

梁文轩, 王月萍, 陈升杰, 等. 基于 4D label-free 技术的水稻成熟种子蛋白质组学研究 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(5): 742-749.
LIANG Wenxuan, WANG Yueping, CHEN Shengjie, et al. Proteomics study of mature rice seeds based on 4D label-free technology[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(5): 742-749.

基于 4D label-free 技术的水稻成熟种子蛋白质组学研究

梁文轩✉, 王月萍, 陈升杰, 李敏诗, 韩 儒, 周玉亮✉
(广东省植物分子育种重点实验室/华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】从蛋白水平揭示水稻种子成熟的分子基础, 探究调控水稻种子成熟的关键蛋白和代谢通路。【方法】选用授粉后 30 d 的成熟水稻种子, 利用 4D label-free 定量蛋白质组学进行质谱鉴定, 通过生物信息学技术分析蛋白的亚细胞定位、结构域、GO 注释和 KEGG 通路注释。【结果】总共鉴定了 3 484 个种子成熟期的蛋白, 相对分子质量大多在 10 000~100 000 之间, 主要分布于细胞质、细胞核、叶绿体、线粒体和质膜上; 结构域主要涉及蛋白质翻译的 RNA 识别基序和蛋白磷酸化修饰的蛋白激酶结构域; GO 分析表明, 成熟种子的蛋白主要参与了细胞过程和代谢过程, 主要涉及催化活性和结合等功能, 大多分布在细胞、细胞组分、细胞器和细胞膜等部位; KEGG 分析发现, 蛋白主要富集在核糖体、内质网中的蛋白质加工、氧化磷酸化和糖酵解等途径, 推测蛋白质的翻译、加工和能量代谢是水稻种子成熟期的主要分子事件; 进一步鉴定了脱落酸 (Abscisic acid, ABA) 信号和吲哚乙酸 (Indoleacetic acid, IAA) 代谢的相关蛋白, 同时也发现了 NAC(NAM、ATAF1/2 和 CUC2) 家族的转录因子。【结论】贮藏物质的积累和能量代谢是水稻种子成熟期的典型特征, ABA 和 IAA 信号途径参与了种子成熟过程。

关键词: 水稻; 种子成熟; 代谢通路; 植物激素

中图分类号: S511; S330

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)05-0742-08

Proteomics study of mature rice seeds based on 4D label-free technology

LIANG Wenxuan✉, WANG Yueping, CHEN Shengjie, LI Minshi, HAN Ru, ZHOU Yuliang✉
(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding/College of Agriculture,
South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To reveal the molecular basis of rice seed maturation at the protein level, and explore the key proteins and metabolic pathways involved in regulating rice seed maturation. 【Method】The experiment used mature rice seeds at 30 days after pollination, and conducted mass spectrum identification using 4D label-free quantitative proteomics. Bioinformatics techniques were used to analyze the subcellular localization, domains, GO annotations, and KEGG pathway annotations of the proteins. 【Result】A total of 3 484 seed maturation proteins were identified, with most having a relative molecular mass between 10 000 and 100 000. They were mainly distributed in the cytoplasm, nucleus, chloroplasts, mitochondria, and plasma membrane. The protein domain mainly involved the RNA recognition motifs of protein translation and the protein kinase domains of protein phosphorylation modification. GO analysis showed that the proteins of mature seeds were mainly involved in cellular and metabolic processes, mainly related to catalytic activity and binding

收稿日期: 2023-07-30 网络首发时间: 2023-09-01 09:40:49

首发网址: <https://link.cnki.net/urlid/44.1110.S.20230831.1818.002>

作者简介: 梁文轩, 硕士研究生, 主要从事水稻种子休眠研究, E-mail: 497726127@qq.com; 通信作者: 周玉亮, 副教授, 博士, 主要从事水稻种子休眠和活力研究, E-mail: zhouyuliang@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31771888); “双一流”学科建设和提升专项 (2021B10564001); 广东省自然科学基金面上项目 (2022A1515010843)。

functions, and were mostly distributed in cell, cellular component, organelle, and cytomembrane. KEGG analysis revealed that proteins were mainly enriched in pathways such as ribosome, protein processing in endoplasmic reticulum, oxidative phosphorylation, and glycolysis. It was speculated that protein translation, processing, and energy metabolism were the main molecular events of rice seed maturation. Furthermore, proteins related to abscisic acid (ABA) signaling and indoleacetic acid (IAA) metabolism were identified, and transcription factors of the NAM, ATAF1/2 and CUC2 (NAC) family were also discovered. 【Conclusion】 The accumulation of storage substances and energy metabolism are typical characteristics of rice seed maturation, and ABA and IAA signaling pathways are involved in the process of seed maturation.

Key words: Rice; Seed maturation; Metabolic pathway; Plant hormone

水稻是我国的主要粮食作物, 对保障我国粮食安全做出了重要贡献^[1]。水稻的生产起始于种子的播种和萌发, 结束于种子的成熟和收获。因此, 种子的发育和成熟是影响水稻产量和品质形成的关键阶段。近年来, 有多项研究利用蛋白质组学技术对水稻种子性状进行了探究, 包括种子发育^[2-5]、种子萌发^[6-7]、种子休眠^[8]等。但是, 关注种子成熟干燥阶段的蛋白质组学报道较少, 对于水稻种子成熟期蛋白水平上的变化规律和调控机制尚需进一步研究。

蛋白质组学是一个快速发展的生物学研究领域, 广泛应用于研究作物的生长、发育、生物和非生物胁迫。传统的凝胶双向电泳技术分离的蛋白数量少, 近年来逐渐发展出了一些无凝胶的新方法, 分为基于标签 (Label) 和无标签 (Label-free) 两种类型^[9]。Label-free 无需使用同位素标记, 而是通过液-质联用技术对酶解肽段进行质谱鉴定, 基于肽段的信号强度对肽段对应的蛋白质进行相对定量。4D label-free 是传统无标签技术的升级, 具有更好的灵敏度和覆盖深度。

本研究, 以授粉后 30 d 的水稻成熟种子为材料进行 4D label-free 蛋白组学研究, 获得了蛋白的表达谱, 分析了蛋白的亚细胞定位、结构域、GO 功能注释和 KEGG 通路, 对揭示水稻种子成熟脱水期的蛋白积累模式和挖掘种子成熟的关键蛋白具有参考意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用的水稻材料是染色体单片段代换系, 受体亲本是 ‘华粳籼 74’, 供体亲本是 ‘Khazar’, 代换片段的分子标记是 PSM141--RM436-PSM142--PSM143, “--” 表示发生交换的位置。染色体单片段代换系与受体 ‘华粳籼 74’ 的种子发育和成熟过程相似, 但染色体单片段代换

系具有更强的休眠特性。在授粉后 30 d, 收集健康、饱满的成熟种子, 去壳后, 液氮保存, 委托上海中科新生命生物科技有限公司用于 4D label-free 蛋白质组学分析 (图 1)。设置 3 个生物学重复。

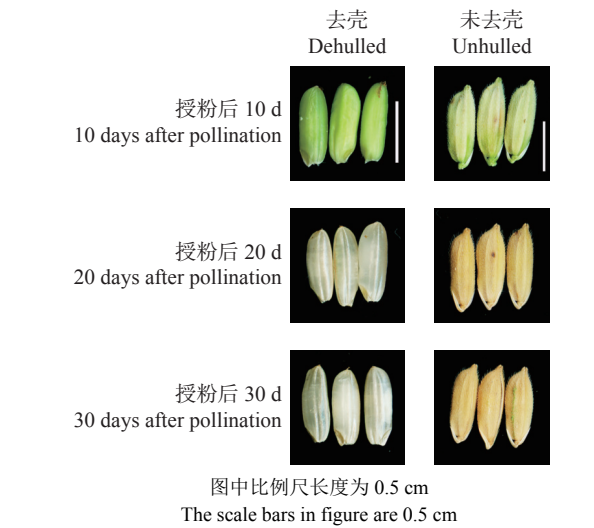


图 1 不同发育阶段水稻种子的形态
Fig. 1 Morphology of rice seeds at different development stages

1.2 蛋白质提取和肽段酶解

样品用 SDT(40 g·L⁻¹ SDS, 1 mmol/L DTT, 100 mmol/L Tris-HCl, pH7.6) 缓冲液提取蛋白质, 用 BCA 蛋白测定试剂盒 (Bio-Rad) 定量蛋白质。每个样品取适量蛋白质用过滤器辅助样品制备法 (Filter-aided sample preparation, FASP) 进行胰蛋白酶 (Promega) 消化蛋白质, 采用 C18 Cartridge (Sigma) 进行肽段脱盐, 冻干后加入体积分数为 0.1% 的甲酸溶液 40 μL 复溶, 在 280 nm 的紫外光下测定肽段溶液的光密度 (Optical density, OD), 对肽段进行定量。

1.3 SDS-PAGE

每个样品取 20 μg 蛋白质, 分别与 5X 上样缓冲液混合后煮沸 5 min, 在 125 g·L⁻¹ SDS-PAGE 凝

胶上进行电泳 (恒流 14 mA, 90 min), 最后通过考马斯亮蓝 R-250 染色观察蛋白质条带。

1.4 LC-MS/MS 数据采集

每份样品采用纳升流速的 HPLC 液相系统 Easy nLC (Thermo Scientific) 进行分离。缓冲液 A 液是体积分数为 0.1% 的甲酸水溶液, B 液是体积分数为 0.1% 的甲酸乙腈水溶液。色谱柱以 95% 的 A 液平衡, 样品由自动进样器进到 Acclaim PepMap100 上样柱 (Thermo Scientific) 中, 经过 EASY column 分析柱 (Thermo scientific) 分离, 流速为 300 nL/min。色谱分离后的样品用 timsTOF Pro 质谱仪 (Bruker) 进行正离子模式检测。质谱扫描范围 m/z 设置为 100~1 700。数据采集采用平行累积串行碎裂 (Parallel accumulation-serial fragmentation, PASEF) 模式, 一个循环窗口时间为 1.17 s。电荷数在 0~5 范围内的二级谱图, 串联质谱扫描的动态排除时间设置为 24 s, 避免母离子的重复扫描。

1.5 蛋白质鉴定和定量分析

对质谱分析的原始数据采用 MaxQuant 软件 (版本号 1.6.14) 进行查库鉴定及定量分析。可信肽段和可信蛋白质的筛选标准是 $FDR \leq 0.01$, 采用唯一肽段和 Razor 肽段的定量强度值进行蛋白质定量, 定量方法是 LFQ (Label free quantitation) 法。

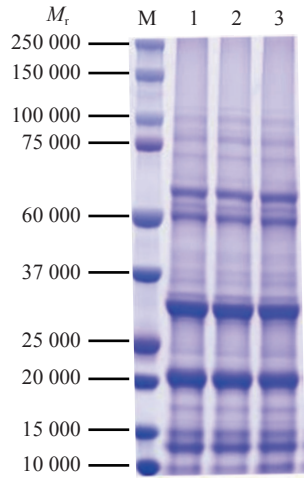
1.6 生物信息学分析

亚细胞定位分析使用 CELLO(<http://cello.life.nctu.edu.tw/>), 在网站输入候选蛋白 FASTA 格式的氨基酸序列进行预测; 蛋白结构域分析使用 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>), 通过 InterProScan 软件包对目标蛋白序列进行功能表征, 以获得结构域注释信息; 对目标蛋白质集合利用 Blast2GO 进行 GO(Gene ontology, <http://geneontology.org/>) 注释, 包括序列比对、GO 条目提取、GO 注释和 InterProScan 补充注释等 4 个步骤; 利用 KAAS (KEGG automatic annotation server) 软件进行 KEGG(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, <https://www.genome.jp/kegg/>) 通路注释; 采用 Fisher 精确检验, 比较目标蛋白质集合和总体蛋白质集合中各个 GO 分类 (或 KEGG 通路、或 Domain) 的分布情况, 以进行富集分析。

2 结果与分析

2.1 蛋白 SDS-PAGE 电泳

提取水稻去壳种子的总蛋白后进行 SDS-PAGE 检测。结果表明, 所提取的 3 个生物学重复样品的蛋白含量丰富, 条带清晰, 没有发生降解, 蛋白的数量和质量均满足后续试验的要求 (图 2)。



M: 蛋白 Marker; 1~3: 蛋白样品
M: Protein marker; 1~3: Protein samples

图 2 总蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig. 2 SDS-PAGE electrophoresis of total protein

2.2 蛋白质谱鉴定

对酶解后的总蛋白进行质谱鉴定, 总共鉴定到 19 688 个可信度高的肽段, 肽段的氨基酸数量主要集中在 8~20 个之间, 占比 89.3%(图 3)。上述肽段对应 3 484 个蛋白, 蛋白数量丰富, 蛋白质的相对分子质量主要在 0~100 000 之间, 占比 93.5% (图 4)。

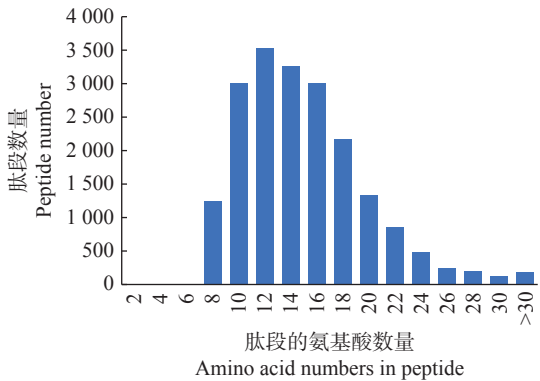


图 3 肽段的氨基酸数量分布图

Fig. 3 Distribution of amino acid numbers in peptide

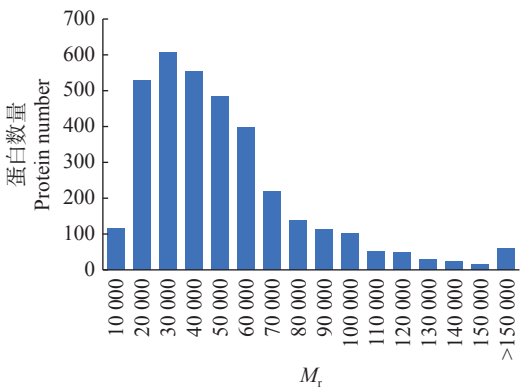


图 4 蛋白相对分子质量分布图

Fig. 4 Distribution of protein relative molecular mass

2.3 亚细胞定位及结构域注释分析

蛋白质定位的亚细胞器是蛋白发挥功能的重要场所,分析蛋白质的亚细胞定位有助于进一步探究蛋白质在细胞中的功能。如图 5 所示,水稻成熟种子中的蛋白质几乎存在于细胞内所有的亚细胞器中,其中细胞质、细胞核、叶绿体、线粒体、质膜和胞外是蛋白定位最多的场所,分别有 1 381、949、807、571、447 和 433 个蛋白。

蛋白质结构域是一个蛋白中可以进行独立折叠和发挥功能的基本单位,预测蛋白的结构域对了解蛋白的生物学功能具有重要意义。对水稻成熟种子中鉴定的蛋白质进行结构域分析,结果发现排名前 20 的结构域分别是 RNA 识别基序、蛋白激酶结构域、WD 结构域/G-beta 重复、Cupin 结构域、Ras 家族、ATP 酶家族、蛋白酶抑制剂/种子贮藏/LTP 家族、EF-hand 结构域、蛋白酪氨酸激酶、热激蛋白 70、钙调磷酸酶样磷酸酯酶、硫氧还蛋白、TCP-1/cpn60 伴侣蛋白家族、蛋白酶体亚基、PCI 结构域、延伸因子 Tu GTP 结合域、过氧化物酶、糖基转移酶组 1、通用应激蛋白家族、谷胱甘肽 S-转移酶 N 端结构域 (图 6)。

2.4 GO 功能注释及 KEGG 富集分析

为了全面了解蛋白在水稻种子发育成熟过程

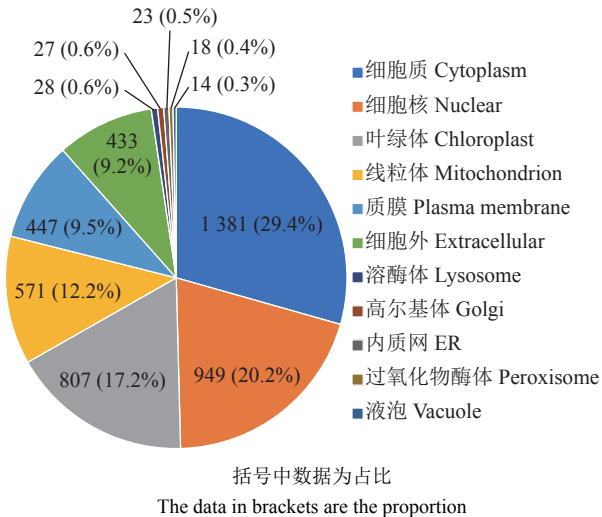


图 5 亚细胞定位分析

Fig. 5 Subcellular localization analysis

中参与的生物学过程、功能和定位,通过基因本体 GO 对鉴定到的蛋白质进行注释 (图 7)。在生物学过程 (Biological process) 中,共注释到 16 个子类,主要参与了细胞过程、代谢过程、定位、生物调节、生物发生、响应刺激、生物过程的调节、发育过程和信号过程等。在分子功能 (Molecular function) 上,共注释到 8 个子类,主要发挥催化活性、结合、结构分子活性、转运活性、分子功能调节剂、营养库活动、抗氧化活性和分子传感器活性。细胞组分

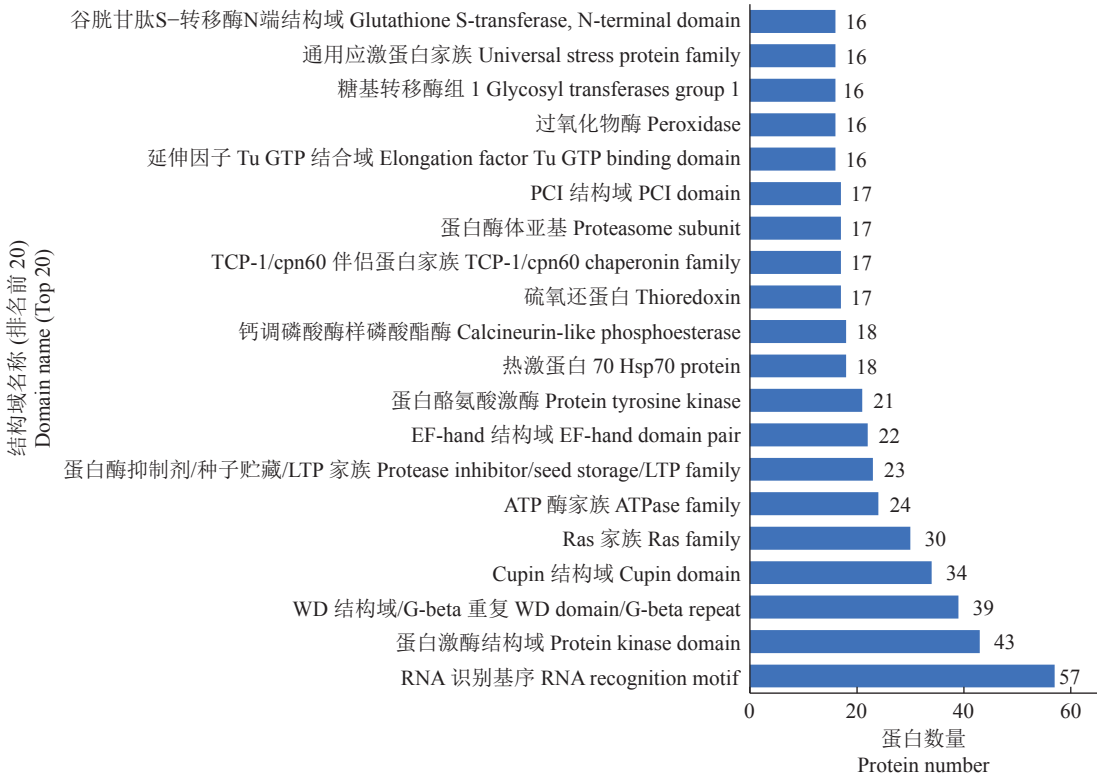


图 6 蛋白结构域分析

Fig. 6 Protein domain analysis

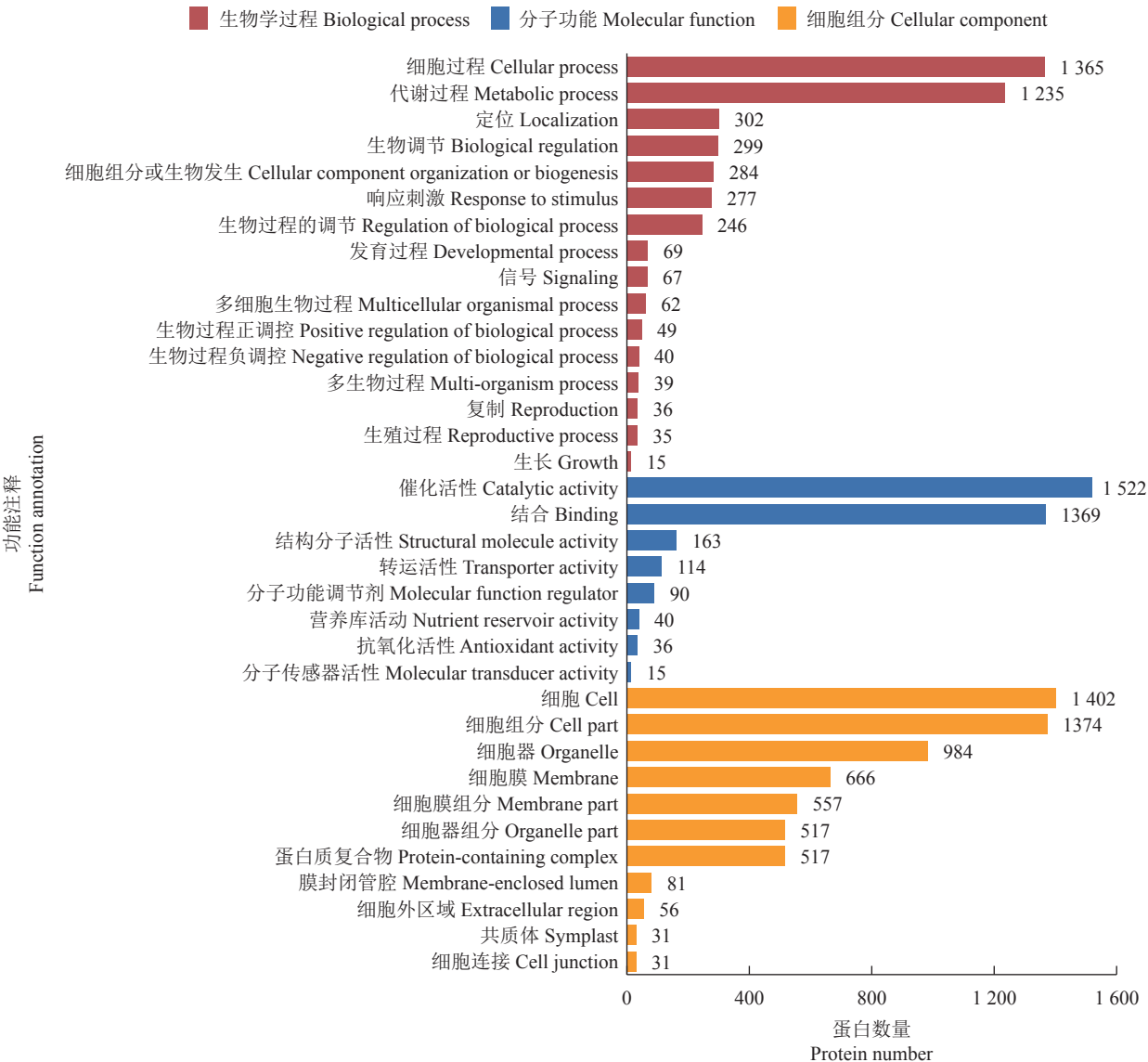


图 7 GO 功能注释

Fig. 7 GO function annotation

(Cellular component) 共注释到 11 个子类, 主要构成了细胞、细胞组分、细胞器、细胞膜和蛋白质复合物等结构。

为了更系统地解析水稻种子成熟的生物学事件, 对鉴定到的蛋白进行 KEGG 代谢通路和归属关系注释。如图 8 所示, 排名前 20 的代谢通路可以分为 8 个大类, 其中 2 个通路归属于运输和分解代谢, 2 个通路归属于翻译, 1 个通路归属于转录, 1 个通路归属于全局和概览图, 2 个通路归属于折叠、分类和降解, 2 个通路归属于能量代谢, 8 个通路归属于碳水化合物代谢, 1 个通路归属于氨基酸代谢。所有通路中, 核糖体通路、内质网中的蛋白质加工通路、糖酵解通路和氧化磷酸化通路中注释到的蛋白数量最多, 表明这些通路对水稻种子的成熟非常重要。

2.5 植物激素和转录因子相关蛋白分析

植物激素和转录因子在种子发育成熟中扮演了重要角色。通过分析水稻成熟种子中的蛋白质, 鉴定了十几个植物激素和转录因子相关的蛋白(表 1)。在脱落酸途径中, 鉴定了 2 个脱落酸(Abscisic acid, ABA)受体 OsRCAR10 和 OsRCAR7 和 1 个蛋白激酶 OsSAPK7。在生长素途径中, 鉴定了 2 个吲哚乙酸(Indoleacetic acid, IAA)-氨基酸水解酶 OsILL8 和 OsILL1、1 个生长素抑制蛋白 OsARP1、1 个生长素氧化双加氧酶 DAO。在赤霉素途径中, 鉴定了 2 个 α -淀粉酶 OsAmy3E 和 OsAmy4A 和 1 个 β -淀粉酶 OsBmy7。转录因子方面则主要鉴定了 5 个 NAC (NAM、ATAF1/2 和 CUC2) 家族的转录因子, 说明其在水稻种子成熟时发挥重要作用。

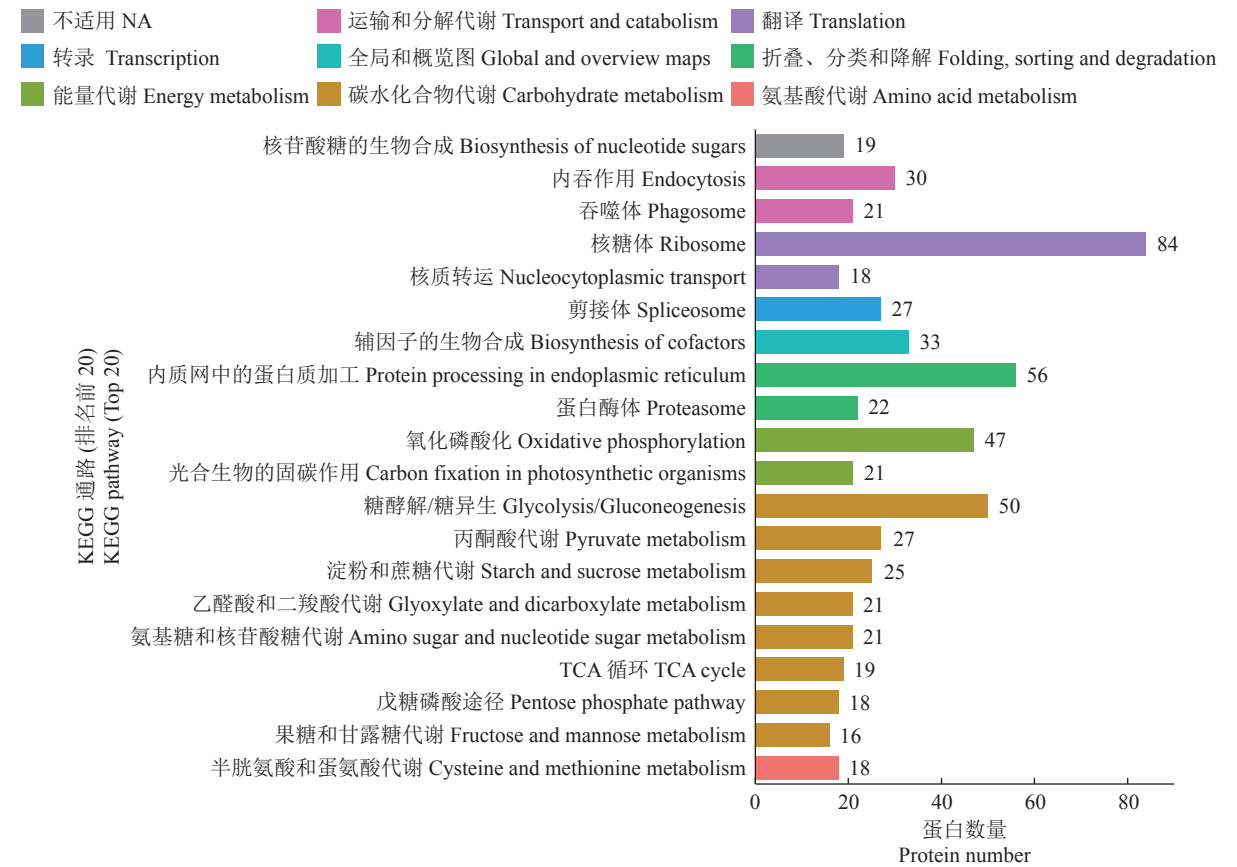


图 8 KEGG 通路注释

Fig. 8 KEGG pathway annotation

表 1 成熟水稻种子中的植物激素和转录因子相关蛋白

Table 1 Proteins related to plant hormone and transcription factor in mature rice seeds

蛋白 Protein	蛋白描述 Protein description	基因 Gene	平均强度 Average intensity	分类 Classification
A2ZAH5	ABA受体 ABA receptor	<i>OsRCAR10</i>	415 900	脱落酸 ABA
Q7XQP4	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Serine/threonine-protein kinase	<i>OsSAPK7</i>	294 850	脱落酸 ABA
A2YDM7	ABA受体 ABA receptor	<i>OsRCAR7</i>	75 716	脱落酸 ABA
Q8H3C8	IAA-氨基酸水解酶 IAA-amino acid hydrolase	<i>OsILL8</i>	296 457	生长素 Auxin
Q2QZU4	生长素抑制蛋白 Auxin-repressed protein	<i>OsARPI</i>	278 910	生长素 Auxin
Q84XG9	IAA-氨基酸水解酶 IAA-amino acid hydrolase	<i>OsILL1</i>	242 487	生长素 Auxin
Q01IX6	生长素氧化双加氧酶 Dioxygenase for auxin oxidation	<i>DAO</i>	144 843	生长素 Auxin
P27934	α -淀粉酶 Alpha-amylase	<i>OsAmy3E</i>	813 397	赤霉素 GA
B9EZ51	α -淀粉酶 Alpha-amylase	<i>OsAmy4A</i>	604 527	赤霉素 GA
Q8H484	β -淀粉酶 Beta-amylase	<i>OsBmy7</i>	204 723	赤霉素 GA
Q8RUI4	NAC转录因子 NAC transcription factor	<i>Os01g0938900</i>	1 154 207	转录因子 Transcription factor
A2Y3Z4	含有NAC-A/B结构域蛋白 NAC-A/B domain-containing protein	<i>Os05g0373700</i>	457 820	转录因子 Transcription factor
A2Y4P5	含NAC结构域蛋白 NAC domain-containing protein	<i>OsNAC24</i>	362 233	转录因子 Transcription factor
Q6H8A9	含NAC结构域蛋白 NAC domain-containing protein	<i>OsNAC23</i>	200 103	转录因子 Transcription factor
A2WJP3	含NAC结构域蛋白 NAC domain-containing protein	<i>OsNAC20</i>	132 343	转录因子 Transcription factor

3 讨论与结论

水稻种子的发育可以划分为胚胎发生、籽粒灌浆和种子成熟 3 个阶段,在最后的种子成熟阶段水分大量流失,最终形成干燥、休眠状态的种子^[10]。淀粉是水稻产量和品质的主要决定因素,我们发现淀粉合成酶(A0A076FRI5)在所有鉴定的蛋白质中质谱信号最强,高达 379 673 333,表明种子成熟时淀粉的合成非常旺盛。另外,有意思的是我们在成熟种子中鉴定了 2 个 α -淀粉酶 OsAmy3E 和 OsAmy4A 和 1 个 β -淀粉酶 OsBmy7,同时也鉴定了许多的 α -淀粉酶抑制剂。有研究表明水稻种子发育阶段的热应激诱导了 α -淀粉酶基因的表达,包括 *Amy1A*、*Amy1C*、*Amy3A*、*Amy3D* 和 *Amy3E*^[11]。但是,一般认为 α -淀粉酶是在种子萌发过程中被植物激素赤霉素(Gibberellic acid, GA)诱导产生。本研究的结果证明,种子成熟过程中也存在一定水平的 α -淀粉酶积累。在胚胎成熟的早期阶段, α -淀粉酶基因的高水平表达有助于将暂时储存的淀粉转化为糖,并快速满足能量和底物的需求^[12]。但是,目前暂不清楚 α -淀粉酶在成熟种子中的作用,其产生的原因和作用有待进一步深入研究。

贮藏蛋白也是水稻成熟种子的主要化学组分。结构域注释发现,排名第 1 的是 RNA 识别基序,含有这类基序的蛋白主要参与 RNA 的加工和蛋白的翻译,KEGG 中富集蛋白数量最多的也是参与翻译的核糖体通路和蛋白质加工通路。结构域排名第 4 的是主要存在于植物种子贮藏蛋白中的 Cupin,质谱信号排名前 10 的蛋白中有 8 个是 Cupin 蛋白。近期的研究还发现,编码 Cupin 结构域的种子贮藏蛋白基因与种子活力之间也存在密切的关系^[13]。此外,蛋白激酶结构域也广泛存在,暗示蛋白磷酸化是种子成熟期的重要事件。淀粉合成、贮藏蛋白合成和蛋白修饰都要消耗能量,这需要大量的 ATP 供应。与此吻合的是,我们注意到在 KEGG 通路分析中,有大量关于能量代谢和碳水化合物代谢(呼吸作用)的通路,这可以为种子的成熟提供能量保障。

除了淀粉和蛋白质的合成,种子成熟后期另一个重要事件是脱水干燥。前人的研究表明,LEA 蛋白(Late embryogenesis abundant protein)、热激蛋白(Heat shock protein, HSP)和抗氧化物质的积累与脱水密切相关^[14-16],这些蛋白也大量出现在我们的质谱鉴定结果中。ABA 被认为是种子成熟脱水的主要调控因子。ABA 信号的核心通路包括 ABA 受体蛋白 PYR/PYL/RCAR、PP2C 和 SnRK2 三大组件。

我们鉴定了 OsRCAR10、OsRCAR7 和 OsSAPK7 等 3 个 ABA 信号途径的正调控蛋白,说明 ABA 信号在水稻种子成熟中发挥重要作用,这与前人的研究结果^[17]相吻合。此外,维持一定的 ABA 信号强度也有利于种子初级休眠性的建立。生长素 IAA 被认为是 ABA 之外另一个影响种子成熟的重要植物激素,IAA 的积累会诱导种子的初级休眠^[18-19]。我们的研究鉴定了 2 个 IAA-氨基酸水解酶 OsILL8 和 OsILL1 以及 IAA 氧化酶 DAO,前者可以提高游离 IAA 的浓度,而后者通过氧化作用降低 IAA 水平,说明种子成熟过程需要精准调节 IAA 的水平。高水平 IAA 所在的区域对同化产物具有“拉力”,从而调节贮藏物质在种子不同部位的积累^[20]。

综上,水稻种子成熟期蛋白质组学的研究对于理解水稻种子生物学特性和提高水稻产量和品质具有重要意义。本研究利用 4D label-free 蛋白组学鉴定了水稻种子在成熟期蛋白的表达谱,获得了高深度、高精度的质谱数据,丰富了水稻种子成熟期的蛋白研究,为深入开展水稻种子成熟调控提供了理论依据。

参考文献:

[1] 余泓,王冰,陈明江,等. 水稻分子设计育种发展与展望[J]. 生命科学, 2018, 30(10): 1032-1037.

[2] SERA Y, HANAMATA S, SAKAMOTO S, et al. Essential roles of autophagy in metabolic regulation in endosperm development during rice seed maturation[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 18544. doi: 10.1038/s41598-019-54361-1.

[3] YOU C C, CHEN L, HE H B, et al. iTRAQ-based proteome profile analysis of superior and inferior spikelets at early grain filling stage in japonica rice[J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17: 100. doi: 10.1186/s12870-017-1050-2.

[4] ZHANG H D, CHEN J N, SHAN S L, et al. Proteomic profiling reveals differentially expressed proteins associated with amylose accumulation during rice grain filling[J]. *BMC Genomics*, 2020, 21: 714. doi: 10.1186/s12864-020-07105-9.

[5] TAPPIBAN P, YING Y N, XU F F, et al. Proteomics and post-translational modifications of starch biosynthesis-related proteins in developing seeds of rice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(11): 5901. doi: 10.3390/ijms22115901.

[6] XU E S, CHEN M M, HE H, et al. Proteomic analysis reveals proteins involved in seed imbibition under salt stress in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 7: 2006. doi: 10.3389/fpls.2016.02006.

[7] CHU C, YAN N, DU Y M, et al. iTRAQ-based proteomic analysis reveals the accumulation of bioactive com-

pounds in Chinese wild rice (*Zizania latifolia*) during germination[J]. *Food Chemistry*, 2019, 289: 635-644.

[8] XU H B, LIAN L, JIANG M R, et al. Proteomic analysis reveals different involvement of proteins during the maintenance and release of rice seed dormancy[J]. *Molecular Breeding*, 2019, 39: 60. doi: 10.1007/s11032-019-0963-x.

[9] TAN B C, LIM Y S, LAU S. Proteomics in commercial crops: An overview[J]. *Journal of Proteomics*, 2017, 169: 176-188.

[10] AN L, TAO Y, CHEN H, et al. Embryo-endosperm interaction and its agronomic relevance to rice quality[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 587641. doi: 10.3389/fpls.2020.587641.

[11] HAKATA M, KURODA M, MIYASHITA T, et al. Suppression of α -amylase genes improves quality of rice grain ripened under high temperature[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10(9): 1110-1117.

[12] DAMARIS R N, LIN Z Y, YANG P F, et al. The rice α -amylase, conserved regulator of seed maturation and germination[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(2): 450. doi: 10.3390/ijms20020450.

[13] PENG L L, SUN S, YANG B, et al. Genome-wide association study reveals that the cupin domain protein OsCDP3.10 regulates seed vigour in rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(3): 485-498.

[14] 宋松泉, 刘军, 唐翠芳, 等. 种子耐脱水性的生理及分子机制研究进展[J]. *中国农业科学*, 2022, 55(6): 1047-1063.

[15] SMOLIKOVA G, LEONOVA T, VASHURINA N, et al. Desiccation tolerance as the basis of long-term seed viability[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(1): 101. doi: 10.3390/ijms22010101.

[16] ALI F, QANMBER G, LI F G, et al. Updated role of ABA in seed maturation, dormancy, and germination[J]. *Journal of Advanced Research*, 2022, 35: 199-214.

[17] 宋松泉, 唐翠芳, 雷华平, 等. ABA 调控种子发育的研究进展[J/OL]. *广西植物*, 2023 [2023-07-29]. <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/45.1134.Q.20230620.1121.004.html>.

[18] MATILLA A J. Auxin: hormonal signal required for seed development and dormancy[J]. *Plants*, 2020, 9(6): 705. doi: 10.3390/plants9060705.

[19] LIU X D, ZHANG H, ZHAO Y, et al. Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3 activation in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(38): 15485-15490.

[20] 田淑兰, 王熹. IAA 与亚种间杂交稻籽粒发育的关系及烯效唑的调节[J]. *中国水稻科学*, 1998, 12(2): 99-104.

【责任编辑 李晓卉】