

种子呼吸检测方法及其应用研究进展

高 璐¹, 李香格¹, 祁亨年¹, 臧 影¹, 贾良权¹, 赵光武², 唐琦哲¹, 郑 雯^{1,2}

(1. 湖州师范学院 信息工程学院, 浙江 湖州 313000; 2. 浙江农林大学 现代农学院, 浙江 杭州 311300)

摘要: 种子呼吸反映了种子的多种内在属性和生理生化特征, 种子呼吸检测方法的进展对种子呼吸代谢研究具有重要意义。本文从种子呼吸检测方法及其应用 2 个方面进行了综述, 重点综述了小篮子法、瓦氏微量法、Clark 氧电极法、红外线二氧化碳分析仪法、氧传感技术检测法 (Q_2 技术) 和可调谐二极管激光吸收光谱 (TDLAS) 技术检测法等常用种子呼吸检测方法的工作原理、主要检测对象及操作方法, 总结了以上种子呼吸检测方法的优缺点及其适用范围。讨论了种子呼吸检测方法在种子呼吸代谢、种子储藏和种子活力测定等几个方面的研究应用, 重点阐述了种子呼吸检测技术与种子活力相关的研究进展。根据研究现状对种子呼吸相关检测方法及其研究和应用方向进行了展望: ①基于 TDLAS 技术等光学检测技术有望研制出灵敏度更高、操作更为简单的种子呼吸检测方法及装备; ②种子呼吸代谢及其影响因素研究有利于丰富和深入揭示种子呼吸代谢过程理论; ③开展种子呼吸指标和种子活力参数研究, 为探寻能够将种子呼吸强度作为有效判定种子活力指标提供重要参数支持。表 1 参 60

关键词: 种子; 种子呼吸检测方法; 呼吸代谢; 种子储藏; 种子活力

中图分类号: S330.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2022)05-1133-11

Advances in seed respiration detection and its application

GAO Lu¹, LI Xiangge¹, QI Hengnian¹, ZANG Ying¹, JIA Liangquan¹,
ZHAO Guangwu², TANG Qizhe¹, ZHENG Wen^{1,2}

(1. School of Information Engineering, Huzhou University, Huzhou 313000, Zhejiang, China; 2. College of Advanced Agricultural Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: Seed respiration reflects a variety of internal properties and physiological and biochemical characteristics of seeds. The development of seed respiration detection methods is of great significance to the study of seed respiration metabolism. The methods of seed respiration detection and their application were reviewed. The focus of the review included working principle, main detection objects and operation principle of common seed respiration detection methods, such as small-skep-method, Warburg trace method, Clark oxygen electrode method, infrared CO_2 analyzer method, oxygen sensing technology (Q_2) and tunable diode laser absorption spectroscopy (TDLAS). The advantages, disadvantages and applicable scope of the above seed respiration detection methods were summarized. Secondly, the research and application of seed respiration detection methods in seed respiration metabolism, seed storage and seed vigor determination were discussed, with emphasis on the research progress of the correlation between seed respiration detection technology and seed vigor. Finally, based on the research status, seed respiration detection methods, their research and

收稿日期: 2021-11-15; 修回日期: 2022-04-26

基金项目: 湖州市公益性应用研究项目 (2021GZ30, 2021GZ23); 浙江省教育厅一般科研项目 (Y201941626); 国家自然科学基金资助项目 (31701512)

作者简介: 高璐 (ORCID: 0000-0002-4275-2054), 从事红外光谱技术和种子活力研究。E-mail: 02430@zjhu.edu.cn。
通信作者: 贾良权 (ORCID: 0000-0003-3890-8965), 副教授, 博士, 从事种子活力快速无损检测研究。
E-mail: 02426@zjhu.edu.cn。赵光武 (ORCID: 0000-0001-5646-9922), 教授, 博士, 从事种子科学与玉米遗传育种研究。E-mail: gwuzhao@126.com

application direction were prospected: (1) It is expected to develop a seed respiration detection method and equipment with higher sensitivity and simpler operation based on optical detection technology such as TDLAS. (2) The study of seed respiration metabolism and its influencing factors is helpful to enrich and deeply reveal the theory of seed respiration metabolism. (3) Research on seed respiration index and seed vigor parameters should be carried out to provide important parameters to explore the possibility of using seed respiration intensity as an effective indicator to judge seed vigor. [Ch, 1 tab. 60 ref.]

Key words: seed; seed respiration detection method; respiratory metabolism; seed storage; seed vigor

种子的呼吸作用是指在酶的参与下将种子本身的储藏物质进行一系列的氧化分解,同时释放二氧化碳、水以及能量的过程,是种子萌发过程中不可或缺的能量来源,其变化会直接影响种子的生理现象。种子的呼吸强度又称呼吸速率是衡量其呼吸作用强弱的重要生理指标^[1],反映了种子的活力与代谢等生理现象的强弱,与种子的储藏存在密切关系。呼吸代谢途径的顺利启动是种子萌发并健康成长为幼苗的关键因素,对植物的后续生长发育具有重要影响。储藏过程中种子的呼吸作用会改变种子的质量和品质,影响种子活力,能否控制好种子呼吸是关系种子储藏成败的主要问题^[2],因此,对种子呼吸过程进行精准检测十分必要。本研究对种子呼吸检测方法及其原理进行了综述,分析了各种检测方法的优点与存在的问题,讨论了种子呼吸检测方法在种子呼吸代谢、种子储藏和种子活力等方面的研究与应用。

1 种子呼吸检测方法

呼吸强度是种子生命活动最重要的指标之一,有效检测种子呼吸强度是研究种子呼吸作用的重要前提。种子呼吸消耗氧气(O_2),释放二氧化碳(CO_2),所以氧气消耗量或者 CO_2 释放量可以在一定程度上反映种子的呼吸强度。检测种子呼吸耗氧量的方法有瓦氏微量法、Clark 氧电极法和氧传感技术检测法(Q2 技术)等;检测种子呼吸 CO_2 释放量的方法有小篮子法、红外线 CO_2 分析仪法和可调谐二极管激光吸收光谱(TDLAS)技术检测法等。种子呼吸检测方法向着检测速度快、效率高、重现性好的方向发展,并将成为研究热点。

1.1 小篮子法

小篮子法主要通过测量种子在密闭容器中呼吸产生 CO_2 增加量来测定种子呼吸的强度。将种子放入小篮子中,密封广口瓶,利用饱和碱液氢氧化钡 $[Ba(OH)_2]$ 吸收种子呼吸过程中产生的 CO_2 。待测试结束后,再用草酸溶液滴定残留的 $Ba(OH)_2$,记录消耗的草酸溶液量为 V_1 ,另取空白组滴定记录草酸溶液量为 V_0 。根据呼吸过程中 $Ba(OH)_2$ 减少量可定量测出种子在整个检测过程中 CO_2 的增加量。基于小篮子法测定种子呼吸强度的计算公式为:种子呼吸强度($mg \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)= $(V_0 - V_1)/(mt)$,其中: m 为种子鲜质量(g), t 为测定时间(h)。

在不同激素、药物和生长环境下,种子萌发过程的呼吸作用会出现很大差异,利用小篮子法能够直观地研究种子在不同外界环境下呼吸作用的变化情况。张璇等^[3]利用小篮子法观测到适当浓度的赤霉素浸种可以提高香果树 *Emmenopterys henryi* 种子的呼吸速率;李佳等^[4]利用小篮子法测定经不同浓度赤霉素处理后的杜仲 *Eucommia ulmoides* 种子的呼吸强度,发现随着赤霉素浓度上升,种子的呼吸速率下降;方能虎等^[5]采用小篮子法对水稻 *Oryza sativa* 种子进行呼吸检测,观察到种子萌发初期稀土元素对其呼吸速率动态变化具有影响;杨雪鹏等^[6]利用小篮子法研究不同浓度的维生素吡咯喹啉酮对水芹 *Oenanthe javanica* 种子萌发的影响。上述研究表明:利用小篮子法测定种子呼吸,能够简单高效地获取不同浸种环境下种子的呼吸变化规律,为不同环境因素对种子萌发生理效应的探索奠定了基础。

小篮子法操作简便,但不能完全反映种子呼吸 CO_2 浓度的动态变化过程,难以避免外界 CO_2 的侵入和干扰,反应不敏感,在一定程度上影响了种子呼吸强度检测的精度,且计算相对复杂。李海霞等^[7]对此做了改进,以利于小篮子法的推广。

1.2 瓦氏微量法

瓦氏呼吸仪(Warburg Respirometer)是测定生物因新陈代谢而产生的气压变化所用的装置。其工作原

理为在恒温、恒体积的密闭系统中, 用氢氧化钾 (KOH) 溶液吸收 CO_2 使得气体压力降低, 利用测压计显示压力值, 从而得到种子呼吸过程中 O_2 消耗量。利用瓦氏呼吸仪测量种子呼吸时, 首先将种子称量后放入反应瓶中, 并将反应瓶放入恒温控制器。实验开始后调节 U 型测压管底部的旋钮, 使右侧闭管内测压液的液面保持在 $h=150\text{ mm}$, 读取左侧开管液面高度值。关闭三通活塞使压力计与反应瓶相通, 待种子呼吸一段时间后, 将右侧液面仍调节至原处, 并记录左侧液面高度, 然后关闭测压管。瓦氏微量法具有微量和多组测定的特点, 灵敏度较高, 压力计上只要有 1 mm 的测压液水柱变化就可以进行测定, 比小篮子法的灵敏度和精确度好。

吕洪飞等^[8]利用瓦氏呼吸仪对杉木 *Cunninghamia lanceolata* 不同无性系小孢子叶球的呼吸强度进行了测量, 比较不育株与可育株小孢子叶球及其子叶的呼吸强度, 并将所测结果与 Clark 氧电极法进行比较, 2 种方法所测结果趋势一致。黄真池等^[9]参照黄学林等^[10]的瓦氏微量法, 使用 Shw-2 型呼吸仪在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下测定不同活力等级的白菜 *Brassica pekinensis* 种子在不同吸水时间下的呼吸速率, 发现了高活力种子和中等活力种子在吸水初期 ($1\sim 12\text{ h}$) 呼吸速率相差不明显, 低活力种子的呼吸速率在吸水前 4 h 明显低于前两者, 但随着吸水时间延长, 低活力种子的呼吸速率大小与高、中等级活力种子的呼吸速率逐渐接近。王亚文等^[11]利用瓦氏呼吸仪测定在暗反应与光反应条件下黑豆 *Glycine max* 种子萌发时产生 CO_2 和消耗 O_2 之间的变化关系, 发现黑豆种子的呼吸速率变化符合“S”形曲线, 存在明显的呼吸滞缓期。

利用瓦氏呼吸仪测定种子呼吸强度在一定程度上提高了测量的灵敏度和准确性。需要注意的是在瓦氏实验过程中需要保持温度恒定, 进行温度校准, 并尽可能采用小的呼吸室。为了避免瓦氏呼吸仪中压力和温度对呼吸室的容积产生影响, 瓦氏微量法要求所取样品体积小, 因此, 难以用于大粒种子呼吸强度的测量。此外, Gilson 差分呼吸仪和 Warburg 呼吸计根据呼吸作用产生的压力变化测得种子的呼吸速率, 也属于瓦氏微量法, 但目前 Gilson 差分呼吸仪在种子呼吸检测领域应用较少。

1.3 Clark 氧电极法

Clark 氧电极 (Clark oxygen electrode) 是一种极谱电极, 最早用于测定水溶液中溶解氧的含量, 在 20 世纪 30 年代就有人利用裸露的银-铂电极研究藻类的光合作用。CLARK^[12]在 1956 年提出薄膜氧电极, 1983 年, 日本学者首次采用微机械加工技术将氧电极微型化, 使得测氧技术更加简便稳定^[13]。Clark 氧电极一般是用银作阳极, 铂作阴极, 加上一层氧分子可以通过但液体不能通过的薄膜以防止电极被污染, 充以氯化钾 (KCl) 作为电解液。2 个电极之间加上 0.07 V 左右的恒定电压, 在极化电压及温度恒定的条件下, 将扩散电流的大小作为溶解氧定量测定的基础, 即电流大小反应溶解氧含量。Clark 氧电极具有反应快、灵敏度高、可连续测量、能够记录 O_2 的动态变化过程等优点, 因此常用于研究植物根系、芽、种子、果实、叶片等组织的呼吸速率和耗氧情况, 分析糖酵解、三羧酸循环等呼吸代谢途径, 从而研究植物组织的休眠和休眠解除等变化过程。

线粒体与种子呼吸直接相关, 是细胞进行三羧酸循环和生物氧化的场所^[14-15]。BENAMAR 等^[16]在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下用校准氧电极检测种子碎片和线粒体耗氧量, 证实了线粒体功能与种子品质之间具有相关性。王伟青等^[17]利用 Clark 氧电极分别测定黄皮 *Clausena lansium* 种子胚轴、子叶和线粒体的耗氧速率, 研究黄皮种子的脱水敏感性与种子呼吸速率显著降低的关系。陶宗娅等^[18]采用 Clark 氧电极测定大豆 *Glycine max* 和豌豆 *Pisum sativum* 种子子叶和去子叶胚的耗氧量, 研究低温吸胀对种子呼吸代谢的影响。

Clark 氧电极法实现了种子呼吸的连续测量, 提高了测量精度和灵敏度, 但该方法对温度变化较为敏感, 在测定中需要维持温度恒定。除此之外, 测定前需要先从种胚中提取和纯化线粒体, 操作方法较为繁琐, 且需保持良好的线粒体结构不被其他细胞器污染, 对操作要求较高。

1.4 红外线 CO_2 分析仪法

20 世纪 50 年代, 为了克服传统气体测压方法操作复杂、难以实现自动化等缺点, 利用 CO_2 气体能够强烈吸收红外线特定波段能量的特点, 设计制造了红外线 CO_2 分析仪 (Infrared CO_2 Analyzer)^[19], 其工作原理为: 由光源发出的红外线经反射镜分成 2 束能量相等的平行光束, 分别通过参比气室与分析气室 2 个气室。由于气体吸收红外线能量, 使得原来能量相等的 2 束红外线产生了能量差, 被电容检测器接收后转变成 1 个电信号, 从而间接测量出待测 CO_2 的浓度。红外线 CO_2 分析仪具有操作简单, 反应灵

敏, 读数直观, 数据可存储等优点, 已被国内外学者广泛应用于各种农业和气体监测等领域^[20-21]。

诸多学者利用红外线 CO₂ 分析仪测定种子呼吸强度, 探究种子呼吸与其萌发过程之间的关系, 发现了很多重要的呼吸现象。如陈润政等^[22]利用 FQ-W-002 型红外线 CO₂ 分析仪对花生 *Arachis hypogaea* 种子呼吸强度进行了研究, 证实了种子呼吸强度与其生活力的密切相关。陈禅友等^[23]使用 GXH-3010E 型便携式红外线 CO₂ 分析仪测定黄秋葵 *Hibiscus esculentus* 种子在萌发期间的呼吸速率, 发现其呼吸速率变化曲线符合“快—慢—快”的规律, 并且发芽率高的种子比发芽率低的种子呼吸速率更高。刘美^[24]利用 GXH-305 型便携式红外线 CO₂ 分析仪测量不同温度条件下小麦‘山农 17’ *Triticum aestivum* ‘Shannong 17’ 种子萌发期间呼吸速率变化, 证明了温度对种子的萌发进程具有重要影响, 温度过高或过低均不利于种子萌发。

与小篮子法和瓦氏呼吸仪相比, 利用红外线 CO₂ 分析仪测定种子呼吸强度, 精度较高, 能够在一定程度上减少人为干涉, 提高种子呼吸强度测量的准确度。目前, 国内红外线 CO₂ 分析仪多是进口仪器, 价格较为昂贵, 且在测量过程中环境温度变化会影响红外光源的稳定, 直接影响测量结果。

1.5 氧传感技术检测法 (Q2 技术)

氧传感技术 (oxygen sensing technology) 检测法是在密闭环境中, 通过测量种子萌发过程中氧气的消耗情况来检测种子呼吸强度, 由荷兰 ASTEC Global 公司开发。该技术基于荧光猝灭原理, 由氧传感检测仪向含有荧光材料的种子萌发试管中释放蓝光, 蓝光被荧光物质吸收并发出红光返回传感器。O₂ 分子可以消耗红光能量 (即猝灭效应)。当种子萌发消耗氧气时, 试管内 O₂ 浓度降低, 返回的红光随之增强, 所以红光的强度与 O₂ 分子的浓度成反比。在测量过程中, 操作软件会根据 O₂ 浓度和时间自动绘制成耗氧曲线, 测定种子呼吸时消耗 O₂ 的浓度, 得到种子呼吸强度。根据耗氧曲线的特征, 设定不同的氧代谢值, 通过种子萌发启动时间 (IMT)、萌发 O₂ 消耗速率 (OMR)、临界 O₂ 压强 (COP)、理论萌发时间 (RGT) 和理论萌发率 (RGR) 等值, 快速区分不同活力种子。

诸多学者对不同植物种子进行测量, 分析了氧传感技术测定种子呼吸的原理、测定方法和测定结果, 取得了较多研究成果。陈能阜等^[25]利用氧传感技术测定了番茄 *Solanum lycopersicum*、辣椒 *Capsicum annuum*、黄瓜 *Cucumis sativus*、茄 *Solanum melongena*、杉木和马尾松 *Pinus massoniana* 等 6 种植物种子耗氧情况, 发现不同种类、活力等级相同的种子, 其耗氧曲线形状类似。利用耗氧曲线分析了 IMT、OMR、COP 和 RGT 等参数, 全面分析了种子 O₂ 消耗曲线的特征。陈合云^[26]选用浙江省主栽的籼稻和粳稻各 20 个品种, 通过室内标准发芽试验、田间出苗试验和氧传感检测试验, 确定了适用于常规籼稻种子和粳稻种子最佳氧传感指标分别为 RGR 和 OMR, 并且基于氧传感技术研究了经处理后种子活力的变化情况, 表明氧传感技术测定种子呼吸可以有效地将老化处理、未处理与引发处理的种子区分开。

氧传感技术是集生物技术与信息技术于一体的自动化测定种子呼吸耗氧能力的新技术, 目前已经被应用于多种类型种子的活力水平测定^[27-28]。该方法可以测量单粒种子在萌发过程中的呼吸速率, 然而该方法需要对种子进行萌发, 属于有损检测, 检测时间较长, 需要每间隔 30 min 或 1 h 对种子呼吸耗氧数据进行 1 次采样, 无法展示种子耗氧曲线的细节。

1.6 TDLAS 技术检测法

可调谐二极管激光吸收光谱技术 (tunable diode laser absorption spectroscopy, TDLAS) 利用激光器发出的光被待测气体选择性吸收来测量气体的浓度。HINKLEY^[29]和 REID 等^[30]在 20 世纪中期最早提出通过吸收光谱来检测气体浓度。1981 年, REID 等^[31]利用波长调制技术采集数据, 最终得到了和气体浓度成正比的二次谐波表达式, 从而推动了 TDLAS 技术向高精度气体浓度检测的研究方向发展。由于 TDLAS 技术目前已经能够达到 10⁻⁹ 级别甚至 10⁻¹² 级别的检测限, 因此, 很多学者利用 TDLAS 技术检测 CO₂ 的浓度^[32-33]。目前, TDLAS 技术在农业领域的研究主要包括: 土地排放的气体浓度和通量的检测^[34]、植物叶片水分蒸腾速率的测量^[35]、农产品运输冷藏车内 CO₂ 浓度的检测^[36]等方面, 而对种子呼吸检测的研究较少。种子代谢产物成为种子活力检测的新思路^[37]。

贾良权等^[38]基于 TDLAS 技术自主搭建了一套种子呼吸检测系统。相较于近红外光谱技术、高光谱技术和 X 光谱技术, 该系统检测成本较低, 能够反演出水稻和玉米 *Zea mays* 种子呼吸过程中产生的

CO₂ 浓度曲线。通过与发芽试验数据进行相关性分析，证明种子呼吸强度与种子活力等级的之间存在高度相关性。从水稻和玉米等种子呼吸与活力实验结果来看，TDLAS 技术可以对种子呼吸强度进行连续实时的监测，检测精度可以达到 10⁻⁶。通过优化设计光路 and 选择合适波长，可以进一步提高检测精度，实时监测单粒种子的呼吸情况。可见该方法具有较广阔的发展前景。此外，理论上 TDLAS 技术既可以检测 CO₂，也可以检测 O₂，因此，该方法也可以通过测定耗氧量来检测种子的呼吸强度，但在实际测量时参数选择会直接影响最终检测结果，选择实验参数的依据仍有待完善。

表 1 归纳了上述几种种子呼吸检测方法的原理及优缺点，小篮子法、瓦氏微量法、Clark 氧电极法、红外线 CO₂ 分析仪法等由于其检测精度限制，只能检测批量种子的呼吸强度或者长时间累计种子的呼吸强度。新兴技术如氧传感技术检测法和 TDLAS 技术检测法等种子呼吸检测领域具有较好的发展潜力。其中，小篮子法、瓦氏微量法、Clark 氧电极法等单次最小样本检测量通常为 1 批或数克，其检测精度取决于溶液或滴定反应沉淀物称量的准确性，检测时间取决于人为操作时间。

表 1 种子呼吸检测方法比较

Table 1 Comparison of respiration detection methods for seeds

检测方法	检测原理	连续测量/ 自动存储	优点	缺点	预处理方法	检测时间	最少样本 检测量
小篮子法 ^[3]	化学	否	装置简单；应用范围广	易受外界环境干扰；反应不敏感	浸种、萌发	10~20 min	1批(约2 g)
瓦氏微量法 ^[10]	化学/物理	否	灵敏度高；可多组同时测定	受温度影响大；难以用于大粒种子测量	浸种、萌发	10~20 min	1批(约1 g)
Clark氧电极法 ^[20]	电化学	是	响应快；灵敏度高	对温度敏感；需破碎种子	破碎、吸胀	10~20 min	1批
红外线CO ₂ 分析仪法 ^[26]	光学	是	反应灵敏；检测精度高	价格昂贵；温度影响光源稳定	浸种、萌发	约5 s	1批(约1.5 g)
氧传感技术检测法 ^[27]	化学	是	检测氧气，实现单粒种子和多粒种子同步测量	有荧光物质的消耗，无法实时监测	浸种、萌发	约30 min	单粒
TDLAS技术检测法 ^[39]	光学	是	灵敏度高；分辨率高	尚在实验阶段；参数选择对结果有影响	清洗	约0.1 s	单粒

2 种子呼吸及其应用研究

2.1 种子呼吸与代谢关系研究

呼吸代谢是生命活动的中心，种子内存在多条呼吸代谢途径，最基本的 3 条途径为糖酵解 (EMP) 途径、三羧酸 (TCA) 循环和磷酸戊糖 (PPP) 途径。不同的代谢途径提供不同的能荷和还原力，在各发育阶段有不同的代谢途径与之相适应。呼吸代谢各途径的强弱与呼吸速率和种子萌发密切相关^[40-41]，通过探索种子的代谢途径及其各阶段呼吸强度的变化，研究呼吸代谢在种子休眠与萌发中的作用，有助于找到打破种子休眠机制的依据，从而控制种子的休眠与萌发，缩短育种年限，提高育种效率^[42]。

在研究种子休眠与萌发过程各呼吸代谢途径的变化规律中，种子的呼吸速率是重要的测定指标^[43]。SIMMONDS 等^[44]在验证 PPP 途径在种子休眠解除起重要作用的研究中，利用 Warburg 呼吸仪测量不同后熟期种子 0~10 h 的呼吸变化。利用此测定方法只能对收集的数据进行回归分析，计算种子呼吸速率，不能实时反映种子呼吸连续变化情况。浦心春等^[45]在研究休眠及打破休眠种子的发芽过程中加入了各种呼吸抑制剂，得出各代谢途径呼吸速率占总呼吸速率的比例，分析结果表明：TCA 途径及 PPP 途径没有充分活化是导致休眠种子不能发芽的原因之一。采用小篮子法测定种子呼吸 CO₂ 的释放速率，虽操作简便，但受环境影响较大，并且只能人工读取结果，容易造成误差。陈丽培等^[46]将培养过程中的油松 *Pinus tabulaeformis* 种子每隔 9 h 取出并放入 LI-6400 光合作用呼吸仪中测量其呼吸速率，获得呈“S”形曲线的呼吸速率变化结果，并结合代谢途径关键酶活性的测定，得出种子在培养初期以 EMP 途径为主，而中后期由 EMP 途径转向 PPP 途径和 TCA 途径。该研究采用的 LI-6400 光合作用呼吸仪基于红外线 CO₂ 测量原理，可以有效地测定种子呼吸速率，具有测量相对精确、自动化程度高等优点，但该方法需要间隔较长时间 (9 h) 取出样品进行测量，时间分辨率较低，对获得的呼吸曲线质量有一定影响。

呼吸代谢由 EMP/TCA 途径转向 PPP 途径对种子休眠的解除具有重要作用,通过呼吸速率测定可以了解种子各代谢途径的活化程度。为了进一步探究种子休眠与萌发机制,需要综合分析多种因素及其相互作用,结合种子呼吸速率、酶活性和内源激素调控,全面把握种子生理变化,使呼吸代谢的研究具有更大的理论意义和实际效益。种子呼吸检测方法在种子休眠解除与促进萌发的研究中具有关键作用,研究者们采用不同的呼吸代谢检测方法对种子呼吸代谢途径的呼吸速率进行测定。传统方法受环境因素影响较大,灵敏度低,时间分辨率有限,并且由人工读取测量结果容易造成实验误差,合理选取或研究新型高灵敏度且自动化程度高的种子呼吸代谢测定方法有助于提高种子呼吸代谢效率以及结果的准确性。

2.2 种子呼吸与储藏关系研究

种子储藏是种质资源离体保存、年度间用种余缺调剂与应急用种的有效措施^[47]。种子的呼吸作用是种子储藏期间的重要生理活动,控制好种子的呼吸作用,减少储藏物质的消耗,保持种子旺盛的生命力,才能达到种子安全储藏的目的^[48]。测定种子的呼吸强度可以衡量其呼吸作用的强弱,有利于了解储藏过程中种子生理状态、环境影响因素与种子呼吸强度之间的关系,为改善储藏条件提供必要数据支撑。胡小荣等^[49]将储藏 12 个月的大葱 *Allium fistulosum* 和油菜 *Brassica campestris* 种子分别存于 50、35、20 和 -18 ℃ 环境下,并利用 GC-7AG 气相色谱仪测定种子呼吸速率,研究发现:随着储藏温度的升高,大葱和油菜种子的 CO₂ 释放量增大,同一储藏温度下,随着含水量的降低,种子 CO₂ 释放量减少。LIU 等^[50]在常温与低温 2 种环境下,用小篮子法测定储藏第 4 年的马尾松种子的呼吸强度,发现在常温开放储藏环境下,种子呼吸旺盛、养分消耗快,易丧失生活力,而采用低温密封法可以较好地保持种子的生活力。可见,在一定范围内,呼吸作用的强度会随温度的上升而增强。在储藏期间,温度变化导致的种子呼吸变化还可能影响种子的感官品质。王道营等^[51]将玉米种子在不同温度条件下储藏一段时间后,取出放入密闭玻璃瓶中,通过 GXH-3010D 型红外 CO₂ 分析仪测定一段时间内种子的呼吸变化情况,发现在不同温度下含糖量递减速率随温度的升高而加大,在较低储藏温度下甜玉米含糖量较高,呼吸强度和失水量较低,能够保持较高的食用品质。种子的水分含量与空气成分同样是种子呼吸的重要影响因素。王若兰等^[52]取适量预处理后的小麦种子放入 SKW-3 仪器的呼吸瓶内,测定在不同温度、水分和氧气浓度下小麦种子呼吸速率的变化。结果表明:在一定条件下,小麦种子呼吸作用的强度随着温度或水分的升高而加强,随着氧气浓度的降低而逐渐被抑制。

部分学者指出:种子呼吸作用在储藏期间受温度、湿度及环境中 O₂、CO₂ 等因素的影响^[53],通过降温、干燥、缺氧储藏等手段能够有效抑制种子的呼吸作用^[54],使种子处于极微弱的呼吸状态,保持种子品质,延长储藏时间,减少农业生产中的经济损失。然而在不同环境中,部分呼吸检测仪器同样会受到环境因素变化的影响,如小篮子法难以避免外界 CO₂ 气体的干扰,且仅能测量取出后储藏种子的呼吸强度,无法及时反映不同储藏环境下种子的呼吸情况;Gilson 差分呼吸仪和 Warburg 呼吸计 2 种仪器对压强或温度变化都极为敏感,设置不同温度与 O₂ 浓度环境,都需要对仪器进行平衡,且耗费时间较长;红外线 CO₂ 分析仪和 TDLAS 技术等方法可以通过调节气室环境来测量不同温度、气体浓度下种子的呼吸作用,能有效避免环境因素对仪器产生的影响。可见,在储藏环境因素对种子呼吸强度影响的研究中,所采用的种子呼吸检测方法不仅要结果精确、自动化程度高,还需尽量减少环境因素干扰,才可以实时反映不同储藏环境下种子的呼吸变化情况。

2.3 种子呼吸与活力关系研究

种子活力作为衡量种子质量的一个重要指标,对农业生产和自然环境等民生问题有着重要影响^[55]。种子的呼吸强度与其活力存在一定的正相关性^[56-57]。国内外学者尝试采用不同的检测技术对种子呼吸过程中 O₂ 的消耗量或产生的 CO₂ 量进行检测,研究种子呼吸与活力相关性。在种子活力研究中采用测定耗氧量的方法有:Gilson 差分呼吸仪法、瓦氏微量法、Clark 氧电极法^[58]和氧传感技术检测法等。

WOODSTOCK 等^[59]将玉米种子置于装有 5 mL 水的反应瓶中并连接 Gilson 差分呼吸仪,测量种子吸水开始后 2~30 h 的耗氧情况,得出在空气环境下种子的呼吸速率与根长、芽长的相关系数分别为 0.82 和 0.79,表明种子呼吸速率与发芽和幼苗生长之间呈显著正相关。赵光武等^[37]探讨了氧传感测定指标与杉木种子发芽测定指标之间的相关性,应用氧传感技术软件自动绘制耗氧曲线并计算,得到 COP,

指出呼吸强度开始降低时 O_2 浓度与发芽率呈显著负相关。钟希琼等^[60]在水稻种子萌发进行到 80~88 h 时,用滴定法(同小篮子法)测定种子呼吸速率,研究发现:其生活力、发芽势、发芽率、发芽指数均与呼吸速率呈显著正相关,相关系数分别为 0.847、0.931、0.937 和 0.870。贾良权等^[38]基于 TDLAS 检测技术选取 3 个活力等级的甜玉米种子,将预处理后的种子放入基于 TDLAS 技术的种子呼吸容器中,启动设备自动存储数据并绘制呼吸产生的 CO_2 浓度曲线图,计算得到第 3~8 小时各时刻种子的呼吸强度与活力指数的相关系数均大于 0.900。这表明种子的呼吸强度可以快速反映种子的活力水平。

上述研究结果表明:玉米、水稻、杉木等种子的呼吸强度与其发芽率、发芽势、发芽指数等呈现一定的正相关性。但目前还存在一些科学问题尚未解决,如在同一遗传品系内部种子呼吸强度与种子活力的定量关系,以及不同遗传品系间种子的活力与呼吸强度相关度等具体问题。针对上述问题,可通过种子呼吸检测及发芽试验,定量研究种子呼吸强度与种子活力之间的相关关系,以期通过呼吸强度的检测来准确判定种子活力的高低,从而提高制种效率。氧传感技术与 TDLAS 技术在种子呼吸检测领域的应用,使得种子活力检测向着快速、准确且自动化程度高的方向发展。相比发芽、田间出苗等试验,氧传感技术与 TDLAS 技术操作更加简便、耗时较短、效率更高,可将呼吸强度作为鉴定种子活力的生理指标,并在种子选择、检验、储藏等领域广泛应用。

3 展望

种子呼吸强度的检测可以用于研究种子休眠解除过程中各代谢途径,了解种子的活力情况及收获后的生理状态,指导选用和生产高活力种子,在研究种子呼吸代谢、种子活力和种子储藏等方面具有重要的意义与价值。结合目前种子呼吸检测方法和应用领域研究进展,笔者认为应着力从以下几个方面开展进一步研究:①小篮子法、瓦氏微量法等目前常用的种子呼吸检测方法多数存在不能实时反映种子呼吸变化等缺陷且属于有损检测。新型技术如红外线 CO_2 分析仪法、氧传感技术法等近年得到了较好的应用与发展,这些方法能够获得种子呼吸检测的变化曲线,然而这些方法多针对批量种子长时间呼吸积累量进行检测,对单粒种子以及种子萌发前的呼吸检测尚无能为力,因此具有一定的应用局限。总体种子呼吸检测方法的研究进展缓慢,对种子生理生化的深入研究产生了一定的影响。以 TDLAS 技术为代表的新型光学检测方法具有高灵敏度、快速检测等优点,其检测精度能够达 10^{-6} 以下,通过选用强吸收线的激光器光源并配合长光程种子吸收池,种子呼吸 CO_2 检测精度甚至可以达到 10^{-9} ,种子呼吸消耗 O_2 检测精度达 10^{-6} 级别。可见,TDLAS 技术是一种颇具前途的种子呼吸检测方法,能够有效地避免上述问题,且 TDLAS 技术可以进行 CO_2 和 O_2 等多种气体的同步监测,能够全面掌握种子呼吸代谢过程变化情况。因此,随着种子呼吸与生理生化、储藏环境等相关领域的研究进展,基于 TDLAS 等光学检测技术的研究,同时开展呼吸代谢中 CO_2 和 O_2 的同步监测,研究出灵敏度更高、操作更为简单的种子呼吸检测方法及其装备具有可行性。②目前,种子呼吸研究主要集中在种子呼吸代谢与休眠、萌发、代谢途径等相关领域。随着技术手段的提升,可以进一步加强种子休眠、种子早期萌发机制以及盐碱、温度等环境胁迫与种子呼吸代谢关系研究,深入分析种子呼吸代谢及其影响因素的关系,从而完善种子呼吸代谢相关理论。③保持种子储藏活力的关键因素之一在于降低种子的呼吸强度和减缓劣变进程。在种子储藏仓库中除了设置测温仪、水分测定仪、发芽箱等设备,还应该增加呼吸检测仪器,监测储藏过程中种子的呼吸强度,及时了解种子的生理活动状态。开展低成本种子储藏呼吸 CO_2 在线气体监测系统研制具有重要价值。④目前种子呼吸与种子活力的研究主要为定性研究,定量研究还相对较少。两者定量关系模型的研究和建立可为利用种子呼吸进行种子活力检测提供重要的理论支撑。此外,在种子呼吸与种子活力关系研究中,应将种子呼吸指标和种子活力参数(种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数)以及种子发育过程中内含物的变化情况相结合,全面分析种子呼吸强度与种子活力的定量关系,并以此为依据,探寻能够将种子呼吸强度作为有效判定种子活力的方法,特别应加强种子萌发前的呼吸与活力相关指标的研究。

4 参考文献

- [1] MASYAGINA O V, PROKUSHKIN S G, SADILOVA M Y. Influence of temperature on fractional composition of proteins

- and respiration of germinating seeds of Gmelin and Siberian larch [J]. *Contemp Probl Ecol*, 2009, **2**(6): 611 – 619.
- [2] 杨忠仁, 郭霏, 张东, 等. 不同储藏年限沙葱种子萌发及呼吸生理的变化[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, **49**(11): 91 – 96, 114.
- YANG Zhongren, GUO Fei, ZHANG Dong, *et al.* Changes of germination and respiration physiology of *Allium mongolicum* seeds under different storage times [J]. *J Northwest A&F Univ Nat Sci Ed*, 2021, **49**(11): 91 – 96, 114.
- [3] 张璇, 陈通旋, 郭江雪, 等. 不同激素对香果树种子发芽特性与呼吸速率的影响[J]. 贵州农业科学, 2019, **47**(3): 116 – 118.
- ZHANG Xuan, CHEN Tongxuan, GUO Jiangxue, *et al.* Effects of germination and respiration rate on *Emmenopterys henryi* seed with different hormones [J]. *Guizhou Agric Sci*, 2019, **47**(3): 116 – 118.
- [4] 李佳, 周素华, 贾娜, 等. 不同浓度赤霉素处理对杜仲种子萌发的影响[J]. 安徽农业科学, 2019, **47**(3): 144 – 146, 185.
- LI Jia, ZHOU Suhua, JIA Na, *et al.* Effects of different concentrations of gibberellin on seed germination in *Eucommia ulmoides* [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2019, **47**(3): 144 – 146, 185.
- [5] 方能虎, 洪法水, 赵贵文. 稀土元素对水稻种子萌发初期呼吸速率动态变化的影响及其定位初探[J]. 稀土, 2000, **21**(5): 41 – 43.
- FANG Nenghu, HONG Fashui, ZHAO Guiwen. Effect of rare earth on dynamic change of respiratory rate and position-setting of rare earth ions in plants during early rice germination [J]. *Chin Rare Earths*, 2000, **21**(5): 41 – 43.
- [6] 杨雪鹏, 周留柱, 马科, 等. 维生素吡咯喹啉醌对水芹种子萌发的生理效应[J]. 轻工学报, 2019, **34**(4): 1 – 7.
- YANG Xuepeng, ZHOU Liuzhu, MA Ke, *et al.* Physiological effects of vitamin pyrroloquinoline quinone on the germination of cress seeds [J]. *J Zhengzhou Univ Light Ind Nat Sci Ed*, 2019, **34**(4): 1 – 7.
- [7] 李海霞, 徐久玮, 蔡明历, 等. 小篮子法测定植物种子呼吸速率的方法改进[J]. 生物学杂志, 2015, **32**(1): 100 – 102, 106.
- LI Haixia, XU Jiwei, CAI Mingli, *et al.* Improved method for measuring respiratory rate of plant seeds using small-skep-method [J]. *J Biol*, 2015, **32**(1): 100 – 102, 106.
- [8] 吕洪飞, 余象煜, 李平. 杉木雄性不育株与可育株小孢子叶球及其叶的呼吸强度的比较研究[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 1996, **19**(2): 73 – 76.
- LÜ Hongfei, YU Xiangyu, LI Ping. Comparative studies on respiratory intensity of microstrobilus and leaves between male sterile and fertile plants in *Cunninghamia lanceolata* [J]. *J Zhejiang Norm Univ Nat Sci*, 1996, **19**(2): 73 – 76.
- [9] 黄真池, 黄上志. 不破坏种子活力测定方法研究(Ⅱ) 种子活力与呼吸速率的关系[J]. 种子, 1998, **98**(5): 3 – 5.
- HUANG Zhenchi, HUANG Shangzhi. Study on non-destructive method in seed vigor determination (Ⅱ) the relationship between respiratory rate and cabbage seed vigor [J]. *Seed*, 1998, **98**(5): 3 – 5.
- [10] 黄学林, 陈润政. 种子生理实验手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990: 101 – 107.
- HUANG Xuelin, CHEN Runzheng. *Handbook of Seed Physiology* [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1990: 101 – 107.
- [11] 王亚文, 袁俊杰, 马沐青, 等. 光照对黑豆种子萌发进程的影响研究[J]. 种子, 2017, **36**(2): 99 – 102.
- WANG Yawen, YUAN Junjie, MA Muqing, *et al.* The effect of illumination on the germination process of black soybean seed [J]. *Seed*, 2017, **36**(2): 99 – 102.
- [12] CLARK J. Monitor and control of blood and tissue oxygen tensions [J]. *Trans-Am Soc Artif Intern Organs*, 1956, **65**(2): 41 – 48.
- [13] 朱建中. 微型 Clark 氧传感器的进展[J]. 传感器世界, 1996, **56**(9): 5 – 10.
- ZHU Jianzhong. An important progress in the microminiaturization of Clark-type oxygen sensors [J]. *Sens World*, 1996, **56**(9): 5 – 10.
- [14] NIETZEL T, MOSTERTZ J, RUBERTI C, *et al.* Redox-mediated Kick-Start of mitochondrial energy metabolism drives resource-efficient seed germination [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2019, **117**(1): 741 – 751.
- [15] MEYER E H, WELCHEN E, CARRIE C. Assembly of the complexes of the oxidative phosphorylation system in land plant mitochondria [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 2019, **70**(1): 23 – 50.
- [16] BENAMAR A, TALLON C, MACHEREL D. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing [J]. *Seed Sci Res*, 2003, **13**(1): 35 – 45.
- [17] 王伟青, 程红焱, 刘树君, 等. 黄皮种子线粒体呼吸速率和活性氧清除酶活性对脱水的响应及其生态学意义[J]. 植物生态学报, 2012, **36**(8): 870 – 879.

- WANG Weiqing, CHENG Hongyan, LIU Shujun, *et al.* Response of respiratory rate and reactive oxygen species scavenging enzyme activity in seed mitochondria of *Clausena lansium* dehydration and its ecological significance [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2012, **36**(8): 870 – 879.
- [18] 陶宗娅, 邹琦. 低温吸胀对大豆与豌豆种子呼吸代谢的影响[J]. 山东农业大学学报, 1993, **24**(3): 247 – 252.
- TAO Zongya, ZOU Qi. Effect of imbibition under low temperature on respiratory metabolism of pea and soybean seeds [J]. *J Shandong Agric Univ*, 1993, **24**(3): 247 – 252.
- [19] 李相贤, 徐亮, 高闽光, 等. 分析温室气体及 CO₂ 碳同位素比值的傅里叶变换红外光谱仪[J]. *光学精密工程*, 2014, **22**(9): 2359 – 2368.
- LI Xiangxian, XU Liang, GAO Minguang, *et al.* Fourier transform infrared greenhouse analyzer for gases and carbon isotope ratio [J]. *Opt Precis Eng*, 2014, **22**(9): 2359 – 2368.
- [20] PATANÈ C, AVOLA G. A seed respiration-based index of cold-sensitivity during imbibition in four macrothermal species [J]. *Acta Physiol Plant*, 2013, **35**(3): 911 – 918.
- [21] 段黎明, 孙学礼, 辛欣. 不分光红外线气体分析仪计量确认的实践[J]. 铁路节能环保与安全卫生, 2019, **9**(4): 33 – 37.
- DUAN Liming, SUN Xueli, XIN Xin. Practice of non-spectral infrared gas analyzer metrological confirmation [J]. *Railway Energy Saving Environ Prot Occupational Saf Health*, 2019, **9**(4): 33 – 37.
- [22] 陈润政, 蔡东燕, 傅家瑞. 花生种子生活力与呼吸强度及 ATP 含量的关系[J]. 中国油料, 1986, **35**(1): 48 – 50.
- CHEN Runzheng, CAI Dongyan, FU Jiarui. Relationship between seed viability and respiration intensity and ATP content of peanut [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 1986, **35**(1): 48 – 50.
- [23] 陈禅友, 童莉. 黄秋葵种子萌发生理特性分析[J]. *种子*, 2004, **23**(11): 14 – 17.
- CHEN Chanyou, TONG Li. Analysis of physiologic characters of Okra seed germination [J]. *Seed*, 2004, **23**(11): 14 – 17.
- [24] 刘美. 山农 17 小麦种子萌发期间呼吸代谢相关酶活性及其基因表达量的变化[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- LIU Mei. *Changes of Enzyme Activity and Gene Expression Related to Respiratory Metabolism During Shannong17 Wheat Seed Germination* [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2014.
- [25] 陈能阜, 赵光武, 何勇, 等. 测定种子活力的新技术: Q2 技术[J]. *种子*, 2009, **28**(12): 112 – 114.
- CHEN Nengfu, ZHAO Guangwu, HE Yong, *et al.* Q2 Technology: a new technology for determinating seed vigor [J]. *Seed*, 2009, **28**(12): 112 – 114.
- [26] 陈合云. 基于氧传感技术的常规水稻种子质量检测方法研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- CHEN Heyun. *Research on Method of Conventional Rice Seed Quality Determination Based on Oxygen Sensor Technology* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012.
- [27] 潘威, 杜景诚, 乔雨, 等. 基于氧传感技术测定烟草种子活力的初步研究[J]. *种子*, 2018, **37**(6): 72 – 75.
- PAN Wei, DU Jingcheng, QIAO Yu, *et al.* Preliminary study on seed vigor testing of tobacco seeds based on oxygen sensing technology [J]. *Seed*, 2018, **37**(6): 72 – 75.
- [28] TCHERKEZ G, CUI Jing, LAMADE E. Seed germination in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.): a review of metabolic pathways and control mechanisms [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(12): 4227 – 4240.
- [29] HINKLEY E D. High-resolution infrared spectroscopy with a tunable diode laser [J]. *Appl Phys Lett*, 1970, **16**(9): 351 – 354.
- [30] REID J, SHEWCHUN J S, GARSIDE B K, *et al.* High sensitivity pollution detection employing tunable diode lasers [J]. *Appl Opt*, 1978, **17**(2): 300 – 307.
- [31] REID J, LABRIE D. Second harmonic detection with tunable diode lasers-comparison of experiment and theory [J]. *Appl Phys B Lasers Opt*, 1981, **26**(3): 203 – 210.
- [32] HARTMANN A, STRZODA R, SCHROBENHAUSER R, *et al.* CO₂ sensor for mainstream capnography based on TDLAS [J]. *Appl Phys B Lasers Opt*, 2014, **116**(4): 1023 – 1026.
- [33] LIU Yu, XUE, Qingguo, ZUO Haibin, *et al.* Experimental study of H₂ and/or N₂ addition effects on CO/CO₂: air flames using a combustion diagnostic system [J]. *J Therm Sci*, 2021, **30**(4): 1 – 10.
- [34] YANG J, JIAO Y, YANG W Z, *et al.* Review of methods for determination of ammonia volatilization in farmland[J/OL]. *IOP Conf Series Earth Environ Sci*, 2018, **113**[2021-10-05]. doi: 10.1088/1755-1315/113/1/012022.
- [35] HUNSMANN S, WUNDERLE K, WAGNER S, *et al.* Absolute, high resolution water transpiration rate measurements on

- single plant leaves via tunable diode laser absorption spectroscopy (TDLAS) at 1.37 μm [J]. *Appl Phys B Lasers Opt*, 2008, **92**: 393 – 401.
- [36] ZHANG Rui, GUO Maoning, WANG Yizhong, *et al.* Research on CO₂ detection system in refrigerated compartment of agricultural products based on TDLAS technology [J]. *Proced CIRP*, 2019, **83**(12): 429 – 433.
- [37] 赵光武, 阮关海, 陈合云, 等. 氧传感技术及其在水稻种子活力检测中的应用与展望[J]. *中国稻米*, 2011, **17**(6): 44 – 46.
- ZHAO Guangwu, RUAN Guanhai, CHEN Heyun, *et al.* Oxygen sensing technology and its application and prospect in rice seed vigor detection [J]. *China Rice*, 2011, **17**(6): 44 – 46.
- [38] 贾良权, 祁亨年, 胡文军, 等. 采用 TDLAS 技术的玉米种子活力快速无损分级检测[J]. *中国激光*, 2019, **46**(9): 289 – 297.
- JIA Liangquan, QI Hengnian, HU Wenjun, *et al.* Rapid nondestructive grading detection of maize seed vigor using TDLAS technique [J]. *Chin J Lasers*, 2019, **46**(9): 289 – 297.
- [39] DALEY D O, CONSIDINE M J, HOWELL K A, *et al.* Respiratory gene expression in soybean cotyledons during post-germinative development [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **51**(5): 745 – 755.
- [40] SILVA A T, LIGTERINK W, HILHORST H W M. Metabolite profiling and associated gene expression reveal two metabolic shifts during the seed-to-seeding transition in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 2017, **95**(4): 481 – 496.
- [41] ROSENTAL L, NONOGAKI H, FAIT A. Activation and regulation of primary metabolism during seed germination [J]. *Seed Sci Res*, 2014, **24**(1): 1 – 15.
- [42] DOMERGUE J-B, ABADIE C, LIMAMI A M, *et al.* Seed quality and carbon primary metabolism [J]. *Plant Cell Environ*, 2019, **42**(10): 2776 – 2788.
- [43] 郭聪聪, 沈永宝, 史锋厚. 白皮松种子萌发过程中呼吸代谢和内源激素对温度变化的响应[J]. *中南林业科技大学学报*, 2021, **41**(3): 25 – 36.
- GUO Congcong, SHEN Yongbao, SHI Fenghou. Response of respiration and hormones during germination of *Pinus bungeana* seeds to temperature changes [J]. *J Cent South Univ For Technol*, 2021, **41**(3): 25 – 36.
- [44] SIMMONDS J A, SIMPSON G M. Increased participation of pentose phosphate pathway in response to afterripening and gibberellic acid treatment in caryopses of *Avena fatua* [J]. *J Can Bot*, 1971, **49**(10): 1833 – 1840.
- [45] 浦心春, 韩建国, 李敏, 等. 结缕草种子打破休眠过程呼吸途径的研究[J]. *草业学报*, 1996, **5**(3): 57 – 61.
- PU Xinchun, HAN Jianguo, LI Min, *et al.* Studies on respiratory pathways of zoysiagrass seed when breaking dormancy [J]. *Acta Pratacultural Sin*, 1996, **5**(3): 57 – 61.
- [46] 陈丽培, 王国霞, 沈永宝. 油松种子萌发初始阶段的呼吸代谢[J]. *林业科学*, 2012, **48**(5): 150 – 153.
- CHEN Lipai, WANG Guoxia, SHEN Yongbao. Respiratory metabolism of *Pinus tabulaeformis* seeds at the initial germinating stages [J]. *Sci Silv Sin*, 2012, **48**(5): 150 – 153.
- [47] 管雨, 贾文庆, 刘会超, 等. 木瓜花粉生活力测定及储藏特性[J]. *浙江农林大学学报*, 2012, **29**(5): 790 – 794.
- GUAN Yu, JIA Wenqing, LIU Huichao, *et al.* Pollen viability and storage of *Chaenomeles sinensis* [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2012, **29**(5): 790 – 794.
- [48] 陈志超, 黄婷婷, 王洋, 等. 水稻种子休眠特性与耐藏性的关系[J]. *浙江农林大学学报*, 2018, **35**(3): 490 – 496.
- CHEN Zhichao, HUANG Tingting, WANG Yang, *et al.* Dormancy characteristics and seed storage tolerance in rice [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2018, **35**(3): 490 – 496.
- [49] 胡小荣, 陶梅, 卢新雄, 等. 超干燥种子储藏于不同温度下的呼吸作用及乙烯释放量的研究[J]. *种子*, 2006, **25**(2): 13 – 16.
- HU Xiaorong, TAO Mei, LU Xinxiong, *et al.* Studies on the respiration and ethylene released amount of ultradried seed stored at different temperature [J]. *Seed*, 2006, **25**(2): 13 – 16.
- [50] LIU Sheng, ZHANG Hongli, ZHENG Shufang. Effect of pressure precooling, room pre-cooling and cold storage on quality of sweet corn [J]. *Acta Horti*, 2012, **934**(2): 1247 – 1254.
- [51] 王道营, 诸永志, 曹建民, 等. 储藏温度对甜玉米品质的影响[J]. *江西农业学报*, 2008, **20**(6): 82 – 83.
- WANG Daoying, ZHU Yongzhi, CAO Jianmin, *et al.* Effects of storage temperature on quality of sweet maize [J]. *Acta Agric Jiangxi*, 2008, **20**(6): 82 – 83.

- [52] 王若兰, 严佳, 李燕羽, 等. 不同条件下小麦呼吸速率变化的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2009, **30**(4): 12–16.
WANG Ruolan, YAN Jia, LI Yanyu, *et al.* Research on the respiratory rate change of wheat under different conditions [J]. *J Henan Univ Technol Nat Sci Ed*, 2009, **30**(4): 12–16.
- [53] 王润豪, 陈红卫, 吴俊, 等. 水氮互作对百农 207 种子发芽特性及储藏物质转运的影响[J]. 麦类作物学报, 2019, **39**(1): 82–88.
WANG Runhao, CHEN Hongwei, WU Jun, *et al.* Effects of water-nitrogen interaction on seed germination characteristics and storage substance transport in Bainong 207 [J]. *J Triticeae Crops*, 2019, **39**(1): 82–88.
- [54] ARAUJO A C F B, BARBEDO C. Changes in desiccation tolerance and respiratory rates of immature *Caesalpinia echinata* Lam. seeds [J]. *J Seed Sci*, 2017, **39**(2): 123–132.
- [55] 徐振飞, 过晟鹏, 钱旺, 等. 3 种杉木种子活力测定方法比较[J]. 浙江农林大学学报, 2020, **37**(6): 1230–1234.
XU Zhenfei, GUO Shengpeng, QIAN Wang, *et al.* A comparative study of three determination methods for seed vigor of *Cunninghamia lanceolata* [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2020, **37**(6): 1230–1234.
- [56] 袁俊, 郑雯, 祁亨年, 等. 种子活力光学无损检测技术研究进展[J]. 作物杂志, 2020(5): 9–16.
YUAN Jun, ZHENG Wen, QI Hengnian, *et al.* Progress in research of optical non-destructive test technology for seed vigor [J]. *Crops*, 2020(5): 9–16.
- [57] 胡元森, 田萍萍, 李棒棒, 等. 粮食储藏生理性变质研究进展[J]. 中国粮油学报, 2020, **35**(11): 179–186.
HU Yuansen, TIAN Pingping, LI Bangbang, *et al.* Progress in physiological deterioration of stored grain [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc*, 2020, **35**(11): 179–186.
- [58] 秦宏鹏, 刘翔宇, 陈娟. 溶解氧多参数智能补偿校正检测技术的研究[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2019, **46**(3): 99–104.
QIN Hongpeng, LIU Xiangyu, CHEN Juan. Multi-parameter intelligent compensation correction detection technology for determination of dissolved oxygen [J]. *J Beijing Univ Chem Technol Nat Sci Ed*, 2019, **46**(3): 99–104.
- [59] WOODSTOCK L W, GRABE D F. Relationships between seed respiration during imbibition and subsequent seedling growth in *Zea mays* L. [J]. *Plant Physiol*, 1967, **42**: 1071–1076.
- [60] 钟希琼, 林丽超, 上官国莲. 水稻老化种子活力与生理性状关系的研究[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版), 2003, **21**(1): 64–66.
ZHONG Xiqiong, LIN Lichao, SHANGGUAN Guolian. Study on the correlation between physiological characters and vigor of aged rice seed [J]. *J Foshan Univ Nat Sci Ed*, 2003, **21**(1): 64–66.