储藏微环境下小麦细胞线粒体超微结构和抗氧化酶活性变化研究

张丽丽，王若兰，刘莉，穆垚
（河南工业大学粮油食品学院，河南郑州 450001）

摘要：利用透射电镜观察人工模拟储藏微环境下小麦细胞线粒体超微结构，并同时测定线粒体中的$O_2^{\cdot-}$含量、COX 活性，以及种子活力和抗氧化酶（SOD、CAT、POD）的活性，研究在不同储藏微环境（A、B、C、D）下小麦线粒体超微结构和抗氧化酶活性的变化规律，从微观角度探讨其与小麦衰老的关系。研究表明：随储藏时间延长和温湿度增高，线粒体数目减少，其超微结构的损伤劣变不断加剧。主要表现为：外膜变形并出现破损溶解，内膜的脊减少，脊的双层膜结构逐渐模糊不清，线粒体内部降解，内腔出现空泡化等；与此同时，$O_2^{\cdot-}$生成速率不断增大，而 COX 活性和种子活力不断下降。D 条件下三者变化最显著（$P<0.05$）；抗氧化酶的活性在高温高湿（C 和 D）条件下都经历了先增大后下降的过程，D 条件下下降最明显，降幅分别达到 36%、63%、57%，显著高于低温低湿（A 和 B）条件（$P<0.05$）。

关键词：小麦；储藏微环境；线粒体超微结构；抗氧化酶
文章篇号：1673-9078(2014)3-81-86

Variation of Mitochondrial Ultrastructure and Antioxidative Enzymatic activity in Wheat Cell under Micro-environmental Conditions

ZHANG Li-li, WANG Ruo-lan, LIU Li, MU Yao
(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The mitochondrial ultrastructure of wheat cell were investigated by transmission electron microscope under different simulated micro-environmental conditions. Simultaneously, mitochondrial $O_2^{\cdot-}$, COX activity, seed vitality and the activity of antioxidative enzymes (SOD, CAT and POD) were measured, which were used to discuss the relationship between them and wheat aging at the micro perspective. The research showed that with the extension of storage time and increasing of temperature and humidity, mitochondria number was decreased, and the damage and deterioration of its ultrastructure became serious. The ultrastructure changed mainly as follows: outer membranes deformed, with broken and solution occurred; the number of internal ridges decreased, and the structure of its bilayer membranes gradually blurred; the inner mitochondria degraded and vacuolization occurred in inner cavity. At the same time, generation rate of $O_2^{\cdot-}$ kept increasing, COX activity and seed vitality kept decreasing. The three indexes had the most obvious variation under the conditions of 35 ℃ and 85% humidity. The activity of antioxidative enzymes in wheat cell all increased first and then decreased under high temperature and humidity (75% and 85%). The decreases of SOD, CAT and POD were more obvious under the conditions (35 ℃, 85%) than those under other conditions, being of 36%, 63% and 57% respectively.

Key words: wheat; storage microenvironment; mitochondrial ultrastructure; antioxidantive enzymes

我国是一个储粮大国，粮食的储藏是连接生产和消费的重要环节，粮食种子在储藏过程中逐渐衰老而导致的各种变化会对其品质造成严重影响，所以粮食种子在储藏期间的衰老问题一直备受关注。

收稿日期：2013-10-16
基金项目：国家高技术研究发展计划（863 计划）项目（2012AA101705-2）；公益性行业（农业）科研专项经费项目（201003077）
作者简介：张丽丽（1987-），女，硕士研究生，研究方向为农产品加工与贮藏工程

粮食种子的衰老受各种储藏条件的影响，是一个复杂的从量变到质变的生物学过程，目前关于其衰老机制的研究尚无定论。在关于植物衰老机制的研究中，由Miquel[1]在1980年提出的“衰老的线粒体学说”影响较大。该学说认为植物衰老过程中细胞线粒体自由基不断积累，导致线粒体内生物大分子的氧化损伤，引起细胞、组织、器官的异常，从而加速衰老进程。线粒体是细胞的“能量工厂”，同时也是调控众多代谢和信号传递的联系枢纽，而线粒体呼吸链的电子泄露又是

种子内源性自由基的最主要来源[2]。越来越多的研究表明，线粒体在自由基代谢以及衰老中占有十分重要的地位[3]。同时，在植物细胞基质和线粒体中存在着一系列有效的抗氧化保护酶，用以维持自由基含量的正常水平，主要有超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）和过氧化物酶（POD）等，它们对清除自由基，平衡细胞内代谢起着关键作用[4]。研究表明，自由基清除酶的活性与植物衰老程度密切相关[4~5]。

国内外针对粮食种子特别是小麦种子的储藏衰老研究侧重于生理生化分析，在细胞水平上针对小麦细胞线粒体超微结构及抗氧化系统的研究较少。本文通过人工模拟储藏小麦，研究不同储藏微环境下小麦细胞线粒体超微结构和抗氧化酶活性的变化规律，从微观角度探讨其与小麦衰老的关系，以期丰富储藏小麦的衰老机理，为延缓小麦衰老，提高储藏品质提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 原料

小麦“瑞星 1 号”，2012 年收获，河南瑞星种业公司提供，容重 801 g/L，水分含量 11.40%，粗蛋白和湿面筋含量分别为 13.82%和 30.00%。

1.2 主要仪器设备

JEM-1400 透射电子显微镜，日本电子公司；752N 紫外分光光度计，上海菁华科技仪器有限公司；GL-20G-II 高速冷冻离心机，上海安亭科学仪器厂；JXFM110 锤式旋风磨，上海嘉定粮油仪器有限公司；HWS 恒温恒湿培养箱，宁波东南仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 储藏条件

根据我国粮食储藏生态区域的划分标准，依据小麦主要储藏区（蒙新区、华北区、华中区、华南区）的气候条件，设置对应的温湿度分别为 A：（15 ℃，50%）、B：（20 ℃，65%）、C：（28 ℃，75%）、D：（35 ℃，85%）四个条件，利用恒温恒湿箱进行人工模拟储藏，每 30 d 为一个储藏期，储藏 150 d。

1.3.2 透射电镜样品制备与细胞超微结构观察

根据参考文献[6]的方法，并作修改。在室温下，取小麦籽粒的胚放入4%的戊二醛溶液中 4 h 进行前固定，之后用 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲液（PBS）漂洗 4 次，每次 15 min，再将其投入 1%锇酸溶液中 90 min 进行后固定，并用 PBS 漂洗 3 次，每次 15 min ；将样品依次放入丙酮浓度梯度分别为 30%、50%、70%、90%、100%的溶液中进行逐级脱水，每次 15 min；然后再依次置入环氧树脂 812 与丙酮比例分别为 1:2、1:1、2:1、1:0 的混合液中进行浸透处理，每次 120 min。将浸透好的样品依次放入 37、45、60 ℃的鼓风干燥箱中各加热 12 h，最后用 LKB-Nova 超薄切片机进行切片，厚度为 80 nm。再经醋酸铀染色 25 min 和柠檬铅染色 20 min 后，在透射电镜下观察并拍照。

1.3.3 超氧阴离子自由基（$O_2^{-}\cdot$）含量的测定

按照参考文献中植物超氧阴离子自由基含量的测定方法并略加修改[7]：取植物样品量为 2.5 g，离心的转速为 12000 r/min，其他条件和方法不变。

1.3.4 细胞色素 C 氧化酶（COX）活性测定

按照植物组织中细胞色素 C 氧化酶（COX）活性测定的方法[7]进行测定。

1.3.5 种子活力测定

采用 TTC（2,3,5-氯化三苯基四氮唑）法，按照文献[7]的方法进行测定。

1.3.6 抗氧化保护酶系的测定

1.3.6.1 过氧化氢酶(CAT)活性测定

按照 GB/T 5522-85 方法进行测定。

1.3.6.2 过氧化物酶(PPO)活性测定

采用愈创木酚法，按照文献[8]的方法进行测定。

1.3.6.3 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定

按照植物组织中超氧化物歧化酶活性测定的方法[7]进行测定。

1.4 数据分析

利用 SPSS 10.0 统计软件（One-Way ANOVA）对数据进行 T 检验和标准偏差处理。

2 结果与分析

2.1 小麦细胞超氧阴离子自由基（$O_2^{-}\cdot$）含量变化

$O_2^{-}\cdot$主要产生于细胞线粒体。Bailly[9]和 Tian[10]研究认为，$O_2^{-}\cdot$积累引起细胞氧化损伤是种子衰老的关键。由图 1 可看出，小麦细胞中 $O_2^{-}\cdot$含量随储藏时间延长整体呈现递增趋势。T 检验结果表明，C 和 D 条件下储藏 90 d 后 $O_2^{-}\cdot$含量已显著高于始点（$P<0.05$）。

不同的储藏条件对$O_2^{-}\cdot$产生速率的影响各不相同，从图1可明显看出，在微环境A条件下，$O_2^{-}\cdot$含量变化平稳。而D条件下，$O_2^{-}\cdot$含量显著增加（$P<0.05$）。随着储藏温湿度的增高，$O_2^{-}\cdot$含量升高幅度分别为19%、30%、

75%、124%。这表明储藏环境的温湿度是影响$O_2^{\cdot-}$生成速率的重要因素，且温湿度越高，$O_2^{\cdot-}$的生成速率越快。

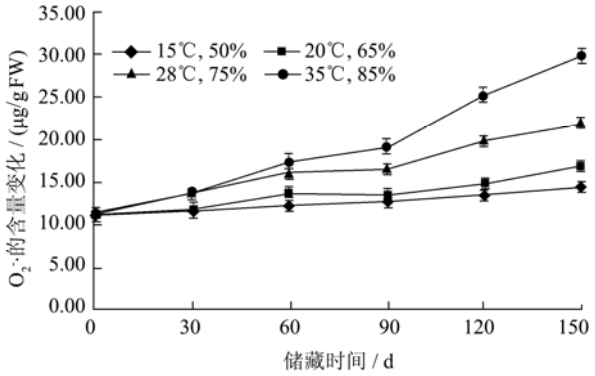


图1 小麦细胞0_2^-含量的变化

Fig.1 Variation of the content of $O_2^{\cdot-}$ in wheat cell

2.2 小麦细胞色素 C 氧化酶（COX）活性测定

COX 存在于细胞线粒体的内膜上，是线粒体呼吸链进行电子传递和氧化磷酸化合成 ATP 的特征酶，也是线粒体的标志酶之一，它的活性往往作为反映线粒体内氧化代谢水平的重要指标[6~7]。

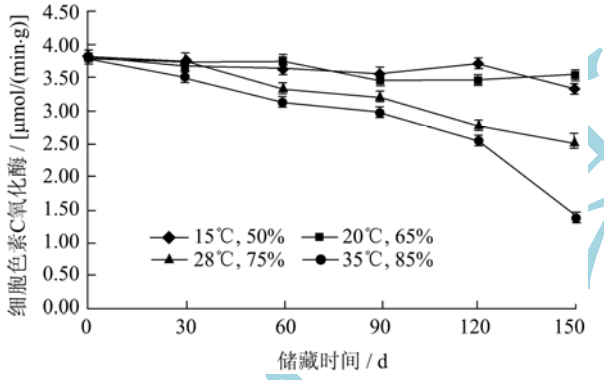


图 2 小麦细胞 COX 活性的变化

Fig.2 Variation of activity of COX in wheat cell

由图 2 可知，储藏温湿度对 COX 活性的影响同样较大。随储藏时间的延长，低温低湿（A 和 B）条件下 COX 活性仅有略微波动，下降幅度很小。高温高湿（C 和 D）条件下 COX 活性变化较明显，降幅分别达到 34%、64%，显著高于低温低湿（A 和 B）条件（P<0.05）。呼吸酶活性的下降意味着线粒体呼吸链的电子传递受阻，线粒体通过氧化磷酸化合成 ATP 的能力在不断减弱，其氧化代谢水平降低。

2.3 小麦种子活力测定

种子受储藏条件的不利影响，其细胞结构和生理功能受到损害而逐渐衰老，进而导致种子活力下降。由图 3 可看出，随储藏时间的延长，小麦种子活力整体呈下降趋势，高温高湿（C 和 D）条件下，活力下降最明显，尤其 D 条件下的种子活力由 96%降至 21%，降幅显著高于 A 和 B 条件（P<0.05）。这表明，高温高湿条件对种子活力的影响显著，种子衰老速度较快。

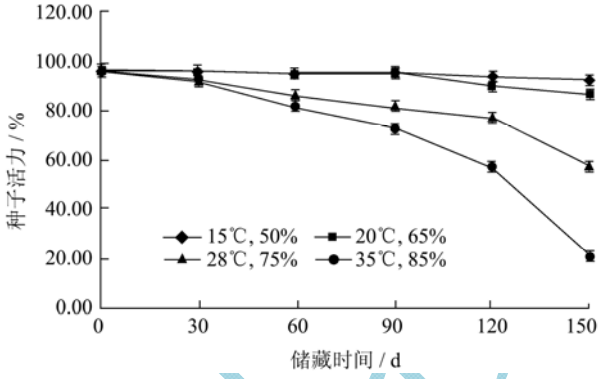


图 3 小麦种子活力的变化

Fig.3 Variation of vitality of wheat seed

2.4 小麦细胞线粒体超微结构的变化

小麦经过 150 d 的储藏前后细胞线粒体超微结构如图 4。

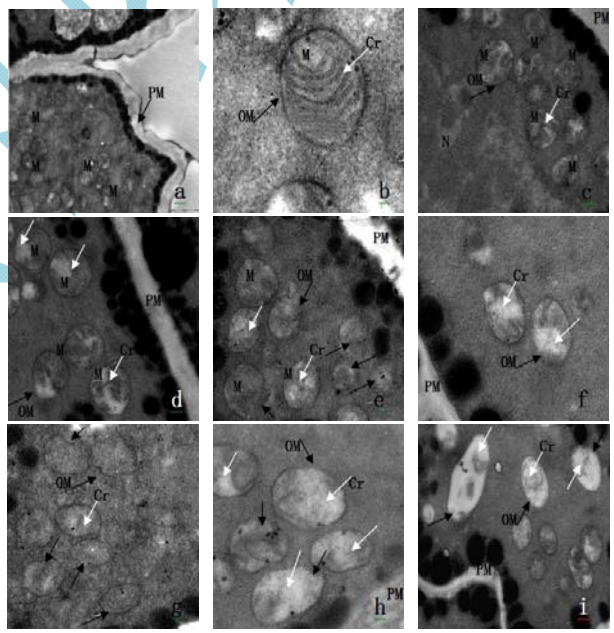


图 4 小麦细胞线粒体超微结构的观察

Fig.4 Ultrastructure observation of wheat cell

注：图中 M:线粒体；PM:细胞质膜；Cr:脊；OM:外膜；N:细胞核。黑色箭头指代线粒体外膜，白色箭头指代内膜的脊。

图 4a、4b 原始小麦线粒体（×20000，×50000）；图 4c A 条件下的小麦线粒体，无明显变化（×30000）；图 4d B 条件下的小麦线粒体，外膜轻度破损，脊有所减少，脊的双层膜开始模糊（×30000）；图 4e，4f C 条件下的小麦线粒体，外膜不同程度破损，内膜的脊部分降解，内腔开始出现空泡化（×30000）；图 4g C 条件下的小麦线粒体，外膜内陷变形（×30000）；图 4h，

4i D 条件下的小麦线粒体，外膜破损溶解，脊已模糊不清，内部降解严重，内腔出现完全空泡化（×40000，×30000）。

线粒体作为细胞生命活动的“能量工厂”，不仅是自由基产生也是自由基伤害的主要细胞器。线粒体结构和功能的变化将直接影响细胞的正常代谢。由图 4a 可看到，原始小麦细胞的线粒体数目丰富，多分布于细胞膜附近，呈比较规则的圆形或卵圆形，大部分线粒体轮廓分明，结构完整，外膜平整光滑，基质均匀，内膜向内折叠形成的脊，密集清晰可见，线粒体显示出良好的结构（图 4b）。说明线粒体正在进行着较旺盛的能量代谢，细胞代谢正常。

经过 150 d 的储藏，在 A 条件下的小麦细胞中线粒体与储藏初期相比无明显变化，结构完整，轮廓清晰，仍然显示出较良好的状态（图 4c）；在 B 条件下的小麦细胞中大部分线粒体外膜依然完整，界限分明，内部结构较良好。少部分线粒体开始发生变化，主要表现为线粒体外膜出现轻度破损，内膜的脊数量有所减少，脊的双层膜结构有些模糊不清（图 4d）。线粒体的内膜是有氧呼吸的重要场所，膜上广泛分布着进行呼吸作用所需的各种酶类和电子传递键，它们能将代谢脱下的电子最终传给氧并生成水，同时释放能量。内膜向内折叠形成脊，增大了线粒体的膜面积，扩大了有氧呼吸有关酶的结合位点。脊的减少和其结构的损伤将直接影响呼吸链的电子传递，呼吸作用受阻，并有可能因此发生电子泄露，促使自由基的产生[11]，加快细胞衰老；在 C 条件下，小麦细胞内只有少数的线粒体显示出较为完整的结构，大部分线粒体都发生了较明显的变化。主要表现在两个方面：一是线粒体外膜不同程度破损，内膜的脊部分降解变得模糊，内腔开始出现空泡化（图 4e、4f）。二是线粒体外膜较完整，但已出现内陷变形，没有空泡化（图 4g）。线粒体外膜起着维持线粒体形态的功能，同时外膜具有选择透过性，是连接细胞质基质和线粒体的通道；在 D 条件下，小麦细胞中线粒体变化最显著。首先数目明显减少，其次除极少数线粒体尚保存较完整结构外，大部分线粒体外膜破损溶解并变形，内部降解严重，脊已模糊不清，基质稀薄不均匀，有的已完全空泡化（图 4h、4i）。说明此时线粒体已严重受损，细胞的能量代谢已不能正常进行，细胞衰老严重。

从以上分析可得出，不同的储藏温湿度条件下，小麦细胞的线粒体超微结构发生了不同程度的劣变，储藏温湿度越大，劣变越趋明显。这一变化与 COX 活性以及种子活力变化的测定结果均保持高度一致，并且与 $O_2^{\cdot-}$的变化规律基本相似，表明小麦细胞的线粒体损伤劣变与小麦的衰老及 $O_2^{\cdot-}$的产生和积累关系密切。在逆境胁迫下，线粒体的呼吸链发生电子泄露，使 $O_2^{\cdot-}$得以产生，其含量的积累将氧化损伤线粒体及其内的蛋白质等生物大分子，呼吸酶等酶类钝化，线粒体的能量代谢受阻甚至紊乱，细胞衰老加快，种子活力下降。

2.5 小麦细胞抗氧化酶活性的变化

2.5.1 超氧化物歧化酶（SOD）活性变化

SOD 主要存在于线粒体中，该酶与植物的衰老及抗逆性密切相关，是生物体内清除自由基的第一道防线，可使 $O_2^{\cdot-}$发生歧化作用生成 H_2O_2 和 O_2[12]，还有研究发现，SOD 能在一定程度上抑制 $O_2^{\cdot-}$对 DNA 结构的损伤[13]。

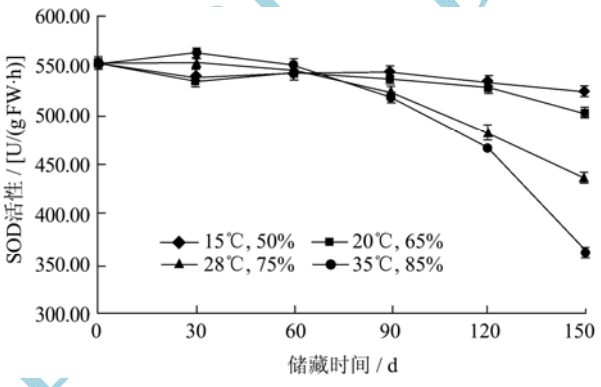


图 5 小麦细胞 SOD 的活性变化

Fig.5 Variation of SOD activity in wheat cell

由图 5 可知，随储藏时间的延长，小麦细胞中 SOD 的活性整体呈现下降的趋势。这意味着小麦储藏过程中 SOD 的防护作用在不断减弱。储藏前 60 d，SOD 的活性变化虽然有一定波动但并不显著，而后期 SOD 活性整体下降幅度明显增大（$P<0.05$）。这与 $O_2^{\cdot-}$含量的变化规律呈现一定的相关性。

由图 5 可明显看出，不同的储藏温湿度条件下 SOD 的活性变化差异较大。在 C 和 D 条件下，小麦在储藏的第一个月内 SOD 活性先有略微上升，后不断下降并且随储藏时间延长下降速率加快，尤其 D 条件下的 SOD 活性下降最为明显（$P<0.05$），降幅达到 36%；而在 A 和 B 条件下 SOD 活性变化并不明显，下降幅度分别只有 5%、9%。这说明温湿度对 SOD 活性的影响较为显著。温湿度越高，储藏时间越长，SOD 活性下降越快，对 $O_2^{\cdot-}$的清除能力越弱，细胞衰老越快。

2.5.2 过氧化氢酶（CAT）和过氧化物（POD）酶活性变化

CAT 和 POD 也是植物体内重要的两种抗氧化保护酶，存在于细胞基质和线粒体中，他们都能催化

SOD 歧化产生的 H_2O_2 生成 H_2O 和 O_2，过氧化物酶同时还可催化多种反应以清除细胞内的过氧化物[4]。两者成为构成植物细胞抗氧化体系第二道防护线的重要物质。

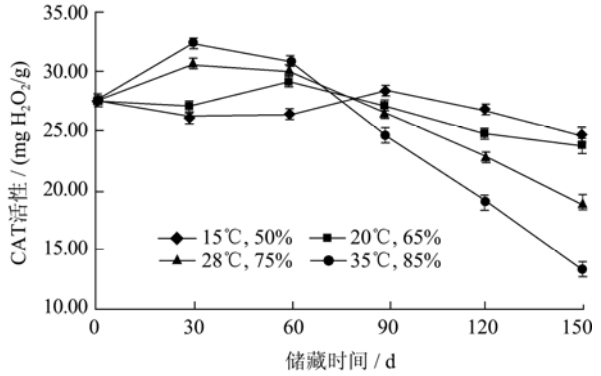


图 6 小麦细胞 CAT 的活性变化

Fig.6 Variation of CAT activity in wheat cell

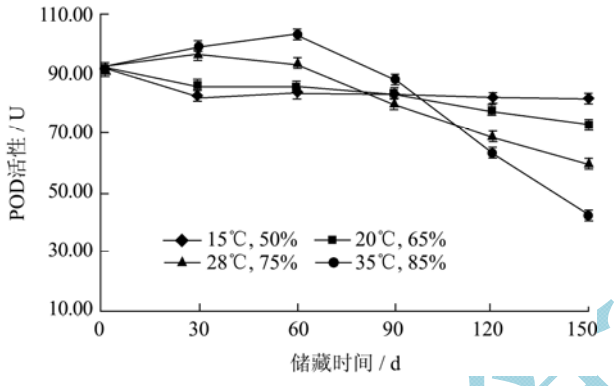


图 7 小麦细胞 POD 的活性变化

Fig.7 Variation of POD activity in wheat cell

由图6、7可以看出，不同的储藏条件，小麦细胞的CAT和POD活性都显示出不同的变化。在A和B储藏条件下，CAT活性表现出先略有下降，后缓慢上升再降低的趋势，POD活性则逐渐下降，但下降都不明显。尤其A条件下CAT和POD变化率分别只有13%、11%；而在C和D储藏条件下，CAT，POD活性都经历了先增大而后快速下降的过程，其中CAT降幅分别为40%、63%，POD降幅分别为38%、57%。尤其D条件下两者降幅显著高于低温低湿（A和B）条件（P<0.05）。这说明与POD相似，储藏时间，环境温湿度同样对CAT，POD活性影响显著。

Bailly[9]和 McDonald[14]研究认为自由基的产生和清除的失衡是引起种子衰老的主要原因。在储藏初期，高温高湿（C 和 D）的逆境胁迫下，小麦的 $O_2^{\cdot-}$ 含量不断积累，同时小麦细胞的抗氧化酶（POD、CAT、POD）活性整体增高，展现出了较强的抗氧化能力。这可能是植物的一种保护性反应，在逆境条件下小麦体内的抗氧化酶活性较高，有利于及时清除产生的自由基，维持体内的代谢平衡。SOD、CAT 和 POD 作为体内抗氧化酶系统的主要成分，是典型的诱导酶，高温高湿环境的刺激可诱导小麦细胞产生应答反应而促进其合成。在储藏后期，SOD、CAT 和 POD 活性快速下降，这可能是由于此期间自由基快速积累加剧小麦细胞的氧化损伤，破坏细胞基质和线粒体内的蛋白质等生物大分子结构，导致蛋白质多肽链断裂，蛋白质构象发生变化，致使酶钝化甚至失活。低温低湿（A 和 B）的储藏环境下，抗氧化酶在储藏初期活性有所下降，而后期活性变化并不显著，原因可能是低温环境对酶的活性有所抑制，而在整个储藏过程中小麦细胞的自由基含量保持在较低水平，线粒体等细胞器结构良好，酶未遭到破坏。

3 结论

3.1 小麦在储藏过程中，随着 $O_2^{\cdot-}$ 的产生和积累，细胞中的线粒体超微结构都发生了不同程度的损伤劣变。温湿度越高，劣变越严重，COX 活性和种子活力下降也越明显，种子衰老越快。低温低湿（A 和 B）的条件下，$O_2^{\cdot-}$ 含量保持在较低的水平，线粒体变化均不明显，COX 活性和种子活力较高；高温高湿 C 条件下，$O_2^{\cdot-}$ 含量增加，大部分线粒体发生明显变化：外膜有的内陷变形，有的出现不同程度破损，内膜的脊部分降解，内腔开始出现空泡化，而 COX 活性和种子活力也出现了较明显的下降；在 D 条件下，$O_2^{\cdot-}$ 含量快速积累，线粒体变化最显著：数目明显减少，大部分线粒体外膜破损溶解并变形，内膜的脊已模糊不清，内部降解严重甚至已完全空泡化，此时 COX 活性和种子活力下降最明显，降幅分别达到 64%、75%，显著高于低温低湿（A 和 B）条件（P<0.05）。

3.2 储藏时间和温湿度对小麦细胞的抗氧化酶活性影响显著。储藏时间越长，温湿度越高，抗氧化酶活性下降越快，清除自由基的能力越弱。SOD、CAT、POD 活性在 A 和 B 的条件下变化都不明显，而在 C 和 D 的条件下都经历了先增大后下降的过程，在 D 条件下下降最明显，降幅分别为 36%、63%、57%，都显著高于低温低湿（A 和 B）条件（P<0.05）。

3.3 小麦体内的自由基水平与线粒体超微结构的损伤和抗氧化酶活性的变化三者相互关联，共同促进小麦细胞衰老。高温高湿的逆境胁迫下，线粒体的呼吸链发生电子泄露，自由基得以产生，自由基的积累加剧线粒体等细胞结构的氧化损伤，破坏了细胞的代谢环境，同时也减弱了抗氧化酶对自由基的清除能力，自由基就此加速产生，致使其产生和清除的平衡不断被打破，形成恶性循环，加剧细胞衰老，从而加快种子衰老进程。高温高湿的储藏环境不利于小麦的安全储

藏，低温低湿环境易于保持小麦品质，利于安全储藏。

参考文献

[1] Miquel J, Economos A C, Fleming J, et al. Mitochondrial role in cell aging [J]. Exp. Gerontol., 1980, 15: 579-591

[2] Amirsadeghi S, Robson C A, McDonald A E, et al. Changes in plant mitochondrial electron transport alter cellular levels of reactive oxygen species and susceptibility to cell death signaling molecules [J]. Plant Cell Physiol., 2006, 47(11): 1509-1519

[3] 田茜,辛霞,卢新雄,等.植物种子衰老与线粒体关系的研究进展[J].植物遗传资源学报,2012,13(2):283-287
TIAN Qian, XIN Xia, LU Xin-xiong, et al. Research Progress on Plant Seed Aging and Mitochondria [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13(2): 283-287

[4] Navrot N, Rouhier N, Gelheye E, et al. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria [J]. Physiologia Plantarum, 2007, 129: 185-195

[5] Palma J M, Jimenez A, Sandalio L M, et al. Antioxidative enzymes from chloroplasts, mitochondria and peroxisomes during leaf senescence of nodulated pea plants [J]. J. Exp. Bot., 2006, 57(8): 1747-1758

[6] 王金发,何炎明.细胞生物学实验教程[M].科学出版社,2005
WANG Jin-fa, HE Yan-ming. Experimental Tutorial of Cell Biology [M]. Science Press, 2005

[7] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].高等教育出版社,2006
GAO Jun-feng, et al. Plant Physiology Experimental Guidance [M]. High Education Press, 2006

[8] 周显青,张玉荣.储藏稻谷品质指标的变化及其差异性[J].农业工程学报,2008,24(12)238-241
ZHOU Xian-qing, ZHANG Yu-rong. Changes and differential analysis of the quality indexes of stored paddy [J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(12): 238-241

[9] Bailly C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology [J]. Seed Science Research, 2004, 14: 93-107

[10] Tian X, Song S, Lei Y. Cell death and reactive oxygen species metabolish during accelerated ageing of soybean axes [J]. Russian Journal of Plant physiol, 2008, 55(1): 33-40

[11] Song X S, Wang Y J, Mao W H, et al. Effect of cucumber mosaic virus infection on electron transport and antioxidant system in chloroplasts and mitochondria of cucumber and tomato leaves [J]. Physilogia plantarum, 2009, 135: 246-257

[12] Alscher R G, Erturk N, Heath LS. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372): 1331-1341

[13] 陈鸿鹏,谭晓风.超氧化物歧化酶（SOD）研究综述[J].经济林研究,2007,25(1):59-65
CHEN Hong-peng, TAN xiao-feng. Literature Review of Researehes on Superoxide Dismutase [J]. Nonwood Forest Research, 2007, 25(1): 59-65

[14] McDonald M B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment [J]. Seed Science Research, 1999, 27: 177-237

现代食品科技