

GA₃ 和变温层积对天女木兰种子 萌发及内源激素的影响

陆秀君, 梅 梅, 刘月洋, 张晓林, 马蓓蓓

(沈阳农业大学 林学院, 沈阳 110866)

摘 要: 用不同质量浓度 GA₃ 浸泡天女木兰种子并结合变温层积处理, 应用高效液相色谱法对不同时期种子中 4 种激素 GA₃、IAA、ABA、ZR 含量进行测定, 并测量种胚长和萌发率, 以探讨天女木兰种胚发育, 内源激素含量变化与种子休眠萌发之间的调控关系, 为进一步研究种子休眠机理提供理论基础。结果表明: (1) 天女木兰成熟种子胚发育不完全, 胚乳内高浓度 ABA 和低浓度 GA₃ 是其休眠的主要原因。 (2) GA₃ 处理能促使天女木兰种子提前 30 d 完成形态后熟, 并以 1 500 mg · L⁻¹ GA₃ 处理效果最佳。 (3) 在变温层积过程, 天女木兰种胚发育可分三个阶段: 阶段 I (0~70 d) 完成种胚进一步分化; 阶段 II (70~120 d) 种胚快速生长时期; 阶段 III (120~150 d) 休眠完全解除, 种子具备发芽能力。种子能否打破休眠主要取决于阶段 I 和 II 的状况。 (4) GA₃/ABA、IAA/ABA 和 ZR/ABA 在种子后熟期间的变化同胚生长发育存在一致性, 认为内源激素的相对水平对种子休眠具有重要的调控作用。

关键词: 天女木兰; 种子; 打破休眠; 萌发特性; 内源激素

中图分类号: Q945.34

文献标志码: A

Effect of Treatment with GA₃ and Variable Temperature Stratification on Germination and Endogenous Hormones of *Magnolia sieboldii* Seeds

LU Xiujun, MEI Mei, LIU Yueyang, ZHANG Xiaolin, MA Beibei

(College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Through soaking seeds with different concentrations of GA₃ combination of variable temperature stratifications, we analyzed the content of four hormones (GA₃, IAA, ABA, ZR) in seeds of different periods by high performance liquid chromatography and measuring the embryo length and seed germination rate of *M. sieboldii*, to learn the relationship among the development of embryo, the levels of endogenous hormones and the regulation of seed dormancy and germination, to provide a theoretical basis for further study of seed dormancy mechanism, to provide a theoretical basis for further research on seed dormancy mechanism. we came to certain conclusions as below: (1) Embryo of mature seeds of *M. sieboldii* developed incompletely and seed dormancy was mainly due to high concentration of ABA and low concentrations of GA₃; (2) GA₃ treatments could stimulate the morphological maturation of seeds by 30 days, and treatment with GA₃ of 1 500 mg · L⁻¹ saw the best effect; (3) The whole temperature stratification process could be divided into three stages: Stage I (0—70 d), this stage was to complete the further differentiate of the seed embryo; Stage II (70—120 d) was the fast grow period of embryo; Stage III (120—150 d), seed dormancy was broken absolutely and seeds had the ability to sprout. Whether seeds can break dormancy depends on stage I and stage II; (4) The changes of GA₃/ABA, IAA/ABA and ZR/ABA consist of embryo growth and de-

收稿日期: 2014-03-01; 修改稿收到日期: 2014-07-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31070561); 辽宁省农业科技攻关项目(2011207003)

作者简介: 陆秀君(1966—), 女, 教授, 主要从事森林培育研究工作。E-mail: lxjsyau@126.com

velopment during the ripening of the seeds. The relative level of hormones played an important role in seed dormancy regulation.

Key words: *Magnolia sieboldii*; seed; dormancy breaking; germination characteristics; endogenous hormones

天女木兰(*Magnolia sieboldii* K. Koch.)是木兰科(Magnoliaceae)木兰属(*Magnolia*)落叶小乔木,为国家三级重点保护植物,也是中国东北地区唯一的野生木兰属植物。天女木兰是观叶、观花、观果、观形、品香的著名观赏树种,加之人工栽培的天女木兰有1年两次开花现象^[1-2],是一种具有广阔开发前景的珍稀野生木本植物。

关于天女木兰种子休眠与萌发特性的研究近年来已有一些报道,如天女木兰种子具有深休眠特性,种胚发育不完全、种子中含有萌发抑制物质等是导致天女木兰种子休眠的主要原因^[3-4];抑制天女木兰种子萌发的物质存在于外种皮和中种皮,油性胚乳有限制萌发的作用^[5]。为了打破天女木兰种子休眠,学者们通过不同层积处理结合药剂浸种等方法开展了一系列研究,结果表明:经200~500 mg·L⁻¹ GA₃浸种并进行变温层积的天女木兰种子催芽效果最佳^[6-8];GA₃浸种结合变温层积处理能提高天女木兰种子后熟期间种子内过氧化氢酶和过氧化物酶的活性,促进种子中可溶性糖含量、可溶性蛋白含量升高,种子呼吸速率在后期增强^[9-10];在GA₃浸种结合变温层积处理解除休眠过程中,碳水化合物参与并调节解除天女木兰种子休眠。另外,陆秀君等^[11]以GA₃诱导天女木兰种子,研究了变温层积过程中种子淀粉、糖含量及糖代谢关键酶(酸性转化酶AI、中性转化酶NI、蔗糖合成酶SS、蔗糖磷酸合成酶SPS)活性变化规律。目前,关于天女木兰种子休眠机理的探讨还不够深入,鲜见内源激素在解除种子休眠过程中变化的报道,也未见关于木兰属树木种子内源激素与其休眠之间关系的研究。鉴于此,本试验中采用HPLC方法探讨了天女木兰种子在变温层积过程中种胚发育及其与内源激素含量变化的关系,为揭示天女木兰种子休眠机理,打破种子休眠提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 种子层积处理

本实验采用的天女木兰种子采自辽宁省老秃顶子国家级自然保护区天女木兰实生树。种子的净度为82.36%,千粒重59.59 g,含水量6.82%,饱满度为73.18%。脱去天女木兰种子外种皮,经0.2%

KMnO₄溶液表面消毒30 min,清水浸泡48 h后,分别用500、1 000、1 500 mg·L⁻¹ GA₃溶液浸种处理48 h,并以清水浸种为对照(CK)。将各处理天女木兰种子与消毒过的湿沙按体积比1:3混拌,放入花盆进行层积处理。层积温度设定为:低温(0~5℃,30 d)→昼夜变温(日:8~10℃;夜:-5~0℃,60 d)→交替变温(高:12~14℃;低:0~5℃,每隔5 d变温1次,60 d)。各处理分别在层积0、20、40、70、90、120、150 d取样,液氮速冻后放入-70℃超低温冰箱保存。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 种子和种胚长度 先测量气干种子种胚的长度(四分法取出30粒种子,用游标卡尺在解剖镜下量取长度)。在不同层积处理中,分别取层积0、20、40、70、90、120、150 d的种子,然后用游标卡尺在解剖镜下量取长度,测量种胚大小,每个重复20粒,3次重复。

1.2.2 发芽率 将定期取样的天女木兰种子放入全自动发芽培养箱内,温度设定为(23±2)℃,20 d后统计各处理发芽率。每个培养皿内放入天女木兰种子50粒,3次重复。

1.2.3 内源激素含量 参照谢君^[12]的高效液相色谱(HPLC)方法,并加以改进,测定激素包括:生长素(IAA)、赤霉素(GA₃)、玉米素核苷(ZR)和脱落酸(ABA)。具体过程为:分别称取胚乳和种皮3 g,加80%甲醇研磨→浸提24 h后10 000 g离心→加入石油醚萃取脱色→过C₁₈小柱纯化→0.5 mL甲醇洗脱→0.45 μm滤膜过滤。测定条件:流速1 mL/min,柱温35℃,流动相甲醇:3%乙酸=45:55,IAA、ABA、ZR波长设定为254 nm,GA₃波长设定为210 nm。所用的GA₃、IAA、ABA和ZR标准品均为Sigma公司产品。

1.3 数据处理

用SPSS软件和Excel软件对数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 GA₃层积处理对天女木兰种子萌发的影响

对变温层积前后的种子进行解剖观察,发现种胚大小及发育状况均发生了明显变化。层积前天女木兰成熟种子胚乳丰富,种胚已分化出子叶原基,但

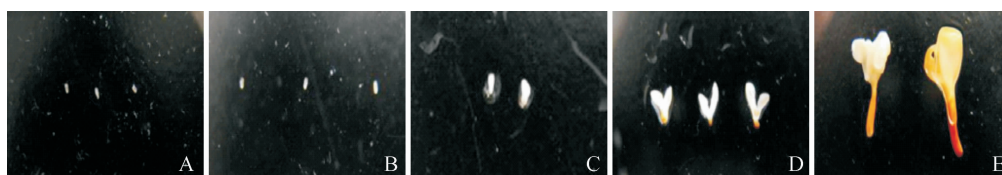


图1 层积过程中天女木兰种胚生长情况

A~E 分别为层积 30、60、90、120 和 150 d 的种胚

Fig. 1 Growth of *M. sieboldii* embryos during stratification process

A-E stand for the embryo laminated for 30, 60, 90, 120 and 150 d, respectively

胚较小,不足 1 mm 多数呈心形胚,胚长约占整个种子长度的 12.17%。很显然天女木兰种子休眠是由于种胚未分化完全造成的。层积处理 0~70 d,各处理种胚增长比较缓慢,油状胚乳逐渐转变为乳白色浆状,胚易剥离,CK 处理种胚占种子的比例为 18.69%,而 GA_3 各处理种胚占种子比例均超过 20%;层积处理 90 d 后,各处理种胚都出现显著的增长,尤以 GA_3 各处理更为明显,个别种子出现“露白”现象,其中 1 000、1 500 $mg \cdot L^{-1}$ GA_3 处理种胚长度均超过 4 mm,种胚占种子比例达 70% 以上;层积 120 d 后,各 GA_3 处理种子均已“露白”,以高浓度 GA_3 处理种胚发育最佳,其胚根大部分已经伸出;层积 120~150 d,各处理种胚长增长速度有所减缓, GA_3 处理胚长明显大于对照,并有随 GA_3 浓度增加而增长的趋势,如层积 150 d 时,1 500 $mg \cdot L^{-1}$ GA_3 处理胚长达最大值(4.89 mm),种胚占种子比例高达 86.24%(图 1,图 2)。

同时,结合天女木兰种子发芽状况(图 3)可以看出:层积初期(0~70 d),各处理天女木兰种胚生长缓慢,种子均未萌发;层积 90 d 后, GA_3 各处理出现零星发芽,标志着天女木兰种子开始打破休眠;随着层积时间的继续延长, GA_3 各处理种子在 120 d 时大部分已经“露白”,萌发率均达 70% 左右,说明休眠基本解除,之后种子萌发率持续增加。与 CK 处理相比, GA_3 处理能促使种子提前 30 d 左右完成后熟过程,从而有利于种胚的发育,并且 GA_3 能显著促进天女木兰种子发芽,并以 1 500 $mg \cdot L^{-1}$ GA_3 处理效果最佳,发芽率高达 78%。以上结果说明随着层积时间的延长以及 GA_3 浓度的增加,天女木兰种子发芽率得以明显提高;外源 GA_3 浸种有利于种子休眠解除和萌发。

2.2 层积过程天女木兰种子胚乳中内源激素含量及比值的变化特征

在整个种子层积过程中(图 4),胚乳内 GA_3 、ABA、IAA、ZR4 种激素含量的变化表现出不同的

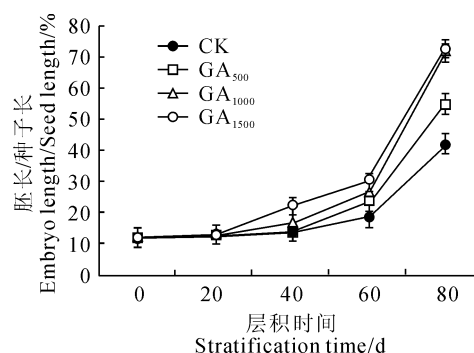


图2 层积过程中天女木兰种胚所占种子的比例情况

CK、 GA_{500} 、 GA_{1000} 和 GA_{1500} 分别表示浸种浓度为0(对照)、500、1 000 和 1 500 $mg \cdot L^{-1}$ GA_3 处理;下同Fig. 2 Ratios of embryo to kernel length of *M. sieboldii* seeds during stratification process

CK, GA_{500} , GA_{1000} and GA_{1500} represent soaking concentrations of 0 (CK), 500, 1 000 and 1 500 $mg \cdot L^{-1}$ GA_3 treatment, respectively; The same as below

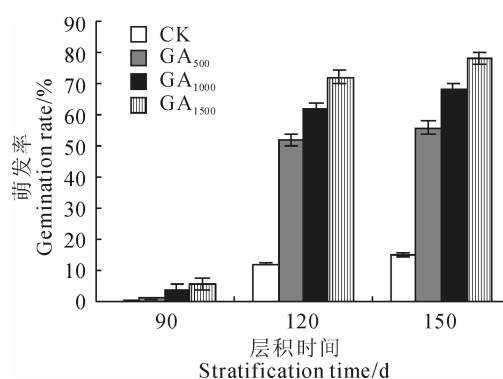


图3 不同处理天女木兰种子 90~150 d 的发芽率

Fig. 3 Germination rate of *M. sieboldii* seeds under

different treatments after 90~150 days stratifying

规律。其中,各处理胚乳内 GA_3 含量随层积时间均呈双峰变化趋势,分别在层积 40 和 120 d 时依次达到峰值,且 1 000 和 1 500 $mg \cdot L^{-1}$ GA_3 处理胚乳内 GA_3 的含量保持在较高水平,这主要是因为较高浓度的外源 GA_3 浸泡致使胚乳内 GA_3 含量升高所致。各处理胚乳内 ABA 含量随层积时间大体上呈

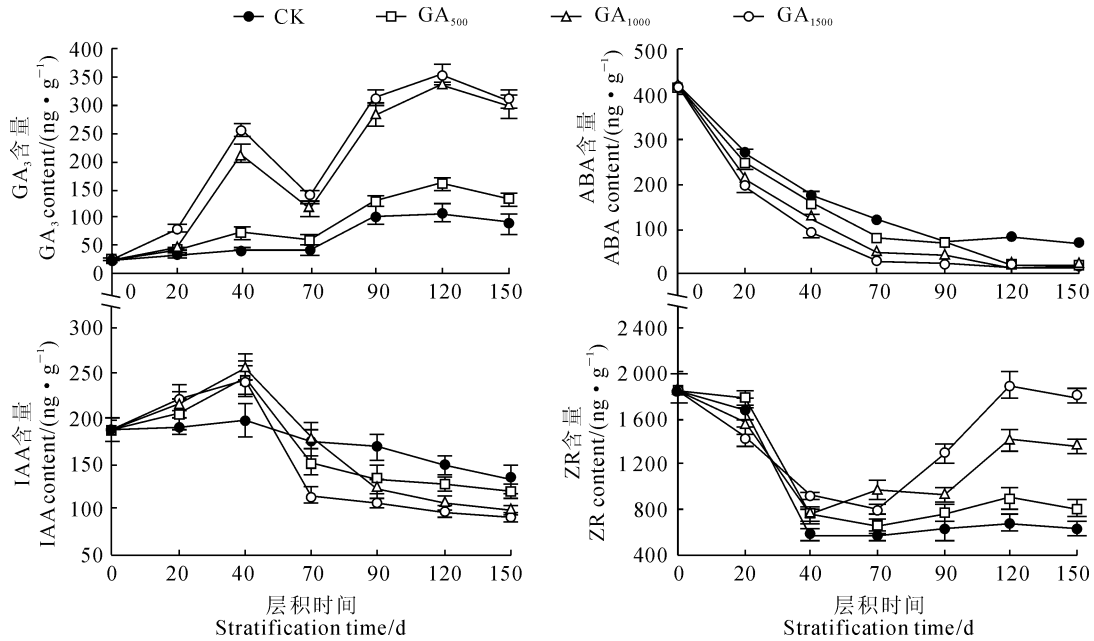


图 4 不同处理胚乳中内源激素含量的变化

Fig. 4 Changes of endogenous hormone contents in endosperm with different treatment

持续下降趋势,且各处理胚乳内 ABA 含量相差不大。胚乳内 IAA 含量在 CK 处理中随层积时间呈缓慢下降趋势,而在 GA₃ 各处理胚乳中呈先升高后下降的趋势,并均在层积 40 d 时达到峰值,随后逐渐下降,且以 1 500 mg · L⁻¹ GA₃ 处理下降幅度最大,在各处理间处于最低水平。各处理胚乳中 ZR 含量随层积时间均呈先下降后上升再下降的趋势,并均在层积处理 40 d 时达到最低值,在层积 120 d 时达到第二个峰值,但对照和 500 mg · L⁻¹ GA₃ 处理达到最低值后变化较平稳,而 1 000 和 1 500 mg · L⁻¹ GA₃ 处理胚乳内 ZR 含量在后期有明显升高。胚乳内 ZR 含量第二个高峰可能与 GA₃ 含量的第二个高峰共同起到了解除天女木兰种子休眠的作用,从而促进胚细胞分裂生长,为胚的萌发做准备。

同时,天女木兰种子变温层积处理期间,其胚乳中各种激素相对含量(比值)变化也存在差异(图 5)。表现为 CK 处理胚乳内 GA₃/ABA、IAA/ABA 和 ZR/ABA 比值变化幅度较小,一直稳定在较低水平;而 GA₃ 浸种处理的胚乳内各激素比值在整个层积过程中大体呈逐渐升高的趋势,且有随 GA₃ 浓度增大而增加的趋势。胚乳中激素比值上升说明发芽促进物质占相对优势,“解抑作用”明显,种子向萌发的方向发展。GA₃ 各处理胚乳中 GA₃/ABA、IAA/ABA 和 ZR/ABA 比值明显高于 CK 处理,说明外源 GA₃ 浸泡对促进天女木兰种子解除休眠有着重要影响,这也进一步证实了 GA₃ 是天女木兰种子萌

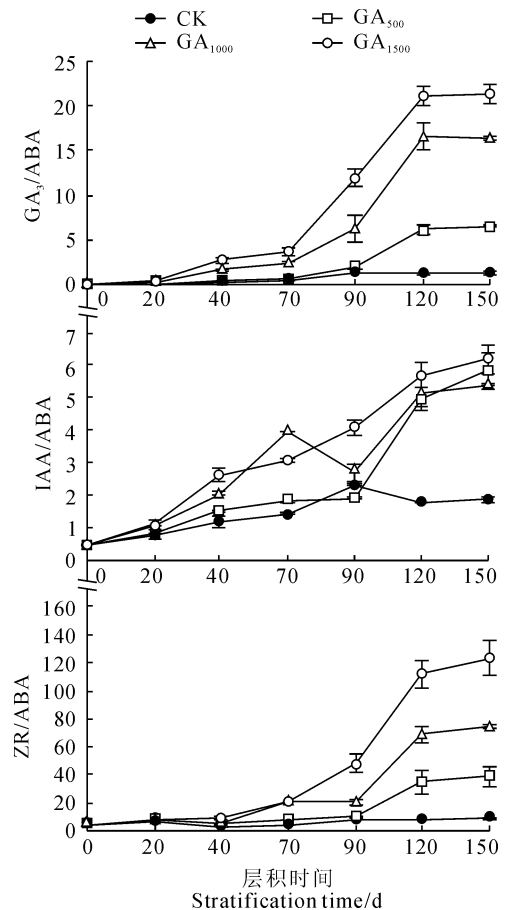


图 5 层积过程胚乳中内源激素类物质比值的变化

Fig. 5 Variation of different hormone ratios in endosperm during stratification treatment

发的促进物质。纵观整个层积过程胚乳中激素比值的变化发现,ZR/ABA 比值最大, GA_3 /ABA 次之,IAA/ABA 最小,说明 ZR 和 GA_3 是促进种子休眠解除的主要调节物,而 IAA 对休眠解除的调节作用较小;在层积 70 d 后, GA_3 /ABA、ZR/ABA 和 IAA/ABA 显著增加,此时正是种胚快速生长期,进一步证明了 GA_3 和 ZR 是天女木兰种子休眠解除的促进物,而 ABA 是抑制物。

2.3 层积过程天女木兰种子种皮中内源激素含量及比值的变化特征

图 6 显示,天女木兰种子层积过程中各处理种皮内 GA_3 含量呈波动式变化,层积结束后 GA_3 含

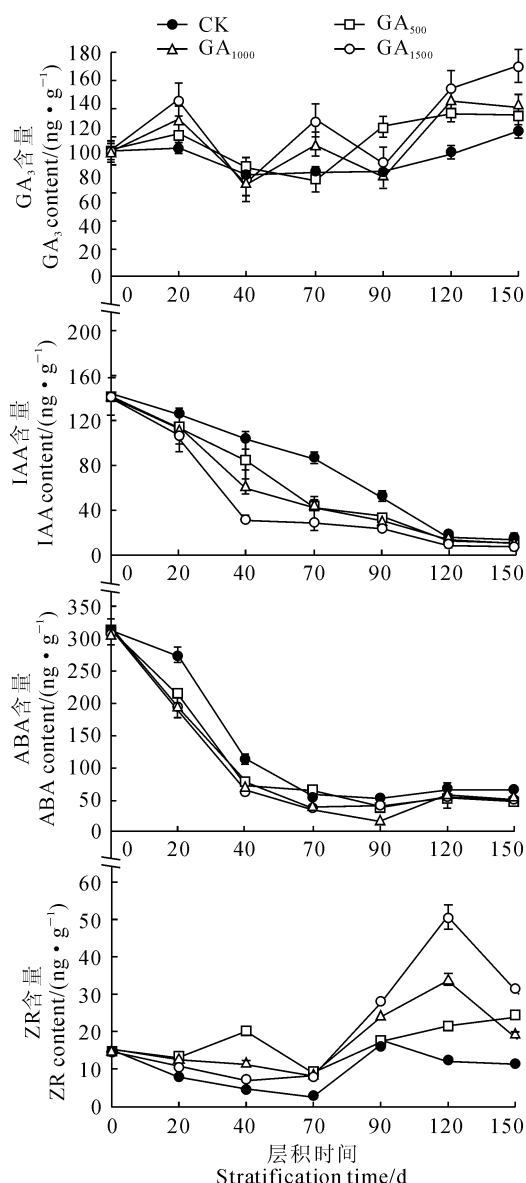


图 6 不同处理种皮中内源激素含量的变化
Fig. 6 Changes of endogenous hormone contents in testa with different treatments

量有所增加,但是低于胚乳中同时期 GA_3 总含量。各处理种皮内 ABA 含量随处理时间均呈下降趋势,而且 CK 处理比 GA_3 各处理 ABA 含量要高。各处理种皮内 IAA 含量随处理时间也均呈下降趋势,但处理间差异并不显著;种皮内 IAA 含量在层积处理前高于胚乳,而至层积 40 d 后明显低于胚乳。种皮内 ZR 含量在层积初期相对稳定,后期含量有所增加,说明种子休眠解除过程中种皮内 ZR 也起到一定的调节作用。

同时,天女木兰种子种皮内各处理激素含量比值变化趋势基本一致,在变温层积前期变化幅度较小,后期(70 d 后)明显升高,仍以 $1\ 500\ mg \cdot L^{-1}$ GA_3 处理处于最高水平。变温层积 70 d 内,各处理种皮内 GA_3 /ABA 平稳增加,IAA/ABA 波动式下降,ZR/ABA 保持稳定状态;层积 70~120 d,各处理种皮内 GA_3 /ABA、IAA/ABA 和 ZR/ABA 均出现大幅度增加,此时胚正处于快速生长期;至层积 120 d 时,胚基本上完成休眠解除过程。变温层积

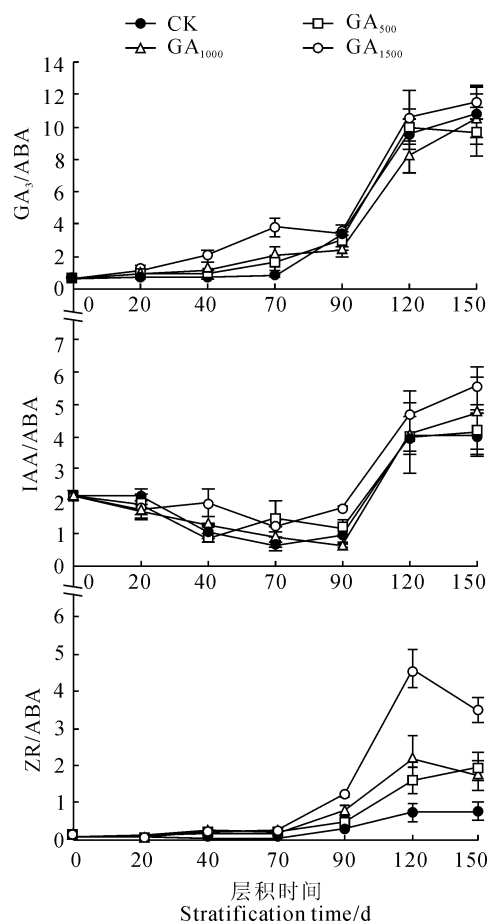


图 7 层积过程种皮中内源激素类物质比值的变化
Fig. 7 Variation of different hormone ratios in testa during stratification treatment

过程中种胚生长发育能力的提高与种皮内 GA₃/ABA、IAA/ABA 和 ZR/ABA 比值增加趋势基本一致,其中 GA₃/ABA 增幅最大,其次是 IAA/ABA, ZR/ABA 增幅最小。以上结果表明在整个变温层积期间,种皮中促进物 GA₃ 与抑制物 ABA 的比值变化与天女木兰种子解除休眠密切相关。

3 讨 论

内源激素的变化是种子储藏物质转化、大分子物质合成和萌发的重要条件^[13]。天女木兰种子休眠解除过程中,随着层积时间的延长,内源激素 ABA、GA₃、ZR 和 IAA 含量都在发生一系列变化,这从另一个角度说明,天女木兰种子休眠并非取决于某一种促进或抑制物含量的高低,而是各种因素共同作用的结果。

研究表明,GA₃ 在促进种子发育、调控种子发芽中起着十分重要的作用。种子休眠的解除总是与赤霉素类物质的积累相伴发生的^[14]。祝遵凌^[15]和陈丽培^[16]均发现种子在变温层积过程中,GA₃ 含量呈逐渐增加上升趋势。本试验结果表明,在整个变温层积过程中,各处理天女木兰胚乳和种皮内 GA₃ 含量均在种子休眠解除期(120 d)含量达到最大,此时种胚增大明显,各种代谢作用增强;GA₃ 有利于诱导胚乳中多种酶的释放,并通过提高各种酶的活性^[9],加速体内贮藏物质的分解^[17],从而促进天女木兰种子的萌发。

一般认为高浓度的 ABA 是造成植物种子休眠的重要原因^[18]。大量相关研究表明,种子内源 ABA 与其休眠程度呈显著正相关^[19-21]。但是也有研究得到不一致的观点,根据 Khan^[22]报道,游离型 ABA 不一定阻止休眠种子的生长。在小麦(*Triticum aestivum* Linn.)^[23]、大麦(*Hordeum vulgare*)^[24]和高粱(*Sorghum bicolor*)^[25]等多种植物上也发现种子中的 ABA 含量与休眠之间的关系并不密切,而离体胚萌发时对 ABA 的敏感性与种子的休眠程度相关。近来也有更多的实验结果表明^[26-28],ABA 的含量在种子贮藏或层积过程中的降低并不是解除休眠的前提条件,种子休眠的诱导和解除可能是包括 ABA 在内的多种抑制因素协调作用的结果。本试验结果发现,天女木兰种子层积过程中种皮和胚乳内的 ABA 含量持续下降,与种胚发育呈显著负相关。因此,认为天女木兰种子的休眠习性与种皮特别是胚乳中含有的大量 ABA 有密切关系,但成熟种子中单一高含量抑制物 ABA 并

不是引起天女木兰种子休眠的主导因素^[29]。

有关 IAA 与种子休眠解除之间的关系至今仍有不同的看法。在朝鲜冷杉(*Abies koreana*)^[30]、华北驼绒藜(*Ceratoides arborescens*)^[31]、伏毛铁棒锤(*Aconitum flavum*)等^[19]植物种子的研究中,发现层积过程休眠种子中 IAA 含量总体呈上升趋势,对解除休眠起到一定的作用。但是也有一些研究表明^[32-34],种子休眠解除与 IAA 含量关系影响不大,过高的 IAA 含量甚至抑制种子的萌发,而少量 IAA 的增加可能是由于胚的生长造成的,IAA 与其休眠和萌发关系不大。本试验结果表明,天女木兰胚乳内 IAA 含量呈倒“V”形变化,而种皮内 IAA 含量呈持续减少趋势;陆秀君等^[29]研究认为,伴随着天女木兰种子的发育,IAA 含量逐渐升高,在种子脱落时达到最大值,由此推测 IAA 可能对种子发育是有促进作用的,但过高浓度的 IAA 对种子解除休眠萌发不利。不过有关 IAA 对天女木兰种子萌发的影响仍需进一步的研究。

ZR 具有抵消发芽抑制物质的作用,调控种子发育中的物质和能量代谢^[35]。本试验结果表明,胚乳和种皮内 ZR 含量先减少再急剧增加,二者均在种子休眠基本解除时(120 d)达到最大值,说明随着层积时间的延长,ZR 作为促进细胞分裂并调节细胞分化的重要物质含量随之升高,这可能是由于大批的束缚型 ZR 释放形成了游离型 ZR,致使天女木兰幼胚不断生长。与种皮相比,胚乳中 ZR 含量较高且变化剧烈,对天女木兰种子的萌发起主要的调节作用。

另外,种子萌发过程除了受 GA₃、ABA、IAA 和 ZR 等激素含量的影响外,激素间的平衡关系也对种子萌发的调控发挥重要作用^[36]。本实验发现天女木兰种子层积过程中种皮和胚乳内 GA₃/ABA、IAA/ABA 与 ZR/ABA 比值均在层积前 70 d 内变化平稳,之后逐渐增加,说明促进生长的激素与抑制生长的激素比值的升高对种子萌发起到积极的促进作用。另外,胚乳和种皮内 IAA/ABA 比值变化均较小,说明在整个变温层积过程中 IAA 相对于其他激素对种子休眠解除的作用较小。单一激素含量和激素比值在胚乳中波动变化明显高于种皮变化,所以说成熟种子胚乳内高浓度的 ABA 和低浓度的 GA₃ 是天女木兰种子休眠的主要原因。

综上所述,适宜浓度的外源 GA₃ 处理可有效促进天女木兰种子休眠的解除,在变温层积过程中,天女木兰种胚发育进程可分 3 个阶段。阶段 I (0~70

d), 种胚完成进一步分化, 阶段Ⅱ(70~120 d), 种胚快速生长期, 阶段Ⅲ(120~150 d), 休眠完全解除, 种子具备发芽能力。研究发现: 在种胚发育过程中, 种子内源激素参与种胚发育的作用和激素变化规律不尽相同。阶段Ⅰ(0~70 d), 尽管种子胚长变化较小, 但其中 ABA 含量由最高峰降至较低水平, IAA 含量也有所下降, 但其对种胚分化是否起抑制作用, 还有待进一步证实。阶段Ⅱ(70~120 d), 该阶段虽种子胚长变化较大, 但 ABA 和 IAA 变化不明显, 表明种胚生长同二者并无明显相关性, 而 GA₃ 和 ZR 则表现为促进效应, 二者达到高峰时, 正值种胚完成后熟过程, 胚休眠基本解除。值得注意的是, ZR 在阶段Ⅰ中, 伴随着胚分化的进行, 含量

有所下降, 表现出 ZR 对种胚分化有抑制作用, 而在阶段Ⅱ中, ZR 含量又迅速回升, 至 120 d 时达到高峰, 此时 ZR 又对种胚生长萌发起着促进作用。因此, 在整个层积过程中, ZR 似乎起着双重作用, 有关这一问题还值得进一步探索。阶段Ⅲ(120~150 d), 休眠完全解除, 该阶段 ABA 和 IAA 含量基本稳定, 处于最低水平, 而 GA₃ 和 ZR 仅有小幅回落, 此时胚长变化甚微, 发芽率增长不明显, 充分说明层积 120 d 时, 种子已经完全解除休眠, 具备了发芽能力, 但个别种子出现霉烂现象, 说明天女木兰种子层积时间控制在一定范围(120 d)对休眠的解除有益, 层积时间过长不利于种子萌发。

参考文献:

- [1] 景爱, 莫永甫. 本溪名花天女木兰[N]. 中国绿色时报, 2009-12-8(B04).
- [2] MA B B(马蓓蓓), LU X J(陆秀君), ZHANG X L(张晓林). Research on biological characteristics of *Magnolia sieboldii* K. Koch. in Shenyang area[J]. *Northern Horticulture* (北方园艺), 2012, (6): 51-54(in Chinese).
- [3] DU F G(杜凤国), DIAO SH Q(刁绍起), WANG H(王欢). Phenology and growth process of *Magnolia sieboldii*[J]. *Journal of Northeast Forestry University* (东北林业大学学报), 2006, 7(3): 269-272(in Chinese).
- [4] LI P(李彭), LU X J(陆秀君), YAO F(姚飞). Preliminary study on reasons of seed dormancy of *Magnolia sieboldii* K. Koch[J]. *Seed* (种子), 2006, 25(2): 36-39(in Chinese).
- [5] 周凌娟. 天女木兰、白玉兰离体培养的研究和木兰属几种植物杂交育种初探[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2002.
- [6] LU X J(陆秀君), WANG N N(王妮妮), LI T L(李天来). Effect of different soaking and accelerating germination disposals on forced germination of *M. sieboldii* K. Koch seeds[J]. *Journal of Northwest A&F University* (西北农林科技大学学报), 2008, 3(65): 135-140(in Chinese).
- [7] WANG N N(王妮妮), LU X J(陆秀君), HUANG G F(黄桂凤). Effect of temperature on seed stratification of *Magnolia sieboldii*[J]. *Journal of Northwest Forestry University* (西北林学院学报), 2011, 26(1): 82-85(in Chinese).
- [8] TIAN H(田洪), QIN J M(秦佳梅), ZHANG W G(张卫国). The reproductive technology of *Magnolia sieboldii*[J]. *Special Economic Animal and Plant* (特种经济动植物), 2000, (4): 21(in Chinese).
- [9] LU X J(陆秀君), LIU Y Y(刘月洋), CHEN X X(陈晓旭). Physiological and biochemical changes respond to seed after-ripening in *Magnolia sieboldii* K. Koch[J]. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 2009, 31(6): 164-168(in Chinese).
- [10] LIU Y Y(刘月洋), LU X J(陆秀君), LI T L(李天来). Effect of GA₃ on carbohydrate content during the process of dormancy-breaking in *Magnolia sieboldii* seeds[J]. *Seed* (种子), 2010, 29(2): 13-16(in Chinese).
- [11] LU X J(陆秀君), LIU Y Y(刘月洋), LI T L(李天来). Change of storage substance contents and sucrose-metabolizing enzyme activities on GA₃ induced during the variable-temperature stratification of *M. sieboldii* K. Koch seeds[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University* (沈阳农业大学学报), 2010, 41(1): 18-22(in Chinese).
- [12] XIE J(谢君), ZHANG Y ZH(张义正). Determination of plant intrinsic hormones by reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Instrumental Analysis* (分析测试学报), 2001, 20(1): 60-62(in Chinese).
- [13] AA 卡恩, 王沙生, 洪铁宝. 种子休眠和萌发的生理生化[M]. 高荣孚译. 北京: 农业出版社, 1989: 3.
- [14] MOHAMMAD M, SMITH D L. Plant hormones and seed germination[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2014, 99: 110-121.
- [15] ZHU Z L(祝遵凌), XU Y Y(许园园), LIN Q M(林庆梅). Changes of endogenous hormones content during the stratification of *Carpinus betulus* seeds[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University* (Agricultural Science) (上海交通大学学报·农业科学版), 2013, 31(5): 50-53(in Chinese).
- [16] CHEN L P(陈丽培), YANG B(杨博), SHEN Y B(沈永宝). Endogenous hormone content of endosperm of *Pinus tabulaeformis* seeds during initial germinating stage[J]. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 2012, 34(6): 30-33(in Chinese).

- [17] 刘月洋. 天女木兰种子层积过程中物质变化及其与种子萌发的关系[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2010.
- [18] GE S J(葛苏洁), LI SH J(李淑娟). Physiological role of ABA in seed development, dormancy and germination[J]. *Journal of Anhui Agri. Sci.* (安徽农业科学), 2011, **39**(18): 1 0727—1 0730, 1 0732(in Chinese).
- [19] GUO J Y(郭继元), WANG J(王 俊), MA F(马 芳). Study on variation of endogenous hormones contents in *Aconitum flacum* Hand. -Mazz. seeds during the process of dormancy and germination[J]. *Journal of Anhui Agri. Sci.* (安徽农业科学), 2011, **39**(22): 13 362—13 365(in Chinese).
- [20] LI B ZH(李秉真), WU Y(乌 云), TIAN R H(田瑞华). Changes of endogenous plant hormones in the seeds of *Crataegus pinnatifida* during dormancy and post-maturation[J]. *Plant Physiology Journal* (植物生理学通讯), 1998, **34**(4): 254—256(in Chinese).
- [21] HUANG D(黄 丹), XU Y X(许岳香), HU H B(胡海波). Dynamic changes of endogenous hormones in *Osmanthus americanus* seed during cold stratification[J]. *China Forestry Science and Technology* (林业科技开发), 2010, **24**(1): 53—56(in Chinese).
- [22] KHAN A A. Primary preventive and permissive role of hormones in plant systems[M]. *Bot Rev.* 1975, **41**: 391—420.
- [23] WALKER-SIMMONS M. ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of sprouting resistant and susceptible cultivars[J]. *Plant Physiology*, 1987, **84**: 61—72.
- [24] ROMAGOSA I, PRADA D, MORALEJO M A, et al. Dormancy, ABA content and sensitivity of a barely mutant to ABA application during seed development and after ripening[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2001, **52**(360): 1 499—1 506.
- [25] STEIBACH H S K, BENECH-ARNOLD R L, KRISTOF G, et al. Physiological basis of pre-harvest sprouting resistance in *Sorghum bicolor* (L.) Moench: ABA levels and sensitivity in developing embryos of sprouting resistant and susceptible varieties[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1995, **28**: 701—709.
- [26] WU C Y(吴翠云), JIANG H(蒋 卉), LIU J D(刘锦栋). Inducement influences of ABA and seed coat on the dormancy and germination of seed of *Pyrus betulaefolia* Bunge[J]. *Northern Horticulture* (北方园艺), 2009, (3): 22—25(in Chinese).
- [27] ZHENG C X(郑彩霞), GAO R F(高荣孚). Effect of ABA and other endogenous inhibitors on *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. seeds dormancy[J]. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 1991, **13**(4): 39—46(in Chinese).
- [28] ZHANG L X(杨立学), WANG H N(王海南), ZHANG L(张 琳). Changes of endogenous hormone content in *Tilia amurensis* seeds during cold stratification[J]. *Nonwood Forest Research* (经济林研究), 2012, **30**(2): 15—18(in Chinese).
- [29] LU X J(陆秀君), LI T L(李天来), NI W D(倪伟东). Study on the dormant characteristic of *M. sieboldii* K. Koch seeds[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University* (沈阳农业大学学报), 2006, **37**(5): 703—706(in Chinese).
- [30] SUN J SH(孙静爽), JIA G X(贾桂霞). Germination characteristic and endogenous ABA, IAA content change in the seed of *Abies koreana* during stratifying[J]. *Forest Research* (林业科学研究), 2006, **19**(1): 117—120(in Chinese).
- [31] HAN ZH L(韩智龙), YI J(易 津). Study on the dynamic changes of endogenous hormones in *Ceratoides arborescens* during seed development[J]. *Seed* (种子), 2008, **27**(9): 6—9(in Chinese).
- [32] SECHENBATER(斯琴巴特尔), MAN L(满 良), AMULAN(阿木兰). Effect of plant hormones on seed germination of *Prunus mongolica* Maxim[J]. *Journal of Inner Mongolia Normal University* (内蒙古师范大学学报), 2002, **31**(4): 582—584(in Chinese).
- [33] LI J K(李金克), JIN Y J(金幼菊), CHEN H J(陈华军). Changes of endogenous GAs and IAA contents in *Pinus koraiensis* seeds during cold stratification and germination[J]. *Hebei Journal of Forestry and Orchard Research* (河北林果研究), 1997, **12**(3): 203—208(in Chinese).
- [34] GAO H B(高红兵), WU B H(吴榜华), SUN ZH L(孙振良). Endogenous ABA and IAA content change in the seed of *Taxus cuspidate* during stratifying[J]. *Journal of Jilin Forestry University* (吉林林学院学报), 1998, **14**(4): 187—189(in Chinese).
- [35] WANG S G(王三根). Cytokinins and plant seed development and germination[J]. *Seed* (种子), 1999, **105**(4): 35—37(in Chinese).
- [36] GUO SH L(郭少玲), GAO J(高 健), XU Y M(徐有明). Effect of ⁶⁰Co γ rays radiation on endogenous hormone during seed germination[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2013, **29**(25): 26—31(in Chinese).