



# 植物种子衰老机制研究进展

魏永胜<sup>1</sup>, 彭琪朗<sup>1</sup>, 黄滢奥<sup>2</sup>, 陈彦如<sup>3</sup>, 赵程亚菲<sup>4</sup>, 郝欣悦<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西杨凌 712100; 3. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 400715; 4. 西北农林科技大学 风景园林学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要** 种子在贮藏过程中的衰老即可直接导致建苗迟缓, 幼苗畸形, 最终影响作物产量, 也可以导致商业贮藏中粮食品质的下降, 还会影响种质资源库的更新周期和自然环境野生植物的生存。因此, 深入认识种子衰老的生物学过程, 对于农业生产和种质资源安全保存具有重要意义。本文系统综述了植物种子衰老生物学特征, 从基因到表型, 分析造成种子衰老的内外因, 包括种子衰老过程中解剖结构、亚细胞结构、生理生化和分子生物学原因, 以及环境等外界诱导因素, 构建出一个完整种子衰老网络图。以期为种子衰老机理、种子活力修复和种质资源保存等研究提供基础理论参考。

**关键词** 植物种子; 衰老; 分子机制; 寿命

种子是人类的主要粮食, 其寿命直接影响粮食品质、作物出苗质量、种质资源库的更新周期、种子商业贮藏以及自然环境野生植物的繁殖与生存, 无论是在农业生产、生态建设还是生物多样性保护中都有重要意义, 因此种子的衰老或寿命问题成为研究者和生产者共同关注的问题。种子离开母体后, 随着时间的延长, 其生存能力、活力和萌发力受到自身调控或外部环境影响而逐渐衰退, 即为种子衰老<sup>[1]</sup>。贮藏种质资源库中的种子萌发率每年也会平均下降 1%, 不到 20 a 即会从 100% 下降到 85%<sup>[2]</sup>。生产中, 多数作物种子为 1~5 a 左右, 自然条件可达千年以上, 如死海地区的椰枣种子休眠 2 000 a 后依然可以萌发<sup>[3]</sup>。因此, 了解种子衰老的机理, 预测其寿命, 是种质资源库管理及自然土壤种子库研究的核心问题。种子耐贮藏的本质就是各种保护机制和所受损伤之间的博弈, 当平衡被打破后种子无法维持内部分子有效结构与功能, 种子衰老即开始。每一种引起种子衰老的因素既作为起因 (cause) 加速劣变的进程, 同时也是衰老的结果 (effector)。在所有因素中, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 引起的氧化损伤被认为是引起种子衰老的

主要原因<sup>[4]</sup>。遗传因素在种子抗衰老特性中起着关键性的作用, 种子活力的相关性状具有很高的遗传性, 强活力的品种在杂交后代中表现突出, 而且可以遗传。耐衰老品种将会产生一定分子量的特异蛋白质, 这与上游的基因调控以及转录因子的调节有关<sup>[5]</sup>。

本文对种子, 主要是正常种子 (orthodox seeds) 的衰老表现及内在机制, 如细胞结构变化, 激素、活性氧、蛋白质等生物大分子变化以及基因调控等多个方面进行系统综述, 此外还讨论了环境等外在因素对种子衰老的影响, 并对本领域的研究进行展望, 提出该领域研究的热点和尚未明确的问题。期望构建相对完整的种子衰老机制 (图 1), 为种子衰老机理研究和种质保存提供一定的参考。

## 1 种子衰老的主要生物学表现

### 1.1 种子形态变化

种子在健康状态下籽粒饱满, 无机械损伤, 种子自身粒质量、粒长、粒宽、体积、种皮颜色、投影面积等指标均呈稳定状态。种子衰老过程, 颜色会发生变化, 如水稻 (*Oryza sativa* L.) 种子的

收稿日期: 2022-10-18 修回日期: 2023-02-08

基金项目: 西北农林科技大学大学生创新创业项目 (X202210712418, X202310712469)。

第一作者: 魏永胜, 男, 博士, 研究方向为植物逆境与营养生理、生物模型。E-mail: wysh70@nwsuaf.edu.cn

彭琪朗 (并列第一作者), 女, 学士, 研究方向为种子衰老、种子寿命预测模型。E-mail: pqlang@126.com

通信作者: 魏永胜。

种皮经常出现红色病变或坏死<sup>[4]</sup>。正常种子的子叶发达,占种胚绝大部分,可为种子萌发提供大量营养物质,促进胚芽、胚轴和胚根的形成<sup>[6]</sup>。但种

子进入老化时,胚的质量下降以及种皮的不透性也会增强。

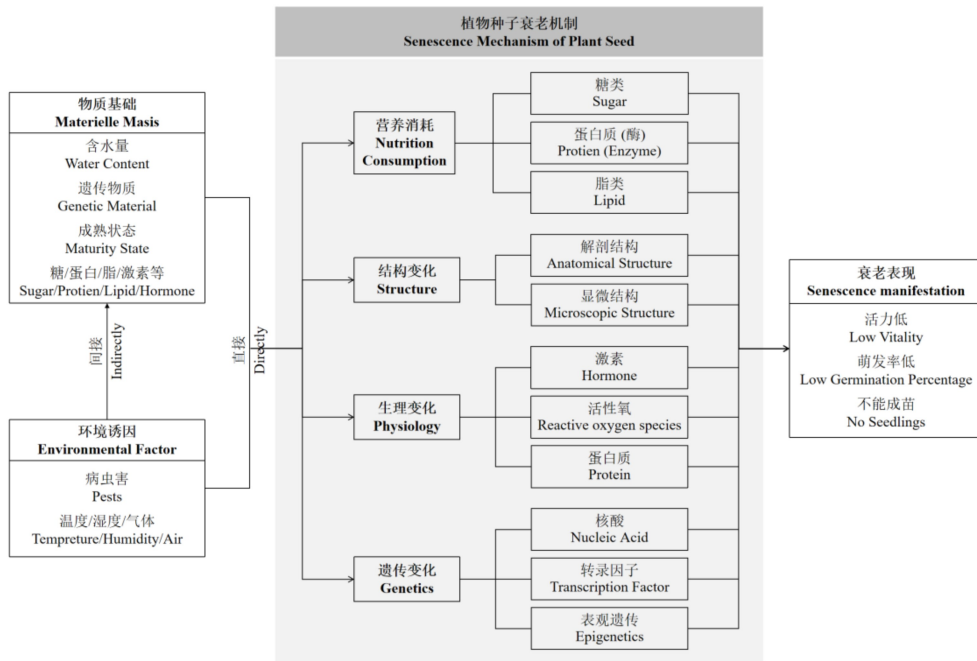


图1 植物种子衰老网络图

Fig. 1 Network diagram of plant seed senescence

1.2 衰老种子的活力与萌发率降低

在种子衰老的过程中,种子活力下降导致种子发芽迟缓,使种子在萌发过程中对逆境条件的适应性减弱。萌发率随老化时间的变化趋势通常呈典型倒S形曲线<sup>[7]</sup>,其中包括一个平台期(阶段I),然后是一个快速下降阶段(阶段II)和一个缓慢下降阶段(阶段III)。榆树(*Ulmus pumila* L.)种子在37℃和100% RH的老化条件下,第1天活力没有明显变化,第2天开始逐渐下降,至第3天下降到50%,5 d后活力完全丧失<sup>[7]</sup>。也有些种子萌发率呈现“快—慢”之趋势,直到完全丧失活力,而无最后的缓慢下降阶段<sup>[8]</sup>。

1.3 幼苗畸形

种子衰老后虽然能萌发,但苗弱且发育不良、抗逆性弱、产量低<sup>[8]</sup>。幼苗是植物生长的关键阶段,无论是对后期的生长发育还是繁殖发育都有极大的影响。生菜(*Lactuca sativa* L.)种子贮藏4~5 a与1~2 a相比(温度:15~20℃,相对湿度:30%~35%),不仅胚根和下胚轴短,而且子叶中脉褐变,严重的表现出根部未生长或仅有胚根突出但并未进行下一步生长的幼苗<sup>[9]</sup>。种子

的出苗整齐度也会受到老化的影响。不同品种的玉米(*Zea mays* L.)种子经老化处理后,株高整齐度降低66.9%,出苗指数也极显著降低<sup>[10]</sup>。

2 种子衰老的机制

2.1 种子贮藏物质消耗

植物幼苗能够进行光合作用之前,其生长所需能量物质都是从富含蛋白质和糖类的子叶或胚乳中获得<sup>[6]</sup>。储存期间种子贮藏物质的损失最终会引起萌发率和出苗率减少、幼苗长度缩短和幼苗干质量降低<sup>[11]</sup>。种子中可溶性碳水化合物的含量通常会随着种子的衰老而下降。大豆(*Glycine max* L.)种子在贮藏初期可溶性糖、淀粉含量和脂质均降低,而游离脂肪酸的比例、甾醇和磷脂含量随着甘油三酯含量的相应降低而增加<sup>[12]</sup>。在贮藏后期,淀粉含量继续下降,但可溶性糖的含量表现出短期上升再下降的趋势。白花风铃木(*Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith)种子贮藏期间,种子干质量下降并不明显,但脂质和蛋白质含量持续下降,脂质含量在最初6个月由61%下降至52%,而随后的12个月则迅速下降到

23%<sup>[13]</sup>。

## 2.2 结构损伤

2.2.1 膜损伤 种子胚细胞的亚显微结构在储藏过程中也会不断发生劣变,首先受到伤害的是细胞膜。过氧化会改变磷脂结构,导致其头部基团变小、尾部变大,呈锥形,使得膜不能保持脂双层的均匀性,失去选择渗透性<sup>[5]</sup>。香椿 (*Toona sinensis* (A. Juss.) Roem.)<sup>[14]</sup>、孜然芹 (*Cuminum cyminum* L.)<sup>[15]</sup>、莲子 (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)<sup>[16]</sup>等种子在老化过程中,大量细胞内部电解质外漏,种子浸出液相对电导率及可溶性糖含量相对增加,膜脂过氧化中间产物自由基和最终产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量增加,都是细胞膜脂损伤的表现。磷脂酶 D (phospholipase D, PLD) 可裂解磷脂以产生磷脂酸,PLD 及其产物 PA 与多种植物生长和发育过程有关,被认为是导致膜损伤的重要因素<sup>[17]</sup>。敲除或敲减拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.) *AtPLD $\alpha$ 1* 基因,减少 PLD 的含量,可提高油稳定性、种子质量和种子寿命,但完全敲除该基因的拟南芥种子的各项生理活性反而不及仅将该基因减弱的种子<sup>[18]</sup>。

2.2.2 线粒体损伤 胚细胞的线粒体在种子衰老过程中会明显肿胀,从变得杂乱无章到消失,最终导致线粒体数量减少。衰老早期,线粒体内膜和嵴变得模糊,部分出现空泡化,同时嵴的数量减少。衰老后期,线粒体 DNA 逐渐分散聚集到细胞膜处,并逐渐消失。已知的线粒体结构变化可分为 4 类:点状线粒体、蠕虫状线粒体、巨型线粒体和弥散线粒体。此外,线粒体衰老假说<sup>[19]</sup>认为自由基导致的线粒体损伤是种子衰老发生的重要原因。线粒体是 ATP 的主要来源,由于其超微结构的受损,细胞色素 C 氧化酶和苹果酸脱氢酶的活性显著降低,导致线粒体能量供应不足和 ROS 浓度激增,更加剧了线粒体的老化和损伤<sup>[5]</sup>。线粒体功能受损的主要表现为:呼吸速率的减弱、氧化磷酸化效率的降低、抗氧化系统的紊乱等等,最终引起细胞损伤。

2.2.3 核酸 (DNA、RNA) 损伤 遗传完整性的丧失是种子老化的初始事件之一。种子老化与染色体畸变、端粒长度变化、DNA 损伤、DNA 甲基化和异常基因表达有关。Dantas 等<sup>[20]</sup>通过彗星实验测量衰老水稻种子和菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 的 DNA 损伤情况,老化样品的彗

星尾部强度表现出明显的上升趋势,其中菜豆品种‘GF003’彗星尾部强度由 19.7 增加到 37.7。此外,染色体突变也随种子老化而积累,吸水萌发时期的有丝分裂受到抑制。虽然轻微的遗传物质损伤不会导致种子活力丧失,但会影响发芽期间基因的表达。

与 DNA 相比,RNA 更容易被破坏,损伤的 RNA 可以作为靶向信号引起转录过程中 mRNA 的降解以及形成 7,8-二氢-8-氧代鸟嘌呤。mRNA 链的骨架很容易被截断,核苷碱基可以被修饰或转化为无碱基位点。如,2 年龄和 23 年龄的大豆胚轴转录产物的比较结果表明,转录产物在老化早期即开始降解,并且随着存储时间而增加<sup>[21]</sup>。较短的转录本比较长的转录本更稳定,因此损伤主要来自较长 RNA 片段化。在常规水稻中和杂交水稻中分别鉴定出了 174 个和 305 个与长寿相关的 mRNA,这些 mRNA 在长寿命品种中的降解速度更慢<sup>[22]</sup>。随着种子活力的下降 rRNA 完整性也会降低。在老化的大豆种子中,随着发芽能力的降低,核糖体亚基将 RNA 前体加工成 18S 和 25S rRNA 的过程可能会延迟,同时逐渐降解,形成 23S 和 13S rRNA 等分子量更小的 RNA 类型<sup>[21]</sup>。

## 2.3 种子衰老的生理机制

2.3.1 活性氧代谢失衡 正常种子内活性氧的产生和清除处于一种动态平衡的状态<sup>[4]</sup>。在水合种子中,ROS 产生的主要部位是线粒体、乙醛酸体和质膜 NADPH 氧化酶。在干种子中,非酶促反应“阿尔多瑞-美拉德反应 (Amadori-Maillard reactions, A-M)”是 ROS 产生的主要原因<sup>[5]</sup>。ROS 清除系统的主要酶包括超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase from micrococcus lysodeiktic, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPX)、过氧化物酶 (peroxidase, POD) 等<sup>[23]</sup>。此外,非酶促型抗氧化系统抗坏血酸-谷胱甘肽循环也是植物体内清除 ROS 的重要途径之一<sup>[24]</sup>。但是当种子储藏环境温度、湿度过高,或其他不利条件引起种子衰老时,抗氧化系统无法阻止 ROS 的大量聚集<sup>[8, 16]</sup>,对细胞内的脂类物质进行氧化攻击,从而使质膜完整性受损,通透性增大,即“自由基老化学说”<sup>[25]</sup>。同时,脂质过氧化产生的自由基和 MDA 等物质会进一步对包

括脂质在内的其他生物大分子造成伤害<sup>[4]</sup>。过剩的 ROS 还会对遗传物质 DNA 和 RNA 造成损伤,导致蛋白质合成、降解受到抑制<sup>[5]</sup>。ROS 本身也会损伤蛋白质结构,羰基化蛋白的产生就是由于 ROS 的大量产生攻击赖氨酸、脯氨酸和苏氨酸等残基或者直接作用于肽键<sup>[26]</sup>。抗氧化酶活性的降低也与 ROS 造成的氧化损伤密切相关<sup>[5]</sup>。种子衰老过程中,线粒体既是 ROS 产生的主要场所,也是 ROS 攻击的主要细胞器。氧化损伤的线粒体主要表现为内外膜结构不完整,细胞色素 C 等内溶物的外渗诱发程序性死亡 (programmed cell death, PCD)<sup>[1]</sup>。对榆树种子衰老的研究表明,48 种线粒体蛋白在衰老过程中发生了变化,这些蛋白多数与三羧酸循环和电子传递链相关<sup>[7]</sup>。上述 ROS 的多种伤害,最终引起种子老化,导致种子萌发率降低和活力丧失。脂质过氧化与脂氧合酶 (lipoxygenase, LOXs) 有关, LOXs 能催化不饱和脂肪酸与分子氧直接反应,生成过氧化脂肪酸并产生自由基,损伤质膜加速种子劣变<sup>[17]</sup>。研究者从洋葱种子中成功克隆到 *AcLOX1* 基因的全长<sup>[27]</sup>,解析了 *AcLOX2* 的结构<sup>[28]</sup>,初步证明了 LOX 基因与洋葱种子发育及老化相关联。

2.3.2 非酶促 ROS 淬灭剂 非酶促 ROS 清除系统是防止种子细胞中大分子过氧化最重要的被动机制,包括种子储藏蛋白、HSP 和一些小分子的抗氧化剂,例如维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽等<sup>[29]</sup>。 $\alpha$ -生育酚可以通过阻止氧气进入种子内部组织来降低种子呼吸代谢速率,从而延缓老化。萌发前,维生素 E 溶液浸泡种子有助于改善种子老化对活力产生的负面影响<sup>[30]</sup>。Sattler 等<sup>[31]</sup>在拟南芥中发现了两个与维生素 E 基因合成的相关位点 (*VTE1* 和 *VTE2*),任意一个位点突变都会导致种子的寿命显著降低。谷胱甘肽可以直接充当 ROS 淬灭分子,也可以充当电子供体,为参与 ROS 解毒的酶提供电子。谷胱甘肽还原酶可将氧化型谷胱甘肽还原为巯基形式,干燥的种子中存在的谷胱甘肽还原酶在水合作用时可被迅速激活<sup>[24]</sup>。辅酶 Q10 也是一种抗氧化化合物,可以通过解毒 ROS 来帮助维持细胞稳态,此外其还能影响线粒体电子传递链中相关酶的功能<sup>[5]</sup>。

2.3.3 蛋白质合成下降,小分子蛋白产生 种子老化过程中涉及到蛋白质结构损伤、功能受损、合成受阻等多方面不利影响,从而导致多种代谢过

程紊乱以及修复防御系统失效。牛油果 (*Persea americana* Mill.) 种子的种皮和子叶组织在离体后 5 d 总蛋白质浓度急剧下降,之后到保质期结束未再发生明显变化<sup>[32]</sup>。高活力种子胚在吸胀期间的蛋白合成速率均高于中、低活力种子。易衰老种子在人工老化过程中贮藏蛋白含量下降,而贮藏蛋白对 ROS 有高亲和力,能够消耗过量的 ROS 保护细胞免受氧化损伤。种子活力与萌发时贮藏蛋白的降解效率和新蛋白的合成速率一致<sup>[33]</sup>。

在种子贮藏期间抗逆性蛋白的含量通常会增加,以提升种子的抗老化能力。胚胎发育晚期丰富蛋白 (late embryogenesis abundant proteins, LEA) 和热激蛋白 (heat shock proteins, HSP) 在种子脱水干燥期间都能对细胞起到保护作用。LEA 蛋白通过形成氢键影响其他蛋白质和细胞膜的结构稳定性,提高变性蛋白质的稳定性并促进其重折叠,保护膜蛋白和酶免受高盐胁迫的有害影响<sup>[29]</sup>。Renard 等<sup>[34]</sup>通过全基因组关联分析筛选到了拟南芥调控 LEA 合成的基因 *SSLEA*,该基因的 T-DNA 插入突变体在人工老化和自然老化情况下都明显表现出了萌发率下降。Shu 等<sup>[35]</sup>对高温高湿处理后的大豆种子进行 RNA-Seq 分析发现,热胁迫下种子多数 HSP 表达量增高,例如与种子抗老化能力相关的热激转录因子 (heat stress transcription factors, HSFs)。种子特异性热激转录因子 A9 (HSFA9) 的靶基因编码多种 HSP,参与调节种子寿命<sup>[36]</sup>。

2.3.4 衰老过程中的激素变化 脱落酸 (ABA) 可以激活 LEA 和 sHSP 等蛋白的合成,从而影响种子的耐旱性和对不利环境因素的耐受性,也可提高种子的耐储藏性。ABA-INSENSITIVE3 (*ABI3*) 和 ABA-INSENSITIVE5 (*ABI5*) 是 ABA 调控途径中的重要调控因子,参与调控种子成熟、棉子糖系列寡糖的代谢和 *LEA* 基因的表达<sup>[36]</sup>。热激转录因子 *HSFA9*,作用于 *ABI3* 下游并控制 sHSP 的发育调控表达,是调控耐老化遗传机制中的重要部分。*OsGH3-2* 通过调节 ABA 的积累水平从而抑制 *LEA* 的积累来影响种子的贮藏性, RNAi 干扰系中 ABA 含量相较于野生型增加了 1.5 倍<sup>[37]</sup>。

生长素 (IAA) 可以通过影响其下游蛋白进而对生长素响应因子 (auxin response factor, ARF) 活性进行调控,并影响种子衰老过程。吲

吲哚丙酮酸(indole pyruvate pathway, IPA)途径是生长素生物合成的主要途径,IPA途径的突变体生长素水平略有降低却表现出了更强的生长素反应,同时寿命增加20%~30%,这可能是由于在成熟后期生长素在整个胚胎中的重新分布<sup>[38]</sup>。Yuan等<sup>[37]</sup>研究证明,OsGH3-2可促进IAA与Asp结合,导致内源性IAA降解。玉米*zm-dreb2a*基因突变体的基因*GH3-2*表达受到抑制,种胚中生长素含量较对照显著升高,种子发芽后胚根和胚芽伸长,但耐老化能力显著降低<sup>[39]</sup>。但是研究者认为,突变体种子耐老化能力降低是因为棉子糖合成相关基因受到影响,是否与IAA含量变化相关还有待进一步研究。IAA通过刺激ABA信号传导在调节种子活力中发挥关键作用。低浓度IAA可抑制ABA生物合成并诱导发育种子中的ABA代谢,IAA还参与诱导ABI3及LEA蛋白靶标EM1的表达<sup>[37-38]</sup>。

除了IAA与ABA外,种子储藏期间,茉莉酰异亮氨酸和水杨酸等其他激素含量也会发生变化<sup>[16]</sup>。这表明老化过程中的代谢调控不止单一激素作用,是多种激素平衡的结果,但目前关于激素平衡与种子衰老的关系鲜有报道。此外,关于种子老化和植物激素间的关系,目前的研究多数以激素变化为“因”,活力变化为“果”,直接通过人工方式增加或减少激素含量,而无法反映激素本身在老化过程中的变化。

## 2.4 种子衰老的遗传机制

2.4.1 与衰老相关的基因及其定位 种子的耐老化特性通常为多基因控制的数量性状,近年来利用多种技术手段,国内外学者对种子衰老相关基因展开研究并取得一定成果。一些与种子耐老化相关的基因位点已被公布(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。不同品种在耐老化性能上会表现出差异性,在衰老相关数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL)定位的研究中,通常选用粳稻和籼稻这两个极端亚群的杂交系作为研究对象。水稻种子耐老化相关基因位点在12条染色体上均有分布,其中第9号染色体上分布最多<sup>[40]</sup>。Yuan等<sup>[41]</sup>利用粳稻Nipponbare和籼稻9311的回交重组自交系构建高密度单核苷酸多态性遗传连锁图,鉴定了7个在自然老化条件下与老化相关的QTLs,分布在1、2、3、8、9和11号染色体上,并将一个控制种子老化的主效QTL(qG4S3.1)精细定位在第3号染色体的

26.2 kb区间。也有研究认为种子活力是由多个微效基因共同作用,并不存在主效基因。例如,姜旋等<sup>[42]</sup>的研究定位了7个控制水稻种子活力的QTLs,分布在4条染色体上,单个QTL对性状的贡献率在5%~16%。在其他物种方面,通过人工老化处理,Wu等<sup>[43]</sup>在甜玉米中鉴定出18个QTLs,同时筛选了4个与种子活力相关的候选基因。

2.4.2 与衰老相关的转录因子 转录因子(transcription factors, TFs)能与真核基因启动子结合,从而激活或抑制基因的转录,作为一种调节蛋白在多种生物途径中都起到重要作用。在刘文童等<sup>[44]</sup>筛选的种子活力候选基因中,*GRMZM2G164082*属于WRKY基因家族,与萌发率和发芽指数有关。在大麦中发现的HvERKY38对 $\alpha$ -淀粉酶的表达起抑制作用,而HvERKY38的合成又受到激素调控,SA和ABA都能激活HvERKY38表达,GA则起抑制作用<sup>[45]</sup>。转录因子DOF4.1是种子寿命的负调节因子,拟南芥*DOF4-1*功能缺失突变体种子在人工老化后表现出比野生型更高的活力<sup>[46]</sup>。Han等<sup>[39]</sup>关于DREB转录因子家族的研究发现,*Zm-DREB2A*与调控棉子糖合成酶基因*ZmRAFS*启动子的DRE基序结合上调其表达,可以直接调控种胚中棉子糖的积累水平从而影响了玉米种子的耐老化能力。而转录因子DELAY OF GERMINATION 1-like 4 (DOGL4)可触发约70个种子成熟特异性基因的表达,包括编码白蛋白、十字花科蛋白和油质蛋白等储存蛋白的基因,被认为是种子中贮藏物质积累的主要调节因子<sup>[47]</sup>。NAC转录因子属于植物特异性TF家族,响应多种生物和非生物胁迫。在拟南芥中NAC转录因子JUB1过表达能够延长种子寿命<sup>[48]</sup>。热激转录因子能够提高HSPs的含量,增强种子在高温下的抗老化能力<sup>[49]</sup>。其他转录因子Bhlh, MYB和C2H2家族等在种子经过高温老化处理后也会发生变化,许多都与种子老化相关<sup>[48]</sup>。

2.4.3 与衰老相关的表观遗传 5-甲基胞嘧啶( $m^5C$ )是植物中一种保守的表观遗传标记,调节基因表达,对保持种子基因组完整性有重要作用。在顽拗型夏栎(*Quercus robur* Linnaeus)种子中,萌发率的降低与 $m^5C$ 水平的下降高度相关( $P < 0.001$ ), $m^5C$ 含量降低为初始含量的60%时是种子活力降低的关键时期。正常型西洋梨(*Pyrus*

*communis* Linn.) 种子储存 1 a 后 DNA 甲基化水平反而显著增加<sup>[50]</sup>。相较而言,正常型种子遗传完整性更高,而顽拗型种子往往基因表达水平低,因此,维持高 DNA 甲基化水平的能力是正常型种子寿命长的原因之一。 $m^5C$  水平和种子活力正相关的特性,使得其可作为一种反应种子活力的分子标记,Michalak 等<sup>[51]</sup> 还提出可以通过  $m^5C$  水平预测种子的发芽能力。DNA 低甲基化也可能解除染色质的紧密堆积并促进萌发相关基因的表达。DNA 去甲基化基因 *ROS1* 缺失通过影响发芽相关基因表达而损害种子发芽<sup>[52]</sup>。

## 2.5 种子衰老损伤修复

### 2.5.1 蛋白质修复

蛋白质主要依靠氧化还原机制免受脱水伤害。在种子成熟和脱水过程中,蛋白质的还原性巯基被氧化产生以二硫键连接的稳定二硫化物,使蛋白质结构更紧密,减弱脱水作用对其活性的抑制,并防止其被蛋白酶水解。萌发完成后,种子蛋白质形成的二硫化物又会在硫氧还原蛋白的作用下恢复巯基形式。此外,氧化胁迫会导致蛋白质侧链发生共价修饰,这些修饰大多是不可逆的,但某些氨基酸残基的氧化是可逆的。甲硫氨酸亚砷还原酶(methionine sulfoxide reductase, MSR)可清除甲硫氨酸氧化形成的甲硫氨酸亚砷,可逆地修复氧化蛋白。苜蓿种子合成 MSR 的能力与其寿命之间存在正相关关系,MSR 将甲硫氨酸亚砷还原为甲硫氨酸有助于维持模式豆科植物苜蓿种子的活力<sup>[53]</sup>。种子老化中羰基化产物的作用也是蛋白质损伤的主要原因之一,醛酮还原酶家族 1 (aldo-keto reductase 1, AKR1) 可以催化羰基化合物的转化。在烟草和水稻中的过表达 AKR1 可以降低羰基化合物含量,延长烟草和水稻的种子寿命<sup>[54]</sup>。前文中提到的 HSP 和 LEA 也可确保合成蛋白质的正确折叠、防止氧化损伤以及损伤后的重折叠,参与蛋白质损伤的修复。

### 2.5.2 DNA 修复

老化造成的 DNA 损伤包括无碱基位点产生、碱基的共价修饰、单链 DNA 断裂和 DNA 双链断裂等<sup>[55]</sup>,这些损伤主要由氧化胁迫引起,碱基的共价修饰也可能是美拉德反应的结果<sup>[5]</sup>。人工老化的豌豆种子中,DNA 断裂随着种子老化而累积,导致老化种子中 DNA 复制开始之前的 DNA 修复合成时间延长,老化种子发芽所需的时间是未老化处理种子的两倍<sup>[56]</sup>。种子萌发阶段的吸胀时期是 DNA 修复的重要时

期。DNA 修复基因在拟南芥吸水 3 h 后高度表达<sup>[57]</sup>,水稻在吸胀后 DNA 小片段也明显减少<sup>[20]</sup>。种子中受损 DNA 的修复依赖于所有真核细胞的通用机制:非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)、同源重组(homologous recombination, HR)、核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)、碱基切除修复(base-excision repair, BER)和未配对 DNA 碱基的校正。多种 DNA 连接酶(DNA Ligase, LIG)参与 DNA 损害的修复过程,影响种子的寿命长短<sup>[57]</sup>。

### 2.5.3 RNA 修复

RNA 的亲水基团“—OH”使得其易水解,mRNA 的单链结构比双链 DNA 更不稳定,非常容易受到 ROS 的氧化损伤。mRNA 结构的改变可能导致翻译受阻,而翻译活性的丧失与种子萌发率的降低有关<sup>[5]</sup>。成熟干种子可以在转录抑制剂的存在下发芽,但是会被翻译抑制剂阻断,这说明萌发所需的蛋白质直接由成熟干种子中预先存在的 mRNA 模板翻译而来<sup>[58]</sup>。植物的 RNA 修复系统包括 ATP 依赖性 RNA 连接酶、核苷酸转移酶和修饰 RNA 末端以进行连接(磷酸酶和激酶)或保护(甲基化酶)的酶,但种子中的 RNA 修复机制还有待进一步阐明。

## 3 影响种子衰老的因素

### 3.1 种子质量对衰老的影响

#### 3.1.1 糖类含量与组成

许多干种子中都含有大量的寡糖。诱导表达棉子糖水解酶基因 *ZmAGAL1* 既可以提高种子棉子糖含量和耐储性,又可以提高种子萌发过程中棉子糖的水解能力和萌发速度<sup>[59]</sup>。Christina Walters 研究的温度—水活性模型展现了种子中的水分状态,玻璃态模型则展现了水溶液的状态,两个模型都假定了状态的变化会影响种子内部发生的化学反应和物理反应<sup>[60]</sup>。种子的耐贮性与其细胞内的玻璃态转变温度(class-to-liquid transition temperature, T<sub>g</sub>)密切相关。棉子糖、水苏糖和毛蕊花糖等寡糖可以通过增加粘度和从玻璃态到液体态的 T<sub>g</sub> 提高胞内玻璃态的稳定性。在巴西本土树种红藓(*Paubrasilia echinata*)的种子含水量发生显著变化之前,蔗糖和 RFO 含量就会开始上升,在种子成熟后期从液泡储备重新分配到细胞质中,可能有助于将细胞玻璃态的维持,与种子干燥耐受

性和寿命呈正相关<sup>[61]</sup>。

干燥种子中酶促反应较弱,而非酶促反应 A-M 反应即使在非常低的含水量条件下也能发生<sup>[5]</sup>。衰老过程中还原糖含量和糖基化蛋白的关系,以及其和衰老程度表现出的负相关关系,可以用 A-M 反应来解释。A-M 反应是指在初始羰基胺反应后发生的一系列复杂反应,通常遵循 4 个步骤:(1) 还原糖、醛糖或酮糖与蛋白质或核酸的游离氨基进行非酶促缩合形成糖胺(可逆步骤);(2) 重排糖胺转化为 Amadori 产物、1-氨基- $\alpha$ -脱氧酮糖;(3) Amadori 产物降解和脱水为氨基或羰基中间体;(4) 羰基中间体与其他氨基反应,随后重排形成高级糖基化终产物(AGE-产物)。前文中提到了 A-M 反应通过形成糖基化蛋白质,影响蛋白质的结构和功能,除此之外其还能对 DNA 进行修饰影响其转录。果糖、半乳糖和葡萄糖等还原糖的存在是 A-M 反应的主要驱动力。大豆中,棉子糖和水苏糖在贮藏过程中水解形成还原糖,一旦形成,这些还原糖会在美拉德反应中被迅速消耗掉<sup>[62]</sup>。

**3.1.2 脂类含量与组成** 种子内的脂类包括贮藏脂质和结构脂质。贮藏脂质如甘油三酯(triacylglycerol, TAGs),是主要储能物质。结构脂质如膜脂,包括磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、单半乳糖甘油二酯(monogalatosyl diglyceride, MGDGs)和双半乳糖甘油二酯(digalactosyl diglyceride, DGDGs)等,是生物膜的主要组成成分。TAGs、PCs 和 DGDGs 是贮藏脂质和膜脂合成途径的最终产物,在处于休眠状态的种子中不会通过酶促反应积累。相比之下,通过种子老化过程中的甘油酯、磷脂(phospholipid, PL)或半乳糖脂(galactolipid, GL)水解可以少量生成甘油二酯(diacylglycerol, DAGs)、单酰甘油(monoacylglycerol, MAGs)和脂肪酸(fatty acid, FA)<sup>[63]</sup>。Wiebach 等<sup>[64]</sup>研究分析表明,在种子储藏过程中完全酰化和非氧化的储存脂质(如三酰基甘油)和结构脂质(如磷脂和半乳糖脂)的水平下降。随着自然老化时间的延长,花生种子油酸含量增高,亚油酸含量降低<sup>[65]</sup>。

完整脂质的含量减少与脂质氧化损伤有关,长期储存的小麦种子中会形成数百种不同种类的单一和多重氧化脂质<sup>[63]</sup>。大量氧化变体和水解产物(如 DAGs、MAGs 和 FA)会随着小麦活力的下降而积累<sup>[64]</sup>。1998 年收获的小麦种子在自

然条件下贮藏 19 a 后,40% 的 TAGs 被氧化,其含量的减少与氧化 TAGs 的积累同时发生<sup>[63]</sup>。然而,氧化可能不是完整脂质含量减少的唯一原因。不饱和脂肪酸比饱和脂肪酸更易氧化。但是与正常种子相比,顽拗型种子中膜磷脂中的饱和脂肪酸水平更高<sup>[66]</sup>。小麦完整膜脂含量的减少与它们的氧化产物的积累不一致(如 PCs、MGDGs 和 DGDGs),而氧化膜脂的水平降低与 GL 含量密切相关,这些发现表明,除氧化外还有其他途径导致完整 PL 和 GL 含量的减少<sup>[63]</sup>。

**3.1.3 蛋白质含量与组成** 种子老化过程中也会涉及到蛋白质组成的变化,通过比较蛋白质组学可以挖掘出与种子活力相关的蛋白。氧化损伤的发生,主要影响与能量产生、新陈代谢和防御相关的蛋白质丰度。胡根海等<sup>[67]</sup>的研究表明,老化处理 5 d 后小麦(*Triticum aestivum* L.) 种子水溶蛋白降解加速,第 5~6 天水溶蛋白部分组分消失,盐溶和醇溶特征条带出现并增强。在不同储藏时间的中国古代莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn) 种子蛋白组学比较研究中定量鉴定到 4 002 种蛋白质,其中有 558 种差异性积累蛋白,涉及淀粉和蔗糖代谢、细胞膜稳定性、蛋白质加工、RNA 转运等生理活动,参与抗氧化系统和维持核酸稳定性的蛋白质在贮藏期间大多上调<sup>[68]</sup>。

**3.1.4 含水量** 在一定范围内,种子含水量越低,寿命越长,萌发率也就相对越高。含水量过高的种子代谢旺盛,贮藏营养物质也易消耗,使得活力下降较快,种子老化进程提前,极易发生吸潮霉变。低温下保持种子干燥状态,可以最大限度地降低种子的代谢速率,但高含水量种子在低温条件下自由水结冰也会损害其生存能力。在含水量为 14% 以上时,种子中水分含量每增加 1%,活力就会降低 50%<sup>[4]</sup>。某些非酶促反应甚至可以发生在含水量非常低的种子中,影响蛋白质和脱氧核糖核酸等分子的含量和功能<sup>[5]</sup>。虽然降低种子含水量可以提高种子的贮藏性和稳定性,但过度干燥会破坏覆盖细胞结构的水膜界面并暴露膜的大分子,使其容易受到 ROS 的影响<sup>[29]</sup>。Ellis 等<sup>[69]</sup>的研究表明,在适宜的储藏温度下,紫花苜蓿和红车轴草(*Trifolium pratense* L.) 种子的最适贮藏含水量在 4%~6%,受环境温度影响。一般来说,种子的活力及其抗衰老能力在 4.78%~6.55% 的水分含量内相对较强,其他物理化学活性变化幅度也都较低。但不同物种种子

的最佳含水量差异很大,同类种子的不同品种也有较大差异<sup>[70]</sup>。因此,了解每个物种的最佳水分含量对保持种子活力和寿命非常重要,有必要涉及各种物种及其生物共生体做进一步储存研究。

### 3.2 环境因素

3.2.1 湿度 贮藏期间,空气相对湿度会直接影响种子水分含量,高湿度的情况下(相对湿度70%以上),种子的酶活性增强,其代谢随着种子含水量的增加而增强。红豆杉[*Taxus chinensis* (Pilger) Rehd.]种子中可溶性糖、脱氢酶和葡萄糖六磷酸脱氢酶含量随湿度的增加均呈现先降低后升高趋势,粗脂肪含量逐渐下降<sup>[71]</sup>。花生作为油料作物,富含大量不饱和脂肪酸,在湿度较高的贮藏环境下,由于脂肪酶的作用,种子中的脂肪分解变为饱和脂肪酸,使花生种子的生活力下降<sup>[72]</sup>。适宜的湿度可以让种子达到最佳贮藏状态。

3.2.2 温度 种子贮藏前需高温干燥,但温度过高会对种子造成伤害,例如,增加大豆种子的干燥温度到40℃以上后,幼苗生长受到显著影响,尤其是对根长的影响<sup>[73]</sup>。其原因是因为干燥速率的增加会导致种子分生组织受损,从而损害胚胎轴的发育,加速种子老化。若储藏温度较高,种子的代谢更为旺盛,贮藏物质不稳定、易消耗,也会导致种子活力快速下降。贮藏温度还会与其他条件因素共同影响种子的老化进程。草木樨(*Melilotus suaveolens* Ledeb.)的种子萌发率、电导率、可溶性糖以及MDA含量会受到温湿度共同作用的影响,其储藏的最宜温度和含水量分别为4℃和10%<sup>[74]</sup>。种子基因库采用低温条件对种子进行储藏,以延缓种子衰老,保持种子活力<sup>[23]</sup>。不过,长期贮藏于同一环境可能会增加种子对潜在损害的敏感性,甚至恶化变质,从而降低产品的储存潜力及其生理质量。例如,三七(*Panaxnotoginseng* (Burk.) F. H. Chen)不宜长期采取低温储藏,长期低温贮藏会导致酶活性整体下降<sup>[75]</sup>。

3.2.3 气体成分 种子老化与氧气、二氧化碳、氮气等气体含量也有直接关系。氧气充足可促进种子的呼吸,贮藏物质分解过快,积累有害物质,从而加快种子的老化。通过水肺潜水罐增加氧气浓度提高压强到18 kPa,可以达到加速老化的目的<sup>[36]</sup>。Hourston等<sup>[76]</sup>对杂交洋葱(*Allium cepa* L. × *Allium fistulosum* L. cv. 'Guardman')

种子进行高氧分压储存研究,也得到类似结论。氧气含量较低时,种子内贮藏物较为稳定,不易老化。如白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)在低温条件下密封储存比通风贮藏更能延长种子寿命<sup>[77]</sup>。但是缺氧也易造成种子无氧呼吸产生有害物质,大幅度降低种子寿命。活性氮过量可能导致氧化损伤,以及膜损伤,细胞死亡并随后降低发芽速率、生长及产量。近年也有针对氙气在种子贮藏过程中相关作用的研究,氙气贮藏能够降低种子的相对电导率及MDA和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量,提高SOD、APX的活性<sup>[78]</sup>。除了上述生理影响,气体还对种子有着物理影响,储藏时常通风有利于散热散湿。

## 4 展望

种子老化是一个复杂的过程,既受自身遗传物质的调控,也受环境条件影响。活力衰退也是种子长期贮藏中不可避免的事件,涉及到多样的变化和调控,老化事件包括了酶活性失调、ROS积累、脂质过氧化、生物大分子损伤以及激素含量变化等<sup>[4, 29]</sup>。动态监控或利用模型定量估计ROS和A-M产物等老化相关化学物质在老化种子不同组织部位的分布、轨迹,有利于探讨种子不同部位的老化情况以及判断老化的独立性或者相依性的机理。

由于自然条件,尤其非极端干燥或低温条件下,种子老化过程复杂且缓慢,采用人工老化技术加速种子活力丧失,可以促进种子衰老研究<sup>[36]</sup>,然而自然条件和人工条件对种子衰老的影响存在差异<sup>[2]</sup>,因此如何用人工老化结果估计自然条件下种子衰老是亟待解决的问题。

分子标记、组学研究和基因功能验证等技术的进步以及生物资源和公共数据库的建立与共享极大地推动了种子寿命相关基因的鉴定,这对种子老化的分子机制的理解做出了重大贡献。目前,多组学关联分析已被应用于种子发育、成熟和休眠调控等多个领域,但是在种子衰老领域却少有应用。从基因、转录组、蛋白、代谢物4个维度综合分析能够更好地探究在种子衰老过程中的调控网络,为通过分子手段开展衰老种子生产提供依据。

### 参考文献 Reference:

- [1] 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.



- LIU J, GUI J, GAO W, *et al.* Review of the physiological and biochemical reactions and molecular mechanisms of seed aging[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(16): 4997-5006.
- [2] SOLBERG S Ø, YNDGAARD F, ANDREASEN C, *et al.* Long-term storage and longevity of orthodox seeds: A systematic review[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 1007.
- [3] SARAH S, ELAINE S, YUVAL C, *et al.* Germination, genetics, and growth of an ancient date seed[J]. *Science*, 2008, 320(5882): 1464.
- [4] ZHANG K, ZHANG Y, SUN J, *et al.* Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 158: 475-485.
- [5] EBONE L A, CAVERZAN A, CHAVARRIA G. Physiological alterations in orthodox seeds due to deterioration processes[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 145: 34-42.
- [6] ARUNRAJ R, SKORI L, KUMAR A, *et al.* Spatial regulation of alpha-galactosidase activity and its influence on raffinose family oligosaccharides during seed maturation and germination in *Cicer arietinum*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2020, 15(8): 1709707.
- [7] LI Y, WANG Y, XUE H, *et al.* 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.
- [8] 唐 嘉, 毛培胜, 毛春力, 等. 不同活力水平老芒麦种胚线粒体的抗氧化生理变化[J]. 中国草地学报, 2021, 43(5): 1-7.
- TANG J, MAO P SH, MAO CH L, *et al.* The antioxidation changes in embryonic mitochondria of *Elymus sibiricus* seeds with different vigor levels[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2021, 43(5): 1-7.
- [9] GROOT S P C, SURKI A A, DE VOS R C H, *et al.* Seed storage at elevated partial pressure of oxygen, a fast method for analysing seed ageing under dry conditions[J]. *Annals of Botany*, 2012, 110(6): 1149-1159.
- [10] 邓 杰, 孔祥飞, 吴姗姗, 等. 老化处理对不同活力玉米种子萌发期及幼苗期生长的影响[J]. 种子, 2021, 40(5): 39-44.
- DENG J, KONG X F, WU SH SH, *et al.* Effects of aging treatment on seed germination and seedling growth of maize with different vigor[J]. *Seed*, 2021, 40(5): 39-44.
- [11] ELLIS R H. Temporal patterns of seed quality development, decline, and timing of maximum quality during seed development and maturation[J]. *Seed Science Research*, 2019, 29(2): 135-142.
- [12] SHARMA S, SAKSHI G, MUNSHI S. Changes in lipid and carbohydrate composition of germinating soybean seeds under different storage conditions[J]. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2007, 6: 502-507.
- [13] ABBADE L C, TAKAKI M. Biochemical and physiological changes of *Tabebuia rosealba* (Ridl.) Sandwith (Bignonaceae) seeds under storage[J]. *Journal of Seed Science*, 2014, 36(1): 100-107.
- [14] 方骄阳, 祝 燕, 王彩云, 等. 香椿种子人工老化过程中生理生化变化[J]. 林业科学研究, 2020, 33(6): 163-169.
- FANG J Y, ZHU Y, WANG C Y, *et al.* Physiological and biochemical changes of *Toona sinensis* seeds during artificial aging[J]. *Forest Research*, 2020, 33(6): 163-169.
- [15] RASOOLI Z, BARZIN G, MAHABADI T D, *et al.* Stimulating effects of cold plasma seed priming on germination and seedling growth of cumin plant[J]. *South African Journal of Botany*, 2021, 142: 106-113.
- [16] SUN H, LIU Y, MA J, *et al.* Transcriptome analysis provides strategies for postharvest lotus seeds preservation[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2021, 179: 111583.
- [17] 史敬芳, 张 琪, 宋松泉, 等. 磷脂酶及其调控种子活力研究进展[J]. 南方农业学报, 2022, 53(9): 2612-2623.
- SHI J F, ZHANG Q, SONG S Q, *et al.* Phospholipases and their seed vigor regulation: a review[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2022, 53(9): 2612-2623.
- [18] DEVAIAH S P, PAN X, HONG Y, *et al.* Enhancing seed quality and viability by suppressing phospholipase D in *Arabidopsis*[J]. *Plant Journal*, 2007, 50(6): 950-957.
- [19] MIQUEL J, ECONOMOS A C, FLEMING J, *et al.* Mitochondrial role in cell aging[J]. *Experimental Gerontology*, 1980, 15(6): 575-591.
- [20] DANTAS A F, FASCINELI M L, JOSÉS C B R, *et al.* Loss of genetic integrity in artificially aged seed lots of rice (*Oryza sativa* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2019, 846: 403080.
- [21] FLEMING M B, PATTERSON E L, REEVES P A, *et al.* Exploring the fate of mRNA in aging seeds: Protection, destruction, or slow decay? [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(18): 4309-4321.
- [22] WANG B, WANG S, TANG Y, *et al.* Transcriptome-Wide characterization of seed aging in rice: Identification of specific long-lived mRNAs for seed longevity[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 857390.
- [23] ADETUNJI A E, ADETUNJI T L, VARGHESE B, *et al.* Oxidative stress, ageing and methods of seed invigoration: An overview and perspectives[J]. *Agronomy*, 2021, 11(12): 2369.
- [24] KUREK K, PLITTA-MICHALAK B, RATAJCZAK E. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process[J]. *Plants (Basel, Switzerland)*, 2019, 8(6): 174.
- [25] HARMAN D. Free radical theory of aging: An update increasing the functional life span[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2006, 1067: 10-21.
- [26] MÖLLER I M, IGAMBERDIEV A U, BYKOVA N V, *et al.* Matrix redox physiology governs the regulation of plant mitochondrial metabolism through posttranslational protein modifications[J]. *The Plant Cell*, 2020, 32(3): 573-

- 594.
- [27] 李倩,赵泓,刘倩纯,等.洋葱 *AcLOX1* 基因的克隆及其表达分析[J].农业生物技术学报,2016,24(4):548-556.
- LI Q,ZHAO H,LIU Q CH,*et al.* Cloning and expression analysis of *AcLOX1* gene in onion (*Allium cepa*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*,2016,24(4):548-556.
- [28] 高璐瑶,李倩,周雪梅,等.洋葱 *AcLOX2* 基因的克隆与表达分析[J].农业生物技术学报,2020,28(9):1576-1586.
- GAO L Y,LI Q,ZHOU X M,*et al.* Cloning and expression analysis of *AcLOX2* gene in onion(*Allium cepa*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*,2020,28(9):1576-1586.
- [29] RAMTEKEY V,CHERUKURI S,KUMAR S,*et al.* Seed longevity in legumes:Deeper insights into mechanisms and molecular perspectives [J]. *Frontiers in Plant Science*,2022,13:918206.
- [30] ALSAMADANY H,AHMED Z. Assessing aging impact on growth potential of vitamin E primed soybean seeds via biochemical profiling [J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*,2022,29(5):3717-3726.
- [31] SATTler S E,GILLILAND L U,MAGALLANES-LUNDBACK M,*et al.* Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination [J]. *The Plant Cell*,2004,16(6):1419-1432.
- [32] JUAREZ-ESCOBAR J,GUERRERO-ANALCO J A,ZAMORA-BRISEÑO J A,*et al.* Tissue-specific proteome characterization of avocado seed during postharvest shelf life [J]. *Journal of Proteomics*,2021,235:104112.
- [33] AHAMMED G J,GANTAIT S,MITRA M,*et al.* Role of ethylene crosstalk in seed germination and early seedling development:A review [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*,2020,151:124-131.
- [34] RENARD J,NIÑOLES R,MARTÍNEZ-ALMONACID I,*et al.* Identification of novel seed longevity genes related to oxidative stress and seed coat by genome-wide association studies and reverse genetics [J]. *Plant, Cell & Environment*,2020,43(10):2523-2539.
- [35] SHU Y,ZHOU Y,MU K,*et al.* A transcriptomic analysis reveals soybean seed pre-harvest deterioration resistance pathways under high temperature and humidity stress [J]. *Genome*,2019,63(2):115-124.
- [36] ZINSMEISTER J,LEPRINCE O,BUITINK J. Molecular and environmental factors regulating seed longevity [J]. *Biochemical Journal*,2020,477(2):305-323.
- [37] YUAN Z,FAN K,WANG Y,*et al.* OsGRETCHENHAGEN3-2 modulates rice seed storability via accumulation of abscisic acid and protective substances [J]. *Plant Physiology*,2021,186(1):469-482.
- [38] PELLIZZARO A,NEVEU M,LALANNE D,*et al.* A role for auxin signaling in the acquisition of longevity during seed maturation [J]. *New Phytologist*,2020,225(1):284-296.
- [39] HAN Q,CHEN K,YAN D,*et al.* ZmDREB2A regulates ZmGH3.2 and *ZmRAFS*, shifting metabolism towards seed aging tolerance over seedling growth [J]. *The Plant Journal*,2020,104(1):268-282.
- [40] 李穆,高婷婷,郑淑波,等.农作物种子老化研究进展 [J].分子植物育种,2021,21(4):1-9.
- LI M,GAO T T,ZHENG SH B,*et al.* Advances on seed aging in crop [J]. *Molecular Plant Breeding*,2021,21(4):1-9.
- [41] YUAN Z,FAN K,XIA L,*et al.* Genetic dissection of seed storability and validation of candidate gene associated with antioxidant capability in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*,2019,20(18):4442.
- [42] 姜旋,李辰昱,毛婷.水稻低温发芽性 QTL 的分子标记定位 [J].武汉植物学研究,2005(3):216-220.
- JIANG X,LI CH Y,MAO T. Mapping of QTL controlling low-temperature germinability in rice [J]. *Plant Science Journal*,2005(3):216-220.
- [43] WU X,FENG F,ZHU Y,*et al.* Construction of high-density genetic map and identification of QTLs associated with seed vigor after exposure to artificial aging conditions in sweet corn using SLAF-seq [J]. *Genes*,2020,11(1):37.
- [44] 刘文童,赵永锋,郭晋杰,等.玉米种子活力相关性状的基因组关联分析 [J].河北农业大学学报,2020,43(6):6-14.
- LIU W T,ZHAO Y F,GUO J J,*et al.* Genome-wide association studies of seed vigor related traits in maize [J]. *Journal of Hebei Agricultural University*,2020,43(6):6-14.
- [45] XIE Z,ZHANG Z,HANZLIK S,*et al.* Salicylic acid inhibits gibberellin-induced alpha-amylase expression and seed germination via a pathway involving an abscisic-acid-inducible WRKY gene [J]. *Plant Molecular Biology*,2007,64(3):293-303.
- [46] NIÑOLES R,RUIZ-PASTOR C M,ARJONA-MUDARRA P,*et al.* Transcription factor DOF4.1 regulates seed longevity in arabidopsis via seed permeability and modulation of seed storage protein accumulation [J]. *Front Plant Sci*,2022,13:915184.
- [47] SALL K,DEKKERS B J W,NONOGAKI M,*et al.* DELAY of GERMINATION 1-LIKE 4 acts as an inducer of seed reserve accumulation [J]. *The Plant Journal*,2019,100(1):7-19.
- [48] GAO G,HU J,ZHANG X,*et al.* Transcriptome analysis reveals genes expression pattern of seed response to heat stress in *Brassica napus* L. [J]. *Oil Crop Science*,2021,6(2):87-96.
- [49] CARRANCO R,ESPINOSA J M,PRIETO-DAPENA P,*et al.* Repression by an auxin/indole acetic acid protein connects auxin signaling with heat shock factor-mediated seed longevity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2010,107

- (50):21908-21913.
- [50] MICHALAK M, BARCISZEWSKA M, BARCISZEWSKI J, *et al.* Global changes in DNA methylation in seeds and seedlings of *Pyrus communis* after seed desiccation and storage[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70693.
- [51] MICHALAK M, PLITTA-MICHALAK B P, NASKRT-BARCISZEWSKA M Z, *et al.* DNA Methylation as an early indicator of aging in stored seeds of “Exceptional” species *Populus nigra* L. [J]. *Cells*, 2022, 11(13): 2080.
- [52] MALABARBA J, WINDELS D, XU W, *et al.* Regulation of DNA (de)methylation positively impacts seed germination during seed development under heat stress[J]. *Genes*, 2021, 12.
- [53] HAZRA A, VARSHNEY V, VERMA P, *et al.* Methionine sulfoxide reductase B5 plays a key role in preserving seed vigor and longevity in rice (*Oryza sativa*) [J]. *New Phytologist*, 2022, 236(3): 1042-1060.
- [54] NISARGA K N, VEMANNA R S, KODEKALLU CHANDRASHEKAR B, *et al.* Aldo-ketoreductase 1 (AKR1) improves seed longevity in tobacco and rice by detoxifying reactive cytotoxic compounds generated during ageing[J]. *Rice (New York, N. Y.)*, 2017, 10(1): 11.
- [55] WATERWORTH W M, BRAY C M, WEST C E. Seeds and the art of genome maintenance[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 706.
- [56] KRANNER I, CHEN H, PRITCHARD H W, *et al.* Internucleosomal DNA fragmentation and loss of RNA integrity during seed ageing[J]. *Plant Growth Regulation*, 2011, 63(1): 63-72.
- [57] WATERWORTH W M, MASNAVI G, BHARDWAJ R M, *et al.* A plant DNA ligase is an important determinant of seed longevity[J]. *The Plant Journal*, 2010, 63(5): 848-860.
- [58] SANO N, RAJJOU L, NORTH H M, *et al.* Staying alive: Molecular aspects of seed longevity [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2016, 57(4): 660-674.
- [59] ZHANG Y, LI D, DIRK L M A, *et al.* *ZmAGA1* hydrolyzes RFOs late during the lag phase of seed germination, shifting sugar metabolism toward seed germination over seed aging tolerance [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(39): 11606-11615.
- [60] WALTERS C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging[J]. *Seed Science Research*, 1998, 8(2): 223-244.
- [61] MESCIA T B, LOURO R P, BARBEDO C J, *et al.* Changes in cell wall composition and ultrastructure related to desiccation during the seed maturation of *Paubrasilia echinata* (brazilwood) [J]. *Protoplasma*, 2022, 259(5): 1255-1269.
- [62] MURTHY U M, SUN W. Protein modification by Amadori and Maillard reactions during seed storage: Roles of sugar hydrolysis and lipid peroxidation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51: 1221-1228.
- [63] RIEWE D, WIEBACH J, ALTMANN T. Structure annotation and quantification of wheat seed oxidized lipids by High-Resolution LC-MS/MS [J]. *Plant Physiology*, 2017, 175(2): 600-618.
- [64] WIEBACH J, NAGEL M, BÖRNER A, *et al.* Age-dependent loss of seed viability is associated with increased lipid oxidation and hydrolysis[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(2): 303-314.
- [65] 凯 赵, 李珊珊, 马 倩, 等. 花生种子自然老化对品质及发芽的影响[J]. *核农学报*, 2021, 35(2): 490-497.
- KAI ZH, LI SH SH, MA Q, *et al.* Effects of natural aging on quality and germination characteristics of peanut [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2021, 35(2): 490-497.
- [66] PUKACKA S. Membrane phospholipid composition during maturation of seeds of *Acer platanoides* and *Acer pseudo-platanus* in relation to desiccation tolerance [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1999, 21: 109-115.
- [67] 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[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2019, 40(5): 86-90.
- HU G H, ZHANG X H, ZHANG Z Y, *et al.* Changes of protein components in wheat seed during aging [J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2019, 40(5): 86-90.
- [68] HE D, CAI M, LIU M, *et al.* TMT-based quantitative proteomic and physiological analyses on lotus plumule of artificially aged seed in long-living sacred lotus *Nelumbo nucifera* [J]. *Journal of Proteomics*, 2023, 270: 104736.
- [69] ELLIS R H, HONG T D. Temperature sensitivity of the low-moisture-content limit to negative seed longevity — moisture content relationships in hermetic storage [J]. *Annals of Botany*, 2006, 97(5): 785-791.
- [70] GUAN X, RAMASWAMY H, ZHANG B, *et al.* Influence of moisture content, temperature and heating rate on germination rate of watermelon seeds [J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 272: 109528.
- [71] 阎腾飞, 李文扬, 孙耀清. 不同湿度条件下红豆杉种子生理生化特性变化规律研究 [J]. *林业科技通讯*, 2020(1): 35-38.
- YAN T F, LI W Y, SUN Y Q. Study of physiological and biochemical characteristics changes of *Taxus wallichiana* var. *chinensis* seeds under different humidity condition [J]. *Forest Science and Technology*, 2020(1): 35-38.
- [72] GROOT S P C, LITSENBURG M J, KODDE J, *et al.* Analyses of metabolic activity in peanuts under hermetic storage at different relative humidity levels [J]. *Food Chemistry*, 2022, 373: 131020.
- [73] FILHO C, GONELI A, MASETTO T, *et al.* The effect of drying temperatures and storage of seeds on the growth of soybean seedlings [J]. *Journal of Seed Science*, 2016, 38: 287-295.
- [74] 杨 超, 李宛姝, 黄 丹, 等. 贮藏温度对不同含水量草木樨种子活力影响的研究 [J]. *草地学报*, 2016, 24(2): 251-257.

- YANG CH, LI W SH, HUANG D, *et al.* Effect of storage temperature on vigor of sweet clover seed under different moisture content conditions [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2016, 24(2): 251-257.
- [75] 安娜, 朱艳, 崔秀明, 等. 三七种子后熟期生理生化的动态研究 Ⅲ. 不同贮藏条件下种子酶活性分析[J]. 西南农业学报, 2010, 23(5): 1477-1480.
- AN N, ZHU Y, CUI X M, *et al.* Study on variation of physiology and biochemistry during post-maturation of *Panax notoginseng* seeds Ⅲ. Analysis of variation of enzyme activity in seeds [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2010, 23(5): 1477-1480.
- [76] HOURSTON J E, PEREZ M, GAWTHROP F, *et al.* The effects of high oxygen partial pressure on vegetable *Allium* seeds with a short shelf-life [J]. *Planta*, 2020, 251(6): 105.
- [77] 陈怡, 赵致, 彭方丽, 等. 通气状况及不同贮藏温度对白术种子质量的影响 [J]. 种子, 2017, 36(3): 83-87.
- CHEN Y, ZHAO ZH, PENG F L, *et al.* Effect of ventilation conditions and the different temperature storage on *Atractylodes* seed quality [J]. *Seed*, 2017, 36(3): 83-87.
- [78] 田茜, 段乃彬, 张文兰, 等. 氩气贮藏对玉米种子老化过程中活力及生理特性的影响 [J]. 山东农业科学, 2020, 52(6): 119-123.
- TIAN Q, DUAN N B, ZHANG W L, *et al.* Effect of argon storage on vigor and physiological characteristics of corn seeds during aging process [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2020, 52(6): 119-123.

## Advance in Research on Mechanism of Plant Seed Senescence

WEI Yongsheng<sup>1</sup>, PENG Qilang<sup>1</sup>, HUANG Ying'ao<sup>2</sup>, CHEN Yanru<sup>3</sup>,  
ZHAO-CHENG Yafei<sup>4</sup> and XI Xinyue<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China; 2. College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China; 3. College of Horticulture and Gardening, Southwest University, Chongqing 400715, China; 4. College of Landscape Architecture and Art, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

**Abstract** Senescence of seed during storage can result in delayed seedling establishment, which may eventually lead to aberrant seedlings and compromising crop yield. Moreover, seed longevity significantly affects the germplasm renewal rate and the survival of wild plants in their natural habitats. Therefore, understanding the principle of seed senescence holds profound theoretical and practical implications for secure preservation of germplasm resources and sustainable agricultural production. This review outlines the manifestations of seed senescence and investigates both the internal and external factors contributing to this process from genetic determinants to phenotypic outcomes, including anatomical, subcellular structural, physiological-biochemical, molecular biological aspects, and environmental factors. This review constructs a complete network diagram of seed senescence, the aim is to provide a fundamental theoretical framework for future research into seed senescence mechanism, seed vigor repair and germplasm resource conservation.

**Key words** Plant Seed; Senescence; Molecular mechanism; Longevity

**Received** 2022-10-18      **Returned** 2023-02-08

**Foundation item** the Undergraduate Training Program for Innovation and Entrepreneurship of Northwest A&F University (No. X202210712418, No. 202310712469).

**First author** WEI Yongsheng, male, Ph. D, professor. Research area: plant stress and nutrition physiology, biology model. E-mail: wysh70@nwsuaf.edu.cn

PENG Qilang, female, undergraduate student. Research area: seed senescence, prediction model of seed longevity. E-mail: pqlang@126.com

**Corresponding author** WEI Yongsheng.