

坡柳种子对脱水干燥的生理生化响应

崔凯¹, 李昆^{1,2*}, 廖声熙¹

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 昆明 650224; 2. 国家林业局云南元谋荒漠生态系统定位研究站, 昆明 650224)

摘要:为研究超干燥保存手段运用于坡柳种子的可行性,采用正交设计从种子含水量、包装方法、保存温度和预回湿方法4个因素来分析。用硅胶将种子脱水至1.12%~6.13% 6个含水量梯度,结合不同处理密封保存1年,随后测定发芽率和一些生理生化指标,包括相对电导率(RC)、脯氨酸(Pro)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、可溶性总糖含量和脂肪酸组分。结果表明:种子含水量是对发芽率影响最显著的因素,较为适宜的脱水范围为4.28%~5.25%;超干种子发芽率与相对电导率和丙二醛含量呈显著负相关,与脯氨酸含量和3种抗氧化酶活性呈显著正相关;超干种子的油酸和 α -亚麻酸含量比对照提高。坡柳种子保存过程中的劣变是由细胞膜损伤和脂质过氧化所引起,而适宜的脱水处理能使抗氧化酶活性增强,使不饱和脂肪酸的含量增加,从而维持种子生活力的稳定。

关键词:坡柳;抗氧化酶;脂质过氧化;超干燥保存

中图分类号:S722

文献标识码:A

Physiological and Biochemical Response of *Dodonaea viscosa* Seeds to Desiccation

CUI Kai¹, LI Kun^{1,2}, LIAO Sheng-xi¹

(1. Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, Yunnan, China;

2. Yuanmou Desert Ecosystem Research Station of the State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: Ultra-dry storage of *Dodonaea viscosa* seeds was studied by orthogonal design including four factors (seed moisture content, packing method, storage temperature and pre-humidification method). Seeds were dried to the moisture contents ranging from 1.12% to 6.13% with silica gel, then stored in hermetic condition combined with different treatments for a year. The germination percentage, electrical conductivity (RC), proline (Pro), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), total soluble sugar content and fatty acid composition of the stored seeds were tested. The results showed that the seed moisture content had significant effect on germination percentage. The feasible moisture content ranged from 4.28% to 5.25%. The Germination percentage had a significantly negative correlation with the electrical conductivity and proline content, and had significantly positive correlation with the proline content and activity of three antioxidant enzymes. The content of oleic acid and α -Linolenic acid in ultra-dried seeds were higher compared to the control seeds. It is speculated that the seed deterioration of *D. viscosa* during storage was the result of membrane injury and lipid peroxidation. Suitable ultra-dried treatment, especially in seed moisture content, can increase the activity of antioxidant enzyme and the content of unsaturated fatty acid, which alleviate the seed deterioration.

Key words: *Dodonaea viscosa*; antioxidant enzyme; lipid peroxidation; ultra-dry storage

收稿日期:2011-03-25

基金项目:国家十二五科技支撑项目“逆境生态林材料筛选与示范(2011BAD38B01)”;科技部林业公益性行业科研专项“201104002-3”;中国林科院院长资金“Ririca200803Z”

作者简介:崔凯(1982—),男,河北邯郸人,博士研究生,主要从事抗逆生理、林木蛋白组学方面研究。

* 通讯作者: E-mail:caflikun@163.com

通常认为种子含水量和储藏温度是制约种子活力的主要因素。1976年,国际植物遗传资源委员会(IBPGR)推荐 $5\% \pm 1\%$ 的含水量和 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 作为长期保存种质资源的理想条件,而冷藏是目前种子保存最常用的手段。许多研究表明^[1],当有些种子脱水至 5% 含水量(传统认为的安全含水量)以下,在常温条件下密闭保存亦能取得较好的效果,甚至优于低温保存。这一现象引起科研工作者极大的关注,于是衍生出种子超干燥保存技术。该技术具有简便易行、节省空间、降低能耗和经济成本低等优点,它已经在许多物种,特别是一些农作物种子上成功运用;然而,不同物种种子生物学特性差异非常大,种子保存实验耗时比较长,前人对种子超干燥实验没有统一的实验条件,众多实验结果难以横向比较,所以目前人们对种子超干燥机理的掌握比较有限。

坡柳(*Dodonaea viscosa* L.)属无患子科(Sapindaceae)车桑子属(*Dodonaea*)植物,在中国该属仅有坡柳1个种分布。早在很多年前,在印度的一些原始部落,坡柳就作为治愈骨折和很多炎症的药品^[2]。当今,人们从坡柳叶片和种子中开发出多种重要的药用成分^[2-3]。此外,它还是干旱和半干旱地区植被恢复中重要的物种。在以往的种质保存工作中,坡柳种子多采用低温保存,本文作者发现坡柳种子经过 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存1年后种子发芽率有明显的下降(坡柳种子初采集时发芽率能达到 90% 以上,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存半年后发芽率降到 40% 左右)。Berjak等^[4]指出种子的耐脱水性是由其物种的生物学特性决定的,与该物种的原生境有关。鉴于本文作者之前对干热河谷几种植物种子的超干燥保存试验取得了较好的效果,在本研究中,尝试用超干燥保存手段来应用于坡柳,同时研究其种子在脱水保存后生理生化方面的变化,为丰富种子超干保存理论研究提供一些理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料坡柳种子采自云南省元谋县干热河谷,采后于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。试验时种子的初始含水量为 10.13% 。

1.2 试验方法

1.2.1 种子含水量梯度的获得 将种子置于盛有变色硅胶的干燥器内(硅胶质量与种子比例为 $6:1$),每隔 24 h 对种子称质量并且更换硅胶,最终得到 1.12% 、 2.05% 、 3.06% 、 4.28% 、 5.25% 、 6.13% 6个含水量梯度。以不经脱水处理的种子在室温保存为对照1(CK1),在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存为对照2(CK2)。种子含水量测定采用烘干法^[5],以湿质量为基数计算种子含水量,用称量法测定种子含水量。试验设3次重复,取平均值。

表1 $L_{18}(6^1 \times 3^6)$ 正交试验设计

试验号	因素和水平						
	A	B	A×B	C	A×C	B×C	D
1	1	1	3	2	2	1	2
2	1	2	1	1	1	2	1
3	1	3	2	3	3	3	3
4	2	1	2	1	2	3	1
5	2	2	3	3	1	1	3
6	2	3	1	2	3	2	2
7	3	1	1	3	1	3	2
8	3	2	2	2	3	1	1
9	3	3	3	1	2	2	3
10	4	1	1	1	3	1	3
11	4	2	2	3	2	2	2
12	4	3	3	2	1	3	1
13	5	1	3	3	3	2	1
14	5	2	1	2	2	3	3
15	5	3	2	1	1	1	2
16	6	1	2	2	1	2	3
17	6	2	3	1	3	3	2
18	6	3	1	3	2	1	1

注:A、B、C、D为4个试验因素,下方每一列数字为对应的水平数,各因素和水平见表2。

1.2.2 超干保存和预回湿处理 将获得的不同含水量梯度种子装入铝箔袋($20\text{ cm} \times 14\text{ cm}$)或牛皮纸袋(外面套一个塑料自封袋),用封口机真空密封,在室温下保存1年。取出时,采用3种方法进行预回湿处理:气候箱预回湿,即室温下回湿 48 h 后用人工气候箱回湿 48 h ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 80%); 20% PEG 预回湿,即用质量分数为 20% 的PEG溶液(聚乙二醇,相对分子质量 6000)回湿 12 h ;不经预回湿。

表2 正交试验因素水平

因素	水平					
	1	2	3	4	5	6
A 含水量	1.12%	2.05%	3.06%	4.28%	5.25%	6.13%
B 包装方法	铝箔袋	牛皮纸袋结合自封袋				
C 保存温度	室温	低温(4℃)				
D 预回湿方法	气候箱预回湿	用20% PEG 预回湿	不经预回湿			

注:自封袋(Ziplock bags)是实验室常用的以聚乙烯为材料的可重复封口的塑料袋。

1.2.3 发芽试验 处理后的种子进行发芽试验,参照《1996 国际种子检验规程》^[6]的规定,采用两层滤纸法。每种处理设4次重复,每重复50粒种子。发芽温度为25℃,每天全光照12h,以胚芽伸出种子粒长的一半为萌发,每天记录种子发芽个数,10d时统计种子的发芽率。

1.2.4 试验设计 为检验种子含水量、包装方法、保存温度和预回湿方法4个因素不同水平对超干种子保存效果的影响,采用 $L_{18}(6^1 \times 3^6)$ 正交试验设计^[7],具体试验见表1、2。

1.2.5 生理生化指标测定 生理指标测定参照李合生^[8]的方法,相对电导率(RC)测定采用电导率仪法;MDA含量的测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法;Pro含量的测定采用茚三酮比色法;SOD活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原比色法,以抑制NBT光化还原的50%为1个酶活性单位;POD活性测定采用愈创木酚法,以每分钟内A470nm变化0.01为1个酶活性单位;CAT活性测定采用高锰酸钾滴定法,酶活性以每克鲜质量样品1分钟内分解 H_2O_2 的毫克数表示;可溶性总糖含量和脂肪酸组分委托农业部农产品质量监督检验测试中心(昆明)测定,选用不经预回湿处理的种子。可溶性总糖含量的测定参照GB/T 5009.7—2003中的3,5—二硝基水杨酸比色法,脂肪酸参照GB/T 17377—1998中动植物油脂脂肪酸甲酯的气相色谱分析法测定。各项指标在测定时做3次重复。

1.2.6 试验主要仪器和药品 101A-2电热鼓风恒温干燥箱(上海市崇明实验仪器厂);电脑多功能真空包装机(浙江葆春包装机械总厂);RX-智能型人工气候箱(宁波江南仪器厂);BECKMAN COULTER DU800分光光度计;HERMLE Z323K超速冷冻离心机;METTLER TOLEDO DL22滴定仪;METTLER TOLEDO AL204万分之一电子天平。试验中所用的化学药品均为分析纯。

1.2.7 数据处理 结果为百分数的数据经平方根反正旋变换,试验数据用DPS 8.01和SPSS 13.0进行分析。多重比较采用Tukey法。

2 结果与分析

2.1 种子超干保存最适方案的选择

通过发芽试验得出坡柳CK1(常温保存)种子发芽率为38%,CK2(低温保存)种子发芽率为42%。由试验结果的直观分析表3可知:A(含水量)、D(预回湿方法)两因素水平的极差(R)分别居于发芽率前两位,是影响种子发芽率的关键因素,其它因素(包括交互作用)的影响较小。根据各试验因子的各水平总数或各水平均值(K_i)得到影响种子发芽率的最佳水平组合为: $A_5B_2C_1D_2$,即5.25%含水量+牛皮纸袋结合自封袋包装+常温保存+20%PEG回湿。含水量因素中4、5、6水平(4.28%、5.25%、6.13%含水量)种子的发芽率均明显高于2个对照。

表3 坡柳种子发芽率的直观分析

处理均值	A	B	A×B	C	A×C	B×C	D
K_1	6.56	45.00	44.94	46.17	45.83	45.00	45.28
K_2	23.78	45.44	46.11	44.89	44.94	46.44	49.17
K_3	50.89	46.39	45.78	45.78	46.06	45.39	42.39
K_4	68.11						
K_5	70.00						
K_6	54.33						
R	70.42	3.06	2.57	2.82	2.45	3.19	14.95

通过方差分析考察各因素的显著程度(表4)可知:含水量(A)和预回湿方法(D)对种子发芽率的影响达极显著水平,其他因素如包装方法(B)、保存温度(C)和交互作用的影响则不显著。进一步进行多重比较(表5)可以看出:不同含水量(因素A)之间,第4和第5水平(4.28%、5.25%含水量)显著优于其它;不同预回湿方法(因素D)中,第2水平(20% PEG 预回湿)显著优于其它;包装方法(因素B)和保存温度(因素C)2个因素的各水平之间无显著差异。多重比较筛选的最优方案是 $A_5B_2C_1D_2$,与直观分析结果一致。

表 4 坡柳种子发芽率的方差分析

变异来源	离差平方和	自由度	均方	F 值
A	28 863.277 8	5	5 772.655 6	701.83 **
B	18.111 1	1	18.111 1	2.20
A × B	13.000 0	5	2.600 0	
C	15.444 4	1	15.444 4	1.88
A × C	12.444 4	5	2.488 9	
B × C	20.111 1	1	20.111 1	
D	416.444 4	2	208.222 2	25.31 **
误差	345.555 6	42	8.227 5	

注: * 表示在 0.05 水平差异显著; ** 表示在 0.01 水平差异极显著。

表 5 坡柳种子发芽率各因素不同水平间的多重比较

因素 A	均值/%	因素 B	均值/%	因素 C	均值/%	因素 D	均值/%
5	70.00aA	2	45.44aA	1	46.17aA	2	49.17aA
4	68.11aA	1	45.00aA	2	44.89aA	1	45.28bB
6	54.33bB					3	42.39cC
3	50.89cB						
2	23.78dC						
1	6.56eD						

注:多重比较采用 Tukey 法;每一列不同小写字母表示在 0.05 水平有显著差异;不同大写字母表示在 0.01 水平有显著差异。

2.2 不同处理种子相对电导率和丙二醛(MDA)含量的比较

从图 1A 可以看出:不同脱水程度对种子相对电导率影响较大,而预回湿方法对相对电导率影响较小。当种子采用含水量第 4、5 和 6 水平(4.28%、5.25% 和 6.13%)时,相对电导率在 15% 以下,当种子采用第 1 水平(1.12%)时,相对电导率可达到 30%,说明适宜的含水量对种子细胞膜伤害较小。无论以何种储藏方式,经过 1 年保存之后,种子都出现 MDA 的积累(图 1B),MDA 的变化趋势和相对电导率大体一致,种子在含水量为 4.28%、5.25% 和 6.13% 时,MDA 含量明显较低。

2.3 不同处理种子脯氨酸(Pro)含量的比较

经过不同程度脱水种子 Pro 含量有明显差异(图 1C),当种子采用含水量为第 5 水平(5.25% 含水量)时,Pro 含量最高,为 $284.23 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右;当种子采用含水量第 1 水平(1.12% 含水量)时,Pro 含量最低,为 $174.08 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。种子在含水量为 4.28%、5.25% 和 6.13% 时,其种子的脯氨酸含量要明显高于其它处理,3 种预回湿方法对 Pro 含量的累积有一定的影响,但是规律性不明显。

2.4 不同处理种子 3 种抗氧化酶的比较

随着种子含水量降低,种子的 CAT 活性呈现出

单峰曲线变化(图 1D)。当种子含水量从 6.13% 降低至 5.25% 时,种子 CAT 活性呈现持续增加趋势,种子含水量为 5.25% 时 CAT 活性达到峰值,为 $8.40 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;随着含水量进一步降低至 3.06%,CAT 活性降低至 $5.92 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;当含水量降至 1.12% 时,种子的 CAT 仅为 $0.59 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 左右。方差分析表明:不同含水量种子的 CAT 活性差异显著($P < 0.05$) (数据略),通过进一步多重比较,4.28% 和 5.25% 含水量种子的 CAT 活性要显著高于其它 4 个含水量梯度种子和对照;与不经预回湿处理的种子相比,经气候箱预回湿和 20% PEG 预回湿的种子,其 CAT 活性均有提高。

和 CAT 活性变化相似,不同含水量种子的 POD 活性呈现出单峰曲线变化形式(图 1E)。种子含水量为 5.25% 时,POD 活性达到峰值,为 $7.69 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;当含水量降至 1.12% 时,种子 POD 含量降至 $0.51 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 左右。方差分析表明(数据略):不同含水量种子的 POD 活性差异显著($P < 0.05$),在 6 个含水量梯度种子中,4.28% 和 5.25% 2 个含水梯度的 POD 活性显著高于另外 4 个含水量梯度。不同含水量种子的 SOD 活性变化趋势与 POD 和 CAT 基本一致。

对超干种子的发芽率和 6 种生理指标做相关分

析,结果(图2)表明:种子发芽率与相对电导率(RC)和MDA含量呈极显著负相关($P < 0.01$),与

Pro、*CAT*、*POD*和*SOD*呈极显著正相关($P < 0.01$)。

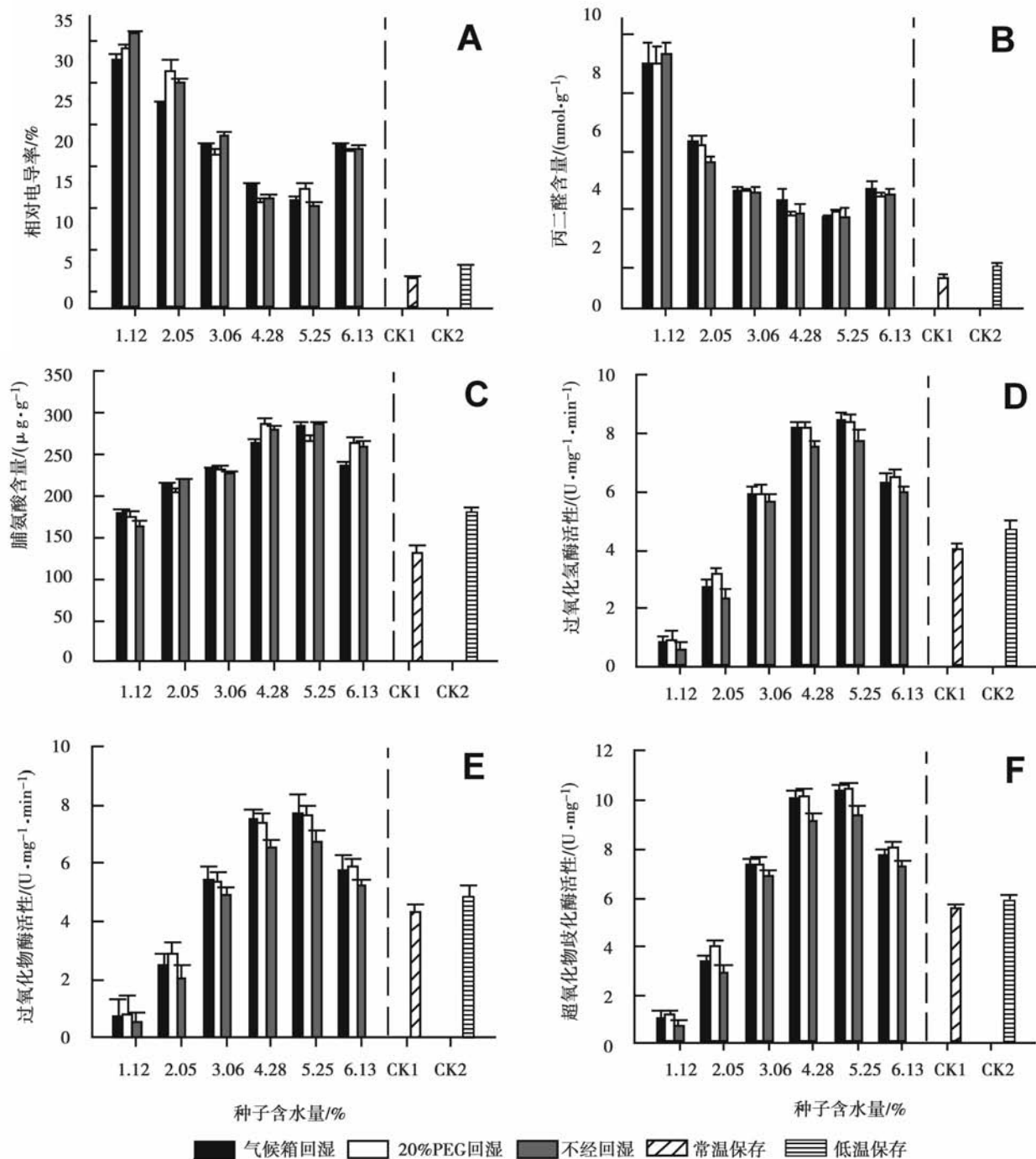


图1 不同脱水和预回湿处理坡柳种子的生理指标变化(误差线代表标准差)

2.5 不同处理种子可溶性总糖含量比较

经不同脱水坡柳种子的可溶性总糖含量有显著差异($P < 0.05$)(图3)。6.13%含水量种子的可溶性总糖含量要显著低于其它5个含水量梯度;1.12%

至5.25%这5个含水量梯度种子的可溶性总糖含量无显著差异,其中1.12%和2.05%含水量梯度种子的可溶性总糖含量最高,分别达到3.14%和2.99%。

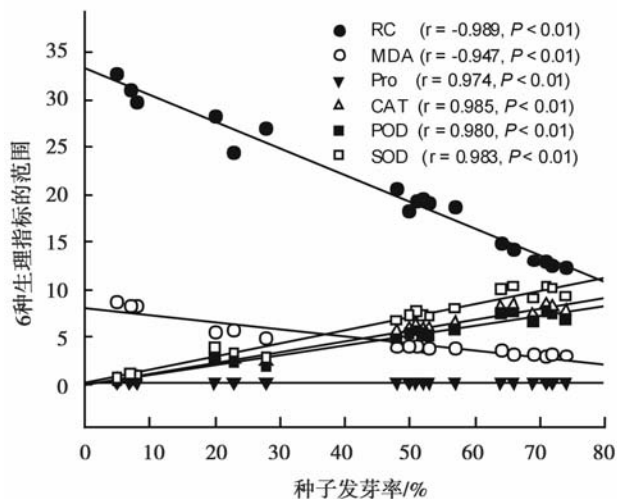


图2 超干种子发芽率与6种生理指标的关系($n=18$)

2.6 不同处理种子脂肪酸组分比较

从表6可看出,坡柳种子经过不同脱水处理后,不同脂肪酸的含量有所差异,如含水率2.05%种子的棕榈酸含量较其它高,硬脂酸含量也高于其它处理;含水率4.28%的油酸和亚油酸含量显著高

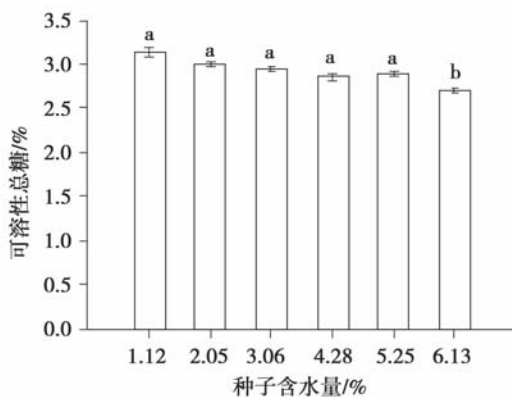


图3 不同脱水处理坡柳种子的可溶性总糖含量

于其它处理;含水率6.13%和4.28%种子的两种亚麻酸含量要高于其它处理。与其它处理相比,含水率为2.05%的种子的棕榈酸、硬脂酸两种饱和脂肪酸含量明显较高,油酸、亚油酸和亚麻酸含量较低。5个处理种子的脂肪酸不饱和指数从高到低排序分别为:4.28%、6.13%、CK2、CK1、2.05%,这一排序结果与种子发芽率情况相符。

表6 不同脱水坡柳种子的脂肪酸组分比较

处理	脂肪酸组分/%								IUFA
	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	^a C _{18:3}	^b C _{18:3}	C _{22:1}	Others	
CK1	9.69	4.51	17.16	56.62	0.58	0.83	0	10.61	134.63
CK2	9.84	4.32	17.13	56.91	0.51	0.93	0	10.36	135.27
6.13%	9.19	3.68	17.18	57.24	0.61	0.95	0	11.15	136.34
4.28%	9.16	3.62	17.22	57.73	0.62	1.05	0	10.61	137.69
2.05%	10.06	4.05	16.55	56.26	0.59	0.93	0	11.56	133.63

注:C_{16:0}代表棕榈酸;C_{18:0}代表硬脂酸;C_{18:1}代表油酸;C_{18:2}代表亚油酸;^aC_{18:3}代表 γ -亚麻酸;^bC_{18:3}代表 α -亚麻酸;C_{22:1}代表芥酸;Others代表其它脂肪酸。IUFA代表脂肪酸不饱和指数,是各类不饱和脂肪酸的份额乘以其碳原子个数的结果之和。

3 结论与讨论

种子经脱水干燥后细胞质有可能会形成一种“玻璃化”状态,细胞质“玻璃化”可以使一些生物大分子保持结构和功能的完整性^[9]、减少褐变反应、增强酶的活性^[10]以及阻止蛋白的构象变化^[11]。适宜的干燥程度(或脱水梯度)是影响种子“玻璃化”状态的关键点^[12],而种子超干保存试验的目的是为找到一个最佳“脱水阈值”。本研究通过筛选6个含水量梯度,发现5.25%含水量可以使坡柳种子的发芽率达到最高,这可能是因为坡柳种子在此含水量时,细胞质更容易进入玻璃化状态,从而使代谢减缓。另外,超干种子容易引发吸胀损伤^[13],通过对种子

发芽前的预先回湿处理可以降低这种损伤,如前人采用饱和水气或氯化钙来进行预先回湿处理,本研究中发现利用气候箱预回湿可以取得较好的效果。铝箔袋包装是种子超干保存试验的经典方法,为节约成本,本研究引入了牛皮纸袋结合自封袋包装的方法,结果表明不同的包装方法对种子生活力影响不大。

种子在储藏过程中,细胞膜损伤是造成种子劣变的主要原因之一^[14],测定电解质渗漏率成为衡量种子劣变的常规手段。挥发性醛类和MDA是脂质氧化和过氧化的产物^[15]。很多研究^[15-16]都表明:种子劣变过程中,相对电导率和MDA含量会升高;但Mira等^[17]通过对十字花科(Brassicaceae)4种野

生型植物种子的老化试验,发现种子活力降低过程中相对电导率明显降低,丙二醛含量无明显变化,由此推断,这些种子活力丧失与膜完整性有关,与脂质过氧化无关。在本研究中,把坡柳种子含水量从6.13%降至5.25%,经过储藏后相对电导率是逐渐降低的,而含水量降低至4.28%和1.12%时,相对电导率显著提高,MDA含量的变化趋势和相对电导率一致,表明坡柳种子劣变与细胞膜损伤和脂质氧化都有关系。对种子进行适度的脱水不会引起细胞膜的伤害,反而有利于细胞膜的保护,同时能降低脂质过氧化。

种子劣变与活性氧物质如超氧自由基、过氧化氢(H_2O_2)和羟基($\cdot OH$)的累积有关,超氧自由基和过氧化氢的毒性在于它们可以促发级联反应从而形成羟自由基和其他破坏性物质,如脂质过氧化物^[18]。抗氧化酶可以有效的清除超氧自由基和过氧化氢,如超氧化物可以在SOD作用下转化为过氧化氢,一部分过氧化氢被CAT转化成水和氧气,一部分过氧化氢被过氧化物酶清除。通过自由基和过氧化物调节的脂质过氧化很可能是种子在储藏过程中造成活力丧失的一个重要因素^[19]。大量的研究指出,超干处理会影响种子的一些抗氧化酶活性。如Li等^[16]发现经过超干处理的霸王(*Zygophyllum xanthoxylon* (Bge.) Maxim)种子的SOD、PER、CAT活性与未经脱水的种子相比有显著提高。Li等^[15]在对巴隆补血草(*Limonium aureum* (L.) Hill.)种子超干处理的研究中也指出,POD、SOD、GR、APX和CAT活性与未经脱水的种子相比有提高,挥发性醛含量和相对电导率降低。Song等^[20]对鹧鸪花(*Trichilia dregeana* Sond.)种子的胚轴进行脱水处理,发现抗氧化酶如SOD、APX、CAT、GR和DHAR活性明显降低,而通过施加外源抗坏血酸维C可以提高这些抗氧化酶的活性,并且有效抑制种子劣变。另外,Zhu等^[21]对花生种子的研究也得出相似的结论。本研究发现:把坡柳种子含水量控制在6.13%~3.06%,3种抗氧化酶(CAT、POD和SOD)的活性与未经超干处理种子的抗氧化酶活性相比显著增强(图1),而种子含水量超出了适宜的脱水阈值(如2.05%和1.12%含水量梯度),其抗氧化酶活性会降低。

糖(特别是一些寡糖,如麦芽糖)被认为是种子“玻璃化”状态形成的决定性物质^[22-23],随后更多的证据支持种子“玻璃化”物质的成分是蛋白和糖

的聚合物^[24-25]。MacFarlane等^[26]认为胞内玻璃化物质是蛋白、糖、无机盐(如氯化镁)和小分子多羟基化合物的聚合物。总之,在种子玻璃化物质组成的问题上存在很多争议^[27]。Zhu等^[21]指出花生种子经脱水处理后(MC 2.0%)与对照(非脱水种子)相比,非还原性糖/还原性糖的比值和抗老化能力均有明显提高,从而认为超干保存能延长种子活力与可溶性糖的变化有关。本研究发现坡柳种子脱水至不同梯度保存后,可溶性总糖含量并无明显的规律性变化,但是种子经超干保存后脯氨酸含量有明显的累积,这可能与“玻璃化”物质形成有关。

不饱和脂肪酸及其衍生物在植物遭遇到逆境时具有调节作用,它们通过不同代谢途径形成结构各异、功能相关的一组化合物。一方面,作为信号分子,控制防御相关基因的转录,调节病程相关蛋白质的表达,另一方面,作为抗菌物质和愈伤物质的有效组成,提高植物的免疫能力,增强植物的抗性^[28]。不饱和脂肪酸的过氧化被认为是种子在储藏过程中丧失生活力的主要原因之一,不饱和脂肪酸的过氧化源自于抗氧化酶的水平降低^[29]。胡小荣等^[30]的研究指出,大葱种子经超干处理后,脂肪酸总体含量的增加有利于种子生活力保持。在我们之前对云南干热地区两种植物木豆(*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)^[31]和酸角(*Tamarindus indica* L.)^[32]种子的超干燥保存试验中发现,适宜的脱水处理保存使种子的不饱和脂肪酸含量增加,而这一状况有益于种子生活力的维持。本研究同样发现,适宜的脱水处理使坡柳种子油酸和亚麻酸的含量提高,脂肪酸不饱和指数的提高有利于保持较高的种子发芽率。

参考文献:

- [1] Buitink J, Leprince O. Glass formation in plant anhydrobiotes; survival in the dry state[J]. *Cryobiology*, 2004, 48(3):215-228
- [2] Sankaranarayanan S, Bama P, Ramachandran J, et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional users in Villupuram district of Tamil Nadu, India[J]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, 4(12):1089-1101
- [3] Abulude F O. Phytochemical Screening and Mineral Contents of Leaves of Some Nigerian Woody Plants[J]. *Research Journal of Phytochemistry*, 2007, 1(1):33-39
- [4] Berjak P, Pammenter N. From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective[J]. *Annals of Botany*, 2008, 101(2):213-228
- [5] 宋松泉,程红炎,龙春林,等. 种子生物学研究指南[M]. 北京:科学出版社,2005
- [6] 国际种子检验协会(ISTA). 1996国际种子检验规程.(农业部

- 全国农作物种子质量监督检测中心,浙江大学种子科学中心译) [M]. 北京:中国农业出版社,1996
- [7] 洪 伟. 林业试验设计技术与方法[M]. 北京:科学技术出版社,1993
- [8] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2003
- [9] Slade L, Levine H. Water and the glass transition-Dependence of the glass transition on composition and chemical structure: Special implications for flour functionality in cookie baking[J]. *Journal of Food Engineering*, 1995, 24(4):431-509
- [10] Chang B S, Beauvais R M, Dong A, *et al.* Physical factors affecting the storage stability of freeze-dried interleukin-1 receptor antagonist: glass transition and protein conformation[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1996, 331(2):249-258
- [11] Prestrelski S J, Tedeschi N, Arakawa T, *et al.* Dehydration-induced conformational transitions in proteins and their inhibition by stabilizers[J]. *Biophysical Journal*, 1993, 65(2):661-671
- [12] 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
- [13] Zheng G H. Ultradry seed storage: Improve strategy and technology for germplasm conservation[J]. *Chin Biodiv*, 1998(2):61-65
- [14] Leprince O, Vertucci C W, Hendry G A F, *et al.* The expression of desiccation-induced damage in orthodox seeds is a function of oxygen and temperature[J]. *Physiologia Plantarum*, 1995, 94(2):233-240
- [15] Li Y, Feng H Y, Chen T, *et al.* Physiological responses of *Limonium aureum* seeds to ultra-drying[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007, 49(5):569-575
- [16] Li Y, Qu J J, Dong Z B, *et al.* Storage behavior of *Zygophyllum xanthoxylon* (Bge.) Maxim seeds at low moisture contents[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2008, 30(5):651-656
- [17] Mira S, Estrelles E, González-Benito M E, *et al.* Biochemical changes induced in seeds of Brassicaceae wild species during ageing[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011:1-7
- [18] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1998, 49(1):249-279
- [19] Goel A, Sheoran I S. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing[J]. *Biologia Plantarum*, 2003, 46(3):429-434
- [20] Song S Q, Berjak P, Pammenter N. Desiccation sensitivity of *Trichilia dregeana* axes and antioxidant role of ascorbic acid[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(7):803-810
- [21] Zhu C, Chen J. Changes in soluble sugar and antioxidant enzymes in peanut seeds during ultra dry storage and after accelerated aging[J]. *Seed Science and Technology*, 2007, 35(2):387-401
- [22] Horbowicz M, Obendorf R L. Seed desiccation tolerance and storability: dependence on flatulence-producing oligosaccharides and cyclitols-review and survey[J]. *Seed Science Research*, 1994, 4(4):385-405
- [23] Leprince O, Walters-Vertucci C. A calorimetric study of the glass transition behaviors in axes of bean seeds with relevance to storage stability[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109(4):1471-1481
- [24] Wolkers W F, Tetteroo F A A, Alberda M, *et al.* Changed properties of the cytoplasmic matrix associated with desiccation tolerance of dried carrot somatic embryos. An in situ Fourier transform infrared spectroscopic study[J]. *Plant Physiology*, 1999, 120(1):153-164
- [25] van den Dries I J, van Dusschoten D, Hemminga M A. Mobility in maltose-water glasses studied with 1H NMR[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998, 102(51):10483-10489
- [26] MacFarlane D, Pringle J, Annat G. Reversible self-polymerizing high T_g lyoprotectants[J]. *Cryobiology*, 2002, 45(2):188-192
- [27] Buitink J, Leprince O. Intracellular glasses and seed survival in the dry state[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2008, 331(10):788-795
- [28] Weber H. Fatty acid-derived signals in plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(5):217-224
- [29] Rao R G S, Singh P M, Rai M. Storability of onion seeds and effects of packaging and storage conditions on viability and vigour[J]. *Scientia Horticulturae*, 2006, 110(1):1-6
- [30] 胡小荣,陶 梅,卢新雄,等. 不同含水量大葱种子贮藏后的脂肪代谢研究[J]. *植物遗传资源学报*,2006,7(4):464-467
- [31] 崔 凯,李 昆,李 立,等. 木豆种子超干保存最适含水量的选择及其机制分析[J]. *东北林业大学学报*,2008,36(5):19-21
- [32] 崔 凯,李 昆. 酸角种子超干保存最适含水量的选择及机制分析[J]. *西北农业学报*,2008,17(3):186-190