

滇重楼种子萌发过程中生理生化指标变化分析

符莹莹^{1,2} 赖佳辉¹ 袁华怡^{1,2} 余红娅^{1,2} 刘光华¹ 徐福荣^{1,2*}

(1. 云南中医药大学中药学院,昆明 650500; 2. 云南省傣医药与彝医药重点实验室,昆明 650500)

摘要 为了探究影响滇重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*)种子休眠解除的主要生理生化因子,该研究以滇重楼种子为研究材料,用体视显微镜观察胚的表型变化,筛选出5个典型阶段(S1,球形胚;S2,短柱形胚;S3,圆锥形胚;S4,鱼雷形胚;S5,出芽),采用生理生化方法和ELISA法测定各阶段的营养物质含量、酶活性和植物激素含量等指标。结果表明:胚率在S5阶段为(66.50±6.22)%,吸水率为76.54%;滇重楼种子的主要营养物质为淀粉;萌发过程中淀粉、游离氨基酸含量和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)活性均呈现下降的变化趋势,可溶性糖含量呈先下降后上升再下降的变化趋势,过氧化物酶(POD)、苹果酸脱氢酶(MDH)活性和赤霉素 GA_3 含量均呈现先上升后下降的变化趋势,赤霉素 GA_4 和生长素(IAA)含量均呈现先下降后上升的变化趋势,超氧化物歧化酶(SOD)活性在S5阶段显著增强,过氧化氢酶(CAT)活性呈M型波动趋势,脱落酸(ABA)含量呈下降-上升-下降-上升的变化趋势。胚率与SOD活性呈极显著正相关($P<0.01$),与G-6-PDH活性和游离氨基酸含量呈极显著负相关($P<0.01$), GA_3 含量与CAT活性、 GA_4 含量与淀粉和氨基酸含量呈极显著正相关($P<0.01$),而IAA含量与可溶性糖含量呈极显著负相关($P<0.01$)。滇重楼种子的休眠类型为形态生理休眠;同时,胚的发育状态与生理生化指标的波动密切相关,可溶性糖、游离氨基酸、 GA_3 、 GA_4 的含量上升, GA_3 /ABA和IAA/ABA升高,以及SOD、POD、CAT的活性增强,均有助于种子休眠的解除。

关键词 滇重楼;种子;不同萌发阶段;生理生化指标

中图分类号:Q945.6 文献标志码:A doi:10.7525/j.issn.1673-5102.2025.06.012

Analysis of Physiological and Biochemical Indexes Changes During Seed Germination of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*

FU Yingying^{1,2} LAI Jiahui¹ YUAN Huayi^{1,2} YU Hongya^{1,2} LIU Guanghua¹ XU Furong^{1,2*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500; 2. Yunnan Key Laboratory of Dai and Yi Medicines, Kunming 650500)

Abstract To explore the main physiological and biochemical factors affecting the dormancy release of seeds, the seeds of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* were used as materials, and the phenotypic changes of embryos were observed by stereomicroscope. Five typical stages (S1, spherical embryo; S2, short cylindrical embryo; S3, conical embryo; S4, torpedo embryo; S5, budding) were screened out, respectively. Physiological and biochemical methods and ELISA were used to determine the nutrient content, enzyme activity and plant hormone content in the seeds at each stage. The results showed that the embryo rate was finally (66.50±6.22)%; the water absorption rate was 76.54%. The main nutrient of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seeds was starch. During the germination process, the contents of starch, free amino acids and activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) showed a decreasing trend; the content of soluble sugar showed a trend of decreasing first, then increasing and then decreasing again; the activities of peroxidase (POD), malate dehydrogenase

基金项目:云南省科技计划项目(202304BI090004);国家自然科学基金地区科学基金项目(81860674);云南省中医药基础研究联合专项(202101AZ070001-115);云南省傣医药与彝医药重点实验室(云南中医药大学)资助项目(2024SS24086)。

第一作者简介:符莹莹(2000—),女,硕士研究生,主要从事药用植物资源研究。

* 通信作者:E-mail:xfong99@163.com。

收稿日期:2024年12月20日。

(MDH) and content of gibberellin A₃(GA₃) showed a trend of increasing first and then decreasing; the contents of gibberellin A₄(GA₄) and indole-3-acetic acid(IAA) showed a trend of decreasing first and then increasing, superoxide dismutase(SOD) activity increased significantly in S5 stage, catalase(CAT) activity showed a trend of M type fluctuation, abscisic acid(ABA) content showed a trend of ‘decreasing-increasing-decreasing-increasing’. The embryo rate was significantly positively correlated with SOD activity, and significantly negatively with G-6-PDH activity and free amino acids content. GA₃ content was significantly positively correlated with CAT activity, GA₄ content was significantly positively correlated with contents of starch and amino acids($P < 0.01$), while IAA content was significantly negatively correlated with soluble sugar content($P < 0.01$). The dormancy type of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seeds was morphological and physiological dormancy; and the development status of embryo was closely related to the fluctuation of physiological and biochemical indexes. The increases in contents of soluble sugar, free amino acid, GA₃ and GA₄, GA₃/ABA and IAA/ABA, and activities of SOD, POD and CAT were all helpful to the release of seed dormancy.

Key words *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*; seeds; different germination stages; physiological and biochemical indicators

滇重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*), 黎芦科(Melanthiaceae)重楼属(*Paris*), 多年生草本植物, 是云南省的道地药材, 始载于汉代《神农本草经》^[1]。其药用历史悠久, 现代研究^[2]发现滇重楼具有抗肿瘤、抗炎和止血等药理活性。近年来, 由于滇重楼市场需求量大, 药农过度采挖, 且成药周期长(7~8 a), 致使滇重楼野生资源日益枯竭^[3]。人工栽培是缓解市场紧张供需关系的有效手段, 目前市场供应的滇重楼以人工繁育为主。人工繁育的方式有根茎繁殖、愈伤组织繁殖和种子繁殖等, 因种子繁殖相较于根茎繁殖和愈伤组织繁殖具有操作成熟, 成本低廉的特点, 且不会导致种苗退化, 并能够增加遗传多样性, 被认为是解决滇重楼人工繁育问题的有效途径^[4]。滇重楼种子具有形态生理休眠(morphophysiology dormancy, MPD)特性, 即种子成熟后, 受到种子萌发抑制物和种胚发育不完全双重影响, 在自然条件下须经“两冬一夏”才能萌发成苗^[5], 因此, 滇重楼驯化栽培与资源再生的关键是打破滇重楼种子休眠。

目前, 关于滇重楼种子休眠的研究聚焦于不同温度与试剂对萌发特性的影响、内源激素与种胚发育的关系、酶活性变化与种子休眠的关系, 以及营养指标的变化规律等。例如, 陈疏影等^[6]发现 15 °C/20 °C 变温层积处理可以软化种皮和促进种子吸水, 从而增强种子的酶反应和呼吸代谢, 加速种子萌发; 汪佳维等^[7]发现 20 °C 恒温处理较 20 °C/5 °C/20 °C 变温层积处理滇重楼种子胚率增长快。由此可知, 以 20 °C 为中心波动的变温层积处理, 是滇重楼种子萌发的适配温度。孟繁蕴等^[8]和黄玮

等^[9]将胚率与内源激素联合分析, 发现萌发过程中脱落酸(abscisic acid, ABA)含量降低和赤霉素 A₃(gibberellin A₃, GA₃)含量提高有利于滇重楼种胚发育; 浦梅等^[10-11]发现, 相较于 ABA 绝对含量降低, GA 含量升高和 GA/ABA 达到某一阈值才能有效促进种胚发育和种子解除休眠。实际上, 种子休眠状态调控, 主要取决于 GA/ABA, 以及种子对这 2 种激素敏感性之间的平衡, 但这不是唯一的调节因素, 环境信号会通过改变生物合成酶和分解代谢酶的表达来调节这一平衡, 能量的转化与呼吸途径的转变也参与其中^[12]。任艳君等^[13]利用染色法判断刺五加(*Acanthopanax senticosus*)种子淀粉、蛋白质和脂质的分布、代谢与转化对种子萌发的影响; 具有类似休眠特性的植物, 例如七叶一枝花(*Paris polyphylla*)^[14]、羌活(*Notopterygium incisum*)^[15]、多花黄精(*Polygonatum cyrtonema*)^[16]等植物种子的萌发, 与营养物质的代谢与转化、呼吸代谢途径的改变、激素含量变化的协调作用密切相关。尽管已有上述研究, 但目前关于滇重楼种子生理生化指标的变化规律, 以及这些指标的互作关系, 尚缺乏系统性研究。

本研究通过 18 °C/22 °C 变温层积处理, 依照种胚形态将种子萌发分为 5 个阶段, 观察不同萌发阶段种胚的生长表型, 探讨主要营养物质的分布、转化与利用, 分析营养物质含量、呼吸代谢途径、相关酶活性、内源激素含量与胚率的耦合关系, 系统阐述与滇重楼种子萌发密切相关的生理代谢过程及潜在机制, 为今后深入研究滇重楼种子休眠解除提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试种子于2022年10月采收自云南省丽江市(25°59'~27°56'N, 99°23'~101°31'E), 经云南中医药大学徐福荣研究员鉴定为黎芦科植物滇重楼的新鲜种子。将采集的新鲜种子去除鲜红色外果皮, 洗净阴干, 4℃储存备用。

1.2 试验设计与方法

1.2.1 种子处理

选择大小均一、颗粒饱满且无病虫害的种子, 用0.3%二氯异氰尿酸钠(NADCC)溶液浸种消毒20 min后, 用无菌水洗涤3次, 再用无菌滤纸吸干种子表面水分, 点板前用清水在室温下浸种48 h, 使其吸水膨胀; 培养基为纯琼脂培养基, 将吸水膨胀后的种子用无菌滤纸吸干水分后点于培养基中, 每盘播种30粒。放置于光照培养箱中培养(18℃/22℃)。每10 d在体视显微镜下观察种胚, 取5个阶段(S1, 球形胚; S2, 短柱形胚; S3, 圆锥形胚; S4, 鱼雷形胚; S5, 出芽)的种子用液氮速冻, 置于冰箱中-80℃保存, 用于指标测定, 每项指标测定均包含3个生物学重复。

1.2.2 种胚生长观测及吸水性、活力测定

利用游标卡尺测量滇重楼种子的基本尺寸; 随机选择10粒种子, 沿着珠孔纵向切开, 在体视显微镜下观察胚的形态并记录胚率。

$$\text{胚率} = \frac{\text{胚的长度}}{\text{种子的长度}} \times 100\% \quad (1)$$

参照管岳等^[17]方法稍作改动后测定吸水性。随机选取30粒饱满、阴干的成熟种子, 称量初始质量, 置于蒸馏水中, 室温25℃保存, 每2、4、8、12 h取出(之后每12 h取1次, 直至质量无明显变化), 擦干表面水分, 称量至恒质量, 重复3次。

$$\text{吸水率} = \frac{\text{吸水一段时间种子质量} - \text{吸水前种子质量}}{\text{吸水前种子质量}} \times 100\% \quad (2)$$

利用TTC染色法测定滇重楼种子活力。随机选取10粒种子, 沿着珠孔纵向切开, 滤纸吸干表面水分后, 用0.2%的TTC染液在37℃下避光染色1.5 h, 染色后的种子用清水冲洗并观察染色情况, 随后在体视显微镜下拍照记录。

1.2.3 种子主要营养物质的解剖学观察及含量测定

采用苏丹Ⅲ染液染色法观察种子中的脂肪。将种子沿着珠孔纵切为两半, 用蒸馏水润洗3遍,

滤纸吸干表面水分, 浸没在苏丹Ⅲ染液中3 min, 用滤纸吸干染液后滴加体积分数为50%的乙醇溶液, 洗去浮色, 用蒸馏水洗去乙醇溶液, 吸干水分后在体视显微镜下拍照记录。

采用碘-碘化钾染液染色法观察种子中的蛋白质和淀粉。将对半切开的种子浸没在碘-碘化钾染液中染色3 min, 用滤纸吸干染液后滴加蒸馏水洗去浮色, 吸干水分后在体视显微镜下拍照记录。

采用蒽酮比色法测定淀粉(starch, ST)和可溶性糖(soluble sugar, SS)含量, 采用考马斯亮蓝G-250法测定可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量, 采用茚三酮溶液显色法测定游离氨基酸(free amino acids, FAA)含量。上述指标测定所用试剂盒均购自北京盒子生工科技有限公司, 试剂盒批号分别为AKSU015M、AKPL008、AKPR015、AKAM001M; 具体操作详见说明书。每个指标设置3个生物学重复。

1.2.4 抗氧化酶活性测定

分别取0.2 g不同萌发阶段的滇重楼种子置于洗净后预冷的研钵中, 加入少量石英砂, 再加入2 mL预冷的PBS(0.05 mol·L⁻¹)缓冲液研磨成匀浆(不宜研磨时间过久或速度过快), 10 000 r·min⁻¹, 4℃条件下离心20 min, 取上清液, 即为超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的待测酶液, 置于-20℃备用, 下同。同样方法另取0.2 g滇重楼种子, 加入2 mL预冷的Tris-HCl(0.1 mol·L⁻¹)缓冲液研磨成匀浆, 其他操作同上, 制成苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PDH)的待测酶液, 设置3个生物学重复。以上5个酶活性指标测定参照李昭玲等^[18]采用的分光光度计法。

1.2.5 内源激素含量测定

分别取1 g不同萌发阶段的滇重楼种子置于洗净后预冷的研钵中, 加入少量石英砂, 再加入9 mL的pH为7.2~7.4的PBS缓冲液研磨成匀浆(不宜研磨时间过久或速度过快), 2 000~3 000 r·min⁻¹离心20 min, 取上清液, 即为4种激素的待测酶液, 设置3个生物学重复。采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)测定赤霉素A₃(GA₃)、赤霉素A₄(GA₄)、植物生长素(indole-3-acetic acid, IAA)和

ABA含量,植物激素含量测定所用试剂盒均购自江苏酶免生物科技有限公司。

1.3 数据处理

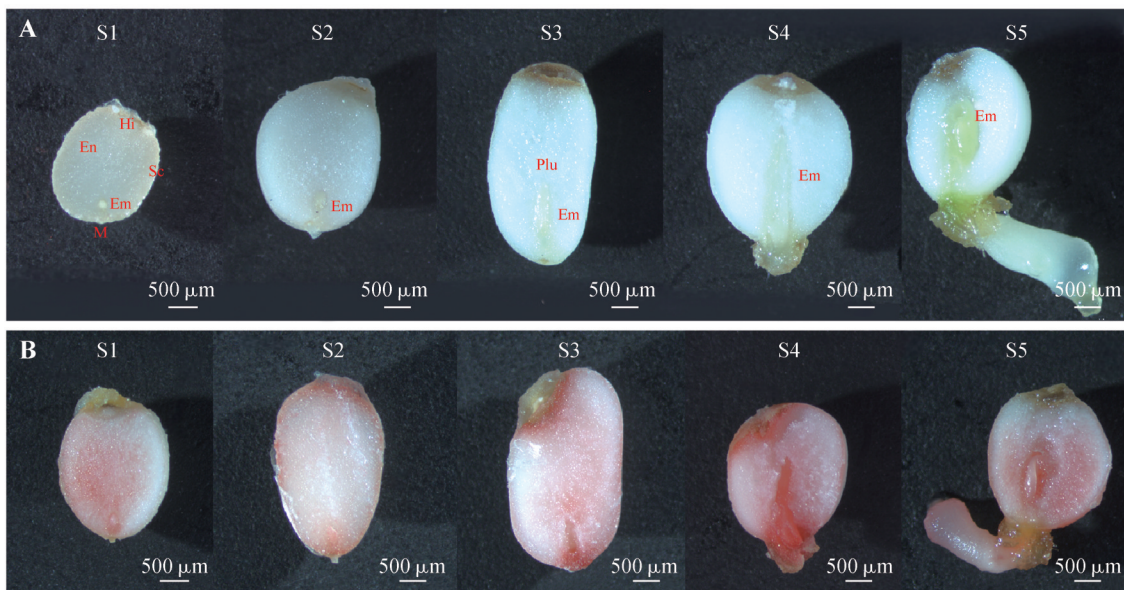
使用Microsoft Excel 2019整理试验数据,利用IBM SPSS Statistics 27.0.1软件对试验数据进行统计分析,利用单因素方差分析完成各个指标的显著性分析($P<0.05$),采用Origin 2021软件制图,图中数据用平均值 \pm 标准误差表示。

2 结果与分析

2.1 不同萌发阶段滇重楼种子胚形态及活力变化

种子由种皮、胚乳和被包裹的胚组成(图1A);种皮相对薄,内部空间主要由胚乳占据。种子萌发过程中,胚不断生长,胚周边的胚乳细胞被逐步分解。随着胚的持续发育,在种脐与胚的中间部

位会形成一个清晰可见的空腔。在培养过程中,滇重楼种胚变化较明显(图1A)。刚处理的种胚呈现还未发育成熟的球形胚(S1);随着时间的推移,种胚体积增大,由球形胚转变为短柱形胚(S2);上胚轴不断伸长,下胚轴不断积累膨大,形成圆锥形胚(S3),而胚部周围胚乳细胞因被消耗而变得稀松;上胚细胞不断向种脐方向伸长,胚基部不断向下膨大并在珠孔堆积,形成鱼雷形胚(S4);随后胚根突出种皮,完成出芽(S5)。通过TTC染色可观测到滇重楼种子萌发过程的活力变化(图1B),具有活力的细胞会呈现红色,颜色越深活力越高。观察发现,胚及胚紧邻的胚乳区域活力最高,其次是种脐与珠孔区域,也展现出较高的活力,表明在这些结构中,细胞正发生强烈的代谢活动。



A. 胚的形态变化; B. 种子活力; Em. 胚; En. 胚乳; Hi. 种脐; M. 珠孔; Plu. 胚芽; Sc. 种皮。

A. Morphological changes of embryos; B. Seed vigor; Em. Embryo; En. Endosperm; Hi. Hilum; M. Micropyle; Plu. Plumule; Sc. Seed coat.

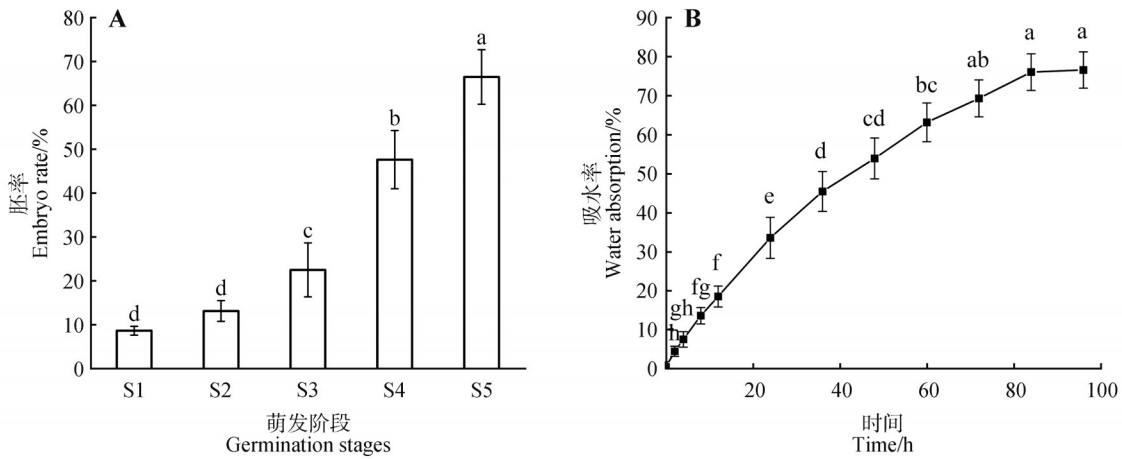
图1 滇重楼种子不同萌发阶段的胚形态与种子活力

Fig.1 Morphology of the embryo and seed vigor of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seeds at different germination stages

为了评估滇重楼种子的发育程度,本研究统计了不同萌发阶段的胚率(图2A)。在萌发前期,胚率呈现缓慢上升趋势,随着萌发进程的推进,进入S3阶段,胚率出现显著变化,呈现快速上升趋势,S5阶段稳定在 $(66.50\pm 6.22)\%$ 。滇重楼种子的内种皮展现出良好的透水性(图2B),在吸水过程中,吸水率几乎呈直线上升,最终吸水率达到76.54%。这一结果表明,内种皮并非影响种子萌发的制约因素。

2.2 滇重楼种子不同萌发阶段主要营养物质的分布与含量变化

依据种子内部主要营养物质的相对含量,可将其分为3种类型:淀粉种子、脂肪种子和蛋白质种子。对滇重楼种子解剖后,使用苏丹Ⅲ染液和碘-碘化钾染液分别进行染色,脂肪可被苏丹Ⅲ染液染成橘黄色至红色,蛋白质可被碘-碘化钾染液染成金黄色,淀粉则呈现蓝色。结果显示,在S1~S5阶段,脂肪的颜色呈现由浅转鲜艳的变化趋



组内不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异。

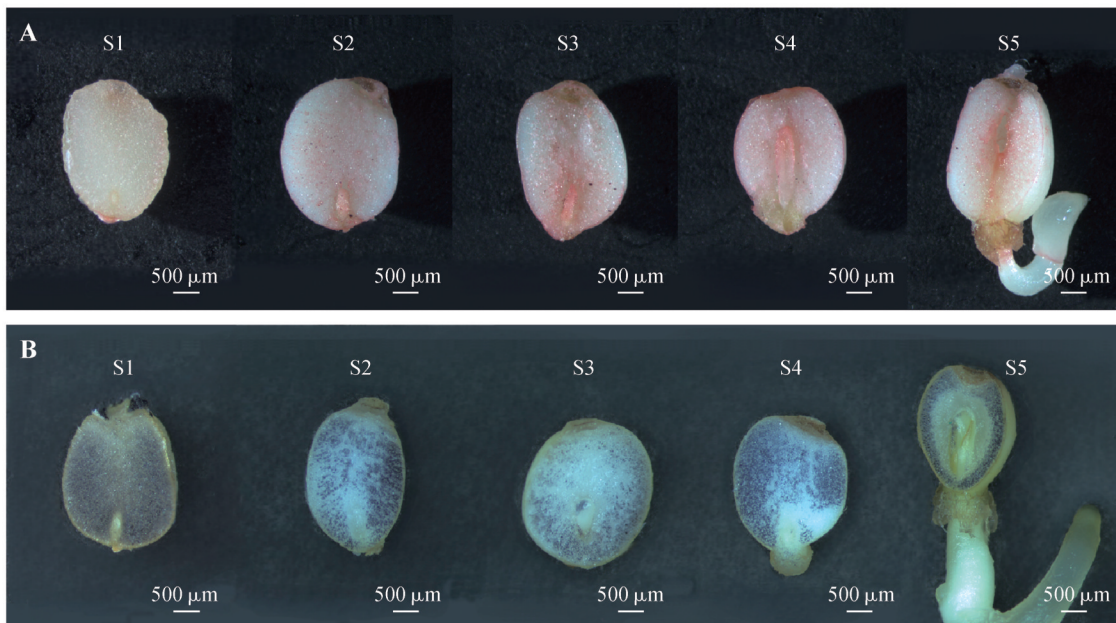
Different lowercase letters within the groups indicated significant differences at the $P < 0.05$ level.

图2 滇重楼种子的萌发特性

Fig.2 Germination characteristics of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seeds

势,且分布在胚及其周围区域(图3A);未观察到蛋白质的染色现象,表明滇重楼种子中蛋白质含量较低(图3B,图4C);淀粉的颜色呈现由蓝紫色向蓝色转变的趋势,且含量逐渐降低,淀粉染色区域与脂肪着色区域呈现相反的分布特点,即淀粉染色区域避开了胚及周围的胚乳,这一特征在S5

阶段尤为明显,表明在种子发育进程中,胚周围区域的淀粉可能先被消耗(图3B,图4A)。可溶性糖含量呈先下降后上升再下降的变化趋势,在S4阶段达到峰值(图4B);游离氨基酸含量则呈现持续下降的变化趋势,萌发前期下降幅度较大,后期含量变化不显著(图4D)。

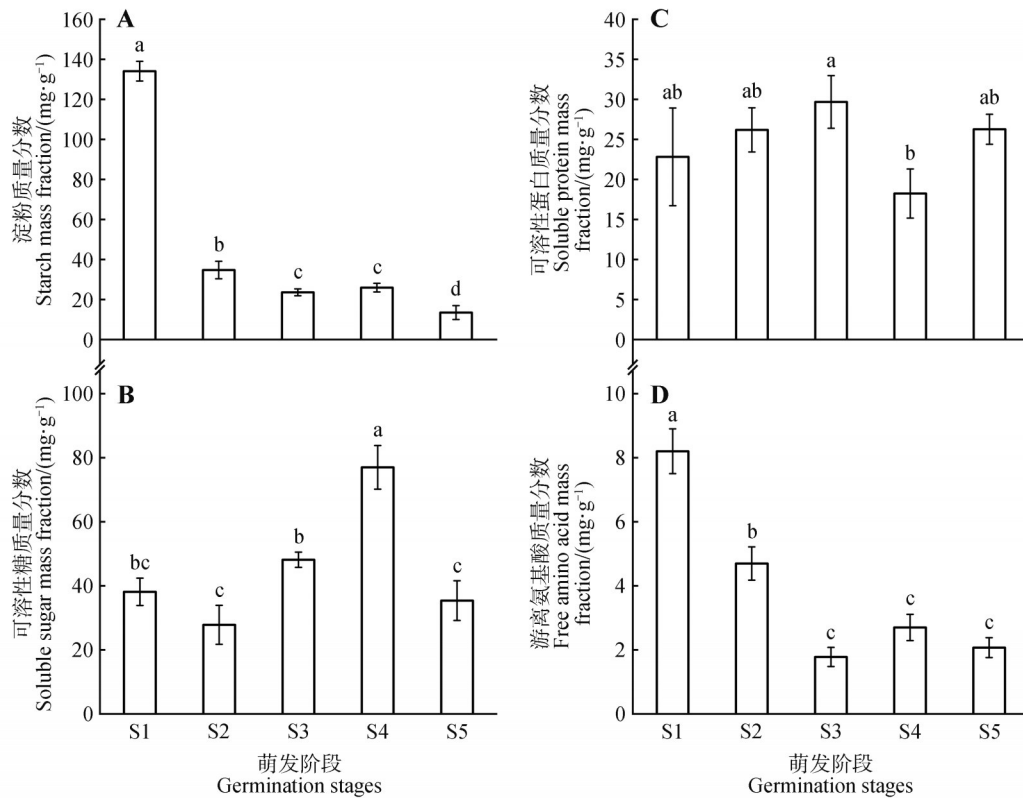


A.脂肪分布情况; B.淀粉分布情况。

A.Fat distribution; B.Starch distribution.

图3 滇重楼种子营养物质切片染色

Fig.3 Nutrient sections staining of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seeds



组内不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平上有显著差异。

Different lowercase letters within the groups indicated significant differences at the $P<0.05$ level.

图4 滇重楼种子不同萌发阶段营养物质质量分数

Fig.4 Nutrient mass fraction of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seeds at different germination stages

2.3 滇重楼种子不同萌发阶段酶活性的变化

抗氧化酶活性的变化与维持细胞的氧化还原平衡紧密相关。在种子萌发初期,SOD、POD与CAT的活性都维持在较低水平,随着种子发育进程推进,这3种酶的活性展现出不同变化趋势: SOD活性呈现前缓后急的上升趋势,在S5阶段达到峰值(图5A);POD活性在S3阶段呈现“单峰”现象,与其他阶段呈显著差异(图5B);CAT活性在S2和S4阶段出现“双峰”,与其他阶段呈显著差异(图5C)。由此表明,在种子萌发过程中,随着细胞代谢活动增强,活性氧(ROS)含量增多,抗氧化酶通过协同作用发挥清除活性氧的功能。呼吸代谢是种子生命活动的核心,因此,本研究测定了2种呼吸代谢途径的关键限速酶活性。结果显示,G-6-PDH活性呈现缓慢下降趋势(图5D),MDH活性呈现先上升后下降的变化趋势(图5E)。

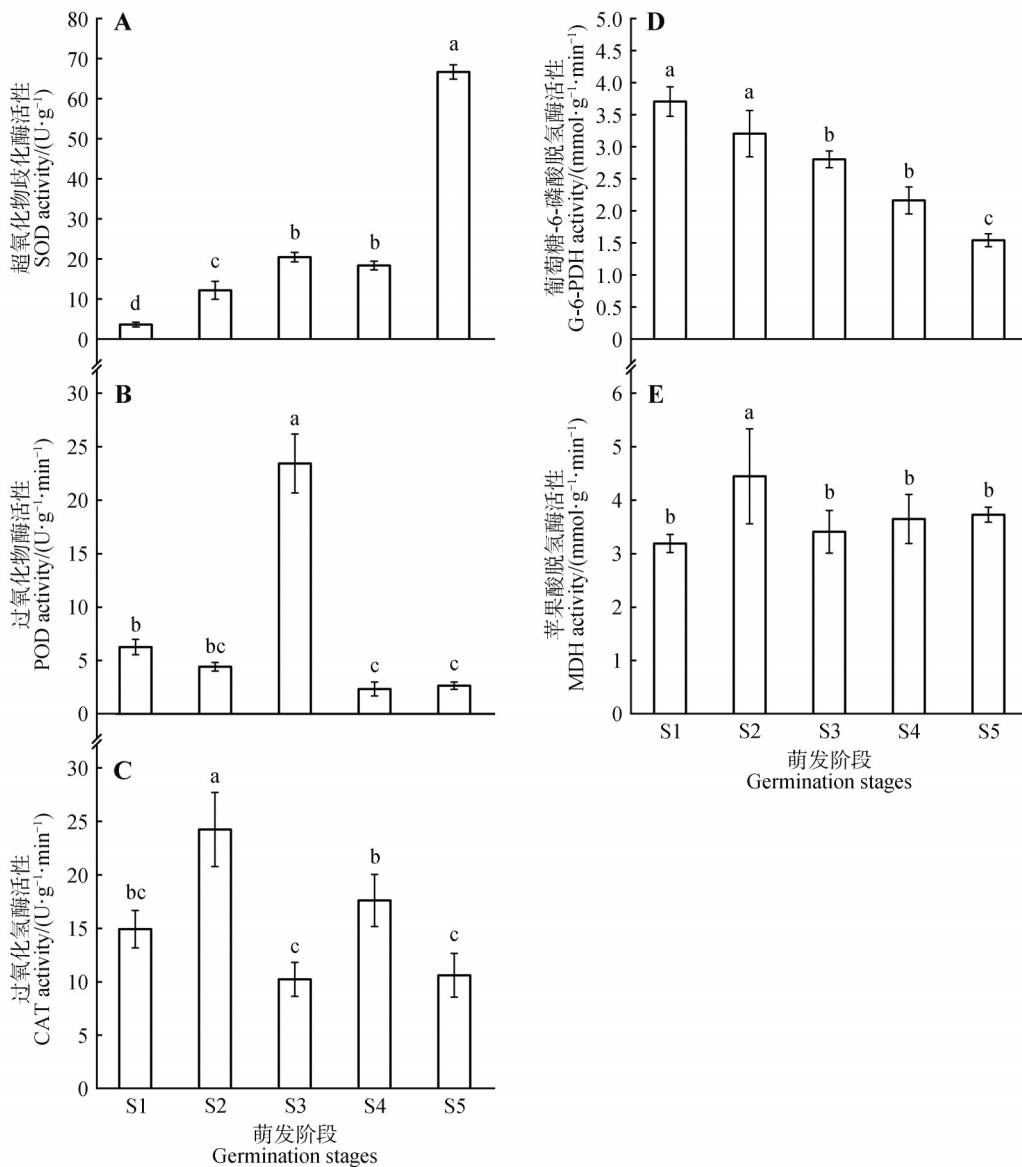
2.4 滇重楼种子不同萌发阶段激素含量的变化

植物内源激素在种子萌发过程中具有不可忽

视的作用,激素之间的相互作用可以精准调控种子的生长与发育。因此,本研究测定了5个阶段种子的 GA_3 、 GA_4 、ABA和IAA含量。结果显示,随着发育进程的推进, GA_3 含量呈现先上升后下降的变化趋势,在S2阶段达到峰值(图6A); GA_4 与IAA含量均呈现先降低后升高的变化趋势,前者在S1阶段达到峰值(图6B),后者在S5阶段达到峰值(图6C);ABA含量呈现下降-上升-下降-上升的变化趋势,在S5阶段达到峰值(图6D)。对比不同阶段4种植物激素含量发现(图6E), GA_3 /ABA和IAA/ABA的变化曲线相似,均呈上升-下降-上升-下降的“M”型,且拐点均在S2和S4阶段; GA_4 /ABA的变化曲线呈下降-上升-下降的趋势,且拐点在S4阶段。结果表明,各激素比值在种子萌发过程中发生较明显变化,其中,S2和S4阶段是滇重楼种子内源激素作用的主要阶段,也是种子萌发的关键阶段。

2.5 滇重楼种子生理生化指标相关性分析

经相关性分析发现(图7),胚率与SOD活性呈



组内不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异。

Different lowercase letters within the groups indicated significant differences at the $P < 0.05$ level.

图5 滇重楼种子不同萌发阶段相关酶活性

Fig.5 Related enzyme activities of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seeds at different germination stages

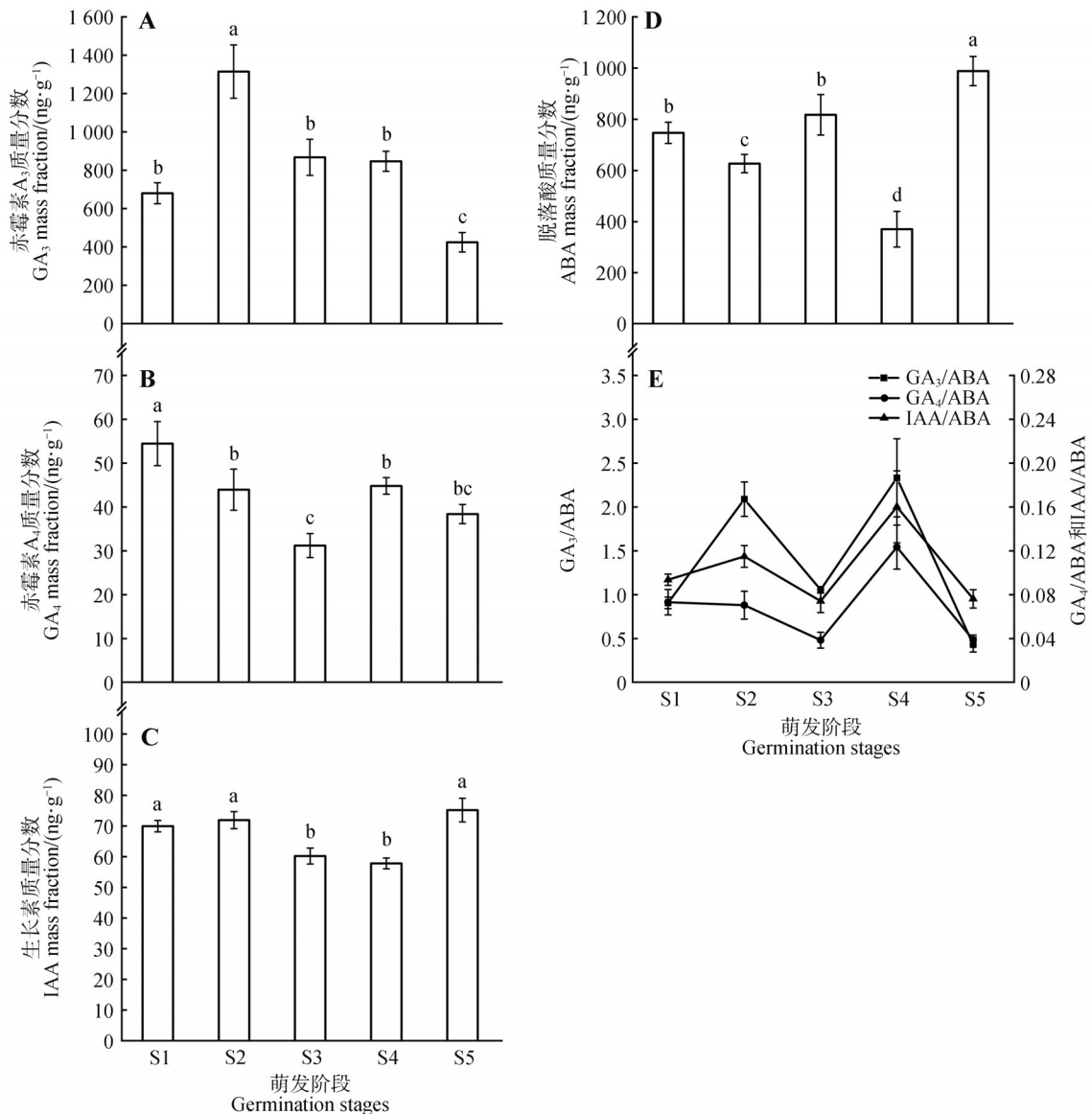
极显著正相关,与G-6-PDH活性和游离氨基酸含量呈极显著负相关,与GA₃和淀粉含量呈显著负相关;SOD活性和ABA含量呈显著正相关,与G-6-PDH活性呈极显著负相关,与GA₃、淀粉和游离氨基酸含量呈显著负相关;POD活性与GA₄含量呈显著负相关;CAT活性与GA₃含量呈极显著正相关,与G-6-PDH活性与MDH活性呈显著正相关,与ABA含量呈显著负相关;MDH活性与GA₃含量呈显著正相关;G-6-PDH活性与淀粉和游离氨基酸含量呈极显著正相关,与GA₃含量呈显著正相关;GA₄含量与淀粉和游离氨基酸含量呈极显著正

相关;IAA含量与ABA含量呈显著正相关,与可溶性糖含量呈极显著负相关;ABA含量与可溶性糖含量呈显著负相关;淀粉含量和游离氨基酸含量呈极显著正相关。

3 讨论

3.1 种胚形态与滇重楼种子休眠解除的关系

滇重楼种子的休眠类型属于形态生理休眠,赖佳辉等^[5]对重楼种子休眠机理的研究表明,种胚结构不完整是导致滇重楼种子休眠的主要原因之一。本研究使用解剖学手段观测种胚,发现胚体



组内不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平上有显著差异。

Different lowercase letters within the groups indicated significant differences at the $P<0.05$ level.

图6 滇重楼种子不同萌发阶段内源激素质量分数及比值

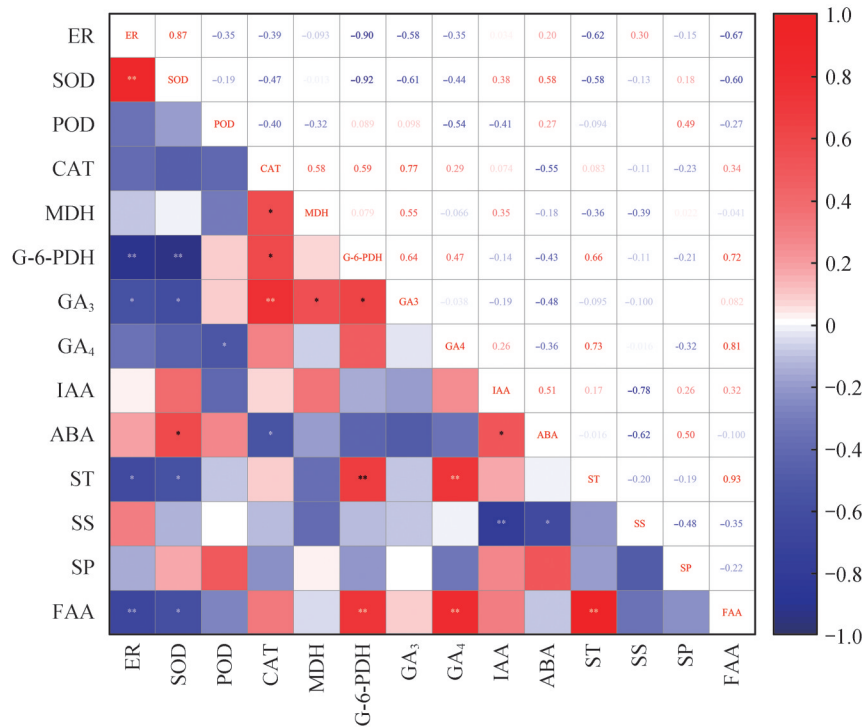
Fig.6 Endogenous hormone mass fraction and ratio of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seeds at different germination stages

较小,未发育完全,属于形态休眠。胚由球形胚起始,逐渐发育伸长直至出芽,胚率由 $(8.66\pm 1.01)\%$ 增加至 $(66.50\pm 6.22)\%$ (图2A),且在S3阶段显著提高,表明S3阶段是种子萌发的重要时间节点。对不同萌发阶段的种子进行种子活力染色(图1B),结果显示,胚及周围区域的胚乳染色较深,表明其细胞代谢活动极为旺盛,且S1~S4阶段胚的着色程度越来越深,滇重楼种子的活力也愈来愈高,具备了萌发潜力,同时结合后续生理生化指标的动态变化可推测出种子具有生理休眠特

性。由此可知,滇重楼种子的休眠类型属于形态生理休眠。

3.2 营养物质代谢与滇重楼种子休眠解除的关系

子叶尚未突出种皮的种子无法直接从外界获得能量,需通过分解自身的储能物质来提供能量,营养物质含量的动态变化可直接反映种子内代谢运动和呼吸作用强弱^[19]。本研究中,利用染色法对主要营养物质进行染色(图3),观察到滇重楼种子内主要营养物质是淀粉,其次是脂肪。淀粉和



*. 在 $P<0.05$ 水平上显著相关, ** 在 $P<0.01$ 水平上极显著相关。ER. 胚率; SOD. 超氧化物歧化酶; POD. 过氧化物酶; CAT. 过氧化氢酶; MDH. 苹果酸脱氢酶; G-6-PDH. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶; GA₃. 赤霉素 A₃; GA₄. 赤霉素 A₄; IAA. 生长素; ABA. 脱落酸; ST. 淀粉; SS. 可溶性糖; SP. 可溶性蛋白; FAA. 游离氨基酸。

* indicated significant correlation at the $P<0.05$ level, and ** indicated extremely significant correlation at the $P<0.01$ level. ER. Embryo rate; SOD. Superoxide dismutase; POD. Peroxidase; CAT. Catalase; MDH. Malate dehydrogenase; G-6-PDH. Glucose-6-phosphate dehydrogenase; GA₃. Gibberellin A₃; GA₄. Gibberellin A₄; IAA. Indole-3-acetic acid; ABA. Abscisic acid; ST. Starch; SS. Soluble sugar; SP. Soluble protein; FAA. Free amino acids.

图7 滇重楼种子萌发阶段各指标的相关性矩阵

Fig.7 Correlation matrix diagram of each index of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seeds at different germination stages

可溶性糖是种子的快速供能物质,其主要利用时期在种子吸水阶段^[20]。陆沁怡等^[21]发现芍药(*Paeonia lactiflora*)种子萌发过程中可溶性糖含量呈现下降-上升-下降的趋势,本研究也得到类似结果。萌发初期,淀粉含量急剧下降,随着胚的生长分化,需要消耗大量能量,造成胚乳中的可溶性糖含量快速降低,进而促使胚乳内营养物质加速分解,从而使可溶性糖含量在种子萌发中期快速升高,在S4阶段达到最高,表明S4阶段种子已处于萌动状态。可溶性糖含量的高低取决于营养物质分解速度和呼吸代谢强弱^[22],萌动状态下维持高可溶性糖含量可能是滇重楼种子萌发的关键。本研究发现,淀粉染色图与种子活力染色图的着色区域相反,种脐与胚及周围的活力高且淀粉含量低,这可能是由于种脐区域的糖转运蛋白的特异性表达调控淀粉等大分子营养物质流向种胚, Li

等^[23]发现 *SHORT-ROOT(SHR)* 在种脐区域特异性表达,与多个下游 MYBs 家族转录因子形成层级调控,协同调节种脐转运蛋白特异性表达。通过进一步分析发现,胚率与淀粉含量呈显著负相关,表明淀粉分解代谢为种胚发育伸长提供了必要的能量与物质基础。Zheng 等^[24]利用转录组学结合代谢组学方法分析了滇重楼种子萌发过程中的差异代谢通路,发现不论是种子吸水阶段、胚根突破种皮阶段,还是胚根伸长阶段,均围绕着碳水化合物代谢、运输过程展开,合理推测滇重楼种子萌发过程中的主要代谢通路是碳水化合物分解代谢通路,淀粉的分解是促进滇重楼种子萌发的重要因素。

蛋白质是一类重要营养物质,是所有生命的物质基础。在种子萌发过程中,可溶性蛋白在种子萌发过程中有2个作用:一是可溶性蛋白在酶的

作用下水解,通过释放氨基酸或小分子肽,为种子呼吸代谢提供氮源、胚分化所需的结构蛋白及活化各类生理代谢活动的酶^[25-26];二是可溶性蛋白脱氨后转化,为糖类提供种胚发育所需的能量^[27],而游离氨基酸含量变化是评价种子蛋白质代谢水平的重要指标^[28]。岳贺伟等^[29]对黄精(*Polygonatum sibiricum*)种子进行层积处理,测定游离氨基酸含量等指标,结果发现,在萌发前期各指标均呈下降趋势,认为其是破除休眠的关键,本研究中滇重楼种子萌发初期游离氨基酸含量下降的结果与之相近。在胚根突破种皮的关键时期,胚根发育与组织构成急需大量结构蛋白和呼吸代谢相关酶的参与,所以游离氨基酸不断合成蛋白质,可溶性蛋白的含量呈上升趋势,游离氨基酸含量呈下降趋势。相关性分析显示,胚率与游离氨基酸含量呈极显著负相关,表明游离氨基酸通过促进胚根发育和结构蛋白形成,进而提高胚率,促进萌发。

3.3 酶活性与滇重楼种子休眠解除的关系

活性氧是种子发芽过程的关键调节剂,在种子发芽过程中维持稳态可以保证发芽进程正常进行^[30],高ROS会导致质膜过氧化损伤,种子活性受损而影响萌发,而SOD可催化超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)歧化为 H_2O_2 ,CAT和POD可将 H_2O_2 分解为 H_2O ,因此,SOD、CAT和POD构成了对抗ROS的第一道防线^[31-32]。一般认为,种子内部较高的SOD活性有利于清除活性氧,为种子萌发创造良好条件^[33]。在萌发初期SOD活性缓慢提高,在出芽后达到峰值,与油菜籽(*Brassica campestris*)^[34]萌发过程中的SOD活性逐渐增加的变化趋势相似,且SOD活性与胚率呈极显著正相关,原因在于SOD通过维持氧化平衡,调控与细胞分化有关的信号通路和基因表达,保证胚的正常发育,从而提高胚率^[35]。李昭玲等^[18]在变温层积处理华重楼(*Paris polyphylla* var. *chinensis*)种子时发现,POD活性在由休眠状态转为破除休眠状态时达到最高值,认为是POD与氧化还原酶发生氧化还原反应,将NADPH氧化为 $NADP^+$ 底物,从而促进磷酸戊糖途径(PPP)的顺利进行,有利于种子的休眠解除,本研究结果与之相似,POD活性在S3阶段达到最高,表明此阶段种子已由休眠状态转为破除休眠状态。萌发过程中CAT活性维持一定波动,且CAT活性与MDH和G-6-PDH活性呈显著正相关,表明CAT通过促进呼吸代谢,从而参与种子萌发。

植物中存在多种呼吸代谢途径,因此代谢途径中关键酶活性的变化可以反映植物的代谢活动,MDH和G-6-PDH分别为三羧酸循环呼吸代谢途径(TCA)和PPP的关键限速酶^[36]。苏海兰等^[37]对云南重楼种子出苗前的酶活性检测显示,出苗前MDH和G-6-PDH活性同时下降,表明云南重楼种子萌发前期代谢以TCA和PPP代谢途径为主。本研究中,滇重楼种子萌发过程中MDH活性无明显波动,G-6-PDH活性呈下降趋势,表示TCA循环可能维持其稳定代谢,而PPP代谢途径逐渐被削弱,可能转化为其他途径(如水解途径),这一转化机制需进一步研究验证。

3.4 植物激素含量与滇重楼种子休眠解除的关系

植物激素通过信号转导对各种生理变化作出反应,参与调控种子休眠和萌发。一般认为,ABA和GA的合成与分解的动态平衡是种子发芽的关键^[38]。GA通过提高大分子物质水解酶的活性,从而打破种子休眠^[39],ABA通过抑制水解酶活性来诱导和维持种子休眠^[40]。陆沁怡等^[21]在用 GA_3 处理芍药种子时发现, GA_3 处理能提高贮藏物质分解酶的活性。本研究发现,滇重楼种子萌发前期, GA_3 含量显著上升,与淀粉的分解趋势相似,且 GA_3 含量与MDH和G-6-PDH活性呈显著正相关,表明 GA_3 通过增强细胞呼吸代谢速率而提高淀粉水解酶活性来打破休眠,在萌发中后期, GA_3 含量下降,可能是ABA含量增加,通过调控激素代谢进程,对 GA_3 的合成或积累产生了抑制作用。浦梅^[11]研究滇重楼种子萌发过程发现,在发芽阶段,ABA含量略微增加,且已萌动种子的ABA含量比未萌动种子的ABA含量高。本研究中,ABA含量在出芽阶段增加,与浦梅的研究结果相似,且ABA含量与IAA含量呈显著正相关,可能与下胚轴发育与伸长有关,出芽阶段ABA含量与SOD活性呈显著正相关,此时SOD活性提高,种子抵抗氧化应激能力增强,从而增强种子存活能力。研究^[24]表明, GA_4 具有很强的生物活性,可能起到打破种子休眠的作用。本研究中, GA_4 含量与淀粉和游离氨基酸含量呈显著正相关,表明 GA_4 通过影响营养物质代谢,进而调控种子休眠解除。IAA可以由色氨酸在胚或胚乳中合成,并通过极性生长素定向运输至胚根的分生组织中,参与植物细胞分裂及伸长的调控^[41]。研究^[42]表明,生长素可诱导种子下胚

轴伸长,促使根系生长。本研究中,IAA含量在萌发初期与出芽阶段较高,且IAA含量与可溶性糖含量呈极显著负相关,这是因为IAA极易与PGP家族的P-糖蛋白转运体结合后失活,从细胞中输出。这种负相关关系对种子萌发有着重要意义:一方面,适量的IAA能够刺激胚根伸长;另一方面,当IAA含量过高时,其与可溶性糖的结合可以有效避免因IAA过量引发的生长异常^[41]。

激素不是孤立发挥作用,而是通过协同或拮抗作用相互关联。种子休眠的释放主要是通过GA/ABA信号的改变,致使细胞壁扩张,从而允许胚根伸长^[12]。柳笛等^[43]发现,IAA/ABA、GA₃/ABA的提高均对种子休眠的解除有促进作用。本研究中,IAA/ABA与GA₃/ABA变化趋势一致,在S2和S4阶段均升高,而GA₄/ABA在S4阶段升高,表明S2阶段是种子解除休眠的重要阶段,S4阶段是种子出芽的重要阶段,而IAA/ABA与GA₃/ABA是调控滇重楼种子打破休眠的重要因素。

参 考 文 献

- [1] 李世昌,彭寿杰,王一博,等.重楼本草考证[J].中成
药,2023,45(8):2662-2670.
LI S C, PENG S J, WANG Y B, *et al.* Textual research on
medicinal plants of the genus *Paris* [J]. Chinese Tradition-
al Patent Medicine, 2023, 45(8): 2662-2670.
- [2] 王宇飞,江媛,杨成金,等.滇重楼化学成分、药理作用
和临床应用研究进展[J].中草药,2022,53(23):7633-
7648.
WANG Y F, JIANG Y, YANG C J, *et al.* Research prog-
ress on chemical constituents, pharmacological activities,
and clinical applications of *Paris polyphylla* var. *yunna-
nanensis* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022,
53(23): 7633-7648.
- [3] 张保得,蔡吹,谢准,等.气候变化情景下滇重楼在中国的
适生性分析[J].植物遗传资源学报,2024,25(9):
1601-1612.
ZHANG B D, CAI C, XIE Z, *et al.* Ecological suitability of
Paris polyphylla var. *yunnanensis* in China under the situa-
tion of climate change [J]. Journal of Plant Genetic Re-
sources, 2024, 25(9): 1601-1612.
- [4] 黄娟,王涛,徐德,等.重楼种子繁殖研究进展[J].四川
农业科技,2024(5):35-38.
HUANG J, WANG T, XU D, *et al.* Research progress on
seed reproduction of *Paris polyphylla* [J]. Sichuan Agricul-
tural Science and Technology, 2024(5): 35-38.
- [5] 赖佳辉,赵艳丽,蔡吹,等.重楼属植物种子休眠特性的
研究进展[J].分子植物育种, (2023-09-12) [2024-12-
19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230911.1523.002.html>.
- LAI J H, ZHAO Y L, CAI C, *et al.* Research progress on
seed dormancy characteristics of *Paris* L. [J]. Molecular
Plant Breeding, (2023-09-12) [2024-12-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230911.1523.002.html>.
- [6] 陈疏影,尹品训,杨艳琼,等.变温层积对解除滇重楼种
子休眠及其内源激素变化的研究[J].中草药,2011,
42(4):793-795.
CHEN S Y, YIN P X, YANG Y Q, *et al.* Rule of breaking
Paris polyphylla var. *yunnanensis* seed dormancy under
fluctuating temperature stratification and content changes
of endogenous hormone [J]. Chinese Traditional and Herb-
al Drugs, 2011, 42(4): 793-795.
- [7] 汪佳维,王华磊,赵致,等.不同试剂及温度对解除滇重
楼种子休眠的影响[J].河南农业科学,2020,49(3):
47-53.
WANG J W, WANG H L, ZHAO Z, *et al.* Effects of differ-
ent reagents and temperature on removing seed dormancy
of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. Journal of Henan
Agricultural Sciences, 2020, 49(3): 47-53.
- [8] 孟繁蕴,汪丽娅,张文生,等.滇重楼种胚休眠和发育过程
中内源激素变化的研究[J].中医药学报,2006,34(4):
36-38.
MENG F Y, WANG L Y, ZHANG W S, *et al.* Dynamic
changes of several endohormones in embryogenic cell of
Paris polyphylla var. *yunnanensis* during dormancy and dif-
ferent development stages [J]. Acta Chinese Medicine and
Pharmacology, 2006, 34(4): 36-38.
- [9] 黄玮,孟繁蕴,张文生,等.滇重楼种子休眠机理研究[J].
中国农学通报,2008,24(12):242-246.
HUANG W, MENG F Y, ZHANG W S, *et al.* Study on
seed dormancy mechanism of *Paris polyphylla* var. *yunna-
nanensis* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008,
24(12): 242-246.
- [10] 浦梅,孙永玉,高成杰,等.滇重楼种子内源激素含量
与种胚长度和萌发的关系[J].林业科学研究,2016,
29(2):268-273.
PU M, SUN Y Y, GAO C J, *et al.* Relationship between
endogenous hormone content and embryo growth and the
seed germination of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J].
Forest Research, 2016, 29(2): 268-273.
- [11] 浦梅.滇重楼种子发芽过程中生理生化特征研究[D].
北京:中国林业科学研究院,2016.
PU M. Study on the physiological and biochemical char-
acteristic during the seed germination of *Paris polyphyll-
la* var. *yunnanensis* [D]. Beijing: Chinese Academy of

- Forestry, 2016.
- [12] FINKELSTEIN R, REEVES W, ARIIZUMI T, *et al.* Molecular aspects of seed dormancy [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59(1):387-415.
- [13] 任艳君, 郭晓瑞, 于子焯, 等. 变温层积不同阶段刺五加种子萌发生理及代谢特点 [J]. 植物研究, 2024, 44(4):576-589.
- REN Y J, GUO X R, YU Z X, *et al.* Characteristics of temperature stratification on germination physiology and metabolism of *Acanthopanax senticosus* seeds at different stages [J]. Bulletin of Botanical Research, 2024, 44(4):576-589.
- [14] 康亮, 卢覃培, 王德宝, 等. 七叶一枝花种子萌发过程中内源激素含量及酶活性变化研究 [J]. 广西植物, 2024, 44(6):1118-1128.
- KANG L, LU Q P, WANG D B, *et al.* Changes of endogenous hormone content and enzyme activities during seed germination of *Paris polyphylla* [J]. Guihaia, 2024, 44(6):1118-1128.
- [15] 张娟, 其乐木格, 段海婧, 等. 层积过程中羌活种子种胚形态及生理生化变化 [J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(1):61-68.
- ZHANG J, QI L M G, DUAN H J, *et al.* Embryo morphology and physiological and biochemical variations of *Notopterygium incisum* seeds during stratification [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2023, 32(1):61-68.
- [16] 苏海兰, 牛雨晴, 成建华, 等. 多花黄精种子生理后熟过程的生理变化及基因表达模式分析 [J]. 福建农业学报, 2024, 39(6):662-670.
- SU H L, NIU Y Q, CHENG J H, *et al.* Physiobiochemical changes and gene expressions of *Polygonatum cyrtone-ma* Hua seeds undergone post-ripening treatment [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2024, 39(6):662-670.
- [17] 管岳, 申文靖, 宋晓萌, 等. 巴尔鲁克山野扁桃种子萌发特性 [J]. 植物研究, 2024, 44(3):400-409.
- GUAN Y, SHEN W J, SONG X M, *et al.* Seed germination characteristics of *Amygdalus ledebouriana* in Barluk Mountain [J]. Bulletin of Botanical Research, 2024, 44(3):400-409.
- [18] 李昭玲, 童凯, 闫桑, 等. 变温层积过程中重楼种胚后熟生理生化的变化 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4):629-633.
- LI Z L, TONG K, YAN S, *et al.* Physiological and biochemical change of *Paris* seed in after-ripening during variable temperature stratification [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(4):629-633.
- [19] WATERS M T, LANGDALE J A. The making of a chloroplast [J]. The EMBO Journal, 2009, 28(19):2861-2873.
- [20] ZHAO M, ZHANG H X, YAN H, *et al.* Mobilization and role of starch, protein, and fat reserves during seed germination of six wild grassland species [J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9:234.
- [21] 陆沁怡, 沈永宝, 史锋厚. 芍药种胚发育及物质代谢的探究 [J]. 分子植物育种, (2022-05-18) [2024-12-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220518.1139.006.html>.
- LU Q Y, SHEN Y B, SHI F H. Study on embryo development and material metabolism of *Paeonia lactiflora* Pall. [J]. Molecular Plant Breeding, (2022-05-18) [2024-12-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220518.1139.006.html>.
- [22] 孙瑞敏, 王蕾, 王佳琪, 等. 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 R M, WANG L, WANG J Q, *et al.* The changes of nutrients in breaking seed physiological dormancy of *Fritillaria yuminensis* X. Z. Duan [J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(15):5143-5149.
- [23] LI M, LI Q F, LI S, *et al.* SHORT-ROOT specifically functions in the chalazal region to modulate assimilate partitioning into seeds [J]. The Plant Journal, 2024, 120(5):2031-2044.
- [24] ZHENG G W, LI W C, ZHANG S Z, *et al.* Multiomics strategies for decoding seed dormancy breakdown in *Paris polyphylla* [J]. BMC Plant Biology, 2023, 23(1):247.
- [25] LIU S Y, WANG W, LU H Y, *et al.* New perspectives on physiological, biochemical and bioactive components during germination of edible seeds: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 123:187-197.
- [26] 李玛, 王玲, 杨生超, 等. 滇重楼种子后熟期间生理生化变化的研究 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2015, 30(5):766-770.
- LI M, WANG L, YANG S C, *et al.* Physiological and biochemical changes during post-maturation of seeds in *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* [J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2015, 30(5):766-770.
- [27] 张春椿, 年慧慧, 李石清, 等. 激素加变温层积法处理南方红豆杉种子生理生化变化研究 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(10):2723-2726.
- ZHANG C C, NIAN H H, LI S Q, *et al.* Study on physiological changes of break dormancy of *Taxus mairei* (Lemee et Levl.) S.Y. Hu ex Liu seeds [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2012,

- 27(10):2723-2726.
- [28] TAKÁČ T, PECHAN T, ŠAMAJ J. Differential proteomics of plant development[J]. *Journal of Proteomics*, 2011, 74(5):577-588.
- [29] 岳贺伟, 李连珍, 王雨情, 等. IAA对黄精种子萌发及生理特性的影响[J]. *河南农业科学*, 2023, 52(3): 64-72.
- YUE H W, LI L Z, WANG Y Q, *et al.* Effect of IAA on seed germination and physiological characteristics of *Polygonatum sibiricum* Red.[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2023, 52(3):64-72.
- [30] BAILLY C. ROS in seed germination[M]//MITTLER R, VAN BREUSEGEM F. *Advances in Botanical Research: Vol.105*. [S.L.]: Academic Press, 2023:177-204.
- [31] XI D M, LIU W S, YANG G D, *et al.* Seed-specific over-expression of antioxidant genes in *Arabidopsis* enhances oxidative stress tolerance during germination and early seedling growth[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2010, 8(7):796-806.
- [32] 李玉杰, 刘少康, 周涛, 等. 盐胁迫对芝麻萌发过程中活性成分、抗氧化性及抗氧化酶活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(19):76-83.
- LI Y J, LIU S K, ZHOU T, *et al.* Effects of salt stress on active components, antioxidant capacity and antioxidant activity of sesame during germination [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(19):76-83.
- [33] BUETLER T M, KRAUSKOPF A, RUEGG U T. Role of superoxide as a signaling molecule[J]. *Physiology*, 2004, 19(3):120-123.
- [34] ZIELIŃSKI H, FRIAS J, PISKUŁA M K, *et al.* The effect of germination process on the superoxide dismutase-like activity and thiamine, riboflavin and mineral contents of rapeseeds[J]. *Food Chemistry*, 2006, 99(3):516-520.
- [35] 马旭俊, 朱大海. 植物超氧化物歧化酶(SOD)的研究进展[J]. *遗传*, 2003, 25(2):225-231.
- MA X J, ZHU D H. Functional roles of the plant superoxide dismutase [J]. *Hereditas (Beijing)*, 2003, 25(2): 225-231.
- [36] WANG S, SHEN Y B, BAO H P. Morphological, physiological and biochemical changes in *Magnolia zenii* Cheng seed during development [J]. *Physiologia Plantarum*, 2021, 172(4):2129-2141.
- [37] 苏海兰, 周先治, 李希, 等. 云南重楼种子萌发过程内源激素含量及酶活性变化研究[J]. *核农学报*, 2018, 32(1):141-149.
- SU H L, ZHOU X Z, LI X, *et al.* Dynamic changes of enzyme and endogenous of *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* seed during different stages of germination [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(1): 141-149.
- [38] LIU Z G, MA C Y, HOU L, *et al.* Exogenous SA affects rice seed germination under salt stress by regulating Na⁺/K⁺ balance and endogenous GAs and ABA homeostasis [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(6): 3293.
- [39] AYELE B T, OZGA J A, KUREPIN L V, *et al.* Developmental and embryo axis regulation of gibberellin biosynthesis during germination and young seedling growth of pea[J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(3):1267-1281.
- [40] 李振华. 烟草种子萌发的激素效应研究进展[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2013, 28(3):416-423.
- LI Z H. Advances in hormones during tobacco seed germination [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2013, 28(3):416-423.
- [41] WOLTERS H, JÜRGENS G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10(5): 305-317.
- [42] BAWA G, FENG L Y, CHEN G P, *et al.* Gibberellins and auxin regulate soybean hypocotyl elongation under low light and high-temperature interaction [J]. *Physiologia Plantarum*, 2020, 170(3):345-356.
- [43] 柳苗, 高捍东, 高燕, 等. 休眠解除过程中紫楠种子生理生化特征的变化[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2023, 47(2):9-17.
- LIU M, GAO H D, GAO Y, *et al.* Study on the physiological and biochemical changes of *Phoebe sheareri* seed during its dormancy breaking [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2023, 47(2): 9-17.