

刘美慧, 林钟员, 杨平仿, 何冬丽. 莲子长寿机制的研究进展[J]. 植物科学学报, 2019, 37(3): 396~403

Liu MH, Lin ZY, Yang PF, He DL. Research progress on the longevity mechanism of *Nelumbo nucifera* seeds[J]. *Plant Science Journal*, 2019, 37(3): 396~403

莲子长寿机制的研究进展

刘美慧^{1,3}, 林钟员^{1,3}, 杨平仿^{2*}, 何冬丽^{2*}

(1. 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074; 2. 湖北大学生命科学学院, 武汉 430070;

3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)为莲科、莲属多年水生宿根草本植物。莲子生命力极强,在自然条件下的泥碳层中能存活千年,甚至在极端高温、高湿条件下仍能保持较高的萌发活力。随着莲基因组测序与基因注释的完善,莲子长寿机制的相关研究取得了一定进展。本文对莲子的结构形态、保护系统和基因组特性方面的研究进展进行了综述,阐明莲子的长寿机制,对后续研究方向进行了展望。

关键词: 莲; 种子寿命; 物理结构; 抗氧化; 老化修复

中图分类号: Q945; Q949.746.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2019)03-0396-08

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2019.30396

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research progress on the longevity mechanism of *Nelumbo nucifera* seeds

Liu Mei-Hui^{1,3}, Lin Zhong-Yuan^{1,3}, Yang Ping-Fang^{2*}, He Dong-Li^{2*}

(1. Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; 2. Hubei University, Wuhan 430070, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: *Nelumbo nucifera* Gaertn. belongs to the aquatic perennial herbs of Nelumbonaceae. The *N. nucifera* seeds exhibit strong vitality and can survive for more than a thousand years under natural and even extreme conditions. With the improvement of *N. nucifera* genome sequencing and gene annotation, some progress has been made in the study of the longevity mechanism of *N. nucifera* seeds. In this paper, the longevity mechanism is summarized from aspects of structure, morphology, anti-aging, and self-repair, and the prospects and challenges of follow-up research are discussed.

Key words: *Nelumbo nucifera* Gaertn.; Seed longevity; Physical structure; Antioxidant; Aging repair

种子一旦达到生理成熟,便开始经历老化过程,生命力从旺盛状态逐渐减弱直至最后死亡,这是一个复杂的从量变到质变的连续过程。种子从完全成熟到丧失生活力所经历的时间,称为该种子的寿命^[1]。种子即使在最佳储藏条件下,老化过程也会发生,随储藏时间延长,寿命不断递减,生活

力逐渐丧失。种子老化是影响种质资源贮存安全性和种质遗传完整性的主要因素。因此,研究种子抗老化机理、延长种子的仓储寿命对于种质资源保存和农业生产具有重要意义。

莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)属于莲科、莲属多年生宿根挺水型草本植物。莲属在世界上仅有

收稿日期: 2018-11-26, 退修日期: 2018-12-26。

基金项目: 中国科学院知识创新项目(Y455421Z02)。

This work was supported by a grant from the Knowledge Innovation Project of Chinese Academy of Sciences (Y455421Z02).

作者简介: 刘美慧(1992-),女,硕士研究生,研究方向为植物学(E-mail: 544879000@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: yangpf@wbgcas.cn; hedongli@wbgcas.cn)。

两种，即中国莲和美洲黄莲 (*N. lutea* Pers.)^[2]。莲在冰河时代之前就已出现，至今仍有大范围分布，温带型种群主要分布于北纬 20°以北，热带型种群主要分布于北纬 17°以南。源于莲在佛教和印度教的宗教特征，中国莲又叫“圣莲”(Sacred lotus)。我国莲的栽培历史悠久，种质资源丰富，不仅是莲的世界分布中心，也是栽培中心。

20 世纪 20 年代初，日本植物学家 Ohga^[3] 在中国辽宁省辽东半岛的普兰店，首次从当地农田及河床中获得一些寿命在 400 年以上的古代莲子并进行了种子萌发研究。Shen-Miller^[4] 测定出最古老的莲子寿命长达 1300 多年，萌发率高达 84%。莲子长寿、千年不死的特性，引起了植物学家的强烈兴趣。科学家们结合细胞生物学、遗传学、分子生物学手段对莲子的长寿机制进行了初步研究。本文对近年来有关莲子的结构特点、保护系统和基因组特性等方面的研究进行了综述，并对莲子抗老化机理下一步的研究方向和存在的挑战进行了展望。

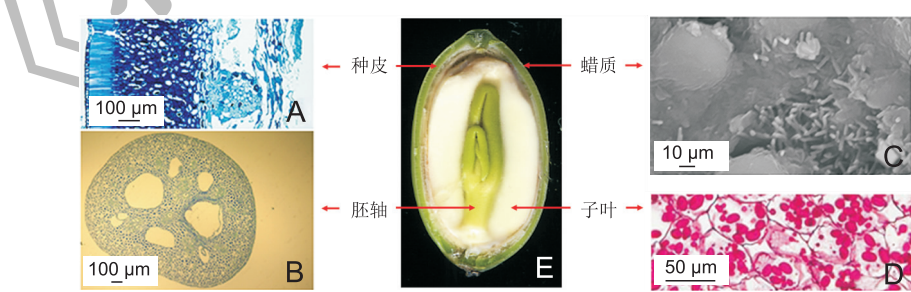
1 莲子的结构特点及化学成分

研究表明，莲子在授粉后约 30 d 完全成熟，种皮由绿色变为深褐色或黑色。每粒莲子重 1 ~ 2 g、长约 2 cm、宽约 1.5 cm。莲属于双子叶植物纲，其种子胚由淀粉质的子叶(约为总重量的 60%)、绿色的胚芽、胚轴和黄白色的胚根组成，胚乳退化、外被坚硬疏水的种皮(约占总重量的 35%)所包裹。

种皮是莲子抗老化的第一道防线，可以帮助种子抵御干旱、低温、水渍等多种极端条件。种皮外

被一层较厚的蜡质，其下依次是表皮层、栓质化的栅栏组织、充满栓质化厚壁细胞的厚壁组织、海绵组织和下表皮。这 6 道防线构成了一个结构紧密的“密封舱”(图 1)^[5]，可以阻隔水分和空气的内渗和外泄，其中还有一些小的气室存有少量空气，这对于种子的生存非常重要。虽然莲子外壳上的蜡质层有利于其疏水和抵抗病菌入侵，从而提高种子抗老化的能力。但研究发现，在新出土的古代莲种子的表皮上已经没有蜡质和上表皮层，表明莲子的疏水和保护作用可能依赖于其致密的栅栏组织。在坚硬的种壳保护下，即使在高温、高湿等极端条件下，他们仍然能够长时间保持萌发能力^[6]。

莲子壳的主要成分为淀粉(30.43%)和纤维素(27.10%)，此外还有酚类、鞣质、皂苷、蒽醌、黄酮和生物碱等成分^[7]，其中有多种类型的酚物质(主要为挥发物类、单宁、木质素类和木脂素类)，对抗氧化具有重要作用。莲子壳中大量的黄酮类物质对超氧阴离子自由基、羟自由基以及双氧水的清除具有一定作用^[8]。种子发育过程中，其母体组织内的某些细胞层通过二次加厚进行了结构增强。例如，在拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)种皮中，2 个外珠被曾经历 2 次加厚，涉及到多糖、多酚类物质(如木质素)的积累，可能有助于延长种子的寿命^[9]。木质素是一种含有氧代苯丙醇或其衍生物结构单元的芳香性高聚物，他能增强细胞壁的防水性和机械强度^[10]。苏木素和角质是由脂肪衍生的不溶性聚酯，能与细胞壁结合并减少渗透。莲子壳上还存在乳胶管分泌乳胶，可以防止渗透以及病、虫、真菌等的入侵^[11]。



A 和 B 分别是种皮和胚轴在甲苯胺蓝染色下的细胞质和次生代谢物累积情况；C：扫描电镜下莲子表皮沉积的不同形态的蜡质；D：子叶的石蜡切片在希夫试剂染色下显示的红色淀粉粒；E：新鲜莲子纵切面。
A, B: Paraffin sections of pericarp and hypocotyl were stained with toluidine blue to show accumulation of secondary metabolites in cytoplasm; C: Scanning electron microscopy pictures showing different forms of wax deposited on epidermis of *N. nucifera* seed; D: Paraffin sections of cotyledons stained with Schiff reagent showing red starch grains; E: Longitudinal section of *N. nucifera* seed.

图 1 莲子结构图
Fig. 1 Structure of *Nelumbo nucifera* seed

莲子的子叶为盾状圆形，子叶在成熟过程中糖分逐渐转化为淀粉贮藏在细胞中，淀粉含量约为总重量的 50%，其中直链淀粉约占 40%。莲子转录组学研究发现，两个 *AGPase* 基因 (*NNU_05331* 和 *NNU_20629*) 可能在糖分转化为淀粉过程中发挥重要作用。莲子体型较大的品种(如‘建莲’)需要较长时间去完成这一转化过程^[12]。莲子的淀粉属于限制型膨胀淀粉，分子量约为 1.7×10^{-6} kD，聚合度为 10 450。莲子淀粉糊化温度较高，达 77.1℃，热稳定性好。莲子中 3 大储藏化合物为：淀粉、蛋白质和油脂，其中蛋白质和油脂容易氧化变质，而淀粉质的种子抗老化能力相对较强^[13, 14]。子叶中的糖类物质(如蔗糖、水苏糖等)的热容量在种子脱水后显著降低，最终细胞质变为黏稠状态。在这种状态下，黏稠的细胞质可能成为保护其他细胞成分的重要因素^[15]。

成熟莲子内有长约 1 cm、宽约 0.3 cm、重 25 ~ 30 g 的倒生莲子心，莲子心具有绿色的胚。与大部分植物不同的是，莲胚为绿色，这可能与其胚具有光合系统有关。研究表明，在超微结构水平上观察莲子的发育过程，发现其胚内的质体发育成了巨形基粒；同时，在类囊体膜上存在捕获光能的色素蛋白复合颗粒，包括叶绿素 *a/b*、细胞色素 C、叶绿素结合蛋白和叶绿素 *a/b* 结合蛋白等，能够合成大的淀粉粒，色素是绿色胚形成的重要组成物质^[16]。此外，绿色胚的形成还需要光照，黄天芳等^[17]通过对莲子进行遮光处理，发现莲子的胚在黑暗条件下成熟时会发生黄化。绿色的胚芽有助于莲子在弱光下萌发，Ushimaru 等^[18]研究发现，黑暗条件下萌发 5 d 的莲子，其胚中叶绿体已经具有成熟的类囊体、基粒和新合成的淀粉粒。新鲜莲子的胚具有光合系统，其叶绿体尚未完全发育成熟，总量较低。但是，莲子中即使是未发育完全的叶绿体仍能进行微弱的光合作用，是物种维持生命力的一种适应^[19]。

2 保护和修复机制

种子寿命是种子保持活力的关键，也是植物适应不断变化环境的重要特征。种子寿命的减少通常与细胞大分子(如核酸、蛋白质和脂类)的氧化有关。在逆境胁迫下，种子会启动保护、修复和休眠机制。

2.1 细胞质的保护机制

普通种子在成熟过程中通常会经历脱水、干燥的过程，未成熟种子只要保持足够的水分就可以萌发，但干燥后则不能存活。在种子成熟期间含水量逐渐减少(< 20%)，直到脱水。而种子在干燥状态下生存需要高性能的细胞保护机制(图 2)^[20]。种子脱水促进了种子的后熟并提高其缺水耐受性，有助于延长种子的寿命^[21]。在成熟、干燥的种子中，胚蛋白即使经过几年的贮藏，大多仍是稳定和有功能的。在有限的环境中，保持细胞活力的一个重要方式是将其代谢活动降到最低。降低细胞代谢最普遍的策略是通过积累可溶性的非还原糖来限制分子的流动性，从而使细胞质变成黏稠的玻璃态。Hyde^[22]的研究认为，白三叶草(*Trifolium hybridum* L.)、红车轴草(*Trifolium pratense* L.)和灌木羽扇豆(*Lupinus micranthus* Guss.)的种脐是种子内部水分扩散的“单向阀”。即种子干燥后，水分只能在相对湿度较低条件下通过种脐扩散到外部环境，从而导致种子内部损失更多的水分。相反，在高湿度的外部环境中，水分不能通过种脐进入种子内部。因此，尽管有更高的环境湿度，但种子依旧保持干燥，并且这些种子的湿度与他们所处环境最低湿度间达到平衡。Ganesh 等^[23]研究发现，当莲子细胞含水量保持在 10% 以上，经反复吸湿、干燥后仍能保持渗透性；如果水分含量下降到 10%，种皮将会变得不可渗透。因此，不可渗透的种子数量可根据成熟干燥期的环境条件发生变化；并且当环境干燥时，可渗透种子会变得不可渗透。莲子的含水量大于 6% 时与渗透性呈正相关，含水

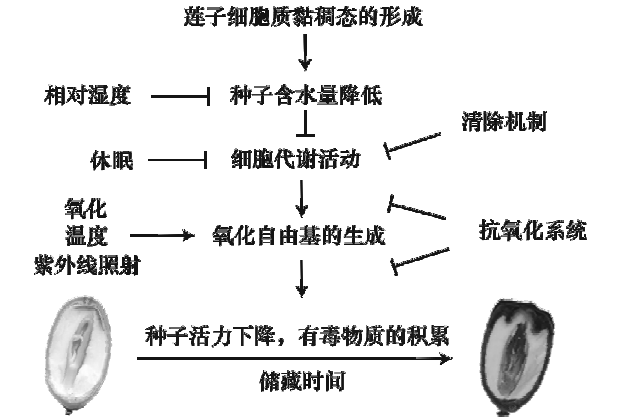


图 2 种子细胞保护性系统模型(改自 Sano 等^[20])
Fig. 2 Partial model of seed-cell protective system
(modified from Sano et al.^[20])

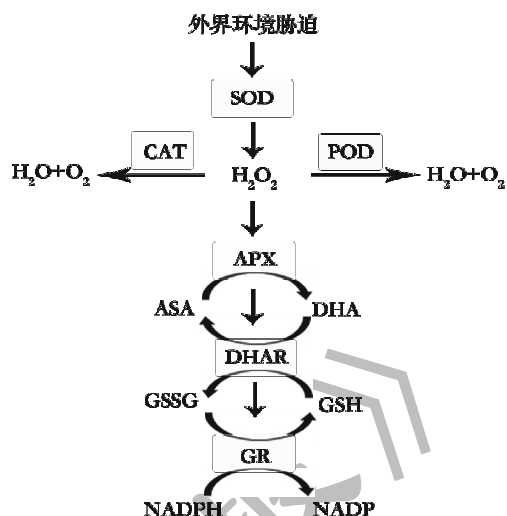
量低于6%时渗透性几乎为0, 外界对种子的伤害越小、寿命就越长。

在高温、高湿条件下, 种子的寿命在贮藏过程中会迅速下降。活性氧(ROS)影响细胞的代谢, 同时脂类、细胞膜、DNA、RNA和蛋白质的氧化会影响种子的寿命^[24]。由于成熟种子的代谢活性极低, 种子发育过程中必须具有保护氧化应激的机制, 以延长种子寿命。然而, 即使有这种保护机制, 成熟干燥的种子在老化过程中也会逐渐积累活性氧损伤细胞。一旦种子吸胀, 细胞质从较为黏稠的玻璃态转变流动态, 相关代谢途径将被激活。在这种情况下, 种子可以修复损伤从而提高活力。

2.2 抗氧化系统

种子老化通常与细胞大分子被氧化有关^[25]。在种子干燥贮藏过程中, 其细胞成分(蛋白质、脂类、核酸和糖类等)会被氧化, 如发生美拉德(Maillard)反应^[26]、脂质过氧化和蛋白质羰基化^[27]。因此, 种子需要建立一系列保护机制来有效地防止大分子过度氧化, 保存活力、促进长寿。为了除去过量的ROS在种子中的积累和控制自由基代谢, 种子启动抗氧化酶系统, 包括: 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽还原酶(GR)等(图3)^[28], 这些酶的活性是检测种子活力的主要指标^[29]。据报道, 在100℃条件下处理莲子初期, 莲子中的SOD、GR和CAT活性增加^[30]。在许多植物中, 过氧化氢酶(1-Cys PRX或PER1)是种子特异性的抗氧化剂, 能够消除半胱氨酸残基。莲 *NnPER1* 基因在种子脱水、吸胀和非生物胁迫条件下会上调表达^[31]。研究发现, *NnPER1* 在拟南芥中的异位表达增强了老化处理后种子的发芽能力, 表明 *NnPER1* 提高了转基因植物种子的寿命。*NnPER1* 能够在抗氧化系统中保护DNA免受ROS裂解。转基因种子中ROS地释放和脂质的过氧化水平显著低于野生型植物。Shen-Miller等^[32]在莲中鉴定到铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD), 并发现其在保护细胞完整性方面发挥重要作用。

种子在发育、成熟过程中, 还建立起一套非酶的活性氧清除系统, 其中包括: 维生素E、抗坏血酸(ASA)、谷胱甘肽(GSH)、维生素A、类胡萝卜素、辅酶Q、生物碱和黄酮类化合物等^[33]。在植物组织中, 许多酚类化合物是潜在的抗氧化剂,



APX: 抗坏血酸过氧化物酶; DHA: 二十二碳六烯酸; DHAR: 脱氢抗坏血酸还原酶; GSSG: 氧化型谷胱甘肽; GR: 谷胱甘肽还原酶; NADPH: 还原型辅酶II; NADP: 氧化型辅酶II。APX: Ascorbate peroxidase; DHA: Docosahexaenoic acid; DHAR: Dehydroascorbate reductase; GSSG: Oxidized glutathione; GR: Reduced glutathione; NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADP: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase.

图3 种子在逆境条件下ROS的产生和清除途径
(改自Ray等^[28])

Fig. 3 Generation and scavenging of ROS under stress conditions (modified from Ray *et al.*^[28])

已被证实能够提高拟南芥种子的寿命^[34]。Yen等^[35]研究了莲子中的化学成分, 表明莲子中含有咖啡酸(Eaffeic acid)、绿原酸(Chlorogenic acid)、对羟基苯甲酸(4-hydroxybenzoic acid)、没食子酸(Gallic acid)等酚类物质, 是莲子提取物中主要起抗氧化作用的成分。此外, 类黄酮、单宁等在ROS清除中也起一定作用。莲子胚中黄酮苷和生物碱对抗氧化有一定的活性。在其他抗氧化剂中, 生育酚(维生素E)可以保持种子活力, 在种子贮藏过程中发挥重要作用。生育酚和脂蛋白可协同作用可防止种子老化。

2.3 蛋白质修复系统

氧化应激是降低种子寿命的主要因素之一。新收获的干燥种子中具有多种抗应激保护机制(如: 抗氧化、清除有害物质和自我修复系统等)。经过长时间的贮藏, 种子萌发所需的DNA、RNA和蛋白质的损伤逐渐积累。在种子萌发过程中, 干燥种子吸胀后, 种子启动损伤修复功能开始萌发, 应激途径被迅速激活。种子的长寿还与特定蛋白质的存在相关, 如种子贮藏蛋白和胚晚期发育相关蛋白(LEA)等能提高种子的干旱耐受性(表1)^[36]。

表 1 种子寿命相关基因、蛋白及调控功能
Table 1 Seed life-related genes, proteins, and regulatory functions

基因或蛋白名称 Gene or protein	主要生物学功能 Main biological function	参考文献 Reference
CuZn-SOD	铜锌超氧化物歧化酶, 保护细胞完整性	[32]
HSP80	热休克蛋白, 增强植物的抗性	[32]
Dehydrin	脱水蛋白, 增加植物抗性	[32]
<i>NnHSP17.5</i>	胞浆 II 类型小热休克蛋白基因, 与氧化胁迫和提高种子耐受性有关	[39]
CPN20/60	伴侣蛋白, 将新生或错误折叠的蛋白质恢复到正常功能性构象	[41]
Met-Synthase	蛋氨酸合成酶, 在细胞代谢、甲基转移以及乙烯和多胺的生物合成中起重要作用	[42]
Vicilin	贮存蛋白 7S 球蛋白的主要部分, 储备营养与防御微生物	[43]
IAMT	L-异天冬氨酰甲基转移酶, 修复蛋白质	[44, 45]
PIMT	L-异天冬氨酰基-O-甲基转移酶, 修复蛋白质	[46]
<i>NnANN1</i>	膜联蛋白基因, 保护膜免受过氧化反应, 调节种子耐热性和萌发	[47]
<i>NnCAT</i>	过氧化氢酶基因, 氧化应激初期可起保护作用, 通过刺激细胞来调节 ROS 水平	[48]
<i>NnDREB1</i>	脱水反应的结合因子, 是调节植物干旱胁迫的重要转录因子	[49]
<i>NnMT2a/MT3</i>	金属硫蛋白基因, 增强种子抗逆性	[51]

成熟种子中热休克蛋白 (HSPs) 的丰度会影响种子寿命。HSPs 作为分子伴侣, 通过参与肽段折叠影响蛋白质稳定性, 在蛋白质抗氧化损伤的保护过程中起重要作用^[37]。热应激转录因子 (HSF) 在拟南芥种子中过量表达后, HSPs 的积累增强了抗老化能力^[38]。莲子 *NnHSP17.5* 基因 (胞浆 II 类小热休克蛋白基因) 在拟南芥中过表达后, 种子的萌发活力及幼苗耐热性均有所提高, 说明 *NnHSP17.5* 可能参与了萌发过程中氧化胁迫耐受性相关的氧化应激反应^[39]。研究表明, 植物中 sHSPs (Small HSP) 的过量表达可以增强植物应激的抗性^[40]。Shen-Miller 等^[32]的研究发现, 莲子胚轴中存在十几种耐高温 (高达 110℃) 的热稳定蛋白, 包括 HSP80 (热休克蛋白)、CPN20/60 (伴侣蛋白) 和 Met-Synthase (蛋氨酸合成酶) 等。在植物受到胁迫时, 这些耐高温蛋白可协调其他蛋白行使正常功能。CPN20/60 能将新合成或错误折叠的蛋白质恢复到功能正常的构象^[41], Met-Synthase (蛋氨酸合成酶) 在蛋白质的合成、甲基转移以及乙烯、多胺的生物合成中起主要作用^[42]。因此, 莲子的耐热性与其自身修复和保护功能有关。

干燥成熟和萌发的种子中都存在大量的应激保护修复相关的蛋白质。Vicilin (豌豆球蛋白, 一种贮存蛋白) 是植物种子中的一种蛋白, 也在莲子中大量存在, 是与晚期胚发育相关的高丰度蛋白质,

能提高种子的脱水耐受性。当环境温度达到 110℃ 时, 莲子胚轴中的 Vicilin 仍然能保持完整性^[32], 同时具有营养储备与微生物防御的双重功能^[43]。L-异天冬氨酰甲基转移酶 (IAMT) 是一种重要的蛋白修复酶。研究发现, 几百年前的古代莲种子与新采收的莲种子中 IAMT 活性一样高^[44, 45]。与其他作物不同的是, 莲子中 IAMT 的活性在种子萌发期间仍然存在, 可以有效地进行蛋白质修复, 并且在 50℃ 高温下仍能够保持活力^[5]。L-异天冬氨酰基-O-甲基转移酶 (PIMT) 也是一种重要且广泛存在的蛋白质修复酶。莲子中含有大量的 PIMT, 古代莲种子 (1300 年以前) 发芽过程中也能检测到该酶, 在 65℃ 高温条件下, 它的耐热性比转 PIMT 基因拟南芥的活性更高^[46]。

此外, 莲子中还存在其他多种胁迫相关蛋白。植物的膜联蛋白是一种多功能应激蛋白, 它能与脂质结合对生物膜起保护作用。膜联蛋白的过氧化物酶活性可以保护膜免受过氧化反应的损害。在拟南芥中过表达膜联蛋白 *NnANN1* 基因, 可以调节种子的耐热性, 促进其萌发^[47]。古代莲子能千年不死并承受极端高温胁迫, 还可以在最佳条件下发芽, 膜联蛋白可能在其中起到重要作用。*NnCAT* 在氧化应激初期可对细胞起到保护作用, 调节细胞内 ROS 的水平^[48]。*NnDREB1* 是植物中调节干旱胁迫响应信号的一个重要转录因子, 其表达

受高盐、干旱、冷胁迫和 ABA 的诱导, 而不受氧化应激、创伤或病原体侵袭的影响^[49]。过表达 *OsDREB1* 的水稻 (*Oryza sativa* L.) 和拟南芥对多重胁迫 (包括盐、干旱和低温胁迫) 具有显著改善作用^[50]。莲子中鉴定到的 *NnMTs* 基因, 包括: *NnMT1*、*NnMT2a* 和 *NnMT3*, 在种子发育和萌发过程中高度表达。他们在响应高盐、氧化胁迫和重金属胁迫时表达量会显著上调。过量表达 *NnMT2a* 和 *NnMT3* 的转基因拟南芥种子在加速老化处理时 SOD 活性显著升高, 种子表现出较高的活力^[51]。

2.4 休眠保护机制

休眠是植物的一种环境适应特性, 种子能通过休眠保存活力, 躲避外界环境的影响。正常的种子休眠一般包括生理性休眠和物理性休眠, 莲子自身不存在明显的生理性休眠。即使是发育中的种子 (授粉后 20 d), 在去除种皮后亦能正常发芽。成熟种子在水中不能自然发芽, 但经过破壳促萌后可以迅速萌发, 表明莲种皮通过其致密的结构和强疏水性隔绝与外界的联系, 同时限制了莲子胚的伸长和萌发。

种子成熟度与种子萌发能力直接相关^[52]。Shen-Miller 等^[5]的研究通过测量当代干莲子和古老莲子的萌发时效, 发现当代莲子与古老莲子相比, 需要更长的萌发时间。当代莲子发芽时间的延长与其成熟度有关, 可能在其萌发过程中进行了细胞修复。这些种子萌发差异性产生的原因需要开展更多的研究进行证实, 但可以肯定的是, 休眠可以修复损伤种子, 提高其耐受力 and 生命力。

莲子中还含有各种植物激素, 其中脱落酸 (ABA) 参与了种子休眠和种子寿命相关性状的调控^[53]。ABA 通过诱导 *HSP* 基因的表达, 参与种子耐热的调控过程, 从而增强种子生命力^[54]。同时, 异位表达莲 *NnDREB1* 和 *NnPER1* 基因的转基因拟南芥种子对高温和脱落酸 (ABA) 的耐受性增强, 表明他们可能参与了 ABA 信号转导通路, 从而调控种子的寿命。

2.5 基因组特征

与大多数被子植物不同, 莲基因组进化缓慢, 表现出异常低的突变量, 突变率比葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 慢 30%。莲基因组中具有大量独特的参与细胞保护和适应性的基因 (如耐高温基因 *NnANN1* 和 *NnHSP17.5*), 研究基因组的这些特征将有助于

解开莲子千年不死之谜。Nelson^[56]的研究对莲细胞色素 P450 基因家族进行了进化分析, 发现与番木瓜 (*Carica papaya* L.)、葡萄相比, 莲基因组的 P450 家族进化更简单, 仅有最核心的几个分支, 而且没有新出现的、明显的基因扩张, 但其中 *CYP94* 和 *CYP96* 分支有部分基因发生扩张, 这可能与莲的水生适应性和表层蜡质形成相关。但莲基因组中含有 16 个多铜氧化酶家族基因 *COG2132*, 参与了根分生组织磷酸盐饥饿的反应, 这可能与莲适应低养分供给的水生环境有关^[55], 在一定程度上可以保护种子减少外界的胁迫从而延长寿命。

3 展望

种子寿命及抗老化研究一直是种子生物学研究的重要课题, 但这些研究多集中在部分经济作物或模式植物上。莲是一种古老的植物, 具有一定经济价值, 但有关莲的研究还开展较少, 仅限于种子老化过程中的生理、生化研究, 未能深入探究莲子的抗老化机制, 以后的研究可以从以下两个方面开展:

(1) 深入解析莲子的结构特征和发育过程, 从组织结构和发育生物学的角度揭示莲子长寿的机制。目前, 对莲子生理结构的研究仅限于部分组织的光学结构成像, 这对于分析莲子特殊的结构特征是不够的。结合莲子发育的特点, 建立莲子不同组织结构发育的模式图谱, 并比较古代莲子与现代莲子间的结构差异; 或通过人工老化的方法观察莲子响应胁迫时结构特征的变化, 借此找到探索莲子长寿的切入点。

(2) 莲子寿命问题虽然受到科学家的关注, 但在长寿特性的分子机制方面没有开展深入研究。目前, 通过分子生物学手段获得莲子抗老化功能基因后, 尚无稳定的快速繁殖体系, 只能在一些模式物种 (拟南芥) 中进行验证, 这种方式是否正确还需要进一步考证。同时, 莲基因组注释的不完善限制了莲子长寿相关基因地挖掘。因此, 重视莲的基础研究, 通过莲子超强抗氧化性热稳定蛋白编码基因的克隆, 并将其应用到其他作物中, 可进一步服务于农业生产。

参考文献:

[1] 董新红, 宋明. 种子寿命研究进展[J]. 生物学杂志, 2001,

- 18(6): 7–9.
- Dong XH, Song M. The progress of research on seed life [J]. *Journal of Biology*, 2001, 18(6): 7–9.
- [2] 张行言, 王其超. 中国荷花品种图志[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005: 47–52.
- [3] Ohga I. On the longevity of seeds of *Nelumbo nucifera* [J]. *Plant J*, 1923, 37: 87–95.
- [4] Shen-Miller J. Sacred lotus, the long-living fruits of China Antique[J]. *Seed Sci Res*, 2002, 12(3): 131–143.
- [5] Shen-Miller J, Turek J, Schopf JW, Tholandi M, Yang M, et al. Centuries-Old viable fruit of sacred lotus *Nelumbo nucifera* Gaertn var. China Antique[J]. *Trop Plant Biol*, 2013, 6(2–3): 53–68.
- [6] Buitink J, Leprince O. Intracellular glasses and seed survival in the dry state[J]. *C R Biol*, 2008, 331(10): 788–795.
- [7] 周德龙, 高建华, 杨伟静, 陈霭君, 麦振龙. 莲子壳营养成分分析及类黄酮抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7): 3968–3970.
- Zhou DL, Gao JH, Yang YJ, Chen AJ, Mai ZL. Analysis on the nutrient components of lotus seed shell and study on the antioxidation activity of flavonoid[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(7): 3968–3970.
- [8] 黄迪惠, 胡崇琳, Credy HM, 谢笔钧, 何慧, 杨尔宁. 莲子壳提取物中黄酮类物质的抗氧化活性及结构初探[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 209–213.
- Hang DH, Hu CL, Credy HM, Xie BJ, He H, Yang EN. Antioxidant activity and structure of flavonoids from epicarp of *Nelumbo nucifera* Gaertn. [J]. *Food Science*, 2009, 30(23): 209–213.
- [9] Mohamedyasseen Y, Barringer SA, Splittstoesser WE, Costanza S. The role of seed coats in seed viability[J]. *Bot Rev*, 1994, 60(4): 426–439.
- [10] Barros J, Serk H, Granlund I, Pesquet E. The cell biology of lignification in higher plants[J]. *Ann Bot*, 2015, 115(7): 1053–1074.
- [11] 陈轩, 周坚. 莲子皮化学成分初步分析[J]. 农业机械, 2011(20): 139–141.
- Chen X, Zhou J. Preliminary analysis of chemical constituents of lotus seed peel[J]. *Farm Machinery*, 2011(10): 139–141.
- [12] Li JJ, Shi T, Huang LY, He DL, Yang PF, et al. Systematic transcriptomic analysis provides insights into lotus (*Nelumbo Nucifera*) seed development[J]. *Plant Growth Regul*, 2018, 86: 339–350.
- [13] 曾绍校. 莲子淀粉品质特性的研究与应用[D]. 福州: 福建农林大学, 2007.
- [14] 刘子凡. 种子学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016: 26–35.
- [15] Leopold AC, Sun WQ, Bernallugo I. The glassy state in seeds: analysis and function[J]. *Seed Sci Res*, 1994, 4(3): 267–274.
- [16] 左宝玉, 唐崇钦, 宋云, 匡廷云, 段续川. 莲子胚为什么是绿色的? [J]. 植物杂志, 1985(6): 12.
- Zuo BY, Tang CQ, Song Y, Kuang TY, Duan XC. Why is lotus seed embryo green? [J]. *Plants*, 1985(6): 12.
- [17] 黄天芳, 李长春, 肖丽. 对莲子胚芽变绿的探讨[J]. 中国园艺文摘, 2011, 27(11): 16–17.
- Huang TF, Li CC, Xiao L. Discussion on the greening of the lotus [J]. *Chinese Horticulture Abstracts*, 2011, 27(11): 16–17.
- [18] Ushimaru T, Hasegawa T, Amano T, Katayama M, Tanaka S, et al. Chloroplasts in seeds and dark-grown seedlings of lotus[J]. *J Plant Physiol*, 2003, 160(3): 321–324.
- [19] 季宏伟, 唐崇钦, 李良璧, 匡廷云. 莲胚芽暗萌发过程中的光合系统发育研究[J]. 植物学报, 2001, 43(11): 1129–1133.
- Ji HW, Tang CQ, Li LB, Kuang TY. Photosystem development in dark-grown lotus (*Nelumbo nucifera*) seedlings [J]. *Bulletin of Botany*, 2001, 43(11): 1129–1133.
- [20] Sano N, Rajjou L, North HM, Debeaujon I, Marionpoll A, et al. Staying alive: molecular aspects of seed longevity [J]. *Plant Cell Physiol*, 2016, 57(4): 660–674.
- [21] Verdier J, Buitink J. A regulatory network-based approach dissects late maturation processes related to the acquisition of desiccation tolerance and longevity of medicago truncatula seeds[J]. *Plant Physiol*, 2013, 163(2): 757–774.
- [22] Hyde EOC. The function of the hilum in some papilionaceae in relation to the ripening of the seed and the permeability of the testa[J]. *Ann Bot*, 1954, 18(2): 241–256.
- [23] Ganesh KJ, Song DP, Liu W, Han YY, Liu BL. Relationship between seed moisture content and acquisition of impermeability in *Nelumbo nucifera* (Nelumbonaceae) [J]. *Acta Bot Bras*, 2017, 31(4): 639–644.
- [24] Groot SPC, Surki AA, De Vos RCH, Kodde J. Seed storage at elevated partial pressure of oxygen, a fast method for analysing seed ageing under dry conditions[J]. *Ann Bot*, 2012, 110(6): 1149–1159.
- [25] Bailly C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology[J]. *Seed Sci Res*, 2004, 14(2): 93–107.
- [26] Veselovsky VA, Veselova TV. Lipid peroxidation, carbohydrate hydrolysis, and Amadori-Maillard reaction at early stages of dry seed aging[J]. *Russ J Plant Physiol*, 2012, 59(6): 811–817.
- [27] Galland M, Huguet R, Arc E, Cuff G, Job D, et al. Dynamic proteomics emphasizes the importance of selective mRNA translation and protein turnover during *Arabidopsis* seed germination[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13(1): 252–268.
- [28] Ray P, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(5): 981–990.

- [29] Kocsy G. Die or survive? Redox changes as seed viability markers[J]. *Plant Cell Environ*, 2015, 38(12): 1008–1010.
- [30] Ding YF, Cheng HY, Song SQ. Changes in extreme high-temperature tolerance and activities of antioxidant enzymes of sacred lotus seeds[J]. *Sci China C Life Sci*, 2008, 51(9): 842–853.
- [31] Chen HH, Chu P, Zhou YL, Ding Y, Huang SZ, *et al*. Ectopic expression of *NnPER1*, a *Nelumbo nucifera* 1-cysteine peroxiredoxin in antioxidant, enhances seed longevity and stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, 2016, 88(4): 608–619.
- [32] Shen-Miller J, Lindner P, Xie Y, Villa S, Wooding K, *et al*. Thermal-stable proteins of fruit of long-living sacred lotus *Nelumbo nucifera* Gaertn var. China Antique. [J]. *Trop Plant Biol*, 2013, 6(2–3): 69–84.
- [33] Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. *Plant Physiol Bioch*, 2010, 48(12): 909–930.
- [34] Kleindt CK, Stracke R, Mehrrens F, Weisshaar B. Expression analysis of flavonoid biosynthesis genes during *Arabidopsis thaliana* silique and seed development with a primary focus on the proanthocyanidin biosynthetic pathway[J]. *BMC Res Notes*, 2010, 3(1): 255.
- [35] Yen GC, Duh PD, Su HJ. Antioxidant properties of lotus seed and its effect on DNA damage in human lymphocytes[J]. *Food Chem*, 2005, 89(3): 379–385.
- [36] Nguyen TP, Cueff G, Hegedus DD, Rajjou L, Bentsink L. A role for seed storage proteins in *Arabidopsis* seed longevity lymphocytes[J]. *J Exp Bot*, 2015, 66(20): 6399–6413.
- [37] Qi Y, Wang H, Zou Y, Liu C, Liu Y, *et al*. Over-expression of mitochondrial heat shock protein 70 suppresses programmed cell death in rice[J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(1): 231–239.
- [38] Prietodapena P, Castaño R, Almoguera C, Jordano J. Improved resistance to controlled deterioration in transgenic seeds[J]. *Plant Physiol*, 2006, 142(3): 1102–1112.
- [39] Banti V, Loreti E, Novi G, Santaniello A, Aioli A, *et al*. Heat acclimation and cross-tolerance against anoxia in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Environ*, 2010, 31(7): 1029–1037.
- [40] Malik MK, Slovin JP, Hwang CH, Zimmerman JL. Modified expression of a carrot small heat shock protein gene, *Hsp17.7* results in increased or decreased thermotolerance[J]. *Plant J*, 2010, 20(1): 89–99.
- [41] Herald V. The impact of oxidative stress on *Arabidopsis*, mitochondria[J]. *Plant J*, 2010, 32(6): 891–904.
- [42] Ravanel S, Gakière B, Job D, Douce R. The specific features of methionine biosynthesis and metabolism in plants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(13): 7805–7812.
- [43] Schopf JW. The paleobiological record of photosynthesis[J]. *Photosynth Res*, 2011, 107(1): 87–101.
- [44] Shen-Miller J, Mudgett MB, Schopf JW, Clarke S, Berger R. Exceptional seed longevity and robust growth: ancient sacred lotus from China[J]. *Am J Bot*, 1995, 82(11): 1367–1380.
- [45] Ogé L, Broyart C, Collet B, Godin B, Jallet D, *et al*. Protein damage and repair controlling seed vigor and longevity[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 773(773): 369–384.
- [46] Villa ST, Xu Q, Downie AB, Clarke SG. *Arabidopsis* protein repair L-isoadipyl methyltransferases: predominant activities at lethal temperatures[J]. *Physiol Plantarum*, 2010, 128(4): 581–592.
- [47] Chu P, Chen H, Zhou Y, Li Y, Ding Y, *et al*. Proteomic and functional analyses of *Nelumbo nucifera* annexins involved in seed thermotolerance and germination vigor[J]. *Planta*, 2012, 235(6): 1271–1288.
- [48] Dong C, Zheng X, Diao Y, Wang Y, Zhou M, *et al*. Molecular cloning and expression analysis of a catalase gene (*NnCAT*) from *Nelumbo nucifera*[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2015, 177(6): 1216–1228.
- [49] Cheng LB, Yang JJ, Yin L, Hui LC, Qian HM, *et al*. Transcription factor *NnDREB1* from lotus improved drought tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*[J]. *Biol Plantarum*, 2017, 61(4): 1–8.
- [50] Wang Q, Guan Y, Wu Y, Chen H, Chen F, *et al*. Overexpression of a rice *OsDREB* gene increases salt, drought, and low temperature tolerance in both *Arabidopsis* and rice[J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 67(6): 589–602.
- [51] Zhou Y, Chu P, Chen H, Li Y, Liu J, *et al*. Overexpression of *Nelumbo nucifera* metallothioneins and 3 enhances seed germination vigor in *Arabidopsis*[J]. *Planta*, 2012, 235(3): 523–537.
- [52] Rajjou L, Duval M, Gallardo K, Catusse J, Bally J, *et al*. Seed germination and vigor metallothionein[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63(3): 507–533.
- [53] Li YD. Study on the ABA content and SOD activity in ancient aotus and modern lotus seeds[J]. *Chinese Bull Bot*, 2000, 17(5): 439–442.
- [54] Kwak JM, Mori IC, Pei ZM, Leonhardt N, Torres MA, *et al*. NADPH oxidase *AtrbohD* and *AtrbohF* genes function in ROS dependent ABA signaling in *Arabidopsis*[J]. *Embo J*, 2014, 22(22): 2623–2633.
- [55] Wang Y, Fan GY, Liu YM, Sun FM, Chi CC, *et al*. The sacred lotus genome provides insights into the evolution of flowering plants[J]. *Plant J*, 2013, 76(4): 557–567.
- [56] Nelson DR. Cytochrome P450 genes from the sacred lotus genome[J]. *Trop Plant Biol*, 2013, 6(2–3): 138–151.