

蒲葵种子脱水耐性及其脱水对其膜脂过氧化的影响

李 朋, 唐安军, 柳建平, 罗安才*

(重庆师范大学生命科学学院, 重庆 400047)

摘 要: 研究了脱水对蒲葵种子活力及其膜脂过氧化的影响。结果表明: 当蒲葵种子含水量下降到 12% 时, 发芽率降至 15%, 含水量下降到 8% 时活力完全丧失, 种子对脱水敏感, 为顽拗型种子。在脱水过程中, 种子发芽率、发芽势和发芽指数逐渐降低; 膜脂过氧化程度加强, 相对电导率、丙二醛 (MDA) 和脯氨酸的含量不断上升; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性先上升, 在含水量 22% 时出现最大值, 之后急速下降; 过氧化氢酶 (CAT) 活性随含水量的下降呈上升趋势; 过氧化物酶 (POD) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 变化趋势相同, 均随着含水量的降低先上升, 在含水量为 17% 时最高, 然后逐渐下降。这些结果表明, 严重脱水能降低蒲葵种子的抗氧化酶活性, 并加剧膜脂过氧化, 从而导致种子活力降低, 甚至丧失。

关键词: 蒲葵; 顽拗性种子; 脱水耐性; 生活力

中图分类号: S 687

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 08-1572-07

Desiccation Tolerance of *Livistona chinensis* Seeds and Effect of Desiccation on Peroxidation of Their Membrane Lipid

LI Peng, TANG An-jun, LIU Jian-ping, and LUO An-cai*

(College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract: The paper focused on the effects of desiccation on viability and membrane lipid peroxidation (MLP) in seeds of *Livistona chinensis*. Seed germination percentage declined to 15% when moisture content was reduced to 12%, and then completely lost at 8% of water content, which suggested that *Livistona chinensis* seeds were desiccation-sensitive seeds, ranked as recalcitrant. In the process of dehydration, the germination percentage, germination strength and germination index of seeds were gradually decreased. The electrical conductivity, malondialdehyde (MDA) and proline contents were progressively increased, which was caused by increased enhanced MLP. Superoxide dismutase (SOD) activity increased to the maximal value at 22% of seed moisture content, then declined rapidly with further water loss. However, catalase (CAT) activity generally increased during desiccation. Activities of peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX) activity initially increased and reached the maximal value at 17% of moisture content, and then declined with further desiccation. These results indicated that

收稿日期: 2011-04-13; 修回日期: 2011-07-19

基金项目: 重庆市科委自然科学基金项目 (20071230); 重庆师范大学重点实验室项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: luocancai@yahoo.com.cn)

decrease in seed viability and activities of antioxidant enzymes occurred, as a result of both MLP and severe desiccation.

Key words: *Livistona chinensis*; recalcitrant seed; desiccation tolerance; viability

Roberts (1973) 根据贮藏特性, 将种子分为正常型种子和顽拗型种子。正常型种子成熟时通常含水量较低, 能被干燥到 1% ~ 5% 的含水量而不发生伤害, 在干燥和低温条件下能长期贮藏而不丧失活力; 顽拗型种子成熟时含水量较高且不耐脱水, 对低温敏感, 不适合在低温、低含水量条件下长期贮藏。Pammenter 和 Berjak (1999) 指出顽拗型种子对脱水高度敏感的原因可能是某些代谢活动被破坏、自由基攻击和氧化作用。Greggains 等 (2001) 认为顽拗型种子在脱水过程中出现的脂类过氧化加剧和自由基积累, 可能是种子生活力下降的主要原因, 同时抗氧化酶类活性的高低也直接影响顽拗性种子的脱水耐性, 脱水敏感性与抗氧化系统酶的活性快速下降有密切关系。Bailly 等 (2001) 指出, 种子脱水耐性可能与细胞内清除活性氧的能力相关。

蒲葵 (*Livistona chinensis*) 为棕榈科植物, 具有很高的观赏价值, 种子可药用于治疗多种癌症 (江苏新医学院, 2001)。在自然情况下, 蒲葵外果皮容易腐烂, 但中果皮、内果皮常与种子紧密粘合在一起, 只有在充分风干时果皮才与种子分离。蒲葵种子成熟时含水量较高, 贮藏期间容易失水或霉烂, 进而丧失生活力。

作者通过对蒲葵种子快速脱水过程中活力及其相对电导率, 丙二醛、脯氨酸含量, 抗氧化酶活性的检测与评价, 旨在揭示种子耐脱水特性, 为其贮藏、种质资源保存及繁殖、引种和苗木生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试种子材料及其含水量测定

蒲葵成熟种子于 2010 年 2 月初采自重庆师范大学校园内, 采后立即去除果皮, 用于试验。

按照国际种子检验规程 (ISTA, 1999), 种子含水量测定采用烘干法, 以鲜样质量计; 测定果实与种子千粒质量及体积 (随机选取 300 粒饱满果实, 分 3 等份, 测其千粒果实质量, 剥去果皮后测定千粒种子质量及种子体积), 均重复 3 次。

1.2 种子萌发试验

选取籽粒饱满的种子置于变色硅胶中脱水, 各脱水梯度均用 500 粒种子。参考 ISTA (1999) 的方法, 将脱水至不同含水量 [即 8%、12%、17%、20%、24%、28%、31%、34% 和 37% (对照)] 的种子于 30 °C 恒温光照箱内培养, 每皿 20 粒, 放于双层吸水纸上, 3 次重复, 以胚根突破种皮 2 mm 记为萌发。

每天记录萌发数, 15 d 后计算发芽势 (即 15 d 之内正常发芽种子的百分率) 和胚根长度, 40 d 后统计发芽率 (GP) 和萌发指数 [$GI = \sum (Gt / Dt)$, Gt 为不同发芽时间 (t) 的发芽率, Dt 为不同的发芽试验天数]。发芽时间 (d) 以每组中最先萌发的种子计时。出叶时间以每组中有包裹叶伸出为计时标准。

1.3 相对电导率、丙二醛含量、脯氨酸含量和抗氧化酶活性的测定

相对电导率、丙二醛、脯氨酸和抗氧化酶类活性的测定, 均设置 7 个含水量梯度, 即 8%、12%、17%、22%、27%、32% 和 37% (对照)。因为蒲葵种子十分坚硬, 很难取出完整的种胚, 所以脱水

处理后立即以种子为材料，参考韩建国等（2000）的方法，采用 DDS-11A 型电导率仪测定电导率。参考陈建勋和王晓峰（2002）的方法测定 MDA 含量。参考张治安等（2003）的方法测定脯氨酸含量、CAT 活性、POD 活性。参照张宪政等（1994）的方法测定 SOD 活性。参照邹琦（2000）的方法测定 APX 活性。以上试验均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 蒲葵果实与种子形态特征及硅胶脱水时种子含水量的变化

蒲葵果实为核果，较大，成熟时果皮颜色由青绿变为深绿色，千粒鲜果质量可达 (3.22 ± 0.23) kg。种子呈浅黄色，椭圆形或卵形，长 17.12~20.24 mm，直径 9.31~11.38 mm，千粒新鲜种子质量为 (1.54 ± 0.19) kg，含水量为 $37.13\% \pm 0.21\%$ 。

在脱水过程中，蒲葵种子含水量不断下降（图 1），前 10 h 下降较快，其后下降缓慢。随着脱水的进行，内果皮逐渐失去柔软性，变得脆硬，并与种子明显分离，同时种子硬度不断增大，在脱水 15 h 左右时，种胚因失水萎缩，与种皮分离。

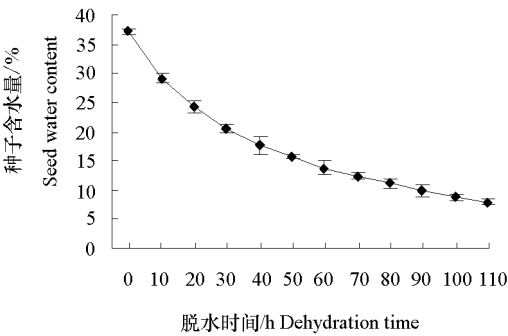


图 1 蒲葵种子脱水过程中含水量的变化
Fig. 1 Changes in water content of *Livistona chinensis* seeds during dehydration

2.2 含水量对蒲葵种子萌发的影响

在快速脱水过程中，蒲葵种子发芽率、发芽势、发芽指数、胚根长度等随着含水量的下降，总体呈降低趋势（表 1）；但适度脱水时，种子发芽指数、胚根长度均增大，在含水量为 31% 时出现最大值 3.91 和 32.42 mm。各含水量种子 20 d 内已经达到最大萌发率。含水量低于 20% 时种子活力急剧降低，当含水量为 20% 时萌发率为 80%，含水量为 17% 时萌发率仅为 35%，而含水量为 8% 时，则完全丧失活力。

表 1 不同含水量对蒲葵种子萌发的影响
Table 1 Effect of different moisture content on seed germination of *Livistona chinensis*

含水量/% Water content	发芽率/% Germination percentage	发芽势/% Germination strength	发芽指数 Germination index	胚根长度/mm Length of radical	发芽时间/d Time of germination	出叶时间/d Time of leafing
8	0 e	0 e	0 d	0 c	—	—
12	15.00 ± 10.00 b	6.67 ± 2.89 d	0.20 ± 0.00 d	0.40 ± 0.01 c	13.00 ± 1.00 a	60.33 ± 8.33 a
17	35.00 ± 15.00 c	25.00 ± 10.00 c	0.52 ± 0.10 d	0.90 ± 0.21 c	11.33 ± 2.08 ab	47.33 ± 4.51 b
20	80.00 ± 5.00 bc	76.67 ± 2.89 b	1.36 ± 0.24 c	2.83 ± 0.25 c	9.00 ± 0.00 bc	38.33 ± 2.52 bc
24	98.33 ± 2.89 a	98.33 ± 2.89 a	2.33 ± 0.21 b	3.73 ± 0.35 c	7.67 ± 1.15 cd	28.67 ± 2.08 c
28	100.00 ± 0.00 a	100.00 ± 0.00 a	3.67 ± 0.21 a	10.50 ± 1.25 b	4.00 ± 1.00 e	35.00 ± 3.46 c
31	100.00 ± 0.00 a	100.00 ± 0.00 a	3.91 ± 0.26 a	32.42 ± 4.33 a	4.00 ± 0.00 e	28.33 ± 2.52 c
34	100.00 ± 0.00 a	100.00 ± 0.00 a	3.43 ± 0.08 a	28.80 ± 3.35 a	5.00 ± 0.00 de	30.00 ± 3.61 c
37（对照 Control）	100.00 ± 0.00 a	100.00 ± 0.00 a	2.70 ± 0.28 b	32.10 ± 2.39 a	6.00 ± 0.00 de	30.00 ± 2.65 c

注：同列不同小写字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ）。
Note: Values in the same column with different small letters are significantly different ($P < 0.05$).

2.3 含水量对蒲葵种子相对电导率、丙二醛和脯氨酸含量的影响

随着脱水程度的增加, 蒲葵种子相对电导率逐渐上升 (图 2, A), 其中在脱水初期上升较快, 而在含水量 32% ~ 17% 之间趋于缓慢, 含水量为 12% 时达到最大值 58.22%, 但含水量为 8% 时又下降。

种胚 MDA 含量随着含水量的下降而增加 (图 2, B), 含水量降低至 17% 和 8% 时, 分别为对照的 190.83% 和 259.04%。

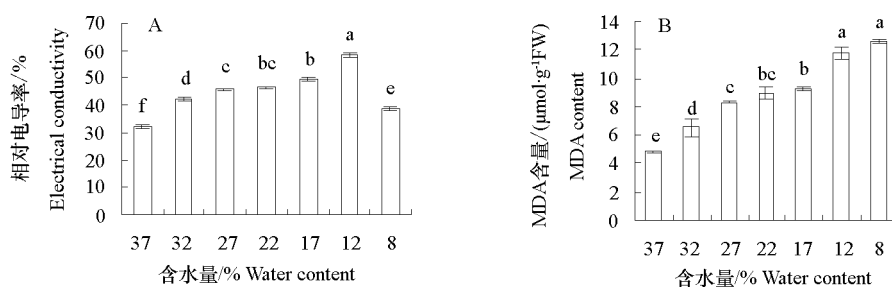


图 2 蒲葵种子脱水过程中相对电导率和 MDA 含量的变化

Fig. 2 Changes of electrical conductivity and MDA content of *Livistona chinensis* seeds during dehydration

新鲜蒲葵种胚的脯氨酸含量较低, 为 $262.78 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$, 当含水量从 37% 降到 22% 时, 脯氨酸含量增加较快, 是对照的 6.79 倍, 之后随脱水程度的增加, 脯氨酸含量均较高 (图 3)。

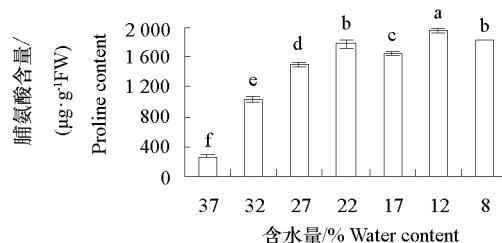


图 3 蒲葵种子脱水过程中脯氨酸含量的变化

Fig. 3 Changes of proline content of *Livistona chinensis* seeds during dehydration

2.4 含水量对蒲葵种子SOD、CAT、POD和APX活性的影响

蒲葵种子脱水过程中, SOD 活性呈先下降, 再上升, 又下降的趋势, 含水量为 22% 时, SOD 总活性达到最大, 是对照的 4.57 倍, 之后又随脱水而迅速下降 (图 4, A)。

CAT 活性随着含水量的降低, 总体呈上升趋势 (图 4, B)。

POD 和 APX 活性变化趋势基本相同, 在脱水初期均缓慢上升, 含水量降至 17% 时达到最大值, 之后又显著降低 (图 4, C、D)。

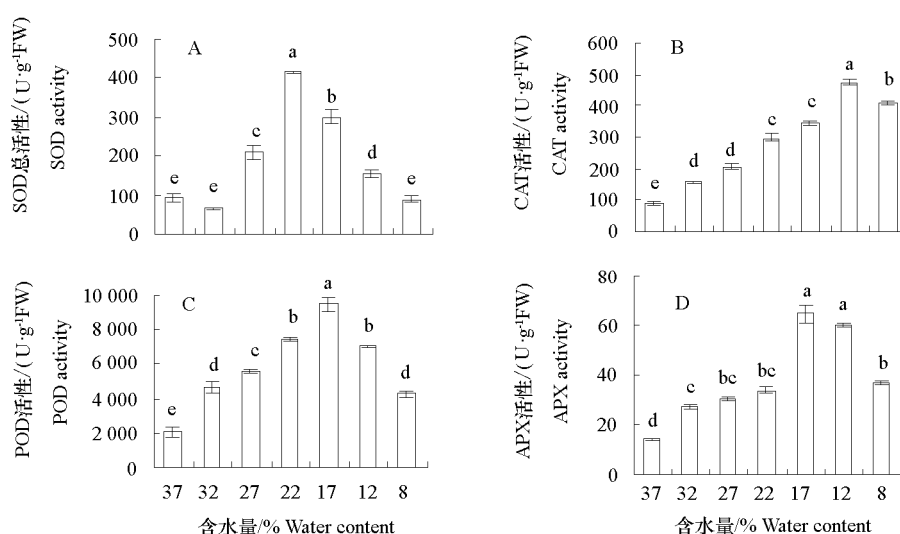


图 4 蒲葵种子脱水过程中 SOD、CAT、POD 和 APX 活性的变化

Fig. 4 Changes in SOD, CAT, POD and APX activities of *Livistona chinensis* seeds during dehydration

3 讨论

不同含水量萌发试验表明, 轻微脱水可促进蒲葵种子萌发, 但过度脱水则延迟种子萌发, 甚至导致其失去活力。这与欧洲七叶树 (Hong & Ellis, 1990)、马拉巴栗 (李永红和马颖敏, 2008)、欧亚槭 (Tompsett & Pritchard, 1998) 等种子类似。随着含水量的不断降低, 蒲葵种子生活力逐渐下降, 表明其不耐脱水。Farrant 等 (1988) 提出种子顽拗性连续群的概念, 将顽拗型种子分为低度、中度和高度顽拗性 3 种类型。唐安军等 (2004) 提出, 中度顽拗型种子能忍受中等程度的脱水。含水量为 20% 时, 蒲葵种子萌发率为 80%, 当含水量为 12% 时, 萌发率仅为 15%, 而含水量为 8% 时完全丧失活力, 表现出中度型顽拗性种子的特征。

脱水对组织的伤害主要表现为细胞膜或细胞器膜结构和功能的破坏, 引起电解质大量外渗, 以及膜脂过氧化产物 MDA 的积累。Vertucci 等 (1993) 提出电解质渗透速率可作为定量顽拗型种子脱水敏感性的参数。在本试验中, 蒲葵种子相对电导率在脱水过程中逐渐增大, 与银杏种子、七叶树种子、银槭种子 (Becwar et al., 1982; Wesley-Smith, 2001; 颜世超 等, 2005) 相似。在含水量为 12% 时, 相对电导率出现最大值, 而 8% 时却出现明显降低, 其原因尚不清楚, 需进一步研究。陈少裕 (1991) 指出, 膜脂过氧化的终产物 MDA 对植物细胞有毒害作用。蒲葵种胚中的 MDA 含量随着含水量的下降而上升, 这种现象与板栗胚轴 (宗梅 等, 2006)、桂花种子 (李文君和沈永宝, 2009)、马拉巴栗种子 (李永红和马颖敏, 2008) 等脱水时 MDA 含量的变化相似, 但与小麦芽 (Niedzwiedz-Siegien et al., 2004)、银杏种子 (颜世超 等, 2005) 脱水时先上升后下降的趋势不一致, 这可能是由于不同植物种类的特点决定的, 正如 Pammenter 和 Berjak (1999) 提出的顽拗型种子的脱水敏感性也与物种有关。

脯氨酸是水溶性氨基酸, 具有很强的水合能力。当种子脱水时, 游离脯氨酸能够为种子细胞的生化反应提供自由水, 从而对细胞起到保护作用。刘友良和汪良驹 (1998) 认为脯氨酸是一种膜稳定剂, 可以防止细胞由于脱水而引起的伤害。蒲葵种子在脱水过程中, 当含水量高于 22% 时, 种子活性尚未出现明显的水分胁迫, 可能与脯氨酸含量增加较快而缓解了水分胁迫有关。这种现象表明了蒲葵种子经过适度脱水后, 促使细胞内的脯氨酸积累, 增强了对水分胁迫的抗性。

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:严格的脱水伤害和相关的氧化伤害。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,是自由基产生及其膜脂过氧化作用的结果。Vertucci 和 Farrant(1995)也提出在中间含水量时,自由基的产生及膜脂过氧化作用是引起脱水伤害的主要原因之一。McDonald(1999)也报道,抗氧化系统活性的下降以及膜脂过氧化作用的加强是种子劣变的主要原因。Li 和 Sun(1999)研究也表明,顽拗型可可种子的胚轴脱水敏感性与抗氧化酶活性的下降相关。SOD、CAT、POD 和 APX 活性的高低直接影响着脱水耐性,且共同作用,避免在脱水期间活性氧积累造成氧化伤害(Smirnoff, 1993)。蒲葵种子在脱水初期,抗氧化酶类活性逐渐增大,清除细胞内过量的活性氧,保护细胞膜不受自由基的伤害。SOD 活性先快速增加,之后又下降,这与李永红和马颖敏(2008)关于马拉巴栗种子的报道相同;而 CAT 活性从脱水初期一直处于快速增长水平;POD 和 APX 活性都先增加,之后又迅速下降,两者变化趋势基本相同。在整个脱水过程中抗氧化酶类可能互补共同协作,含水量为 17%时抗氧化酶类活性均处于较高水平,可能是脱水刺激了抗氧化酶类的表达,使其在关键含水量时活性较高;而在 8%的相对低含水量时,代谢发生紊乱,抗氧化酶系统崩溃,各种酶活性迅速下降,导致膜脂过氧化进一步加强,相对电导率和 MDA 不断上升,从而致使种子活力下降或丧失。

References

- Bailly C, Audigier C, Ladonne F, Vagner M H, Coste F, Corbineau F, Come D. 2001. Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality. *J Exp Bot*, 52: 701 - 708.
- Becwar M R, Stanwood P C, Roos E E. 1982. Dehydration effects on imbibitional leakage from desiccation-sensitive seeds. *Plant Physiol*, 69: 1132 - 1135.
- Chen Jian-xun, Wang Xiao-feng. 2002. *Experinetal guidance for plant physiology*. Guangzhou: South China University of Technology Press: 115 - 124. (in Chinese)
- 陈建勋, 王晓峰. 2002. 植物生理学实验指导. 广州: 华南理工大学出版社: 115 - 124.
- Chen Shao-yu. 1991. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell. *Plant Physiol Commun*, 27 (2): 84 - 90. (in Chinese)
- 陈少裕. 1991. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. 植物生理学通讯, 27 (2): 84 - 90.
- Farrant J M, Pammenter N W, Berjak P. 1998. Recalcitrance—A current assessment. *Seed Sci & Technol*, 16: 155 - 166.
- Greggains V, Finch-Savage W E, Atherton N M, Berjak P. 2001. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds. *Seed Sci Res*, 11: 235 - 242.
- Han Jian-guo, Qian Jun-zhi, Liu Zi-xue. 2000. A study on improving seed vigour by PEG treatment in *Zoysia grass*. *Grassland of China*, (3): 22 - 28. (in Chinese)
- 韩建国, 钱俊芝, 刘自学. 2000. PEG 渗调处理改善结缕草种子活力的研究. 中国草地, (3): 22 - 28.
- Hong T D, Ellis R H. 1990. Acomparision of maturation drying, germination and desiccation tolerance between the developing seeds of *Acer pseudoplatanus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytol*, 116: 589 - 596.
- International Seed Testing Association (ISTA) . 1999. International rules for seed testing. *Seed Sci & Technol*, 27 (Supplement): 47 - 50.
- Jiangsu New Medical College. 2001. *Dictionary of Chinese material medica*. Shanghai: Shanghai Scientificand Technical Publishers: 24 - 59. (in Chinese)
- 江苏新医学院. 2001. 中药大辞典(下册). 上海: 上海科技出版社: 24 - 59.
- Li C, Sun W Q. 1999. Desiccation sensitivity and activities of free radical-scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds. *Seed Science Research*, 9: 209 - 217.
- Li Wen-jun, Shen Yong-bao. 2009. Changes on physiological characteristics of *Osmanthus fragrans* 'Zibing Ziyingui' seeds during dehydration. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (2): 279 - 284. (in Chinese)
- 李文君, 沈永宝. 2009. '紫柄籽银桂' 桂花种子脱水耐性与抗氧化系统的关系. 园艺学报, 36 (2): 279 - 284.

- Li Yong-hong, Ma Ying-min. 2008. Effects of drying at different rates on desiccation sensitivity and membrane lipid peroxidation of *Pachira macrocarpa* seeds. Chinese Journal of Tropical Crops, 29 (6): 738 - 743. (in Chinese)
- 李永红, 马颖敏. 2008. 不同脱水方式对马拉巴栗种子脱水敏感性和膜脂过氧化的影响. 热带作物学报, 29 (6): 738 - 743.
- Liu You-liang, Wang Liang-ju. 1998. Responses to salt stress in plants and its salt tolerance // Yu Shu-wen, Tang Zhang-cheng. Plant physiology and molecular biology. Beijing: Science Press: 752 - 769. (in Chinese)
- 刘友良, 汪良驹. 1998. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性//余叔文, 汤章诚. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社: 752 - 769.
- McDonald M B. 1999. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. Seed Sci & Technol, 27: 177 - 237.
- Niedzwiedz-Siegien I, Bogatek-Leszczynska R, Come D. 2004. Effects of drying rate on dehydration sensitivity of excised wheat seedling shoots as related to sucrose metabolism and antioxidant enzyme activities. Plant Sci, 167: 879 - 888.
- Pammenter N W, Berjak P. 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanisms. Seed Sci Res, 9: 13 - 37.
- Pammenter N W, Berjak P, Walters C. 2000. The effects of drying rate on recalcitrant seeds: Lethal water content, causes of damage, and quantification of recalcitrance // Blank M, Brandford K J, Vazquez-Ramos J. Seed biology: Advances and application. Oxon: CABI Publishing: 215 - 221.
- Roberts E H. 1973. Predicting the storage life of seeds. Seed Sci Technol, 1: 499 - 514.
- Smirnov N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 125: 27 - 58.
- Tang An-jun, Long Chun-lin, Dao Zhi-ling. 2004. Molecular mechanisms and storage technologies of recalcitrant seeds. Acta Botanica Borealo-Occidentalia Sinica, 24 (11): 2170 - 2176. (in Chinese)
- 唐安军, 龙春林, 刀志灵. 2004. 种子顽拗性的形成机理及其保存技术. 西北植物学报, 24 (11): 2170 - 2176.
- Tompsett P B, Pritchard H W. 1998. The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aescidus hippocastanum* L seed. Ann Bot-London, 82: 249 - 261.
- Vertucci C W, Farrant J M. 1995. Acquisition and loss of desiccation tolerance // Kigel J, Galili G. Seed development and germination. New York: Marcel Dekker Inc: 237 - 271.
- Vertucci C W, Farrant J M, Grane J. 1993. The status of and requirement for water in developing bean seeds // Close T J, Bray E A. Plant response to cellular dehydration during environmental stress. Rockville: American Society of Plant Physiologists: 259 - 260.
- Wesley-Smith J. 2001. Freeze-substitution of dehydrated plant tissues: Artefacts of aqueous fixation. Protoplasma, 218: 154 - 167.
- Yan Shi-chao, Gao Rong-qi, Yin Yan-ping. 2005. The relationship between moisture content of *Ginkgo biloba* seeds and activity of reactive-oxygen-scavenging enzymes. Chinese Agricultural Science Bulletin, 21 (3): 207 - 210. (in Chinese)
- 颜世超, 高荣岐, 尹燕萍. 2005. 银杏含水量变化与活性氧清除酶活性的关系. 中国农学通报, 21 (3): 207 - 210.
- Zhang Xian-zheng, Chen Feng-yu, Wang Fu-rong. 1994. The experimental technique of plant physiology. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press: 161 - 165. (in Chinese)
- 张宪政, 陈凤玉, 王富荣. 1994. 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社: 161 - 165.
- Zhang Zhi-an, Zhang Mei-shan, Wei Rong-hai. 2003. Experimental plant health guidance. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press. (in Chinese)
- 张治安, 张美善, 尉荣海. 2003. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社.
- Zong Mei, Cai Li-qiong, Lü Su-fang, Liu Yu-tan, Jia Shu-hua, Cai Yong-ping. 2006. Effect of different desiccation methods on *Castanea mollissima* embryo axis desiccation sensitivity and physiological metabolism. Acta Horticulturae Sinica, 33 (2): 233 - 238. (in Chinese)
- 宗梅, 蔡丽琼, 吕素芳, 刘玉潭, 贾书华, 蔡永萍. 2006. 不同脱水方法对板栗胚轴脱水敏感性和生理生化的影响. 园艺学报, 33 (2): 233 - 238.
- Zou Qi. 2000. The experimental instructor of plant physiology. Beijing: China Agriculture Press: 168 - 172. (in Chinese)
- 邹琦. 2000. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社: 168 - 172.