不同脱水速率对“勐海大叶茶”种子脱水敏感性与抗氧化酶活性的影响*

陈志欣^{1,2}, 包云秀³, 郑丽^{1**}, 兰芹英², 谭运洪²

(1. 云南农业大学 园林园艺学院, 云南 昆明 650201;

2. 中国科学院 西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303;

3. 云南省农业科学院 茶叶研究所, 云南 勐海 666200)

摘要: 以大叶茶品种“勐海大叶茶”(*Camellia sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha) 种子为材料, 研究了脱水速率对种子的脱水敏感性与抗氧化酶活性的影响。快速脱水采用活化硅胶进行脱水处理, 慢速脱水采用饱和氯化钠溶液进行脱水。结果表明: “勐海大叶茶”种子对脱水敏感, 种子含水量高于 44% 时, 慢速脱水条件下, 种子的脱水耐性高于快速脱水; 种子含水量低于 38% 时, 快速脱水条件下, 种子脱水耐性高于慢速脱水。脱水过程中种子细胞膜系统受到了伤害, 相对电导率和 TBARs 含量均呈上升趋势, SOD 的活性总体上呈上升的趋势; CAT 呈下降的趋势; 慢速脱水过程中, GR 和 DHAR 活性被激发, 在一定程度上减少了脱水伤害。

关键词: “勐海大叶茶”种子; 脱水速率; 抗氧化酶; 膜质过氧化; 脱水敏感性

中图分类号: S 571.1.032 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X (2012) 02-0241-07

Effect of Different Drying Rates on the Desiccation Tolerance and Antioxidant Enzyme Activities of *Camellia sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha Seeds

CHEN Zhi-xin^{1,2}, BAO Yun-xiu³, ZHENG Li¹, LAN Qin-ying², TAN Yun-hong²

(1. College of Landscape and Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Mengla 666303, China;

3. Institute of Tea, Yunnan Agriculture Academy of Sciences, Menghai 666200, China)

Abstract: The effects of different drying rates on desiccation tolerance and antioxidant enzyme activities of “Menghai Dayecha” (*Camellia sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha) seeds were studied. Rapid-dehydrated method was carried out by activated silica gel; slow-dehydrated method was carried out by a saturated solution of sodium chloride. Results showed that “Menghai Dayecha” seeds were sensitive to dehydration, while dehydration continued seed germination rates declined. When water content was higher than 44%, seeds of “Menghai Dayecha” showed higher tolerance at slow-dehydrated method, though when water content was lower than 38%, seeds of “Menghai Dayecha” showed higher tolerance at rapid-dehydrated method. Cell membrane cleavage occurred during dehy-

收稿日期: 2011-04-20 修回日期: 2011-05-10 网络出版时间: 2012-3-16 17:43

* 基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (208131)。

作者简介: 陈志欣 (1983-), 女, 山东泰安人, 在读硕士研究生, 主要从事观赏植物种子生理生化及保存研究。

E-mail: himountain@163.com

** 通讯作者 Corresponding author: 郑丽 (1971-), 女, 云南昭通人, 副教授, 博士, 主要从事植物生理生态及应用方面的研究。E-mail: Starislandmy@hotmail.com

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20120316.1743.201202.241_018.html

dration, as a result of relative electrolyte leakage and TBARs content ascent. Superoxide dismutase (SOD) increased during dehydration; catalase (CAT) decreased with the declining water content; glutathione reductase (GR) and dehydroascorbate reductase (DHAR) activities were inspired at slow-dehydrated method, which reducing the desiccation damage.

Key words “Menghai Dayecha” seeds; drying rate; antioxidant enzyme; lipid peroxidation; desiccation sensitivity

研究表明茶 (*Camellia sinensis*) 的种子属于不耐干燥、低温贮藏的“顽拗型” (recalcitrant) 种子^[1-4]。AMITA 等以小叶茶 (*C. sinensis*) 为材料, 研究指出刚采收的新鲜茶树种子萌发率达到了 100%, 但去掉果皮后, 茶树种子开始发生脱水, 含水量降到 19% 时, 萌发率也随着降到 59.8%, 进而表明茶树种子具脱水敏感性^[4]。

正常性种子内部包含整套的抗氧化系统, 包括抗氧化酶类和抗氧化剂, 来阻止脱水伤害。顽拗性种子中也存在抗氧化系统, 然而研究发现过氧化作用的加强和抗氧化酶活性的下降是顽拗性种子脱水过程中丧失活力的主要原因之一^[5]。顽拗性种子脱水伤害的一个重要原因在于脱水导致代谢失衡, 造成活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 等有害物质的积累, 进而产生过氧化伤害^[6]。PAMMENTER 等指出, 顽拗性种子在脱水状态下, 至少发生两种类型的伤害: 一脱水引起大分子结构受伤, 是真正的脱水伤害; 二是水介导的氧化伤害, 即处于中等含水量时发生的一种不受调控的代谢结果^[7]。在中等水分含量时, 不受控制的氧化反应发生, 导致脱水伤害。快速脱水持续的时间较短, 伤害积累较少^[8], 脱水至相似含水量时慢速脱水持续的时间较长, 造成伤害积累。研究表明, 快速脱水能缩短中等含水量下水介导的膜质过氧化, 进而减少水介导的氧化伤害^[9]。伍贤进等发现在快速、中速和慢速脱水速率中, 快速脱水显著降低了黄皮 (*Clausena lansium*) 胚轴的致死含水量^[10]。PAMMENTER 等发现茶胚轴脱水速率越快, 生活力完全丧失之前, 所达到的含水量愈低^[7]。

大叶茶 (*C. sinensis* var. *assamica*), 又名普洱茶, 为山茶科山茶属植物, 大叶类, 大乔木, 大叶茶为云南特有的茶种, 原产于云南西双版纳、思茅等地, 是制作普洱茶的原材料, 大叶茶及其近缘种均有较大而美丽的花瓣, 雄蕊数多^[11], 株

型美观, 不少地方也将大叶茶作为园林树木栽培。在云南, 大叶茶的种质资源非常丰富, 但由于其种子的顽拗性特性, 致使大叶茶种质资源不能得到较好的保存。本研究以“勐海大叶茶” (*C. sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha) 种子为材料, 研究了快速和慢速两种脱水方式下种子活力及抗氧化酶活性的变化, 并对指示细胞膜损伤程度的相对电导率和脂质过氧化产物 TBARs 的含量进行了测定, 从而探讨不同脱水速率下, “勐海大叶茶”种子活力及抗氧化酶变化的差异, 并找到提高“勐海大叶茶”种子脱水耐性的脱水方式, 最终为“勐海大叶茶”种质资源的保存提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料选择

供试材料“勐海大叶茶”成熟蒴果均于 2010 年 10 月 15 日采自西双版纳勐海县茶科所品种山, 海拔 1 176 m, 所有采种茶树种植年限均为 34 年。选取大小中等、颗粒饱满、无病虫害及机械损伤的灰褐色种子进行试验。

1.2 种子脱水处理

处理 1: 将种子放于室温下, 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, 3, 6, 10, 24, 48 h (硅胶与种子的体积比例为 10:1)。处理 2: 将种子放入室温下、含饱和氯化钠溶液的干燥器中进行慢速脱水, 脱水时间分别为: 0, 96, 168, 216, 264, 288 h。

1.3 含水量的测定

分别随机取 1 粒新鲜和脱水后的种子进行含水量的测定, 采用烘干称重法: 在 103℃ 的烘箱中烘 (17 ± 1) h, 设置 7 个重复, 种子含水量以干重为基础计算。

1.4 脱水对种子萌发的影响

试验材料为 1.3 节中经脱水处理后的种子, 随机选取 15 粒种子, 播于含 0.7% 琼脂的培养基

中,设置4个重复。培养条件为25℃,持续光照的培养箱,胚根伸出种皮2 mm 视为萌发,试验持续50 d。

1.5 相对电导率的测定

参照路信等^[12]的方法,取经不同脱水处理的种子,切取胚方,加入10 mL 去离子水测定其相对电导率,设置5个重复,每个重复取3粒种子。电导率仪型号为 DDSJ-308A。

1.6 抗氧化酶液的提取与活性测定

1.6.1 抗氧化酶液的提取

取经不同脱水处理的种子各20粒(去除种皮),在液氮中研磨成粉末,参照路信等^[12]的方法提取抗氧化酶液。

1.6.2 抗氧化酶活性的测定

超氧化物歧化酶 SOD (EC1.15.1.1) 的测定参照 DONAHUE 等^[13]的方法。过氧化氢酶 CAT (EC1.11.1.6) 的测定参照 AEBI^[14]的方法。谷胱甘肽还原酶 GR (EC1.6.4.2) 的测定参照 HALLIWELL 和 FOYER^[15]的方法。脱氢抗坏血酸还原酶 DHAR (EC1.8.5.1) 的测定参照 ARRIGONI 等^[16]的方法。抗坏血酸过氧化物酶 APX (EC1.11.1.11) 的测定参照 NAKANO 和 ASADA^[17]的方法。每种酶活性的测定设置3个重复。

1.6.3 蛋白含量的测定

参照 BRANDFORD^[18]的方法,用牛血清蛋白作标准曲线,设置3个重复。

1.7 脂质过氧化产物的测定

参照 HENDRY 等^[19]改进的方法,通过测定丙二醛(MDA)与硫代巴比妥酸反应后的产物(thiobarbituric acid-reactive substances, TBARS)浓度计算MDA的含量,设置3个重复。

1.8 参数计算

萌发率 = 发芽种子数 / 供试种子数 × 100%。

1.9 数据分析

实验数据用 Microsoft Excel 2003 进行统计、图表绘制及偏差分析。

2 结果与分析

2.1 不同脱水方式对种子脱水耐性的影响

2.1.1 不同脱水方式对种子含水量的影响

“勐海大叶茶”种子的初始含水量较高,为85%,随着脱水时间的延长,两种脱水方式下种子的含水量呈均不断下降的趋势,快速脱

水条件下,种子含水量的下降剧烈,脱水3 h后,种子含水量下降至67%,而慢速脱水条件下,需要经历96 h的脱水,种子的含水量才能降至同一水平。含水量降低约50%所需要的时间,快速脱水为6 h,慢速脱水为168 h(图1)。

图1 不同脱水速率条件下“勐海大叶茶”种子含水量的变化

Fig. 1 Water content change of seeds of *C. sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha at different drying rates

2.1.2 不同脱水方式对种子萌发率和电解质渗透速率的影响

随着含水量的降低,两种脱水方式条件下,“勐海大叶茶”种子的萌发率均呈现轻微升高后下降的趋势(图2A),脱水初期,两种不同脱水速率条件下,萌发率未出现明显的变化,种子含水量高于44%左右时,慢速脱水条件下,种子的萌发率持续高于快速脱水,种子含水量低于38%时,快速脱水条件下,“勐海大叶茶”种子表现出了更高的脱水耐性。种子含水量由84%降到69%左右时,两种脱水方式条件下,“勐海大叶茶”种子萌发率均表现出了升高的趋势:未经脱水处理的种子萌发率为68.3%,经快速脱水3 h后,萌发率升至80%,经慢速脱水96 h后,萌发率升至83.3%,表明轻微的含水量的降低能促进“勐海大叶茶”种子的萌发。

随着含水量的降低,两种脱水方式条件下,“勐海大叶茶”种子的相对电导率呈现不断上升的趋势,脱水初期,种子含水量高于44%时,快速脱水条件下,种子内部相对电解质渗透速率高于慢速脱水,脱水后期,种子含水量低于38%时,慢速脱水条件下,种子内部相对电解质渗透速率高于快速脱水(图2B)。

图 2 不同脱水速率条件下“勐海大叶茶”种子萌发率 (A) 和电解质渗透速率 (B) 的变化
 Fig. 2 Changes in germination rate (A) and relative electrolyte leakage (B) of seeds of *C. sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha at different drying rates.

2.2 脱水速率对 CAT, SOD, GR, DHAR 和 APX 酶活性及脂质过氧化的影响

2.2.1 脱水速率对 CAT, SOD, GR, DHAR 和 APX 酶活性的影响

随着脱水的进行, “勐海大叶茶”种子的 CAT 活性随含水量的下降呈现下降的趋势, 其中快速脱水条件下 CAT 活性下降较平稳, 而慢速脱水条件下 CAT 酶活性呈现急剧下降然后后上升, 最后急剧下降的趋势 (图 3A); SOD 活性均呈现

上升趋势, 快速脱水后期 SOD 活性增幅较大 (图 3B); GR 活性在两种不同的脱水方式中均呈现上升的趋势, 慢速脱水条件下 GR 的活性增幅较明显, 在脱水的后期, 始终高于快速脱水 (图 3C); 慢速脱水的 DHAR 活性显著高于快速脱水 (图 3D); 在整个脱水过程中均未检测到 APX 酶的活性。在快速脱水条件下, “勐海大叶茶”种子中 CAT 活性高于慢速脱水, 而 GR 和 DHAR 的活性低于慢速脱水 (图 3)。

图 3 不同脱水速率条件下“勐海大叶茶”种子内部CAT, SOD, GR和DHAR活性的变化
 Fig. 3 Changes in activities of CAT, SOD, GR and DHAR of *C. sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha at different drying rates

2.2.2 脱水速率对 TBARs 含量的影响

随着含水量的降低,两种脱水方式下,“勐海大叶茶”种子内 TBARs 的含量均呈现上升的趋势,脱水初期,种子含水量高于 44% 时,快速脱水条件下“勐海大叶茶”种子内产生的 TBARs 高于慢速脱水;脱水后期,种子含水量低于 38% 时,慢速脱水条件下“勐海大叶茶”种子内产生的 TBARs 高于快速脱水。(图 4)

图 4 不同脱水速率下“勐海大叶茶”种子内 TBARs 含量的变化

Fig. 4 Changes in TBARs of *C. sinensis* var. *assamica* cv. Menghai Dayecha seeds at different drying rates

3 讨论

刚采收的“勐海大叶茶”种子含水量为 0.84%,脱水处理易造成伤害,快速脱水至含水量 27% 时,萌发率降至 38.3%,表现出了很高的脱水敏感性特性。

“勐海大叶茶”种子经快速和慢速轻度脱水后,萌发率均有所提高,慢速脱水略高于快速脱水,其萌发率从 68.3% 升高至 83.3% (图 2A)。这与一些棕榈科植物种子的研究结果一致,如假槟榔 (*Archontophoenix alexandrae*) 种子含水量由 43% 下降到 30%,萌发率由 66.67% 升高至 83.33%^[20];三药槟榔 (*Areca triandra*) 种子含水量由 41.86% 降到 23.92%,发芽率由 90% 升为 92.75%,发芽率略有升高^[21];目前,轻微脱水导致种子萌发率升高的原因尚不明确,有些研究者指出,最初的轻度脱水可能破坏了种子内部的某些萌发抑制物质或者启动了某些代谢过程,从而导致发芽率的提高,进一步的脱水会对种子造成伤害进而降低萌发率^[20],关于这方面的机理还需要进一步的研究。

随着脱水程度的加剧,萌发率下降迅速。本研究发现,脱水初期,慢速脱水比快速脱水更有利于提高“勐海大叶茶”种子的脱水耐性,脱水后期,快速脱水条件下“勐海大叶茶”种子表现出了更高的脱水耐性。很多研究指出,快速脱水能提高顽拗性种子的脱水速率^[7,10,22]。PAMMENTER 等对茶 (*C. sinensis*) 的胚轴进行了不同脱水速率的实验,发现当胚轴脱水愈快,在生活力完全丧失之前,所能达到的含水量越低,表明在较高的脱水速率条件下,茶的胚轴可获得较高的脱水耐性^[7],本研究以整粒“勐海大叶茶”种子为试验材料,所得试验结果与茶胚轴的研究结果不一致,有待进一步的研究。但有研究表明,顽拗性的木奶果种子在慢速脱水条件下脱水耐性高于快速脱水^[12],也有研究表明,黑栎种子 (*Quercus nigra*)^[23]、望天树种子 (*Shorea wantian-shuea*)^[24] 的脱水耐性的获得不依赖于种子的脱水速度。

活性氧及脂质过氧化物会破坏细胞膜、酶和核酸,导致种子活力的丧失,种子耐脱水的能力与种子内部保护机制对活性氧的清除是相关的^[25]。在顽拗性种子缓慢脱水过程中,由于不协调的代谢,自由基的产生可能是一种主要的伤害因子,构成一系列的致死伤害^[5]。顽拗性种子(或它们的胚轴)的确具有抗氧化机制^[26-27],脱水过程中有活性氧产生,活性氧对生物大分子、细胞膜等造成伤害,抗氧化系统被认为在脱水耐性获得过程中起很重要作用^[26,28],然而在水分胁迫的情况下,这些保护性机制可能受到了伤害,顽拗性种子脱水过程中对来源于不协调代谢的氧化事件所产生的伤害不能起足够的保护作用可能是脱水敏感性的主要原因^[29]。脱水初期,种子含水量高于 44% 时,快速脱水条件下,“勐海大叶茶”种子内部相对电解质渗透速率和 TBARs 的含量均高于慢速脱水(图 2B;图 4),且萌发率低于慢速脱水,表明此时慢速脱水条件下种子的脱水耐性更高;脱水后期,种子含水量低于 38% 时,慢速脱水条件下,“勐海大叶茶”种子内部相对电解质渗透速率和 TBARs 的含量均高于快速脱水(图 2B;图 4),由于脱水时间的加长,膜质的过氧化程度加剧,但同时激发了种子内部 GR 和 DHAR 的活性,种子含水量降至 20% (脱水 288 h) 时,慢速脱水条件下,GR 和 DHAR 的

活性分别为快速脱水（相似含水量水平）的 1.4 倍和 32 倍，高 GR 和 DHAR 活性使种子内部抗氧化物质 AsA 和 GSH 得到有效积累，在一定程度上缓解了膜质的过氧化，此时种子的萌发率低于快速脱水，综合考虑得出脱水后期虽然 GR 和 DHAR 酶活性得到激发，但并未有效阻止膜质过氧化，此时慢速脱水种子受到的脱水伤害更高，脱水耐性低于快速脱水。PAMMENTER 等指出，脱水时会发生水介导的氧化伤害，即处于中等含水量时发生的一种不受调控的代谢^[7]，慢速脱水的后期，由于脱水时间的延长，这种水介导的氧化伤害不断加剧，表现在相对电解质渗透速率和 TBARS 含量的剧烈升高，GR 和 DHAR 酶活性得到激发迅速升高，但只能在一定程度上减弱长时间的水介导的氧化伤害。

植物体内清除活性氧的酶系统包括 SOD，APX 和 CAT，SOD 是防御 ROS 伤害的第一道防线，它把超氧阴离子转化为过氧化氢，过氧化氢的清除主要靠 APX 和 CAT^[30]。本研究发现，两种脱水速率条件下，脱水过程中，“勐海大叶茶”种子中 SOD 的活性均随含水量的下降呈上升趋势，这与小麦胚（*Triticum aestivum*）和七叶树种子（*Aesculus chinensis*）的研究结果一致^[31-32]，但与顽拗性种子“紫柄籽银桂”（*Osmanthus fragrans*）和木奶果（*Baccaurea ramiflora*）的研究结果不一致^[33, 12]，原因有待进一步的研究。SOD 活性的升高有助于清除种子内部的超氧阴离子，将其转化为过氧化氢，由于两种脱水方式条件下，非常弱的 APX 活性和不断降低的 CAT 活性，导致过氧化氢积累，不能得到有效地清除，从而导致膜质过氧化程度的加剧，表现在 TBARS 含量和相对电解质渗透速率的增加及种子萌发率的不断下降，活性氧的产生和清除处于失衡的状态，进而使“勐海大叶茶”种子的脱水敏感性得以验证。

本研究发现脱水初期，含水量较高时，慢速脱水更有利于“勐海大叶茶”种子脱水耐性的获得，而脱水后期，含水量较低时，快速脱水在提高“勐海大叶茶”种子脱水耐性方面效果更大。这与脱水速率越快，顽拗性种子脱水伤害积累越少，种子耐受的水分含量就越低观点不相符，因此有待做进一步的细致研究。

[参考文献]

- [1] ROBERTS E H. Predicting the storage life of the seeds [J]. *Seed Science and Technology*, 1973 (1): 499-514.
- [2] BERJAK P, VERTUCCI C W, PAMMENTER N W. Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis* [J]. *Seed Science Research*, 1993, 3 (3): 155-166.
- [3] CHANDEL K P S, CHAUDHURY R, RADHAMANI J, et al. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seeds of tea, cocoa and jackfruit [J]. *Annals of Botany*, 1995, 76 (5): 443-450.
- [4] BHATTACHARYA A, NAGAR P K, AHUJA P S. Seed development in *Camellia sinensis* (L.) O. kuntze [J]. *Seed Science Research*, 2002, 12 (1): 41-44.
- [5] SIMTH M T, BERJAK P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-sensitive seeds [M]. // KIGEL J, GALILI G. *Seed development and germination*. New York: Marcel Dekker, 1995: 701-746.
- [6] PAMMENTER N W, BERJAK P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms [J]. *Seed Science Research*, 1999, 9 (1): 13-37.
- [7] PAMMENTER N W, BERJAK P, WAITERS C. *Seed biology: advances and applications* [M]. Oxon: CABI Publishing, 2000: 215-221.
- [8] WALTERS C, PAMMENTER N W, BERJAK P, et al. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds [J]. *Seed Science Research*, 2001, 11 (2): 135-148.
- [9] BERJAK P, PAMMENTER N W. Progress in the understanding and manipulation of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds [M]. // ELLIS R H, BLACK M, MURDOCH A J, et al. *Basic and applied aspects of seed biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997: 249-261.
- [10] 伍贤进, 宋松泉, 钱春梅, 等. 脱水速率对黄皮胚轴脱水敏感性及其膜脂过氧化的影响 [J]. *植物生理学报*, 2001, 27 (5): 407-412.
- [11] 杨崇仁, 张颖君, 高大方, 等. 大理茶种质资源的评价与栽培大叶茶的起源 [J]. *茶叶科学技术*, 2008 (3): 1-4.
- [12] 路信, 罗银玲, 王一帆, 等. 不同脱水速率对木奶果种子脱水敏感性及其抗氧化酶活性的影响 [J]. 云

- 南植物研究, 2010, 32 (4): 361-366.
- [13] DONAHUE J L, OKPODU M C, CRAMER C L. Responses of antioxidants to paraquat in tea leaves [J]. *Plant Physiology*, 1997, 113 (1): 249-257.
- [14] HE A B. Catalase [M] // BERGMEYER H U. Methods of enzymatic analyses [M]. Weinheim: Verlag Chemie, 1983, 273-286.
- [15] HALLIWELL B, FOYER C H. Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography [J]. *Planta*, 1978, 139 (1): 9-17.
- [16] ARRIGONI O, DE GARA L, TOMMASI F, et al. Changes in the ascorbate system during seed development of *Vicia faba* L. [J]. *Plant Physiology*, 1992, 99 (1): 235-238.
- [17] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22 (5): 867-880.
- [18] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72 (12): 248-254.
- [19] HENDRY G, THORPE P C, MERZLYAK M N. Stress indicators: lipid peroxidation [M] // HENDRY G, GRIME J P. Methods in comparative plant ecology. London: Chapman and Hall, 1993: 154-156.
- [20] 杨期和, 袁培华, 廖富林, 等. 假槟榔种子催芽技术和脱水耐性的研究 [J]. *广西植物*, 2007, 27 (6): 913-917.
- [21] 杨期和, 廖富林, 温献环, 等. 三药槟榔种子休眠与萌发的研究 [J]. *广西植物*, 2005, 25 (6): 549-554.
- [22] 宋松泉, BERJAK P, PAMMENTER N, et al. 种子顽拗性: 最新评价 [J]. *植物学报*, 2003, 45 (6): 638-643.
- [23] BONNER F T. Responses to drying of recalcitrant seeds of *Quercus nigra* L. [J]. *Annals of Botany*, 1996, 78 (2): 181-187.
- [24] 闫兴富. 望天树和绒毛番龙眼的种子萌发、幼苗生长及其生境选择特征 [D]. 昆明: 中国科学院西双版纳热带植物园, 2006: 77-79.
- [25] BAILLY C, AUDIGIER C, LADONNE F, et al. 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*, 2001, 52 (357): 701-708.
- [26] HENDRY G, FINCH-SAVAGE W E, THORPE P C, et al. Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. [J]. *New Phytologist*, 1992, 122 (2): 273-279.
- [27] FINCH-SAVAGE W E, HENDRY G, ATHERTON N M. Free radical activity and loss of viability during drying of desiccation-sensitive tree seeds [J]. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, 1994, 102B: 257-260.
- [28] 宋松泉, 龙春林, 殷寿华, 等. 种子的脱水行为及其分子机制 [J]. *云南植物研究*, 2003, 25 (4): 465-479.
- [29] 傅家瑞, 宋松泉. 顽拗性种子生物学 [M]. 北京: 中国科学文化出版社, 2004: 50-53.
- [30] SAIRAM R K, TYAGI A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants [J]. *Current Science*, 2004, 86 (3): 407-421.
- [31] NIEDZWIEDZ-SIEGIEN I, BOGATEK-LESZCZYNSKA R, COME D, et al. Effects of drying rate on dehydration sensitivity of excised wheat seedling shoots as related to sucrose metabolism and antioxidant enzyme activities [J]. *Plant Science*, 2004, 167 (4): 879-888.
- [32] YU F Y, DU Y, SHEN Y B. Physiological characteristics changes of *Aesculus chinensis* seeds during natural dehydration [J]. *Journal of Forestry Research*, 2006, 17 (2): 103-106.
- [33] 李文君, 沈永宝. “紫柄籽银桂”桂花种子脱水耐性与抗氧化系统的关系 [J]. *园艺学报*, 2009, 36 (2): 279-284.