

酶促和非酶促抗氧化系统在玉米胚脱水耐性获得中的作用*

罗银玲^{1,2}, 宋松泉^{3**}, 兰芹英¹

(1 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303; 2 思茅师范高等专科学校,

云南 普洱 666500; 3 中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要: 以发育中的玉米胚为材料, 研究了玉米胚脱水耐性的发育变化及其与抗氧化系统之间的关系。结果表明, 授粉后 18 d 的胚获得萌发能力, 但不耐脱水; 授粉后 36 d 的胚开始获得耐脱水能力, 并随着发育逐渐增加。随着发育, 胚的超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 和脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 的活性逐渐降低, 过氧化氢酶 (CAT) 活性逐渐增加。授粉后 16~22 d 的玉米胚中检测不到抗坏血酸, 24 d 后胚中抗坏血酸的含量显著增加; 还原性谷胱甘肽含量在整个发育过程中逐渐增加。脱水胚的 SOD、APX 和 DHAR 的活性比对照 (未脱水) 胚低, 而 GR 和 CAT 活性在发育早期比对照胚低, 在发育中、后期高于对照胚。脱水胚的抗坏血酸和还原性谷胱甘肽含量明显低于对照胚。胚中丙二醛的含量随着发育逐渐下降, 脱水胚的丙二醛含量显著高于对照。这些结果说明 CAT 活性和谷胱甘肽含量的增加以及脂质过氧化产物丙二醛含量的下降与玉米胚脱水耐性的获得密切相关。

关键词: 抗氧化系统; 脱水耐性; 脂质过氧化; 玉米胚; 种子发育

中图分类号: Q 945

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700 (2009) 03-253-07

Possible Involvement of Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidant System in Acquisition of Desiccation Tolerance of Maize Embryos

LUO Yin-Ling^{1,2}, SONG Song-Quan^{3**}, LAN Qin-Ying¹

(1 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China; 2 Simao Teacher's College,

Puer 666500, China; 3 Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: Developing maize embryos were used to investigate the relationship between developmental changes in desiccation tolerance and antioxidant system. The results indicated that maize embryos acquired germinability at 18 days after pollination (DAP), but were desiccation-sensitive. Maize embryos started to acquire desiccation tolerance at 36 DAP, and the tolerance to dehydration gradually increased with development. With embryo development, the activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) and dehydroascorbate reductase (DHAR) gradually decreased, while catalase (CAT) activity significantly increased. The ascorbic acid (AsA) contents could not be detected in 16–22 DAP embryos, and notably increased in 24–50 DAP embryos. Reduced glutathione (GSH) contents gradually increased during development of embryos. The activities of SOD, APX and DHAR in dehydrated embryos were lower than those in control (non-dehydrated embryos), however, the CAT and GR activities were higher in control embryos than in dehydrated samples during the early stage of development, and were lower during the middle and late stages. Contents of

* 基金项目: 国家自然科学基金 (30870223)

** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: sqsong@ibcas.ac.cn

收稿日期: 2008-12-22 2009-04-07 接受发表

作者简介: 罗银玲 (1978-) 女, 博士, 主要从事种子脱水耐性和植物运动的相关研究。

AsA and GSH of dehydrated embryos obviously decreased compared with non-dehydrated embryos. Malondialdehyde (MDA) contents of embryos gradually decreased with development, and those of dehydrated embryos were higher than control. These results showed that the increase in catalase activity and AsA and GSH contents, and decrease in MDA content were closely related to acquisition of desiccation tolerance of maize embryos.

Key words: Antioxidant system; Acquisition of desiccation tolerance; Lipid peroxidation; Maize embryo; Seed development

种子脱水耐性的相对水平随发育过程而变化, 当种子成熟时胚的脱水耐性增加, 当种子萌发时胚又变为不耐脱水 (Kernode, 1997; Pammenter and Berjak, 1999)。脱水耐性的获得通常比自然干燥事件本身要早得多, 种子在发育过程中不断获得脱水耐性, 这可能是当发育进行时逐渐发生的生理和形态变化的结果, 其中包括后期阶段专一性保护物质的合成 (Kernode, 1997)。傅家瑞和宋松泉 (2001) 也指出种子的耐脱水性是在发育过程中逐步形成的。

关于种子脱水耐性的机制, 已有一些综述性的文章 (Pammenter and Berjak, 1999; 傅家瑞和宋松泉, 2001; Kranner and Birtic, 2005; Berjak, 2006)。到目前为止, 与种子脱水耐性相关的机制主要包括: 细胞内去分化, 代谢降低, 抗氧化系统的存在和有效作用, 寡糖和胚胎发生后期高丰度表达 (late embryogenic abundant, LEA) 蛋白等保护性分子的积累。在这些机制中, 抗氧化系统被认为在种子脱水耐性的获得中起重要的作用。种子中产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的主要部位是线粒体, 而过氧化物酶体、细胞质膜和脂质非酶促自动氧化也是 ROS 的来源 (Bailly 等, 2004; 罗银玲和宋松泉, 2004)。ROS 能与脂质起反应, 导致膜脂过氧化作用增强, 使膜的结构和功能受到伤害。McDonald (1999) 提出脂质过氧化对膜的结构具有严重的伤害作用, 可能是种子劣变的主要原因之一。在迅速老化的大豆种子中, 生活力的丧失和活力的下降与脂质过氧化作用的增强有关 (Khan 等, 1996)。最近, Berjak and Pammenter (2008) 提出活性氧与抗氧化剂在脱水耐性中起重要作用。在顽拗性种子 (recalcitrant seed) 和吸胀后不耐脱水的正常性种子 (orthodox seed) 中抗氧化系统的研究较多 (Leprince 等, 1999; Bailly 等, 2004), 但在正常性种子发育过程中脱水耐性的获得与抗氧化系统的关系还不清楚。

在种子中 ROS 清除体系主要包括酶促和非

酶促抗氧化系统。酶促抗氧化系统主要由超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 和脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 组成, 非酶促抗氧化系统主要由抗坏血酸 (AsA) 和还原性谷胱甘肽 (GSH) 组成。罗银玲等 (2005) 曾报道了玉米胚发育早期 (授粉后 16~24 d) SOD、CAT 和 APX 的活性变化, 但因为选择的发育时期较短, 且只有 4 个时间点, 不能充分说明玉米胚整个发育过程中这三种酶的变化模式。本文在原有工作的基础上测定了玉米胚整个发育过程中 (授粉后 15~50 d) 上述 5 种抗氧化酶活性以及 AsA 和 GSH 含量的变化, 试图回答酶促和非酶促抗氧化系统的发育变化, 以及这些变化与胚脱水耐性获得的关系。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供试玉米品种为农大 108 号, 购于中国农业大学农学院。种子于 2005 年 7 月播种在中国科学院西双版纳热带植物园内, 常规水肥管理; 待抽穗后, 人工授粉; 取授粉后天数 (days after pollination, DAP) 不同的玉米种子为实验材料。种子采收后, 将胚剥出、进行脱水和各项参数的测定。

1.2 脱水处理

将不同发育时期的玉米胚放在盛有饱和 LiBr 溶液 [7% 相对湿度 (RH)] 的干燥器中 (25℃), 分别脱水约 24 h, 使胚的含水量降到 $0.05 \pm 0.01 \text{ g/g}$ 。

1.3 含水量的测定

脱水后的玉米胚在 103℃ 下烘 17 h, 每个处理 15 个胚, 3 次重复。含水量以干重为基础来表示 ($\text{g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ DW}$, g g^{-1})。

1.4 存活率测定

将胚播种在盛有 1% 琼脂的培养皿中, 每个培养皿中播种 25 个胚, 3 次重复。在 25℃ 恒温箱中萌发一周, 胚根伸长 2 mm 作为存活的标准。

1.5 相对电解质渗漏率的测定

相对电解质渗漏率用电导率仪 (DDS-307, 上海雷磁仪器厂) 测定。在装有 20 ml 去离子水的试管中, 放入 5

个胚, 立即测定初始电导率 e_0 ; 放置 2 h (25℃, 期间摇动 3 次) 后, 第二次测定电导率 e_1 ; 然后在 100℃ 水浴中煮 2 h, 冷却后测总电导率 e_2 。相对电解质渗漏率(%) = $(e_1 - e_0) / e_2 \times 100$ 。5 次重复。

1.6 脂质过氧化产物的测定

取 0.2 g 玉米胚在液氮中磨成粉, 冰浴条件下用 5 ml 5% 三氯乙酸抽提 30 min, 在 4℃ 下, $10\,000 \times g$ 离心 15 min, 测定上清液丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的含量。按照 Hendy (1993) 的方法, 测定 MDA 与硫代巴比妥酸反应后产物的浓度来计算 MDA 的量。取上清液 1 ml 加入 3 ml 含有 0.5% 硫代巴比妥酸的 15% 三氯乙酸溶液, 在沸水浴中 15 min 后迅速冷却。经 $3\,000 \times g$ 离心 10 min 后, 取上清液测定 450 nm 和 532 nm 处的光吸收值。然后根据标准曲线计算 MDA 含量, MDA 含量用 g^{-1} DW 所含 MDA 的 nmol 数来表示 [$nmol (g\ DW)^{-1}$]。

1.7 抗氧化酶的提取和测定

根据 Jiang and Zhang (2001) 的方法, 取约 0.2 g 玉米胚置液氮中研磨成粉, 然后在 6 ml 提取液 [50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0), 1 mmol/L 乙二胺四乙酸 (EDTA), 1% 不溶性的聚乙烯吡咯烷酮 (w/v), 1 mmol/L 抗坏血酸 (AsA)] 中研磨成匀浆。匀浆在 4℃ 下, $15\,000 \times g$ 离心 20 min, 取上清液进行酶活性的测定。

超氧化物歧化酶 (EC1.15.1.1) 的测定参照 Donahue 等 (1997) 的方法, 利用 SOD 抑制氮蓝四唑 (NBT) 在光下的还原作用。反应液含 13 mmol/L 甲硫氨酸, 75 μ mol/L NBT, 16.7 μ mol/L 核黄素, 0.1 mmol/L EDTA 的磷酸缓冲液 (pH 7.8)。在 560 nm 处, 检测吸光值。SOD 活性以每毫克蛋白抑制 NBT 光化还原的 50% 作为一个酶活性单位 (Unit/mg protein)。

抗坏血酸过氧化物酶 (EC1.11.1.7) 的测定参照 Kitzler 等 (1996) 的方法, 利用 AsA 的减少来确定 APX 的活性。反应液含有 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0), 1 mmol/L AsA, 0.1 mmol/L H_2O_2 。检测 1 min 内反应液在 290 nm 处光吸收值 ($2.8\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) 的变化, 以每分钟每毫克蛋白 AsA 的减少来表示酶活性 (μ mol AsA/min·mg protein)。

过氧化氢酶 (EC1.11.1.6) 的测定参照 Aebi (1983) 的方法, 反应体系含有 30 mmol/L H_2O_2 的 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0)。利用 CAT 促进 H_2O_2 分解, 测定反应体系在 240 nm ($0.04\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) 处光吸收值的变化。酶活性以每分钟每毫克蛋白分解 H_2O_2 的微摩尔数来表示 (μ mol H_2O_2 /min·mg protein)。

谷胱甘肽还原酶 (EC1.6.4.2) 的测定参照 Halliwell and Foyer (1978) 的方法。利用 GR 在还原氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 时要消耗 NADPH, 检测 NADPH 在 340 nm ($6.22\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) 处的减少量来表示 GR 的活性。反应液含有

50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.8), 5 mmol/L $MgCl_2$, 0.5 mmol/L GSSG。以每分钟每毫克蛋白转化的 NADPH 的 nmol 数来表示酶活性 (nmol NADPH/min·mg protein)。

脱氢抗坏血酸还原酶 (EC1.8.5.1) 的测定参照 Arri-goni 等 (1992) 的方法, 测定 265 nm ($14.0\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) 处抗坏血酸的增加速率。反应液含有 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0), 0.5 mmol/L 脱氢抗坏血酸, 2.5 mmol/L 还原型谷胱甘肽 (GSH)。以每分钟每毫克蛋白生成 AsA 的 nmol 数来表示酶活性 (nmol AsA/min·mg protein)。

1.8 AsA 和 GSH 的含量测定

抗坏血酸的测定参照 Liso 等 (1984) 的方法。取 0.5 g 玉米胚用 10 ml 5% 的偏磷酸在 4℃ 下匀浆。匀浆用 $10\,000 \times g$ 离心 10 min, 取上清液测定 AsA 的含量。在提取液中加入纯的抗坏血酸氧化酶, 在 265 nm 处测定抗坏血酸的减少。

还原型谷胱甘肽的测定参照 Griffith (1980) 的方法。取 0.5 g 玉米胚在 10 ml 5% 的磺基水杨酸中浸提, 在 4℃ 下, $14\,000 \times g$ 离心 10 min, 取上清液测定谷胱甘肽含量。利用 5, 5'-二硫代-(2-硝基苯甲酸) [5, 5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)] 和 GR 的反应循环 (类似谷胱甘肽), 以在 412 nm 处的吸光值来表示谷胱甘肽总量。用 2-乙烯吡啶 (2-vinylpyridine) 排除 GSH 后, 测得氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 的量。总量减去 GSSG 量即得 GSH 量。

1.9 蛋白质含量的测定

蛋白质含量的测定参照 Bradford (1976) 的方法, 用牛血清白蛋白作标准。

2 结果

2.1 玉米胚发育过程中脱水耐性的获得及其变化

授粉后 14 d 的玉米胚不能萌发; 16 DAP 的萌发率为 $53.8 \pm 4.8\%$; 18 DAP 的萌发率达到 100%, 但此时的胚不耐脱水, 当含水量从 $2.76\ g/g$ 脱水至 $0.08\ g/g$ 时, 胚的存活率完全丧失 (图 1: A)。

授粉后 28 d 的胚开始获得脱水耐性, 脱水后的存活率为 2.5%; 32 DAP 的胚存活率为 $43.75 \pm 0.25\%$; 36 DAP 的存活率为 100%。胚发育过程中, 其相对电解质渗漏率逐渐下降 (图 1: B)。例如, 14 DAP 和 50 DAP 的胚的相对电解质渗漏率分别为 $38.75 \pm 3.27\%$ 和 $7.94 \pm 0.92\%$, 后者比前者下降了 80%。脱水胚的相对电解质渗漏率比未脱水胚高, 如 14 DAP 时增加了 47%, 36 DAP 时增加了 22%, 到 50 DAP 时只增加了 1.7%; 但随着发育进程, 脱水胚的相对电解质渗漏率逐渐降低 (图 1: B)。

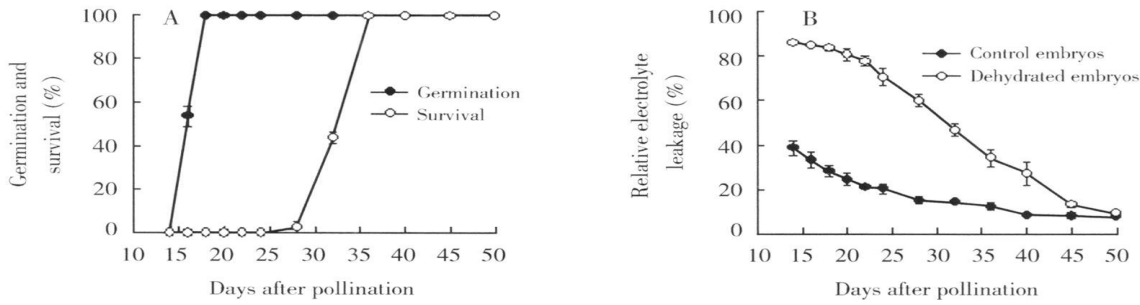


图1 玉米胚发育过程中萌发能力和脱水耐性的变化
玉米胚在 25℃、7% RH 下被脱水到 0.05±0.01 g/g。A: 萌发率和存活率; B: 相对电解质渗漏率

Fig. 1 Changes in germinability and desiccation tolerance of maize embryos during development

Maize embryos were dehydrated to a water content of 0.05±0.01 g/g at 25℃ and 7% RH. A, germination and survival; B, relative electrolyte leakage

2.2 玉米胚发育过程中 SOD、CAT、APX、GR 和 DHAR 活性的变化

随着发育, 未脱水胚的 SOD、APX、GR 和 DHAR 的活性逐渐降低, 而 CAT 的活性则逐渐增加 (图 2); 脱水胚的 SOD 和 APX 活性下降; GR 活性在发育早期增加, 直到 22 DAP, 然后下降; CAT 活性显著增加; DHAR 活性则显示出无规律的变化 (图 2)。

在胚的发育过程中, 脱水胚的 SOD 和 DHAR 活性明显低于未脱水胚, 脱水胚的 APX 活性稍微低于未脱水胚。在发育早期, 脱水胚的 CAT 和 GR 活性低于未脱水胚; 在发育后期, 脱水胚的 CAT 和 GR 活性高于未脱水胚 (图 2)。

2.3 玉米胚发育过程中 AsA 和 GSH 含量的变化

授粉后 16~ 22 d 的玉米胚中检测不到 AsA, 24~ 50 DAP 的胚中 AsA 的含量显著增加, 且含量大致相同, 约为 0.17 mg/g DW (图 3: A)。GSH 含量在发育过程中逐渐增加, 从 16 DAP 到 50 DAP 增加了约 124% (图 3: B)。与未脱水胚相比, 脱水胚的 AsA 和 GSH 明显降低 (图 3: B)。

2.4 玉米胚发育过程中 MDA 含量的变化

在玉米胚发育过程中 MDA 的含量逐渐下降, 而且脱水胚的 MDA 含量显著地高于未脱水胚 (图 4)。例如, 16 DAP 和 50 DAP 的胚的 MDA 含量分别为 56.93 和 29.49 nmol/g DW, 脱水后, 它们的 MDA 含量分别增加了 100% 和 70%。

3 讨论

授粉后 14~ 45 d, 玉米胚的鲜重和干重不断

增加; 45 DAP 时, 种子的干重达到最大 (未列出数据), 为玉米种子的生理成熟期。16 DAP 的离体胚开始具有萌发能力, 18 DAP 的离体胚获得 100% 的萌发能力, 但脱水后存活率为零 (图 1)。20 DAP 的胚能经受轻微的脱水, 但严重脱水时存活率仍然为零 (未列出数据); 结果说明当胚获得 100% 的萌发能力时它们可以耐受一定程度的脱水。玉米胚发育过程中脱水后的存活率逐渐增加, 相对电解质渗漏逐渐降低; 未脱水胚和脱水胚的相对电解质渗漏率的差值随着发育逐渐减少, 表明它们的耐脱水能力逐渐加强。这些结果说明胚的脱水耐性是逐渐获得的, 脱水耐性是一个数量性状, 而不是一个质量性状; 与 Sun and Leopold (1993) 研究大豆的结果一致。

随着发育, 玉米胚的 SOD、APX、GR 和 DHAR 活性降低, 而 CAT 活性却增加 (图 2)。Bailey 等 (2001) 也发现, 抗氧化酶活性变化是与大豆种子发育相联系, 成熟大豆种子中 CAT 活性高, SOD 和 APX 活性低, 而不耐脱水的未成熟种子则相反。APX 活性在种子脱水过程中降低似乎是一个常见的现象 (De Gara 等, 2003; Ganczarska 等, 2008)。向日葵种子在发育过程中 SOD 活性变化不大, CAT 活性逐渐增加, CAT 活性增加与脱水耐性的获得相关; CAT 使过氧化氢含量降低, 电解质渗漏下降, 因此高的 CAT 活性对阻止过氧化反应带来的伤害是必需的 (Bailey 等, 2004)。GR 的活性变化在不同的种子中不同, 在法国豆 (French bean) 和黄羽扇豆 (*Lupinus luteus*) 种子中, GR 在脱水耐性开始获得时增加 (Bailey 等, 2001;

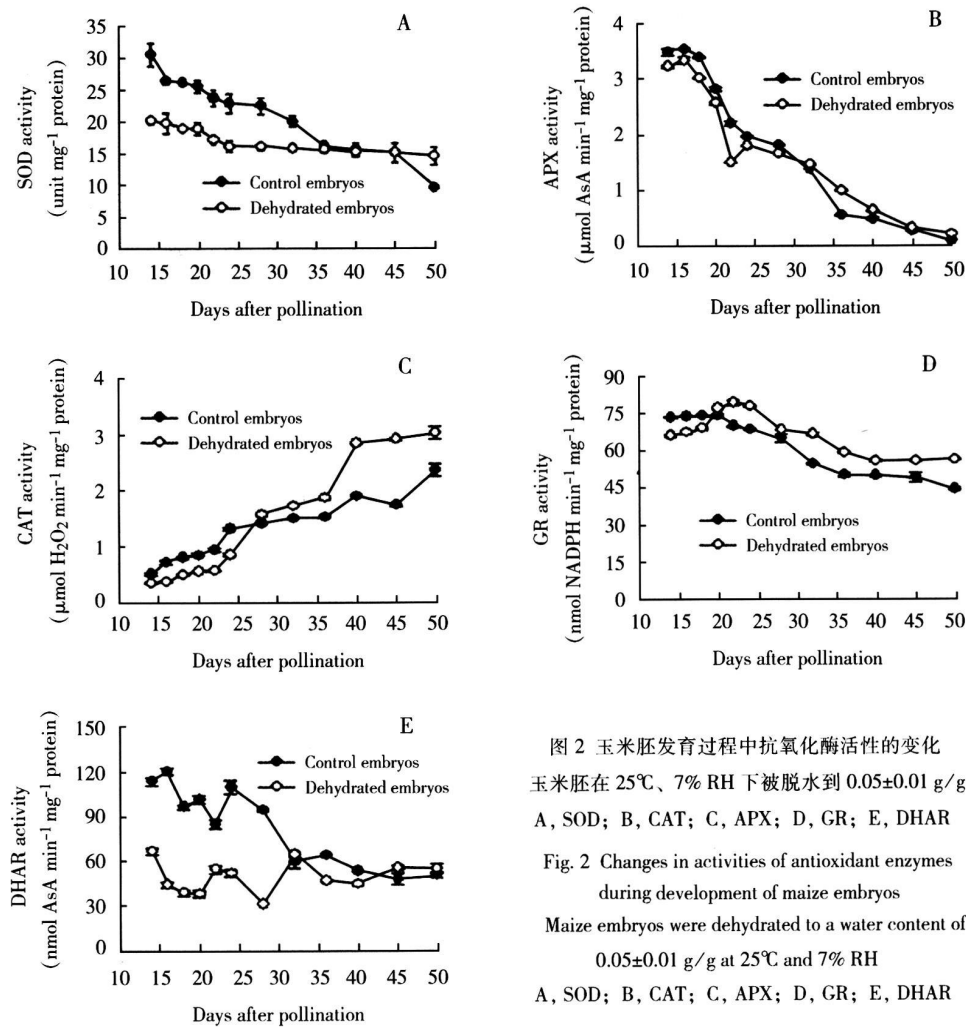


图2 玉米胚发育过程中抗氧化酶活性的变化
玉米胚在 25℃、7% RH 下被脱水到 0.05±0.01 g/g
A, SOD; B, CAT; C, APX; D, GR; E, DHAR
Fig. 2 Changes in activities of antioxidant enzymes during development of maize embryos
Maize embryos were dehydrated to a water content of 0.05±0.01 g/g at 25℃ and 7% RH
A, SOD; B, CAT; C, APX; D, GR; E, DHAR

Garczarska 等, 2008), 但在向日葵种子中没有明显的变化 (Bailly 等, 2003), 而在硬粒小麦 (*Triticum durum*) 种子中 GR 活性是逐渐下降的 (De Gara 等, 2003)。发育过程中玉米胚 SOD、APX、GR 和 DHAR 活性的降低可能使 ROS 的伤害加大, 但这种伤害可能被 CAT 活性增加所补偿; Smimoff (1993) 认为这些酶在防止氧化伤害过程中的作用可能是协同的。正常性种子成熟脱水过程中, ROS 的量会减少 (Leprince 等, 2000); 可能是由于种子在发育过程中含水量的降低导致了呼吸作用变弱 (Taiz and Zeiger, 2002)。在发育早期, 脱水胚的 SOD、CAT、GR 和 DHAR 活性低于未脱水胚, 但在发育的中、后期它们的活性高于或者类似于未脱水胚 (图 2); 这些结果表明, 幼嫩胚的抗氧化酶活性较成熟胚

易受脱水的伤害, 与发育前期胚的存活率低和电解质渗漏率高一致 (图 1)。Bailly 等 (2004) 发现脱水能诱导 CAT 的表达, 而且种子含水量愈高对 CAT 增量表达的调节就愈明显。Illing 等 (2005) 也发现耐脱水的组织在脱水后抗氧化酶的活性会增加。

AsA 和 GSH 是活性氧清除系统中的非酶促组分, 它们能为 APX 提供电子, 能清除脂质自由基, 降低脂质过氧化作用 (McDonald, 1999)。Arrigoni 等 (1992) 研究蚕豆 (*Vicia faba*) 时发现, AsA 含量在种子发育的早期逐渐增加, 到脱水阶段逐渐降低, 最后完全消失。在正常性种子意大利松 (*Pinus pinea*), 蚕豆和燕麦 (*Avena sativa*) 中也检测不到 AsA, 但在顽拗性种子银杏 (*Ginkgo biloba*), 土耳其栎 (*Quercus cerris*) 和欧

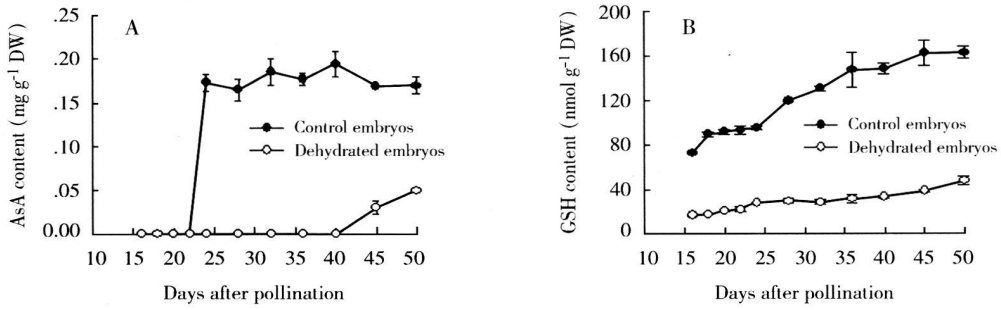


图3 玉米胚发育过程中AsA和GSH含量的变化

玉米胚在25℃、7% RH下被脱水到0.05±0.01 g/g。A, AsA; B, GSH

Fig. 3 Changes in AsA and GSH contents during development of maize embryos

Maize embryos were dehydrated to a water content of 0.05±0.01 g/g at 25℃ and 7% RH. A, AsA; B, GSH

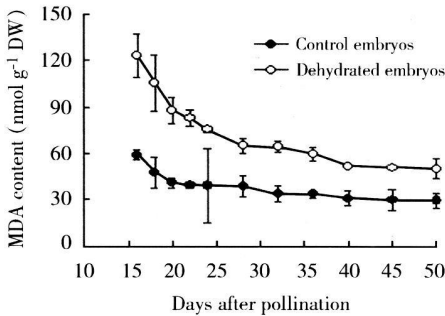


图4 玉米胚发育过程中MDA含量的变化

玉米胚在25℃、7% RH下被脱水到0.05±0.01 g/g

Fig. 4 Change in MDA content during development of maize embryo

Maize embryos were dehydrated to a water content of

0.05±0.01 g/g at 25℃ and 7% RH

程中, GSH的贡献比AsA大。

丙二醛是脂质过氧化的最终产物, 其本身对细胞也有毒害作用 (McDonald, 1999)。未脱水和脱水的玉米胚中MDA含量随着发育下降, 脱水胚的MDA含量明显高于未脱水胚 (图4); 表明随着胚的发育脂质过氧化作用降低, 脱水引起脂质过氧化作用增强。已经报道, 在顽拗性黄皮 (*Clausena lansium*, Huang等, 2008) 和箭毒木植物中 (*Antiaris toxicaria*, Cheng and Song, 2008) 随着胚轴存活率的丧失, 脂质过氧化作用显著加强。

致谢 本文的部分实验得到了中国科学院西双版纳热带植物园王如玲老师的帮助。

〔参 考 文 献〕

洲七叶树 (*Aesculus hippocastanum*) 的胚 (轴) 中都有较高的AsA含量 (Tommasi等, 1999)。随着发育, 玉米胚中的AsA含量显著增加; 脱水明显降低玉米胚中AsA含量 (图3: A), APX活性随着发育过程降低 (图2)。这些结果暗示, AsA对脱水伤害的保护作用是较小的。De Tullio and Arrigoni (2003) 认为AsA在种子脱水中不起太大的作用, 而且有可能对脱水的种子有害。未脱水和脱水的玉米胚中GSH的含量随发育进程增加 (图3), 与脱水耐性的发育一致 (图1)。Davey等 (2004) 发现成熟的苹果种子中有较大的GSH库, 这种高GSH库可能弥补低AsA含量带来的不足。在黄羽扇豆中, 胚中GSH含量在脱水耐性获得过程中一直在增加 (Garczarska等, 2008)。可以认为, 在玉米胚脱水耐性的获得过

- Aebi HE, 1983. Catalase [A]. In: Bergmeyer HU ed. Methods of Enzymatic Analyses [M]. Weinheim: Verlag Chemie, 273—286
- Arrigoni O, De Gara L, Tommasi F *et al.*, 1992. Changes in the ascorbate system during seed development of *Vicia faba* L [J]. *Plant Physiology*, **99**: 235—238
- Bailly C, Audifier C, Ladonne F *et al.*, 2001. Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality [J]. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 701—708
- Bailly C, Leymarie J, Lehner A *et al.*, 2004. Catalase activity and expression in developing sunflower seeds as related to drying [J]. *Journal of Experimental Botany*, **55**: 475—483
- Bailly C, Leymarie J, Rousseau S *et al.*, 2003. Sunflower seed development as related to antioxidant enzyme activities [A]. In: Nicol s G, Bradford KJ, Cline D *et al.* eds. The Biology of Seeds: Recent Research Advances [M]. Wallingford: CAB International, 69—75

- Berjak P, 2006. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms [J]. *Seed Science Research*, **16**: 1—15
- Berjak P, Pammenter NW, 2008. From Avicennia to Zizania: seed recalcitrance in perspective [J]. *Annals of Botany*, **101**: 213—228
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248—254
- Cheng HY, Song SQ, 2008. Possible involvement of reactive oxygen species scavenging enzymes in desiccation sensitivity of *Antiaris toxicaria* seeds and axes [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, **50**: 1549—1556
- Davey MW, Franck C, Keulemans J, 2004. Distribution, developmental and stress responses of antioxidant metabolism in *Malus* [J]. *Plant, Cell and Environment*, **27**: 1309—1320
- De Gara L, de Pinto MC, Moliterni VMC *et al.*, 2003. Redox regulation and storage processes during maturation in kernels of *Triticum durum* [J]. *Journal of Experimental Botany*, **54**: 249—258
- De Tullio MC, Arrigoni O, 2003. The ascorbic acid system in seeds: to protect and to serve [J]. *Seed Science Research*, **13**: 249—260
- Donahue JL, Okpodu MC, Cramer CL *et al.*, 1997. Responses of antioxidants to paraquat in pea leaves [J]. *Plant Physiology*, **113**: 249—257
- Fu JR (傅家瑞), Song SQ (宋松泉), 2001. Advances in study on desiccation tolerance of seeds [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* (热带亚热带植物学报), **9**: 345—354
- Garnczarska M, Bednarski W, Jancelewicz M, 2008. Ability of lupine seeds to germinate and to tolerate desiccation as related to changes in free radical level and antioxidants in freshly harvested seeds [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, **47**: 56—62
- Griffith OW, 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine [J]. *Analytical Biochemistry*, **106**: 207—212
- Halliwell B, Foyer CH, 1978. Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography [J]. *Planta*, **139**: 9—17
- Hendry GAF, 1993. Oxygen, free radical processes and seed longevity [J]. *Seed Science Research*, **3**: 141—153
- Huang H, Song SQ, Wu XJ, 2008. Response of Chinese wampee axes and maize embryos on dehydration at different rates [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, **51**: 67—74
- Illing N, Denby KJ, Collett H *et al.*, 2005. The signature of seeds in resurrection plants: a molecular and physiological comparison of desiccation tolerance in seeds and vegetative tissues [J]. *Integrative and Comparative Biology*, **45**: 771—787
- Jiang M, Zhang J, 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings [J]. *Plant and Cell Physiology*, **42**: 1265—1273
- Kermode AR, 1997. Approaches to elucidate the basis of desiccation tolerance in seeds [J]. *Seed Science Research*, **7**: 75—95
- Khan MM, Hendry GAF, Atherton NM *et al.*, 1996. Free radical accumulation and lipid peroxidation in testes of rapidly aged soybean seeds: a light-promoted process [J]. *Seed Science Research*, **6**: 101—107
- Kr  rzer OC, Durner J, Boger P, 1996. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean cells (*Glycine max*) induced by oxidative stress [J]. *Physiologia Plantarum*, **97**: 388—396
- Kranner I, Birtic S, 2005. A modulating role for antioxidants in desiccation tolerance [J]. *Integrative and Comparative Biology*, **45**: 734—740
- Leprince O, Buitink J, Hoekstra FA, 1999. Axes and cotyledons of recalcitrant seeds of *Castanea sativa* Mill. exhibit contrasting responses of respiration to drying in relation to desiccation sensitivity [J]. *Journal of Experimental Botany*, **50**: 1515—1524
- Leprince O, Hoekstra FA, Harren FJM, 2000. Unravelling the responses of metabolism to dehydration points to a role for cytoplasmic viscosity in desiccation tolerance [A]. In: Black M, Bradford KJ, Vasquez-Ramos J eds. *Seed Biology: Advances and Application* [M]. New York: CABI Publishing, 57—66
- Liso R, Calabrese G, Bionti MB *et al.*, 1984. Relationship between ascorbic acid and cell division [J]. *Experimental Cell Research*, **150**: 314—320
- Luo YL (罗银玲), Song SQ (宋松泉), 2004. Plant mitochondria, reactive oxygen species and signal transduction [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **24**: 737—747
- Luo YL (罗银玲), Song SQ (宋松泉), He HY (何惠英) *et al.*, 2005. Changes in desiccation tolerance of maize embryos during its development [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **27**: 301—309
- McDonald MB, 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment [J]. *Seed Science and Technology*, **27**: 177—237
- Pammenter NW, Berjak P, 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanisms [J]. *Seed Science Research*, **9**: 13—37
- Smirnov N, 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation [J]. *New Phytologist*, **125**: 27—58
- Sun WQ, Leopold AC, 1993. Acquisition of desiccation tolerance in soybeans [J]. *Physiologia Plantarum*, **87**: 403—409
- Taiz L, Zeiger E, 2002. *Plant Physiology* (Third edition) [M]. Sunderland: Sinauer Associates Inc
- Tommasi F, Paciolla C, Arrigoni O, 1999. The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds [J]. *Physiologia Plantarum*, **105**: 193—198