

超干种子耐贮藏性的细胞学及生理生化基础*

程红焱¹, 宋松泉², 朱 诚³, 郑光华¹

(1 中国科学院植物研究所, 北京 100093; 2 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303;

3 浙江大学生命科学院, 浙江 杭州 310029)

摘要: 种子超干贮藏是近年来种子生物学研究和植物种质资源保存领域的研究热点。本文综述了种子超干贮藏研究的进展, 包括: (1) 超干种子的细胞和亚细胞结构变化; (2) 超干处理对种子水分状态的影响以及与劣变反应速率的关系; (3) 超干种子中的自由基伤害和有毒物质的积累; (4) 超干种子中的内源抗氧化剂; (5) 糖类物质以及两性物质对极度脱水种子细胞的保护。此外, 还对此领域的研究进行了展望。

关键词: 抗氧化剂; 细胞和亚细胞结构; 生理生化变化; 自由基; 耐贮藏性; 超干种子

中图分类号: Q 945

文献标识码: A

文章编号: 0253- 2700(2005)01- 0011- 08

Cytological, Physiological and Biochemical Basis of Storability of Ultradry Seeds*

CHENG Hong-Yan¹, SONG Song-Quan², ZHU Cheng³, ZHENG Guang-Hua¹

(1 *Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; 2 Xishuangbanna Tropical Botanical*

Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China; 3 School of Life Sciences,

Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Seed ultradry storage is recently a hot research spot in the fields of seed biology and plant germplasm resources preservation. Advances in seed ultradry storage research were reviewed in this paper, implicated in (1) changes in cellular and subcellular structure of ultradry seeds; (2) effects of ultradry treatment on water state of seeds, and the relationship between the changes in water state and reaction rate of seed deterioration; (3) free radical damage and accumulation of toxic products in ultradry seeds; (4) endogenous antioxidants in ultradry seeds, and (5) protective roles of sugar and amphiphilic molecules against extreme desiccation in seed cells. In addition, perspective of research on seed ultradry storage has been made in this paper.

Key words: Antioxidant; Cellular and subcellular structure; Physiological and biochemical change; Radical; Storability; Ultradry seed

* 基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2- SW- 117), 国家自然科学基金项目 (30470183) (D39670058) 和云南省自然科学基金项目 (2003C0068M) 资助

收稿日期: 2004- 09- 05, 2004- 11- 09 接受发表

作者简介: 程红焱 (1967-) 女, 理学博士, 副研究员, 主要从事种子生物学的教学和研究。

E-mail: hycheng@ibcas.ac.cn. Tel: (010) 62591431- 6049

种子库是植物种质遗传多样性迁地保护的主要形式, 如何有效地延长种子的贮藏寿命和最大程度地减少种子在贮藏过程中细胞的衰老损伤, 对于植物种质资源的保存至关重要。种子作为植物生活史中独立存在的幼小生命个体, 在贮藏过程中会发生许多物理和化学的变化, 包括细胞完整性的破坏、酶活性的丧失、脂质氧化和其他劣变反应。目前建议 -18°C 的种子库中贮藏种子的含水量为 5%。一般认为种子库中保存种子的含水量不得低于 5% 这一极限, 否则种子会受到损伤并且种子的耐贮藏性 (storability) 将下降。但近年来的研究已突破这一传统概念, 种子的含水量不仅可以安全地降低到 5% 以下, 而且种子的耐贮藏性将提高, 并提出了超干种子贮藏 (ultrdry seed storage) 的概念 (Zheng 等, 1998)。超干种子贮藏的研究不仅在种子生理学领域, 而且在种质资源保存领域掀起了不小的热潮, 部分研究结果已在 *Nature* 上发表。本文对近年来超干种子耐贮藏性的细胞学和生理生化基础的研究进展做一综述。

1 超干种子的细胞结构变化

细胞结构的完整性是种子活力的基础, 种子在贮藏过程中细胞膜的损伤、细胞器的畸变与解体以及各种大分子的变性将导致种子活力的下降。

1.1 超干处理对种子细胞膜的影响

细胞代谢活性伴随着种子活力的下降而降低, 在调控细胞代谢的各因子中, 代谢组分的空间分隔以及代谢复合物的正确组合是非常重要的, 而膜系统对于细胞内的区域化具有极其重要的作用, 一旦膜系统遭到破坏则立即引起代谢异常, 加速种子活力的丧失。生物膜的完整性基于极性和非极性部分的整齐排列, 磷脂双分子层的结构保证了膜结构和功能的完整性。一般认为引起脱水敏感细胞的损伤和死亡的原初位点是细胞膜系统, 保护细胞膜组分不受脱水影响的程度可能是脱水耐性的体现。当种子含水量下降时, 磷脂的排列发生变化, 电镜观察结果表明, 膜结构的变化包括膜磷脂分子由双层排列状态变为六角形构相, 细胞膜从流动相变为凝胶相, 从而破坏了细胞膜的渗透调节功能。待种子吸胀时, 膜结构又恢复原状, 膜上的磷脂分子重新组合成双分子层结构。膜相变发生时一部分细胞内容物不可避免地渗漏到细胞外。因而细胞膜相变, 即膜构相修复过程所需时间的长短以及最终整合的完善程度, 决定着种子的活力水平 (Smith and Berjak, 1995; Bewley, 1997)。

膜结构的稳定首先表现在膜的选择透性上, 种子活力下降过程中细胞内大量的电解质外渗是细胞膜受损害的一个主要标志。油菜 (*Brassica campestris*)、白菜 (*Brassica pekinensis*) (程红焱等, 1991)、花生 (*Arachis hypogaea*)、榆树 (*Ulmus pumila*) (程红焱, 1994)、高粱 (*Sorghum vulgare*) (林坚等, 1993)、洋葱 (*Allium cepa*) (Heyes 等, 1997) 等超干种子若直接浸种会引起细胞内物质的大量外渗, 而经严格回水处理后胞内电解质的外渗量会显著降低, 表明回水处理对超干种子细胞膜的物理修复具有良好的效果。经过一定时间贮藏后, 超干种子在吸胀时细胞内电解质的外渗量比未经超干处理的种子明显降低, 这表明在贮藏过程中超干种子细胞膜的选择透性比未超干种子保持得完善 (程红焱, 1994)。

膜的流动性能较好地反映细胞膜的物理状态, 细胞膜处于流动相是细胞进行生命活动的必要条件。汪晓峰等 (1999, 2003) 应用荧光探针 1, 6-二苯基-1, 3, 5-已三烯研究白菜和榆树种子超干处理对膜流动性的影响, 结果表明种子经超干处理后, 在人工老化

和自然老化条件下, 与 -20°C 条件下贮藏的种子比较, 超干贮藏种子的细胞膜的微粘度无显著变化, 过干贮藏种子的细胞膜的微粘度虽然有所偏高, 但也低于高含水量室温贮藏的种子。这些结果与超干种子具有较高活力水平完全一致, 可能是超干贮藏较好地维持了膜蛋白的完整性及磷脂双分子层中碳氢链分子的流动性。

膜的功能主要靠嵌合在膜磷脂双分子层内的膜蛋白实现, 膜脂的物理状态对膜蛋白具有调控作用, 膜脂状态的变化会引起膜蛋白结构和功能的改变 (Heyes 等, 1997)。 H^{+} -ATP 酶位于质膜上, 在种子萌发时的能量转换中起着十分重要的作用, 其活性的高低与种子活力密切相关, 高活力种子具有较高的 H^{+} -ATP 酶活力。实验表明, 超干种子贮藏过程中的 H^{+} -ATP 酶含量和活性能够较好地保持, 而未超干处理的种子中 H^{+} -ATP 酶的含量和活性均降低 (汪晓峰等, 2003)。

1.2 超干处理对种子细胞器超微结构的影响

种子发生劣变时细胞代谢活性下降, 细胞学上的劣变也随之发生, 首先表现在胚根尖分生细胞超微结构的变化 (程红焱等, 1991; Cheng 等, 1990, 1997)。一般轻度老化但仍具有萌发力 的种胚细胞常呈现细胞核的局部泡状隆起; 线粒体和质体变形; 高尔基体变形且数量减少; 多核糖体的形成减缓等现象。在劣变严重的情况下细胞内膜结构肿胀且无序、圆球体破裂, 在细胞内融合成团并沿壁排列、质体内淀粉粒裂解甚至消失 (Priestley, 1986)。

张明方等 (1999) 用透射电镜观察经老化而未超干处理的洋葱 (*Allium cepa*) 种子胚根尖的细胞超微结构, 发现细胞核膜界限不清晰, 有的细胞核有胞饮现象, 有的呈解体状; 线粒体变形; 脂质体融合成团且排列不规则, 出现电子致密物质 (脂肪消耗后的残留物)。而经同样老化处理的超干种子, 细胞核正常, 核膜界限清晰, 内质网正常且丰富, 脂质球沿细胞壁呈环状排列, 无中空的电子致密物质。程红焱 (1994) 在油菜、花生、大豆 (*Glycine max*) 和小麦 (*Triticum aestivum*) 等超干种子中也观察到类似的结果。扫描电镜观察种皮细胞外部结构时发现, 超干处理后种皮细胞的排列发生改变, 但回水后能恢复正常 (张明方等, 1999)。尽管大豆种子在超干过程中有裂种现象, 但超干前经吸湿回干或以聚乙二醇 (PEG) 等处理后, 可以避免此现象, 从而保证了细胞外部形态结构的完整性。

2 超干处理对种子内水分状态的影响

2.1 自由水和束缚水

种子水分按其存在状态可分为自由水 (free water) 和束缚水 (bound water)。细胞中水分的物理状态与其作用是相互联系的, 由于亲水和疏水的相互作用, 水分可以影响大分子如膜脂、核酸及蛋白质的结构, 因此水分的物理状态对干种子内能否发生生化反应有着决定性的作用。种子内水分存在的状态, 以及各种状态水分之间的比例与种子本身固有的特性有着直接的关系。水分胁迫时种子中的束缚水对其耐干性起着关键作用, 即种子在超干处理后能否存活以及贮藏效果如何取决于种子尤其是种胚细胞对束缚水的保持能力 (程红焱, 1994)。

红花种子经超干处理后, 自由水/束缚水的比率随含水量下降而降低, 在超干状态下

种子中大部分束缚水仍然保持着, 这为超干种子保持高活力提供了有利的内部环境条件 (程红焱, 1994)。程红焱等 (1996) 对不同类型的种子 (淀粉类、油料类、蛋白质类、耐干品种以及对水分敏感的品种) 进行水分热力学的分析表明, 对干燥较敏感的榆树和大豆种子保持束缚水的能力低于耐干性较强的油菜、芝麻 (*Mechania urtiofolia*) 和花生种子, 较易失去等温线第一吸附区域的强吸附水, 即在相同干燥条件下比较容易丢失关键性的束缚水, 从而引起大分子构象的变化。在水稻 (*Oryza sativa*) 种子中也发现, 吸湿回干处理可以提高种子的热力学 K' 和 K 值, 增加种子对等温线上第一吸附区域水分的束缚能力; 种子对束缚水的保持能力越大, 其超干贮藏的效果越好 (程红焱, 1994)。

2.2 水分含量与劣变反应速率

低的含水量和贮藏温度是延长种子贮藏寿命的两个关键因素, 低含水量和低温提高了细胞质的粘滞度, 促进玻璃化的形成。玻璃化物质的高度粘滞性导致了细胞内分子流动性的降低, 阻止了细胞质中分子的扩散, 从而降低了劣变反应的速率, 减少了老化过程中细胞结构和化学组分的变化 (Buitink 等, 1998a, b; Leopold 等, 1994; Sun, 1997)。玻璃化不仅降低了劣变反应的速率, 而且可以提高酶的稳定性 (Chang 等, 1996)。Buitink 等 (1998a, b) 用极性硝基氧探针 CP 标记豌豆 (*Pisum sativum*) 胚轴细胞, 利用电子顺磁共振 (electron paramagnetic resonance, EPR) 和饱和转移电子顺磁共振 (saturation transfer electron paramagnetic resonance, ST-EPR) 技术研究了不同贮藏条件下种子细胞内分子的运动特征与种质老化速率的关系, 表明分子流动性随着温度和含水量变化的趋势与老化速率的变化是一致的, 并存在线性对数关系。通过研究豌豆胚轴细胞中的分子流动性与细胞含水量和温度的相关性, 以及分子流动性与同样依赖于温度和含水量的耐贮藏性之间的关系, 发现随着分子流动性的降低, 种子的耐贮藏性提高; 在不同温度条件下, 当种子处于最佳贮藏含水量时的分子流动性都是处于最低水平。基于最低分子流动性和最佳贮藏含水量之间的关系, 发现豌豆胚轴在 -20°C 条件下含水量为 $0.10\text{ g H}_2\text{O/gDW}$ 时分子流动性最低。这一结果与 Vertucci 和 Roos (1993) 采用热力学方法对低温下种子最佳贮藏含水量的预测结果一致。Buitink 等 (2000a) 利用 ST-EPR 技术测定了不同温度和含水量的凤仙花 (*Impatiens balsamina*) 种子细胞质中分子的流动性, 发现种子老化速率和半生活力时间 (half viability times) 直接相关。Vertucci 等 (1994) 的研究也表明豌豆胚轴细胞中分子流动性与温度和含水量有关, 也同样与豌豆老化速率、活力和萌发力丧失相关, 分子流动性的最低值和种子的最大耐贮藏性发生在相近的含水量水平。有研究表明种子含水量并不是愈低愈好, 更低的含水量不能提高种子贮藏寿命, 反而会损害种子的生活力 (Buitink 等, 1998b; Vertucci 等, 1994)。存留的水分子对保持生物大分子的结构是必需的, 水分子可以淬灭自由基, 极度失水会增强自由基的活动 (Buitink 等, 1998a)。

3 超干种子中的自由基毒害和有毒物质的积累

种子的贮藏过程也就是生命的衰老过程。解释衰老的学说有衰老的免疫学说、衰老的有害物质积累学说、大分子交联学说、衰老的基因学说以及衰老的自由基学说 (Priestley, 1996), 而衰老的自由基学说是当前倍受重视的热点。自由基是游离存在并具有奇数电子的分子、原子或离子, 其化学性质活跃, 在生物体内不断地产生, 也不断地被清除。在正

常的生理状态下, 处于平衡状态的自由基的浓度是极低的, 它们不仅不会损伤机体, 而且还具有其独特的生理作用。当环境物理因素、外源性化学物质间接诱导产生的自由基得不到及时清除时, 或者内源性自由基的产生和清除失去平衡时, 细胞内的过多的自由基有较强的氧化作用, 能引发膜上不饱和脂肪酸产生过氧化反应, 引起蛋白质、DNA 和 RNA 等生物大分子的损伤 (Miller, 2001; Apel and Hirt, 2004)。

极度脱水导致细胞膜外围的水膜连续界面被破坏, 使膜上敏感位点的大分子暴露而易受活性氧的伤害, 加速了过氧化的连锁反应, 最终导致细胞衰老和种子活力的下降。到目前为止, 引用最多的种子劣变的原因是脂质过氧化, 脂质过氧化始于自由基的产生 (McDonald, 1999)。

丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 是脂质过氧化的最终产物, 种子在贮藏过程中随着劣变的发生而逐渐积累 MDA (Priestley, 1986; McDonald, 1999)。超干种子在贮藏过程中的 MDA 含量和挥发性醛类物质的释放量都低于未超干处理的种子, 表明超干种子在贮藏过程中脂质过氧化作用降低, 可以认为脂质过氧化作用降低是超干种子耐贮藏性提高的生理原因之一 (程红焱等, 1991; 胡家恕等, 1999; 朱诚等, 1994; Walters, 1998)。

朱诚等 (2000) 的研究表明, 超干花生种子 [含水量 (moisture content, MC) 为 2.11%] 在常温条件下能显著地延长种子的耐贮藏性, 超干贮藏过程中 MDA 和挥发性醛的产生量较低。不同含水量 (MC 为 7.1% ~ 1.2%) 的洋葱种子分别贮藏在 35℃、室温、15℃和 5℃条件下 1~3 年, 适度超干处理能延长种子的贮藏寿命; 种子贮藏的最适含水量随温度的改变而发生相应的变化, 35℃时最适 MC 为 3.4%, 室温时为 3.4% ~ 3.5%, 15℃时为 4.5% ~ 5.1%, MC ≤ 2.2% 不利于延长种子寿命 (朱诚, 2001)。在室温自然条件下贮藏 1~3 年, 适度超干的 (MC 为 3.4%) 种子中 MDA 和 H₂O₂ 的含量、以及 O₂⁻ 的产生速率显著低于未超干处理的 (MC 为 7.1%) 种子和高度超干的 (MC 为 1.2%) 种子, 而抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的活性显著地高于未超干处理的 (MC 为 7.1%) 种子和高度超干的 (MC 为 1.2%) 种子 (朱诚, 2001)。

4 超干种子的内源抗氧化剂

抗氧化系统分为酶促抗氧化系统和非酶促抗氧化系统。酶促抗氧化系统有 SOD、CAT、APX、谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR)、脱氢抗坏血酸还原酶 (dehydroascorbate reductase, DHR) 和半脱氢抗坏血酸还原酶 (monodehydroascorbate reductase, MDHR)。酶促抗氧化系统中起主要作用的是 SOD、CAT 和 APX, 三者协同作用共同清除活性氧的伤害 (Miller, 2001; Apel and Hirt, 2004)。

Priestley 等 (1985) 认为种子中的自由基在低水分下运动受阻、攻击力减弱。超干种子内 SOD、APX 和 CAT 是种子自身抵抗活性氧、清除自由基的酶促系统 (Leprince 等, 2000)。经过一定时间贮藏的白菜 (程红焱等, 1991)、油菜、黄瓜 (*Cucumis sativus*) (Zeng 等, 1998) 等超干种子吸胀萌发后仍能保持较高的抗氧化酶活性, 与低温贮藏种子并无明显的差异, 而未超干种子的抗氧化酶活性则大部分丧失; 说明种子在超干贮藏过程中, 抗氧化酶活性的保持比较高含水量的种子要好, 为种子在随后的萌发过程中清除细胞

内因脂质过氧化产生的毒素奠定了有利的基础。虽然超干种子在贮藏过程中, 种子内 SOD、APX 和 CAT 仍保持较高的活性, 但种子在超干状态下这些酶促反应是否发生还不清楚, 可能只有在吸胀几小时后才开始起作用。

种子内存在一些非酶促抗氧化系统, 包括 β -胡萝卜素、抗坏血酸 (ascorbic acid, AsA)、 α -生育酚 (α -tocopherol)、还原型谷胱甘肽 (reduced glutathione, GSH) 等。程红焱 (1994) 测定了不同含水量的油菜种子中的 AsA、 α -生育酚和 GSH 的含量, 发现这些抗氧化剂的含量与种子脱水程度无关。经过老化后 AsA 和 GSH 的含量在不同含水量的种子中以相同的幅度下降, 可以认为在超干贮藏过程中 AsA 和 GSH 对清除活性氧的能力与种子在较高含水量时一样。但 α -生育酚的变化则不同, 经过同等老化处理后超干种子的 α -生育酚含量比对照种子高, 一方面表明种子劣变程度低, 消耗的 α -生育酚要少, 另一方面也表明超干种子具有相对高的 α -生育酚含量, 清除活性氧的潜在能力比较高含水量种子强。

张明方等 (1999) 对超干洋葱种子进行了抗氧化剂的研究, 经同样时间人工老化后的超干种子中还原态 AsA 和 α -生育酚的含量明显高于未超干种子, 而且在随后的吸胀过程中仍然保持较高的水平。

5 糖类物质以及两性物质对极度脱水细胞的保护

种子脱水至一定的含水量, 细胞膜由流动相转变为凝胶相。细胞膜在失去水分时, 在低水分下某些物质可以替代水分子通过氢键与极性大分子结合, 从而避免细胞膜由于水分的丧失导致不可逆的伤害, 在含水量极低的状态下起到稳定膜系统的作用。Crowe 等 (1992) 的研究表明, 脱水过程中能产生大量的双糖, 双糖能与膜磷脂的极性头部之间形成氢键, 氢键使每个磷脂分子之间保持一定的空间距离, 从而使得膜的液晶态得以保持。但是, 即使干组织中所有的糖分子与磷脂形成氢键也不足以保护膜系统, 因而认为还有其他物质参与了与膜相变相关的物理和化学过程 (Hoekstra 等, 1997)。

干种子、花粉和复苏植物中大量存在两性物质, 如苯酚、类黄酮和生物碱, 这些物质被认为能够阻止脱水引起的膜相变, 同时它们又是有效的抗氧化剂 (Hoekstra 等, 1997; Oliver 等, 1998; Shirley, 1998)。Crowe 等 (1996) 也表明两性物质在脱水过程中从水相进入脂相的行为有利于种子细胞忍耐水分丧失, 是种子耐脱水性的主要因子之一。Buitink 等 (2000a, b) 以吸胀的豌豆和黄瓜种子分别作为淀粉类和油类种子的代表类型, 用已经开始萌动的种子作为脱水敏感体系, 用 PEG 渗透处理过的种子作为耐脱水体系, 研究了脱水敏感性不同的组织中两性物质在脱水过程中在两相中的再分配。研究发现, 脱水过程中对脱水敏感的胚轴细胞在含水量还没有大幅度下降时, 两性物质就已经开始进入脂相, 细胞粘滞度的提高也发生在较高的含水量水平, 在脱水过程中细胞粘滞度控制两性物质在两相中的再分配 (程红焱等, 2004)。

6 展望

尽管种子超干贮藏的研究取得了很大的进展, 但迄今为止, 超干贮藏提高种子耐贮藏性的机理还不清楚。(1) 对于不同类型的种子, 种子脱水的极限含水量和最适合的贮藏温

度不同, 如何建立数学模型确定种子的最佳贮藏条件以及准确预测种子的贮藏寿命以便及时更新保存样本; (2) 在超干贮藏过程中如何有效地控制自由基活性氧的毒害反应; (3) 促进种子细胞玻璃化的因子是什么; 以及 (4) 超干种子在随后重新吸胀过程中的修复机制; 这些问题有可能成为今后超干种子贮藏研究的新方向。

〔参 考 文 献〕

- Apel K, Hirt H, 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. *Annu Rev Plant Bio*, **55**: 373—399
- Bewley JD, 1997. Seed germination and dormancy [J]. *Plant Cell*, **9**: 1055—1066
- Buitink J, Claessens MMAE, Hemminga MA, *et al*, 1998a. Influence of water content and temperature on molecular mobility and intracellular glasses in seeds and pollens [J]. *Plant Physiol*, **118**: 531—541
- Buitink J, Walters C, Hoekstra FA, *et al*, 1998b. Storage behavior of *Typha latifolia* pollen at low water contents: interpretation on the basis of water activity and glass concepts [J]. *Physiol Plant*, **103**: 145—153
- Buitink J, Leprince O, Hemminga MA, *et al*, 2000a. Molecular mobility in the cytoplasm: An approach to describe and predict lifespan of dry germplasm [J]. *Plant Physiol*, **97**: 2385—2390
- Buitink J, Leprince O, Hoekstra FA, *et al*, 2000b. Dehydration-induced redistribution of amphiphilic molecules between cytoplasm and lipids is associated with desiccation tolerance in seeds [J]. *Plant Physiol*, **124**: 1413—1426
- Chang BS, Beauvais RM, Dong A, *et al*, 1996. Physical factors affecting the storage stability of freeze-dried interleukin-1 receptor antagonist: glass transition and protein conformation [J]. *Arch Biochem Biophys*, **331**: 249—258
- Cheng HY (程红焱), Song SQ (宋松泉), 2004. Research perspective in biothermodynamics of seed and pollen cell membrane changes induced by desiccation [J]. *J Plant Physiol Mol Biol* (植物生理与分子生物学学报), **30** (2): 127—135
- Cheng HY (程红焱), 1994. Studies on germplasm of seed ultradrying storage. Ph. D thesis, Institute of Botany [M]. Beijing: Chinese Academy of Sciences
- Cheng HY (程红焱), Zheng GH (郑光华), Qin H (秦红), *et al*, 1996. Water thermodynamic analysis on seed desiccation tolerance and its ultradry storage effects [J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), **29**: 65—73
- Cheng HY (程红焱), Zheng GH (郑光华), Tao KL (陶嘉龄), *et al*, 1991. Physiological, biochemical and ultrastructural studies on ultradried seeds of some *Brassica* species [J]. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), **17**: 273—284
- Cheng HY (程红焱), Zheng GH (郑光华), Tao KL (陶嘉龄), *et al*, 1990. Effects of ultradrying on ageing, cell ultrastructure and vigor of Chinese cabbage seeds [J]. *Plant Genetic Resources Newsletter*, **83/84**: 9—14
- Cheng HY (程红焱), Zheng GH (郑光华), Tao KL (陶嘉龄), *et al*, 1997. Storage of peanut seeds with low moisture content for 11 years in ambient temperature [J]. *Plant Genetic Resources Newsletter*, **110**: 35—40
- Crowe JH, Hoekstra FA, Crowe LM, 1992. Anhydrobiosis [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, **54**: 570—599
- Crowe LM, Reid DS, Crowe JH, 1996. Is trehalose special for preserving dry biomaterials [J]? *Biophys J*, **71**: 2087—2093
- Heyes JA, Sealey DF, Vre de LA, 1997. Plasma membrane ATPase activity during pepino (*Solanum muricatum*) ripening [J]. *Physiol Plant*, **101**: 570—576
- Hoekstra FA, Wolters WF, Buitink J, *et al*, 1997. Membrane stabilization in the dried state [J]. *Comp Biochem Physiol*, **117A**: 335—341
- Hu JS (胡家恕), Zhu C (朱诚), 1999. Effect of aging-resistance of ultradried safflower seeds and its mechanism [J]. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), **25**: 171—177
- Leprince O, Harren FJM, Buitink J, *et al*, 2000. Metabolic dysfunction and unabated respiration precede the loss of membrane integrity during dehydration of germinating radicles [J]. *Plant Physiol*, **122**: 597—608

- Leopold AC, Sun WQ, Bema+Lugo I, 1994. The glassy state in seeds: analysis and function [J]. *Seed Sci Res*, **4**: 267—274
- Lin J (林坚), Zheng GH (郑光华), 1993. A study on ultradrying sorghum seed [J]. *Plant Physiol Com m* (植物生理学通讯), **29**: 435—436
- McDonald MB, 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment [J]. *Seed Sci Tech*, **27**: 177—237
- Miller IM, 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio*, **52**: 561—591
- Oliver AE, Hinch DK, Crowe LM, *et al*, 1998. Interactions of arbutin with dry and hydrated bilayers [J]. *Biochim Biophys Acta*, **1370**: 87—97
- Priestley DA, Wetner BG, Leopold AC, 1985. Organic free radical levels in seeds and pollen: The effects of hydration and aging [J]. *Plant Physiol*, **64**: 88—94
- Priestley DA, 1986. Seed Aging [M]. Ithaca and London: Cornell Univ Press, 125—165
- Shirley BW, 1998. Flavonoids in seeds and grains: physiological function, agronomic importance and the genetics of biosynthesis [J]. *Seed Sci Res*, **8**: 415—422
- Smith MT, Berjak P, 1995. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerant and-sensitive seeds [A]. In Kigel J, Galili G [eds]. *Seed Development and Germination* [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 701—704
- Sun WQ, 1997. Glassy state and seed storage stability: the WLF kinetics of seed viability loss at T-T_g and the plasticization effect of water on storage stability [J]. *Ann Bot*, **79**: 291—297
- Vertucci CW, Roos EE, Crane J, 1994. Theoretic basis of protocols for seed storage. III. Optimum moisture contents for pea seeds stored at different temperatures [J]. *Ann Bot*, **74**: 531—540
- Vertucci CW, Roos EE, 1993. Theoretical basis of protocols for seed storage II: the influence of temperature on optimal moisture levels [J]. *Seed Sci Res*, **3**: 201—213
- Wang XF (汪晓峰), Zheng GH (郑光华), 1999. Plasma membrane mobility of ultradry storage seeds [J]. *Chin Sci Bull* (科学通报), **44**: 733—739
- Wang XF (汪晓峰), Jing XM (景新明), Lin J (林坚), *et al*, 2003. Studies on membrane function and sugar components of ultradried seeds [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **45**: 23—31
- Walters C, 1998. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging [J]. *Seed Sci Res*, **8**: 223—244
- Zeng XY (曾祥跃), Chen RZ (陈润政), Fu JR (傅家瑞), 1998. The effects of water content during storage on physiological activity of cucumber seeds [J]. *Seed Sci Res*, **8**: 65—68
- Zhang MF (张明方), Zhu C (朱诚), Hu JS (胡家恕), *et al*, 1999. Effects of ultradry on seed germplasm preservation and biomembrane system in onion [J]. *J Zhejiang Agric Univ* (浙江农业大学学报), **25**: 255—259
- Zheng GH (郑光华), Jing XM (景新明), Tao KL (陶嘉龄), 1998. Ultradry seed storage cuts cost of gene bank [J]. *Nature*, **393**: 223—224
- Zhu C (朱诚), Tao YL (陶月良), Zeng GW (曾广文), *et al*, 1994. Study on the relationship between ultradrying treatment of oil-seeds and seed vigour and lipid peroxidation [J]. *Chin Oil* (中国油料), **16**: 10—14
- Zhu C (朱诚), Zeng GW (曾广文), Zheng GH (郑光华), 2000. The storage tolerance and lipid peroxidation in ultradried peanut seeds [J]. *Acta Agrono Sin* (作物学报), **26**: 235—238
- Zhu C (朱诚), Zeng GW (曾广文), Jing XM (景新明), *et al*, 2001. The effect of moisture content and storage temperature on onion seed longevity [J]. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), **27**: 261—266