



不同贮藏条件下火力楠种子的生理响应机制

田生辉, 郭朗, 陈朝黎, 张良, 薛皓月, 张世达, 邓永胜, 申文辉, 姜清彬

引用本文:

田生辉, 郭朗, 陈朝黎, 等. 不同贮藏条件下火力楠种子的生理响应机制[J]. 热带亚热带植物学报, 2026, 34(3): 298–308.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.5013>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

短期极端高温对鸡冠花种子活力及早期幼苗生理特性的影响

Effect of Short-term Extreme High Temperature on Seed Vigor of *Celosia cristata* and Physiological Characteristics of Early Seedlings
热带亚热带植物学报. 2017, 25(2): 141–148 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3663>

PEG-6000模拟干旱胁迫对黄秋葵种子萌发和幼苗生理特性的影响

Effect of Drought Stress with PEG-6000 on Seed Germination and Physiological Properties in *Abelmoschus esculentus*
热带亚热带植物学报. 2018, 26(6): 611–616 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3907>

遮荫处理对秋枫幼苗生理生态特性的影响

Effects of Shading on Physio-ecology Characteristics of *Bischofia javanica* Seedlings
热带亚热带植物学报. 2017, 25(4): 323–330 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3705>

遮阴对四季桂生理生态特性的影响

Effect of Shading on Physiological and Ecological Characteristics of *Osmanthus fragrans*
热带亚热带植物学报. 2017, 25(1): 57–64 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3634>

超低温冷冻对羯布罗香种子结构和生理生化特性的影响

Effect of Cryopreservation on Structure, Physiology and Biochemical Characteristics of *Dipterocarpus turbinatus* Seeds
热带亚热带植物学报. 2018, 26(3): 249–254 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3824>

向下翻页, 浏览PDF全文

不同贮藏条件下火力楠种子的生理响应机制

田生辉^{1,2}, 郭朗¹, 陈朝黎¹, 张良³, 薛皓月^{1,4}, 张世达¹, 邓永胜^{3*},
申文辉⁵, 姜清彬^{1*}

(1. 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州 510520; 2. 南京林业大学, 南京 210037; 3. 广西壮族自治区国有六万林场, 广西 玉林 537000;
4. 广东工业大学, 广州 510006; 5. 广西壮族自治区林业科学研究院, 南宁 530002)

摘要: 为探究火力楠(*Michelia macclurei*)种子在不同贮藏温度和贮藏条件下的生理响应机制, 对其生活力、发芽率、含水率和生理生化指标进行测定。结果表明, 随着贮藏时间的延长, 种子的生活力、发芽率、蛋白质含量和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和淀粉酶(AMY)活性均呈下降趋势; 可溶性糖含量和丙二醛(MDA)含量则先升高后降低, 且贮藏后的 MDA 含量始终显著高于贮藏前。在 4 °C、-20 °C 和 -196 °C 下贮藏的种子, 其含水率表现为先降后升; 其中, 4 °C 和 -196 °C 处理的种子具有较高的生活力、发芽率、可溶性糖和蛋白质含量、及 SOD、POD、CAT 和 AMY 活性。此外, 保留假种皮可显著提高种子的生活力和发芽率。相关性分析表明, 发芽率和生活力与含水率、可溶性糖、蛋白质和 MDA 含量、及 SOD、POD、CAT 和 AMY 活性呈显著或极显著相关。贮藏温度、贮藏时长和假种皮的去除均对火力楠种子的生理生化指标产生显著影响。因此, 在实际贮藏过程中, 可采用低温(如 4 °C 或 -196 °C)并结合假种皮保护, 以最大程度保持火力楠种子的生理活性, 延长其贮藏寿命。

关键词: 火力楠; 顽拗性种子; 贮藏温度; 生理生化指标; 假种皮

doi: 10.11926/jtsb.5013

CSTR: 32235.14.jtsb.5013

Physiological Response Mechanism of *Michelia macclurei* Seeds Under Different Storage Conditions

TIAN Shenghui^{1,2}, GUO Lang¹, CHEN Zhaoli¹, ZHANG Liang³, XUE Haoyue^{1,4}, ZHANG Shida¹,
DENG Yongsheng^{3*}, SHEN Wenhui⁵, JIANG Qingbin^{1*}

(1. Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China; 2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China;
3. Guangxi State-owned Liuwan Forest Farm, Yulin 537000, Guangxi, China; 4. Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China; 5. Guangxi Forestry Research Institute, Nanning 530002, China)

Abstract: To explore the physiological response mechanism of *Michelia macclurei* seeds under different storage temperatures and conditions, the viability, germination rate, moisture content, physiological and biochemical indicators were determined. The results showed that with the extension of storage time, the viability, germination rate, protein content, and activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and amylase (AMY) of the seeds all showed a downward trend; the contents of soluble sugar and malondialdehyde (MDA) first increased and then decreased, and the MDA content after storage was always significantly higher than that before storage. The moisture content of seeds stored at 4 °C, -20 °C and -196 °C showed a trend of first decreasing and then increasing; among them, the seeds stored at 4 °C and -196 °C had higher viability,

收稿日期: 2025-03-07 接受日期: 2025-04-25

基金项目: 广西自筹经费林业科技项目(2024GXZCLK02); 广东省林业科技创新项目(2025KJCX006)资助

This work was supported by the Self-funded Project for Forestry Science and Technology in Guangxi (Grant No. 2024GXZCLK02), and the Project for Forestry Science and Technology Innovation in Guangdong (Grant No. 2025KJCX006).

作者简介: 田生辉(2001 年生), 男, 硕士研究生, 研究方向为林业资源培育。E-mail: 1721073375@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: dysh603988@163.com; jiangqingbin@caf.ac.cn

germination rate, soluble sugar and protein content, as well as SOD, POD, CAT and AMY activities. In addition, retaining the pseudocarp significantly increased the viability and germination rate of the seeds. The germination rate and viability were significantly or extremely significantly correlated with contents of moisture, soluble sugar, protein and MDA, as well as activities of SOD, POD, CAT and AMY. Storage temperature, storage duration and the removal of pseudocarp all had significant effects on the physiological and biochemical indicators of *M. macclurei* seeds. Therefore, in the actual storage process, low temperature (such as 4 °C or -196 °C) combined with pseudocarp protection could be adopted to maintain the physiological activity of *M. macclurei* seeds to the greatest extent and extend their storage life.

Key words: *Michelia macclurei*; Recalcitrant seed; Storage temperature; Physiological and biochemical indicator; Pseudocarp

种子萌发是农林业繁殖的关键环节之一,但有些种子属于顽拗性种子,这类种子含水率高,采收后易迅速萌发。若种子贮藏时间过长或脱水,导致含水率降至临界值以下,其生活力会迅速降低^[1]。因此,优化顽拗性种子的采收和储存技术延长种子寿命,已成为森林种质资源保护及可持续利用领域的重要突破方向。目前,低温贮藏是顽拗性种子可行的保存方式之一^[2-3]。4 °C贮藏条件可延长顽拗型种子的生活力和发芽率,实现短期保存^[4-5]。如苦槠(*Castanopsis sclerophylla*)、金丝李(*Garcinia paucineris*)、茶树(*Camellia sinensis*)、竹柏(*Nageia nagi*)、黄连(*Coptis chinensis*)、非洲马铃果(*Voacanga Africana*)等种子在4 °C的温度下贮藏时,种子活力均有所延长^[5-10]。然而,顽拗性种子对低温敏感,可能在保存过程中引发冻伤,进而影响其生活力^[11]。研究表明,温度和贮藏时间对种子的耐贮性有显著影响,包括其生活力、发芽率和生理生化指标。朱爱生等^[12]报道在不同贮藏温度下,南京椴(*Tilia miqueliana*)种子的SOD和POD活性先升高后降低,而MDA含量随贮藏时间的延长逐渐增加,这表明贮藏温度和贮藏时间协同影响南京椴种子的生活力。因此,探究种子在不同温度下的生活力和生理生化反应,寻找适宜的保存温度以减少损伤,对成功保存顽拗性种子至关重要。

火力楠,又名醉香含笑(*Michelia macclurei*),属于木兰科(Magnoliaceae)含笑属的常绿乔木。其特征为芽、嫩枝、叶柄、托叶和花梗覆盖着紧贴且有光泽的红褐色短绒毛,远看似火焰,树干圆满且通直,因此得名火力楠^[13]。火力楠是我国南方重要的乡土珍贵用材树种,已在南方各省区林业生态建设中广泛栽培和推广,对造林绿化、生态公益林建设和大径级木材培育具有重要作用^[14-15]。目前,火力楠

人工造林育苗主要依赖成熟种子,种子质量直接影响造林成活率。目前已知火力楠种子属于顽拗型种子^[2],易劣变失活,20 d后贮藏发芽率降至20%以下^[16],因此通常采用即采即播方式育苗。顽拗型种子的快速劣变已成为制约火力楠播种育苗和种苗生产的瓶颈。在《火力楠育苗技术规程》(LY/T 3091—2019)也提到火力楠种子能在低温下短期贮藏。尽管低温或其他条件贮藏能在一定程度上延长顽拗型种子的贮藏时间,但仍不能满足产业发展需求。本研究旨在探究不同贮藏温度以及是否保留假种皮对火力楠种子的生活力、发芽率和生理生化指标的影响,以揭示种子劣变失活背后的生理生化机制。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验种子于2018年11月26日至28日采自广东省云浮林场(112°10' E, 22°44' N, 海拔130 m) 10 a生火力楠(*Michelia macclurei*)单株的颗粒饱满、大小相近新鲜成熟种子。

1.2 方法

种子采集后置于通风处阴干,待果壳开裂后立即收集包被假种皮的种子,置于25 °C通风橱(风量1 000 m³/h)中阴干1 d,并将其中一部分种子去除假种皮,进行理化特性分析及种子贮藏试验。将火力楠种子置于不同温度(25 °C、4 °C、-20 °C、-196 °C)条件下进行贮藏,在贮藏前、贮藏1、3、6、12、24个月时分别对保留假种皮的火力楠种子各项指标测定,分析贮藏温度和贮藏时间对贮藏效果的影响。贮藏1个月时对去除假种皮的种子各项指标测定,分析假种皮保留与否对种子贮

藏的影响。

1.3 种子生活力、发芽率、含水率测定

参考国际种子检验规则^[17], 用氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TTC)染色法测定火力楠种子的生活力。选取 100 粒种子于 30 ℃ 水中浸泡 6 h 后剥去种皮, 加入 TTC 溶液, 刚好淹没种子, 于恒温箱中 35 ℃ 保温 2 h。保温结束后用清水冲洗 2 次, 观察胚和胚乳的着色情况。参考《种子学》^[18]中的方法, 取不同贮藏条件下的火力楠种子进行发芽试验。置于恒温箱中培养, 记录种子的发芽情况。将种子在 105 ℃ 下烘干, 用称量法^[19]测定种子含水率。各指标测定的取样方法为试验每个处理 100 粒种子, 设置 3 次重复。发芽率[GR (%)] = $n/N \times 100\%$, 含水率[W (%)] = $(G_0 - G)/G_0 \times 100\%$, 式中, n 为发芽的种子数, N 为试验种子总数, G_0 为烘干前的质量, G 为烘干后的质量。

1.4 可溶性糖、蛋白质、丙二醛含量和酶活力的测定

每次测定分别从磨碎并充分混合的 20 粒新鲜种子中称取相应量的样品进行测定。采用苯酚比色法测定 0.1 g 火力楠种子中的可溶性糖含量^[20]。采用考马斯亮蓝比色法, 以牛清蛋白(BSA)作为标准蛋白测定 0.1 g 种子可溶性蛋白含量^[21]。采用硫代巴比妥酸法测定 0.5 g 种子中的丙二醛含量(MDA)^[22]。采用 NBT 光化还原法测定 1 g 样品中的超氧化物歧化酶(SOD)活性^[23]。采用愈创木酚法测定 1 g 种子中过氧化物酶(POD)活性; 采用钼酸铵比色法测定 1 g 种子中过氧化氢酶(CAT)活性; 采用 3,5-二硝基水杨

酸法测定 1 g 种子中淀粉酶(AMY)活性^[23]。试验均设置 3 次重复。

1.5 数据的统计分析

采用 Excel 整理数据和 SPSS26.0 进行数据处理, 用 Duncan 多重比较检验各指标在处理间的差异。使用 Origin 2021 作图。

2 结果和分析

2.1 贮藏温度对火力楠种子生活力和生理生化指标的影响

贮藏温度、贮藏时间及其交互作用对种子的生活力、发芽率、含水率、可溶性糖和蛋白质含量、及 POD、CAT 和 AMY 活性均有显著影响, 贮藏温度、贮藏时间对种子的 SOD 活性有显著影响, 但二者的交互作用对其影响不显著(表 1)。在贮藏过程中, 种子的生活力和发芽率均显著下降(图 1)。贮藏 1 个月后, 低温条件下贮藏的种子生活力和发芽率显著高于 25 ℃ 贮藏的, 其中 4 ℃ 贮藏的种子表现最佳, 具有最高的生活力和发芽率, 分别为 70% 和 43.33%。贮藏至第 3 个月时, 种子的生活力和发芽率明显低于前 2 个月。尽管 -196 ℃ 贮藏的种子生活力相对较高, 但也只有 6.67%; 而 4 ℃ 下贮藏的种子发芽率最高, 也仅为 1.67%。

贮藏 1 个月后, 所有种子的含水率均显著下降, 其中 25 ℃ 贮藏种子的含水率下降幅度最大, 为 9.12%。从贮藏 1 个月到 12 个月, 4 ℃、-20 ℃ 和 -196 ℃ 下贮藏的种子含水率始终处于较低水平, 而

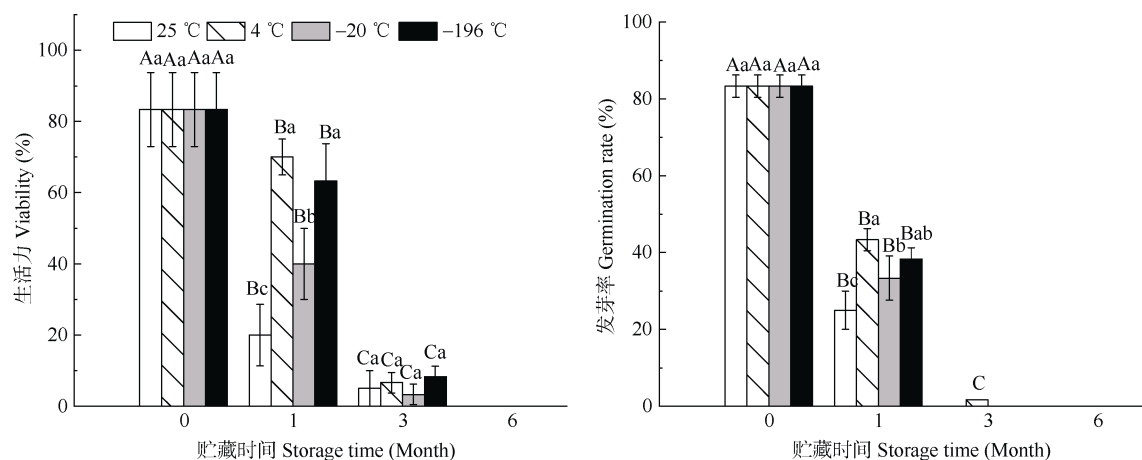


图 1 贮藏过程中生活力和发芽率的变化。柱上不同大写和小写字母分别表示不同贮藏时间和不同贮藏温度间的差异显著($P < 0.01$)。下同

Fig. 1 Changes in viability and germination rate of seeds during storage. Different capital and small letters upon column indicate significant difference among different storage time, and different storage temperatures at 0.01 level, respectively. The same below.

表 1 火力楠种子各指标主体间效应检验

指标 Index	因变量 Dependent variable	均方 Mean square	F	P
生活力 Viability	ST	1.479	448.446	0.000
	T	0.030	8.996	0.000
	ST×T	0.026	7.784	0.000
发芽率 Germination rate	ST	1.401	3 102.769	0.000
	T	0.003	6.769	0.001
	ST×T	0.003	6.769	0.000
含水率 Water content	ST	0.009	81.389	0.000
	T	0.001	7.592	0.000
	ST×T	0.002	18.774	0.000
可溶性糖含量 Soluble sugar content	ST	0.000	121.497	0.000
	T	0.000	32.100	0.000
	ST×T	0.000	286.734	0.000
蛋白质含量 Protein content	ST	5 561.065	2 1251.820	0.000
	T	198.820	759.799	0.000
	ST×T	16.915	64.642	0.000
MDA	ST	4.620	1 548.009	0.000
	T	2.670	894.682	0.000
	ST×T	0.130	43.659	0.000
SOD	ST	1 796.287	456.072	0.000
	T	51.182	12.995	0.000
	ST×T	4.028	1.023	0.450
POD	ST	1 674.928	941.121	0.000
	T	77.822	43.727	0.000
	ST×T	6.628	3.724	0.000
CAT	ST	4 541.745	357.343	0.000
	T	362.536	28.524	0.000
	ST×T	55.626	4.377	0.000
AMY	ST	77.202	3 634.506	0.000
	T	1.934	91.069	0.000
	ST×T	0.144	6.789	0.000

MDA: 丙二醛; SOD: 超氧化物歧化酶; POD: 过氧化物酶; CAT: 氧化氢酶; AMY: 淀粉酶; ST: 贮藏时间; T: 温度。下同

MDA: Malondiadehyde; SOD: Superoxide dismutase; POD: Peroxidase; CAT: Catalase; AMY: Amylase; ST: Storage time; T: Temperature. The same below

在 25 ℃下先是发生了一段时间的升高, 之后又下降到较低的水平。低温下贮藏 12 个月到 24 个月的过程中又出现了不同程度的升高。贮藏 24 个月时, -196 ℃下种子含水率与 25 ℃、4 ℃和-20 ℃的有显著差异。整体来看, 种子含水率在不同贮藏温度和贮藏时长下呈现出复杂的动态变化。考虑到水分是影响细胞代谢和酶活性的重要因子, 含水率的波动可能会干扰种子正常的生理代谢过程, 从而对种子活力产生间接影响。因此, 含水率的变化可能不是单一决定因素, 但作为调控种子活性的一个重要生理指标, 其与种子活力下降之间可能存在一定关联。

种子中可溶性糖含量在贮藏过程中随着贮藏

时间的延长先出现了显著的升高, 之后又显著下降(图 2)。贮藏过程中, 可溶性糖含量首先发生了显著的升高, 在贮藏 1 个月, 不同温度下种子的可溶性糖含量最高, 分别为 1.11% (25 ℃)、1.17% (4 ℃)、1.14% (-20 ℃)和 1.20% (-196 ℃)。随着时间的延长可溶性糖含量降低, 贮藏 6 个月时均降至最低, 分别为 0.84% (25 ℃)、0.98% (4 ℃)、0.94% (-20 ℃)和 1.04% (-196 ℃)。值得注意的是, 在 4 ℃和-196 ℃下贮藏的种子可溶性糖含量始终显著高于其他 2 个温度下的。

在贮藏过程中, 种子中蛋白质含量均随着贮藏时间的延长而显著下降。贮藏前种子的蛋白质含量

均为 81.26 mg/g, 经过 24 个月的贮藏后, -196°C 下蛋白质含量最高, 为 25.89 mg/g, 25°C 下蛋白质含量最低, 为 20.97 mg/g, 表明不同的贮藏温度也会影响种子蛋白质含量的变化, 低温贮藏能够减缓种子蛋白质含量的降低速度。

种子中的 MDA 含量在贮藏过程中发生了明显的升高。在贮藏 1 个月时, MDA 含量均升高, 分别为 2.59 (25°C)、3.04 (4°C)、3.31 (-20°C) 和 $3.00\ \mu\text{mol/L}$ (-196°C), 随贮藏时间的延长, MDA 含量较 1 月时呈现一定程度的下降, 但仍显著高于未贮藏时的。在 -20°C 下贮藏的种子 MDA 含量显

著高于其他温度下的, 在 25°C 下贮藏的种子 MDA 含量则显著低于其他温度下的。

种子的 SOD 活性随着贮藏时间的延长而逐渐降低(图 3)。未经贮藏的种子 SOD 活性为 $52.40\ \text{U/g}$, 贮藏 1 个月后各温度下的 SOD 活性均降低至 $50\ \text{U/g}$ 以下, 贮藏时间达到 6 个月后各温度下的 SOD 活性均低于 $30\ \text{U/g}$ 。贮藏 6 个月后, SOD 活性的下降速率变缓, 在后续的贮藏中未出现显著的降低。种子的 SOD 活性对温度的响应也存在着显著差异, 在整个贮藏过程中, 4°C 和 -196°C 下贮藏的种子相较于 25°C 和 -20°C 下的具有相对较高的 SOD 活性。

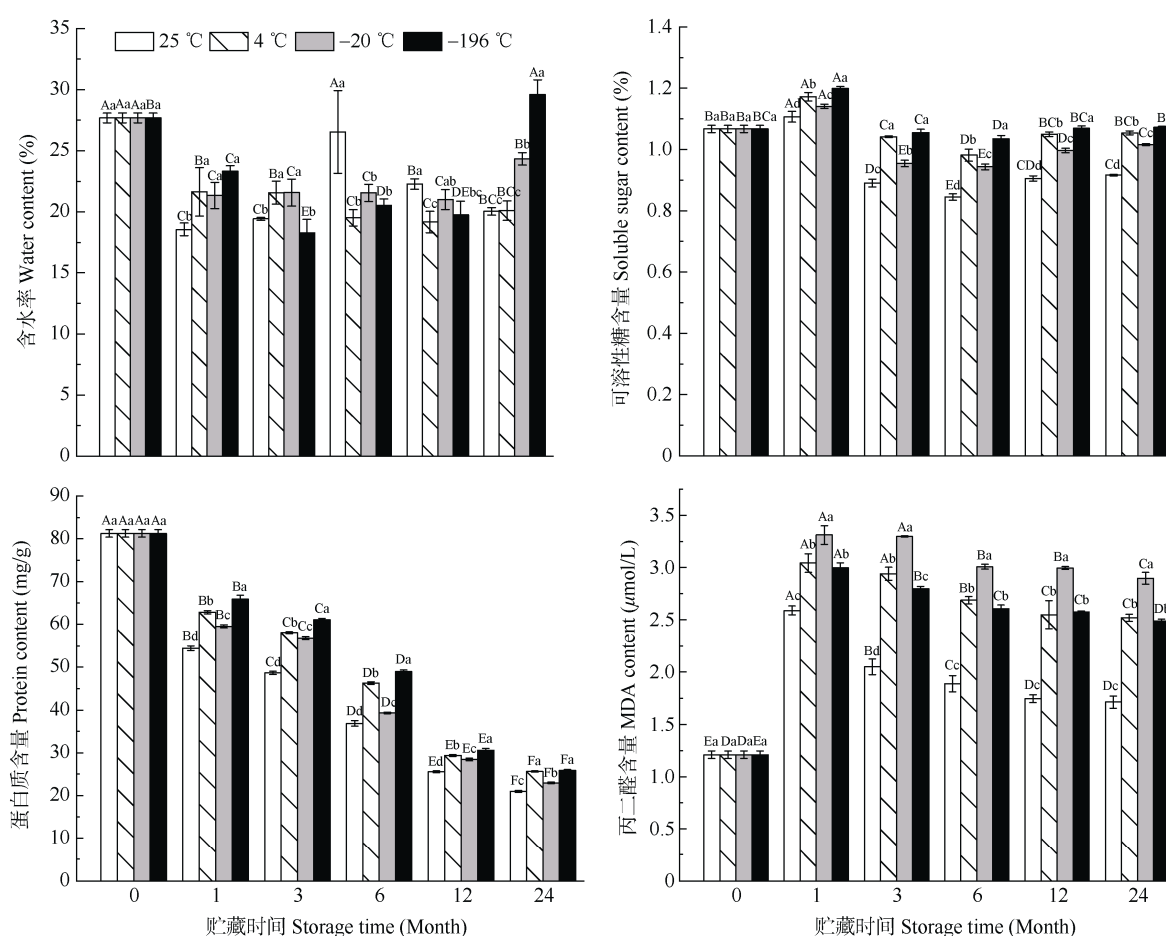


图 2 在贮藏过程中含水率、可溶性糖含量、蛋白质含量和丙二醛含量的变化

Fig. 2 Changes in water content, soluble sugar content, protein content and MDA content of seeds during storage

种子的 POD 活性随着贮藏时间的延长而逐渐降低, 贮藏前的 POD 活性为 $46.2\ \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$, 而贮藏 6 个月, -196°C 条件下 POD 活性最高, 为 $18.54\ \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。6 个月至 24 个月的贮藏时间中, POD 活性降低不显著。在 4°C 和 -196°C 下贮藏的种子 POD 活性始终高于在 25°C 和 -20°C 下

贮藏的。

种子的 CAT 活性随着贮藏时间的延长而逐渐降低, 贮藏前种子的 CAT 活性为 $80.76\ \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$, 贮藏后种子活性逐渐降低, 贮藏 12 个月, -196°C 条件下 CAT 活性最高, 为 $36.34\ \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。12 个月至 24 个月的贮藏时间中, CAT 活性降低不显著。

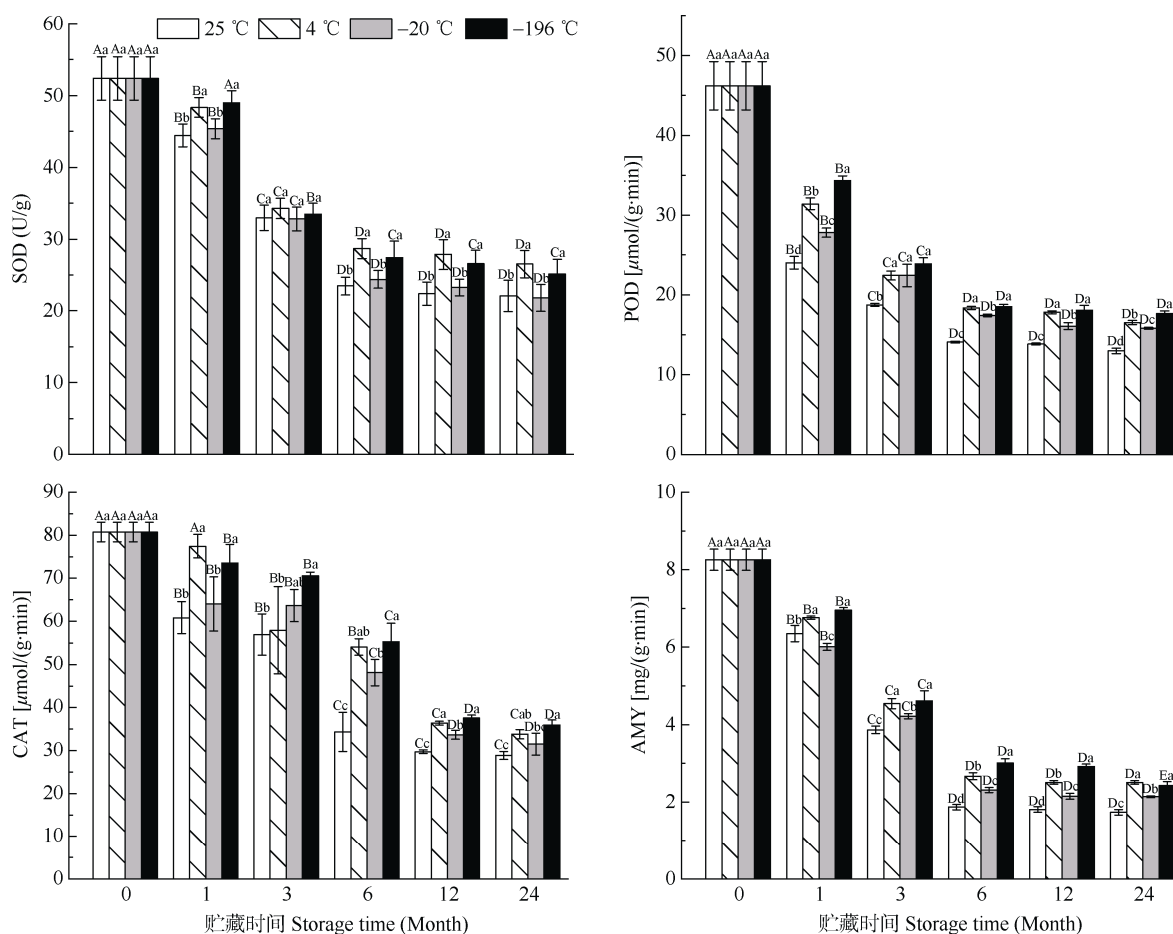


图3 贮藏过程中酶活性的变化

Fig. 3 Changes in enzymes activity during storage

在 4 °C 和 -196 °C 下贮藏的种子相较于 25 °C 和 -20 °C 具有较高的 CAT 活性。

种子的 AMY 活性在贮藏过程中随时间的延长而逐渐降低,贮藏前种子的 AMY 活性为 8.26 $\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{min})$,而贮藏 6 个月, -196 °C 下 AMY 活性最高,为 3.01 $\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。在后续的贮藏过程中, AMY 活性未继续显著降低。在不同贮藏温度下, AMY 活性的下降也存在明显差异,低温贮藏对 AMY 活性的下降有一定的抑制作用。在 4 °C 和 -196 °C 下贮藏的种子 AMY 活性显著高于在 25 °C 和 -20 °C 下贮藏的。

2.2 假种皮对火力楠种子贮藏效果的影响

在贮藏 1 个月后,保留假种皮和去除假种皮的种子各指标间表现显著不同(表 2)。是否去除假种皮、贮藏温度及其交互作用对各指标的影响见表 3。去除假种皮后,种子的生活力、发芽率、可溶性糖和蛋白质含量、及 SOD、POD、CAT 和 AMY 活性在 4 个温度下均显著下降,而 MDA 含量则显著升

高,种子含水率未发生明显的变化。对于生活力、蛋白质和 MDA 含量、及 POD 和 AMY 活性来说,在假种皮和贮藏温度间有显著的交互作用。在不同温度条件下,保留假种皮比去除假种皮有较高的生活力、发芽率、可溶性糖和蛋白质含量、及 SOD、POD、CAT 和 AMY 活性。

2.3 相关性分析

对火力楠种子的 10 个指标进行 Pearson 相关性分析(表 4),结果表明,含水率与生活力、发芽率和 POD 活性呈极显著正相关,与 AMY 呈显著正相关,与 MDA 含量呈极显著负相关;生活力与发芽率、蛋白质含量、及 SOD、POD、CAT 和 AMY 活性呈极显著正相关,与可溶性糖含量呈显著正相关,与 MDA 含量呈极显著负相关;发芽率与可溶性糖和蛋白质含量、及 SOD、POD、CAT 和 AMY 活性呈极显著正相关,与 MDA 含量呈显著负相关;可溶性糖含量与 SOD 和 AMY 活性呈极显著正相关,与 POD 活性呈显著正相关;蛋白质含量与 SOD、POD、

表 2 假种皮对火力楠种子贮藏效果的影响

Table 2 Effects of pseudocarp on seed storage

指标 Index	去除 Remove				保留 Retain			
	25 ℃	4 ℃	−20 ℃	−196 ℃	25 ℃	4 ℃	−20 ℃	−196 ℃
生活力 Viability /%	10.00±5.00Aa	28.33±7.64Ab	18.33±5.77Ab	21.67±2.89Ab	20.00±8.66Aa	70.00±5.00Ac	40.00±10.00Bb	63.33±10.41Bc
发芽率 Germination rate /%	10.00±5.00Aa	25.00±5.00Ab	15.00±0.00Aa	16.67±2.89Aa	25.00±5.00Ba	43.33±2.89Bc	33.33±5.77Bb	38.33±2.89Bbc
含水率 Water content /%	19.60±2.03Aa	20.56±0.92Aa	21.52±1.86Aa	24.90±1.88Ab	18.56±0.53Aa	21.63±1.98Ab	21.34±1.08Ab	23.32±0.46Ab
可溶性糖含量 /%	0.91±0.01Aa	0.99±0.01Ac	0.94±0.01Ab	1.01±0.01Ac	1.11±0.02Ba	1.17±0.01Bc	1.14±0.01Bb	1.20±0.01Bd
Soluble sugar content								
蛋白质含量 (mg/g)	44.83±0.30Ac	54.69±0.51Ad	52.42±0.30Ab	56.57±0.73Aa	54.44±0.55Ad	62.85±0.36Bb	59.52±0.36Bc	65.89±0.94Ba
Protein content								
MDA (μmol/L)	2.95±0.05Ba	3.71±0.05Bb	4.16±0.03Bc	3.62±0.01Bb	2.59±0.04Aa	3.04±0.09Ab	3.31±0.09Ac	3.00±0.04Ab
SOD (U/g)	35.96±1.12Aa	38.58±2.03Aa	38.35±1.64Aa	38.14±2.06Aa	44.44±1.59Ba	48.35±1.38Bb	45.36±1.40Ba	49.08±1.64Bb
POD [μmol/(g·min)]	21.45±0.66Aa	26.24±0.93Ad	24.82±1.08Abc	26.07±0.46Acd	24.02±0.79Ba	31.40±0.75Bc	27.81±0.56Bb	34.33±0.58Bd
CAT [μmol/(g·min)]	54.60±2.72Aa	57.52±5.86Aab	53.32±3.28Aa	58.91±5.17Aab	60.83±3.70ABa	77.46±2.71Bb	64.00±6.28Ba	73.52±4.39Bb
AMY [mg/(g·min)]	5.64±0.09Aa	5.94±0.11Ab	5.67±0.07Aa	5.95±0.05Ab	6.35±0.21Bb	6.77±0.04Bc	6.01±0.09Ba	6.96±0.07Bd

同行数据后不同大写字母表示在相同温度下保留假种皮与去除假种皮间差异显著($P<0.01$); 不同小写字母表示不同温度间差异显著($P<0.01$)。

Data followed different capital letters in the same line indicate significant differences between retained and removed pseudocarp at the same temperature, while small letters indicate significance difference among different temperatures.

表 3 火力楠种子各指标主体间效应检验

Table 3 Inter agent effect test on indexes of *Michelia macclurei* seeds

指标 Indexes	因变量 Dependent variable	均方 Mean square	F	P
生活力 Viability	是否去皮 Whether to aril or not (WRA)	0.496	91.558	0.000
	T	0.137	25.353	0.000
	WRA×T	0.037	6.788	0.004
发芽率 Germination rate	WRA	0.202	121.000	0.000
	T	0.029	17.333	0.000
	WRA×T	0.001	0.667	0.585
含水率 Water content	WRA	0.000	0.507	0.487
	T	0.003	11.715	0.000
	WRA×T	0.000	0.917	0.455
可溶性糖含量 Soluble sugar content	WRA	0.000	1 578.286	0.000
	T	0.000	81.633	0.000
	WRA×T	0.000	0.999	0.419
蛋白质含量 Protein content	WRA	438.689	1 444.565	0.000
	T	149.744	493.095	0.000
	WRA×T	1.988	6.548	0.004
MDA	WRA	2.347	751.395	0.000
	T	0.952	304.759	0.000
	WRA×T	0.060	19.214	0.000
SOD	WRA	491.484	183.796	0.000
	T	15.371	5.748	0.007
	WRA×T	4.285	1.602	0.228
POD	WRA	135.199	241.124	0.000
	T	64.426	114.901	0.000
	WRA×T	10.187	18.168	0.000
CAT	WRA	993.834	50.019	0.000
	T	152.685	7.685	0.002
	WRA×T	50.843	2.559	0.091
AMY	WRA	3.119	288.079	0.000
	T	0.504	46.555	0.000
	WRA×T	0.119	10.976	0.000

表 4 各指标间的 Pearson 相关性

Table 4 Pearson correlation analysis among indexes

指标 Index	生活力 Viability	发芽率 Germination rate	含水率 Water content	可溶性糖含量 Soluble sugar content	蛋白质含量 Protein content	MDA	SOD	POD	CAT	AMY
生活力 Viability	1									
发芽率 Germination rate	0.975**	1								
含水率 Water content	0.621**	0.568**	1							
可溶性糖含量 Soluble sugar content	0.485*	0.570**	0.087	1						
蛋白质含量 Protein content	0.827**	0.830**	0.396	0.354	1					
MDA	-0.607**	-0.491*	-0.570**	0.206	-0.418*	1				
SOD	0.908**	0.940**	0.384	0.646**	0.901**	-0.336	1			
POD	0.955**	0.924**	0.578**	0.437*	0.915**	-0.573**	0.911**	1		
CAT	0.769**	0.781**	0.355	0.393	0.979**	-0.333	0.878**	0.881**	1	
AMY	0.914**	0.928**	0.441*	0.537**	0.941**	-0.435*	0.970**	0.958**	0.932**	1

** $: P<0.01$; * $: P<0.05$

CAT 和 AMY 活性呈极显著正相关, 与 MDA 含量呈显著负相关; MDA 含量与 POD 活性呈极显著负相关, 与 AMY 活性呈显著负相关; SOD、POD、CAT 和 AMY 活性四者间均存在极显著正相关。

3 讨论和结论

本研究以 10 a 生火力楠种子为材料, 研究了在不同贮藏条件下种子各生理生化指标的变化情况, 并对各指标间的相关性进行了分析。结果表明, 当含水率、可溶性糖含量、蛋白质含量和抗氧化酶活性较低, 而 MDA 含量较高时, 种子的生活力和发芽率较低。在本研究中, 种子的劣变多种指标间存在显著的相关性, 这表明在种子贮藏过程中品质的快速降低可能是由于一个或者少量几个关键性因素引起的连锁变化。

种子的生活力和发芽率随着贮藏时间的延长而降低^[24-26]。本研究表明经过贮藏的火力楠种子的生活力和发芽率会发生显著的下降, 整体规律与其他植物种子相似, 但贮藏时间差异较大^[27-29]。有研究表明, 顽拗性种子对含水率的变化和低温极度敏感^[30], 因此种子含水率的变化必然会导致种子生活力的下降。在植物细胞中, 蛋白质的合成、运输以及其活性的维持都需要细胞中水分的参与。在本研究中, 含水率、蛋白质含量和抗氧化酶(SOD、CAT、POD)活性在贮藏初期都发生了显著的降低, 而 MDA 含量则极显著升高。MDA 是膜脂氧化的产

物^[31], 而膜脂过氧化是由于在逆境中产生大量活性氧自由基攻击脂质引发的, 这些 ROS 攻击脂质, 导致细胞膜结构损伤。正常情况下, 种子中的活性氧可通过抗氧化系统被及时清除, 尤其依赖 SOD、POD 和 CAT 等酶类的协同作用, 从而延缓种子衰老、维持细胞功能稳定和种子活力^[32-33]。而在本研究中, MDA 含量持续升高, 表明活性氧水平升高、膜脂氧化加剧, 但抗氧化酶活性却发生下降, 表明种子的抗氧化防御能力受到抑制。这种酶活性的降低可能导致活性氧的积累, 进一步增强氧化胁迫, 形成恶性循环, 加速种子活力的丧失。此外, 抗氧化酶活性的下降不仅与活性氧的积累密切相关, 也可能通过影响细胞膜结构和功能, 间接导致细胞膜通透性异常, 使得水分调控失衡。因此, 含水率在贮藏过程中出现无规律波动, 可能正是膜结构受损的外在表现。

在种子贮藏期间, 呼吸作用是最主要的生理活动^[34], 而水和可溶性糖分别为呼吸作用的重要产物和主要能量来源, 其含量都会随着呼吸作用的强弱变化而发生相应改变。在本研究中, 含水率和可溶性糖含量在不同贮藏温度间存在显著差异。贮藏 1 个月, 在 4 ℃和-196 ℃下贮藏的种子含水率相对较高, 且其可溶性糖含量也显著高于其他温度下贮藏的。可见在 4 ℃和-196℃下贮藏的种子呼吸作用会显著低于其他温度下贮藏的。因此呼吸作用的强弱也是导致种子含水率变化的重要原因, 可以考虑通过降低种子的呼吸作用来保持种子的活力。

传统意义上,种子外层的假种皮具有不透水、不透水的特性,种皮中含有萌发抑制物质,会抑制种子的萌发^[35-36]。假种皮还具有保护种子免受外部伤害,并在环境巨变时起到缓冲作用的功能^[37-39]。对比保留假种皮与去除假种皮的种子经过 1 个月的贮藏后各指标的表现,去除假种皮后种子活力、含水率、蛋白质含量、抗氧化酶活力和可溶性糖含量都显著低于保留假种皮的。因此,假种皮的存在可以延长火力楠种子的贮藏时间。贮藏 1 个月含水率降低,可能是由于去除假种皮后种子的透水、透气性加强,进而导致种子的呼吸作用增强。同时,去除假种皮的火力楠种子可溶性糖含量显著低于保留假种皮的,也进一步表明种子的呼吸作用增加。MDA 含量显著升高,是由于在失去假种皮的保护后,种子受外界环境的影响加剧,膜脂过氧化程度升高。而抗氧化酶活性未对此做出响应,抗氧化酶活性甚至发生了显著降低,可能是由于含水率的进一步降低导致抗氧化酶无法正常完成其机理。

综合各指标间的相关性以及火力楠种子各指标变化的进一步分析,结果表明较强的呼吸作用引起的含水率快速降低,进而引起抗氧化酶活性的降低是导致种子活力快速降低的关键因素。本研究中,在不同温度下以及对假种皮的去除与否贮藏效果差异显著,也因为在不同温度条件下呼吸作用强度和含水率发生相应改变。所以通过抑制呼吸作用或者其他方式来减缓含水率的降低可能是实现火力楠种子安全贮藏的关键步骤,这有待后续试验进一步对其进行验证。

综上,在贮藏过程中,火力楠种子的生活力、发芽率、蛋白质含量和 SOD、POD、CAT 及 AMY 活性均随着贮藏时间的延长而逐渐降低;种子中的可溶性糖和 MDA 含量均随着贮藏时间的延长先升高再降低,但 MDA 含量始终显著高于贮藏前的;4℃、-20℃和-196℃条件下贮藏的种子含水率随着贮藏时间的延长先降低再升高,而 25℃下种子含水率的变化与低温贮藏的变化具有明显差异。保留假种皮相较于去除假种皮处理具有更好的贮藏效果。火力楠种子的各指标间存在相关性,发芽率与生活力、含水率、可溶性糖含量、蛋白质含量和 SOD、POD、CAT 及 AMY 活性呈极显著正相关,与 MDA 含量呈显著负相关;生活力与含水率、蛋白质含量和 SOD、POD、CAT 及 AMY 活性呈极显著正相关,与可溶性糖含量呈显著正相关,与 MDA

呈极显著负相关。

参考文献

- [1] SONG S Q, LIU J, TANG C F, et al. Research progress on the physiology and its molecular mechanism of seed desiccation tolerance [J]. *Sci Agric Sin*, 2022, 55(6): 1047–1063. [宋松泉, 刘军, 唐翠芳, 等. 种子耐脱水性的生理及分子机制研究进展 [J]. *中国农业科学*, 2022, 55(6): 1047–1063. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2022.06.001.]
- [2] ZHANG M J, WANG Y Z, XIAN Y, et al. Desiccation sensitivity characteristics and low-temperature storage of recalcitrant *Quercus variabilis* seed [J]. *Forests*, 2023, 14(9): 1837. doi: 10.3390/f14091837.
- [3] GASPARIN E, FARIA J M R, JOSÉ A C, et al. Viability of recalcitrant *Araucaria angustifolia* seeds in storage and in a soil seed bank [J]. *J For Res*, 2020, 31(6): 2413–2422. doi: 10.1007/s11676-019-01001-z.
- [4] WAN L Y, PEI H H, FU J E, et al. Study on biologic characteristics of recalcitrance and conservation technology of *Taxillus chinensis* (DC.) Danser seeds [J]. *Seed*, 2019, 38(12): 48–53. [万凌云, 裴河欢, 付金娥, 等. 桑寄生种子的顽拗性生物学特征及保存技术研究 [J]. *种子*, 2019, 38(12): 48–53. doi: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2019.12.048.]
- [5] ZENG S P, LI Y Q, LIU R, et al. Effects of dehydration modes and storage time on germination of *Castanopsis sclerophylla* seeds [J]. *Sci Silv Sin*, 2023, 59(3): 84–93. [曾素平, 厉月桥, 刘儒, 等. 脱水方式和贮藏时间对苦槠种子发芽的影响 [J]. *林业科学*, 2023, 59(3): 84–93. doi: 10.11707/j.1001-7488.LYKX20210457.]
- [6] YANG S Y. Study on prevention and control method for tea plants freeze injury [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2012. [杨书运. 茶树冻害防控方法的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.]
- [7] XIAO C F, YANG C Y, SU Y P. The preliminary study of germination of *Africa Voacanga chlotiana* Pierre ex Stapf seeds was used to treated drug addiction [J]. *Seed*, 2013, 32(5): 100–101. [肖春芬, 杨成叶, 苏艳萍. 治疗药物成瘾植物非洲马铃薯种子萌发的初步研究 [J]. *种子*, 2013, 32(5): 100–101. doi: 10.3969/j.issn.1001-4705.2013.05.028.]
- [8] JI M Y, ZHANG N, YAN Q, et al. Storage behavior characteristics of recalcitrant *Podocarpus nagi* seeds [J]. *Plant Div*, 2015, 37(1): 63–70. [计明月, 张楠, 闫启, 等. 顽拗性竹柏种子的贮藏特性 [J]. *植物分类与资源学报*, 2015, 37(1): 63–70. doi: 10.7677/ynzwjy201514025.]
- [9] LUO T T. A preliminary study on seed preservation technology based on post-ripening physiological characteristics of *Coptis chinensis* Franch. seeds [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2017. [罗婷婷. 基于黄连种子后熟生理特性的种子保存技术的初步研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.]

- [10] ZHANG J J, CHAI S F, WANG M L, et al. Dehydration tolerance and storage characteristics of seeds of rare and endangered plant *Garcinia paucinervis* [J]. *Guihaia*, 2019, 39(2): 199–208. [张俊杰, 柴胜丰, 王满莲, 等. 珍稀濒危植物金丝李种子脱水耐性和贮藏特性 [J]. *广西植物*, 2019, 39(2): 199–208. doi: 10.11931/guihaia.gxzw201802027.]
- [11] TANG A J, LONG C L. Cryopreservation of recalcitrant seed germplasm [J]. *Guihaia*, 2007, 27(5): 759–764. [唐安军, 龙春林. 低温保存技术在顽拗性种子种质保存中的利用 [J]. *广西植物*, 2007, 27(5): 759–764. doi: 10.3969/j.issn.1000-3142.2007.05.017.]
- [12] ZHU A S, ZHOU T, SHI F H, et al. The effect of storage temperature on the storability of *Tilia miqueliana* seeds [J]. *J CS Univ For Technol*, 2023, 43(4): 62–69. [朱爱生, 周婷, 史锋厚, 等. 贮藏温度对南京椴种子耐贮性的影响 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2023, 43(4): 62–69. doi: 10.14067/j.cnki.1673-923x.2023.04.007.]
- [13] JIANG Q B, LI Q Y, ZHONG C L. Cultivation and comprehensive utilization of the native valuable tree species *Michelia macclurei* [J]. *For Sci Technol*, 2017(8): 3–7. [姜清彬, 李清莹, 仲崇禄. 乡土珍贵树种火力楠的培育与综合利用 [J]. *林业科技通讯*, 2017(8): 3–7. doi: 10.13456/j.cnki.lykt.2017.08.001.]
- [14] JIANG Q B, LI Q Y, CHEN Y, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi enhanced growth of *Magnolia macclurei* (Dandy) Figlar seedlings grown under glasshouse conditions [J]. *Forest Sci*, 2017, 63(4): 441–448. doi: 10.5849/forsci.2016-004.
- [15] NIU D, WANG S L, OUYANG Z Y. Comparisons of carbon storages in *Cunninghamia lanceolata* and *Michelia macclurei* plantations during a 22-year period in southern China [J]. *J Environ Sci*, 2009, 21(6): 801–805. doi: 10.1016/S1001-0742(08)62344-X.
- [16] FANG X Y, SHEN W H. The influence of natural dehydration of seeds of *Michelia macclurei* on germination rate [J]. *Contemp Hort*, 2021, 44(14): 14–15. [方小玉, 申文辉. 火力楠种子自然脱水对发芽率的影响 [J]. *现代园艺*, 2021, 44(14): 14–15. doi: 10.3969/j.issn.1006-4958.2021.14.005.]
- [17] International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing [M]. 40th ed. Bassersdorf, Switzerland: ISTA Secretariat, 2016.
- [18] YAN Q C. Seed Science [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001. [颜启传. 种子学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.]
- [19] SONG S Q, CHENG H Y, LONG C L, et al. Guide to Seed Biology Research [M]. Beijing: Science Press, 2005. [宋松泉, 程红焱, 龙春林, 等. 种子生物学研究指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.]
- [20] BUYSSE J, MERCKX R. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue [J]. *J Exp Bot*, 1993, 44(10): 1627–1629. doi: 10.1093/jxb/44.10.1627.
- [21] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72(1/2): 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- [22] WEI X L, ZHOU X D. Effect of different storage condition on seed physiology and chemistry character and germination of *Jatropha curcas* [J]. *Seed*, 2011, 30(2): 33–37. [韦小丽, 周晓东. 不同贮藏条件对麻疯树种子生理生化和萌发的影响 [J]. *种子*, 2011, 30(2): 33–37. doi: 10.3969/j.issn.1001-4705.2011.02.009.]
- [23] ZHANG S Q. Experimental Techniques of Plant Physiology [M]. Beijing: Science Press, 2011. [张蜀秋. 植物生理学实验技术教程 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.]
- [24] YAN H F, XIA F S, MAO P S. Research progress of seed aging and vigor repair [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2014, 30(3): 20–26. [闫慧芳, 夏方山, 毛培胜. 种子老化及活力修复研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2014, 30(3): 20–26.]
- [25] MIRA S, ESTRELLES E, GONZÁLEZ-BENITO M E. Effect of water content and temperature on seed longevity of seven Brassicaceae species after 5 years of storage [J]. *Plant Biol*, 2015, 17(1): 153–162. doi: 10.1111/plb.12183.
- [26] LIAVA V, NTATSI G, KARKANIS A. Seed germination of three milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] populations of greek origin: temperature, duration, and storage conditions effects [J]. *Plants*, 2023, 12(5): 1025. doi: 10.3390/plants12051025.
- [27] LIU J H. Vigor of tomato seeds during storage [J]. *Beijing Agric Sci*, 1999, 17(4): 24–26. [刘剑华. 番茄种子贮存过程中的活力 [J]. *北京农业科学*, 1999, 17(4): 24–26.]
- [28] MA X L, HE C, LUO F C, et al. Effects of hydro-priming on the vigor of *Setaria sphacelata* cv. Narok's seeds in different storage period [J]. *Chin J Grassland*, 2017, 39(5): 16–23. [马向丽, 何超, 罗富成, 等. 水引发对不同贮藏年限纳罗克非洲狗尾草种子活力的影响 [J]. *中国草地学报*, 2017, 39(5): 16–23. doi: 10.16742/j.zgdx.2017-05-03.]
- [29] ATTRI P, ISHIKAWA K, OKUMURA T, et al. Impact of seed color and storage time on the radish seed germination and sprout growth in plasma agriculture [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 2539. doi: 10.1038/s41598-021-81175-x.
- [30] TIAN X M, LI H L, HE Y, et al. Research progress on recalcitrant seeds storage of tropical crops [J]. *Chin J Trop Agric*, 2014, 34(8): 52–58. [田新民, 李洪立, 何云, 等. 热带作物顽拗型种子保存研究进展 [J]. *热带农业科学*, 2014, 34(8): 52–58. doi: 10.3969/j.issn.1009-2196.2014.08.011.]
- [31] HAN Y J, GAO H, WANG Y C, et al. Storage time affects the viability, longevity, and germination of *Eriochloa villosa* (Thunb.) Kunth seeds [J]. *Sustainability*, 2023, 15(11): 8576. doi: 10.3390/su15118576.

- [32] ZHANG J Y, CHEN S H, HAO R. Study on the relationship between malondialdehyde content and stress resistance in different *Medicago sativa* [J]. Heilongjiang Animal Sci Vet Med, 2008(8): 53–54. [张剑云, 陈水红, 郝瑞. 不同苜蓿品种中丙二醛含量与抗逆性关系的研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2008(8): 53–54. doi: 10.3969/j.issn.1004-7034.2008.08.024.]
- [33] LIE G W, YE L H, XUE L. Effects of ozone stress on major plant physiological functions [J]. Acta Ecol Sin, 2014, 34(2): 294–306. [列淦文, 叶龙华, 薛立. 臭氧胁迫对植物主要生理功能的影响 [J]. 生态学报, 2014, 34(2): 294–306. doi: 10.5846/stxb201305161086.]
- [34] WEI J, LIANG X M, QU Y C, et al. Physiological and biochemical characteristics of seed storage of *Quercus mongolica* with different water content [J]. J Shenyang Agric Univ, 2023, 54(5): 547–554. [魏俊, 梁新茗, 曲悦慈, 等. 不同含水量蒙古栎种子贮藏过程生理生化特性研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 2023, 54(5): 547–554. doi: 10.3969/j.issn.1000-1700.2023.05.005.]
- [35] YANG L. Seed biology and somatic embryogenesis of *Sorbus pohuashanensis* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2007. [杨玲. 花楸种子生物学和体细胞胚发生体系研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.]
- [36] SOUZA M L, SILVA D R P, FANTECELLE L B, et al. Key factors affecting seed germination of *Copaifera langsdorffii*, a neotropical tree [J]. Acta Bot Brasil, 2015, 29(4): 473–477. doi: 10.1590/0102-33062015abb0084.
- [37] KIM S I, ROH J Y, KIM D H, et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis* [J]. J Stored Prod Res, 2003, 39(3): 293–303. doi: 10.1016/S0022-474X(02)00017-6.
- [38] SUN X H, MANTRI N, GE J, et al. Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Torreya grandis* ‘Merrilli’ aril [J]. Plant Omics, 2014, 7(5): 337–344. doi: 10.3316/informit.726006275273451.
- [39] ZHAO W. Study on components and function of the aril and sarcotesta in seven plants [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2015. [赵武. 七种植物假种皮与肉质种皮化学成分与功能研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2015.]