

龙井茶茶树种质资源低温保存特性研究

宋丹萍¹, JAGANATHAN Ganesh K.², 刘威², 刘宝林²

(1. 上海理工大学 能源与动力工程学院, 上海 200093; 2. 上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093)

摘要: 针对茶树种子在国际种质资源库建设标准下(干燥至 3%~7% 的含水量, -20 °C 保存)长期保存的可能性, 研究了龙井茶种子的脱水敏感性及低温保存特性。结果表明: 龙井茶不是顽拗性种子, 当含水量在 7%~9% 时, 其生命力最为旺盛; 在 -20 °C 环境下保存超过 1 星期后, 其活性显著降低, 超过 3 个月后种子全部失活。通过冷冻干燥技术和扫描电镜, 观察了茶种子内部胚轴、胚乳和断面形态, 发现当保存温度维持在 -20 °C 时, 种子失活的原因很可能是内部遭受了冰晶破坏性的损伤。

关键词: 龙井茶种子; 脱水敏感性; 低温保存; 冰晶损伤

中图分类号: TB 69 **文献标志码:** A

Study on Cryopreservation Characteristics of Longjing Tea Seeds Resources

SONG Danping¹, JAGANATHAN Ganesh K.², LIU Wei², LIU Baolin²

(1. School of Energy and Power Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: To gain more insights into the possibility of conservation under international seeds bank conditions (3%~7% moisture content, at -20 °C), the desiccation sensitivity and cryopreservation characteristic of the tea (*Camellia sinensis*) seeds were investigated. The results show that tea seeds are not recalcitrant, as they can tolerate drying to 7%~9% moisture content without significant viability loss. However, survival of two months cold-stratified seeds dry to 7%~9% declined sharply after one week storage at -20 °C, and no seeds survive after three months. Detailed studies using scanning electron microscope of the cross sections revealed that when storage temperature was maintained at -20 °C, there was a fatal cryoinjury in both axis and cotyledon, occurred mainly as a result of freezable water becoming ice.

Keywords: Longjing Tea Seeds; Desiccation sensitivity; Cryopreservation; Cryoinjury

1 研究背景

茶 [*Camellia sinensis* (L.) Kuntze]属山茶科 (Theaceae)山茶属 (*Camellia*)，五千多年前起源于我国西南地区，至今已遍布 50 多个国家。长期以来，由于种间杂交引发的基因多样性造成种质持续分化，对茶树原始品种构成了严重威胁，现有茶树种质资源的保存成为种质生物学家面临的重要课题。目前最为方便有效、应用最广泛的植物长期保存策略是以低温保存技术为主的植物种质资源库建设^[1-2]，其技术标准一般要求将种子干燥至 3%~7% 的含水量，并在 -20 ℃ 环境下进行低

温保存^[3]。为此，在尝试进行种质资源库保存方式前，种子的脱水敏感性及低温保存特性需经科学鉴定。

近年来，国内外诸多学者围绕茶树种质资源的保存特性展开了大量研究。茶树种质资源具有不易被长期保存及保存后发芽率低等特征，一直被视为“顽拗性种子”^[4-5]，但针对其脱水敏感性的争议一直存在，见表 1。此外，有研究表明，茶树种子在还未达到低温保存的理想状态时就已失活^[6]。而其遭遇低温胁迫时内部的损伤机理至今仍不明确，茶树种子在国际种质资源库中无法长期存活的原因尚无报道。

表 1 不同地域茶树种子保存临界含水量及低温保存研究进展

Tab.1 Research progress of critical moisture content and cryopreservation characteristics of tea seeds in different regions

茶种地域	临界含水量/%	保存温度	研究结果	参考文献
日本	10%~13%	5 ℃	较高发芽率	[7]
		-80 ℃	2 d 后大部分种子失活,且无法在有机溶剂中保存	[7]
中国,浙江	8%~13.83%	-196 ℃	将茶树种子在铝箔/薄膜复合袋中密封包装并在液氮中存储不同天数,取出并进行快速复温后,种子仍具有较高发芽率	[8]
中国,浙江	8.8%	-196 ℃	界定茶种子为正常型种子	[9]
印度, Assam	7.4%	25 ℃	种子只有在含水量为 24% 以上时,才可保证有 50% 以上的发芽率	[10]
		-196 ℃	完全失活	[10]
孟加拉, Nagrakata	13%	25 ℃	当含水量低于 13% 时,细胞膜将会遭受不可逆转的破坏,致使种子失活	[6]
中国,安徽	32.4%	无	降低活性氧浓度是有效缓解顽拗性种子脱水敏感性并改善发芽率的一个有效措施	[11]
韩国, Bosung	19.5%	-196 ℃	成熟中期的茶树子叶胚轴发芽率较高,但所有种子最终均无法长成植株,种子的成熟阶段对于种子发芽率具有关键意义	[12]
中国,昆明	9%	-20 ℃	在 -20 ℃ 下保存 1 星期后,发芽率下降至 10%	[13]
中国,临沧	30%	-20 ℃	在 -20 ℃ 下保存 1 星期后,发芽率下降至 2%	[13]
中国,普洱	30%	-20 ℃	在 -20 ℃ 下保存 1 星期后,种子全部失活	[13]
中国,浙江	11.9%	-196 ℃	液氮贮存后的最适发芽方法是在 5% 含水量沙床中以 5±1 ℃ 预吸处理 15 d 后,移至 25 ℃ 进行发芽	[14]

为此，本文以龙井茶种子为主要研究对象，以苏州碧螺春茶种子及九江舜叶茶种子为对照，采用干燥(及冷冻干燥)、培养、低温保存、扫描电镜观察等多种实验手段，系统探究了龙井茶种子的脱水敏感性、低温适应性及低温损伤机制，揭示了茶树种子无法在植物种质资源库建设标准下长期保存的原因。

2 实验材料、设备与方法

2.1 实验材料

龙井茶树果实采自浙江省杭州梅家坞群体种 (30°27'N, 120°16'E)，碧螺春茶树果实采自江苏

省苏州西山镇秉场茶园 (31°03'N, 120°11'E)，舜叶茶树果实采自江西省九江舜叶茶区 (29°73'N, 116°22'E)，所有果实均在 2015—2016 年果实正常成熟季节采集，每个果实含 3~4 颗棕色圆形种子，去除空粒、瘪粒、未成熟和虫蛀种子后(通过颜色及形态观察筛选)，将其立即封入密封盒并在 4 ℃ 下保存备用。所有实验均于种子采集并在 4 ℃ 低温下层积 2 个月以后开展^[15]。

根据龙井茶种子在自然环境中的成熟过程，研究将茶树果实界定为 4 个成长阶段，自种子初步形成之日开始，每隔 15 d 记录 1 次，直至种子全部脱落。4 个成长阶段分别定义为：形成期、成熟早期、成熟中期、成熟后期。

2.2 种子重量及含水量测试

随机选取 800 粒种子, 分成 8 组, 每组 100 粒, 使用天平测量百粒种子的平均重量。此外, 随机选取 60 粒种子, 分成 4 组, 每组 15 粒, 放入标记过的陶瓷杯中, 在 103 ℃ 下干燥 17 h(热烘干法, ISTA 2015)。通过新鲜和干燥种子的重量差值计算含水量, 具体计算方法如下:

$$\text{含水量} = \frac{(\text{新鲜种子重量}) - (\text{干燥种子重量})}{\text{新鲜种子重量}} \times 100\%$$

最终含水量用 3 次测量值的算数平均数表示。

2.3 种子培养测试

先将种子放在 1% 的 NaClO 溶液中浸泡 15 min, 之后用蒸馏水洗净, 放入培养箱中, 设置两种温度条件, 一种为变温条件(10 ℃/15 ℃, 15 ℃/20 ℃, 20 ℃/25 ℃, 25 ℃/35 ℃), 一种为恒温条件(25 ℃)。对于所有的测试温度, 给予不同程度的光照, 变温条件给予 14 h 的光照, 光照强度为 25 μmol/(m² · s)。当胚芽萌出至少 2 mm 后, 种子视为已发芽。发芽率每天或隔天记录 1 次, 当持续 1 星期没有种子萌发时, 记录结束。最终发芽率测定以百分比形式体现。

2.4 种子干燥实验

为测试种子脱水敏感性, 随机选取 400 粒种子, 放入密封塑料盒, 并使用 5:1 比例的变色硅胶干燥 4 d, 环境温度为 22~24 ℃。每隔 24 h 取出 100 粒, 分为 4 组, 每组 25 粒, 3 组用于测试发芽率, 1 组用于测定含水量。

2.5 种子的低温保存

在降温处理开始前, 曾将不同干燥天数的种子放入-20 ℃ 低温冰箱中保存 1 星期, 实验结果显示, 干燥 1 d 及 2 d 的种子在经过 1 星期低温保

存后基本失活(数据未在论文中标注), 因此, 本实验采用干燥 3 d 的种子进行低温敏感性及低温贮藏特性测试。具体方法如下:

a. 不同保存温度测试。

将种子放入程序降温仪, 以 10 ℃/min 的降温速率从 20 ℃ 降温至-20 ℃。当温度降至 15, 4, 0, -20 ℃ 时, 分别取出种子, 部分使用 37 ℃ 恒温水浴快速复温并进行培养, 另保留部分种子在相应温度下保存 1 星期后再复温培养。

b. 经不同降温方式处理后的种子断面形态观察。

为研究冷冻条件对龙井茶种子结构和形貌的影响, 采用预冻—冷冻干燥—扫描电镜(SEM)方式^[16]观察经不同降温处理(快速降温至-25 ℃ 并快速复温, 快速降温至-25 ℃ 并在该温度区域内保存 1 星期, 以新鲜龙井茶种子为对照)后的种子表面和截面, 通过直接观察获得有关冰晶尺寸形态的数据。利用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件测量并计算种子截面中的孔径, 计为种子冻干过程中的冰晶尺寸。

3 结果与分析

3.1 新鲜种子的含水量及发芽率

所采集新鲜种子经过测试, 其含水量及发芽率情况见表 2, 其中不同字母表示发芽率间的显著性差异。于龙井茶种子完全成熟季节采集的样品, 含水量为 36.95±2.44%, 发芽率为 83.33±2.08%, 碧螺春的含水量及发芽率分别为 34.01±5.75% 和 85.00±2.38%, 舜叶茶的含水量和发芽率分别为 33.33±1.58% 和 83.33±2.08%。

表 2 研究用茶树种子采集情况一览表
Tab.2 Details of tea seeds studied

采集地	采集日期	种子成熟阶段	鲜重/g	含水量/%	发芽率/%
杭州	2015-11-01	成熟中期	117.72±0.33	36.95±2.44	83.33±2.08 ^a
杭州	2016-10-03	形成期	134.00±9.26	50.48±3.26	78.33±0.96 ^b
杭州	2016-10-18	成熟早期	142.23±1.29	46.53±2.28	88.89±1.15 ^c
杭州	2016-11-12	成熟中期	149.76±6.35	40.39±2.80	93.33±0.58 ^d
杭州	2016-12-02	成熟后期	114.18±3.03	31.46±4.57	90.00±0.58 ^{ee}
九江	2015-11-25	成熟早期	132.73±7.02	42.80±2.31	63.33±2.08 ^f
九江	2016-12-26	成熟中期	128.94±0.25	33.33±1.58	83.33±2.08 ^a
苏州	2016-12-02	成熟中期	120.00±4.04	34.01±5.75	85.00±2.38 ^a

3.2 种子的脱水敏感性

3.2.1 不同成熟阶段茶树种子脱水敏感性

茶树种子自然环境下的成熟干燥情况如图 1 所示(见下页)。以龙井茶种子为例, 含水量随

着种子的成熟而逐渐降低; 发芽率首先逐渐升高, 而后逐步下降, 在种子的成熟中期达到顶峰, 成熟后期有所下降。其中不同字母表示发芽率间的显著性差异($P<0.05$)。

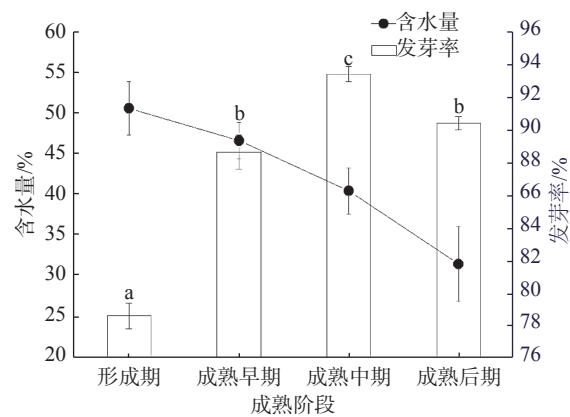


图1 自然成熟过程中龙井茶种子含水量及发芽率变化情况

Fig.1 Effect of natural drying on moisture content and germination of Longjing tea seeds

茶树种子的人工脱水干燥情况如图2所示。可以看出，在对不同成熟阶段种子进行干燥脱水测试中，未完全成熟(形成期、成熟早期)的种子对脱水表现出较强的敏感性。在形成期，种子被

干燥至 $12.04 \pm 1.82\%$ 含水量时，发芽率呈显著下降趋势；而成熟早期的种子，导致发芽率显著下降的临界含水量为 $8.86 \pm 0.51\%$ ；随着成熟中期的到来，种子的脱水耐受性达到稳定，生命力最为旺盛，且耐受脱水的程度最好。

3.2.2 不同地域茶树种子脱水敏感性

实验结果表明，随着脱水程度的增加，三地区采集的茶树种子发芽率均呈下降趋势。如图3所示，龙井茶种子干燥至含水量约9%及6%时，仍能保持 $65 \pm 1.78\%$ 和 $33.3 \pm 1.58\%$ 的发芽率；碧螺春种子保持上述含水量的发芽率分别为 $63.33 \pm 1.15\%$ 和 $26.67 \pm 0.58\%$ ，与龙井茶种子的脱水耐受性较为相似；舜叶茶种子在含水量达到7.3%左右时，有50%的发芽率。当含水量达到5.6%左右时，碧螺春和龙井茶种子不再发芽，但舜叶茶种子仍能继续萌发，甚至在含水量达到1.8%时，仍具有13.3%的发芽率，在本实验的范围内其临界含水量尚未出现。

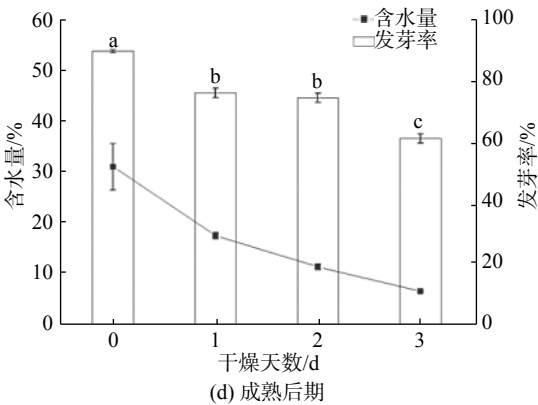
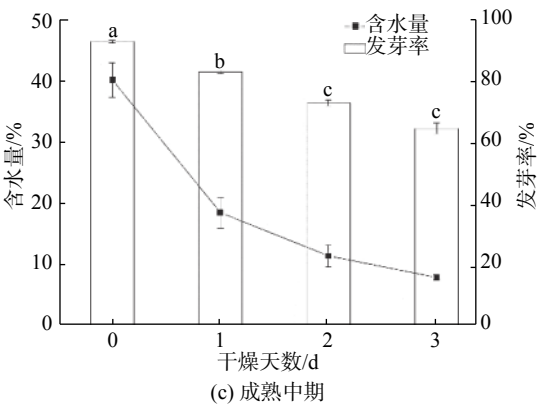
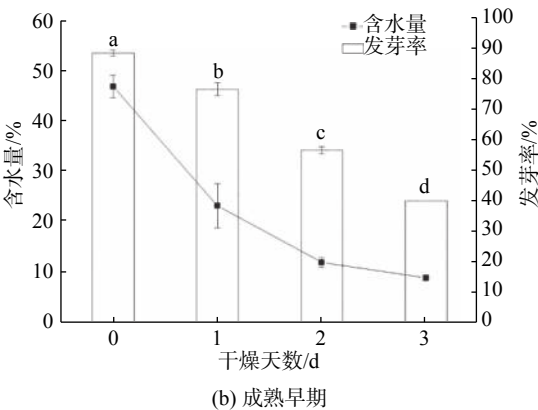
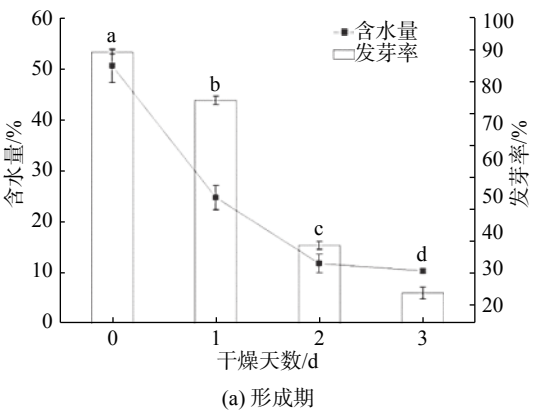


图2 人工干燥测试中龙井茶种子不同成熟阶段含水量对种子发芽率的影响

Fig.2 Effect of artificial drying on moisture content and germination of Longjing tea seeds during different maturity stages

由此可以看出，龙井茶、碧螺春及舜叶茶种子均能够耐受一定程度的干燥(可被干燥至10%以下)，这与郭长根等[8]、王立等[9]、Chen等[13]的研

究结论一致，表明茶树种子并不具备顽拗性种子的典型特征。然而，现有研究中茶树种子的临界含水量不尽相同(见表1)，如Chen等[11]界定茶树

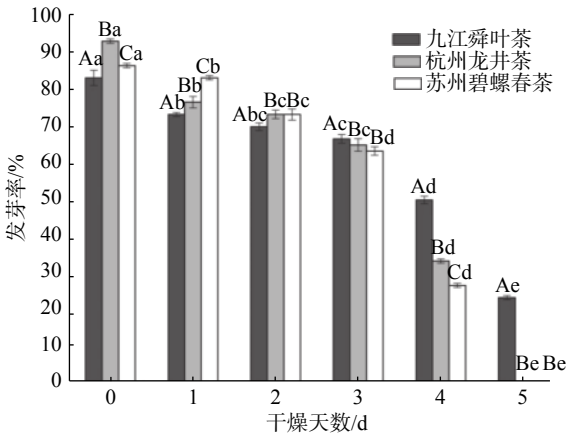


图 3 不同地域种子在人工干燥环境下发芽率情况表

Fig. 3 Total germination after artificial drying of tea seeds in different origins

种子的临界含水量为 32.4%，Kim 等^[12]的研究表明茶树种子在被干燥至含水量为 19.5% 时已全部失活，而 Chen 等^[13]报道称采自临沧及普洱地区的茶树种子临界含水量为 30%^[13]，表明部分茶树种子对于干燥处理仍较敏感。综合比较后，初步推断茶树种子临界含水量不同的原因有两方面。一是茶树种子处于不同的成熟阶段。杭州龙井茶种子的成熟时间在 11 月下旬，而采自江西九江的舜叶茶种子同一时间仍在生长，且对于脱水敏感，在 12 月末才完全成熟，在其完全成熟后，含水量为

11.3% 的舜叶茶种子的发芽率上升至 $68\pm2.6\%$ 。这一发现充分说明选取合适成熟阶段的茶树种子进行研究，对于界定茶树种子的脱水敏感性非常重要。相似结论在 Chandel 等^[10]的报道中也有体现。由图 1 可知，如未完全成熟，种子很可能对脱水十分敏感，从而产生较高的临界含水量。二是环境因素不同。以往关于非洲丛林的研究显示，顽拗性种子一般尺寸较大 ($>500\text{ mg}$)，往往在降雨量高于 50 mm 的月份成熟^[17]。图 4 给出了 1981—2010 年当地年平均温度和平均降水量 (数据来源：中国气象数据网)，其中，龙井茶种子使用 (■) 标记，碧螺春种子使用 (●) 标记，舜叶茶种子使用 (▲) 标记。在茶树种子成熟的 11 月份，龙井茶种子、碧螺春茶种子及舜叶茶种子所处地区降雨量均低于 50 mm，导致种子具有较强的脱水耐受力，其中又以舜叶茶种子的脱水耐受力最好，其临界含水量远低于顽拗性种子 (12%~31%)。尽管本文选取的 3 类种子脱水敏感性差异不显著，但在与 Chen 等^[13]的对比研究中可发现，临沧和普洱地区茶种子成熟月份降雨量均较高，因而上述两个地区的茶种子临界含水量高达 30%，而昆明地区在茶树种子成熟月份的降雨量 $<50\text{ mm}$ ，其耐受脱水的能力较其他两地较好。因此，地域及环境因素也是导致茶树种子脱水敏感性不同的主要原因。

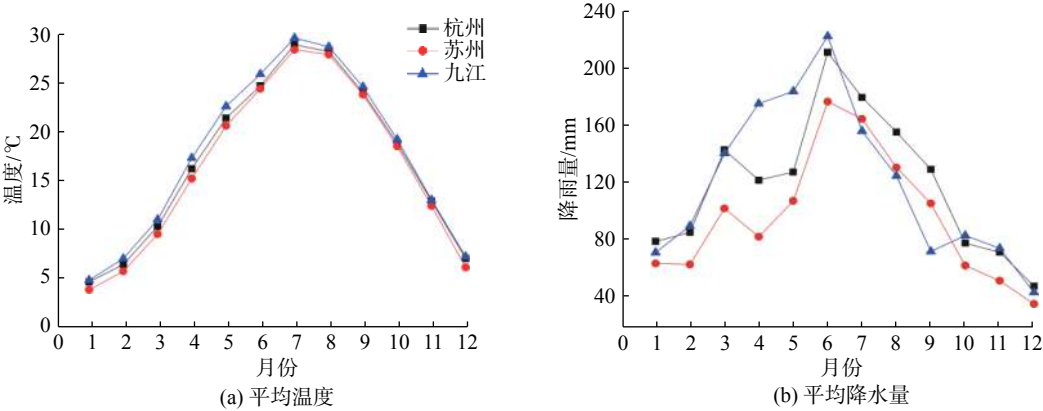


图 4 茶种子产地平均温度及降雨量

Fig.4 Average temperature and rainfall recorded in tea seeds origin

3.3 种子的低温敏感性

3.3.1 冻结终温下保存 1 星期对种子发芽率的影响

实验结果表明，降至不同温度的种子在经过快速复温后均能保持较高的发芽率，如图 5 所示（见下页）。但在不同温度下保存 1 星期后， $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存的种子活性明显降低 ($P<0.05$)，仅为

$40\pm3.46\%$ ；而 0，4， $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存的种子活性与快速复温种子的活性无显著性差异 ($P>0.05$)。

此外，已有研究表明茶树种子可在 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 成功保存 6 个月^[18]。Song 等^[15]的研究也给出了类似结论，在 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上茶树种子保存能力测试中，龙井茶种子在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 7 个月，仍有 73% 的发芽

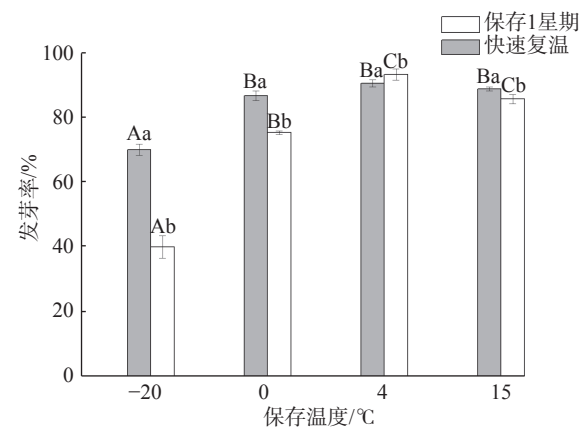


图5 降至不同温度下 (15~ -20 °C) 茶种子的发芽率
Fig. 5 Total germination of tea seeds after cooling to different temperatures (15~ -20 °C)

率；但保存 10 个月之后，所有种子失活。另一组独立实验的结果表明，在保存时间超过 12 个月以后，15 °C 和 0 °C 的保存环境中也没有种子存活，证实了 4 °C 保存结果的准确性。然而，无论是新鲜茶种子还是干燥至 7%~9% 的茶种子，在 -20 °C 下保存 3 个月后，所有的种子就已全部失活。

3.3.2 不同降温方式对龙井茶种子微观结构的影响

经预冻及冷冻干燥后种子的含水量为 $8.03 \pm 1.55\%$ 。不同降温处理方式对龙井茶冻干种子结构和形态的影响如图 6 和图 7 所示。其中：图 6(a)~(c) 为不同处理方式后的种子截面；图 6(d)~(f) 为种子截面；图 6(g)~(i) 为不同处理方式后的胚

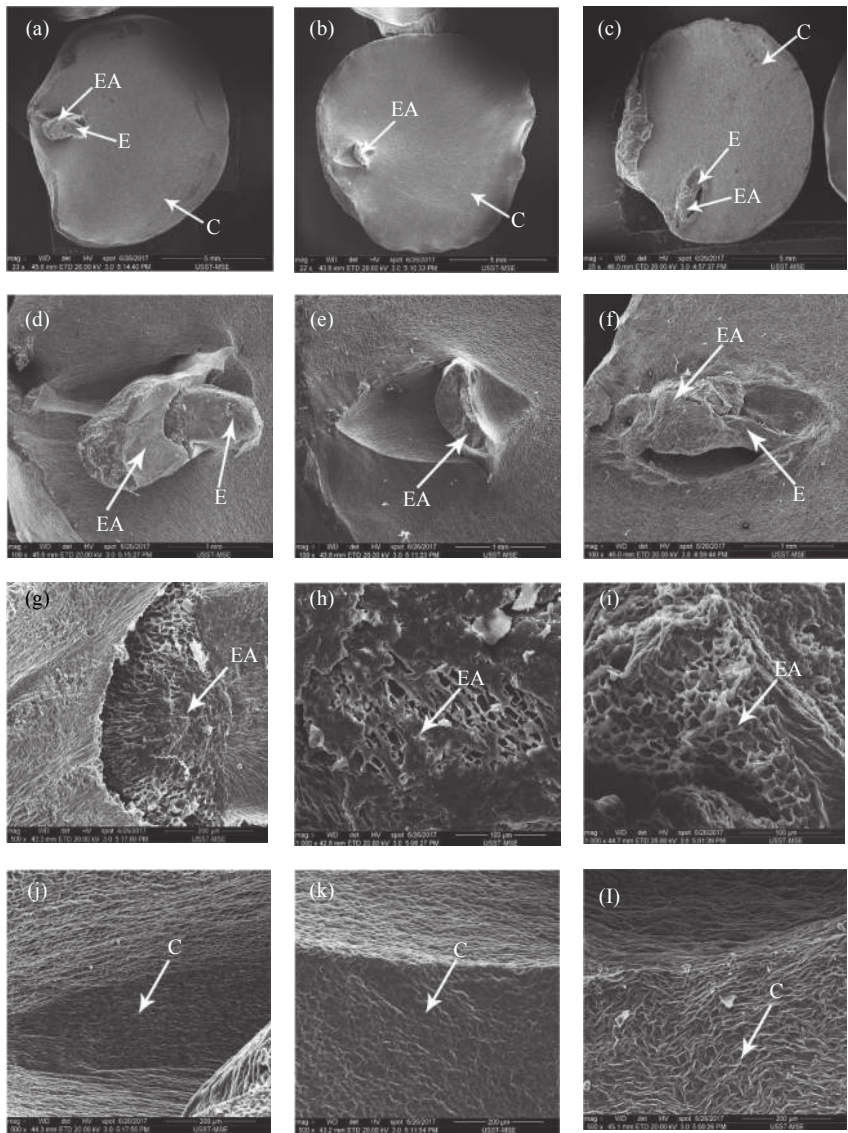


图6 龙井茶种子断面形态 SEM 图像
Fig.6 SEM images of cross-section of Longjing tea seeds

轴形态；图 6(j)~(l)为不同处理方式后的胚乳形态；C 为胚乳；E 为胚芽；EA 为胚轴。由图 6 可见，降温至-25 ℃ 并在-25 ℃ 下保存 30 min 的龙井茶种子内部结构与对照组相比变化不大，种子表面形态良好，说明降温过程及冻干过程对种子的内部结构并无显著影响。而在经预冻处理并在-25 ℃ 下保存 1 星期的龙井茶种子断面示意图 6(i)~(l)中可见，较新鲜种子及在-25 ℃ 保存 30 min 的种子而言，种子内部的结构发生了显著变化，种子截面变得更为粗糙，胚轴及胚乳的形态也明显改变。

在图 7 与新鲜种子的胚轴及胚乳进一步对比观察中可更清楚地看到区别。其中：图 7(a)为新鲜茶种子胚轴截面；图 7(b)为-25 ℃ 低温保存 1 星期后的胚轴截面；图 7(c)为新鲜茶种子胚乳截面；图 7(d)为-25 ℃ 低温保存 1 星期后的胚乳截面。在图 7(a)和图 7(b)中，新鲜种子胚轴中虽有部分因干燥而形成的水份通道，但整体截面仍较为致密平滑。但低温保存 1 星期后，种子胚轴中变得孔隙密布，初步推断是在预冻阶段形成的冰晶完全升华后留下的多孔通道。比较图 7(a)和图 7(b)可以看出，冷却并在-25 ℃ 保存 1 星期后，网状孔洞变得致密，孔洞数量及面积均有所增加，孔洞数量达 40 个以上，平均孔径直径为 $14.34\pm3.48\text{ }\mu\text{m}$ 。而由图 7(c)和图 7(d)可见，新鲜茶种子的胚乳由大量平行排列的细胞结构组成，细胞大小一致，呈梭形或椭圆形，间隙很小或无

间隙，排列紧密且有规则。而在低温下冻存 1 星期后，原本平行排列的形态改变，排列方向无序，间隙较大，细胞形态由梭形变为无规则形态，表面出现不同程度的塌陷和断裂。胚轴与胚乳结构的变化均显示出，在低温保存过程中，种子细胞的内部结构遭遇了破坏性的改变，可能是胞内冰的形成和生长，对于细胞形成了致命损伤。

Song 等^[18]报道称，-15~-30 ℃ 为龙井茶种子降温过程中细胞中水份结晶及冰晶生长的关键区域，快速降温可避免种子在该温度区域内遭受损伤。当降温至该区域时，在较短的保存时间内(如 30 min)形成的细小冰晶来不及长大，种子内部的细胞结构不会受到致命影响，因此复温后种子发芽率仍能保持较高水平。尽管如此，若降温至-25 ℃ 并将种子在该温度长时间保存后(1 星期及以上)，扫描电镜观测到的胚轴及胚乳形态的变化显示(图 6 和图 7)，种子内部发生了不同程度的低温断裂，对细胞结构造成破坏性损伤，这可能是茶树种子无法在种质资源库中长期保存的关键原因。

此外，Song 等^[18]的研究显示，将种子快速投入液氮后，种子也可维持一定的发芽率($26.7\%\pm1.53\%$)，说明以极快的降温速率通过危险温区之后，种子内部的细胞结构并未受到明显影响，极有可能在超低温环境下成功保存。因此，超低温保存可能是实现龙井茶树种子长期保存的唯一可行方式。未来的研究将进一步探讨超低温保存茶树种子的可能性，并对超低温保存环节中有可能影响保存效果的各方面因素进行分析及实验优化，从而提高茶树种子对超低温保存的适应性。

4 结 论

以龙井茶种子为主要研究对象，系统研究了其脱水敏感性 & 低温保存特性，得出如下结论：龙井茶种子能耐受一定程度的脱水(可被干燥至 10% 以下)，对于低温处理较为敏感(-20 ℃ 下保存时间不超过 3 个月)，因而不适宜在种质资源库中长期保存，目前唯一可行的方式为超低温保存。此外，本文确定了龙井茶种子萌发的最佳含水量为 7%~9%，并结合冻干及扫描电镜技术推断龙井茶种子的低温损伤机理为破坏性的冰晶损伤，为成功实现茶树种质资源低温保存提供了理论研究。

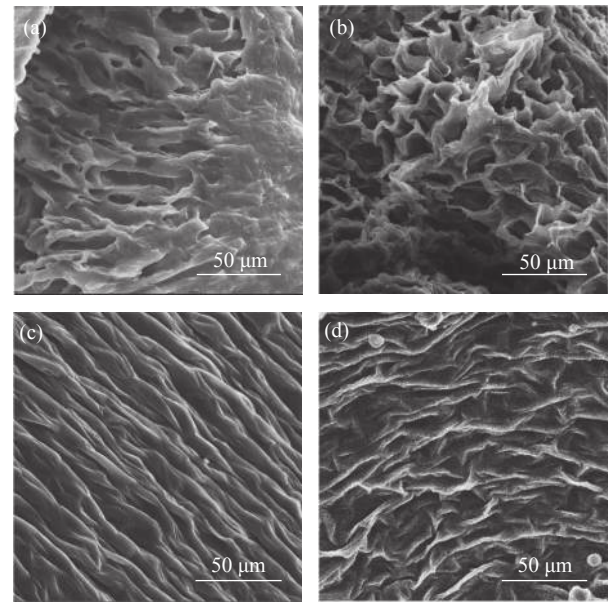


图 7 龙井茶种子胚轴胚乳 SEM 图像

Fig. 7 SEM images of embryo axis and cotyledon of Longjing tea seeds

参考文献:

- [1] HONG T D, ELLIS R H. A protocol to determine seed storage behaviour[R]. IPGRI Technical Bulletin No. 1, 1996.
- [2] ROBERTS E H. Predicting the storage life of seeds[J]. Seed Science and Technology, 1973, 1(3): 499–514.
- [3] FAO D. Forest genetic resources conservation and management. Vol. 3: In plantations and genebanks (ex-situ)[M]. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2004.
- [4] ROBERTS E H. Loss of seed viability during storage.[M]//THOMPSON R J. Advances in Research & Technology of Seeds, 1983: 9–34.
- [5] CHIN H F, ROBERTS E H. Recalcitrant crop seeds[M]. Kuala Lumpur: Tropical Press, 1980.
- [6] CHAUDHURY R, LAKHANPAUL S, CHANDEL K P S, et al. Germination and desiccation tolerance of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) seeds and feasibility of cryopreservation[J]. SRI Lanka Journal of Tea Science, 1990, 59(2): 89–94.
- [7] 武田善行, 叶乃兴. 低温贮藏对茶籽发芽的影响[J]. 茶叶科学简报, 1994(4): 44.
- [8] 郭长根, 胡晋, 楼锡元, 等. 茶籽的超低温 (−196 °C) 贮藏[J]. 浙江农业大学学报, 1991, 17(3): 243–249.
- [9] 王立, 周明德, 曾勤. 茶籽贮藏特性的研究[J]. 茶叶科学, 1999, 19(1): 25–28.
- [10] 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.
- [11] CHEN Q, YANG L M, AHMAD P, et al. Proteomic profiling and redox status alteration of recalcitrant tea (*Camellia sinensis*) seed in response to desiccation[J]. *Planta*, 2011, 233(3): 583–592.
- [12] KIM H H, CHA Y S, BAEK H J, et al. Cryopreservation of tea (*Camellia sinensis* L.) seeds and embryonic axes[J]. Cryo Letters, 2002, 23(4): 209–216.
- [13] CHEN H Y, PRITCHARD H W, SEAL C E, et al. Post desiccation germination of mature seeds of tea (*Camellia sinensis* L.) can be enhanced by pro-oxidant treatment, but partial desiccation tolerance does not ensure survival at −20 °C[J]. *Plant Science*, 2012, 184: 36–44.
- [14] HU J, GUO C G, SHI S X. Partial drying and post-thaw preconditioning improve the survival and germination of cryopreserved seeds of tea (*Camellia sinensis*)[J]. Plant Genetic Resources Newsletter, 1993, 93: 91–94.
- [15] SONG D P, JAGANATHAN G K, HAN Y Y, et al. Seed dormancy in *Camellia sinensis* L. (Theaceae): effects of cold-stratification[J]. *Botany*, 2017, 95(2): 147–152.
- [16] 王海燕, 伦照荣, 吕树申. 连用 DCS 与显微方法的冷冻干燥系统及实验研究[J]. *制冷学报*, 2011, 32(3): 70–73.
- [17] PRITCHARD H W, DAWS M I, FLETCHER B J, et al. Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical African dryland trees[J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(6): 863–870.
- [18] SONG D P, JAGANATHAN G K, HAN Y Y, et al. *Camellia sinensis* seeds are desiccation-tolerant but do not store well at sub-zero temperatures[J]. Seed Science and Technology, 2017, 45(3): 714–719.

(编辑: 董 伟)