

种子活力和DNA甲基化关系的研究进展

刘建¹, 姚丹青¹, 顾芹芹¹, 楼坚锋^{1*}, 张春庆^{2*}, 徐瑞斌³, 张安鹏⁴

¹上海市种子管理总站, 上海201103

²山东农业大学农学院, 泰安271018

³中国农业大学农学院, 北京100094

⁴沈阳农业大学农学院, 沈阳110866

摘要: 种子活力在发育中逐渐形成, 成熟期随着水分的减少, 种子获得最大活力。期间发生了许多重要的生理生化反应, 如营养物质大量积累、酶和mRNA的钝化等, 为种子活力的保持和萌发做好准备。植物中有20%~30%的核基因组DNA胞嘧啶处于甲基化状态, DNA甲基化可以调节基因的表达, 维持植物基因组稳定。而植物的DNA甲基化状态在不同器官、不同组织、甚至发育的不同阶段都是不同的, 这与遗传和外界环境的刺激相关。在种子的活力形成和萌发过程中, DNA甲基化状态也发生了复杂的变化, 这种变化具有种属特异性。种子活力的遗传基础复杂, 且受到环境因素的影响。种子经历逆境胁迫时, DNA甲基化状态会发生改变, 种子活力水平也会下降, 这可能是由于逆境胁迫相关基因的DNA甲基化状态发生变化引起的。

关键词: 种子活力; DNA甲基化; 激素; 表观遗传

种子活力是最重要的衡量种子质量的指标, 它决定了种子发芽和幼苗生长的速率和整齐度, 以及在不良条件下和贮藏后的种子发芽能力(方玉梅和宋明2006)。资料显示, 高活力种子可以提高生物产量的10% (刘志刚等2008)。种子活力(seed vigor)在种子脱水成熟期达到高峰, 然后便经历不可逆的老化劣变进程(刘军等2001), 与种子的发育、成熟、萌发、贮藏和劣变等生理生化过程有着密切的联系, 所以研究种子活力, 了解其内在的遗传和分子调控机理, 对于培育高活力种子, 保障农业生产安全有着重要意义。

种子活力表现在发芽率、成苗率、畸形苗率、鲜物质量、干物质量、抗逆能力等方面, 多是数量基因控制的性状。数量基因的表达往往受环境条件的影响(李春雷等2012)。研究表明, 当植物处在环境压力下时, 会发生复杂的表观遗传(epidemic)变化(王迪等2008)。目前表观遗传学的研究主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰和miRNA三个方面。DNA甲基化是活体细胞中最常见的一种DNA共价修饰形式, 也是表观遗传学研究较为深入的一个方面, 植物可以通过DNA甲基化修饰水平的变化来调控基因的表达(史玉杰等2013)。研究已经证实DNA甲基化修饰和染色体重塑与种子的萌发有关(李振华和王建华2015)。本文在前人研究的基础上, 着重讨论种子活力与DNA甲基化的关系研究进展。

1 种子的活力和老化劣变

1.1 种子的活力

种子活力在种子发育过程中形成, 在脱水期达到高峰。被子植物的种子发育一般包括组织分化、成熟和脱水三个阶段。在组织分化过程中, 合子细胞经过细胞分裂和分化形成幼胚和胚乳, 成熟期种子的特征是细胞的扩大和营养物质的大量积累, 并伴随着种子的脱水过程, 随着种子的脱水, 种子的代谢不断降低, 种胚进入了静止状态(邢妍妍2007)。种子在脱水期发生了许多重要的生理生化反应, 主要包括以下几个反应: (1)酶类的钝化。由于种子干燥, 其体内的离子浓度和酸度的增加使得酶钝化。(2) mRNA失去活性。(3)蛋白复合体的形成。由于种子含水量的降低, 蛋白质和核酸紧密结合在一起形成复合体, 提供种子发芽时必须的养分(黄雪梅等2000)。(4)通过转录组学的研究, 发现在种子脱水期大量的基因差异化表达, 而且脱水期的基因表达增加(Angelovici等2010)。这些研究说明, 种子的脱水涉及到复杂的生理生化反应。

在种子的形成过程中, 植物激素起着重要的调控作用。细胞分裂素(CTK)控制着胚乳细胞的

收稿 2018-01-17

资助 上海市种业发展项目[沪农科种字(2015)第5号]。

* 共同通讯作者: 张春庆(cqzhang@sdau.edu.cn)、楼坚锋(13021985628@163.com)。

分裂和分化,对种子的正常发育和最终籽粒的大小有着重要的作用;生长素(IAA)和赤霉素(GA)对籽粒的伸长和重量可能有促进作用(朱世杨等2010);脱落酸(ABA)与种子的成熟和脱水有着密切的关系,在种子的成熟期和脱水期ABA含量较高,可以促进种子的成熟,加快种子脱水进程,促进种子的休眠,抑制种子的穗发芽,还可以诱导蛋白质的合成,促进贮藏物质的积累(刘仲齐1991)。植物激素对种子活力的影响很复杂,种子的活力受到各种植物激素的调节,且在种子发育的不同阶段发挥不同作用,需要我们进一步的了解。

种子活力是基因型决定的,由于种子大小、结构和发芽等遗传特性不同,不同作物和品种有较大的差异。种子活力由数量基因控制,表现在发芽率、苗长、根长、 α -淀粉酶含量、可溶性糖含量等诸多方面,近年来由于DNA分子标记和作图技术的发展,种子活力的QTL定位也取得了很大的研究进展。Clerkx等(2004)人利用拟南芥的重组近交系测定发芽速度、ABA含量、老化后发芽速度等种子活力指标,检测到多个控制种子活力的QTLs,发现它们都来自一个或多个共同的QTLs位点。Miura等(2002)人利用籼稻粳稻回交后代的98个家系的耐藏性指标进行全基因组的关联分析发现了3个与水稻活力相关的QTL位点且位于不同的染色体上,*qLG-9*对表型的贡献率最高,达59.5%。也有一些研究认为种子活力是多个微效基因共同作用的结果,可能不存在主效基因,如姜旋等(2005)人通过对水稻苗期耐冷性的QTL分析,定位了7个控制水稻种子活力的QTL,分布在4条染色体上,每个QTL对性状的贡献率在5%~16%之间。徐吉臣和Redona分别各自定位到两个控制根长的QTL且这两个QTLs具有加性效应(徐吉臣等2001)。曹立勇等(2002)则认为水稻种子活力同时有加性效应和上位性效应,采用籼粳杂交的DH系进行QTL分析,共发现了24个加性QTLs和17个上位性QTLs,研究还发现其中部分加性QTLs和上位性QTL与环境之间存在明显的互作。

1.2 种子的老化和劣变

当种子生理成熟时,种子活力达到最高峰,然后老化劣变,种子活力不断下降。种子的老化是循序渐进的,通常是先产生生化变化,后产生生理变化。目前认为自由基的积累和膜系统的损伤是

导致种子劣变的主要原因,当种子遭遇不利外界环境的刺激或经历自然的老化进程时,种子膜的完整性被破坏,DNA降解,RNA和蛋白质的合成受损,有害物质不断积累,种子活力下降(李青丰等1996)。

影响种子劣变的因素有很多,主要分为三大类。一是内部因素:(1)种子的生理状态。处于休眠状态的种子劣变速度最慢。未完全成熟或处于活跃状态的种子劣变速度较快。(2)种子本身的性状。种皮较厚、完整且不易吸潮,胚占比较低的种子劣变速度较慢。(3)种子的组成成分。如果种子的油脂含量较高,特别是不饱和脂肪酸的含量高会加剧种子的劣变,这是因为脂肪会更容易发生化学反应,影响种子的活力(沈玉忠2011)。二是外部因素:(1)温度。研究发现在0~55°C时,种子的呼吸强度随温度的上升而增加,加速种子膜的氧化变质。当温度大于55°C,种子体内的蛋白质变性失活,种子死亡(黄情等2013)。(2)氧气。氧气浓度过高促进种子体内代谢作用的增加,种子加速劣变。(3)湿度。随着湿度的增加,种子从外界吸收水分,种子体内的酶活性增加,种子代谢加强,导致种子劣变。(4)微生物。微生物分泌的毒素会毒害种子的健康,种子呼吸作用会加强,种子劣变加速。三是遗传因素。研究表明,染色体畸变和基因突变可能是种子劣变的实质,在农业生产中正是由于突变的不断传递和积累,引起了品种的退化,产量的下降。种子的劣变涉及到一系列复杂的生理生化反应,不能简单的归结为某一种机制。

2 DNA甲基化的生物学功能

2.1 DNA甲基化的产生和维持

DNA甲基化是细胞基因组中最常见的一种共价修饰形式,是指由DNA甲基转移酶(DNA cytosine methyl transferase)介导,以S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体,将甲基转移到DNA胞嘧啶(C)第5位碳原子上的过程。植物基因组的DNA甲基化一般发生在CpG、CpNpG和CNN(N=A、C或T)位点上(Zhao和Zhou 2012),并分别主要由MET1、CMT3、DRM2三种甲基化转移酶以及RNA依赖的DNA甲基化(RdDM)来完成(Tricker等2012)。MET1基因主要功能是维持DNA Cp位点的甲基化,研究发现拟南芥*Met1-1*突变体DNA的CG甲基化位点的减少会导致

发育不正常(刘振山2015)。目前,已在拟南芥(Finnegan和Dennis1993)、番茄(Steward等2000)、玉米(Teyssier等2008)等多种植物中分离到*Met1*基因。*DRM2*的结构与哺乳动物Dnmt3类似(Cao和Jacobsen 2002),催化植物DNA的CpG和CpA位点(p为除G之外的任何碱基)发生甲基化。在植物中还存有一种植物特异类型的DNA甲基转移酶-染色质甲基转移酶(CMT),它与哺乳动物Dnmt1类型的酶功能相似主要起维持甲基化作用。植物中,有20%~30%的核基因组DNA胞嘧啶处于甲基化状态(Flavell 1994),在不同物种、不同器官、不同组织、甚至发育的不同阶段,植物体内的DNA甲基化程度都是不同的。大多数DNA甲基化发生于富含转座子的异染色质区,但对全基因组范围内甲基化图谱的研究表明,有20%~33%的重要基因区也发生甲基化(Zilberman等2007)。

植物基因组的DNA去甲基化有两种形式:(1)被动途径,在DNA复制过程中维持型DNA甲基化酶被抑制或缺乏所造成,由于核因子NF粘附甲基化的DNA,使粘附点附近的DNA不能被完全甲基化,从而阻断DNMT1的作用。(2)主动途径,是由去甲基酶的作用,将甲基基团移去的过程(Kapoor等2005)。拟南芥中DNA主动去甲基化是靠*DME*和*ROS1*实现的。DNA去甲基化的机制,既可以是被动过程,也可以是主动过程,也有可能被动和主动作用共同存在。

2.2 DNA甲基化调控基因表达

随着科学技术的飞速发展,DNA甲基化的检测分析不断创新和完善,目前主要使用的方法有:(1)亚硫酸盐直接测序法,它主要用于特定位置的DNA甲基化详细分析,不能进行全基因组的DNA甲基化分析。(2)甲基化敏感扩增多态性技术(MSAP),它可以进行全基因组的DNA甲基化分析,但是DNA甲基化检测不够深入。(3)芯片技术检测DNA甲基化是目前检测DNA甲基化较为全面详细的一种方法,它可以全面检测全基因组序列的DNA甲基化,但是由于该技术发展起步较晚,目前有关研究还不是很多。除此之外还有很多如联合甲基化敏感性限制酶的MBD柱层析法(COMPAGE-MS)、测序法、甲基化DNA免疫共沉淀(MEDIP-seq)、甲基化DNA富集并结合高通量(MBD-seq)测序法

等。这些技术使得基因组DNA甲基化的研究变得高效和快捷,大大推动了表观遗传学的发展,也为我们能更加深入地了解种子活力和DNA甲基化之间的关系提供了可能。

植物DNA甲基化状态与基因表达之间的关系比较复杂,目前的研究表明,植物基因启动子附近的甲基化水平的高低与基因的表达之间的关系一般呈现负相关,这是由于DNA甲基化基团及其所募集的甲基化结合蛋白造成的空间位阻影响转录因子与DNA结合,进而影响基因的表达而形成。比如DNA甲基化结合蛋白MeCP2会造成转录因子与启动子的结合效率降低从而影响基因的转录起始,MeCP2募集组蛋白去乙酰化酶(HDAC),使甲基化DNA附近的组蛋白去乙酰化,进而形成紧密的染色质构象,抑制基因转录。基因内部的DNA甲基化与基因转录之间的关系目前研究比较少,一般认为它们与基因的表达量没有明显的关系,但是基因内部的高甲基化可以抑制异常转录的起始,减缓转录延伸的速度,有些研究表明它们还与基因的可变剪切相关(史玉杰等2013)。此外,调控基因表达的增强子、绝缘子的DNA甲基化程度会影响其转录表达水平来调控相应基因的表达。

植物转座子是染色体中可以移动的DNA序列,它广泛分布于植物基因组中。转座子可以通过切割、重新整合等一系列过程从染色体的一个位置“跳跃”到另一个位置,也可以从一个染色体跳到另一个染色体,从而使插入位点的基因功能失活,形成突变(Varagona等1992),由于转座能获得基因的重复片段,当重复片段插入到其他基因中有可能导致基因拷贝数的增加,或内含子的扩大,所以转座子对生物体基因组的结构和功能有很大影响(Bennetzen和Springer 1994)。基因组中存在着丰富的转座子,但是只有很少一部分自发的突变,这是因为在植物的转座子和反转座子中存在高度DNA甲基化,植物转座子的DNA甲基化状态决定该转座子的转座活性,DNA甲基化程度低有利于转座活性(Martienssen 1996)。比如拟南芥的*DDMI*基因是编码类似于染色质改构因子SWI2/SNF2的ATP酶,*DDMI*基因的突变导致了甲基化降低;在低甲基化的*DDMI*突变体中,很多原来沉默的重复序列转录水平激活(Jeddeloh等1998)。

3 DNA甲基化对种子活力的调控

3.1 调控种子活力和DNA甲基化的共同代谢途径——甲硫氨酸代谢

甲硫氨酸(Met)代谢是所有生物的管家代谢,它不仅是蛋白质的合成基础,也是很多转甲基反应的甲基供体。Met在种子萌发的过程中具有重要的作用。在拟南芥种子萌发时添加Met合成酶的抑制剂会延迟种子的萌发并限制种子幼苗的生长,在种子的培养基中添加Met后,这种抑制作用部分恢复(Gallardo等2002)。叶酸可以充当一碳单位甲基的载体,叶酸类似物氨甲蝶呤和氨喋呤可以有效抑制拟南芥种子萌发(Bassel等2008)。S-腺苷甲硫氨酸(AdoMet)是种子体内多种与萌发相关物质的前体,如乙烯、生物素、多胺等,这些物质调节体内的生理生化反应,促进种子的萌发。活化的Met在特异性甲基转移酶的作用下参加各种甲基化反应,如在L-异天冬氨酸甲基转移酶和DNA甲基转移酶作用于染色质结构,这与DNA甲基化和染色体的重塑相关(Nakabayashi等2005)。甲硫氨酸代谢是生物体内的基础代谢,涉及到体内方方面面的生理生化反应,并组成了十分复杂的调控网络体系。

3.2 种子活力形成和萌发过程中DNA甲基化的变化

DNA甲基化是调节基因组功能的重要手段,种子的形成从从受精卵发育开始,刘阳(2012)通过对大花蕙兰子房受精前后全基因组的甲基化状态进行MSAP分析发现,DNA甲基化修饰是调控大花蕙兰子房启动发育的重要调控方式,其中以DNA去甲基化修饰为主,DNA甲基化修饰为辅,通过特异性DNA甲基化测序发现,其线粒体基因组的甲基化状态可能发生变化,这在一定程度上解释了大花蕙兰是通过子房基因组DNA甲基化的变化来调控子房发育所需的能量供给,进而开启大花蕙兰子房发育过程(刘阳2012)。在对拟南芥和水稻种子的胚乳形成时期的研究发现,在胚乳细胞形成过程中,其全基因组的甲基化程度降低,胚乳中去甲基化较多发生于转座子区域和产生siRNA的区域;胚乳的低甲基化状态可能源于雌配子体的中央,而这可能会导致转座子的激活,产生不利变异(Gehring等2009; Hsieh等2009)。

生物体内的DNA甲基化变化是复杂的,乔幸

(2011)通过MSAP的方法对大麦种子在成熟和萌发期的DNA甲基化变化进行了统计,结果发现在种子成熟和萌发的各个阶段中,DNA甲基化的总体水平是略有变化的,其中去甲基化更占优势,而且在种子成熟过程中的DNA甲基化多态性高于种子萌发时,这说明在种子的成熟和萌发时,DNA甲基化程度有较大差异,暗示着DNA甲基化在种子活力的形成中可能扮演着重要的作用。郑鑫(2009)通过对花生和水稻种子的不同组织的DNA甲基化MSAP分析发现,在花生种子老化劣变的过程中胚根、胚芽、胚轴的DNA甲基化水平是先下降后上升的,而在水稻种子中则是先下降后不变的,这也说明种子的DNA甲基化在时间和空间上具有差异性,而且值得注意的是在这两组种子的胚(胚根、胚芽、胚轴)的DNA甲基化(M)和DNA去甲基化(D)与种子活力均呈显著负相关,但是这种现象背后的原因还有待于进一步的研究。在种子萌发时DNA甲基化的变化较为复杂,油菜种子萌发时的研究发现其基因组主要以DNA去甲基化为主,而郑鑫等(2009)人对水稻的研究则显示主要以DNA甲基化为主,这说明不同作物的种子在萌发时DNA甲基化的变化趋势也是不同的。

3.3 植物DNA甲基化与种子的活力水平密切相关

植物DNA甲基化的状态和环境变化密切相关,在非生物逆境胁迫时,植物可以通过DNA甲基化修饰水平的变化来调控基因的表达。高桂珍和陈碧云(2011)对热胁迫处理后的油菜种子进行DNA甲基化分析发现,热胁迫不仅会导致种子活力降低,而且会导致油菜种子的全基因组水平的DNA甲基化水平下降。另外,研究发现盐胁迫和碱胁迫会诱导水稻的DNA甲基化水平发生变化,DNA甲基化水平总体增加,但是与逆境胁迫相关的基因及启动子区域的甲基化水平显著下调,使得相关基因的表达上调,说明抗逆相关基因的DNA去甲基化可能是其表达量增高的原因(王宇等2011)。刘建(2016)通过对热胁迫处理的小麦苗期间DNA甲基化全基因组测序RNA-seq分析发现,9个与DNA甲基转移酶相关的基因下调表达,且用DNA甲基化抑制剂5-氮杂胞苷处理小麦会显著增强小麦的耐热性。但是也有研究显示5-氮杂胞苷会显著降低玉米种子的活力水平(周德龙2016)。

目前种子活力的分子研究进展还较为缓慢, 种子活力的遗传基础复杂, 且受到环境因素的强烈影响, 这暗示着种子活力可能与植物的DNA甲基化状态相关; 且关于种子活力的遗传学分析大都集中在种子活力的形态指标分析上, 对种子活力的生理指标的研究分析还比较少, 与种子活力有关的QTLs的位置、数量、遗传效应、贡献率和环境的互作都与种子活力的指标测定有关。

4 展望

种子活力与种子的发育、成熟、萌发、贮藏和劣变等生理生化过程有着密切的联系, 资料显示, 高活力种子可以提高生物产量10%以上, 培育高活力种子, 对于保障农业生产安全有着重要意义。种子活力的调控机理是种子科学研究的一个重要方向, 目前的研究表明大多数种子在成熟脱水期获得最大种子活力, 通过转录组学的分析发现大量基因在此时期差异表达, 这暗示着在种子活力形成时发生了重要的生理生化反应变化; 通过对种子成熟脱水期LEA蛋白和ABA的研究发现水分在种子活力的形成过程中具有重要作用(孙群等2007), 而种子含水量的高低也是影响种子劣变的一个重要因素, 因此研究种子的水分代谢及其基因调控机理将有助于我们更加深刻地了解种子活力的秘密。

DNA甲基化是植物体内最常见的DNA共价修饰形式, 植物可以通过DNA甲基化修饰水平的变化来调控基因的表达, 调节基因组的稳定; 甲硫氨酸代谢是种子萌发的“管家代谢”, 而甲硫氨酸代谢也是DNA甲基化合成的基础代谢, 但是目前甲硫氨酸相关的种子活力和DNA甲基化的共同调控途径的研究还比较少, 需要我们进一步研究。通过对种子活力的QTL分析、基因表达分析, 我们已经定位了一批与种子活力相关的基因(韩赞平2014), 而且发现植物DNA甲基化在种子的活力形成和萌发期发生了复杂而重要的变化, DNA甲基化与种子活力密切相关, 如果找出DNA甲基化所调控的控制种子活力的QTL主效基因, 这将对于揭示DNA甲基化控制的种子活力具有重要意义。

参考文献(References)

Angelovici R, Galili G, Fernie AR, et al (2010). A bridge be-

tween maturation and germination. *Trends Plant Sci*, 15 (4): 211–218

Bassel GW, Fung P, Chow TFF, et al (2008). Elucidating the germination transcriptional program using small molecules. *Plant Physiol*, 147: 143–155

Bennetzen JL, Springer PS (1994). The generation of mutator transposable element subfamilies in maize. *Theor Appl Genet*, 87: 657–667

Cao LY, Zhu J, Ren LF, et al (2002). Mapping QTLs and epistasis for seedling vigor in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agron Sin*, 28: 809–815 (in Chinese with English abstract) [曹立勇, 朱军, 任立飞等(2002). 水稻幼苗活力相关性状的QTLs定位和上位性分析. *作物学报*, 28: 809–815]

Cao X, Jacobsen SE (2002). Role of the arabidopsis DRM methyltransferases in de novo DNA methylation and gene silencing. *Curr Biol*, 12 (13): 1138–1144

Clerkx EJM, De Vries HB, Ruys GJ, et al (2004). Genetic differences in seed longevity of various Arabidopsis mutants. *Physiol Plant*, 121: 448–461

Fang YM, Song M (2006). Advances in seed vigor. *Seed Sci Technol*, (2): 33–36 (in Chinese) [方玉梅, 宋明(2006). 种子活力研究进展. *种子科技*, (2): 33–36]

Finnegan EJ, Dennis ES (1993). Isolation and identification by sequence homology of a putative cytosine methyltransferase from *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res*, 21 (10): 2383–2388

Flavell RB (1994). Inactivation of gene expression in plants as a on sequence of specific consequence duplication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91 (9): 3490–3496

Gallardo K, Job C, Groot SPC, et al (2002). Importance of methionine biosynthesis for *Arabidopsis* seed germination and seedling growth. *Physiol Plant*, 116: 238–247

Gao GZ, Chen B (2011). DNA methylation of seed in response to heat stress of *Brassica rape* L. *Acta Agron Sin*, 10: 1597–1604 (in Chinese with English abstract) [高桂珍, 陈碧云(2011). 热胁迫过程中白菜型油菜种子DNA的甲基化. *作物学报*, 10: 1597–1604]

Gehring M, Bubb KL, Henikoff S (2009). Extensive demethylation of repetitive elements during seed development underlies gene imprinting. *Science*, 324: 1447–1451

Han ZP (2014). QTL localization of maize seed vigor and cloning of related genes (dissertation). Kaifeng: Henan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [韩赞平(2014). 玉米种子活力相关性状QTL定位及相关基因的克隆(学位论文). 开封: 河南农业大学]

Hsieh TF, Ibarra CA, Silva P, et al (2009). Genome-wide demethylation of Arabidopsis endosperm. *Science*, 324, 1451–1454

Huang Q, Li YX, Wei XJ, et al (2013). A review of seed deterioration and repair. *Seed*, 32 (4): 40–44 (in chinese) [黄情, 李云霞, 魏先杰等(2013). 种子劣变与修复. *种子*, 32

- (4): 40–44]
- Huang XM, Fu JR, Song SQ (2000). The contributing factors and induction of seed desiccation Tolerance. *Plant Physiol J*, 36: 464–469 (in Chinese) [黄雪梅, 傅家瑞, 宋松泉 (2000). 种子脱水耐性的成因及人工诱导. *植物生理学报*, 36: 464–469]
- Jeddeloh JA, Bender J, Richards EJ (1998). The DNA methylation locus DDM1 is required for maintenance of gene silencing in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 12: 1714–1725
- Jiang X, Li CY, Mao T (2005). Mapping of QTL controlling low-temperature germinability in rice. *J Wuhan Bot Res*, 23 (3): 216–220 (in Chinese with English abstract) [姜旋, 李辰昱, 毛婷 (2005). 水稻低温发芽性QTL的分子标记定位. *武汉植物学研究*, 23 (3): 216–220]
- Kapoor A, Agius F, Zhu JK (2005). Preventing transcriptional gene silencing by active DNA demethylation. *FEBS Lett*, 579 (26): 5889–5898
- Li CL, Lu M, Liu WG, et al (2012). Analysis of artificial aging maize seed vigor and physiological index related to genome DNA methylation variation. *J Maize Sci*, 23 (2): 93–98 (in Chinese with English abstract) [李春雷, 路明, 刘文国等 (2012). 人工老化玉米种子活力指标、生理指标与基因组DNA甲基化变异的研究. *玉米科学*, 23 (2): 93–98]
- Li QF, Yi JF, Li N, et al (1996). The study on the causes of seed deterioration and deterioration. *J Inner Mongolia Coll Agric Animal Husbandry*, 17: 59–65 (in Chinese) [李青丰, 易津房, 丽宁等 (1996). 种子的劣变及劣变原因的研究. *内蒙古农牧学院学报*, 17: 59–65]
- Li ZH, Wang JH (2015). Advances in research of physiological and molecular mechanism in seed vigor and germination. *Sci Agric Sin*, 48 (4): 646–660 (in Chinese with English abstract) [李振华, 王建华 (2015). 种子活力与萌发的生理与分子机制研究进展. *中国农业科学*, 48 (4): 646–660]
- Liu J (2016). The study on the relationship between heat resistance and DNA methylation in wheat seedlings (dissertation). Beijing: China Agricultural University (in Chinese with English abstract) [刘建 (2016). 小麦苗期耐热性和DNA甲基化的关系研究 (学位论文). 北京: 中国农业大学]
- Liu J, Huang SZ, Fu J, et al (2001). Advances on relation between seed vigor and proteins. *Chin Bull Bot*, 18 (1): 46–51 (in Chinese with English abstract) [刘军, 黄上志, 傅家瑞等 (2001). 种子活力与蛋白质关系的研究进展. *植物学通报*, 18 (1): 46–51]
- Liu Y (2012). The study of DNA methylation changes of *Cymbidium's* ovary after fertilization (dissertation). Tianjin Agricultural University [刘阳 (2012). 大花蕙兰子房受精后不同时期DNA甲基化变化的研究 (学位论文). 天津: 天津农学院]
- Liu ZG, Zhang Y, Zhang YL (2008). Advances in research on wheat seed vigor. *Anhui Agric Sci*, 36 (1): 86–88 (in Chinese with English abstract) [刘志刚, 张雁, 张亚丽 (2008). 小麦种子活力研究进展. *安徽农业科学*, 36 (1): 86–88]
- Liu ZQ (1991). The role of plant hormones in grain development. *Seeds*, 2: 33–36 (in Chinese) [刘仲齐 (1991). 植物激素在籽粒发育中的作用. *种子*, 2: 33–36]
- Liu ZS (2015). Transcriptome profiling and differential homeologous genes expression analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings euring erought stress, heat stress and their combination (dissertation). Beijing: China Agricultural University [刘振山 (2015). 小麦苗期干旱、高温和早热胁迫转录表达谱及ABD部分同源基因表达分化分析 (学位论文). 北京: 中国农业大学]
- Martienssen R (1996). Epigenetic Silencing of Mu Transposable Elements in Maize. In: Riggs A, Martienssen R, Russo V (eds). *Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation*. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 593–608
- Miura K, Lin SY, Yano M, et al (2002). Mapping quantitative trait loci controlling seed longevity in rice (*Oryza sativa* L.). *Theo Appl Genet*, 104: 981–986
- Nakabayashi K, Okamoto M, Koshiba T, et al (2005). Genome-wide profiling of stored m RNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. *Plant J*, 41: 697–709
- Qiao X (2011). Diversity analysis of DNA methylation during seed maturation and germination in barley (dissertation). Chengdu: Sichuan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [乔幸 (2011). 大麦种子成熟和萌发过程DNA甲基化多样性分析 (学位论文). 成都: 四川农业大学]
- Shen YZ (2011). Analysis of seed deterioration factors. *Edu Forum*, (20): 243–243 (in Chinese) [沈玉忠 (2011). 种子劣变因素的分析. *教育学论坛*, (20): 243–243]
- Shi YJ, Li QH, Liu XH (2013). Progress in studies of DNA methylation and gene expression regulation. *China Biotechnol*, 33 (7): 90–96 (in Chinese with English abstract) [史玉杰, 李庆贺, 刘晓辉 (2013). DNA甲基化与基因表达调控研究进展. *中国生物工程杂志*, 33 (7): 90–96]
- Steward N, Kusano T, Sano H (2000). Expression of Zm-MET1.a gene encoding a DNA methyltransferase from maize, is associated not only with DNA replication in actively proliferating cells, but also with altered DNA methylation status in cold-stressed quiescent cells. *Nucleic Acids Res*, 28 (17): 3250–3259
- Sun Q, Wang JH, Sun BQ (2007). Advances on seed vigor physiological and genetic mechanisms. *Sci Agric Sin*, 40 (1): 48–53 (in Chinese with English abstract) [孙群, 王建华, 孙宝启 (2007). 种子活力的生理和遗传机理研究进展. *中国农业科学*, 40 (1): 48–53]
- Teyssier E, Bernacchia G, Maury S (2008). Tissue dependent variations of DNA methylation and endoreduplication levels during tomato fruit development and ripening.

- Planta, 228 (3): 391–399
- Tricker PJ, George GJ, Rodríguez LCM, et al (2012). Low relative humidity triggers RNA-directed de novo DNA methylation and suppression of genes controlling stomatal development. *J Exp Bot*, 63: 3799–3813
- Varagona MJ, Purugganan M, Wessler SR (1992). Alternative splicing induced by insertion of retrotransposons into the maize waxy gene. *Plant Cell*, 4 (7): 811–820
- Wang D, Fu BY, Zhang LJ (2008). The plant's epigenetic variation and response to environmental stress. *Mol Plant Breeding*, 6: 567–573 (in Chinese with English abstract) [王迪, 傅彬英, 张立军(2008). 植物表观遗传变化与环境压力研究进展. *分子育种*, 6: 567–573]
- Wang Y, Pan S, Bu N, et al (2011). Level of DNA methylation related to stress in rice. *Biotechnol Bull*, 12: 1–5 (in Chinese with English abstract) [王宇, 潘兴, 卜宁等(2011). 逆境胁迫对水稻DNA甲基化水平的影响. *生物技术通报*, 12: 1–5]
- Xing YY (2007). The Study on the seed vigor formation and dormancy mechanism of maize (dissertation). Tai'an: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [邢妍妍(2007). 玉米种子的活力形成及休眠机理的研究(学位论文). 泰安: 山东农业大学]
- Xu JC, Li JZ, Zheng XW, et al (2001). QTL mapping of root traits in rice seedlings. *Acta Genet Sin*, 28: 433–438 (in Chinese with English abstract) [徐吉臣, 李晶昭, 郑先武等(2001). 苗期水稻根部性状的QTL定位. *遗传学报*, 28: 433–438]
- Zhao Y, Zhou DX (2012). Epigenomic modification and epigenetic regulation in rice. *J Genet Genomics*, 39 (7): 307–315
- Zheng X (2009). Correlation analysis between seed vigor and DNA methylation in crops (dissertation). Xi'ning: Qinghai University (in Chinese with English abstract) [郑鑫(2009). 作物种子活力与DNA甲基化之间的相关性分析(学位论文). 西宁: 青海大学]
- Zheng X, Ma XG, Chi DZ, et al (2009). MSAP analysis of DNA methylation during seed germination in high vigor rice. *J Qinghai Univ*, 27: 53–57 (in Chinese with English abstract) [郑鑫, 马晓岗, 迟德钊等(2009). 高活力水稻种子萌发过程中DNA甲基化变化的MSAP分析. *青海大学学报*, 27: 53–57]
- Zilberman D, Gehring M, Tran RK, et al (2007). Genomewide analysis of Arabidopsis DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription. *Nat Genet*, 39 (1): 61–69
- Zhou DL (2016). The effect of 5-azacytidine on genomic DNA methylation in maize seeds (dissertation). Jilin: Jilin Agricultural University (in Chinese with English abstract) [周德龙(2016). 5-氮胞苷处理玉米种子对基因组DNA甲基化的影响(学位论文). 吉林: 吉林农业大学]
- Zhu SY, Zhang XL, Luo TK, et al (2010). Effects of GA₃ on seed vigor and several physiological and biochemical characteristics of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) aged seeds. *Plant Physiol J*, 46: 143–146 (in Chinese with English abstract) [朱世杨, 张小玲, 罗天宽等(2010). GA₃对老化花椰菜种子活力和几种相关生理生化性状的影响. *植物生理学报*, 46: 143–146]

Advances on seed vigor and DNA methylation mechanisms

LIU Jian¹, YAO Dan-Qing¹, GU Qin-Qin¹, LOU Jian-Feng^{1,*}, ZHANG Chun-Qing^{2,*}, XU Rui-Bin³, ZHANG An-Peng⁴

¹Shanghai Seed Management Station, Shanghai 201103, China

²College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

³College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China

⁴College of Agriculture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China

Abstract: The seed vigor gradually formed in the mature period of development, with the decrease of water, the seed obtains the maximum vigor. During this period, many important physiological and biochemical reactions, such as the accumulation of nutrients, the passivation of enzymes and mRNA and so on, are ready for seed vigor maintenance and germination. There are 20%–30% of the nuclear genome of DNA cytosine in methylation status of plants, DNA methylation can regulate gene expression and maintain plant genome stability. The DNA methylation status of plants is different in different organs, different tissues and even different stages of development, which is related to the stimulation of heredity and external environment. In the process of seed vigor formation and germination, the DNA methylation status has also undergone complex changes, which are specific to the species. The genetic basis of seed vigor is complex and is strongly influenced by environmental factors. When seeds are experiencing adversity stress, the DNA methylation state will change, and seed vigor level will also decrease. This may be due to the change of DNA methylation state of stress related genes and the change of gene expression. Under stress, the methylation status of the seed DNA changes and the seed vigor level will decrease. This may be caused by changes in the DNA methylation status of the related genes.

Key words: seed vigor; DNA methylation; hormones; epidemic

Received 2018-01-17

This work was supported by the Shanghai Seed Industry Development Project (Shanghai Agricultural Science word (2015) No.5).

*Co-corresponding authors: Zhang CQ (cqzhang@sdau.edu.cn), Lou JF (13021985628@163.com).