

# 离心机方法测定栓塞脆弱性曲线研究进展

于 果

浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华  
Email: yg940822@163.com

收稿日期: 2021年1月20日; 录用日期: 2021年3月8日; 发布日期: 2021年3月16日

## 摘 要

为了更好的理解植物木质部栓塞和植物耐旱性之间的关系, 人们引入了栓塞脆弱性概念, 并通过构建栓塞脆弱性曲线(Vulnerability curves, 简称VCs)来描述植物木质部栓塞易损程度。然而目前基于离心机技术构建植物木质部栓塞脆弱性曲线的准确性遭到很多学者的质疑, 在使用离心机方法测定植物VCs时, 由于开放导管的存在使离心机技术测定的VCs可能是“人工赝品”, 不过也有学者在使用离心机方法构建长导管物种的VCs时, 得到了准确的VCs。该文就近年来这一研究领域取得的成果及争议问题进行了概括和总结, 主要涉及测定VCs的几种离心机方法, 离心机方法构建植物VCs的原理以及优缺点, 并对未来研究测定木质部栓塞脆弱性与实际运用相关方法的选择等提出了展望。

## 关键词

离心机, 栓塞, 栓塞脆弱性曲线, 木质部, 导管

# Research Progress of Centrifuge Method for Measuring Embolism Vulnerability Curves

Guo Yu

College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua Zhejiang  
Email: yg940822@163.com

Received: Jan. 20<sup>th</sup>, 2021; accepted: Mar. 8<sup>th</sup>, 2021; published: Mar. 16<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

In order to better understand the relationship between plant xylem embolism and plant drought tolerance, the concept of embolic vulnerability was introduced, and the embolic vulnerability degree of plant xylem embolism was described by constructing embolic vulnerability curve (Vulnerability curves, abbreviated as VCs). However, at present, the accuracy of constructing plant xylem

embolism vulnerability curve based on centrifuge technology has been questioned by many scholars. When using centrifuge method to determine plant VCs, due to the existence of open catheter, the VCs determined by centrifuge technology may be “artificial fake”. However, some scholars have obtained accurate VCs when using centrifuge method to construct VCs of long vessel species. This paper summarizes the achievements and controversial issues in this research field in recent years, mainly involving several centrifuge methods for determining VCs, the principle, advantages and disadvantages of constructing plant VCs by centrifuge method, and puts forward the prospect of future research to determine the vulnerability of xylem embolism and the selection of methods related to practical application.

## Keywords

Centrifuge, Embolism, Embolism Vulnerability Curves, Xylem, Vessel

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

自然环境的不断恶化、生态环境的不稳定性使得人们更加重视生态环境，而植物作为自然界的“生产者”无疑受到了人们的广泛关注。水分在植物生长和发育中发挥了最重要作用，是植物细胞重要组成部分，是植物生长发育过程中养分运输的载体，更是各种生理生化反应不可或缺的条件之一，只有在水分充足的条件下，植物才能进行正常的生命活动[1]。植物通过根系从土壤中吸收水分，并通过木质部导管将其运输至顶端树冠处进行生命活动，而低温、水分胁迫等外界环境因素容易导致木质部栓塞，栓塞是植物木质部输水功能的障碍，植物发生栓塞的直接后果是水分运输被阻断，木质部导水率降低[2]，这很容易导致植物水分供应不足，影响植物正常的生理活动，栓塞严重时甚至会引起植物的死亡。因此，在气候变化引起极端干旱多发的当下，研究植物抵抗栓塞、适应干旱的能力具有重要意义。

## 2. 木质部栓塞脆弱性

### 2.1. 木质部空穴和栓塞的定义

起初，栓塞和空穴化现象是人们在设计船桨时遇到的工程问题[3]。自从 Renner 和 Ur-sprung [4]在蕨类植物一年生环带细胞内首次发现栓塞现象以来，该现象就引起了学者们的广泛关注，此后，Tyree 和 Dixon [5]通过超声检测到了侧柏(*Thuja occidentalis* L.)细胞内存在空穴化现象，进一步证明了植物体内栓塞现象的存在。内聚力张力学说[6] (Cohension-Tension, C-T)和“气种(air seeding)”假说[7]指出，植物体内水分子的内聚力维持着木质部导管内水柱的连续性，当压力降低到一定程度时，连续的水柱便会中断从而形成空穴，即“气种”的产生，外界的微气泡通过导管上的纹孔膜进入原本充水的导管，已经发生空穴化的管道内气种在相邻导管间扩散，木质部导管被气体填充，阻挡了水分的运输，最终形成栓塞[8] [9]。为了更好的理解植物木质部栓塞和植物耐旱性之间的关系，学者们提出了栓塞脆弱性这一概念，并通过构建栓塞脆弱性曲线(Vulnerability curves, VCs)来反映植物木质部栓塞脆弱程度[10]。VCs 是根据木质部导水率损失百分数(Percent Loss of hydraulic Conductivity, PLC)和相应的木质部负压绘制而成的曲线，植物的栓塞脆弱性一般用枝条导水率损失 50%时的压力值(P50)来表示，P50 是表征植物耐寒耐旱的一个重要指标[11]，目前已广泛应用于植物水分生理研究领域当中[12]。

## 2.2. 木质部栓塞脆弱性的测定方法

目前,木质部栓塞脆弱性的测定方法有很多种。传统的方法是自然干燥法(bench dehydration) [5]、离心机法(centrifugation) [13] [14]和压力室套法(pressure chamber) [15]。近年来也发展出了许多新的方法,如核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI) [16]、X 射线显微断层扫描(X-ray microtomography, Micro-CT)法[17]和气动法(pneumatron) [18]。自然干燥法是最原始也是最直接构建 VCs 的方法,在测量过程中整根枝条在自然状态下失水,因此枝条的水势比较均匀,准确性高,故而被认为是建立 VCs 的“黄金方法” [19]。压力室套法是通过压力套(或压力室)装置,将压缩的空气直接注入木质部导管内,并根据木质部导水率随压力的变化来构建 VCs。离心机方法是目前测定 VCs 最常用的方法,根据使用方法不同离心机法又分为 Sperry 离心机法[13]、Cochard 离心机 Cavitron 法[14]以及 Cochard 离心机甩水法[10] [20]。MRI 和 Micro-CT 可通过原位扫描植物木质部量化栓塞的方法,但由于涉及仪器设备价格高昂且操作复杂,该方法并未得到充分推广和运用[21]。气动法是一种简便、快捷、高效的测定植物 VCs 的方法,但目前应用的物种尚且很少,仍需大量实验来进行验证该方法的可靠性。

## 3. 离心机方法构建 VCs

### 3.1. 离心机法测定 VCs 的原理

离心机方法构建植物栓塞的原理是一致的,即枝条在离心机中旋转,在离心张力的作用下使枝条内部产生负压( $P$ , MPa) [22],其梯度公式如下:

$$dP/dr = \rho\omega^2 r \quad \#(1)$$

式中,  $\omega$  ( $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$ )是离心机转子的角速度,  $r$  (cm)是转子与离心轴线之间距离,  $\rho$  ( $1000 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ )是水溶液的密度[22]。

但不同离心机方法之间也存在一定的差异, Sperry 离心机法在测定枝条 VCs 时,需在每个转速下,将枝条从离心机内取出,通过低压液流计(Low Pressure Flow Meter with multi-channels, LPFM)来测定每个转速下枝条的导水率  $K$ ,从而根据不同压力下枝条的 PLC 构建出一条完整的 VCs。

Cochard 离心机 Cavitron 法的原理在离心过程中,由于离心张力的存在使枝条两端产生静水力学压力差( $\Delta P$ , MPa),随着离心机张力的增加枝条内部的负压也不断增加,由于压力差的存在使高水位水槽的水位不断减少,而低水位水槽的水位是不变的,离心过程中不断地向高位水槽内注入冲洗液,从而使枝条内部产生水流  $F$  ( $\text{mmol}\cdot\text{s}^{-1}$ ),根据导水率公式计算出每个转速下枝条的 PLC:

$$\Delta P = 0.5\rho\omega^2 \left[ R^2 - (R-r)^2 \right] \quad \#(2)$$

$$K = \frac{F}{\Delta P} \quad \#(3)$$

式中,  $\rho$  是水的密度,  $\omega$  是离心机角速度,  $R$  是低水槽距转轴的距离,  $r$  是两个水槽的水位差(定位正值) [5]。

相较于 Cavitron 法是通过注入冲洗液来计算导水率, Cochard 离心机甩水法的原理是将枝条内的水甩出,在离心过程中通过观察水槽水位变化,并根据离心时间和对应的水位变化做二者关系图,并做其线性回归分析,根据回归直线纵坐标截距(排水体积量)和对应离心张力构建出甩水曲线[20]:

$$V = V_0 \left[ 1 - e^{\left[ \frac{-T^c}{B} \right]} \right] \quad \#(4)$$

$$PLV = \frac{V}{V_0} = 1 - e^{-\left[\frac{T^c}{B}\right]} \quad \#(5)$$

式中, PLV 是水容量损失百分数(Percentage Loss Water-volume),  $T$  表示不同转速下负压(MPa),  $B$  与  $C$  均是参数,  $V_0$  是排出溶液最大量(mg),  $V$  表示对应负压下排出的溶液量(mg)。

### 3.2. 各种离心机方法的优缺点

#### 3.2.1. Sperry 离心机法

Sperry 离心机法是人们使用最早也是应用最广泛的一种方法, Sperry 离心机法有多种不同直径的转子, 能够适用于不同导管长度的物种, 目前常用的转子直径为 14.4 cm 和 27.4 cm (所容纳枝条长度分别为 14.4 cm 和 27.4 cm), Sperry 离心机可同时离心 3 根枝条, 在测定过程中, 每个转速离心后需将枝条从离心机内拿出并通过 LPFM 装置测定枝条的导水率, 由于在离心过程中不会产生液体的流动, 因此也被人们称之为静态离心法。Sperry 离心机法操作过程相对繁琐, 而且在连接 LPFM 装置的过程中容易额外引入人为栓塞, 构建一条完整的 VCs 需要一整天时间。

#### 3.2.2. Cochard 离心机 Cavitron 法

Cochard 离心机 Cavitron 法是在 Pockman 离心机[23]的基础上改进而来的, 它的转子直径为 27.4 cm (所容纳枝条长度为 27.4 cm), 与 Sperry 离心机的不同之处是在离心过程中无需将枝条从离心机内取出, 在离心过程中直接向离心机内注入冲洗液并根据水槽半月板的移动距离便可计算出导水率, 在测定过程中冲洗液会从枝条基部流向顶部, 因此也被人们称之为动态离心法[24]。Cochard 离心机 Cavitron 法每次只能离心一根枝条, 通常在 1 h 内就可建立一条完整的 VCs [25], 相较于 Sperry 离心机更加便捷、高效。但加入冲洗液的过程中可能会将冲洗液内的微气泡引入枝条内部, 从而形成“微泡效应”, 目前学术界普遍认为 Cochard 离心机不适合长导管物种 VCs 的测定。

#### 3.2.3. Cochard 离心机甩水法

Cochard 离心机甩水法是近年来新提出的方法, 相较于 Cavitron 法是在离心过程中不断加入冲洗液来计算导水率, 甩水法是将木质部导管内的水甩出, 并根据水槽半月板的移动距离计算出导水率, 从而避免了加入冲洗液造成额外栓塞的引入。但甩水法相较于 Cavitron 法操作更加繁琐, 每个转速下需离心 1 h, 且要用肉眼持续观察半月板的移动距离, 构建一条完整的甩水曲线需要一整天时间[20]。有研究者认为在离心过程中, 甩出的水不仅是木质部导管内的水, 树皮和木质部纤维内的水也会一起被甩出, 在使用甩水法时还应结合染色法[26]来进行确认在多大张力下树皮和木质部纤维内的水会被排空, 进而才能绘制出甩水曲线。目前的只报道了在以刺槐为实验样品时, 甩水法能够准确的构建出甩水曲线, 并没有报道该方法是否适用于其他长导管物种, 后续还需大量实验来进行验证。

## 4. 离心机方法存在的争议

近年来, 离心机方法构建的植物栓塞脆弱性曲线是否准确一直是学者们讨论的热点话题[27]。争议的热点问题就是长导管物种开放导管的问题, 目前学术界普遍将木质部导管长度大于离心机转子直径(即 27.4 cm)一半的物种称为长导管物种[28]。有学者认为在注入冲洗液或测定木质部导水率的过程中, 微气泡或微颗粒会进入开放导管, 它们会在离心过程中随着导管内水流转移到离心轴(离心张力最大的位置)而成为栓塞种子, 随着离心时间延长, 越来越多的栓塞种子被引入, 最终导致测定的 VCs 存在栓塞高估问题[10]。

传统人们的观点是长导管物种不适合 Cochard 离心机 Cavitron 方法, 认为在离心过程中冲洗液的注

入会逐渐形成栓塞种子,造成不准确的VCs [27]。近年来,关于 Sperry 离心机是否适合长导管物种的测量也开始成为人们讨论的热点。有研究者认为在使用 Sperry 离心机方法时,每次离心结束时枝条两端会暴露在空气中,从而加剧了栓塞引入的风险,该研究者建议在水槽内添加海绵垫,从而让枝条两端始终处于与水接触的状态[29],但后来也有研究结果证明,即使添加了海绵垫,在以刺槐为实验样品时,得到的VCs 仍为“r”型[30]。Jose 等认为离心会使枝条木质部导管腔内溶液排出,从而在枝条内部形成较大的张力,在测定导水率过程中会出现“倒吸”现象,造成测得的导水率小于真实导水率,该现象可通过测量“背景值”来解决[31],该研究以长导管物种橄榄为实验材料,结果证明了经过背景值校正后的VCs 与自然干燥法得到的VCs 基本一致,但仅通过一个物种来说明并不具有代表性,是否适用于所有长导管物种,还需进一步验证。

Wang 等[27]发现在 Cochard 离心机 0.31 MPa 张力下持续离心 4 h 时,枝条导水率不断下降,证明了 Cavitron 方法有人为栓塞存在。有研究者认为 Sperry 离心机转子内水槽水位的不同也会引起额外的栓塞,该研究以长导管物种刺槐为实验样品,在 0.25 MPa 张力下离心 10 个循环(即离心 60 min),随着离心次数的增加,水槽水位相同的枝条导水率下降了 49%,而水槽水位不同的枝条导水率下降了 59%,该结果表明了 Sperry 离心机离心过程,两水槽水位的不同也会引起水流在枝条内部移动,栓塞种子不断被引入,从而造成测定结果的不准确[32]。

近年来,随着研究的物种量的增加,越来越多的实验结果否认了开放导管这一假说, Jacobsen [33] 以长导管物种葡萄验证开放导管对脆弱曲线的影响时,自然干燥法与 Sperry 离心机法得到的VCs 基本一致,并且发现测定不同导管长度枝条(即开放导管所占比例不同)的VCs 并不存在差异。Hacke [29]以长导管树种洋橄榄为实验材料得到相似的结果, Hacke 认为只有在高负压时离心机技术建立的脆弱曲线才会出现高估木质部栓塞脆弱性现象。Yin [30]等认为离心法测定栓塞脆弱性的准确性不仅与测定方式有关,还与植物种类有关,只有当离心法与自然干燥法产生的栓塞脆弱性曲线相匹配或可靠时,离心法才能被用于可能具有开口导管的物种。安瑞[34]以长导管物种刺槐为实验材料,分别使用直径为 14.4 cm 和 27.4 cm 的转子构建VCs 时,结果并没有差异,进一步证明了在使用离心机方法时,开放导管的数量并不会影响测定结果。

## 5. 展望

近年来,尽管国内外关于木质部栓塞脆弱性方面的研究取得了一定的进展,但是,有关离心机构建VCs 的准确性仍然争议不断,并没有得出一致的结论,或许是因为植物木质部结构复杂,影响植物栓塞抗性的可能不仅仅只是导管长度这一个原因,因此在未来的研究中应从更深层次来探究造成方法不准确的原因,而不是仅仅通过导管长度这一个生理指标,比如结合导管直径、导管密度、导管连接度、纹孔膜特性等木质部解剖结构等特征来综合分析并作为一个系统进行研究,这样才能获得更加可靠准确的评价。

目前使用离心机构建VCs 的物种还仅仅只是一小部分,不能仅凭借这些物种就得出片面的结论。此外,近年来,人们也提出了许多新的测定植物木质部栓塞脆弱性的方法,但大多都处于验证阶段,在未来的研究中,应对更多物种来进行不同方法之间的验证,可结合更多的方法以及更多的物种来探讨造成测定结果不准确的原因究竟是长导管物种开放导管的问题、或者是方法本身存在问题亦或是物种本身存在差异,并不是每种方法都适用于每个物种,从而得到更可靠的评价,为未来研究植物抵抗栓塞、适应干旱的能力以及植物水分生理学研究提供可靠的理论基础。

## 参考文献

- [1] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.

- [2] 安锋, 张硕新, 赵平娟. 木本植物木质部栓塞脆弱性研究进展[J]. 西北林学院学报, 2002, 17(3): 30-34.
- [3] Tyree, M.T. and Sperry, J.S. (1989) Vulnerability of Xylem to Cavitation and Embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **40**, 19-38. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.40.060189.000315>
- [4] 安锋, 兰国玉, 赵平娟. 木质部空穴和栓塞化对植物的影响[J]. 热带农业科学, 2004, 24(6): 53-58, 67.
- [5] Tyree, M.T. and Dixon, M.A. (1986) Water Stress Induced Cavitation and Embolism in Some Woody Plants. *Physiologia Plantarum*, **66**, 397-405. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1986.tb05941.x>
- [6] Dixon, H.H. (1914) Transpiration and the Ascent of Sap in Plants. Macmillan, London, 558-559. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.44194>
- [7] Tyree, M.T. and Zimmermann, M.H. (2002) Xylem Structure and the Ascent of Sap. Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-04931-0>
- [8] 安锋, 张硕新, 赵平娟. 8 种木本植物木质部栓塞变化与生理生态指标关系的研究与植物木质部水势的关系[J]. 西北植物学报, 2005, 25(8): 1595-1600.
- [9] 万贤崇, 孟平. 植物体内水分长距离运输的生理生态学机制[J]. 植物生态学报, 2007, 31(5): 804-813.
- [10] Pivovarov, A.L., Régis, B., Bruno, L., Cochard, H., Santiago, L.S., Delzon, S., *et al.* (2016) Testing the “Microbubble Effect” Using the Cavitron Technique to Measure Xylem Water Extraction Curves. *AoB PLANTS*, **8**, plw011. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw011>
- [11] 李荣, 党维, 蔡靖, 张硕新, 姜在民. 6 个耐旱树种木质部结构与栓塞脆弱性的关系[J]. 植物生态学报, 2016, 40(3): 255-263.
- [12] Maherali, H., Pockman, W.T. and Jackson, R.B. (2004) Adaptive Variation the Vulnerability of Woody Plants to Xylem Cavitation. *Ecology*, **85**, 2184-2199. <https://doi.org/10.1890/02-0538>
- [13] Sperry, J.S., Donnelly, J.R. and Tyree, M.T. (1988) A Method for Measuring Hydraulic Conductivity and Embolism in Xylem. *Plant, Cell & Environment*, **11**, 35-40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1988.tb01774.x>
- [14] Cochard, H. (2002) A Technique for Measuring Xylem Hydraulic Conductance under High Negative Pressures. *Plant, Cell & Environment*, **25**, 815-819. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00863.x>
- [15] Cochard, H., Cruziat, P. and Tyree, M.T. (1992) Use of Positive Pressures to Establish Vulnerability Curves: Further Support for the Air-Seeding Hypothesis and Implications for Pressure-Volume Analysis. *Plant Physiology*, **1**, 205-209. <https://doi.org/10.1104/pp.100.1.205>
- [16] Van As, H., Scheenen, T. and Vergeldt, F.J. (2009) MRI of Intact Plants. *Photosynthesis Research*, **102**, Article No. 213. <https://doi.org/10.1007/s11120-009-9486-3>
- [17] 郝燕华, 张祥雪, 丁小康, 刘姣. 植物木质部空穴化过程超声发射的分析与测量[J]. 北京林业大学学报, 2012, 34(3): 36-40.
- [18] Pereira, L., Bittencourt, P.R.L., Pacheco, V.S., Miranda, M.T., Zhang, Y., Oliveira, R.S., *et al.* (2020) The Pneumatron: An Automated Pneumatic Apparatus for Estimating Xylem Vulnerability to Embolism at High Temporal Resolution. *Plant, Cell & Environment*, **43**, 131-142. <https://doi.org/10.1111/pce.13647>
- [19] 孟凤. 七种槭树科植物木质部栓塞及其恢复与植物抗旱性的关系[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [20] Guoquan, P., Dongmei, Y., Zhao, L., Li, J. and Tyree, M.T. (2019) An Improved Centrifuge Method for Determining Water Extraction Curves and Vulnerability Curves in the Long-Vessel Species *Robinia pseudoacacia*. *Journal of Experimental Botany*, **70**, 4865-4876. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz206>
- [21] 王婷, 郭雯, 潘志立, 陈芳, 杨石建. 植物木质部栓塞测定技术的研究进展[J]. 应用生态学报, 2020, 31(11): 3895-3905.
- [22] Alder, N.N., Pockman, W.T., Sperry, J.S. and Nuismer, S. (1997) Use of Centrifugal Force in the Study of Xylem Cavitation. *Journal of Experimental Botany*, **48**, 665-674. <https://doi.org/10.1093/jxb/48.3.665>
- [23] Pockman, W.T., Sperry, J.S. and O'leary, J.W. (1995) Sustained and Significant Negative Water Pressure in Xylem. *Nature*, **378**, 715-716. <https://doi.org/10.1038/378715a0>
- [24] Cochard, H., Damour, G., Bodet, C., Tharwat, I., Poirier, M. and Améglio, T. (2005) Evaluation of a New Centrifuge Technique for Rapid Generation of Xylem Vulnerability Curves. *Physiologia Plantarum*, **124**, 410-418. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00526.x>
- [25] 李荣, 姜在民, 张硕新, 蔡靖. 木本植物木质部栓塞脆弱性研究新进展[J]. 植物生态学报, 2015(8): 838-848.
- [26] Cai, J., Zhang, S.X., Zhang, H.X., Zhang, S.X. and Tyree, M.T. (2014) Recalcitrant Vulnerability Curves: Methods of Analysis and the Concept of Fibre Bridges for Enhanced Cavitation Resistance. *Plant, Cell & Environment*, **37**, 35-44. <https://doi.org/10.1111/pce.12120>

- 
- [27] Wang, R., Zhang, L., Zhang, S.X., Cai, J. and Tyree, M.T. (2015) Water Relations of *Robinia pseudoacacia* L.: Do Vessels Cavitate and Refill Diurnally or Are R-Shaped Curves Invalid in *Robinia*? *Plant, Cell & Environment*, **37**, 2667-2678. <https://doi.org/10.1111/pce.12315>
- [28] Jacobsen, A.L., Pratt, R.B. and Tobin, M.F. (2011) Xylem Vessel Length and Centrifuge Measures of Xylem Cavitation Resistance. *96th ESA Annual Convention*, Austin, 7-12 August 2011.
- [29] Hacke, U.G., Venturas, M.D., Mackinnon, E.D., Jacobsen, A.L., Sperry, J.S. and Pratt, R.B. (2015) The Standard Centrifuge Method Accurately Measures Vulnerability Curves of Long-Vesselled Olive Stems. *New Phytologist*, **205**, 116-127. <https://doi.org/10.1111/nph.13017>
- [30] Yin, P.X., Meng, F., Liu, Q., An, R., Cai, J. and Du, G.Y. (2018) A Comparison of Two Centrifuge Techniques for Constructing Vulnerability Curves: Insight into the “Open-Vessel” Artifact. *Physiologia Plantarum*, **165**, 701-710. <https://doi.org/10.1111/ppl.12738>
- [31] Torres-Ruiz, J.M., Sperry, J.S. and Fernández, J.E. (2012) Improving Xylem Hydraulic Conductivity Measurements by Correcting the Error Caused by Passive Water Uptake. *Physiologia Plantarum*, **146**, 129-135. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01619.x>
- [32] 梁昭. 基于离心机技术构建长导管物种木质部栓塞脆弱性曲线的方法研究[D]: [硕士学位论文]. 金华: 浙江师范大学, 2018.
- [33] Jacobsen, A.L. and Pratt, R.B. (2012) No Evidence for an Open Vessel Effect in Centrifuge-Based Vulnerability Curves of a Long-Vesselled Liana (*Vitis vinifera*). *New Phytologist*, **194**, 982-990. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04118.x>
- [34] 安瑞, 孟凤, 尹鹏先, 杜光源. 刺槐木质部栓塞脆弱性检测的方法比较[J]. 植物生态学报, 2018(11): 1113-1119.