

西瓜种子内源 β -半乳甘露聚糖酶活性与分布以及与萌发速度的关系

郑晓鹰, 李秀清

(北京市农林科学院 蔬菜研究中心, 北京 100089)

摘要: 利用单粒种子凝胶扩散法研究了 β -半乳甘露聚糖酶在西瓜种子萌发过程中的分布以及与西瓜种子萌发速率的关系。结果发现,在胚根尖突破种皮前吸胀的西瓜种子中,内源 β -半乳甘露聚糖酶主要分布于种子的胚膜套中,并起到减弱外种皮和胚膜套细胞壁对胚根伸出的机械阻力的作用。对具有不同萌发速率的品种以及引发处理和未处理的西瓜种子中酶活性的检测证明, β -半乳甘露聚糖酶活性与西瓜种子萌发速度相关。固体基质引发三倍体西瓜种子过程中 β -半乳甘露聚糖酶的活化和种皮阻力的减弱,是引发种子提高了萌发速度和萌发能力的原因之一。

关键词: 内源 β -半乳甘露聚糖酶; 单粒种子凝胶扩散法; 萌发速度; 引发; 西瓜种子

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)03-0503-05

Activity and distribution of endo- β -mannanase during germination of watermelon seeds and its relationship with germination rate

ZHENG Xiao-Ying, LI Xiu-Qing

(Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100089, China)

Abstract: Activity and distribution of endo- β -mannanase during germination of watermelon seeds was measured and the relationship with germination rate were investigated by using single-seed gel-diffusion. The results show that endo- β -mannanase activity is mostly distributed in perisperm-endosperm(PE) envelope during seed imbibing prior to radicle emergence and play an important role in weakening cell wall of PE envelope and testa and lower their mechanical resistance for radicle emergence. The investigation with two varieties of watermelon seeds which are in different germination rate and capacity as well as primed and unprimed seeds indicate that there's a positive correlation between watermelon seed germination rate and endo- β -mannanase activity. PE envelope weakening and endo- β -mannanase activity are initiated during priming of triploid watermelon seeds is one of the reasons of enhancement of germination rate and germination capacity for primed seeds.

Key words: endo- β -mannanase; single-seed gel-diffusion method; germination rate; priming; watermelon seeds

西瓜(*Citrullus lanatus*)种子随不同的遗传类型表现出不同的萌发能力,成熟饱满的二倍体西瓜种子在标准萌发条件下,萌发2~3 d时就可达到发芽率高峰,发芽率可达90%以上。大部分三倍体西

瓜种子由于其特殊的种子结构,不同程度地存在萌发障碍,如果不作处理,发芽率一般在30%~60%。而经过促萌或引发处理的三倍体西瓜种子,萌发率可提高到90%(Zheng等,2005)。影响西瓜种子正

收稿日期:2006-05-29 修回日期:2006-12-07

作者简介:郑晓鹰(1951-),女,北京人,研究员,主要从事种子生理、种子质量检测分子技术以及种质资源遗传多样性分析研究。

常萌发的主要因素之一是来自种皮和胚膜套的机械阻力。种子中胚乳、子叶或胚膜套细胞壁的主要组成成分是纤维素,甘露聚糖是以 1,4- β -D 吡喃甘露糖苷键连结而成的线状多糖,是植物半纤维素的主要组分。 β -甘露聚糖酶是水解 1,4- β -D 吡喃甘露糖主链的内切水解酶。Toorop 等(1998)对番茄种子进行的试验表明,内源 β -半乳甘露聚糖酶活性与番茄种子萌发时要克服的机械阻力显著相关,番茄种子吸水到一定程度可以激活 β -半乳甘露聚糖酶,随着酶活性的提高,机械阻力随之降低。番茄种子胚根尖顶出萌发孔的阻力主要来自根尖顶部的胚乳帽细胞壁,在番茄种子吸胀过程中胚乳帽中 β -半乳甘露聚糖酶活性提高,使胚乳帽细胞壁水解,减少了胚根尖顶出萌发孔的阻力(Still 等,1997;Toorop 等,1998)。生菜、芝麻和咖啡等种子萌发过程中存在相似的情况(Nascimento 等,2000;Bióloga 等,2001;da Silva,2002)。

西瓜种子不同于番茄种子的是没有胚乳,在萌发和引发过程中是否有内源 β -半乳甘露聚糖酶活性存在,若有,主要分布于种子的哪些部位,是否有降低西瓜种皮机械阻力促进种子胚根尖顶出的作用,目前尚未见报道。本文利用单粒种子凝胶扩散法(Downie 等,1994)研究西瓜种子吸水萌发期间和引发处理过程中 β -半乳甘露聚糖酶在种子中的分布以及酶活性与种子萌发的关系,探讨西瓜种子萌发障碍以及引发提高种子萌发速度和萌发能力的原因。

1 材料与方 法

1.1 供试材料及其处理

种子材料:采用北京蔬菜研究中心培育的三倍体西瓜无籽京欣 3 号和二倍体西瓜京欣 4 号。种子萌发试验:依据国际种子检验规程(ISTA,2003)规定的西瓜种子发芽率测定标准方法,采用 25 $^{\circ}$ C 培养箱纸间萌发,每个样品 50 粒,4 次重复。种子引发处理:无籽西瓜种子采用固体基质引发技术,种子在蛭石基质中,20 $^{\circ}$ C 下培养 24 h,取出后室温缓慢回干至 9% 的原始含水量,密封保存备用。

1.2 内源 β -半乳甘露聚糖酶活性测定

采用 Downie 等(1994)的凝胶扩散法并稍加改进。胶盘制作:在 100 mL pH5 柠檬酸/磷酸缓冲液中加入 50 mg 槐角树脂,在 95 $^{\circ}$ C 搅拌并溶解 20 min;稍冷后倒入离心管,在 5 000 rpm,4 $^{\circ}$ C 下离心

25 min。上清液加入 0.8% 的分子分析级别的琼脂糖,溶后待冷却至 60 $^{\circ}$ C 左右倒入特制胶槽并加上梳孔。种子材料:西瓜种子按常规萌发方式在纸间吸水 3、15、24、27、36 h。依据试验的需要取 0.1 g 不同的种子组织,包括半粒种子,胚膜套,胚根尖,子叶,放入离心管中加入 20 μ L pH5 柠檬酸/磷酸缓冲液,在 25 $^{\circ}$ C 黑暗中培养 2 h。每管取 10 μ L 提取缓冲液,加入胶盘的微孔中。盖上盖子,在 25 $^{\circ}$ C 培养 20~24 h。胶染色:10 mL 0.5% 刚果红倒入胶盘中,将盘放在摇床上(60 rpm)缓摇。刚果红 pH 敏感,在 pH<5.0 时,转为深兰色或黑色,pH>5.0 时,为红色。在 pH5.0 凝胶上刚果红在几秒钟后,转成暗兰色,染色 20 min 后,倒掉刚果红染液,用水洗胶 30 s,仍保持暗兰色。为了看到酶水解的区域,加入 10 mL pH7 磷酸缓冲液,1~2 min 后整个胶变为红色,倒掉缓冲液,红颜色慢慢变暗至深蓝色或黑色。胶孔周围的酶水解圈仍保持红色,当水解圈变得非常清晰时,照相,测量记录。每次试验均以纯化的 *Aspergillus niger* 内源 β -半乳甘露聚糖酶(Megazyme,Sydney,Australia)作标准酶活(比活为:45 U/mg 蛋白)曲线。

2 结果与分析

2.1 内源 β -半乳甘露聚糖酶在西瓜种子中的分布

探讨内源 β -半乳甘露聚糖酶在西瓜种子吸胀过程中是否存在以及其存在的位置,是揭示此酶在萌发中作用的基础。Still 等(1997)用 β -半乳甘露聚糖酶凝胶扩散法试验证明,凝胶上水解圈的大小与酶活性成正相关。我们采用吸胀 26 h 的无籽京欣 3 号种子分别测定了胚膜套、根尖、根尖与胚膜套混合、子叶上半部、子叶下半部提取液中酶的浓度,图 1(a):单粒西瓜种子组织的 β -半乳甘露聚糖酶活性凝胶扩散分析图。上面 4 行为单粒种子组织 10 μ L 浸提液样品周围的酶水解圈:A1 和 B1 为单粒胚膜套;A2、B2、C1、D1 为单粒胚根尖;A3、A6、B3、B6(不带胚膜套)和 C2、D2(带胚膜套)为子叶上半部;A4、A7、B4、B7(不带胚膜套)和 C3、D3(带胚膜套)为子叶下半部;A5、B5 为单粒胚膜套与胚根尖混合;C4、D4 为 5 个胚膜套混合;C5、D5 为 5 个胚根尖混合;C6、D6 为 5 个子叶混合;C7、D7 为胚膜套与胚根尖各 5 个混合。A 和 C 行是引发处理过的种子,B 和 D 行是未引发的种子,E 行是用纯化 β -半

乳甘露聚糖酶不同稀释倍数的标准曲线, 从左至右为: 1 000、500、100、50、10、5、1 $\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1}$ 。b: A 行为 2 粒从中纵切开的种子 1 和 3 位子叶内部接触较面, 2 和 4 位子叶外部的外种皮接触胶面。B 行为 β -半乳甘露聚糖酶在 A 行两粒种子中的分布) 显示的结果表明, 此时的酶活性主要分布在胚膜套中 (图 1a: A5、B5、C4、D4), 在胚根尖中基本没有酶活性存在 (A2、B2), 子叶中 (图 1: B6、7、C5、6、D5、6) 酶活性很弱, 而胚膜套与胚根尖混合提取, 可以明显

提高酶的活性 (B5、D7、C7)。做过引发处理的种子, 在此时间段酶活性分布稍有不同, 胚膜套中的酶活性开始减弱 (A5), 而子叶上半部酶活性提高 (A6、A3)。用去掉外种皮保留胚膜套的种子纵切后, 正反摆放的胚膜套和子叶酶浓度比较的结果也证明, 胚膜套面的酶活性明显高于子叶面 (图 1b)。胚膜套中的酶活性在根尖突破种皮前 10 h 左右最高, 以后逐步降低并向子叶转移, 此时子叶上半部活力明显增加 (A6)。这一试验结果表明, 西瓜种子吸水萌

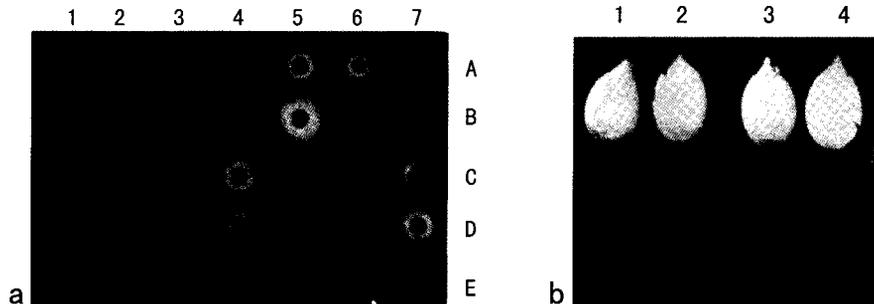


图 1 β -半乳甘露聚糖酶在吸胀 26 h 西瓜种子中的活性分布

Fig. 1 Distribution of endo- β -mannanase activity in watermelon seeds imbibing for 26 h

发过程中有内源 β -半乳甘露聚糖酶存在, 酶活性主要分布在胚膜套中。

2.2 内源 β -半乳甘露聚糖酶活性与西瓜种子萌发速度的关系

2.2.1 同一品种不同活力种子中的酶活力

在一个种子群体中, 由于各种生理和环境因素的影响, 每粒种子表现出不同的萌发速率, 种子群体的活力由每粒种子的萌发能力所体现。具有不同活力的种子群体, 表现出不同的萌发曲线。我们在种子吸水萌发过程的不同时间段, 对未处理和引发处理的西瓜种子的胚膜套和胚根尖混合提取液进行的 β -半乳甘露聚糖酶活性测定的结果 (图 2) 表明, 未引发的种子在吸水 27~36 h 时分布在高酶活力的种子数量最多, 部分种子在 48 h 时胚根尖突破种皮。引发处理的种子在吸水 3 h 时就开始有较多的种子处于较高的酶活性 (图 2), 在 15~27 h 时处于高酶活力的种子数量达到高峰, 36 h 时大部分引发处理过的种子胚根尖突破种皮。而此时具有高酶活性的种子数量并不在最高点, 甚至低于未引发种子时的活性, 这个现象印证了图 1 中胚膜套中的酶活性向子叶中转移的结果。这个结果从种子萌发速度的角度表明, 西瓜种子胚膜套中 β -半乳甘露聚糖酶的活性与西瓜种子的萌发速度有明显的相关性。

2.2.2 不同品种不同活力种子中的酶活力

无籽京欣 3 号和京欣 4 号是种子具有不同萌发能力和萌发速率的两个品种, 在常规发芽条件下, 无籽京欣 3 号萌发速度慢, 不整齐, 发芽率低, 而京欣 4 号可以正常萌发且萌发速度较快。图 3 是吸胀 27 h 时, 两个品种单粒种子胚膜套与胚根尖混合提取的内源 β -半乳甘露聚糖酶活性测定结果。图中可以看到京欣 4 号种子的酶活性明显高于京欣 3 号种子, 而它的萌发速度也明显高于京欣 3 号。这个结果从品种角度表明, 部分品种中 β -半乳甘露聚糖酶活性与种子的萌发能力和速度成正相关。

2.3 引发西瓜种子过程中内源 β -半乳甘露聚糖酶的作用

在利用固体基质引发无籽京欣 3 号种子的过程中, 检测了胚膜套中内源 β -半乳甘露聚糖酶活性, 结果如图 4, 引发 3 h 开始种子中就有酶活性的产生和积累, 引发 24 h 后再回干 4 h (图 4: 28 h) 的种子, 基本保持在引发时的含水量 34% 左右, 表现出内源 β -半乳甘露聚糖酶活力最高, 具有较高活力的种子数最多。引发 24 h 回干 12 h (图 4: 36 h) 后的种子, 酶活力有所降低, 因为此时种子含水量已降低至 10% 左右。这个结果表明, 引发的种子在处理过程中已经历了胚膜套酶活性的提高过程, 同时软化了种皮,

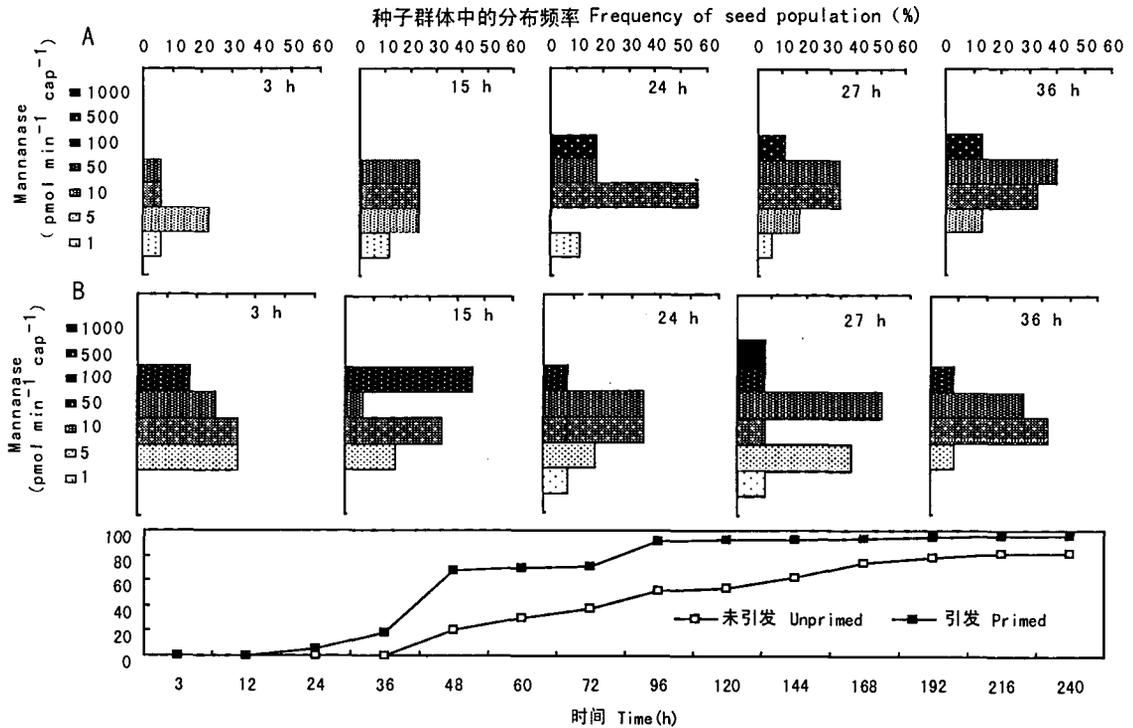


图 2 吸水萌发不同时间段具有不同 β -半乳甘露聚糖酶活性的京欣 3 号西瓜种子胚膜套在引发处理(B)和未引发(A)种子群体中的分布频率
Fig. 2 Frequency of seeds with varies endo- β -mannanase activity in primed and unprimed watermelon seed population imbibing for different time course

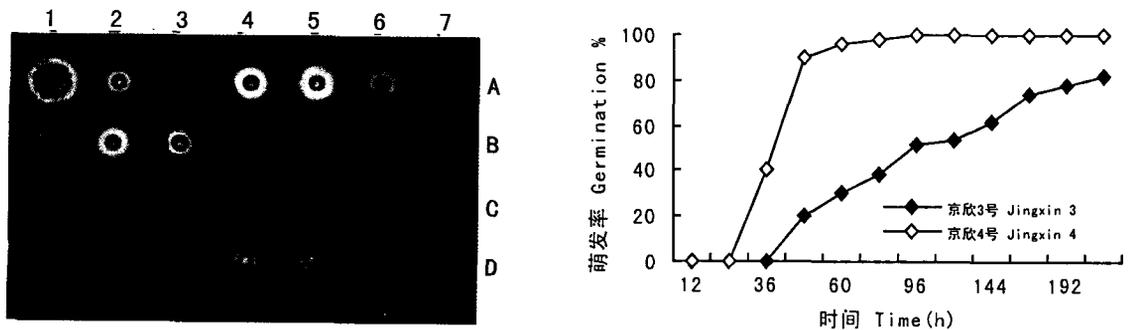


图 3 吸胀的京欣 3 号和京欣 4 号胚膜套中内源 β -半乳甘露聚糖酶活性及萌发能力测定结果
Fig. 3 Endo- β -mannanase activity in endopleura and seed germination capacity of imbibed Jingxin 3 and Jingxin 4 watermelon

A1-B3; 京欣 4 号西瓜种子胚膜套与胚根尖混合提取液的扩散水解圈; B4-C7; 京欣 3 号西瓜种子胚膜套与胚根尖混合提取液的扩散水解圈; D 行, 纯化 β -半乳甘露聚糖酶不同稀释倍数的标准曲线, 从左至右为: 1 000, 500, 100, 50, 10, 5, 1 $\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1}$.

A1-B3; hydrolyzed regions of diffusate from a single endopleura with radicle tip of Jingxin 4; B4-C7; hydrolyzed regions of diffusate from a single endopleura with radicle tip of Jingxin 3; Row D: a partial standard curve of serial dilutions of purified endo- β -mannanase, from left to right: 1000, 500, 100, 50, 10, 5, 1 $\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1}$.

降低了种皮的机械阻力。

3 讨论

很多单子叶、双子叶和裸子植物的吸胀种子和干种子中都有 β -半乳甘露聚糖同工酶活性的存在

(Dirk 等, 1995), 它们在种子吸水萌发过程中, 水解胚乳或子叶细胞壁中的甘露聚糖, 起到降低萌发阻力的作用。但是, 在种子吸水过程中, 活化 β -半乳甘露聚糖酶存在的位置, 随种子种类的不同而存在差异。试验证明, 在番茄、生菜和芝麻等的吸胀种子中酶活性主要存在于萌发孔处的胚乳帽中(Still 等,

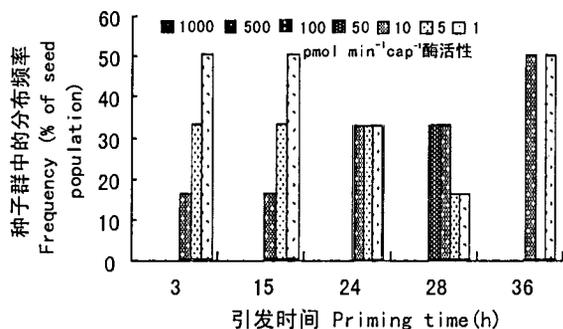


图4 无籽京欣3号西瓜种子引发过程胚膜套中的内源 β -半乳糖甘露聚糖酶活性

Fig. 4 Endo- β -mannanase activity in endopleura of Jingxin 3 during priming process

1997; Toorop 等, 1998; Nascimento 等, 2000; Bióloga 等, 2001), 水稻吸胀种子中的酶活性主要存在于糊粉层、盾片和胚乳中(Ren 等, 2005)。西瓜种子没有胚乳, 我们的试验发现, 吸胀的西瓜种子中有内源 β -半乳糖甘露聚糖酶存在, 在种子吸水萌发至胚根突破种皮之前, 子叶中 β -半乳糖甘露聚糖酶的活性极低, 酶活性主要集中于种皮与种胚之间的胚膜套中, 尤其是胚膜套较厚的品种, 如无籽京欣3号, 酶活性相对较高。西瓜种子的胚膜套是保护种胚的重要屏障, 也是除种皮外阻止萌发的主要障碍, 胚膜套细胞壁的水解, 必然减少胚根伸出的阻力。Nonogaki 等(2000)发现番茄种子吸水萌发过程中存在两种内源 β -半乳糖甘露聚糖同工酶, 一种存在于根尖突破种皮之前的胚乳帽, 并与其机械阻力减弱相关, 另一种存在于环绕着胚的其它胚乳部分, 在根尖突破种皮之后被激活并启动对胚乳中储存的半乳糖甘露聚糖的动员。我们对西瓜种子内源 β -半乳糖甘露聚糖酶分布的研究也发现类似的现象, 在根尖突破种皮之前酶活性主要集中在胚膜套中, 在根尖突破种皮后子叶中的酶活性增高(图2), 但是否也存在着两种同工酶, 还有待进一步研究。

内源 β -半乳糖甘露聚糖酶在西瓜种子吸胀前期产生, 主要分布位置在胚膜套中的现象说明此酶的产生和积累并作用于外种皮和胚膜套细胞壁的水解, 使种皮对胚根伸出的机械阻力降低, 促使种子萌发。Toorop 等(1998)研究表明内源 β -半乳糖甘露聚糖酶活性与番茄种子引发期间胚乳帽对胚根尖伸出的机械阻力的减弱有极强的相关性, 并且电子显微镜扫描发现在种子吸胀过程中, 胚乳帽细胞壁晶状体产生的微孔布满细胞壁。这种作用在有萌发障碍的种子中表现最明显, 无籽京欣3号种子是三倍体西瓜种

子, 外种皮和胚膜套都较厚, 影响了其自主萌发能力, 经过引发处理的京欣3号种子可以提高萌发率60%和萌发速度, 我们对固体基质引发过程中 β -半乳糖甘露聚糖酶活性的检测表明酶活力在此过程中已经激活并提高, 虽然种子脱水回干后酶活力有所降低, 但由于在引发过程中 β -半乳糖甘露聚糖酶的酶活性提高, 使种皮的机械阻力降低的作用一经产生, 回干后仍保持这种状态, 在合适的条件下遇水萌发时, 提高了出苗能力和整齐度, 是引发种子出苗整齐快速的原因之一。

种子是否萌发以及萌发速度有很多限制因素, 如萌发时种子的生理和环境条件, 种子中GA和ABA的含量等, 那末, β -半乳糖甘露聚糖酶的存在与活性是否是西瓜种子萌发的关键因素之一呢, 试验中无籽京欣3号引发处理与未处理种子萌发前吸胀过程中酶活性的表现以及京欣3号与京欣4号种子萌发前酶活性比较的结果表明, 萌发速度快的种子胚膜套中内源 β -半乳糖甘露聚糖酶表现高活性的种子集中出现的时间早于萌发速度慢的种子, 表明 β -半乳糖甘露聚糖酶的酶活性与种子的萌发速度成正相关。然而对胚膜套较薄, 萌发能力和速度都很高的另一个西瓜品种京欣2号吸胀过程中酶活性的检测发现其酶活性很低(资料没有显示)。这些结果表明, β -半乳糖甘露聚糖酶的存在和活性对西瓜种子的萌发有促进作用, 但还不能证明是西瓜种子萌发的限制因素。

参考文献:

- Bourgault R, Bewley JD. 2002. Gel diffusion assays for endo-mannanase and pectin methylesterase can underestimate enzyme activity due to proteolytic degradation: a remedy[J]. *Analytical Biochem*, **300**:87-93
- Banik M, Bourgault R, Bewley JD. 2001. Endo-mannanase is present in an inactive form in ripening tomato fruits of the cultivar Walter[J]. *J Experi Bot*, **52**, **354**:105-111
- Bióloga, de Dourado A, de Dourado A, et al. 2001. Temperature-dependent germination and endo- β -mannanase activity in sesame seeds[J]. *Bras Fisiol Veg*, **13**(2):139-148
- Da Silva EAA. 2002. Germination of coffee seeds: mechanism and regulation[J]. *Wageningen University dissertation*, 3 237
- Dirk LMA, Griffen AM, Downie B, et al. 1995. Multiple isozymes of endo-D-mannanase in dry and imbibed seeds[J]. *Phytochemistry*, **40**:1 045-1 056
- Downie B, Hilhorst HWM, Bewley JD. 1994. A new assay for quantifying endo-D-mannanase activity using Congo Red dye[J]. *Phytochemistry*, **36**:829-835

(下转第 425 页 Continue on page 425)

限制。本文立足于海木粗提取物对昆虫拒食活性的初筛结果,着重研究其枝叶提取物中不同极性成分的生物活性及活性机制,理论和实际上都有重要意义。

实验结果表明:海木氯仿部分提取物对菜青虫幼虫的拒食率达 97.7%,喂毒后 48 h 虫体死亡率最高达 100%;进一步研究其对菜青虫活性的作用机理可能是:提取物一方面通过降低菜青虫体内的乙酰胆碱酯酶活性来抑制菜青虫的神经系统,从而使菜青虫昏迷,另一方面通过提高菜青虫体内消化系统中的蛋白水解酶活性,导致虫体内蛋白质的分解而导致菜青虫死亡。但到底是哪种化合物在起作用,化学结构如何,有待进一步研究证实,跟踪分离单体活性成分的工作我们正在进行中。

参考文献:

- 广西植物研究所. 1971. 广西植物名录(第 2 册)[M]. 广西植物研究所:450.
- 吴文君,刘惠霞,朱靖博,等. 1998. 天然产物杀虫剂—原理·方法·实践[M]. 西安:陕西科学技术出版社,338
- 陈冀胜,郑硕. 1987. 中国有毒植物[M]. 北京:科学出版社:402
- 郭鄂,忻介六. 1988. 昆虫实验方法[M]. 北京:科学出版社:184—194.
- Chiangsu New Medical College. 1977. Dictionary of Chinese crude drugs[M]. Shanghai: Shanghai Scientific Technologic Publisher:1 925
- Purushothaman KK, Venkatanarasimhan M, Sarada A. *et al.* 1987. Can. Trijugins Aand B, tetranortriterpenoids with a novel rearranged carbon skeleton from *Heynea trijuga* (Meliaceae)[J]. *J Chem*, **65**: 35
- Inada A, Konishi M, Murata H, *et al.* 1994. Structures of new limonois and a new triterpenoid derivative from pericarps of *Trichilia connaroides*[J]. *J Nat Prod***57**:1 446.
- Li DP(李典鹏), Zhang HR(张厚瑞), Chen HS(陈海珊), *et al.* 2003. Research and utilization of plant pesticides(植物源农药的研究利用)[J]. *Guihaia*(广西植物), **23**(4):373—378
- Zhang HP, Wu SH, Shen YM, *et al.* 2003. A pentanortriterpenoid with a novel carbon skeleton and a new pregnane from *Trichilia connaroides*[J]. *Can J Chem*, **81**:253—257
- Zeng XR(曾宪儒), Chen HS(陈海珊), Liu Y(刘演), *et al.* 2005. Insecticidal activity of wild Meliaceae plant extracts from Guangxi on the *Lipaphis erysimi* Kaltenbach(广西野生楝科植物提取物对萝卜蚜的杀虫作用初步研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **25**(5):494—496
- Mo B, Bewley JD. 2003. The relationship between-mannosidase and endo-mannanase activities in tomato seeds during and following germination; a comparison of seed populations and individual seeds[J]. *J Experi Bot*, **54**(392): 2 503—2 510
- Nascimento WM, Cantliffe DJ, Huber DJ. 2000. Endo-mannanase activity during lettuce seed germination at high temperature conditions[J]. *Acta Hort*, **517**, ISHS
- Nascimento WM, Cantliffe DJ, Huber DJ. 2001. Endo-mannanase activity and seed germination of thermosensitive and thermotolerant lettuce genotypes in response to seed priming[J]. *Seed Sci Res*, **11**(3):255—265
- Nonogaki H, Gee OH, Bradford KJ. 2000. A germination-specific endo- β -mannanase gene is expressed in the micropylar endosperm cap of tomato seeds[J]. *Plant Physiol*, **123**: 1 235—1 246
- Ren Yf, Wang XF. 2005. Temporal and special expression of endo- β -mannanase in germinating and germinated rice (*Oryza sativa*) seeds[C]. 8th international Workshop on Seeds Germinating new ideas:053
- Still DW, Kent J, Bradford. 1997. Endo- β -mannanase activity from individual tomato endosperm caps and radicle tips in relation togermination rates[J]. *Plant Physiol*, **113**:21—29
- Still DW, Dahal P, Bradford KJ. 1997. A single-seed assay for endo- β -mannanase activity from tomato endosperm and radicle tissues[J]. *Plant Physiol*, **113**:13—20
- Toorop PE, van Aelst AC, Hilhorst HWM. 1998. Endosperm cap weakening and endo-mannanase activity during priming of tomato seeds are initiated upon crossing a threshold water potential[J]. *Seed Sci Res*, **8**:483—491
- Zheng XY, Li XQ, Xu Y. 2005. Study on germination barriers and hydropriming treatment of triploid watermelon seeds [J]. *Sci Agric Sin*, **38**(6):1 238—1 243

(上接第 507 页 Continue from page 507)