

顽拗性种子脱水敏感性研究进展

张俊杰,蒋学校,郭庭鸿,张建军,赵瑞一*

(重庆交通大学 建筑与城市规划学院,重庆 400074)

摘要:植物种子的脱水敏感性研究对种质资源的引种栽培和迁地保护具有重要意义。本研究综合评述了不同植物种子,尤其是具有休眠特性的顽拗性种子的脱水敏感性,归纳了顽拗性种子脱水耐性的模型构建、生态适应性策略、贮藏条件、脱水敏感性的发生调控机制等,并对顽拗性种子未来的研究方向进行了展望,旨在为顽拗性种子的贮藏及物种生物多样性保护研究提供有价值的信息。

关键词:顽拗性种子;脱水敏感性;脱水耐性;种子休眠;种子贮藏

中图分类号:S789.7

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2021)03-0144-08

Research Progress on Desiccation-Sensitivity of Recalcitrant Seeds

ZHANG Jun-jie,JIANG Xue-jiao,GUO Ting-hong,ZHANG Jian-jun,ZHAO Rui-yi*

(College of Architecture and Urban Planning,Chongqing Jiaotong University,Chongqing 400074,China)

Abstract: The study on the sensitivity of plant seeds to dehydration is of great significance for the introduction, cultivation and the ex-situ conservation of germplasm resources. In this paper, the dehydration sensitivity of different plant seeds, especially the recalcitrant seeds with dormancy characteristics was reviewed. The research progress was summarized in dehydrating tolerance model construction, ecological adaptation strategy, storage conditions, and regulation mechanism of dehydration sensitivity of recalcitrant seeds. Meanwhile, the future developments on the research of recalcitrant seeds were prospected to provide valuable information for the storage of recalcitrant seeds and the biodiversity conservation of species.

Key words: recalcitrant seed; desiccation sensitivity; desiccation tolerance; seed dormancy; seed storage

种子是显花植物世代繁衍、扩散和种群更新的主要载体。深入开展植物种子的脱水耐性研究对种质资源的迁地保护和引种栽培实践具有重要意义^[1]。根据种子贮藏行为的不同可将种子划分为正常性种子、顽拗性种子与中间性种子^[2]。正常性种子成熟后,其体内水分丧失的过程中其代谢活动随之降低^[3],可干燥或低温贮藏;顽拗性种子在成熟脱离母株时未经历干燥失水阶段(含水量达30%~60%),仍可维持一定的代谢活动,其失水会损伤细胞膜或原生质,破坏种子内部正常的生理代谢活动^[4],当水分损失超过种子的临界含水量(通常为25%~40%的含水量)时,其活力和寿命将大幅度下

降^[5],含水量降至15%~20%时多数种子不能萌发,且对低温敏感,因而不能干燥或低温贮藏,贮藏流程较复杂^[6];中间性种子是介于正常性种子和顽拗性种子之间的干燥灵敏度水平的种子^[2],其含水量降至7%~12%时受到伤害,贮藏温度介于正常性种子与顽拗性种子之间^[7]。

种子的顽拗性对该物种的生态位的拓展造成了一定限制^[8],且增加了贮藏的难度,值得重点关注^[9]。本研究对不同植物种子尤其是具有休眠特性的顽拗性种子的脱水敏感性进行了概述,对顽拗性种子脱水耐性的模型构建、生态适应性策略、贮藏条件、脱水敏感性发生的调控机制等方面的研究进展

收稿日期:2020-04-15 修回日期:2020-12-14

基金项目:重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJQN201800710);重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJQN202000708);重庆交通大学博士科研启动基金(2020019089)。

作者简介:张俊杰,博士,讲师。研究方向:园林植物资源。E-mail:junjieliuzhou@163.com

*通信作者:赵瑞一,博士,讲师。研究方向:岩溶环境与地质生态。E-mail:zhaoruiyi1987@163.com

进行了详细评述,并对今后的研究方向进行了展望,以期对顽拗性种子相关生物学问题的深入探究、物种生物多样性的保护提供有价值的信息。

1 种子的脱水敏感性

1.1 不同植物种子的脱水敏感性

关于植物种子脱水敏感性的报道,大多数集中在热带植物种子上,J. P. Hill *et al*^[10]推测近半数的热带植物种子对脱水敏感。K. N. Hamilton *et al*^[11]发现澳大利亚东部雨林的30科71种植物中,49%的植物种子具有顽拗性;S. V. Wyse *et al*^[12]发现约8%的开花植物的种子对干燥敏感,以热带和亚热带湿润阔叶林种子的脱水敏感性较高。A. Subbiah *et al*^[13]发现721种顽拗性种子中,92%产自热带。

顽拗性种子的脱水敏感性依植物种类的不同而区别较大。大多数棕榈科(Palmae)植物的种子具有顽拗性,热带植物董棕(*Caryota urens*)种子的初始含水量为34%,萌发率为95%,而含水量低至29%时即完全失活^[14]; *Euterpe oleracea* 和 *E. espi-ritosantensis* 的种子在含水量分别低于17.4%和13.4%时完全死亡^[1]。印度南部濒危植物无忧树(*Saraca asoca*)种子的初始含水量为56.8%,临界含水量为30%~35%,含水量降至11%~17%时则失活^[15]。亚热带和温带地区植物种子的脱水敏感性也被陆续报道。我国广泛栽培的银杏(*Ginkgo biloba*)种子的含水量从48%降至40.1%时,萌发率由92%降低至50%^[16]。产于美国东南部的弗吉尼亚栎(*Quercus virginiana*)的种子当含水量降至30%时,其萌发率已显著降低,含水量降至15%时则失活^[17]。部分棕榈科植物的种子被归为中间性种子, *Bactris gasipaes* 种子含水量由30%降至12%完全失活; *B. maraja* 种子的含水量低于7.8%则完全死亡^[1]。桂花品种‘紫柄籽银桂’(*Osmanthus fragrans* ‘Zibingziyingui’)的种子含水量降低至11.6%时,仅有40%的种子具有活力^[18]。此外,咖啡属(*Coffea*)^[19]、油棕(*Elaeis guineensis*)^[20]等植物的种子也属于中间性种子。

藤黄属(*Garcinia*)植物主要分布在亚洲的热带、非洲南部等地区,其许多属下植物结出特有的藤黄型(*Garcinia*-type germination)种子,即胚芽和胚根从种子两端伸出萌发^[21]。英国皇家植物园邱园对11种藤黄属植物种子的贮藏行为进行归类,将其中9种归为或暂时归为顽拗性种子^[22]。如山竹(*Garcinia mangostana*)的种子就具有顽拗性,其新鲜种子含水量为53.54%,临界含水量为24%,7℃

或-4℃下存放48 h种子均失去活力^[23]。热带植物 *G. kola* 和 *G. gummi-gutta* 的种子对干燥更为敏感,新鲜种子含水量分别约为58%和43%,当含水量分别低于31%和34%时其活力迅速下降,脱水至24%含水量时,前者种子萌发率降至10%以下,后者则完全失活^[24-25]。产于我国南部的金丝李(*G. paucinervis*)种子初始含水量为45.29%,其种子临界含水量为27.29%,继续失水萌发率显著下降^[26]。研究表明, *G. atroviridis*、*G. hombroniana*、*G. prainiana*、*G. mangostana*^[21]、*G. cambogia*^[27] 和 *G. livingstonii*^[28]等藤黄属植物的种子也具有脱水敏感性。

1.2 具有休眠特性的顽拗性种子

通过休眠可调节萌发的最佳时间及植株空间分布。但休眠是种子萌发的内在障碍,休眠的解除涉及到种子的结构、生理及其与环境因素之间的复杂相互作用^[29]。种子的休眠包括物理休眠、生理休眠、形态休眠、形态生理休眠和综合休眠五大类型^[30]。

种子休眠和脱水敏感性信息的获取有助于人工制定植物的扩繁策略。顽拗性种子为了赶在脱水失活前萌发,大多萌发迅速,通常被认为具有胎生性,不存在休眠特性^[31]。而 J. C. Tweddle *et al*^[32]对886种乔灌木的调查表明,有61.1%的植物种子具有休眠特性,其中顽拗性种子占9.1%。有学者指出,若新鲜、未经处理的种子在接近自然条件下,超过4周时间才萌发,则可认为该种子存在休眠^[33]。如顽拗性的 *Ocotea usambarensis* 种子萌发需要7周时间,可认为其兼具休眠特性^[34]。某些顽拗性种子在脱离母体时,胚的形态或生理上尚未成熟,需要经历后熟过程才能萌发。一些顽拗性种子甚至可以通过低温层积来解除休眠,例如,对脱水非常敏感的水生植物欧菱(*Trapa natans*)的种子需要经过9周的冷层积才能打破其休眠^[35]。

一些藤黄属植物,如 *G. livingstonii*^[28]、*G. cambogia*^[36] 和 *G. gummi-gutta*^[37]等,种子不仅对脱水和低温敏感,而且也存在休眠特性。其中 *G. gummi-gutta* 的新鲜种子需要约24周才能达到90%的萌发率,而脱种皮后的种子在4周内萌发率即>90%,为非深度生理休眠^[25]。同样, *G. prainiana* 的厚种皮也是萌发缓慢的主要原因^[21]。

棕榈科植物毛瑞榈(*Mauritia flexuosa*)种子的初始含水量为44.6%,在常温通风条件下含水量<20%时,活力完全丧失,同时其种子由于胚附近有一特殊盖层而造成生理休眠^[38]。凹叶木兰(*M. sar-gentiana*)的中间性种子具有的形态休眠是因胚未

充分发育导致^[39]。此外,起源于热带的 *Parashorea chinensis*^[40]、*Beilschmiedia kweo*、*Cryptocarya floribunda*^[41]、*Humboldtia laurifolia*^[42]、*Brownea coccinea*、*Cynometra cauliflora*^[43] 和某些胡桐属(*Calophyllum*)^[44], 以及一些温带植物如欧洲七叶树(*Aesculus hippocastanum*)^[45] 以及樟科(Lauraceae)部分植物^[46]的种子也兼具休眠特性和顽拗性,彻底推翻了顽拗性种子不存在休眠的推论。

1.3 顽拗性种子脱水耐性的模型构建

顽拗性种子由于不耐脱水和低温,贮藏难度较大。具有顽拗性种子与正常性种子的植物在系统分类上并没有明显的界线,其脱水耐性与所在科属间并不存在必然的联系,即使同属不同种的植物中也可能有不同贮藏类型的种子^[8]。同属中不同种植物的顽拗性种子,其脱水敏感性也可能差别较大^[23]。且同一个物种中,顽拗性种子的顽拗性程度依种子发育时期、脱落时的含水量、脱水速率、甚至所在树冠内的位置或发育过程中热量的积累等情况不同而存在差异^[25,45,47]。脱水耐性的评估对顽拗性种子的贮藏和其植物的保护有至关重要的作用,但由于种子的脱水耐性评估牵涉的种子内部与外界的环境因素较多,顽拗性种子脱水耐性的模型成为研究的趋势和难点。

W. V. S. Pereira *et al*^[48] 通过对 *Copaifera langsdorffii* 不同种源种子的脱水耐性进行分析,发现温暖干燥地点的种源有更好的脱水耐性,推测种子脱水耐性随产地环境的变化而变化,建议在脱水耐性模型中考虑种源地的生态因子。F. Pelissari *et al*^[49] 根据巴西 66 个树种构建了包含种皮与种子质量比、胚和胚乳的含水量的种子脱水耐性模型,表明顽拗性种子脱水耐性的评估与胚和胚乳、种皮和果皮的含水量密切相关。类似的,A. Subbiah *et al*^[13] 构建了另一个模型来阐释脱水耐受性与种皮与种子质量比、种子质量和胚与胚乳的含水量之间的关系。A. C. F. Moura *et al*^[50] 指出种皮和胚分生组织细胞壁的厚度和硬度可能是种子脱水敏感性的有效指标。S. V. Wyse *et al*^[12] 根据 17 539 个物种组成的全球数据集,根据其生境和特征信息,以及同一目、科或属植物种子的脱水反应,利用现有数据库数据构建了 3 个增强回归树模型,为研究者预测种子的脱水敏感性提供参考。迄今陆续有通过构建种子脱水耐性的模型来评估种子顽拗性的研究报道,但是尚未有一种模型或假说能够普遍适用。

2 顽拗性种子的生态适应性

顽拗性是植物种子逐渐适应环境的结果。不同

地理起源的 *C. langsdorffii* 和 *Ekebergia capensis* 种子的脱水耐性有区别,表明种子的脱水耐性受母体环境影响^[48,51]。顽拗性种子的植物常分布于潮湿、季相变化较小的气候中,其种子大多是在季风期或是雨季来临时成熟,避免经历即将到来的干旱少雨天气^[31],并通过在有利环境下快速萌发以减少其被动物捕食的风险,有利于延长幼苗的生长时间^[32]。如生长于暖温带的辽东栎(*Q. wutaishanica*)种子的轻度顽拗性让其在森林地表的湿润凋落物环境下迅速萌发以降低动物捕食其种子的风险^[52]。然而种子的脱水敏感性也是一种高风险的繁殖策略,需要付出对干燥环境敏感的代价,假如种子散落之后外界环境条件突发变化,从脱落到有利萌发条件到来时间间隔过长,将可能导致种子群体的大面积死亡^[31]。全球气候变化将对产生顽拗性种子的植物的生存构成一定威胁,如近年地中海地区冬季持续干旱,对产生顽拗性种子的物种不利^[53]。

种子休眠、脱水耐性及低温敏感性,均是调节植物更新策略的重要生态特性^[21]。顽拗性种子的休眠特性可能是果实成熟之后种子应对干燥天气等不利条件的一种适应能力,是树种对于生物进化压力的折中选择^[54],促使种子在更有利的季节里萌发。某些热带雨林中存在季节性的干旱,很可能是导致植物种子兼具休眠特性与顽拗性的主要原因。如大叶藤黄(*G. xanthochymus*)和小叶藤黄(*G. corwa*)生于水分条件稍差的坡地,种子在雨季末成熟,其休眠并能忍受一定程度的脱水是对西双版纳热带季风气候的一种适应特征,避免种子在旱季发芽,让其在来年适合幼苗生长的雨季萌发^[55]。毛瑞桐种子的顽拗性与休眠性共存可能是决定该物种广泛分布的重要因素,顽拗性有利于适应沼泽环境,而休眠性则有利于种子散布和种群扩张,可让其在潮湿和相对干燥的土壤上均能建立种子库^[38]。同理,布迪椰子(*Butia capitata*)的中间性种子有一定的耐脱水能力和休眠特性是其在不同环境中建立种子库的基础^[7]。更多顽拗性种子的生态适应性研究需要对种子库、种子扩散及萌发等过程进行长期的调研、监控和试验。

3 顽拗性种子的贮藏条件

顽拗性种子的脱水敏感性对其胚胎储存、种质资源的保护以及对森林植被的恢复构成了挑战^[31]。由于敞开存放会造成种子失水,太过密闭又构成低氧胁迫,顽拗性种子的贮藏需要适度通气。其贮藏过程中温度过低会导致代谢失衡,胚轴的超微结构

将失去完整性。因此,顽拗性种子贮藏的原则是在种子所能承受的最低温度下,将其存放在能保持其含水量和活力并防止微生物侵害的环境下^[56]。一般来说,产于温带地区的顽拗性种子比热带地区的更耐干燥,寿命更长,相对容易储存^[8]。具有休眠特性的顽拗性种子相比一般的顽拗性种子寿命更长,也相对容易储存^[57]。

<15℃的储藏温度对于大多数热带植物顽拗性种子来说是致命的^[58],如无忧树(*Saraca asoca*)种子贮藏于28℃下,能在240 d内保持活力,但由于水分和温度较高,易受微生物侵害,1 a后活力完全丧失;而在15℃下贮藏,可使种子的寿命延长至4 a^[15];在5℃下贮藏23 d后,仅有27.5%的种子有活力。类似的,*G. gummi-gutta*种子能在15℃条件下长期贮藏且保持90%以上的萌发率^[25],于-10℃或5℃下贮藏2个月则完全失活。产于亚热带的湖南山核桃(*Carya hunanensis*)种子则可在0℃~3℃的低温库中保湿冷藏40 d,但保湿冷藏60 d后萌发率显著降低^[59]。部分具有休眠特性的顽拗性或中间性种子贮藏温度高于0℃即可,如金丝李低度顽拗性的种子在4℃下湿藏1、3、6个月均显著延缓种子萌发,但对萌发率无显著影响;在-1℃和-20℃下湿藏1个月均完全失活^[26]。再如凹叶木兰中间性种子在0℃或4℃下冷藏6个月,存活率无显著变化;而-20℃下湿藏却完全失活^[39]。产自温带、亚热带以及热带不同地理种源的*E. capensis*种子在保持其含水量的条件下对应所需的贮藏温度逐渐升高^[51]。可见,顽拗性种子的贮藏温度和时间依种类、产地、是否具有休眠特性等情况不同而需要设计试验去验证。

一些棕榈科植物,超低温保存种胚是保存其种质资源的较好方法,如布迪椰子的中间性种子在含水量为5.2%时于-18℃或-10℃下冷冻会失去活力,而在此含水量下分离出的种胚经液氮冷冻90 d后依然保持其活力^[7]。但目前大多顽拗性种子的胚或胚轴在液氮中进行超低温保存尚存在困难^[7],多以茎段外植体和体细胞胚的超低温保存方式替代^[60]。

4 顽拗性种子脱水敏感性的机制研究

4.1 细胞生物学研究

顽拗性种子在成熟过程中代谢活性一般较高,在这个过程中往往也发生营养物质的累积^[45]。欧洲七叶树种子脱离母体后细胞内和所有亚细胞结构(包括液泡)保持高水合状态,胚轴细胞中液泡的扩大,为细胞伸长做好准备^[61]。次生代谢产物的积

累、液泡的形成以及蛋白质等在液泡中的储存,都对种子顽拗性的调节有重要作用^[62]。子叶细胞中高浓度液泡的维持有助于保持胚胎中的良好水势,并防止因体积急剧减少导致的细胞损伤^[63]。顽拗性种子的水分流失对细胞结构、有丝分裂生长以及其他生理生化活动构成有害影响。由于脱水而遭受水分胁迫的细胞表现出内质网增生、空泡细胞变多,引起细胞溶质含量增加,有助于减少水分损失,但进一步脱水将会造成细胞壁和细胞核塌陷^[56]。

兼具休眠与顽拗性的毛瑞榈种子脱水敏感性与细胞的超微结构变化有关,其胚细胞兼具顽拗性种子(存在大液泡,细胞核大,缺乏脂质储备)和正常性种子(蛋白质和萜类丰富)的特征,还存在生物碱和酚类化合物等次生代谢产物。脱水至含水量30%的种子伴随着子叶细胞空泡含量增加、膜选择性丧失、线粒体数量增加以及蛋白质分解代谢,部分丧失活力;脱水至含水量20%的种子子叶细胞还表现出内质网和自噬空泡增加、蛋白质减少、原生质崩塌和细胞壁内陷等不可逆的细胞损伤,同时胚细胞伴随着膜的完整性丧失、细胞收缩压迫细胞器等不可逆的代谢损伤和结构损伤,导致种子活力完全丧失^[50,62]。其种子休眠主要通过胚和胚乳中蛋白质代谢的动态变化和线粒体的增殖,削弱与胚胎相邻的组织来打破^[38,50]。具有休眠特性的顽拗性种子的脱水耐性机制可能更加复杂化,其在脱水过程中与不具休眠特性的顽拗性种子的异同点,尚缺乏研究报道。

4.2 生理生化研究

顽拗性种子在脱离母体后,其生理活动随着干燥脱水而变化。关于种子脱水耐性的生理学研究较多。N. M. Noor *et al*^[21]在山竹和*G. hombroniana*种子中观察到有单宁的存在,可能有助于保持种子水分。*Telfairia occidentalis*的顽拗性种子在脱水过程中淀粉含量减少,脂质含量增加^[64],推测该种子可能利用淀粉进行脂质的生物合成,因为脂质是较佳的营养物质储备形式。马拉巴栗(*Pachira macrocarpa*)种子脱水耐性强弱关系到棉籽糖和水苏糖等非还原性糖的含量与还原性糖/非还原性糖的比例^[47]。咖啡属不同植物的种子脱水敏感性差异很大^[65],其脱水敏感性与胚乳的总脂质和脂肪酸含量^[66]、非还原糖的含量关系均不大^[67]。

研究顽拗性种子脱水过程中代谢物的状况有助于理解其脱水敏感机理。脱水过程中其水分基础代谢持续但逐渐趋于失衡,导致抗氧化系统失活,引发种子细胞内活性氧(ROS)自由基的清除能力降低、不可逆的蛋白质变性、细胞膜降解及细胞内含物大

量外渗等细胞及生理转变^[68]。活性氧为种子在正常代谢受影响时累积的有毒产物^[69],能加速膜脂过氧化,伤害蛋白质和 DNA^[70]。脱水导致顽拗性种子失活的重要原因在于膜脂过氧化作用致使膜结构与功能受损,活性氧自由基积累以及抗氧化防御系统清除活性氧的能力降低,导致细胞代谢紊乱^[19]。学者常以抗氧化酶、糖类、LEA(胚胎发育后期丰富蛋白)、酚氧化酶、ABA 等对种子脱水耐性的作用为切入点来研究顽拗性种子的脱水敏感性。

顽拗性种子中积累的活性氧,主要靠种子内部通过提高抗氧化酶的水平以清除^[71]。抗氧化酶保护细胞免受脱水引起的活性氧损伤。‘紫柄籽银桂’种子在脱水过程中,相对电导率与 MDA 含量上升,POD 活性波动上升,SOD 活性降低^[18]。金丝李种子随着脱水程度的加深,相对电导率、丙二醛、脯氨酸及可溶性糖含量逐步上升,SOD 和 POD 的活性在含水量 27.29% 时达到最高,继续脱水则活性降低^[26]。银杏种子与其类似,SOD 和 POD 的活性在脱水过程中均呈波动性变化^[16]。

具体眠特性的毛瑞桐种子在脱水过程中伴随着活性氧的积累、脂质和 DNA 氧化,以及蛋白质和蛋白水解酶系统的氧化损伤等反应。其胚轴上总蛋白含量和蛋白酶体的活性显著下降,而蛋白质羰基、过氧化物、丙二醛以及脯氨酸的含量增加,表明蛋白质氧化修饰的速率增加和蛋白酶体系统功能的紊乱是导致其种子脱水变质的原因之一^[50,62]。顽拗性种子的休眠特性在脱水过程中有无变化,与休眠或脱水耐性相关的化学物质与酶之间的相互作用值得今后给予更多的关注。

4.3 分子生物学研究

种子脱水涉及复杂的基因调控网络和分子信号传导,种子顽拗性是由多基因控制的数量性状^[72]。冬青栎(*Q. ilex*)种子在其发育过程中,其脱水相关基因 *Dhn3* 和 *GolS* 的转录本随着含水量的增加而减少,证明顽拗性是在该种子发育过程中建立的^[73]。在脱水耐性的诱导方面,A. Marques *et al*^[5]通过转录组测序发现多效唑可诱导柠檬种子(*Citrus limon*)的脱水耐性,多效唑不仅干扰了种子内部赤霉素相关基因的表达,促进了其他激素的生物合成,且引起了生长素、赤霉素、乙烯、油菜素类固醇、茉莉酸和水杨酸的信号转导相关基因表达的变化。

著名中药三七(*Panax notoginseng*)种子兼具形态生理休眠与顽拗性,限制了其推广栽培。通过对三七种子不同后熟阶段的转录组测序分析,获得了 26 个关系到编码与种子的脱水耐性相关的 LEA

蛋白和抗氧化酶的差异表达基因。LEA 蛋白被证明是清除自由基的抗氧化剂^[74],一类特殊的 LEA 蛋白被称为脱水素(dehydrin),对种子脱水耐性的获得起着至关重要的作用^[75]。编码 LEA 蛋白的 *LEA1*、*LEAD3*、*DHN2* 和 *DHN9* 在三七种子后熟过程中表达量降低,推测三七种子的脱水敏感性可能是后熟过程中 LEA 蛋白的缺失引起的。分析发现可能参与三七种子脱水敏感性的获得和休眠解除的还有 PE2、GAI、PP2C、GA2OX、SOD 和 APX 等一系列酶^[76]。该研究为三七种子甚至具有休眠特性的顽拗性种子的休眠释放和脱水敏感性的分子机理研究提供了新信息,但并没找出脱水耐性与休眠的内在联系。1-Cys peroxiredoxins(1-Cys-Prx)作为一种基于氧化还原的槭树属(*Acer*)种子发育调控因子,以不同的状态参与欧亚槭(*A. pseudo-platanus*)种子不同发育阶段的调控,其对种子休眠^[77]及耐脱水能力的形成也发挥了重要调控作用^[78]。目前,顽拗性种子脱水敏感性的分子机制尚未形成成熟的观点和体系,今后仍为研究的热点。而具有休眠特性的顽拗性种子,其脱水敏感性与休眠之间的分子调控网络,有待深入研究。

5 研究展望

虽然对顽拗性种子的研究取得了许多成果,但无论从其广度和深度上仍然有很多突出的问题值得研究和探讨,今后学者们可从以下几方面加强思考研究,以解决农林业中顽拗性种子不耐贮藏的实际问题。

顽拗性种子信息库的构建与顽拗性的评估。随着种质资源普查的不断进行,需不断完善顽拗性种子的植物数据库,深入研究顽拗性种子贮藏特性与其自然生境的关系。脱水耐性模型的准确构建及种子顽拗性的精准评估均有赖于数据库的完整性。

探索种子的超低温保存技术。由于脱水和冰晶化会对种子造成低温损害,目前顽拗性种子超低温保存的实现还存在一定困难。为配合国家级低温种质库的构建,有待开发能够减少水含量而不损害细胞膜的冷冻保护剂以及合适的低温保存程序,实现种子、分离的种胚或胚轴的长期保存^[52]。

种子脱水敏感性调控机制的深入研究。期待继续深入挖掘不同植物中参与调控脱水耐性诱导的候选基因、位点及其调控方式,以期找出不同种子脱水耐性差异的本质。同时加强人工诱导顽拗性种子脱水耐性和其脱水修复的分子机制的相关研究,为找到最佳的种质保存方法提供科学依据,也为分子育种实践提供有益参考。

关注具有休眠特性的顽拗性种子的研究。作为特殊类群, 休眠特性的顽拗性种子在脱水过程中的蛋白互作机理, 生理和分子机理上与一般顽拗性种子的异同, 其种子脱水耐性与休眠特性的分子调控网络是否存在交叉与制衡, 值得重点关注。

参考文献:

[1] COSTA C R X, PIVETTA K F L, MAZZINI-GUEDES R B, *et al.* Effects of temperature, light and seed moisture content on germination of *Euterpe precatoria* palm[J]. American Journal of Plant Sciences, 2018, 9(1): 98-106.

[2] ELLIS R H, HONG T D, ROBERTS E H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. COFFEE[J]. Journal of Experimental Botany, 1990, 41(9): 1167-1174.

[3] MATILLA A J, MAMATILLA-VÁZQUEZ. Involvement of ethylene in seed physiology[J]. Plant Science, 2008, 175(1-2): 0-97.

[4] FARRANT J M, WALTERS C. Ultrastructural and biophysical changes in developing embryos of *Aesculus hippocastanum* in relation to the acquisition of tolerance to drying[J]. Physiology Plant, 1998, 104(4): 513-524.

[5] MARQUES A, NIJVEEN H, SOMI C, *et al.* Induction of desiccation tolerance in desiccation sensitive *Citrus limon* seeds[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2019, 61(5): 624-638.

[6] BERJAK P, PAMMENTER N W. Seed recalcitrance—current perspectives[J]. South African Journal of Botany, 2001, 67(2): 79-89.

[7] DIAS D S, LOPES P S N, RIBEIRO L M, *et al.* Tolerance of desiccation and cryopreservation of *Butia capitata* palm seeds[J]. Seed Science and Technology, 2015, 43(1): 90-100.

[8] PAMMENTER N W, BERJAK P. Some thoughts on the evolution and ecology of recalcitrant seeds[J]. Plant Species Biology, 2000, 15(2): 153-156.

[9] JOOSTE M, MIDGLEY G F, OBERLANDER K C, *et al.* *Oxalis* seeds from the Cape Flora have a spectrum of germination strategies[J]. American Journal of Botany, 2019, 106(6): 879-893.

[10] HILL J P, EDWARDS W, FRANKS P J. Size is not everything for desiccation-sensitive seeds[J]. Journal of Ecology, 2012, 100(5): 1131-1140.

[11] HAMILTON K N, OFFORD C A, CUNEO P, *et al.* A comparative study of seed morphology in relation to desiccation tolerance and other physiological responses in 71 eastern Australian rainforest species[J]. Plant Species Biology, 2013, 28: 51-62.

[12] WYSE S V, DICKIE J B. Taxonomic affinity, habitat and seed mass strongly predict seed desiccation response: a boosted regression trees analysis based on 17 539 species[J]. Annals of Botany, 2018, 121(1): 71-83.

[13] SUBBIAH A, RAMDHANI S, PAMMENTER N W, *et al.* Towards understanding the incidence and evolutionary history of seed recalcitrance: An analytical review[J]. Perspectives in

Plant Ecology Evolution and Systematics, 2019, 37: 11-19.

[14] PRAKASH K, CHAUDHURY R, ROHINI M R, *et al.* Contrasting seed biology of two ornamental palms: pygmy date palm (*Phoenix roebelenii* O'Brien) and fishtail palm (*Caryota urens* L.) and implications for their long-term conservation[J]. Indian Journal of Traditional Knowledge, 2019, 18(3): 477-484.

[15] KUNDU M, TIWARI S, HALDKAR M. Collection, germination and storage of seeds of *Saraca asoca* (Roxb.) Willd[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2020, 16: 100231.

[16] 冯景, 沈永宝, 史锋厚. 银杏种子脱水敏感性的研究[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2019, 43(6): 193-200.

FENG J, SHEN Y B, SHI F H. Study on desiccation sensitivity of *Ginkgo biloba* seeds[J]. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 2019, 43(6): 193-200. (in Chinese)

[17] 宋以刚, 邓敏, 王妍婷. 弗吉尼亚栎种子萌发特性[J]. 生态学杂志, 2015, 34(5): 1295-1300.

SONG Y G, DENG M, WANG Y T. Germination characteristics of *Quercus virginiana* seeds[J]. Chinese Journal of Ecology, 2015, 34(5): 1295-1300. (in Chinese)

[18] 李文君, 沈永宝. ‘紫柄籽银桂’桂花种子脱水耐性与抗氧化系统的关系[J]. 园艺学报, 2009, 36(2): 279-284.

[19] DUSSERT S, SERRET J, BASTOS-SIQUEIRA A, *et al.* Integrative analysis of the late maturation programme and desiccation tolerance mechanisms in intermediate coffee seeds[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(7): 1583-1597.

[20] MURUGESAN P, RAVICHANDRAN G, SHAREEF M. Seed germination and ultra structural changes in oil palm (*Elaeis guineensis*) hybrid seed influenced by heat treatments[J]. Indian Journal of Agricultural Sciences, 2015, 85(11): 1419-1423.

[21] NOOR N M, AIZAT W M, HUSSIN K, *et al.* Seed characteristics and germination properties of four *Garcinia* (Clusiaceae) fruit species[J]. Fruits, 2016, 71(4): 199-207.

[22] STERK M, GORT G, KLIMKOWSKA A, *et al.* Assess ecosystem resilience: Linking response and effect traits to environmental variability[J]. Ecological Indicators, 2013, 30(5): 21-27.

[23] MAHDAVI-DARVARI F, NOOR N M. New insight into early somatic embryogenesis of mangosteen (*Garcinia mangostana*) through de novo and comparative transcriptome analyses[J]. Tropical Plant Biology, 2017, 10(1): 30-44.

[24] ASOMANING J M, OLYMPIO N S, SACANDE M. Desiccation sensitivity and germination of recalcitrant *Garcinia kola* Heckel seeds[J]. Research Journal of Seed Science, 2011, 4(1): 15-27.

[25] JOSHI G, PHARTYAL S S, ARUNKUMAR A. Non-deep physiological dormancy, desiccation and low-temperature sensitivity in seeds of *Garcinia gummi-gutta* (Clusiaceae): a tropical evergreen recalcitrant species[J]. Tropical Ecology, 2017, 58(2): 241-250.

[26] 张俊杰, 柴胜丰, 王满莲, 等. 珍稀濒危植物金丝李种子脱水耐性和贮藏特性[J]. 广西植物, 2019, 39(2): 199-208.

[27] MALIK S K, CHAUDHURY R, ABRAHAM Z. Seed mor-

phology and germination characteristics in three *Garcinia* species[J]. Seed Science and Technology, 2005, 33(3): 595-604.

[28] HONG T, ELLIS R, LININGTON S. Compendium of information on seed storage behaviour[M]. London: Royal Botanic Gardens Kew, 1998.

[29] 郭欢欢, 刘勇, 吴成亮, 等. 国外林木种子休眠与贮藏的研究进展[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(4): 133-138.

GUO H H, LIU Y, WU C L, *et al.* Research progress of forest seed dormancy and storage in foreign countries[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(4): 133-138. (in Chinese)

[30] BASKIN J M, BASKIN C C. A classification system for seed dormancy[J]. Seed Science Research, 2004, 14(1): 1-16.

[31] FARNSWORTH E. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds[J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 2000, 31(1): 107-138.

[32] TWEDDLE J C, DICKIE J B, BASKIN C C, *et al.* Ecological aspects of seed desiccation sensitivity[J]. Journal of Ecology, 2003, 91(2): 294-304.

[33] BASKIN C C, BASKIN J M. Seed dormancy in trees of climax tropical vegetation types[J]. Tropical Ecology, 2005, 46(1): 17-28.

[34] MSANGA H P. Seed Germination of indigenous trees in Tanzania, including notes on seed processing, storage, and plant uses[J]. Metal Finishing, 1999, 98: 90.

[35] PHARTYAL S S, ROSBAKH S, POSCHLOD P. Seed germination ecology in *Trapa natans* L., a widely distributed freshwater macrophyte [J]. Aquatic Botany, 2018, 147: 18-23.

[36] MATHEW K L, GEORGE T S. Dormancy and storage of seeds in *Garcinia cambogia* Desr. (Kodampuli)[J]. Journal of Tropical Agriculture, 1995, 33(1): 77-79.

[37] CHACKO K C, PILLAI P K C. Seed characteristics and germination of *Garcinia gummi-gutta* (L.) Robs [J]. Indian Forester, 1997, 123(2): 123-126.

[38] SILVA R S, RIBEIRO L M, MERCADANTE-SIMÕES M O, *et al.* Seed structure and germination in buriti (*Mauritia flexuosa*), the swamp palm [J]. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 2014, 209(11): 674-685.

[39] 唐安军. 中国特有植物凹叶木兰种子的休眠与贮藏行为[J]. 植物生理学报, 2014, 50(1): 105-110.

TANG A J. Seed dormancy and storage behavior of *Magnolia sargentiana* endemic to China [J]. Plant Physiology Communications, 2014, 50(1): 105-110. (in Chinese)

[40] 闫兴富, 曹敏. 光照和温度对望天树种子萌发的影响[J]. 植物学通报, 2006, 23(6): 642-650.

[41] THAPLIYAL R C, PHARTYAL S S, NAYAL J S. Germination, desiccation tolerance and storage of seed of a tropical evergreen tree—*Cryptocarya floribunda* Nees (Lauraceae)[J]. Seed Science and Technology, 2004, 32(2): 537-545.

[42] JAYASURIYA K M G G, WIJETUNGA A S T B, BASKIN J M, *et al.* Recalcitrancy and a new kind of epicotyl dormancy in seeds of the understory tropical rainforest tree *Humboldtia laurifolia* (Fabaceae, Caesalpinioideae)[J]. American Journal of Botany, 2010, 97(1): 15-26.

[43] JAYASURIYA K M G G, WIJETUNGA A S T B, BASKIN J M, *et al.* Physiological epicotyl dormancy and recalcitrant storage behaviour in seeds of two tropical Fabaceae (subfamily Caesalpinioideae) species[J]. AoB Plants, 2012, 21(12): 044.

[44] DAYANANDA J H S, JAYASURIYA K. Seed germination behavior of eight medicinal plant species of Sri Lanka [C]// Proceedings of International Forestry and Environment Symposium. Colombo: University of Sri Jayewardenepura, 2019: 24.

[45] DAWS M I, LYDALL E, CHMIELARZ P, *et al.* Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe[J]. New Phytologist, 2004, 162(1): 157-166.

[46] JAGANATHAN G K, LI J J, YANG Y S, *et al.* Complexities in identifying seed storage behavior of hard seed-coated species: a special focus on Lauraceae [J]. Botany Letters, 2019, 166(1): 70-79.

[47] 李永红, 马颖敏, 许柏球, 等. 馬拉巴栗种子发育中可溶性糖变化与种子脱水耐性的关系[J]. 中国农业科学, 2009, 42(8): 2882-2891.

[48] PEREIRA W V S, FARIA J M R, José A C, *et al.* Is the loss of desiccation tolerance in orthodox seeds affected by provenance? [J]. South African Journal of Botany, 2017, 112: 296-302.

[49] PELISSARI F, JOSÉ A C, FONTES M A L, *et al.* A probabilistic model for tropical tree seed desiccation tolerance and storage classification[J]. New Forests, 2018, 49(1): 143-158.

[49] PELISSARI F, JOSÉ A C, FONTES M A L, *et al.* A probabilistic model for tropical tree seed desiccation tolerance and storage classification[J]. New Forests, 2018, 49(1): 143-158.

[50] MOURA A C F, RIBEIRO L M, MAZZOTTINI-DOS-SANTOS H C, *et al.* Cytological and histochemical evaluations reveal roles of the cotyledonary petiole in the germination and seedling development of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) [J]. Protoplasma, 2019, 256(5): 1299-1316.

[51] BHARUTH V, NAIDOO C, PAMMENTER N W, *et al.* Responses to chilling of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis* from different provenances [J]. South African Journal of Botany, 2020, 130(3): 8-24.

[52] 闫兴富, 仇智虎, 杜茜, 等. 种皮和环境温度对辽东栎种子萌发的影响[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(3): 119-124.

YAN X F, QIU Z H, DU Q, *et al.* Influences of seed coat and temperature on the germination of *Quercus wutaishanica* seeds [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(3): 119-124. (in Chinese)

[53] JOËT T, OURCIVAL J M, CAPELLI M, *et al.* Explanatory ecological factors for the persistence of desiccation-sensitive seeds in transient soil seed banks: *Quercus ilex* as a case study [J]. Annals of Botany, 2016, 117(1): 165-176.

[54] SAUTU A, BASKIN J M, BASKIN C C, *et al.* Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America [J]. Forest Ecology and Management, 2006, 234(1-3): 0-263.

[55] LIU Y, QIU Y P, ZHANG L, *et al.* Dormancy breaking and

- storage behavior of *Garcinia cowa* Roxb. (Guttiferae) seeds; implications for ecological function and germplasm conservation[J]. Journal of Integrative Plant Botany, 2005, 47(1): 38-49.
- [56] BERJAK P, PAMMENTER N W. From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective[J]. Annals of Botany, 2008, 101(2): 213-228.
- [57] DEBEAUJON I, KOORNNEEF M. Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid[J]. Plant Physiology, 2000, 122(2): 415-424.
- [58] BEDI S, BASRA A S. Chilling injury in germinating seeds; basic mechanisms and agricultural implications[J]. Seed Science Research, 1993, 3(4): 219-229.
- [59] 樊卫国, 马文涛, 龙登楷, 等. 保湿冷藏对湖南山核桃种子萌发及生理的影响[J]. 果树学报, 2011, 28(5): 831-836.
- [60] VARGHESE D B, BERJAK P, PAMMENTER N W, *et al.* Alternate explants for germplasm cryopreservation of recalcitrant-seeded species; problems and perspectives[J]. South African Journal of Botany, 2008, 74(2): 391-392.
- [61] OBROUCHEVA N, SINKEVICH I, LITYAGINA S. Physiological aspects of seed recalcitrance; a case study on the tree *Aesculus hippocastanum* [J]. Tree Physiology, 2016, 36(9): 1127-1150.
- [62] VELOSO V H S, RIBEIRO L M, MERCADANTE-SIMÕES M O, *et al.* Cytological aspects of recalcitrance in dormant seeds of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) [J]. Acta Physiologica Plantarum, 2016, 38(7): 171.
- [63] WALTERS C. Orthodoxy, recalcitrance and in-between; describing variation in seed storage characteristics using threshold responses to water loss[J]. Planta, 2015, 242(2): 397-406.
- [64] NKANG A, OMOKARO D, EGBE A, *et al.* Variations in fatty acid proportions during desiccation of *Telfairia occidentalis* seeds harvested at physiological and agronomic maturity [J]. African Journal of Biotechnology, 2003, 2(2): 33-39.
- [65] DUSSERT S, CHABRILLANGE N, ENGELMANN F, *et al.* Relationship between seed desiccation sensitivity, seed water content at maturity and climatic characteristics of native environments of nine *Coffea* L. species [J]. Seed Science Research, 2000, 10(3): 293-300.
- [66] DUSSERT S, CHABRILLANGE N, ROCQUELIN G, *et al.* Tolerance of coffee (*Coffea* spp.) seeds to ultra-low temperature exposure in relation to calorimetric properties of tissue water, lipid composition, and cooling procedure[J]. Physiologia Plantarum, 2001, 112(4): 495.
- [67] CHABRILLANGE N, DUSSERT S, ENGELMANN F, *et al.* Desiccation tolerance in relation to soluble sugar contents in seeds of ten coffee (*Coffea* L.) species [J]. Seed Science Research, 2000, 284(3): 393-396.
- [68] VARGHESE B, SERSHEN, BERJAK P, *et al.* Differential drying rates of recalcitrant *Trichilia dregeana* embryonic axes; a study of survival and oxidative stress metabolism [J]. Physiologia Plantarum, 2011, 142(4): 326-338.
- [69] BAILLY C, EL-MAAROUF-BOUTEAU H, CORBINEAU F. From intracellular signaling networks to cell death; the dual role of reactive oxygen species in seed physiology [J]. Comptes Rendus Biologies, 2008, 331(10): 806-814.
- [70] CHANDRA J, DUBEY M, KESHAVKANT S. Influence of protein damage and proteasome gene expression on the longevity of recalcitrant *Madhuca latifolia* Roxb. seeds [J]. Botany, 2020, 98(3): 173-183.
- [71] CALVI G P, AUD F F, FERRAZ I D K, *et al.* Analyses of several seed viability markers in individual recalcitrant seeds of *Eugenia stipitata* McVaugh with totipotent germination [J]. Plant Biology, 2016, 20(4): 6-13.
- [72] SONG S, PATRICIA B, PAMMENTER N, *et al.* Seed recalcitrance; a current assessment [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2003, 45(6): 638-643.
- [73] ROMERO-RODRÍGUEZ M C, ARCHIDONA-YUSTE A, ABRIL N, *et al.* Germination and early seedling development in *Quercus ilex* recalcitrant and non-dormant seeds: targeted transcriptional, hormonal, and sugar analysis [J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1508.
- [74] HARA M, TERASHIMA S, FUKAYA T, *et al.* Enhancement of cold tolerance and inhibition of lipid peroxidation by *Citrus* dehydrin in transgenic tobacco [J]. Planta, 2003, 217(2): 290-298.
- [75] LANG S R, LIU X X, MA G, *et al.* Identification of desiccation tolerance transcripts potentially involved in rape (*Brassica napus* L.) seeds development and germination [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 83: 316-326.
- [76] YANG K, YANG L, FAN W, *et al.* Illumina-based transcriptomic analysis on recalcitrant seeds of *Panax notoginseng* for the dormancy release during the after-ripening process [J]. Physiologia Plantarum, 2019, 167(4): 597-612.
- [77] DIETZ K J. Peroxiredoxins in plants and cyanobacteria [J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2011, 15(4): 1129-1159.
- [78] KIM S Y, PAENG S K, NAWKAR G M, *et al.* The 1-Cys peroxiredoxin, a regulator of seed dormancy, functions as a molecular chaperone under oxidative stress conditions [J]. Plant Science, 2011, 181(2): 0-124.