

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2022.30398

张心艺, 闫旭, 李铁华, 李阳宁, 张艺博, 邢露, 郭淑芸. 细叶楠种子休眠与萌发对低温层积的生理响应[J]. 植物科学学报, 2022, 40(3): 398-407

Zhang XY, Yan X, Li TH, Li YN, Zhang YB, Xing L, Guo SY. Physiological responses of seed dormancy and germination to cold stratification in *Phoebe hui* Cheng ex Yang [J]. *Plant Science Journal*, 2022, 40(3): 398-407

细叶楠种子休眠与萌发对低温层积的生理响应

张心艺, 闫旭, 李铁华*, 李阳宁, 张艺博, 邢露, 郭淑芸

(中南林业科技大学林学院, 长沙 410004)

摘要: 细叶楠 (*Phoebe hui* Cheng ex Yang) 是我国特有的珍贵树种, 种子具有生理休眠特性。本文以细叶楠种子为实验材料, 研究不同低温层积处理时间(0、20、40、60 d)对细叶楠种子发芽率、营养物质(淀粉、可溶性糖、可溶性蛋白)、过氧化物酶(POD)以及内源激素脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、生长素(IAA)、玉米素核苷(ZR)的影响, 分析细叶楠种子萌发与其生理指标的相关性。结果显示: (1) 低温层积可以有效打破细叶楠种子的休眠, 且处理 60 d 效果最佳。(2) 在低温层积过程, 细叶楠种子萌发时间缩短, 发芽率提高; 种子内淀粉含量降低, 可溶性糖和可溶性蛋白含量升高; POD 活性上升; ABA 含量下降, GA₃、IAA 含量增加, 而 ZR 含量先上升后下降。(3) 细叶楠种子休眠的解除与萌发与其体内营养物质含量、POD 活性以及内源激素含量的变化密切相关。

关键词: 细叶楠; 低温层积; 种子休眠与萌发; 营养物质; 过氧化物酶; 内源激素

中图分类号: Q945.35

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2022)03-0398-10

Physiological responses of seed dormancy and germination to cold stratification in *Phoebe hui* Cheng ex Yang

Zhang Xin-Yi, Yan Xu, Li Tie-Hua*, Li Yang-Ning, Zhang Yi-Bo, Xing Lu, Guo Shu-Yun

(Forestry College, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

Abstract: *Phoebe hui* Cheng ex Yang is a rare and unique tree species in China, and its seeds exhibit physiological dormancy. In this study, we explored the physiological characteristics of *P. hui* seeds under cold stratification to reveal the response mechanism related to dormancy and germination. Specifically, we used *P. hui* seeds under different cold stratification time (0, 20, 40, and 60 d) to study the effects on germination percentage, nutrient levels (starch, soluble sugar, and soluble protein), peroxidase (POD) activity, and endogenous hormone levels (abscisic acid (ABA), gibberellin (GA₃), auxin (IAA), and zeatin nucleoside (ZR)), and further analyzed the correlation between seed germination and physiological indicators. Results showed that: (1) Cold stratification effectively broke *P. hui* seed dormancy, with stratification for 60 d showing the best effect. (2) With cold stratification, seed germination time shortened and germination percentage increased; starch content

收稿日期: 2021-11-30, 修回日期: 2021-12-28。

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0601200); 2021 年湖南省野生动植物保护专项(2130211); 湖南省研究生科研创新项目(CX20210881); 中南林业科技大学研究生科技创新基金(cx202102002)。

This work was supported by grants from the National Key Research and Development Program (2017YFD0601200), Wildlife Protection Special Project of Hunan Province (2130211), Postgraduate Scientific Research Innovation Project of Hunan Province (CX20210881), and Post-Graduates of Central South University of Forestry and Technology (cx202102002).

作者简介: 张心艺(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向为森林培育学(E-mail: 1214321786@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: litiehealth@163.com)。

declined and soluble sugar and protein content increased; POD activity increased; ABA content decreased, GA_3 and IAA content increased, and ZR content first increased and then decreased. (3) Seed dormancy and germination of *P. hui* were closely related to changes in nutrient content, POD activity, and endogenous hormone content.

Key words: *Phoebe hui*; Cold stratification; Seed dormancy and germination; Nutrients; Peroxidase; Endogenous hormone

细叶楠(*Phoebe hui* Cheng ex Yang)又名细叶桢楠,为樟科楠属常绿大乔木,是我国独有的珍贵用材树种^[1]和渐危物种^[2]。细叶楠木材稳定性好,是优质的装饰用材^[3];其绿荫效果较好,有抗大气污染的特性,亦是优良的园林绿化树种^[4]。此外,细叶楠提取物被证明有抗癌作用,具有药用价值^[5]。然而细叶楠种子具有休眠特性,在自然界中发芽率低,经过长时间的休眠后,种子逐渐失去活力。作为湖南的乡土树种,细叶楠目前主要以小片天然林分或散生木形式保存^[1]。

种子休眠是指具有生活力的种子在适宜的萌发条件(温度、水分和氧气等)下仍不能正常发芽的现象^[6]。它是植物生命周期中的一个重要阶段^[6],但在生产实践中降低了种子价值,严重影响植物产量和质量^[7]。种子的休眠特性给珍贵树种种质资源的保存和繁殖带来了一定的困难。如何解除珍贵树种种子的休眠已成为如今的研究热点,而解除休眠过程的生理机制更是受到了众多关注。低温层积处理可以有效解除种子的生理休眠,使种子能在层积过程中完成一系列生理变化和后熟过程^[8]。马拉青呼^[9]在4个品种桧柏(*Sabina chinensis* (L.) Ant.)种子的休眠特性及萌发生理研究中发现,桧柏种子在常规环境下均不能萌发,而经过低温层积后出现萌发现象,说明低温层积可以打破其生理休眠状态。李金霞^[10]研究发现,榧树(*Torreya grandis* Fort. ex Lindl.)种子在层积过程中可溶性蛋白质含量逐渐降低。孙海燕等^[11]研究显示,低温层积处理凤丹(*Paeonia ostii* T. Hong & J. X. Zhang)种子可以解除种子休眠,处理过程中过氧化物酶(POD)活性不断增强,淀粉逐渐被分解,为种子的各种代谢活动提供能量。司倩倩等^[12]报道,低温层积可有效打破玉铃花(*Styrax obassia* Siebold & Zuccarini)种子休眠,且随着层积时间延长,赤霉素(GA_3)含量明显上升,脱落酸(ABA)含量急剧下降,促进了种子萌发。

目前,对于细叶楠的研究主要集中在细叶楠群落分布特征^[13]、种质资源研究^[14, 15]、木材的挥发性成分及提取物研究^[5, 16, 17]、苗期施肥^[18]及耐寒性研究^[4]等方面。对细叶楠种子在解除休眠过程中的生理特性变化研究尚未见报道。细叶楠作为湖南的乡土树种,目前主要分布于湖南省湘西自治州的龙山县。现存地的细叶楠种子产量少且结实不稳定,加之种子具有休眠特性,这些因素形成了制约细叶楠造林、引种、繁殖和育种的重要障碍。对细叶楠种子如何解除休眠、解除休眠过程中生理生化如何变化进行研究,可以有效打破种子休眠,提高种子萌发率,推动细叶楠这一珍贵树种的开发利用,为当地带来生态效益和经济效益。

本文以细叶楠种子为材料,通过低温层积处理,测定不同处理阶段种子的营养物质含量、酶活性以及内源激素含量的变化规律,揭示层积处理过程中种子的生理变化,旨在为解除细叶楠种子休眠、促进种子萌发提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验以新鲜的细叶楠种子为材料。细叶楠果实均采自湖南省湘西自治州龙山县红岩溪镇洛塔乡(29°17'N, 109°51'E),该地属于亚热带季风湿润气候,海拔约为700 m,土层厚度约为60 cm,年均降水量为1357.1 mm,年均温为15.4℃,极端低温为-16.6℃,极端最高气温为39.2℃,年均日照时间为1273 h。细叶楠成熟果实为黑紫色,母树树龄在55年左右,树高约为19.2 m,胸径约为42.1 cm,平均冠幅约为8.3 m,长势优良。果实自然成熟后收集并带回中南林业科技大学实验室。果实用自来水浸泡24 h,清洗干净,去除果皮,分离出种子。种子呈深棕色,椭圆形且一端尖,平均长度为11.77 mm,平均宽度为7.17 mm,千粒重为314.2 g,种子含水量为35.15%。

1.2 种子层积处理

细叶楠种子用清水洗净后，采用 10%的多菌灵消毒 30 min，再用蒸馏水冲洗 30 min。取足量干净的沙子，放于 130℃烘箱高温消毒 6 h 后冷却至室温。将种子和湿沙按照 1:3 的体积均匀混合，沙子含水量为 10%，放在 4℃冰箱中低温层积。

1.3 种子萌发实验

在层积 0、20、40、60 d 时随机选取新鲜饱满的细叶楠种子 4 份，每份 20 粒，共 80 粒。将种子放入 0.1%高锰酸钾中浸泡消毒 30 min，继而用蒸馏水冲洗 30 min。将双层滤纸铺在自制发芽床中，将种子放在滤纸上，在 25℃恒温培养室(光照时间 12 h)内进行发芽试验，以胚根突破种皮长到与种子等长时为发芽标准进行计数，计算发芽率(GP)。

1.4 材料采集及指标测定

在层积 0、20、40、60 d 时各随机选取细叶楠种子 30 g，对其淀粉(ST)、可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)含量、过氧化物酶活性、内源激素(ABA、GA₃、生长素(IAA)、玉米素核苷(ZR))含量等指标进行测定。ST 含量采用蒽酮比色法测定；SS 含量采用蒽酮比色法测定；SP 含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定；POD 活性采用愈创木酚法测定；ABA、GA₃、IAA、ZR 含量采用酶联免疫法测定^[19]。

1.5 数据处理

数据采用 Excel 软件进行处理并作图，采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析、多重比较和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 低温层积对细叶楠种子发芽率的影响

由表 1 可知，层积时间不同的细叶楠种子发芽

率差异显著($P < 0.05$)。层积 60 d 的细叶楠种子在第 5 d 时开始萌发，层积 20 和 40 d 的种子则在 7 d 后陆续开始萌发，而层积 0 d 的种子在第 24 d 才开始萌发。整个发芽过程中，层积 60 d 的种子萌发速度最快，发芽率最高，而层积 0 d 的种子萌发速度最慢、发芽率最低。种子置床 10 d 时，层积 60 d 的细叶楠种子发芽率是 40 d 的 2 倍，20 d 的 4 倍，且差异显著($P < 0.05$)；置床 20 d 时，层积 60 d 的细叶楠种子发芽率是 40 d 的 1.81 倍，20 d 的 2.9 倍，与其他处理组的差异均达显著水平($P < 0.05$)；置床 30 d 时，层积 60 d 种子的发芽率是 0 d 的 2.38 倍，20 d 的 1.27 倍，但与层积 40 d 处理组无显著差异($P > 0.05$)；置床 40 d 时，层积 60 d 种子的发芽率达到 90%，比 0、20、40 d 的发芽率分别高 34.75%、17.25% 和 10.00%，与 0、20 d 处理组的差异显著($P < 0.05$)，与 40 d 处理组的差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 低温层积对细叶楠种子内淀粉和可溶性糖含量的影响

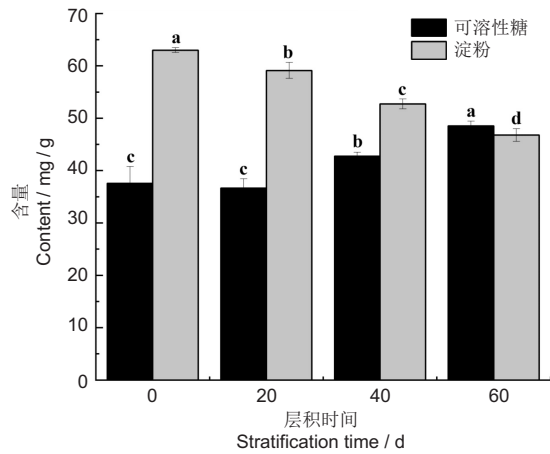
随着低温层积时间的延长，细叶楠种子内淀粉含量呈下降趋势(图 1)。层积 0 d 时，细叶楠种子内淀粉含量最高，为 63.00 mg/g；层积 20 d 时，淀粉含量降低了 6.17%；40 d 时，淀粉含量降低了 16.33%；到层积 60 d 时，淀粉含量最低，降低了 25.75%，且各处理组间差异显著($P < 0.05$)。

可溶性糖含量在层积前期波动不大，后期明显增加，总体呈上升趋势(图 1)。层积 0 d 时，可溶性糖含量为 27.55 mg/g；20 d 处理组较 0 d 降低了 0.89 mg/g，但差异不显著($P > 0.05$)；层积 40 d 后，种子内可溶性糖含量升高；层积 60 d 时可溶性糖含量最高，为 48.53 mg/g，比 0 d 升高了 73.20%，且与其他处理组差异显著($P < 0.05$)。

表 1 不同层积时间处理对细叶楠种子发芽率的影响
Table 1 Effects of different stratification time on *Phoebe hui* seeds

发芽时间 Germination time/ day	发芽率 / % Germination percentage			
	处理 0 d Treatment for 0 d	处理 20 d Treatment for 20 d	处理 40 d Treatment for 40 d	处理 60 d Treatment for 60 d
10	0c	3.75 ± 4.79bc	7.50 ± 2.89b	15.00 ± 4.08a
20	0d	12.50 ± 5.00c	20.00 ± 4.08b	36.25 ± 4.79a
30	32.50 ± 8.66c	61.25 ± 4.79b	68.75 ± 6.29ab	77.50 ± 6.43a
40	56.25 ± 7.50c	73.75 ± 8.54b	80.00 ± 9.13ab	90.00 ± 4.08a

注:表中数据均为平均值 ± 标准误,同行不同小写字母表示处理间在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。
Notes: All data are means ± SD. Different lowercase letters indicate significant differences at $P < 0.05$ level.
© Plant Science Journal <http://www.plantscience.cn>



不同小写字母表示处理间在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。下同。
Different lowercase letters indicate significant differences at $P < 0.05$ level. Same below.

图1 不同低温层积时间对

细叶楠种子内淀粉和可溶性糖含量的影响

Fig. 1 Effects of different cold stratification time on starch and soluble sugar content in *Phoebe hui*

2.3 低温层积对细叶楠种子内可溶性蛋白含量的影响

分析结果表明，细叶楠种子体内可溶性蛋白含量随层积时间的延长呈上升趋势(图2)。层积0 d的细叶楠种子内可溶性蛋白的含量最低，为55.37 mg/g；层积20 d时，可溶性蛋白含量增加了32.84%，且差异显著($P < 0.05$)；层积40 d时的可溶性蛋白含量是0 d的1.67倍；层积60 d时含量最高，分别是0、20、40 d处理组种子的2.24、1.68和1.34倍，且各处理组间差异显著($P < 0.05$)。

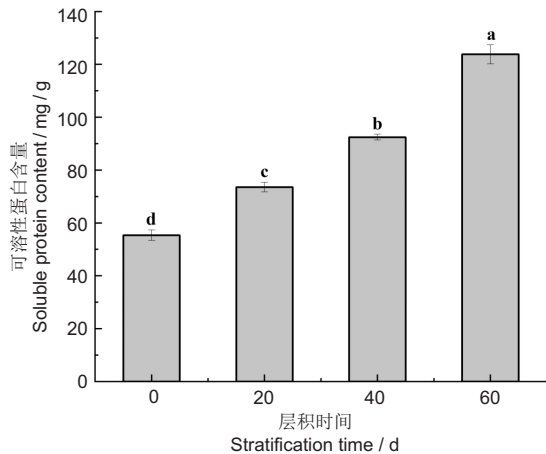


图2 不同低温层积时间对

细叶楠种子内可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2 Effects of different cold stratification time on soluble protein content in *Phoebe hui* seeds

2.4 低温层积对细叶楠种子内 POD 活性的影响

由图3可知，细叶楠种子 POD 活性随层积时间延长而增大。层积0 d时，POD 活性最低；层积20 d时，POD 活性增加了35.46%；层积40 d时，POD 活性达到0 d时的2.5倍；层积60 d时，种子POD 活性最高。各处理组间差异均达到显著水平($P < 0.05$)

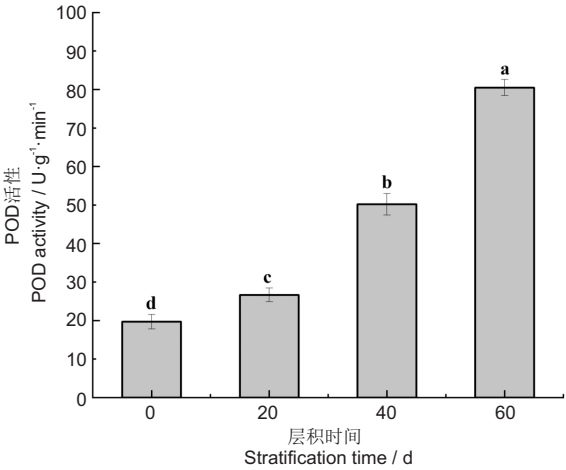


图3 不同低温层积时间对

细叶楠种子内 POD 活性的影响

Fig. 3 Effects of different cold stratification time on POD activity in *Phoebe hui* seeds

2.5 低温层积对细叶楠种子内激素含量的影响

细叶楠种子内 ABA 含量随着层积时间的延长而不断降低(图4)。层积0 d时，ABA 含量最高，为774.43 ng/g，而层积60 d种子的ABA 含量最低，为388.00 ng/g；层积20、40、60 d的种子ABA 含量较0 d分别降低了25.14%、42.44%和49.90%；且各处理组间差异显著($P < 0.05$)。

细叶楠种子内 GA₃ 含量随层积时间增加呈递增趋势(图5)。层积0 d时的GA₃ 含量较低，为176.77 ng/g；20 d是0 d的1.29倍；层积40 d较20 d时增加了3.53%，但二者差异不显著($P > 0.05$)；层积60 d时GA₃ 含量最高，为0 d时的2.1倍，且与其他处理组之间差异显著($P < 0.05$)。

细叶楠种子内 IAA 含量随层积时间不断升高(图6)。层积0 d时，IAA 含量最低，为18.26 ng/g；层积20 d时，IAA 含量比0 d高22.77%；40 d时IAA 含量为0 d的1.82倍；层积60 d处理组的含量达到峰值，为36.47 ng/g，比0 d高99.72%；各处理组间含量差异显著($P < 0.05$)。

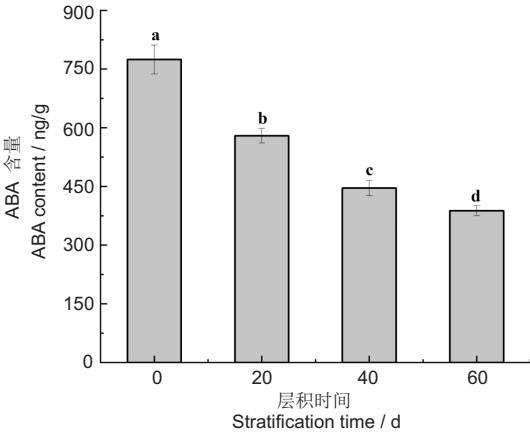


图 4 不同低温层积时间对细叶楠种子内 ABA 含量的影响

Fig. 4 Effects of different cold stratification time on ABA content in *Phoebe hui* seeds

分析发现，细叶楠种子内 ZR 含量随层积处理时间先上升后下降(图 7)。层积 0 d 时 ZR 含量最低；层积 20 d 时，ZR 快速积累，含量达到峰值，为 0 d 的 1.67 倍；层积 40 d 时，ZR 含量较 20 d 下降了 16.24%；层积 60 d 时，ZR 含量继续下降，为 20 d 处理组的 74.70%；各处理组含量差异显著($P < 0.05$)。

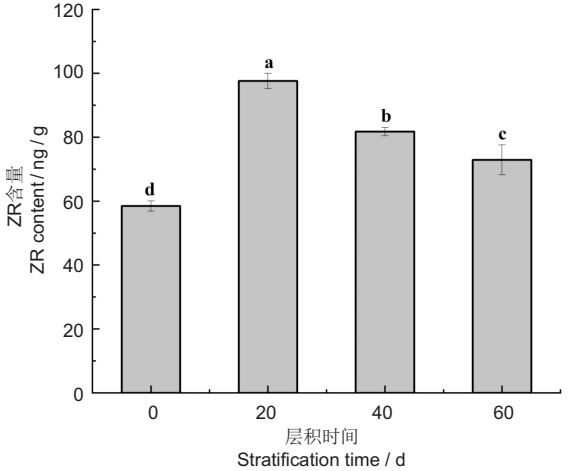


图 7 不同低温层积时间对细叶楠种子内 ZR 含量的影响

Fig. 7 Effects of different cold stratification time on ZR content in *Phoebe hui* seeds

2.6 细叶楠种子生理指标相关性分析

研究发现，发芽率与可溶性糖含量呈正相关，相关性系数达到 0.824，与可溶性蛋白显著正相关，相关系数为 0.956，与淀粉呈显著负相关，表明淀粉的降解、可溶性糖和可溶性蛋白的生成可以促使种子萌发(表 2)。POD 活性与发芽率呈正相关，相关系数达到 0.904(表 2)。内源激素 ABA 含量与发芽率呈显著负相关，相关系数达到 0.986，而 GA₃、IAA、ZR 与发芽率均呈正相关，相关系数分别是 0.992、0.932 和 0.408(表 2)，表明 ABA 阻碍种子萌发，而 GA₃、IAA、ZR 对种子萌发起到了正向作用。

3 讨论

3.1 低温层积过程中细叶楠种子萌发与营养物质含量变化的关系

低温层积过程中，种子内部会发生一系列生理生化反应，促使大分子贮藏物质转化成可吸收的小分子物质，从而诱导种子解除休眠，促进萌发^[20]。淀粉是种子萌发过程中重要的储能和供能物质^[21]，

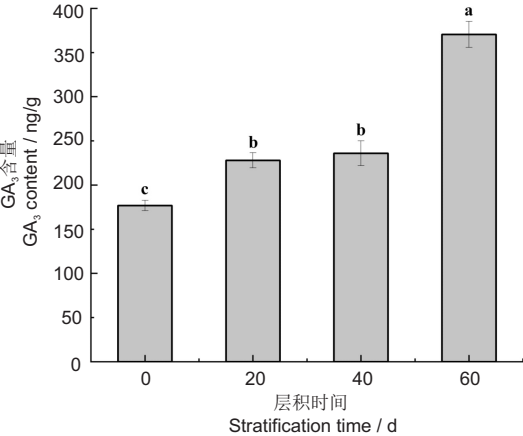


图 5 不同低温层积时间对细叶楠种子内 GA₃ 含量的影响

Fig. 5 Effects of different cold stratification time on GA₃ content in *Phoebe hui* seeds

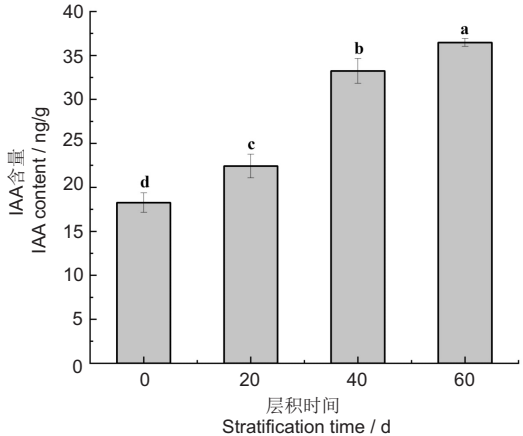


图 6 不同低温层积时间对细叶楠种子内 IAA 含量的影响

Fig. 6 Effects of different cold stratification time on IAA content in *Phoebe hui* seeds

表 2 细叶楠种子生理指标相关性分析
Table 2 Correlation analysis of physiological indices of *Phoebe hui* seeds

指标 Index	发芽率 GP	淀粉 ST	可溶性糖 SS	可溶性蛋白 SP	过氧化物酶 POD	脱落酸 ABA	赤霉素 GA ₃	吲哚乙酸 IAA	玉米素核苷 ZR
发芽率 GP	1	-0.954 *	0.824	0.956 *	0.904	-0.986 *	0.992	0.932	0.408
淀粉 ST		1	-0.954 *	-0.993 **	-0.986 *	0.950	-0.925	-0.981 *	-0.120
可溶性糖 SS			1	0.948	0.985 *	-0.817	0.902	0.925	-0.181
可溶性蛋白 SP				1	0.988 *	-0.933	0.962 *	0.952 *	0.130
过氧化物酶 POD					1	-0.886	0.950	0.948	-0.020
脱落酸 ABA						1	-0.825	-0.960 *	-0.400
赤霉素 GA ₃							1	0.833	0.083
吲哚乙酸 IAA								1	0.134
玉米素核苷 ZR									1

注：* 表示处理间在 $P < 0.05$ 水平上差异显著，** 表示处理间在 $P < 0.01$ 水平上差异显著。
Notes: * indicates significant differences at $P < 0.05$ level, ** indicates significant differences at $P < 0.01$ level.

也是胚发育的结构性物质^[22, 23]。种子萌发初期，种子内贮藏着大量的淀粉，种子开始吸胀后，淀粉酶活性升高，水解淀粉得到产物可溶性糖，而可溶性糖通过糖酵解和磷酸戊糖途径，为种子萌发提供能量^[21]。可溶性糖与种子萌发密切相关，不仅能维持种子细胞渗透调节，还有助于种子吸胀^[24]，是糖代谢过程中的重要物质^[25]。本研究发现，随着低温层积时间的延长，细叶楠种子内的淀粉被不断分解，主要是由于种子萌发需要大量的能量物质，淀粉经淀粉酶水解成可提供能量的可溶性糖，这也解释了为什么细叶楠种子体内可溶性糖得到快速积累。在相关性分析中，淀粉含量与可溶性糖含量呈显著负相关，细叶楠种子的发芽率与可溶性糖含量呈正相关，与淀粉含量呈显著负相关。可见细叶楠种子解除休眠过程中通过降解淀粉来促进可溶性糖的生成，通过糖酵解、磷酸戊糖等途径为细叶楠种子萌发储备供能物质。这与张莉梅等^[26]的研究结果一致。

可溶性蛋白是种子体内参与各类代谢的主要酶类等物质^[27, 28]，其含量增加不仅能够使种子保持较低的渗透势，利于种子吸水萌发，而且会增强种子对逆境的适应能力^[29]，其含量高低直接反映了种子新陈代谢的强度^[30]。在整个低温层积过程中，细叶楠种子内可溶性蛋白的含量不断增加，且可溶性蛋白含量与发芽率呈显著正相关。这主要是因为低温层积过程中，细叶楠种子逐步解除休眠，种子体内各种生理活动开始运转，可溶性蛋白含量上升，种子代谢活动不断增强。荆泉凯^[31]在研究毛

酸浆 (*Physalis pubescens* L.) 种子时发现，可溶性蛋白质的含量由 5.64 mg/g 上升至 12.90 mg/g，其含量变化与种子萌发能力关系密切。

3.2 低温层积过程中细叶楠种子萌发与过氧化物酶活性变化的关系

POD 是种子细胞内重要的酶系统，参与多种生理活动，其活性与种子的代谢活性相关^[27]。POD 酶可与酚酶偶联^[32]，通过酚类物质与醌的可逆氧化还原反应，使脱氢酶辅酶(NADPH)氧化为 NADP⁺，使葡萄糖-6-磷酸和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢氧化^[32]，促进磷酸戊糖途径(HMP)加速运转^[33]，帮助营养物质代谢，为种子萌发提供能量。此外，种子在吸胀萌发时，会产生大量的活性氧自由基，破坏种子的细胞结构，而 POD 可以清除活性氧，防止脂膜过氧化，维持活性氧化代谢和种子正常的生长发育^[34]。本研究中，随着低温层积时间的延长，细叶楠种子 POD 活性逐渐升高。这主要是因为细叶楠种子解除休眠过程中，呼吸作用和代谢作用不断加强，需要提高 POD 酶活性来保障种子内部生理活动的正常进行，而 POD 酶活性的增强有助于种子解除休眠，从而促进种子萌发。这与王佳源^[32]的研究结果一致。

3.3 低温层积过程中细叶楠种子萌发与内源激素含量变化的关系

植物激素是调控种子休眠与萌发过程中最重要的内源因素^[35]。内源激素含量的变化与种子萌发密切相关，激素能够通过信号转导对各种生理变化做出反应，从而调控种子的休眠和萌发^[36]。ABA

被认为是导致种子休眠的主要因子^[37], 其通过抑制核酸代谢, 阻碍蛋白质和有关酶合成, 导致种子休眠^[38]。低温层积过程中, 细叶楠种子内 ABA 含量显著下降。GA₃作为种子萌发的必需物质, 被认为是解除种子休眠的重要因子^[39], 可以促进种子内贮藏物质的分解, 诱导 α -淀粉酶进行释放^[40, 41], 促进种子萌发。随着低温层积时间的延长, 细叶楠种子内 GA₃ 含量升高, 说明低温层积有助于 GA₃ 的增加。而 ZR 是以天然形式存在的细胞分裂素, 可促进细胞分裂, 诱导芽的增殖。同时, ZR 可以减缓 ABA 对种子萌发的抑制作用, 与 ABA 具有拮抗作用^[35]。随着低温层积时间的延长, ZR 的含量先上升后下降, 但总体上是增加的, 说明低温层积可以促进细叶楠种子积累 ZR。IAA 解除种子休眠方面的相关研究较少, 却也对种子休眠起到了调控作用^[42]。在整个低温层积过程中, 细叶楠种子内 IAA 也不断积累。本研究中, 细叶楠种子具有生理休眠特性, 其发芽率与内源激素含量密切相关。未层积的细叶楠种子 40 d 的发芽率为 56.25%, 而层积 60 d 的种子发芽率达到 90%。经过低温层积, 细叶楠种子体内 ZR 大量增加, 拮抗了 ABA 的抑制作用。因而, 在 GA₃ 的诱导下, 细叶楠种子的发芽率得到了显著升高。低温层积后期, 细叶楠种子的休眠已被逐渐解除, 此时, GA₃ 快速积累, 种子内 ABA 含量处在较低水平, 而 ZR 含量的降低可能是因为 ABA 对 GA₃ 的抑制不显著, 种子不需要再生成 ZR 来缓解这种抑制效应。而 IAA 的积累也对细叶楠种子解除休眠与萌发起到了正向调控作用。金雅琴等^[37]发现柃木 (*Cornus macrophylla* Wall.) 种子中 IAA 含量在层积处理初期迅速降低, 一段时间后又显著升高; ABA 含量在层积前期较高, 但随着处理时间的延长趋于下降; GA 含量随层积处理时间的延长逐渐增大; 而 ZR 含量相对较为平稳, 但整体呈增高趋势; 在上述 4 种激素的共同作用下有效解除了种子的休眠, 促进种子的萌发。这一现象与本研究的结果基本一致。

3.4 低温层积对细叶楠种子萌发的影响

低温层积处理是常见解除种子生理休眠的手段, 能够促进氧在水中的溶解度, 使得种子的含氧量增加, 增强种子的呼吸作用^[31]。本研究中, 低温层积前细叶楠种子体内积累了大量的淀粉; 层积

后, 种子内酶的合成与活性均增加, 可溶性糖、可溶性蛋白的含量升高以及过氧化物酶活性升高, 为种子萌发提供了呼吸基质和能量。细叶楠种子发芽率与淀粉含量呈显著负相关, 主要是因为种子内淀粉酶活性较低, 无法水解高含量的淀粉, 从而不能提供能量, 阻碍了种子萌发。细叶楠种子发芽率与可溶性糖含量及 POD 活性呈正相关, 与可溶性蛋白呈显著正相关。

有研究证明, 低温情况下种子对 ABA 和 GA₃ 更为敏感, 从而增加了种子发芽力的差异性^[43]。激素能够通过信号转导对种子内各种生理变化做出反应, ZR 含量的升高能够拮抗 ABA 的抑制作用, GA₃ 含量的升高诱导 α -淀粉酶的合成, 加快了淀粉的水解过程, 过氧化物酶活性升高, 促进了磷酸戊糖途径, 有利于种子萌发过程中的能量供应, IAA 也协同促进了种子萌发。在本研究中, ABA 含量与种子发芽率呈显著负相关, 说明高浓度的 ABA 能够抑制种子萌发; GA₃ 含量、IAA 含量与种子发芽率呈正相关, 表明它们对细叶楠种子解除休眠和萌发起到了正向作用。细叶楠作为珍贵的用材树种, 在自然界中, 种子成熟后很难正常萌发, 且成活率低, 不利于苗木繁育和规模化种植。低温层积帮助细叶楠种子解除了生理休眠, 经过低温层积的种子置床第 7 天即可发芽, 且有效地提高了种子发芽率。Li 等^[44]研究发现温层积可打破闽楠 (*Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang) 种子的休眠, 提高种子的发芽率。尹德洁等^[45]在研究单叶蔓荆 (*Vitex rotundifolia* L. f.) 种子休眠时发现, 低温层积 90 天可破除种子的休眠, 促进种子萌发。薛晨阳等^[46]发现低温层积处理黄精 (*Polygonatum sibiricum* Delar. ex Redoute) 种子时, 主要贮藏物质在各类酶促反应下分解为可溶性糖和可溶性蛋白等小分子化合物, 为种子胚的分化发育提供能量, 从而促进种子萌发。赵婕等^[47]研究东京野茉莉 (*Styrax tonkinensis* (Pierre) Craib ex Hartw.) 种子时发现, 休眠能被低温层积处理解除。张俊杰等^[48]在金丝李 (*Garcinia paucinervis* Chun & F. C. How) 种子中也得到了相同的结论。

4 结论

在低温层积过程中, 细叶楠种子内淀粉不断水解成可溶性糖, 为种子萌发提供了呼吸基质和能

量。抗氧化酶 POD 活性升高,能有效清除种子萌发过程中产生的活性氧,保护种子细胞结构。萌发抑制物 ABA 含量降低,萌发促进物 GA₃、IAA、ZR 含量总体增加。因此,低温层积处理可解除细叶楠种子休眠,使其发芽时间缩短,发芽率提高。

参考文献:

- [1] 阳清培, 向祖恒, 彭先凤, 张金菊, 杨亚莉. 细叶桢楠天然林幼苗人工移植造林[J]. 福建林业科技, 2017, 44(3): 82-89.
Yang QP, Xiang ZH, Peng XF, Zhang JJ, Yang YL. Performance of undergrowth seedlings transplanted from natural forest of *Phoebe hui*[J]. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 2017, 44(3): 82-89.
- [2] 李冬林, 金雅琴, 向其柏. 我国楠木属植物资源的地理分布、研究现状和开发利用前景[J]. 福建林业科技, 2008, 31(1): 5-9.
Li DL, Jin YQ, Xiang QB. The geographical distribution, research status and developmental utilization prospect of *Phoebe* Nees plant resource of our country[J]. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 2008, 31(1): 5-9.
- [3] 徐雪菊, 宁莉萍, 杨了, 廖晓玲, 李英健, 等. 细叶楠木材构造特征[J]. 东北林业大学学报, 2020, 48(10): 71-75.
Xu XJ, Ning LP, Yang L, Liao XL, Li YJ, et al. Wood structure characteristics of *Phoebe hui* Cheng ex Yang [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2020, 48(10): 71-75.
- [4] 马俊伟, 柳新红, 何云核, 石从广, 杨少宗, 等. 不同施肥处理对细叶楠容器苗耐寒性的综合评价[J]. 浙江林业科技, 2016, 36(2): 37-43.
Ma JW, Liu XH, He YH, Shi CG, Yang SZ, et al. Integrated evaluation on cold resistance of container *Phoebe hui* seedlings by different fertilization treatments[J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science & Technology*, 2016, 36(2): 37-43.
- [5] Ding W, Ning LP, Xiong Y, Shi H, Wang TH, et al. Essential oils extracted from *Phoebe hui* Cheng ex Yang: chemical constituents, antitumor and antibacterial activities, and potential use as a species identifier[J]. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2017, 37(3): 365-478.
- [6] Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination[J]. *New Phytol*, 2006, 171(3): 501-523.
- [7] Donohue K, de Casas RR, Burghardt L, Kovach K, Willis CG. Germination, post germination adaptation, and species ecological ranges [J]. *Annu Rev Ecol Evol Syst*, 2010, 41: 293-319.
- [8] 叶清华, 王威, 谢倩, 陈清西. 橄榄种子休眠生理与层积效应[J]. 热带作物学报, 2021, 42(6): 1646-1653.
Ye QH, Wang W, Xie Q, Chen QX. Dormancy physiology and stratification effects of Chinese olive [*Canarium album* (Lour.) Raeusch.] seeds[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(6): 1646-1653.
- [9] 马拉青呼. 4个品种松柏种子休眠特性及萌发生理研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019: 30-31.
- [10] 李金霞. 榿树种子层积过程中种胚发育及生化物质变化规律[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2015: 42-43.
- [11] 孙海燕, 李强, 朱铭玮, 李永荣, 李淑娴. 油用牡丹‘凤丹’种子层积过程中营养物质的代谢变化研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 45(1): 70-78.
Sun HY, Li Q, Zhu MW, Li YR, Li SX. Dynamic changes of nutrients of *Paeonia ostii* ‘Feng Dan’ seed during its dormancy breaking[J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Natural Sciences Edition), 2021, 45(1): 70-78.
- [12] 司倩倩, 臧德奎, 刘丹, 褚泽龙. 玉铃花种子休眠原因及其内源激素含量变化[J]. 北方园艺, 2017, 6: 91-95.
Si QQ, Zang DK, Liu D, Chu ZL. Causes of dormancy and change of endogenous hormone content in *Styrax obassia* seeds[J]. *Journal of Northern Horticulture*, 2017, 6: 91-95.
- [13] 马俊伟, 李因刚, 柳新红, 王琦, 何云核. 湘西州细叶楠天然次生林群落特征研究[J]. 植物资源与环境学报, 2015, 24(1): 91-98.
Ma JW, Li YG, Liu XH, Wang Q, He YH. Study on community characteristics of natural secondary forest of *Phoebe hui* in Xiangxi prefecture [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2015, 24(1): 91-98.
- [14] 李娟, 欧汉彪, 林建勇, 梁瑞龙. 我国楠属种质资源分布现状及主要种特征差异[J]. 广西林业科学, 2020, 49(1): 54-59.
Li J, Ou HB, Lin JY, Liang RL. Distribution of *Phoebe* germplasm resources in China and characteristic differences among main species[J]. *Guangxi Forestry Science*, 2020, 49(1): 54-59.
- [15] 李娟, 董利军, 林建勇, 刘雄盛, 梁瑞龙. 楠木树种种质资源的 ISSR 分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(19): 6428-6435.
Li J, Dong LJ, Lin JY, Liu XS, Liang RL. The ISSR analysis of *Phoebe* Nees germplasm resources[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(19): 6428-6435.
- [16] 王天石, 宁莉萍, 熊燕, 陈颐萱, 李嘉诚, 等. 细叶楠木材的挥发性成分对比分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2018, 42(5): 129-134.
Wang TS, Ning LP, Xiong Y, Chen YX, Li JC, et al. A comparative analysis of volatile components of *Phoebe hui* Cheng ex Yang[J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Natural Sciences Edition). 2018, 42(5): 129-134.

- [17] Ding W, Ning LP, Wang YG, Li FZ, Zhang L, *et al.* Chemical constituents of the ethanol extract from the xylem of *Phoebe hui* [J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2017, 53(5): 4764–4895.
- [18] 周磊, 刘美玲, 李铁华, 张心艺, 胡胜男, 等. 施肥对细叶桉楠容器苗生长与光合的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2021, 41(7): 80–87.
Zhou L, Liu ML, Li TH, Zhang XY, Hu SN, *et al.* Effects of fertilization on growth and photosynthetic of *Phoebe hui* seedlings[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2021, 41(7): 80–87.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164–205.
- [20] Junttila O. The mechanism of low temperature dormancy in mature seeds of *Syringra* species [J]. *Physiology Plant*, 1973, 29: 256–263.
- [21] 岳佳铭, 李曼莉. 萌发过程中种子贮藏物质的动员和变化规律概述[J]. 种子, 2021, 40(1): 56–62.
Yue JM, Li ML, Review of the mobilization and change of seed storage materials during germination [J]. *Seed*, 2021, 40(1): 56–62.
- [22] 郑惠元, 雷秀娟, 王佳, 张新静, 王英平. 3种人参属药用植物种子生根过程中胚乳营养物质与酶活性的变化[J]. 种子, 2018, 37(10): 21–25.
Zheng HY, Lei XJ, Wang J, Zhang XJ, Wang YP. Changes in nutrients and enzyme activity of endosperm during rooting of three species ginseng medicinal plants seeds [J]. *Seed*, 2018, 37(10): 21–25.
- [23] 傅家瑞. 种子生理学[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 76–102.
- [24] Sanchez-Linares L, Gavilanes-Ruiz M, Diaz-Pontones D, Guzman-Chavez F, Calzada-Alejo V, *et al.* Early carbon mobilization and radicle protrusion in maize germination [J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(12): 4513–4526.
- [25] 孙瑞敏, 王蕾, 王佳琪, 黄俊华. 裕民贝母破除种子生理休眠营养物质的变化[J]. 分子植物育种, 2021, 19(15): 5143–5149.
Sun RM, Wang L, Wang JQ, Huang JH. The changes of nutrients in breaking seed physiological dormancy of *Fritillaria yuminensis* X. Z. Duan [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(15): 5143–5149.
- [26] 张莉梅, 张子晗, 喻方圆. 低温层积过程中野鸦椿种子生理生化变化的研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2016, 36(11): 36–40.
Zhang LM, Zhang ZH, Yu FY, Biochemical and physiological changes of *Euscaphis japonica* seeds during the period of stratification [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2016, 36(11): 36–40.
- [27] 王菲. 濒危药用植物黄檗种子休眠打破过程中激素与生理响应[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2016: 17.
- [28] Finkelstein RR, Gampala SS, Rock CD. Absciscic acid signaling in seeds and seedlings [J]. *Plant Cell*, 2002, 14: 15–45.
- [29] Tada Y, Kashimura T. Proteomic analysis of salt-responsive proteins in the mangrove plant, *Bruguiera gymnorhiza* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(3): 439–446.
- [30] 姜涛. 不同层积处理对黄檗种子生化指标的影响[J]. 防护林科技, 2020, 3: 51–52.
Jiang T. Effects of different stratification treatments on seed biochemical indexes of *Phellodendron amurense* [J]. *Protection Forest Science and Technology*, 2020, 3: 51–52.
- [31] 荆泉凯. 毛酸浆种子休眠特性及在层积过程中生理变化的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018: 7.
- [32] 王家源. 青钱柳种子解除休眠及萌发生理的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2005: 31.
- [33] 杨姝蕾, 项明, 王泽, 龙桂根, 陈发菊. 两个不同抗性株系华木莲种子层积过程中生理特性变化[J]. 分子植物育种, 2021: 1–10.
Yang SL, Xiang M, Wang Z, Long GG, Chen FJ, Physiological characteristics of two resistant *Sinomanglietia glauca* seeds in stratification [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021: 1–10.
- [34] Duque P, Chua NH. A bromodomain protein induced during seed imbibition, regulates ABA and phyA mediated responses of germination in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2003, 35(6): 787–799.
- [35] 于敏, 徐恒, 张华, 朱英. 植物激素在种子休眠与萌发中的调控机制[J]. 植物生理学报, 2016, 52(5): 599–606.
Yu M, Xu H, Zhang H, Zhu Y. Regulation of plant hormones on Seed dormancy and germination [J]. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(5): 599–606.
- [36] 刘慧娜, 张克亮, 赵大球, 孙静, 孟家松, 等. 种子休眠与萌发综述[J]. 分子植物育种, 2020, 18(2): 621–627.
Liu HN, Zhang KL, Zhao DQ, Sun J, Meng JS, *et al.* Advances in studies of seed dormancy and germination [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(2): 621–627.
- [37] 金雅琴, 李冬林, 黄雪方. 桉木种子低温层积过程中内源激素含量的动态变化特征[J]. 西北植物学报, 2014, 34(11): 2255–2261.
Jin YQ, Li DL, Huang XF. Dynamic variation characteristic of endogenous hormone content in *Cornus macrophylla* seeds during cold stratification [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(11): 2255–2261.
- [38] Rohde A, Bhalerao RP. Plant dormancy in the perennial context [J]. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(5): 217–223.
- [39] Villers TA. Effect of regulators on seed germination [J]. *Planta*, 1968, 82: 342–354.
- [40] Dong LH, Chao H, Jia LY, Shi HS, Ping FY. Constructing the metabolic and regulatory pathways in germinating rice

- seeds through proteomic approach [J]. *Proteomics*, 2011, 11(13): 2693–2713.
- [41] Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. Seed dormancy and germination[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5: 33–36.
- [42] Zehra A, Gul B, Ansari R, Alatar ARA, Hegazy AK, *et al*. Action of plant growth regulators in alleviating salinity and temperature effects on the germination of *Phragmites kar-ka*[J]. *Pak J Bot*, 2013, 45(6): 1919–1924.
- [43] 罗军. 低温对棉种萌发过程中贮藏物质转化的影响及激素调控[D]. 石河子: 石河子大学, 2020: 4–5.
- [44] Li TH, Min XH. Dormancy characteristics and germination requirements of *Phoebe bournei* seed [J]. *Sci Hortic*, 2020, 260: 108903.
- [45] 尹德洁, 布凤琴, 徐艳芳, 黄彪, 李成. 单叶蔓荆种子休眠特性与解除方法[J]. 林业科学, 2020, 56(12): 157–165.
- Yin DJ, Bu FQ, Xu YF, Hang B, Li C. Dormancy characteristics and breaking methods of *Vitex rotundifolia* seeds [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2020, 56(12): 157–165.
- [46] 薛晨阳, 杨世海. 低温层积处理对黄精种子生理变化的影响 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 724–726.
- Xue CY, Yang SH. Effects of cold stratification on the physiological changes of *Polygonatum sibiricum* Seed[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2021, 32(3): 724–726.
- [47] 赵婕, 张子晗, 侯秋彦, 喻方圆. 东京野茉莉种子休眠特性的研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2019, 39(1): 45–51.
- Zhao J, Zhang ZH, Hou QY, Yu FY. Investigation on dormancy characteristics of *Styrax tonkinensis* seeds [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2019, 39(1): 45–51.
- [48] 张俊杰, 韦霄, 柴胜丰, 吴少华, 邹蓉, 等. 珍稀濒危植物金丝李种子的休眠机理[J]. 生态学杂志, 2018, 37(5): 1371–1381.
- Zhang JJ, Wei X, Chai SF, Wu SH, Zou R, *et al*. Dormancy mechanism of the seeds of a rare and endangered plant, *Garcinia paucinervis*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2018, 37(5): 1371–1381.

(责任编辑: 李惠英)