aging effect, short treatment time and effective reduction of microbial infection rate ^[11-12]	Not widely used and the scope of application is limited	Crops such as soybeans and wheat
Saturated salt accelerated aging method (SSAA) ^[10]	Saturated NaCl solution, constant temperature incubator	Suitable for most plants and easy to operate ^[11]	Same with the HH method	Watermelon (<i>Citrullus lanatus</i>), vegetables and other small seeds

芽率均随贮藏时间的延长而降低；而沙葱 (*Allium mongolicum*) 种子的发芽率则呈现先上升后下降的趋势，种子发芽率在贮藏 3 年时达到最大，7 年后则低于 60%^[17]；贮藏 1 年的莜麦 (*Avena nuda*) 种子发芽率超过 90%，第 5 年发芽率则降至 54%，而贮藏 1–5 年的皮燕麦 (*Avena sativa*) 种子发芽率均达到 80%以上^[18]。另外，水稻种子在 46 °C、100%湿度的条件下加速老化 3 d 后，发芽率显著下降，8 d 后只有 10% 的种子可以萌发^[19]；软质小麦 Mahdia (最大发芽率为 66%) 和 Marchouche (最大发芽率为 56%) 的种子受加速老化的影响不同：在 40 °C、100%湿度的条件下加速老化 2 d 后，Marchouche 发芽率下降了 52.95%，而相同处理的 Mahdia 种子发芽率仅下降了 12.5%。4 d 后，Mahdia 和 Marchouche 的发芽率分别为 15%和 9%。7 d 后，两个品种的种子均失去发芽能力^[20]。

通过对自然老化与人工加速老化条件下的种子萌发情况进行比较发现，印楝 (*Azadirachta indica*) 种子在自然条件下贮藏 15–100 d 后，发

芽率从 100%下降到了 37%，而在 45 °C、95%湿度的条件下加速老化 24 h，种子的发芽率就迅速下降到 7%^[21]；洋葱 (*Allium cepa*) 种子在 40 °C、100%湿度的条件下加速老化 48 h 发芽率降低至 64.62%–65.92%，这相当于在自然条件下贮藏 1 年^[22]。因此，人工老化较自然老化对种子发芽率的影响更加显著^[18]，且将种子保存在低温、低湿的条件下，能更好地保持种子的高发芽率^[23]。

3 种子老化的生理机制

种子老化主要归因于种子细胞膜的完整性受到破坏、通透性增强、吸胀时的修复能力与速度均降低，浸出液中内含物质外渗量显著增加^[24]。种子 EC 的变化能够一定程度反映种子细胞膜结构的完整性，也可以作为一种鉴定种子活力的快速方法^[23]。不同贮藏年限的大豆种子 EC 与种子活力呈显著负相关^[25]；大麦甘啤 4 号和 0416-1 种子在 40 °C、80%湿度的条件下加速老化 9 d，种子浸出液的相对 EC 与对照相

比分别高 11.83%和 12.01%^[26];在甘蓝 (*Brassica oleracea*)、棉花、小麦、玉米 (*Zea mays*)、萝卜、大豆、豇豆 (*Vigna unguiculata*) 等作物种子人工老化的研究中发现,随着种子老化程度的加深,种子浸出液的相对 EC 显著增加^[12]。但是也有报道称,EC 测定种子活力的差异性很大,或许并不能反映种子切实的活力水平。在研究玉米种子活力时就得到了类似的结论,认为在不同的试验材料和老化中,EC 可能反映的是特定阶段种子的状态,而不能作为反映种子老化的绝对指标^[1]。

MDA 含量与种子浸出液 EC 的变化规律相似,通常在老化过程中整体上表现为升高趋势^[23]。MDA 是种子中不饱和脂肪酸氧化的最终产物,能够引起种子膜系统的严重损伤^[17,27],在一定程度上反映膜脂过氧化作用的强弱和细胞膜系统的完整性程度^[4]。因此,MDA 含量是种子老化的重要指标之一,MDA 含量越低,膜受损程度越小;反之,膜受损程度越大^[3]。例如红松 (*Pinus koraiensis*) 种子在 45 °C 的条件下加速老化 25 d 后,MDA 含量急剧增加;35 d 后会增加到对照的 21 倍^[28];2 个小麦品种豫麦 57 和金豫麦 2 号种子在 45 °C、90%湿度的条件下加速老化后,MDA 含量随处理时间的延长呈现出先升后降的趋势,但处理后的 MDA 含量均比对照高,说明此时已对小麦种子的正常生理功能造成了一定影响^[3];而在沙葱的自然老化以及向日葵 (*Helianthus annuus*) 和小麦种子的加速老化过程中却发现,随着贮藏时间的延长,种子中 MDA 并没有过多的积累,没有加剧种子的膜脂过氧化作用^[17,29]。因此,MDA 在老化过程中是否积累取决于植物种类,而脂质成分的测定是否能更好地评估种子中的脂质过氧化作用^[20],这还有待于今后进一步深入研究。

脂质过氧化常被认为是导致种子活力丧

失的主要原因^[20,23,30-31]。大豆种子在自然老化、玉米和向日葵种子在加速老化、黑苏木 (*Melanoxylon brauna*) 种子在自然和加速老化过程中脂肪酸含量均减少^[32];油菜种子在 40 °C、100%湿度的条件下加速老化 96 h 后,种子中不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比率降低,这可能是由于不饱和脂肪酸比饱和脂肪酸更容易降解,对种子活力影响更大。另外,高脂质含量的油料种子寿命往往更低^[33];加速老化还可以改变种子极性和中性脂质的相对比例。软质小麦 Mahdia 在 40 °C、100%湿度的加速老化条件下,极性脂质 PC 和 PE 的比例分别下降了 18.1%和 21.0%,软质小麦 Marchouche 极性脂质 PC 的比例下降了 19.1%,而中性脂质 TAG 比例下降了 9.8%,FFA 比例增加了 6.5%^[20]。脂质过氧化产物总是在种子高温高湿人工加速老化后被记录,而在自然老化种子的早期退化过程中很少被检测到,这可能是加速老化使一些种子死亡,从而导致脂质过氧化产物积累^[30]。所以脂质过氧化在种子贮藏过程中的作用也存在一定的争议。因此,在研究种子老化机理时应尽可能将人工老化和自然老化相结合,因为种子自然老化的过程是缓慢的,会减慢死种子的出现速度。

蛋白质和糖类是种子两大主要贮藏物质,糖类是最主要的呼吸基质,是种子胚生长发育的养料和能量来源^[17,27]。在种子贮藏过程中,可溶性糖被呼吸作用不断地分解,导致总糖的含量随贮藏时间的延长而减少^[25]。有报道指出,济麦 22 在 45 °C、90%湿度的条件下加速老化 1 d 后,可溶性糖含量显著上升,相比对照提高了 28.3%;加速老化 2-4 d 时,可溶性糖含量急剧下降,且显著低于对照^[4];赵硕等研究发现,甘蓝种子在 40 °C、100%湿度的条件下加速老化 6 d 后,可溶性糖含量较对照下降了 48.21%^[12];

Garcia 等^[34]报道了巴西红木 (*Caesalpinia echinata*) 种子在室温贮藏下果糖和葡萄糖含量分别下降了 71.7% 和 72.2%; 自然和人工老化条件下, 黑苏木种子胚轴和子叶中的低聚糖含量显著减少和葡萄糖含量增加被认为是老化的重要因素^[32]。在种子贮藏过程中, 可溶性糖的含量对于种子活力的保持和细胞膜的稳定有着很大的作用^[25]。

蛋白质是基因表达的产物, 蛋白质的变化反映了种子老化过程中遗传稳定性的改变^[35]。贮藏蛋白 (seed storage proteins, SSPs) 为种子萌发和幼苗生长提供氮素营养, 对种子萌发与胚的生长有极重要的作用, 与种子活力的形成和保持有着密切的关系^[25]。在种子贮藏过程中, 大豆、油菜和大葱 (*Allium fistulosum*) 等种子中的 SSPs 含量呈现不断下降的趋势^[17]; 范国强等^[36-37]在对花生种子老化过程中蛋白质变化研究中却得到了相反的结论, 即随着种子活力的丧失, 蛋白质含量有所增加^[25], 说明种子在老化过程中, SSPs 含量降低, 可溶性蛋白含量增加。沙葱种子中可溶性蛋白质含量随着自然老化时间的延长, 整体上呈现先上升而后略有下降的变化趋势, 但与对照相比差异不显著, 表明自然老化对沙葱种子中可溶性蛋白质含量有一定的影响, 但影响较小, 而可溶性蛋白质稳定性较好是否与沙葱种子寿命较长有一定关联还需要进一步研究^[17]。姜小苓等^[38]研究则认为小麦种子老化导致小麦内在品质发生不同程度的变化, 蛋白质含量变化幅度不大, 但质量却发生了较大幅度的变化。在贮藏过程中, 低分子量谷蛋白含量减少, 高分子量谷蛋白含量增加, 是影响面筋质量的重要因素^[34]。

自由基清除 (抗氧化) 系统是种子自身的保护系统之一, 包括酶促和非酶促两大系统^[27]。植物体内酶促系统在种子老化过程中起到关键作用, 对清除细胞内活性氧、延缓种子衰老有

重要意义。大量的实验结果表明: 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、过氧化物酶 (peroxidase, POD) 在清除过程中尤为重要。SOD 是机体内天然存在的 O_2^- 清除因子, 它可以把机体代谢产生的有害 O_2^- 转化为 H_2O_2 , 但 H_2O_2 对机体仍有害, 需经体内的 CAT 和 POD 将其转化为生命活动可利用的 H_2O 。例如, 紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 种子抗氧化酶活性 (SOD、POD、CAT) 随自然老化时间的延长呈现先降低后增加的趋势, 收获当年的种子活性最高, 贮藏 1-2 年后显著降低, 贮藏 3 年后迅速增加, 高于贮藏 1-2 年的种子, 但显著低于收获当年的种子。随自然老化时间的延长, 种子老化速度加快, 脂质过氧化作用加剧, 而此时抗氧化酶活性增加, 有利于清除活性氧和自由基, 减轻膜脂过氧化作用, 从而保持种子活力^[23]。脱氢酶 (dehydrogenase, DHA) 可以反映种子萌发后根系的代谢强度和生长状况, 而根系活力的强弱直接影响种子的活力及寿命^[27]。不同小麦种子在 45 °C、90% 湿度的加速老化条件下 DHA 活性整体呈先升高后下降趋势, 中麦 996 老化第 1 天、3 天和 4 天的 DHA 活性显著低于对照, 而老化第 2 天时的活性显著高于对照; 济麦 22 老化第 2 天和第 3 天的 DHA 活性显著高于对照, 分别为对照的 3.76 倍和 3.18 倍。DHA 活性在老化前期有一定程度的升高, 可能是由于短期的老化处理会激发小麦种子内部 DHA 的活性, 但随着老化时间的延长, 小麦种子 DHA 活性大幅降低^[4]。

线粒体是细胞的能量供应中心, 不同的老化机制都离不开线粒体的参与^[39]。种子在老化过程中, 线粒体双层膜结构遭到破坏, 嵴逐渐消失, 基质变稀, 内外膜的完整性受老化的影响首先被破坏^[40]。小麦种子在 35 °C、85% 湿度的条件下加速老化后, 线粒体数量明显减少,

部分线粒体出现完全空泡化^[41]。赵垦田等对红松种子和 Xin 等^[42-43]对大豆种子的老化处理后研究发现,线粒体膜受损、内外膜界限变模糊、嵴的数量明显减少;榆树 (*Ulmus pumila*) 种子在老化初期,大量的点状型线粒体均匀地分散在细胞质中,随着老化程度的加深,线粒体逐渐变为蠕虫状型和巨大型,巨大型线粒体的体积增大,最后逐渐聚集在细胞膜上,成为分散型线粒体^[44]。种子的老化抑制了线粒体在萌发阶段的正常发育,使线粒体的形态结构发生改变,导致 ATP 的供应量不足,线粒体氧化磷酸化的受限又促进了活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的增加,反过来促进种子老化^[45]。

4 种子老化的分子机制

现有关于种子老化的研究多集中在种子生理生化的变化,缺乏分子机理的阐述,将生理学手段与分子生物学技术相结合可为种子老化机制的深入研究带来突破性进展。当前较为热点的组学技术在种子老化机理的研究中也有涉及,更多地体现在转录组学和蛋白质组学两个方面。

转录组学是一门在整体水平上研究细胞中所有基因转录及转录调控规律的学科,反映的是生物的特定器官、组织在特定的发育、生理状态下所有基因的表达水平。因此,可以用转录组来比较不同组织或不同生理条件下基因水平的表达差异,从而研究生理功能相关的基因^[46]。豌豆 (*Pisum sativum*) 种子在 50 °C 的条件下加速老化过程中,共有 717 个差异表达的基因,其中上调表达 330 个,下调表达 387 个。在老化第 15 天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、周转及核糖体结构等相关,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^[47];玉米种子在 45 °C、100%湿度

的条件下加速老化 72 h 后,共有 4 713 个差异表达的基因,其中 2 874 个上调,1 839 个下调,这些基因多涉及能量代谢、信号转导、刺激响应和衰老死亡等过程。分析发现,表达变化的基因主要使糖酵解途径受到抑制,导致 ROS 的产生和积累,最终使种子丧失活力^[48]。Wang 等^[49]研究发现,甘蓝种子在 40 °C、90%湿度的条件下加速老化后,大部分已鉴定的差异表达基因 (differential express gene, DEG) 都是上调基因,在转录组分析中,DEG 在对 ROS、氧化胁迫和 H₂O₂ 的反应中显著富集,表明种子老化使细胞内的 ROS 积累,导致膜脂质过氧化、细胞膜损伤、通透性增加;与胁迫反应相关的基因热激转录因子 (heat stress transcription factor, HSF) 和热休克蛋白 (heat shock proteins, HSPs) 上调,说明它们在种子老化中起关键作用,这与 Prieto-Dapena 等^[50]证明 HSF 在转基因拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 和烟草 (*Nicotiana tabacum*) 种子中过度积累导致 HSPs 的积累从而提高抗老化能力的结果相同。

蛋白质组为一个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^[46]。利用双向电泳 (two-dimensional electrophoresis, 2-DE) 和同位素标记相对和绝对定量 (isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ) 技术对耐贮藏和不耐贮藏品种水稻种胚贮藏前后的差异蛋白进行比较,发现与水稻种子贮藏相关的蛋白为 LEA 蛋白、DNA 损伤修复蛋白、Cupin 家族蛋白、谷氧还蛋白和类萌发素蛋白^[51];且含 VHS、ENTH 和 ANTH 结构域蛋白的上调表达与异戊烯转移酶蛋白的下调表达可能与水稻种子的老化有关^[52];Chen 等^[53]对耐贮藏 (ST) 和贮藏敏感 (SS) 型小麦 (TRI_23248 和 TRI_10230) 的研究发现,SSPs 含量在 ST 种

子中显著增加, SS 中显著减少, SSPs 的积累可以抑制 ROS 对其他蛋白的攻击, 提高小麦对热、盐和干旱胁迫的耐受性^[54]; 林信海和 Zhang 等^[55-56]分别对老化的玉米和白杨 (*Populus tomentosa*) 种子研究发现, 表达有显著性差异的蛋白多与细胞防御、合成代谢、蛋白质合成与贮藏、能量、细胞生长和分裂相关。Yin 等报道水稻种子老化过程中 112 种蛋白质的丰度和 68 种蛋白质的羧基化水平显著变化, 表明种子受到了氧化损伤; 老化过程中共有 78 种下调蛋白, 其中 16 种与能量代谢有关, 构成了最大的下调蛋白组, 这是因为在植物光合作用建立之前需要大量的能量, 所以供能能力对种子萌发和幼苗生长十分重要; 12 种与防御相关, 表明老化种子抗氧化系统受到抑制, 氧化损伤和蛋白质羧基化增加; 糖酵解途径的 7 种蛋白质下调, 表明糖酵解代谢也有所降低; SSPs 构成了最大的上调蛋白组, 说明种子在老化过程中利用 SSPs 的能力降低, 导致 SSPs 的积累和羧基化, SSPs 的羧基化水平增加表明老化种子的 ROS 水平相对较高, 这与老化种子抗氧化系统能力的下降一致^[57]。

另外, 脂氧合酶 (lipoxygenase, LOX) 是脂质氧化过程中的关键酶, 催化膜脂中的不饱和脂肪酸发生氧化, 主要底物是亚油酸和亚麻酸, 导致膜脂过氧化^[46]。水稻种子在人工加速老化条件下减少 *OsLOX1* 基因表达, 可在一定程度上延缓种子的老化^[58]; 转基因水稻 hpRNAi20-1 中 *OsLOX2* 的表达量为野生型的 29%, 在人工加速老化处理后发芽率高于野生型, 说明在一定程度上降低 *OsLOX2* 的表达可抑制种子老化, 延长种子的寿命^[59]; 同样 Bai 等^[60]发现敲减 *OsLOX3* 基因的转基因水稻在人工加速老化后的发芽率比野生型高, 说明降低 *OsLOX3* 基因的表达可抑制种子老化。磷脂酶 D

(phospholipase D, PLD) 能将膜中的磷脂降解, 参与种子贮藏过程中膜的损伤^[46]。通过敲除或敲低拟南芥 *AtPLD1* 基因, 抑制 PLD 表达, 可有效提高储藏后种子的发芽率和油脂稳定性, 且适当降低 *AtPLD1* 的表达可提高种子的耐贮藏能力^[61]; 水稻在加速老化过程中 *OsPLD1* 的表达和活性增加, 所以认为 *OsPLD*, 特别是 *OsPLD1* 参与了种子老化过程中的脂质降解^[19]。

5 总结与展望

种子的老化可以直接影响萌发和幼苗形态建成, 还会进一步降低种、苗的产量和品质, 不利于后期种质资源的开发和利用。种子老化在贮藏过程中是不可避免的, 引起老化的原因也复杂多样, 国内外学者也因此开展了大量的工作, 但仍未从根本上揭示种子老化的生理机制。随着分子生物学技术的快速发展, 对老化机理的研究也在不断地完善。综合运用转录组学、蛋白组学、代谢组学和脂质组学以及基因工程等技术, 会为揭示种子老化机制带来突破性的进展。基于现有研究存在的问题, 今后可以在下述几个方面进行更深入研究。

(1) 种子的老化受内部基因和外界环境因子的综合影响, 影响种子耐贮性的各因子间相互影响、共同作用, 机制极其复杂。因此, 要全面了解组织的老化过程, 获得细胞在分子水平上发生的变化机制, 目前研究缺乏系统综合的多层面动态研究, 快速发展的“组学”技术可以一定程度解决这一难题。综合利用各种组学技术挖掘种子老化机理尤为必要。通过明确种子在老化过程中的差异表达基因、蛋白或代谢物, 挖掘特异性分子代谢途径和重要信号物质, 进而明确不同植物种子的老化机制, 如可以利用蛋白质组学技术研究线粒体在种子老化过程中的功能和变化, 扩充线粒体蛋白的数据库;

加强对老化相关蛋白质或 mRNA 定位的研究, 在组织或亚细胞水平研究种子老化的部位和轨迹; 目前对老化种子中脂质含量的变化研究相对较少, 还有待进一步研究, 可利用脂质组学研究易变质的油料作物种子在老化过程中脂质的变化, 进一步完善种子老化机理, 进而挖掘更多解决种子老化的有效方法。

(2) 种子寿命会因植物种类不同而有所差异, 主要内含物如淀粉、脂类和蛋白质均会对产生很大的影响。探究不同类型种子品质在老化过程中的差异, 依据不同种子含水量、贮藏环境和密封包装材料对种子活力及遗传完整性的影响, 确定种子经济安全的贮藏方法。从现有研究来看, 超干贮藏能有效提高种子的耐贮性, 但也会因种子含水量而有所差别, 可利用统计学方法建立含水量与活力间的联系, 来确定适合不同种子长期贮藏时的最适含水量。当种子含水量低于临界值时, 种子将表现为干燥损伤, 发生劣变。因此, 基于老化的种子脱水耐性研究也越来越受到人们关注。此外, 目前对种子老化的研究多集中在比较种子老化过程中的生理生化变化, 缺少对老化种子播种后田间生长性能以及不同老化类型种子间耐贮性及田间状态的比较。播种后的田间长势可以更直观地观察到自然老化和人工老化的差异, 因此有必要加强对老化种子播种后田间出苗率、出苗速度、植株分蘖能力、株高耐逆性等方面的综合研究。

(3) 现有进行老化生理研究的种子类型较少, 今后应更多地开展一些濒危物种、药用植物以及生产力较低作物种子老化机理的深入研究; 对于种子的贮藏, 应同时考虑延长种子寿命和降低贮藏成本的问题, 探索延缓种子老化处理的有效方法并选育耐贮性品种, 有计划地开展决定种子耐贮性基因水平的研究, 并加强对不同老化程度种子活力修复机理的探索; 种

子引发效果因品种甚至批次的不同有很大差异, 分析不同引发方式对不同种子活力修复过程中生理生化指标变化的影响, 探索适宜的引发方式和引发条件, 为今后种子田间种植和种子在种质资源库中的安全贮藏提供参考。

(4) 种子在发育以及成熟后贮藏过程中不断产生 ROS, 且存在着多种活性物质不断清除。由于积累 ROS 的主要细胞器是线粒体, 因此深入了解种子老化与线粒体的密切关联, 可深入明晰种子老化的机理, 对延缓和预防种子老化, 种质资源的长期保存等尤为重要。目前关于种子的老化机理, 还缺乏关于线粒体功能与结构变化间关系的研究, 这也是在今后研究中需要解决的问题之一。此外, 种子老化与细胞程序性死亡 (programmed cell death, PCD) 有紧密的关联。线粒体在植物种子 PCD 中有重要作用, 关于种子线粒体与细胞凋亡的研究仍处于初步阶段, 积极开展种子 PCD 过程中具体机理的探讨, 增强线粒体与细胞凋亡关系的研究, 有利于延缓和预测种子老化, 为种质资源的长期保存提供技术方法。

REFERENCES

- [1] 白亚利, 云岚, 宋百枝. 新麦草种子贮藏时间对种子活力的影响. 种子, 2015, 34(8): 33-38.
Bai YL, Yun L, Song BZ. Effects of storage time on seed vigor of *Psathyrostachys juncea*. Seed, 2015, 34(8): 33-38 (in Chinese).
- [2] 宋文坚, 颜启传, 胡伟民. 种子活力测定的原理和方法. 北京: 中国农业出版社, 2006.
Song WJ, Yan QC, Hu WM. Principle and method of seed vigor determination. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2006 (in Chinese).
- [3] 李淑梅, 董丽平, 孙君艳, 等. 人工加速老化对 2 个小麦品种发芽和种子生理生化特性的影响. 吉林农业科学, 2012, 37(5): 18-20.
Li SM, Dong LP, Sun JY, et al. Effect of artificial accelerated aging of 2 wheat cultivars on seed germination and physiological and biochemical characteristics. J Jilin Agric Sci, 2012, 37(5): 18-20 (in Chinese).

- [4] 杜锦, 曹高焱, 杨勇, 等. 人工老化对不同品种小麦种子生理生化特性的影响. 天津农业科学, 2016, 22(1): 32-36.
Du J, Cao GY, Yang Y, et al. Effects of artificial accelerated aging on physiological and biochemical characteristics of wheat seeds. Tianjin Agric Sci, 2016, 22(1): 32-36 (in Chinese).
- [5] 詹明兴. 种子老化及活力修复研究进展分析. 种子科技, 2017, 35(6): 112-113.
Zhan MX. Research progress of seed aging and vigor restoration. Seed Sci Technol, 2017, 35(6): 112-113 (in Chinese).
- [6] 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. 核农学报, 2008, 22(4): 510-513.
Liu MJ, Wang TG, Chen SL, et al. Physiological and seed vigour changes of maize seeds during artificial aging course. J Nucl Agric Sci, 2008, 22(4): 510-513 (in Chinese).
- [7] Delouche JC, Baskin CC. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. Seed Sci Technol, 1973, 1(2): 427-452.
- [8] Musgrave ME, Priestley DA, Leopold AC. Methanol stress as a test of seed vigor. Crop Science, 1980, 20: 626-630.
- [9] Bhattacharyya S, Hazra AK, Sen Mandi S. Accelerated aging of seeds in hot water germination characteristics of aged wheat seeds. Seed Sci Technol, 1985, 13(3): 683-690.
- [10] Bennett Mark A, Evans Andrew F, Grassbaugh M. Saturated salt accelerated aging (SSAA) test for assessing and comparing sh2 and sweet corn seedlots. Proc Int Seed Testing Assoc, 2001, 26: 11.
- [11] 邸宏, 吕婷婷, 刘玲玲, 等. 不同人工老化法测定玉米种子耐储性的比较分析. 玉米科学, 2015, 23(3): 71-75.
Di H, Lü TT, Liu LL, et al. Comparative analysis on phenotypic measurement of maize seeds storability by artificial aging methods. J Maize Sci, 2015, 23(3): 71-75 (in Chinese).
- [12] 赵硕, 赵颖雷, 潘学勤, 等. 甘蓝种子的人工老化及其生物学效应. 北方园艺, 2019(24): 7-13.
Zhao S, Zhao YL, Pan XQ, et al. Artificial aging of cabbage seeds and biological effects. North Hortic, 2019(24): 7-13 (in Chinese).
- [13] 徐本美, 顾增辉. 用甲醇进行人工老化种子实验. 种子, 1985, 4(5): 16-17.
Xu BM, Gu ZH. Artificial aging seed experiment with methanol. Seed, 1985, 4(5): 16-17 (in Chinese).
- [14] 刘强, 任敏, 刘祥君. 种子耐贮性研究进展. 内蒙古师范大学学报(自然科学汉文版), 2003, 32(3): 248-255.
Liu Q, Ren M, Liu XJ. Research progress on the seed storability. J Inn Mong Norm Univ (Nat Sci Ed), 2003, 32(3): 248-255 (in Chinese).
- [15] 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. 杂交水稻, 1997, 12(3): 29-31.
Li Wenxiang, Yan Qiquan. Differences in properties between naturally and artificially aged hybrid rice seeds. Hybrid Rice, 1997, 12(3): 29-31 (in Chinese).
- [16] 王玉娇, 吴薇, 郭忠军, 等. 小麦种子老化处理对发芽指标及根系的影响. 核农学报, 2018, 32(12): 2423-2430.
Wang YJ, Wu W, Guo ZJ, et al. Effects of aging treatment on germination index and root system of wheat. J Nucl Agric Sci, 2018, 32(12): 2423-2430 (in Chinese).
- [17] 常海文, 张凤兰, 杨忠仁, 等. 沙葱种子贮藏陈化过程中的生理生化应答反应. 植物生理学报, 2015, 51(7): 1075-1081.
Chang HW, Zhang FL, Yang ZR, et al. Physiological and biochemical responses of *Allium mongolicum* seeds to storage aging. Plant Physiol J, 2015, 51(7): 1075-1081 (in Chinese).
- [18] 方青慧, 刘欢, 赵桂琴, 等. 自然老化与人工老化对燕麦种子的遗传完整性分析比较. 草地学报, 2019, 27(4): 1052-1059.
Fang QH, Liu H, Zhao GQ, et al. Genetic integrity analysis of oat seeds by artificial aging and natural aging. Acta Agrestia Sin, 2019, 27(4): 1052-1059 (in Chinese).
- [19] Wang FW, Wang R, Jing W, et al. Quantitative dissection of lipid degradation in rice seeds during accelerated aging. Plant Growth Regul, 2012, 66(1): 49-58.
- [20] Ouzouline M, Tahani N, Demandre C, et al. Effects of accelerated aging upon the lipid composition of seeds from two soft wheat varieties from Morocco. Grasas Aceites, 2009, 60(4).
- [21] Sahu AK, Sahu B, Soni A, et al. Active oxygen species metabolism in neem (*Azadirachta indica*) seeds exposed to natural ageing and controlled deterioration. Acta Physiol Plant, 2017, 39(9): 1-12.
- [22] Brar NS, Kaushik P, Dudi BS. Assessment of natural ageing related physio-biochemical changes in onion seed. Agriculture, 2019, 9(8): 163.
- [23] 张海波, 杨桂娟, 高卫东, 等. 香椿种子特定贮藏条件下活力变化的研究. 林业科学研究, 2019, 32(2):

- 152-159.
- Zhang HB, Yang GJ, Gao WD, et al. Study on the seed vigor of *Toona sinensis* under specific storage conditions. *For Res*, 2019, 32(2): 152-159 (in Chinese).
- [24] 张春慧, 曲红彤, 孙杰. 种子老化过程中的相关变化及研究进展. *中国农业信息*, 2016(6): 3.
- Zhang CH, Qu HT, Sun J. Related changes and research progress of seed aging. *China Agric Inf*, 2016(6): 3 (in Chinese).
- [25] 徐亮, 包维楷, 何永华. 种子贮藏物质变化及其贮藏生理. *种子*, 2003, 22(5): 60-63.
- Xu L, Bao WK, He YH. Changes of seed storage substance and its storage physiology. *Seed*, 2003, 22(5): 60-63 (in Chinese).
- [26] 朱迎树. 引发对老化大麦种子生理生化变化影响的研究. 石河子: 石河子大学, 2019.
- Zhu YS. Effects of priming on physiological and biochemical changes of aging barley seeds. Shihezi: Shihezi University, 2019 (in Chinese).
- [27] 殷换弟, 汤青林, 王志敏, 等. 大葱种子贮藏期间生理生化指标变化研究. *南方农业*, 2007, 1(1): 66-67, 70.
- Yin HD, Tang QL, Wang ZM, et al. Changes of physiological and biochemical indexes of Welsh onion seeds during storage. *South China Agric*, 2007, 1(1): 66-67, 70 (in Chinese).
- [28] Kim DH, Han SH. Seed coat and aging conditions affect germination and physiological changes of aging Korean pine seeds. *J For Res*, 2018, 23(6): 372-379.
- [29] Lehner A, Mamadou N, Poels P, et al. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. *J Cereal Sci*, 2008, 47(3): 555-565.
- [30] Veselova TV, Veselovsky VA, Obroucheva NV. Deterioration mechanisms in air-dry pea seeds during early aging. *Plant Physiol Biochem*, 2015, 87: 133-139.
- [31] Khan MM, Abbas M, Awan FS, et al. Physio-biochemic and genetic changes in stored pea (*Pisum sativum*) seeds. *Int J Agric Biol*, 2013, 15(5): 951-956.
- [32] Corte VB, Borges EEDLE, Gonçalves JFDC, et al. Alterations in the lipid and soluble sugar content of *Melanoxylon brauna* seeds during natural and accelerated ageing. *Revista Brasileira De Sementes*, 2010, 32(3): 152-162.
- [33] Seyyedi SM, Tavakkol Afshari R, Daneshmandi MS. The relationships between fatty acids and heterotrophic seedling growth in winter canola cultivars during accelerated seed aging process. *S Afr N J Bot*, 2018, 119: 353-361.
- [34] Garcia IS, Souza A, Barbedo CJ, et al. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* LAM. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. *Braz J Biol*, 2006, 66(2b): 739-745.
- [35] 胡根海, 张晓红, 张自阳, 等. 小麦种子老化处理对发芽能力与蛋白组分的影响. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2019, 40(5): 86-90.
- Hu GH, Zhang XH, Zhang ZY, et al. Changes of protein components in wheat seed during aging. *J Yangzhou Univ (Agric Life Sci Ed)*, 2019, 40(5): 86-90 (in Chinese).
- [36] 范国强, 秦文静, 刘玉礼. 花生种子人工老化过程中发芽率和蛋白质的变化. *河南农业大学学报*, 1995, 29(4): 337-340.
- Fan GQ, Qin WJ, Liu YL. Changes of germination percentage and protein of different varieties of peanut seeds in aging. *Acta Agric Univ Henanensis*, 1995, 29(4): 337-340 (in Chinese).
- [37] 范国强, 黄道发, 傅家瑞. 花生不同品种老化种子的蛋白质变化. *华北农学报*, 1996, 11(1): 133-134.
- Fan GQ, Huang DF, Fu JR. Proteins change in peanut seeds of different varieties after aging. *Acta Agric Boreall—Sinica*, 1996, 11(1): 133-134 (in Chinese).
- [38] 姜小苓, 张自阳, 刘明久, 等. 人工老化过程中 BNS 杂交小麦品质性状变化规律研究. *核农学报*, 2013, 27(10): 1511-1517.
- Jiang XL, Zhang ZY, Liu MJ, et al. Changes of BNS hybrid wheat quality properties during artificial aging course. *J Nucl Agric Sci*, 2013, 27(10): 1511-1517 (in Chinese).
- [39] 金泽阳, 许天琪, 张尹, 等. 种子老化与线粒体关系的研究进展. *分子植物育种*, 2021, 19(5): 1687-1691.
- Jin ZY, Xu TQ, Zhang Y, et al. Review of the relationship between mitochondria and seed aging. *Mol Plant Breed*, 2021, 19(5): 1687-1691 (in Chinese).
- [40] Benamar A, Tallon C, Macherel D. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing. *Seed Sci Res*, 2003, 13(1): 35-45.
- [41] 王若兰, 张丽丽, 曹志帅, 等. 储藏微环境下小麦胚细胞超微结构变化及衰老机制研究. *中国粮油学报*, 2014, 29(10): 77-82.
- Wang RL, Zhang LL, Cao ZS, et al. Ultra-structural changes in wheat embryo cell and aging mechanism under micro-environment storage conditions. *J Chin*

- Cereals Oils Assoc, 2014, 29(10): 77-82 (in Chinese).
- [42] 赵垦田, 李立华. 人工老化过程红松种胚细胞物质外渗和超微结构变化. 东北林业大学学报, 2000, 28(3): 5-7.
Zhao KT, Li LH. Cellular substance exudation and ultrastructural change of seed embryos of *Pinus koraiensis* during the process of artificially accelerated aging. J Northeast For Univ, 2000, 28(3): 5-7 (in Chinese).
- [43] Xin X, Tian Q, Yin G, et al. Reduced mitochondrial and ascorbate-glutathione activity after artificial ageing in soybean seed. J Plant Physiol, 2014, 171(2): 140-147.
- [44] Wang Y, Li Y, Xue H, et al. Reactive oxygen species-provoked mitochondria-dependent cell death during ageing of elm (*Ulmus pumila* L.) seeds. Plant J, 2015, 81(3): 438-452.
- [45] 朱艳乔, 闫慧芳, 夏方山, 等. 线粒体与种子老化的关系. 草业科学, 2016, 33(2): 290-298.
Zhu YQ, Yan HF, Xia FS, et al. The relationship between mitochondria and seed aging. Pratacultural Sci, 2016, 33(2): 290-298 (in Chinese).
- [46] 程航, 陈玲玲, 夏方山, 等. 种子老化的分子生物学研究. 草业科学, 2017, 34(1): 129-137.
Cheng H, Chen LL, Xia FS, et al. Advances in the molecular biology study of seed aging. Pratacultural Sci, 2017, 34(1): 129-137 (in Chinese).
- [47] 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. PLoS One, 2013, 8(10): e78471.
- [48] 杨伟飞, 张景龙, 吕伟增, 等. 人工劣变处理对玉米种胚差异基因表达的影响. 中国农业科学, 2014, 47(10): 1878-1893.
Yang WF, Zhang JL, Lü WZ, et al. Study on the differential genes expression in maize embryo treated by a controlled deterioration treatment. Sci Agric Sin, 2014, 47(10): 1878-1893 (in Chinese).
- [49] Wang T, Hou L, Jian H, et al. Combined QTL mapping, physiological and transcriptomic analyses to identify candidate genes involved in *Brassica napus* seed aging. Mol Genet Genomics, 2018, 293(6): 1421-1435.
- [50] Prieto-Dapena P, Castaño R, Almoguera C, et al. Improved resistance to controlled deterioration in transgenic seeds. Plant Physiol, 2006, 142(3): 1102-1112.
- [51] 高家东. 杂交水稻种子耐贮藏生理基础和蛋白质组学研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012.
Gao JD. Study on the physiological characteristics and proteomics of seed storability of hybrid rice[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [52] 胥鹏宇, 邓洪平, 张家辉, 等. 水稻种子胚人工老化过程中蛋白质差异表达分析. 西南大学学报(自然科学版), 2010, 32(12): 1-7.
Xu PY, Deng HP, Zhang JH, et al. Analysis of differential expression of seed embryo protein in the artificial aging process in rice. J Southwest Univ Nat Sci Ed, 2010, 32(12): 1-7 (in Chinese).
- [53] Chen X, Yin G, Börner A, et al. Comparative physiology and proteomics of two wheat genotypes differing in seed storage tolerance. Plant Physiol Biochem, 2018, 130: 455-463.
- [54] Giuliani MM, Palermo C, De Santis MA, et al. Differential expression of durum wheat gluten proteome under water stress during grain filling. J Agric Food Chem, 2015, 63(29): 6501-6512.
- [55] 林信海. 玉米种子人工老化过程中胚蛋白质组的变化研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
Lin XH. Research on the changes of proteome in the seed embryo of *Zea mays* during the artificial aging[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2010 (in Chinese).
- [56] Zhang H, Wang WQ, Liu SJ, et al. Proteome analysis of poplar seed vigor. PLoS One, 2015, 10(7): e0132509.
- [57] Yin GK, Xin X, Fu SZ, et al. Proteomic and carbonylation profile analysis at the critical node of seed ageing in *Oryza sativa*. Sci Rep, 2017, 7: 40611.
- [58] Gayen D, Ali N, Ganguly M, et al. RNAi mediated silencing of lipoxygenase gene to maintain rice grain quality and viability during storage. Plant Cell Tissue Organ Cult PCTOC, 2014, 118(2): 229-243.
- [59] 黄洁雪. 水稻种胚脂氧合酶基因 *OsLOX2* 的克隆与功能分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
Huang JX. Isolation and characterization of seed *OsLOX2* gene in rice[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [60] Bai SY, He NQ, Zhou L, et al. Knock-down of *OsLOX* by RNA interference leads to improved seed viability in rice. J Plant Biol, 2015, 58(5): 293-302.
- [61] Devaiah SP, Pan X, Hong Y, et al. Enhancing seed quality and viability by suppressing phospholipase D in *Arabidopsis*. Plant J, 2007, 50(6): 950-957.

(本文责编 郝丽芳)