

不同脱水速率对木奶果种子脱水敏感性及 抗氧化酶活性的影响^{*}

路 信^{1,2}, 罗银玲^{1,3}, 王一帆¹, 兰芹英^{1**}, 杨明挚², 谭运洪¹

(1 中国科学院西双版纳热带植物园热带森林生态学重点实验室, 云南 勐腊 666303; 2 云南大学生命科学学院, 云南 昆明 650091; 3 思茅师范高等专科学校生命科学系, 云南 普洱 666500)

摘要: 研究了脱水速率对木奶果种子脱水敏感性和抗氧化酶活性的影响。木奶果种子初始含水量高达 $1.72 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$, 萌发率为 86.67%。含水量降至 $0.90 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 左右时, 慢速脱水种子的萌发率为 97.78%, 而快速脱水的种子萌发率仅为 64.44%。快速脱水至含水量为 $0.76 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 时萌发率为 21.67%, 而慢速脱水至 $0.68 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 时, 萌发率仍高达 55.56%。确定了木奶果种子是对慢速脱水耐受性更高的顽拗性种子。在种子脱水过程中, 相对电解质渗透速率和脂质过氧化产物 (TBARs) 都呈升高趋势, 但慢速脱水后的种子, 其 TBARs 升高的速率较快速脱水的慢。快速脱水的种子中超氧化歧化酶 (SOD)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 的活性较慢速脱水的高, 而过氧化氢酶 (CAT) 活性较慢速脱水的低, 未检测出谷胱甘肽还原酶 (GR) 的活性。这些结果表明, 在木奶果种子脱水耐性获得过程中过氧化氢酶比其他抗氧化酶作用更大。

关键词: 木奶果; 脱水速率; 抗氧化酶; 膜质过氧化; 脱水敏感性

中图分类号: Q 945

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700(2010)04-361-06

Effect of Different Drying Rates on the Desiccation Tolerance and Antioxidant Enzyme Activities of *Baccaurea ramiflora* (Euphorbiaceae) Seeds

LU Xin^{1,2}, LUO Yir-Ling^{1,3}, WANG Yi-Fan¹, LAN Qir-Ying^{1**},
YANG Ming-Zhi², TAN Yuir-Hong¹

(1 Key Laboratory of Tropical Forest Ecology, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China; 2 School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China;

3 Life Science Department, Simao Teacher's College, Puer 665000, China)

Abstract: The effects of different drying rate on desiccation tolerance and antioxidant enzyme activities of *Baccaurea ramiflora* seeds were studied in this paper. The initial water content (WC) of *B. ramiflora* seeds was high $1.72 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$, and germination was 86.67%, respectively. When the seeds dehydrated to the same water content ($0.90 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$), the germination of seeds increased with slow dehydrated method (97.78%), while decreased with rapid dehydrated method (64.44%). The germination of rapid dehydrated seeds with $0.76 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ WC was 21.67%, while that of slow dehydrated seeds with $0.68 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ WC was 55.56%. The *B. ramiflora* seeds were recalcitrant seeds which showed higher tolerance to slow dehydration. Both of relative electrolyte leakage and lipid peroxidation increased following dehydration, and

* 基金项目: 中国科学院知识创新工程 (KSCXZ-SW-117); 科学院战略资源支撑体系-热带植物种质资源的收集保存 (CZBZX-1); 科技部平台项目-部分热带植物种质资源的整理、整合和信息化 (2005DKA21006)

** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: lqy@xtbg.org.cn

收稿日期: 2010-02-24, 2010-04-19 接受发表

作者简介: 路信 (1983-) 男, 汉族, 河北邢台; 在读硕士, 主要从事热带植物种子生理生化及保存研究。

the increase rate of slow dehydrated seeds were slower than rapid dehydrated seeds. Among these antioxidant enzymes, the activities of SOD, DHAR and APX were higher in rapid dehydrated seeds than slow dehydrated seeds, while CAT was lower, and GR was not found. These results indicated that CAT played more important role in desiccation tolerance of *B. ramiflora* seeds than the other antioxidant enzymes.

Key words: *Baccaurea ramiflora*; Drying rate; Antioxidant enzyme; Lipid peroxidation; Desiccation sensitivity

Roberts (1973) 根据种子的贮藏特性将种子分为正常性种子 (orthodox seed) 和顽拗性种子 (recalcitrant seed) 两种类型。顽拗性种子成熟时具有较高的含水量和代谢活性, 且对脱水和低温敏感。顽拗性种子的脱水敏感性除了取决于物种的遗传特性外, 还与种子的发育状态、脱水条件及脱水速率密切相关 (Pammenter and Berjak, 1999)。Wesley-Smith (2001) 等发现, 相对于慢速脱水的种子, 快速脱水的菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus*) 种子能获得较高的脱水耐性。快速脱水使顽拗性种子没有足够的时间完成慢速脱水时引起的与脱水有关的恶化反应 (Bilia 等, 1999)。脱水到相同含水量时, 慢速脱水需要较长的时间, 这样造成脱水伤害的积累。快速脱水在较短时间内完成, 伤害的积累较少 (Waters 等, 2001)。因此, 一般认为顽拗性种子的脱水速率越快, 伤害积累就越少, 种子能耐受的水分含量就越低。

Pammenter and Berjak (1999) 认为顽拗性种子脱水伤害的一个重要原因是代谢失衡导致如活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 等有害物质的大量积累, 进而产生过氧化伤害。正常性种子有一套完备的抗氧化系统, 包括抗氧化酶和抗氧化剂, 抗氧化酶主要有超氧化歧化酶 (superoxide dismutase, SOD), 过氧化氢酶 (catalase, CAT), 抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX), 脱氢抗坏血酸酶 (dehydroascorbic acid reductase, DHAR), 谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR) 等。顽拗性种子中也存在抗氧化系统, 并且在一些顽拗性种子中已得到证实, 过氧化作用的加强和抗氧化酶活性的下降是该类种子脱水过程中活力丧失的主要原因之一 (Smith and Berjak, 1995)。但是一些研究者发现活性氧和脂质过氧化的积累发生在细胞死亡后, 因而提出它们的积累可能是活力丧失的结果而非原因 (Hendry, 1993; Greggain 等, 2001; Roach 等, 2008)。

木奶果 (*Baccaurea ramiflora* Lour.) 属于大

戟科木奶果属, 是常绿乔木, 在印度、马来西亚至中国西南部都有分布, 其果肉多汁、酸甜可口, 是著名的热带野生水果。关于木奶果种子特性的研究未见报道, 本文以木奶果种子为材料, 研究了以快速和慢速两种脱水方式处理后种子活力的变化, 测定了不同脱水过程中抗氧化酶活性的变化, 并且对脱水后指示细胞膜损伤程度的电导率和脂质过氧化产物 TBARs 的含量进行了测定。目的在于确定木奶果种子的贮藏特性, 找出提高其脱水耐性的脱水处理方式, 进而探讨不同方式的脱水对木奶果种子的损伤和抗氧化酶系统的保护运行机制的差异, 最终为延长木奶果种子的保存寿命提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 实验材料

木奶果根据果皮颜色可分为白皮木奶果和紫皮木奶果, 本实验用紫皮木奶果为材料。于 2009 年 7 月 4 日在中国科学院西双版纳热带植物园内的同一棵树上采花后 102 d 的种子。剥去果皮后, 搓洗掉种子表面果肉, 清水漂洗后晾干备用。

1.2 脱水处理

处理 1: 将种子放入置于室温下、装有活化硅胶的干燥器中进行快速脱水, 脱水时间分别为 0、2、4、8 和 12 h (硅胶和种子的体积比例为 10: 1)。处理 2: 将种子放入室温下、85% 相对湿度的培养箱中进行慢速脱水 0、1、2、3 和 4 d。

1.3 含水量的测定

分别随机取 3 粒新鲜和脱水后的种子置于称量瓶中, 在 103℃ 的烘箱中烘 17 ± 1 h, 以干重为基础计算含水量 ($\text{g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$), 重复 4 次, 取平均值。

1.4 萌发率测定

将不同含水量的种子播种在盛有 1% 琼脂的培养皿中, 每个培养皿 15 个种子, 3 次重复。在 30℃ 恒温的暗培养箱中萌发, 以胚根伸出 2 mm 作为萌发标准, 40 d 后统计萌发率。

1.5 相对电解质渗漏率的测定

用 DDS-307 电导率仪 (上海雷磁仪器厂) 测定相对电导率。从种子中剥出胚轴, 放入装有 10 ml 超纯水的长玻

璃试管中, 迅速摇匀后用电导仪测定初始值, 记做 e_1 ; 在室温下放 2 h (期间摇动数次) 后再次测定, 记做 e_2 ; 将试管用玻璃珠封口后垂直放在沸水中煮 30 min, 冷却至室温, 补充蒸发的水分, 摇匀后测定终值, 记做 e_t 。每个试管中 3 个胚轴, 重复 4 次。相对电解质渗漏率的计算公式为: $(e_2 - e_1) / e_t \times 100\%$ 。

1.6 脂质过氧化产物的测定

取木奶果胚轴在液氮中磨成干粉, 冰浴条件下用 5 ml 5% 三氯乙酸抽提 30 min, 在 4℃、10 000×g 离心 15 min, 测定上清液中脂质过氧化产物的含量。按照 Hendry (1993) 的方法, 脂质过氧化产物通过测定与硫代巴比妥酸反应后产物 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARs) 的浓度来计算。

1.7 抗氧化酶的提取和测定

抗氧化酶的提取参照 Jiang and Zhang (2001) 的方法。取约 0.2 g 木奶果的胚轴, 在液氮中磨成干粉。加 6 ml 提取液, 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液, pH 7.0, 1 mmol·L⁻¹ EDTA (乙二胺四乙酸), 1% (W/V) 不溶性的 PVP (聚乙烯吡咯烷酮), 1 mmol·L⁻¹ 抗坏血酸 (ascorbic acid, AsA, APX 用) 中研磨成匀浆, 匀浆在 4℃、15 000×g 离心 20 min。取上清液进行酶活性测定。

超氧化物歧化酶 (EC1.15.1.1) 的测定参照 Donahue (1997) 的方法。抗坏血酸过氧化物酶 (EC1.11.7) 的测定参照 Knörzer 等 (1996) 的方法。过氧化氢酶 (EC1.11.1.6) 的测定参照 Aebi (1983) 的方法。谷胱甘肽还原酶 (EC1.6.4.2) 的测定参照 Halliwell and Foyer (1978) 的方法。脱氢抗坏血酸还原酶 (EC1.8.5.1) 的测定参照 Arrigoni 等 (1992) 的方法。

1.8 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曲线。

2 结果和分析

2.1 不同脱水速率对种子脱水耐性的影响

2.1.1 脱水方式对脱水速率的影响 在快速脱水和慢速脱水的条件下, 木奶果种子水分丧失的速率有显著差异。含水量减少约 50% 时所花的时间, 快速脱水为 12 h, 慢速脱水需要 72 h (图 1)。

2.1.2 脱水速率对种子萌发率和电解质渗漏率的影响 两种脱水方式下, 轻度脱水种子萌发率都较高, 未经脱水种子萌发率为 86.67%, 经快速脱水 4h 后, 萌发率提高到 88.89%, 而慢速脱水 72 h 后, 萌发率提高到 97.78%。当含水量降至 0.90 g H₂O·g⁻¹ DW 左右时, 慢速脱水的种子萌发率为 97.78%, 快速脱水的则降低至 64.44%, 慢速脱水含水量降至 0.68 g H₂O·g⁻¹ DW 时, 萌发率才降低至 55.56% (图 2: a)。

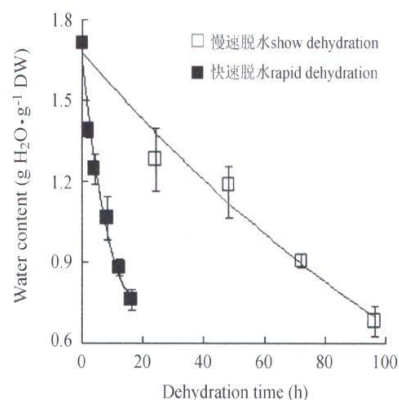


图1 不同脱水速率下木奶果种子含水量的变化

Fig. 1 Changes in water content of *B. ramiflora* seeds at different drying rates

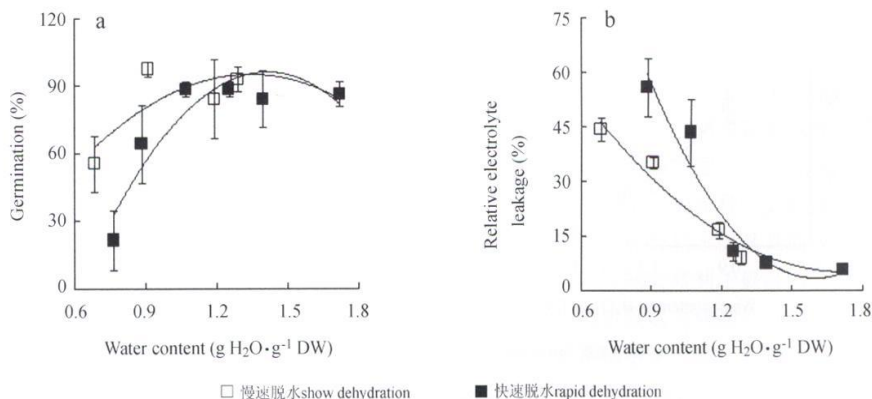


图2 不同脱水条件下, 木奶果种子的萌发率 (a) 和相对电解质渗漏率 (b) 的变化

Fig. 2 Changes in germination (a) and relative electrolyte leakage (b) of *B. ramiflora* seeds at different drying rates

随着脱水进行, 种子胚轴的电解质渗漏率逐渐增加 (图 2: b); 在脱水初期, 电解质渗漏率增加较慢, 随着脱水程度加深, 电解质渗透率迅速增加, 且快速脱水的种子, 其电解质渗漏率比慢速脱水的增加的快。

2.2 脱水速率对 SOD、CAT、APX 和 DHAR 活性与脂质过氧化的影响

2.2.1 脱水速率对 SOD、CAT、APX 和 DHAR 活性的影响

在脱水过程中 SOD 活性呈下降趋势, 其中慢速脱水至 $0.68 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 时 SOD 活性反而大幅度升高 (图 3: a); CAT (图 3: b) 和 DHAR (图 3: c) 的活性呈升高趋势; APX 的活性是先升高后降低 (图 3: d); 未检测出 GR 的活性。在快速脱水条件下, 木奶果种子的 SOD、DHAR 和 APX 活性较慢速脱水高, 而 CAT 活性较慢速脱水低。

2.2.2 脱水速率对 TBARs 含量的影响 两种

脱水方式下, 随着脱水进行木奶果种子中 TBARs 含量都逐渐上升, 快速脱水至 $1.25 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 含水量时 TBARs 略有下降后再上升, 而快速脱水至 $0.90 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 含水量时 TBARs 迅速下降后再急剧上升 (图 4)。总体来说, 快速脱水后种子的 TBARs 含量高于慢速脱水。

3 讨论

木奶果种子初始含水量为 $1.72 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 。快速脱水至含水量为 $0.88 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 时萌发率开始显著降低, 含水量降至 $0.76 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 时萌发率只有 21.67%。木奶果种子保存在 4°C 条件下 2 个月后全部失活 (未发表结果)。因此, 木奶果种子属于典型的热带顽拗性种子。

轻度脱水有利于提高顽拗性种子的萌发率 (Finch-Savage and Blake, 1994; Konstantinidou 等, 2008), 木奶果种子在快速和慢速轻度脱水后萌发

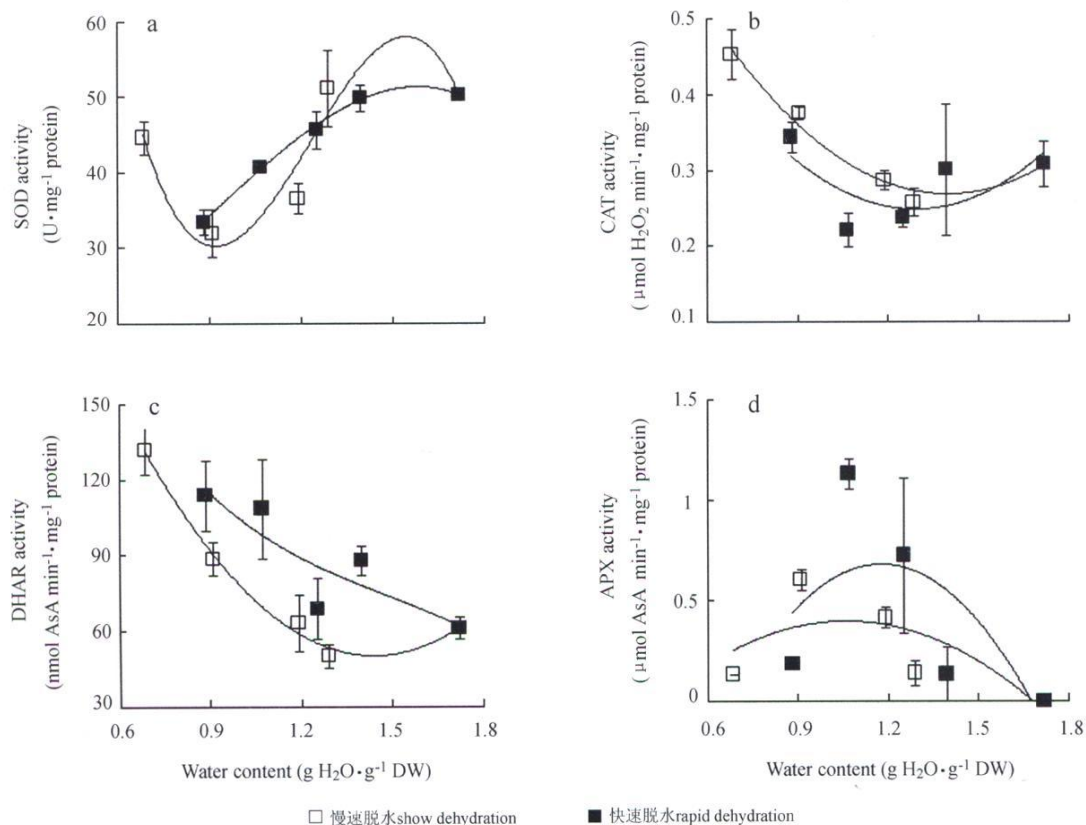


图 3 不同脱水速率下, 木奶果胚的 SOD, CAT, DHAR 和 APX 活性的变化

Fig 3 Changes in activities of SOD, CAT, DHAR and APX of *B. ramiflora* embryos at different drying rates

(a, SOD; b, CAT; c, DHAR; d, APX)

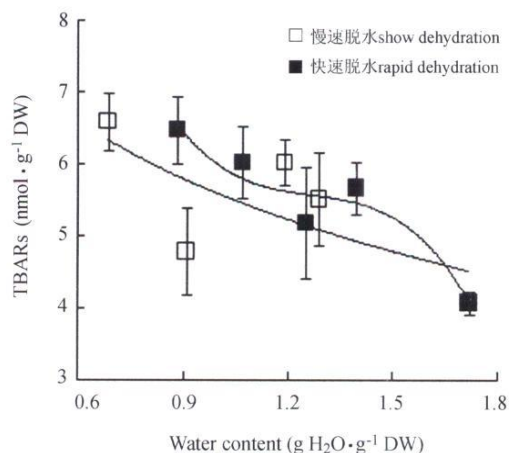


图4 不同脱水速率下, 木奶果种子的 TBARs 含量的变化

Fig 4 Changes in TBARs of *B. ramiflora* seeds at different drying rates

明显增加时, 慢速脱水萌发率明显高于快速脱水 (图 2: b)。这些结果表明木奶果胚轴的电解质渗漏率变化能一定程度上反映种子的脱水伤害程度。

Smith and Berjak (1995) 认为脱水使顽拗性种子活力降低的主要原因之一是自由基伤害和膜质过氧化作用。Pammenter 等 (2000) 提出, 在脱水的顽拗性种子中至少发生两种类型的伤害: 严格的脱水伤害和建立在水分基础上的氧化伤害。前者在丧失大量水分时发生, 引起大分子结构的伤害; 后者在中间含水量时发生, 是一种不受调控的代谢作用, 即自由基的产生及脂质过氧化作用的结果。木奶果种子脂质过氧化产物 TBARs 含量随脱水逐渐增加, 快速脱水 TBARs 含量增加速率高于慢速脱水, 两种脱水方式含水量降至 $0.90 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 左右时, 慢速脱水种子的萌发率达到最大为 97.78%, 而快速脱水的萌发率为 64.44%, 此时慢速脱水过程中 TBARs 的含量降低, 且远低于此时的快速脱水 (图 4)。因此综合萌发、相对电解质渗漏率以及 TBARs 含量的结果, 可以看出木奶果种子在快速脱水以后受到的伤害要大于慢速脱水, 这与顽拗性种子更耐快速脱水的很多研究相反 (邵玉涛等, 2006; 李永红和马颖敏, 2008; 闫兴富等, 2009)。另外在快速脱水导致伤害大的同时, 与慢速脱水相比, 木奶果种子具有较高的 SOD, APX 和 DHAR 活性, 仅 SOD 活性低于慢速脱水。为什么较高的抗氧化酶 (SOD, APX 和 DHAR) 活性状态下, 种子的脂质过氧化水平反而更高? 一个可能的原因是 CAT 在脱水耐性的获得中起着决定性的作用; 另外, 抗氧化酶 SOD, APX 和 DHAR 可能是在受到较大的脱水伤害时才被诱导, 所以当快速脱水伤害大时, 导致种子具有较高的酶活性。

本实验确定了木奶果种子的贮藏特性属于顽拗性, 慢速脱水更有利于提高其萌发率, 所以慢速适度脱水后可能会有利于提高木奶果种子的贮藏寿命。与大多数认为顽拗性种子的脱水速率越快, 伤害积累就越少, 种子能耐受的水分含量就越低的观点相反, 木奶果种子对快速脱水更敏感, 受伤害更大。这样的耐慢速脱水的顽拗性种子未见报道, 因此进一步研究的价值极大。

率都有所提高, 其中慢速脱水提高显著, 从 86.67% 提高到 97.78%。随着脱水程度进一步加深萌发率迅速下降, 脱水至相近含水量时慢速脱水的种子萌发率高于快速脱水的 (图 2: a)。本研究表明木奶果种子慢速脱水比快速脱水更有利于提高脱水耐性。这与正常性种子玉米胚慢速脱水时脱水耐性较快速脱水高的结果相类似 (罗银玲等, 2005)。

然而, 许多研究认为快速脱水能提高顽拗性种子的脱水耐性 (Pammenter 等, 1998; Wesley-Smith 等, 2001; Song 等, 2003)。伍贤进等 (2001) 研究了脱水速率对黄皮胚轴脱水敏感性的影响, 发现快速脱水的胚轴能在较低含水量下存活, 降低了黄皮胚轴半致死含水量, 提高了其脱水耐性。Wesley-Smith 等 (2001) 发现快速脱水明显提高了木菠萝胚轴的脱水耐性, 快速脱水至 $0.37 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DW}$ 时存活率仍然保持在 100%, 但慢速脱水至相同含水量时存活率已降为零。很多研究也表明, 与慢速脱水相比, 顽拗性种子在快速脱水后具有更高的萌发率, 从而得出慢速脱水对种子的伤害比快速脱水大的结论 (邵玉涛等, 2006; 李永红和马颖敏, 2008; 闫兴富等, 2009)。

木奶果胚轴的电解质渗透速率随着脱水进程逐渐增加, 在萌发率很高时快速脱水和慢速脱水的电解质渗透速率缓慢增加比较近似, 当电解质渗透率

致谢 中国科学院西双版纳热带植物园刘强和陈志欣对实验提供了帮助。

〔参 考 文 献〕

- Aebi HE, 1983. Catalase [A]. In: Bergmeyer HU ed. Methods of Enzymatic Analyses [M]. Weinheim: Verlag Chemie, 273—286
- Arrigoni O, DeGara L, Tommasi F et al., 1992. Changes in the ascorbate system during seed development of *Vicia faba* [J]. Plant Physiology, 99: 235—238
- Bilia DAC, Marcos Filho J, Novembre ADCL, 1999. Desiccation tolerance and seed storability of *Inga uruguensis* (Hook. Et. Arn.) [J]. Seed Science and Technology, 27: 77—89
- 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
- Donahue JL, Okpodu MC, Cramer CL et al., 1997. Responses of antioxidants to paraquat in pea leaves [J]. Plant Physiology, 113: 249—257
- Finch Savage WE, Blake PS, 1994. Indeterminate development in desiccation sensitive seeds of *Quercus robur* L. [J]. Seed Science Research, 4: 127—133
- Greggains V, Finch Savage WE, Atherton NM et al., 2001. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds [J]. Seed Science Research, 11: 235—242
- 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
- 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
- Konstantinidou E, Takos I, Merou T, 2008. Desiccation and storage behavior of bay laurel (*Laurus nobilis* L.) seeds [J]. European Journal of Forest Research, 127: 25—31
- Knörzer OC, Dumer 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
- 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
- Li YH (李永红), Ma YM (马颖敏), 2008. Effects of drying at different rates on desiccation sensitivity and membrane lipid peroxidation of *Pachira macrocarpa* seeds [J]. Chinese Journal of Tropical Crops (热带作物学报), 6: 738—743
- Pammenter NW, Greggains V, Kioko JI et al., 1998. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis* [J]. Seed Science Research, 8: 463—471
- Pammenter NW, Berjak P, 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanisms [J]. Seed Science Research, 9: 13—37
- Pammenter NW, Berjak P, Walters C, 2000. The Effects of Drying Rate on Recalcitrant Seeds: 'Lethal Water Content' Causes of Damage, and Quantification of Recalcitrance [A]. In: Black M, Bradford KJ, Vázquez Ramos J eds. Seed Biology: Advances and Applications [M]. Oxon: CABI Publishing, 215—221
- Roach T, Ivanova M, Beckett PP et al., 2008. An oxidative burst of superoxide in embryonic axes of 19 recalcitrant sweet chestnut seeds as induced by excision and desiccation [J]. Physiologia Plantarum, 133: 131—139
- Roberts EH, 1973. Predicting the storage life of seeds [J]. Seed Science and Technology, 1: 499—514
- Shao YT (邵玉涛), Yin SH (殷寿华), Lan QY (兰芹英) et al., 2006. Developmental changes in relation to desiccation tolerance of *Archontophoenix alexandrae* (Palmae) seeds [J]. Acta Botanica Yunnanica (云南植物研究), 28: 515—522
- Smith MT, Berjak P, 1995. Deteriorative Changes Associated with the Loss of Viability of Stored Desiccation Tolerance and Desiccation sensitive Seeds [A]. In: Kigel J, Galili G eds. Seed Development and Germination [M]. New York: Marcel Dekker, 701—746
- Song SQ, Beljal P, Pammenter N et al., 2003. Seed recalcitrance: a current assessment [J]. Acta Botanica Sinica, 45 (6): 638—643
- Waters C, Pammenter NW, Berjak P et al., 2001. Desiccation damage, accelerate ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds [J]. Seed Science Research, 11: 135—148
- Wesley Smith J, Pammenter NW, Berjak P et al., 2001. The effects of two drying rates on the desiccation tolerance of embryonic axes of recalcitrant jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) seeds [J]. Annals of Botany, 88: 653—664
- Wu XJ (伍进贤), Song SQ (宋松泉), Qian CM (钱春梅) et al., 2001. Effects of drying at different rates on desiccation sensitivity and membrane lipid peroxidation in Chinese wampee [*Clausena larium* (Lour.) Skeels] axes [J]. Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报), 27: 407—412
- Yan XF (闫兴富), Du Q (杜茜), Wang JL (王建礼) et al., 2009. Effects of dehydrating treatments on seeds germination of *Liriodendron obtusifolium* [J]. Seed (种子), 7: 93—96