



引用格式: 吕洪飞, 楼晨坤, 兰荣光, 等. 濒危植物百山祖冷杉种子活力与种子物理指标相关性分析[J]. 西北植物学报, 2024, 44(10): 1549-1556. [LÜ H F, LOU C K, LAN R G, et al. Correlation analysis between physical characteristics and seed vigor of the endangered plant *Abies beshanzuensis*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2024, 44(10): 1549-1556.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20240230

濒危植物百山祖冷杉种子活力与 种子物理指标相关性分析

吕洪飞^{1,2}, 楼晨坤², 兰荣光³, 熊艳云³, 杨云芳¹, 于明坚⁴

(1 浙江广厦建设职业技术大学 建筑工程学院, 浙江东阳 322100; 2 浙江理工大学 生命科学与医药学院, 浙江省植物次生代谢调控重点实验室, 杭州 310028; 3 钱江源-百山祖国家公园 庆元保护中心, 浙江庆元 323800; 4 浙江大学 生命科学学院, 杭州 310058)

摘要 【目的】探究百山祖冷杉种子的形态特征和物理指标与种子活力之间的关系, 为研究该濒危物种种群更新、保护及解释其濒危机制和其种子生物学提供理论依据。【方法】以极度濒危植物百山祖冷杉为材料, 测定百山祖冷杉种子长度、宽度、厚度、单粒重、RGB 值等特征常数, 用 TTC 染色法测定其种子活力, 并建立数学模型。【结果】百山祖冷杉有活力和无活力种子的 R 、 B 值和单粒重存在显著差异, 单因素线性回归分析表明, 百山祖冷杉种子活力与种子单粒重显著相关, R^2 为 0.839; 双因素线性回归分析表明, 种子活力与种子单粒重和宽度显著相关, R^2 为 0.895; 多因素线性回归分析, R^2 为 0.978; 但其有活力种子和无活力种子长度、宽度、厚度和 G 值不存在显著差异。【结论】用百山祖冷杉种子的 R 、 B 值和单粒重等指标可筛选具有较高种子活力的种子, 用多因素线性回归分析可更精确分析其种子活力。

关键词 百山祖冷杉; TTC 染色; 形态特征; 物理特征; 单粒重; 种子活力; 数学模型

中图分类号 Q947; S791.14

文献标志码 A

Correlation analysis between physical characteristics and seed vigor of the endangered plant *Abies beshanzuensis*

LÜ Hongfei^{1,2}, LOU Chenkun², LAN Rongguang³,
XIONG Yanyun³, YANG Yunfang¹, YU Mingjian⁴

(1 School of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang Guangxia Construction Vocational and Technical University, Dongyang, Zhejiang 322100, China; 2 Zhejiang Province Key Laboratory of Plant Secondary Metabolism and Regulation, College of Life Science and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310028, China; 3 Qingyuan Conservation Center of Qianjiangyuan-Baishanzu National Park, Qingyuan, Zhejiang 323800, China; 4 College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract [Objective] This study aims to explore the relationship between seed morphological and physical characteristics and seed vigor of *Abies beshanzuensis*, in order to provide a theoretical basis for further population renewal and protection of this endangered species, explaining its endangered mechanism, and studying its seed biology. [Methods] Using the endangered plant *A. beshanzuensis* as material, characteristic constants of the length, width, thickness, single grain weight, and RGB, etc. of the seeds of *A. beshanzuensis* were determined, and a mathematical model was established using the TTC staining method to determine seed vigor. [Results] The R , B values and single grain weight of *A. beshanzuensis* seeds with and without vigor showed significant differences. Single factor linear regression analysis showed that seed vigor of *A. beshanzuensis* was significantly correlated with single grain weight, R^2 was 0.839; two factor linear regression analysis showed that seed vigor was significantly correlated with single grain weight and width, R^2 was 0.895; multiple factor linear regression analysis, R^2 was 0.978; but there was no significant difference in length, width, thickness and G value between seeds with and without vigor. [Conclusion] The R , B values and single grain weight of *A. beshanzuensis* seeds can be used to screen seeds with higher vigor, and multiple factor linear regression analysis can analyze seed vigor more accurately.

收稿日期: 2024-04-11; 修改稿收到日期: 2024-06-08

基金项目: 百山祖国家公园科研项目百山祖冷杉专项(2021ZDZX04); 百山祖国家公园科研项目(2023JBGS02)

作者简介: 吕洪飞(1963—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事植物结构学和植物生殖生物学研究。E-mail: luhongfei0164@163.com

zuensis were measured. Seed vigor was determined using TTC staining method, and their mathematical models were established. [Results] Significant differences were observed in *R*, *B* values, and single seed weight between vigorous and non-viable seeds of *A. beshanzuensis*. Single factor linear regression analysis showed that the correlation between seed vigor and single seed weight of *A. beshanzuensis* was the most significant, with $R^2=0.839$. Two factor linear regression analysis showed that seed vigor had the most significant correlation with single seed weight and width, with $R^2=0.895$. For multivariate linear regression analysis, $R^2=0.978$. However, no significant differences were observed in length, width, thickness, and *G* value between vigorous and non-viable seeds. [Conclusion] By using indicators such as *R*, *B* value, and single grain weight of *A. beshanzuensis* seeds, seeds with higher seed vigor can be screened. Multiple factor linear regression analysis predicts more accurately the seed vigor.

Key words *Abies beshanzuensis*; TTC staining; morphological characteristics; physical characteristics; single grain weight; seed vigor; mathematical model

百山祖冷杉(*Abies beshanzuensis*)隶属松科(Pinaceae)冷杉属(*Abies*),是中国特有的珍稀濒危野生植物,是全球最濒危的12种植物之一,属国家一级重点保护野生植物,处于极度濒危状态。百山祖冷杉于1963年首次被发现,并在1976年正式定名发表,其分布范围狭窄,自然分布于浙江省庆元县海拔约1 740 m的地区^[1]。开花结实周期长且天然更新能力极弱,自然状态下繁育概率极低。在植物学、地理学、气候学等学科研究方面具有十分重要的意义^[2]。TTC染色已广泛应用于测定植物器官、组织的活力,如利用TTC染色法测定天山云杉(*Picea schrenkiana*)细根^[3]、葡萄枝条^[4]、杨山牡丹(*Paeonia ostii*)^[5]和长药稻(*Oryza longistaminata*)花粉^[6]、小麦根^[7]的活力。TTC染色法也被广泛用于检测植物种子活力,如测定玉米^[8]、玉兰^[9]、水稻^[10-12]、大麦^[13]、濒危植物大别山五针松(*Pinus dabeshanensis*)^[14]等植物种子活力。Long等^[15]则利用TTC染色法评价玉米种子活力。

种子是植物有性繁殖的重要器官,其活力直接决定植物的自然更新能力。种子活力主要受到遗传因素和环境因素的影响^[16]。种子活力的强弱取决于其自身的基因型^[17],而种子的基因型主要通过种子的形态特征、生理、生化及遗传机制等体现,因此种子的长、宽、厚度、RGB值、单粒重等指标可以作为研究种子生活力的重要指标。种子形态和物理特征与种子活力存在一定的相关性^[18-19],种子形态和物理特征可以预测其活力,以定量的方式代替感官描述^[20]。邓贵仲等^[21]探究青稞种子活力与种子形态指标之间的相关性;薛陶^[22]探究杂交水稻种子形态及物理特征与种子活力之间的关系。种子活力决定播种量和播种质量^[23],因此,生产中筛选高质量的种子降低生产成本。筛选种子最适萌发条件时,样品

种子活力相差较大将直接影响试验可靠性,筛选出具有活力的种子是进行种子萌发试验的必要前提。

本研究利用百山祖冷杉种子的长度、宽度、厚度、单粒重、RGB值等7个形态和物理特征指标,并用TTC染色法测定种子活力,对其种子有无活力的各项指标进行显著性检验,在此基础上,对各指标进行相关性分析,筛选出与种子活力具有显著相关的指标,建立百山祖冷杉种子形态和物理特征指标与种子活力间的单因素、双因素和多因素线性回归分析模型方程,绘制二维和三维散点图,直观显示种子活力与种子形态和物理特征的关系,旨在考察百山祖冷杉种子形态和物理特征指标与种子活力之间的定量关系,以期无损筛选有活力的百山祖冷杉种子提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

百山祖冷杉种子(嫁接树)采自浙江省庆元县钱江源-百山祖国家公园庆元保护中心百管站。

1.2 试验方法

1.2.1 TTC染色液配制^[10]

用磷酸二氢钾和磷酸氢二钠配制磷酸缓冲液,用0.1 mol/L盐酸和0.1 mol/L氢氧化钠调节缓冲液pH为6.5~7.5。称取1 g TTC粉末溶于100 mL磷酸缓冲液中,再次调节pH至6.8~7.2,将配制好的1% TTC染色液于4℃冰箱中避光保存。

1.2.2 百山祖冷杉种子RGB值测定

随机选取百山祖冷杉种子1 000粒,将种子进行编号并用摄像机在摄影箱中进行拍照,拍摄时摄像机光圈值为f/6.3,曝光时间为1/8 000 s。拍摄得到的照片用Adobe Photoshop 2019读取RGB值并记录。

1.2.3 百山祖冷杉种子长、宽、厚度、单粒重测定

用游标卡尺(精度为 0.01 cm)测量种子长、宽、厚度等形状指标(均选在样品的最长、最宽、最厚处),用天平(精度为 0.001 g)测定种子单粒重指标^[24-25],并按照编号进行记录。

1.2.4 TTC 染色

TTC 能与活细胞线粒体内的琥珀酸脱氢酶反应,生成红色的甲臜,结果可以用来表示细胞的活力,TTC 染色步骤参考文献[9,11],并作适当修改:(1)预处理,将百山祖冷杉种子的硬种皮剥去,并切去种子基部小块组织,种子 25 ℃浸水 18 h。(2)TTC 染色,纵向切开种子的种皮和胚乳,将切开的种子置于染色容器中,添加 TTC 染色液至浸没过种子,在 38 ℃下反应 4~6 h,及时观察染色完成的种子。(3)活力鉴定,染色结束后,从染色液中取出种子,用清水进行冲洗,随后观察,完全染色或大部分染色的为正常种子,按照种子编号记录染色结果。

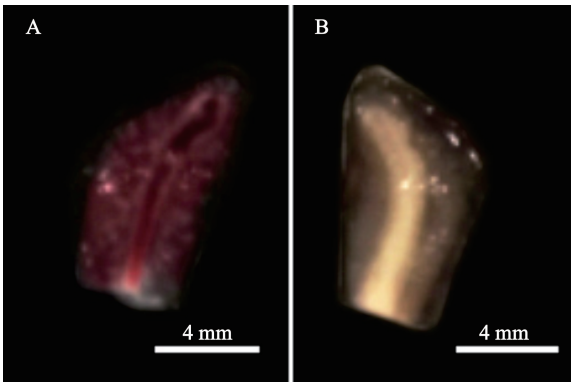
1.3 数据处理

用 Excel 软件对数据进行统计作图,用 SPSS 25.0 软件进行方差分析,用方差分析-多重比较法(LSD)进行差异显著性检验($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 百山祖冷杉种子 TTC 染色和观察

对百山祖冷杉 1 000 粒种子分别进行 TTC 染色,结果(图 1)所示,有活力的种子在 TTC 染色过程中种胚和胚乳均被染成深红色,且胚的颜色更深;而没有活力的种子在 TTC 染色过程中,其种胚和胚乳则不会染色。



A. 被染为红色的种子为有活力种子;B. 未染色种子为无活力种子。

图 1 有活力种子与无活力种子的 TTC 染色对比

A. The red colored seed is vigorous seed.
B. The unstained seed is non-viable seed.

Fig. 1 Comparison of TTC staining between vigorous and non-viable seeds

2.2 百山祖冷杉种子形态物理特征参数分析

分别测量百山祖冷杉 1 000 粒种子的长度、宽度和厚度等指标,并对有活力种子与无活力种子的长度、宽度和厚度进行显著性检验。结果(图 2)所示,百山祖冷杉有活力种子与无活力种子在长度、宽度和厚度上均没有显著性差异。

对百山祖冷杉 1 000 粒种子分别拍照,用 Adobe Photoshop 2019 读取其 RGB 值,分别对有活力种子与无活力种子的 R、G、B 值进行显著性检验。如图 3 所示,有活力种子与无活力种子 G 值没有显著性差异,但 R 值差异显著,B 值差异极显著。

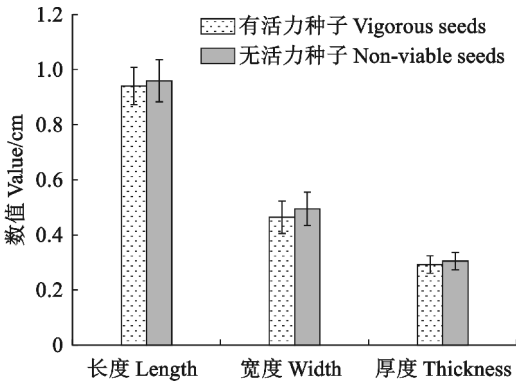
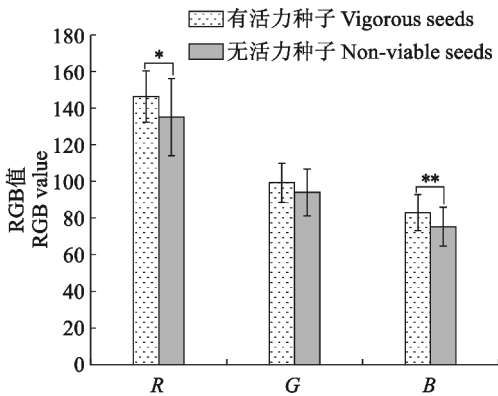


图 2 有活力种子与无活力种子的长度、宽度和厚度

Fig. 2 Comparison of seed length, width, and thickness between vigorous and non-viable seeds



* 表示显著差异($P<0.05$);** 表示极显著差异($P<0.01$)。下同。

图 3 有活力种子与无活力种子的 R、G 和 B 值

* indicates significant difference ($P<0.05$). ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

The same as below.

Fig. 3 Comparison of R, G, and B values between vigorous and non-viable seeds

对百山祖冷杉 1 000 粒种子分别称取其单粒重,对有活力种子与无活力种子的单粒重进行显著性检验,结果(图 4)所示,有活力种子与无活力种子的单粒重具极显著差异。

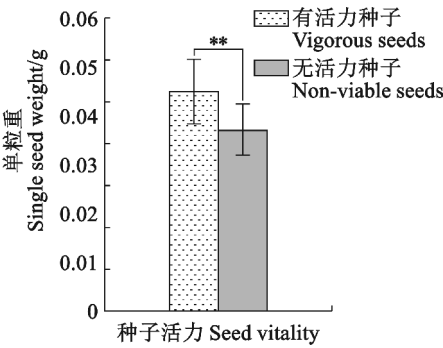
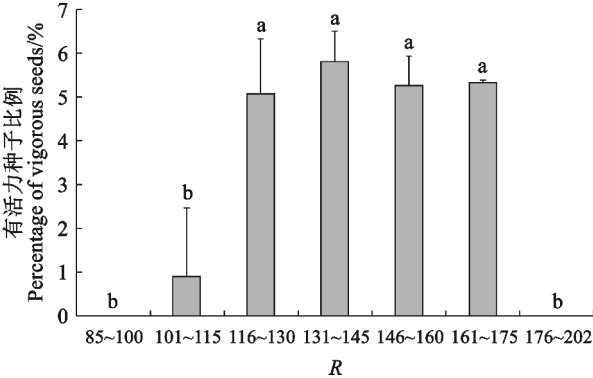


图 4 有活力种子与无活力种子的单粒重
Fig. 4 Comparison of single seed weight between vigorous and non-viable seeds

2.3 百山祖冷杉种子 R、B 和单粒重与种子活力关系

图 5 所示,百山祖冷杉种子 R 值的最大值为 202,最小值为 85,百山祖冷杉种子活力在 131~145 组最高,但其种子活力小于 7%,在 85~100 组和 176~202 组最低,为 0%。百山祖冷杉种子 R 值为 85~145,百山祖冷杉种子的种子活力随 R 值增长呈上升趋势;种子 R 值在 101~115 组与 131~145 组间存在显著差异。百山祖冷杉种子 R 值为 131~160,种子活力随 R 值增长呈下降趋势,但 R 值在 131~145 组与 146~160 组间差异不显著。



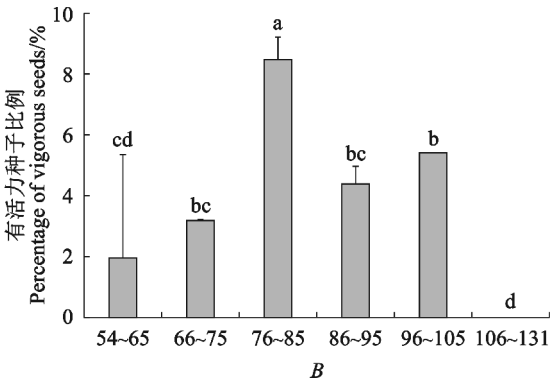
不同小写字母表示不同 R 值组别之间差异显著 ($P<0.05$)。

图 5 不同 R 值百山祖冷杉种子活力

Different lowercase letters indicate significant differences between different R value groups ($P<0.05$).

Fig. 5 Seed vigor changes of *A. beshanzuensis* seeds with different R values

百山祖冷杉种子 R 值为 146~175,百山祖冷杉种子的种子活力随 R 值增长又呈上升趋势,R 值在 146~160 组与 161~175 组间差异不显著。百山祖冷杉种子 R 值为 161~202,百山祖冷杉种子活力随 R 值增长又呈下降趋势,且 R 值在 161~175 组与 176~202 组间差异显著。整体而言,百山祖冷杉的种子活力随 R 值增大先增大后减小。

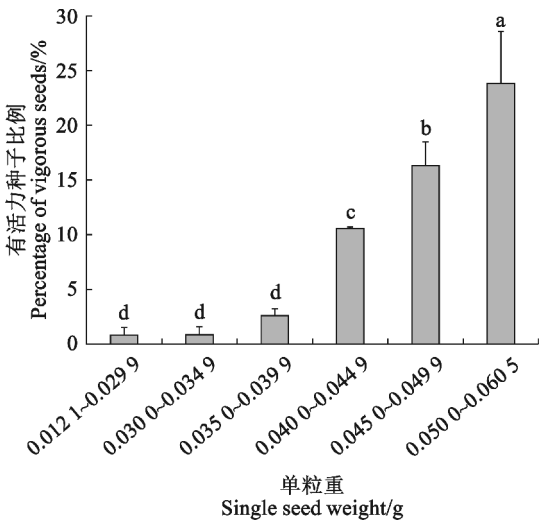


不同小写字母表示不同 B 值组别之间差异显著 ($P<0.05$)。

图 6 不同 B 值下百山祖冷杉种子的种子活力

Different lowercase letters indicate significant differences between different B value groups ($P<0.05$).

Fig. 6 Seed vigor changes of *A. beshanzuensis* seeds with different B values



不同小写字母表示不同单粒重组别之间差异显著 ($P<0.05$)。

图 7 不同单粒重百山祖冷杉种子的种子活力

Different lowercase letters indicate significant differences between different single seed weight groups ($P<0.05$).

Fig. 7 Seed vigor changes of *A. beshanzuensis* seeds with different single seed weight

图 6 所示,百山祖冷杉种子 B 值的最大值为 131,最小值为 54,百山祖冷杉种子活力在 B 值为

76~85 组最高,但其种子活力小于 10%,在 106~131 组最低,为 0%。百山祖冷杉种子 B 值为 54~85,百山祖冷杉种子的种子活力随 B 值增长呈上升趋势,种子 B 值在 54~65 组、66~75 组与 76~85 组间存在显著差异。百山祖冷杉种子 B 值为 76~95,百山祖冷杉种子的种子活力随 B 值增长呈下降趋势, B 值在 76~85 组与 86~95 组间差异显著。百山祖冷杉种子 B 值为 86~105,百山祖冷杉种子的种子活力随 B 值增长又呈上升趋势,但 B 值在 86~95 组与 96~105 组间差异不显著。百山祖冷杉种子 B 值为 96~131,百山祖冷杉种子的种子活力随 B 值增长又呈下降趋势,且 B 值在 96~105 组与 106~131 组间差异显著。整体而言,百山祖冷杉的种子活力随 B 值增大先增大后减小。

如图 7 所示,百山祖冷杉种子单粒重的最大值为 0.060 5 g,最小值为 0.012 1 g,百山祖冷杉种子活力在 0.050 0~0.060 5 g 组最高,但其种子活力小于 30%,在 0.012 1~0.029 9 g 组最低。百山祖冷杉种子单粒重为 0.012 1~0.060 5 g,百山祖冷杉种子的种子活力随百山祖冷杉种子单粒重增长呈上升趋势,单粒重在 0.012 1~0.029 9 g、0.030 0~0.034 9 g、0.035 0~0.039 9 g 组间差异不显著,在 0.035 0~0.039 9 g、0.040 0~0.044 9 g、0.045 0~0.049 9 g、0.050 0~0.060 5 g 组间差异显著,百山祖冷杉种子活力最高可达到 23.81%。

2.4 种子形态和物理特征与种子活力相关性分析及数学模型的构建

对百山祖冷杉种子的长度、宽度、厚度、单粒重、

R 值、 G 值、 B 值和种子活力等指标进行相关性分析,结果(表 1)所示,百山祖冷杉的种子活力分别与百山祖冷杉种子 R 值、 G 值、 B 值和种子长度无显著相关性,但与种子宽度、厚度和单粒重指标间具极显著性正相关;种子长度分别与宽度、厚度、单粒重呈极显著性正相关,而与 R 值为极显著性负相关,与 G 值呈显著性负相关;宽度分别与厚度和单粒重呈极显著性正相关;厚度分别与 R 值、 G 值、 B 值呈极显著性负相关,而与单粒重呈极显著性正相关; R 值分别与 G 值、 B 值呈极显著性正相关,而与单粒重呈极显著性负相关; G 值与 B 值呈极显著性正相关,而与单粒重呈极显著性负相关; B 值与单粒重呈极显著性负相关。

对百山祖冷杉种子活力分别与宽度、厚度和单粒重进行单因素线性回归分析,结果表明:百山祖冷杉种子活力与种子单粒重相关性最为显著($R^2=0.839$),其线性回归方程分别为:

$$V_{Ab}=8.842W-0.258,R^2=0.839,P<0.01$$

(1)

$$V_{Ab}=2.527W_i-1.102,R^2=0.545,P<0.01$$

(2)

$$V_{Ab}=3.957T-1.064,R^2=0.462,P<0.01$$

(3)

式中: V_{Ab} 为百山祖冷杉种子活力; W 为单粒重; W_i 为种子宽度; T 为种子厚度。

对百山祖冷杉种子活力分别与宽度和厚度、宽度和单粒重、厚度和单粒重进行双因素线性回归分析。

表 1 百山祖冷杉种子形态和物理特征与种子活力相关性分析
Table 1 Correlation analysis between seed morphological and physical characteristics and seed vigor of *A. beshanzuensis*

指标 Index	长度 Length	宽度 Width	厚度 Thickness	R	G	B	单粒重 Single seed weight
种子活力 Seed vigor	0.060	0.147 **	0.115 **	-0.053	-0.05	-0.005	0.267 **
长度 Length		0.286 **	0.292 **	-0.133 **	-0.074 *	0.001	0.320 **
宽度 Width			0.196 **	-0.058	-0.027	0.021	0.407 **
厚度 Thickness				-0.372 **	-0.318 **	-0.152 **	0.521 **
R					0.889 **	0.582 **	-0.243 **
G						0.823 **	-0.232 **
B							-0.094 **

注:**表示在 0.01 级别(双尾),相关性极显著;*表示在 0.05 级别(双尾),相关性显著。
Note: ** indicates at the 0.01 level (two tailed), the correlation is extremely significant. * indicates at the 0.05 level (two tailed), the correlation is significant.

百山祖冷杉种子活力与种子单粒重和宽度相关性最为显著($R^2=0.895$),其线性回归线性方程分别为:

$$V_{Ab}=13.861W-0.195W_i+0.467, R^2=0.895, P<0.01 \tag{4}$$

$$V_{Ab}=14.451W-3.800T+0.467, R^2=0.858, P<0.01 \tag{5}$$

$$V_{Ab}=0.921T+2.057W_i-1.149, R^2=0.551, P<0.01 \tag{6}$$

式中: V_{Ab} 为百山祖冷杉种子活力; W 为单粒重; W_i 为种子宽度; T 为种子厚度。

用百山祖冷杉有活力种子与无活力种子的宽度和单粒重建立二维散点图,如图 8 所示,二维散点图中百山祖冷杉有活力种子与无活力种子的分布点有少量重叠,但能够较清楚地区分百山祖冷杉有活力种子与无活力种子。

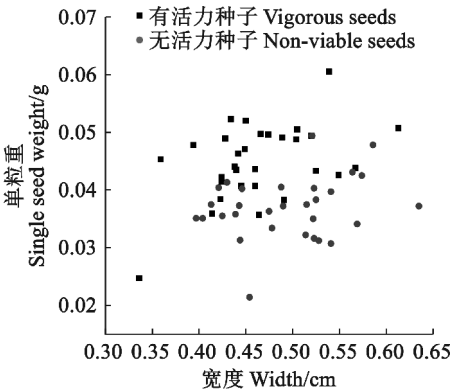


图 8 百山祖冷杉有活力种子与无活力种子的二维散点图
 Fig. 8 Two dimensional scatter plot of vigorous and non-viable seeds of *A. beshanzuensis*

为进一步分析百山祖冷杉种子形态和物理特征与种子活力关系,并能更好地筛选出有活力种子,进行多因素线性回归分析, R^2 可达 0.978。其多因素线性回归方程为:

$$V_{Ab}=0.669+15.414W+0.088L-0.152W_i-0.265T+0.006R-0.007G-0.009B, R^2=0.978, P<0.01 \tag{7}$$

式中: V_{Ab} 为百山祖冷杉种子活力; W 为单粒重; L 为长度; W_i 为宽度; T 为厚度; R 为 RGB 中的 R 值; G 为 RGB 中的 G 值; B 为 RGB 中的 B 值。

R^2 值越接近 1,代表拟合度越好; $P<0.05$,说明回归模型有意义。

用百山祖冷杉有活力种子与无活力种子的宽度、厚度、单粒重建立三维散点图,如图 9 所示,三维散点图中百山祖冷杉有活力种子与无活力种子的分布位置有极少量重叠,能清楚区分百山祖冷杉有活力种子与无活力种子。

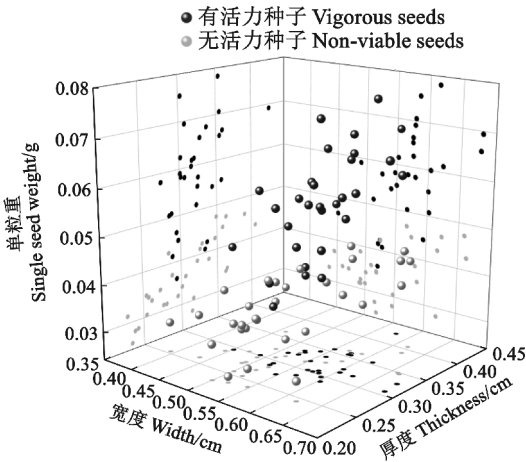


图 9 百山祖冷杉有活力种子与无活力种子的三维散点图
 Fig. 9 Three dimensional scatter plot of vigorous and non-viable seeds of *A. beshanzuensis*

3 讨 论

TTC 染色法是传统的种子活力检测方法^[26]。由于百山祖冷杉种子坚硬、不透水,浸种前剥除种皮,才能使其胚和胚乳细胞活化,然后纵切其胚和胚乳^[15],进行 TTC 染色,易被 TTC 染色,这与水稻种子去皮^[12]相似,种子浸水时间和温度、TTC 浓度和 TTC 染色时间及染色温度都会影响 TTC 染色程度^[10],且不同物种的胚和胚乳细胞活化和组织活性存在差异,因此不同物种种子最佳的浸水时间和温度、TTC 浓度和 TTC 染色时间及染色温度等可能会不同^[15]。

植物种子活力与种子形态、物理指标相关性的研究已有较多报道。本研究结果显示,百山祖冷杉种子活力与其单粒重呈极显著正相关,与邓贵仲等^[21]的青稞种子研究结果一致,但与时伟芳等^[23]研究小麦种子千粒重较小种子活力更高的研究结果不一致;百山祖冷杉种子活力与粒宽呈极显著正相关,与邓贵仲等^[21]的青稞种子研究结果相似,但与薛陶^[22]研究杂交水稻种子的结果和时伟芳等^[23]小麦种子研究结果不一致;百山祖冷杉种子活力与粒长无显著相关性,与邓贵仲等^[21]的研究结果一致,

但与薛陶^[22]和时伟芳等^[23]的研究结果不一致;百山祖冷杉种子活力与 R 值、 B 值、 G 值无显著相关性。与青稞种子活力和 R 、 G 、 B 值呈负相关^[21],杂交籼稻种子 R 值与低温发芽率呈显著正相关的研究结果^[22]不一致。

百山祖冷杉种子活力低,是其濒危的主要原因之一。其种子可育率存在大小年,小年时其可育率甚至小于 1%,严重影响其种群的更新;研究其种子生物学特性是了解其濒危机制的主要内容之一。曾有研究利用百山祖冷杉种子的重量评估其种子质量^[2],但并没有深入探究百山祖冷杉种子活力与单粒重、其他形态及物理特征等的关系,本研究进一步规范地探究了百山祖冷杉种子形态及物理特征与其种子活力之间的关系。

4 结 论

(1)百山祖冷杉有活力种子与无活力种子在 R 值

上有显著性差异;在 B 值和单粒重上有极显著差异。

(2)对百山祖冷杉种子活力分别与宽度、厚度和单粒重进行单因素线性回归分析,其种子活力与种子单粒重相关性最为显著($R^2=0.839$),其线性回归方程为: $V_{Ab}=8.842W-0.258$,该模型能较好地筛选有活力的百山祖冷杉种子。

(3)对百山祖冷杉种子活力分别与宽度和厚度、宽度和单粒重、厚度和单粒重进行双因素线性回归分析,百山祖冷杉种子活力与种子宽度和单粒重相关性最为显著($R^2=0.895$),其线性回归线性方程为: $V_{Ab}=13.861W-0.195W_i+0.467$,该模型能更好地筛选有活力的百山祖冷杉种子。

(4)对百山祖冷杉种子活力与种子形态及物理特征进行多元线性拟合,其线性回归方程为: $V_{Ab}=0.669+15.414W+0.088L-0.152W_i-0.265T+0.006R-0.007G-0.009B$, R^2 可达 0.978,可用于精确无损筛选有活力的百山祖冷杉种子。

参考文献:

[1] 刘柯,刘彬,袁璐,等. 濒危植物百山祖冷杉种子发育特征及其胚培养[J]. 植物学报, 2021, 56(5): 573-583.
LIU K, LIU B, YUAN L, et al. Seed development and embryo culture of endangered *Abies beshanzuensis* [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2021, 56(5): 573-583.

[2] 袁建国. 百山祖冷杉濒危机制与保护对策研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.

[3] GONG L, ZHAO J J. The response of fine root morphological and physiological traits to added nitrogen in Schrenk's spruce (*Picea schrenkiana*) of the Tianshan mountains, China[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e8194.

[4] 王涵雅,李欣,毛娟,等. TTC 染色鉴定葡萄抗寒性方法的优化与应用[J]. 西北植物学报, 2022, 42(10): 1760-1768.
WANG H Y, LI X, MAO J, et al. Optimization of TTC staining of grape branch and its application in the evaluation of cold resistance[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(10): 1760-1768.

[5] LI M C, JIANG F F, HUANG L B, et al. Optimization of *in vitro* germination, viability tests and storage of *Paeonia ostii* pollen[J]. *Plants*, 2023, 12(13): 2460.

[6] SUN Y, WANG X, CHEN Z K, et al. Quantitative proteomics and transcriptomics reveals differences in proteins during anthers development in *Oryza longistaminata* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 744792.

[7] HUA Y P, WANG Y, ZHOU T, et al. Combined morpho-physiological, ionomic and transcriptomic analyses reveal adaptive responses of allohexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) to iron deficiency[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, 22(1): 234.

[8] LI L, WANG F, LI X H, et al. Comparative analysis of the accelerated aged seed transcriptome profiles of two maize chromosome segment substitution lines[J]. *PLoS One*, 2019, 14 (11): e0216977.

[9] 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.

[10] 陈兵先,张琪,戴彰言,等. 水稻种子 TTC 染色及萌发特性研究[J]. 广东农业科学, 2021, 48(7): 1-8.
CHEN B X, ZHANG Q, DAI Z Y, et al. Study on TTC staining and germination characteristics of rice seeds [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2021, 48(7): 1-8.

[11] QIAO J X, LIAO Y, YIN C S, et al. Vigour testing for the rice seed with computer vision-based techniques[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1194701.

[12] LI Y Y, GUO L N, CUI Y, et al. Lipid transfer protein, OsLTPL18, is essential for grain weight and seed germination in rice[J]. *Gene*, 2023, 883: 147671.

[13] MA Z X, LIU J, DONG J J, *et al.* Optimized qualitative and quantitative methods for barley viability testing using triphenyl tetrazolium chloride staining [J]. *Cereal Chemistry*, 2019, 96(3): 421-428.

[14] XIANG X Y, ZHANG Z X, WU G L. Effects of seed storage conditions on seed water uptake, germination and vigour in *Pinus dabeshanensis*, an endangered pine endemic to China [J]. *Seed Science and Technology*, 2019, 47(2): 229-235.

[15] LONG Y, WANG Q Y, TANG X Y, *et al.* Label-free detection of maize kernels aging based on Raman hyperspectral imaging technique[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2022, 200: 107229.

[16] 尹微, 石一珺, 王悦骅, 等. 种子活力影响因素与测定方法研究进展[J]. 种业导刊, 2023(1): 7-11.

YIN W, SHI Y J, WANG Y H, *et al.* Research progress on influencing factors and determination methods of seed vigor [J]. *Journal of Seed Industry Guide*, 2023(1): 7-11.

[17] KOCOT D, SITEK E, NOWAK B, *et al.* The effectiveness of the sexual reproduction in selected clonal and nonclonal species of the genus *Ranunculus* [J]. *Biology*, 2022, 11(1): 85.

[18] DELL'AQUILA A. Application of a computer-aided image analysis system to evaluate seed germination under different environmental conditions[J]. *Italian Journal of Agronomy*, 2004, 8(1): 51-62.

[19] PANDEY N, KRISHNA S, SHARMA S. Automatic seed classification by shape and color features using machine vision technology[J]. *International Journal of Computer Applications Technology and Research*, 2013, 2(2): 208-213.

[20] DANA W, IVO W. Computer image analysis of seed shape and seed color for flax cultivar description[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2008, 61(2): 126-135.

[21] 邓贵仲, 代欢, 彭玉琳, 等. 青稞种子活力与种子形态指标相关性分析[J]. 分子植物育种, 2023, 21(8): 2703-2709.

DENG G Z, DAI H, PENG Y L, *et al.* Correlation analysis between morphological indexes and seed vigor of hulless barley[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2023, 21(8): 2703-2709.

[22] 薛陶. 杂交水稻种子形态物理特征与种子活力关系的初步研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2014.

[23] 时伟芳, 贾佳, 冯鹏飞, 等. 春小麦种子物理指标与种子活力关系的初步分析[J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(7): 1-12.

SHI W F, JIA J, FENG P F, *et al.* Preliminary analysis on correlations between seed vigor and physical traits of spring wheat[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2016, 21(7): 1-12.

[24] 谭廷鸿, 王卓, 吴礼佳, 等. 濒危植物梵净山冷杉的球果与种子性状研究[J]. 西北植物学报, 2022, 42(10): 1671-1681.

TAN T H, WANG Z, WU L J, *et al.* Study on the cones and seeds traits of the endangered plant, *Abies fanjingshanensis* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(10): 1671-1681.

[25] 孙玉玲, 李庆梅, 杨敬元, 等. 秦岭冷杉球果与种子的形态变异[J]. 生态学报, 2005, 25(1): 176-181.

SUN Y L, LI Q M, YANG J Y, *et al.* Morphological variation in cones and seeds in *Abies chensiensis* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(1): 176-181.

[26] XING M Y, LONG Y, WANG Q Y, *et al.* Physiological alterations and nondestructive test methods of crop seed vigor: A comprehensive review [J]. *Agriculture*, 2023, 13(3): 527.