

栎木种子低温层积过程中内源激素含量的动态变化特征

金雅琴¹, 李冬林², 黄雪方³

(1 金陵科技学院 园艺学院, 南京 210038; 2 江苏省林业科学研究院, 南京 211153; 3 江苏第二师范学院生命科学与化学学院, 南京 210013)

摘 要:应用酶联免疫吸附测定法(ELISA)研究了栎木种子低温层积过程中内源激素含量的动态变化, 分析了内源激素与种子休眠与发芽的关系。结果表明: (1) 栎木种子中 IAA 含量在层积处理初期剧烈降低, 持续一段时间后又显著升高, 但后期下降, 且 IAA/ABA 也出现同样的变化; 种子中 ABA 含量在层积处理前期较高, 但随着处理时间的延长趋于下降; 种子内 $GA_{1/3}$ 含量以及 $GA_{1/3}$ /ABA 均随层积处理时间的延长逐渐增大; 种子内 ZRs 和 iPAs 含量的变化相对较为平稳, 尽管有一定的波动, 但整体呈渐趋增高趋势。(2) 栎木种子发芽率及发芽势在未经层积处理以及处理时间少于 90 d 的条件下均为 0, 但随着层积处理时间的延长二者明显上升, 层积处理的时间长短对栎木种子萌发有显著影响。(3) 相关分析表明, 栎木种子内 $GA_{1/3}$ 含量与种子的发芽率、发芽势均呈显著正相关关系, 相关系数分别为 0.688、0.662; 种子内 $GA_{1/3}$ /ABA 增大有利于种子休眠解除和萌发。

关键词: 栎木; 种子; 内源激素; 低温层积; 种子休眠

中图分类号: Q945.34

文献标志码: A

Dynamic Variation Characteristic of Endogenous Hormone Content in *Cornus macrophylla* Seeds during Cold Stratification

JIN Yaqin¹, LI Donglin², HUANG Xuefang³

(1 Department of Horticulture Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China; 2 Forestry Academy of Jiangsu, Nanjing 211153, China; 3 College of Life Science and Chemistry, Jiangsu Second Normal University, Nanjing 210013, China)

Abstract: Variations of endogenous hormone content in seeds of *Cornus macrophylla* during cold stratification were studied with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), the relationship between endogenous hormone content and seed dormancy and germination was analyzed. The result showed that: (1) IAA content in seeds dropped in the early phase of cold stratification, but that rebounded after brief continuant time, and the variation of IAA/ABA was the same. ABA content in seeds was high before cold stratification, but as the extension of treatment time that tended to fall. Both $GA_{1/3}$ content and $GA_{1/3}$ /ABA were gradually increasing with the delay of the low-temperature stratification time. Variations of both ZRs and iPAs contents showed a smooth and steady situation, they trended to increasing despite some fluctuations. (2) The seeding experiment showed that the time of low-temperature stratification has important effects on seeds germination. Germination rate and germination potential of seeds without the low-temperature stratification treatment and these of processing time was less than 90 d were zero, the two index rose as the extension of stratification time. Thus effect of stratification time on seed germination of *C. macrophylla* seeds

收稿日期: 2014-04-11; 修改稿收到日期: 2014-08-31

基金项目: 金陵科技学院博士启动基金项目(40610108); 国家林业局 948 项目(2011-4-30)

作者简介: 金雅琴(1974—), 女, 博士, 副教授, 主要从事园林植物学教学与研究。E-mail: jinyaqin@yeah.net

was obvious. (3) The results of correlation analysis between endogenous hormone and germination indexes showed that there were significantly positive correlation ($P < 0.05$) between $GA_{1/3}$ and germination rate, germination potential, and the correlation coefficients were 0.688 and 0.662, respectively. Increase of $GA_{1/3}/ABA$ could promote the releasing dormancy and germination of *C. macrophylla* seeds.

Key words: *Cornus macrophylla*; seeds; endogenous hormone; cold stratification; seed dormancy

桤木 (*Cornus macrophylla*) 又名棕子木, 隶属山茱萸科桤木属 (*Cornus*), 为中国传统的木本油料植物。其自然散生于中国西北的甘肃、陕西, 华北的山东、河南, 以及长江以南各省海拔 600~2 200 m 的密林中^[1]。桤木新鲜种实含油率高达 31.8%~41.3%, 出油率 30%^[2]。油脂不仅可供食用(在中国江西、山东、山西群众简易加工榨油食用已有上百年的历史), 还可作机械和钟表的润滑油, 也是油漆的好原料。榨油后的残渣又是优良的饲料及肥料, 树皮及叶可提取栲胶, 木材坚硬, 纹理细致, 是上等家具和建筑良材。其树形通直高大, 枝叶茂密, 也是优良的城乡园林绿化树种, 应用前景广阔。

目前, 播种是桤木最常用的引种育苗方法, 但是桤木种实具有明显的休眠习性, 种皮坚硬, 外被蜡层, 未经处理的种子发芽很慢, 一般需要 2~3 年时间, 而且出苗极不整齐^[3], 这给生产上实生苗的培育带来一定难度, 并成为本植物栽培应用的主要限制因子。因此, 研究本属植物种实的休眠习性, 揭示抑制种子发芽的内在机制, 提出切实有效的休眠破除方法具有十分重要的现实意义。研究表明, 在许多控制种子休眠与萌发的因子中, 激素是首要的决定因子, 其中 ABA 是种子休眠中研究较多的内源抑制物质, 而 GA 及 IAA 是与之相对应的发芽促进物质^[4-6]。也有一些学者提出种子的休眠与萌发取决于内源生长抑制剂和生长激素剂之间的平衡力^[7-9]。康永祥等^[10]对同属的毛桤 (*Cornus walteri*) 种子的萌发特性及解除休眠技术进行了初步探索, 王晓光等^[11]对光皮桤木 (*Cornus wilsoniana*) 种子的催芽技术进行整理, 但桤木尚未见有针对低温层积与内源激素含量关系的研究报道。为了解桤木种实休眠的内在机理, 本研究通过对桤木种子贮藏期内源激素含量的测定, 并结合种子播种试验分析了内源激素与种子休眠的关系, 以期为本植物的引种与繁育, 促进其在林业生产上的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料及处理

供试种实来源于河南小秦岭自然保护区(地理

坐标为 $N34^{\circ}23' \sim 34^{\circ}31'$, $E110^{\circ}23' \sim 110^{\circ}44'$)。2011 年 10 月采集种实, 经水浸、碱泡、揉搓、脱肉、冲洗、晾干, 获得纯净种实 5 kg。种实为圆球型, 浅肉红色(外被骨质内果皮, 下称种子), 直径 4.31~5.18 mm, 百粒重 4.3364~4.430 g。

试验于 2011 年 10 月~2012 年 5 月在江苏省林业科学研究院实验室进行。种实经脱肉后留取 200 g 作为干藏处理(对照), 其余采用湿沙湿藏层积处理, 依据文献将种实和湿沙(含水量 40%~45%)按照 1:3 的体积比混合置于 0~5 °C 的冷库中^[7]。湿沙为新鲜河沙, 并经高温灭菌处理。自 2011 年 10 月开始, 每月中旬取样 1 次(约 100 g), 重复 3 次, 至 2012 年 9 月共取样 10 次。取样时将种实自湿沙中筛出, 用自来水冲洗, 并用吸水纸吸干水分, 筛拣, 获得纯净种实待测。

1.2 内源激素含量的测定

从纯净种样中按照四分法取出部分样品(约 200 粒), 将硬骨质果皮敲碎取出白色的种子(含胚、胚乳及种皮)0.5~1.0 g。液氮速冻后, 加 4 mL 提取液(80%冷甲醇)冰浴研磨至匀浆, 转入 10 mL 试管中。摇匀后在 4 °C 下放置 4 h, 1 000×g 离心 15 min, 取上清液。沉淀中加 1 mL 提取液, 搅匀, 置于 4 °C 下再提取 1 h, 后离心, 合并上清液并记录体积, 残渣弃去。上清液过 C_{18} 固相萃取柱纯化后, 用 N_2 吹干, 再用 pH 7.4 磷酸缓冲液溶解, 用酶联免疫法(ELISA)测定内源激素含量^[12]。所有样品均重复测定 3 次, 取平均值。

1.3 播种试验与发芽指标测定

将部分纯净种样作田间播种试验。在苗圃内选择背风向阳的地块, 用砖砌成一个高 15~20 cm, 宽 1~1.2 m 的围框, 中间填湿沙作沙床。先填沙 6~8 cm, 后将种子均匀散播在沙床上。采用随机区组试验设计, 200 粒为 1 个试验小区, 每处理重复 3 次。播种后覆沙 2~3 cm, 均匀淋水, 做到沙床平整、湿润, 然后盖膜保湿。沙床内温度保持在 15~25 °C 之间。定期观察幼苗出土情况。以子叶出土、胚根伸长作为发芽标准, 记数统计发芽率及发芽势^[13-14]。

1.4 数据处理

采用 SAS612 软件 ANOVA 过程进行单因素方差分析,并用 Duncan 法进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 低温层积过程中种子内源激素含量的变化

2.1.1 IAA 含量 在低温层积过程中,桉木种子 IAA 含量的变化见图 1,A。从整体趋势来看,IAA 含量在层积初期明显降低,而随着处理时间的延长 IAA 含量显著升高,但后期 IAA 含量下降。其中,未层积处理(0 d)的种子测得的 IAA 含量为 $103.040 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;层积处理 30 d 后 IAA 含量降至 $54.225 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;层积 60 d 后 IAA 含量开始逐渐升高;层积处理 240 d 后升到最大值($125.291 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$),随后 IAA 含量开始大幅下滑,并降到最低点。

2.1.2 ABA 含量 桉木种子 ABA 含量的变化态势与 IAA 截然不同(图 1,B)。其中,种子中 ABA 含量在层积处理前最高,处理后 ABA 含量一直下降,并在层积处理 180 d 后降到最低值($156.063 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$),这时 ABA 含量是层积处理开始时($235.599 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)的 66.24%。尽管随后 ABA 含量有所回升,但总的趋势是随着层积处理时间的延长,ABA 含量趋于下降。

2.1.3 $\text{GA}_{1/3}$ 含量 桉木种子中 $\text{GA}_{1/3}$ 含量在层积处理前为 $6.340 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;在层积处理前期(30~120 d)基本呈波动变化,并于层积处理后第 120 天出现最大值($7.264 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$),期间有 2 次降低,分别第 30 天和第 90 天出现极值(5.347 、 $5.634 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$);在层积处理 120 d 后又有所下降,但从第 210 天开始,种子内 $\text{GA}_{1/3}$ 含量的变化一直很平稳(图 1,C)。

2.1.4 ZRs 与 iPAs 含量 一般认为,细胞分裂素(CTK)具有促进细胞分裂、抑制器官老化、诱导花芽分化及延缓叶片衰老的作用^[15]。桉木种子中细胞分裂素 ZRs 含量从总体趋势来看呈波型上升变化(图 1,D)。在层积处理前,桉木种子中 ZRS 含量为 $9.262 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;层积 30 d 后,ZRS 含量有所下降,并出现短暂低谷($6.473 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$),随后开始波动上升;在层积 150 d 后,ZRS 含量为 $11.749 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,随着时间的延长又开始下降(在层积 270 d 时 ZRS 含量为 $7.278 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)。但在层积 300 d 后,ZRS 含量为 $12.139 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,为整个处理期间最高值。

iPAs 含量的变化相对比较平稳,呈渐趋增高的

趋势(图 1,E)。在层积处理 0~180 d 期间,iPAs 含量变化幅度较小,并在层积处理 180 d 后升至最大值($6.722 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$);随后开始降低,但仍高于层积处理前的含量($4.338 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$);在层积处理 270 d 后再次升高($6.318 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$),随后又有所降低。

以上结果说明,5 种内源激素中 $\text{GA}_{1/3}$ 和 ABA 含量变化最为明显。层积处理能够显著地促使桉木种子内 $\text{GA}_{1/3}$ 含量增加,并有利于种子内 ABA 含量的稀释减少,为破除种子休眠、促进萌发创造条件。这 2 种激素的含量变化可能是桉木种子深度休眠的重要控制因子。

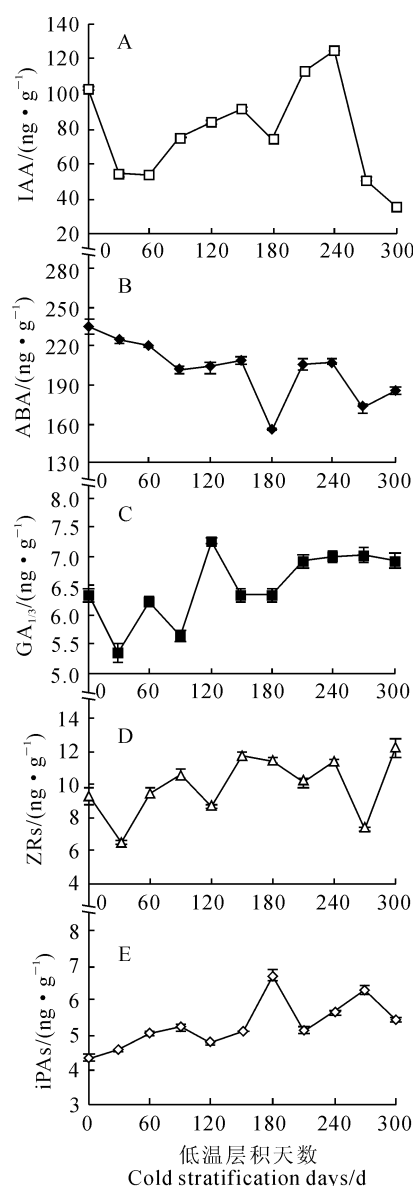


图 1 低温层积过程中 5 种激素含量的变化

Fig. 1 Changes of 5 endogenous hormone contents in seeds during cold stratification

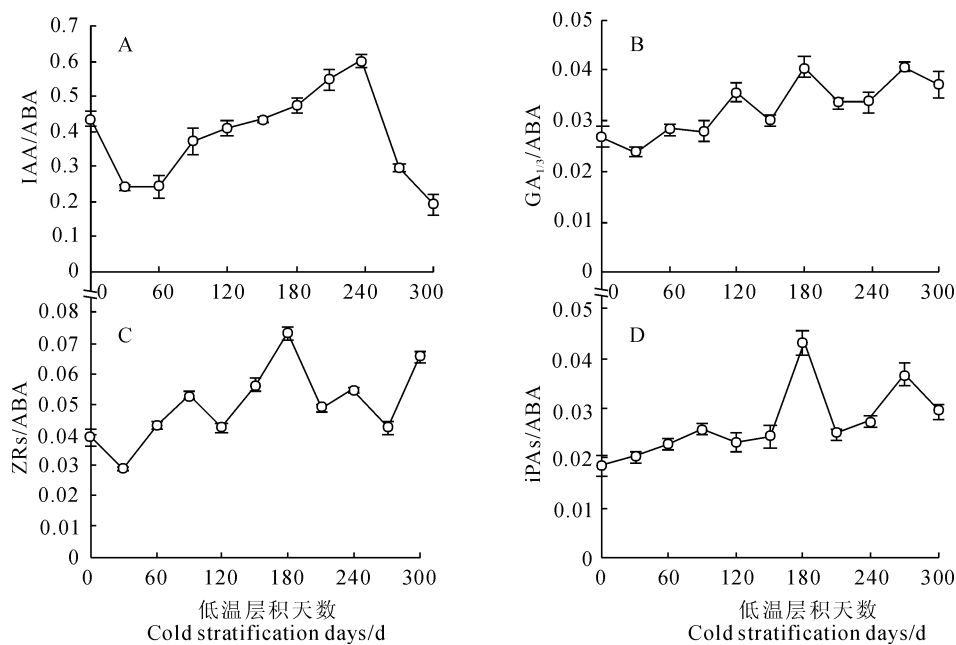


图 2 低温层积过程中种子中 IAA、GA_{1/3}、ZRs、iPAs 和 ABA 比例的变化
Fig. 2 Changes in ratios of IAA、GA_{1/3}、ZRs、iPAs and ABA in seeds during cold stratification

2.2 低温层积过程中种子中内源激素含量比例的变化

许多研究表明,不同植物激素对植物生理活动的影响不是孤立地发生作用,它们之间相辅相成,既相互制约又相互促进^[16-17]。将桉木种子 4 种激素 (IAA、GA_{1/3}、ZRs、iPAs) 的测定值与 ABA 含量相比较,其结果见图 2。其中,iPAS/ABA、ZRs/ABA 的变化趋势基本相似,其在处理前期(0~180 d)表现为上升趋势,但后期(180 d 后)波动较大,并出现了短暂下降;GA_{1/3}/ABA 尽管在不同层积时期有一定的波动,但在整个层积处理期间的趋势是明显的,即随着处理时间的延长而逐步上升。可以推断,GA_{1/3}/ABA 高水平的比值变化可能有助于内源抑制物质的降低,从而有利于种子发芽;由于 IAA 含量低温层积期间的绝对值变化较大,所以 IAA/ABA 的曲线波动幅度较大,其在处理 240 d 之前基本上是上升的趋势,但处理 240 d 后又趋于下降。

2.3 不同低温层积处理桉木种子发芽指标的变化

播种试验结果表明,桉木种子发芽率及发芽势均受到低温层积处理时间长短的显著影响,并随层积处理时间的延长而明显上升(表 1)。方差分析表明不同处理天数间种子发芽率及发芽势均有显著差异($P<0.05$)。其中,未经层积处理以及处理时间较短(不足 90 d)的种子发芽率及发芽势均为 0,说明这些种子存在严重的发芽障碍;层积处理时间短于 180 d,其种子发芽率及发芽势均不足 10%。可

表 1 不同低温层积处理时间种子的发芽率及发芽势

Table 1 Germination rate and germination potential of seeds during different cold stratification

层积天数 Days of stratification treatment/d	指标 Index	
	发芽率 Germination rate/%	发芽势 Germination potential/%
0	0	0
30	0	0
60	0	0
90	3.61±0.34g	3.53±0.56 g
120	7.69±1.92f	4.81±1.11f
150	7.46±2.56f	5.89±2.06e
180	15.54±3.12e	12.01±3.05d
210	25.23±4.10d	22.71±4.09c
240	29.38±3.02c	24.79±2.78c
270	31.91±5.18c	26.81±5.13c
300	35.16±4.92b	30.91±5.06b
330	39.81±6.11a	34.51±4.87a

注:图中数据为 3 次测定平均值±标准差。小写字母不同表示不同层积处理时间之间在 0.05 水平有显著差异。

Note: Data were the mean of 3 separate experiments with their stand deviation. Different normal letters indicate significant difference among stratification time by multiple comparisons at 0.05 level.

见,短期的层积处理不能解除种子的休眠;低温层积处理 330 d 后,其种子平均发芽率及发芽势显著上升,达到最大值(分别为 39.81%、34.51%),说明种子的发芽率及发芽势与层积处理时间的长短显著相关。尽管这一试验结果与其他核果类植物种子的发

表 2 5 种内源激素含量、比值与种子发芽指标的相关性

Table 2 The correlation matrix of five kinds of endogenous hormone contents and ratios in seeds and seeds germination indexes during cold stratification

指标 Index	IAA	ABA	GA _{1/3}	ZRs	iPA	IAA/ABA	GA _{1/3} /ABA	ZRs/ABA	iPA/ABA	发芽率 Germination rate	发芽势 Germination potential
IAA	1.000	0.317	0.242	0.257	-0.162	0.945 **	-0.1240	-0.020	-0.241	-0.005	-0.008
ABA		1.000	-0.332	0.269	-0.921 **	0.001	-0.885	-0.690 *	-0.967 **	-0.600	-0.570
GA _{1/3}			1.000	0.209	0.288	0.316	0.725 *	0.254	0.266	0.688 *	0.662 *
ZRs				1.000	0.292	0.348	0.257	0.871 **	0.252	0.303	0.309
iPA					1.000	0.140	0.812 **	0.666	0.976 **	0.612 *	0.585
IAA/ABA						1.000	0.140	0.250	0.076	0.143	0.128
GA _{1/3} /ABA							1.000	0.600	0.841 **	0.758 *	0.722 *
ZRs/ABA								1.000	0.674 *	0.464	0.452
iPA/ABA									1.000	0.554	0.524

注: * 显著相关($P<0.05$); ** 极显著相关($P<0.01$)。

Note: * . Means correlation is significant at the 0.05 level; ** Means correlation is significant at the 0.01 level.

芽指标相比其绝对值明显不足^[18],但已足以说明低温层积是解除栎木种子休眠的有效手段。

2.4 低温层积过程中栎木种子内源激素及其比值与种子发芽的关系

种子休眠和萌发不仅与植物内源激素的绝对含量有关,还与各类激素之间的平衡、特别是促进生长的激素与抑制生长的激素之间的比例及平衡有关^[19-20]。张艳杰^[21]的研究表明南方红豆杉(*Taxus chinensis* var. *mairei*)种子休眠的限制因子很可能是 ABA 和 GA 的平衡调控作用。为说明栎木种子中低温层积过程中内源激素之间及比值,及其它与种子发芽指标的相关关系,对 5 种激素含量、比值与种子发芽指标的相关性进行分析,得相关矩阵(表 2)。结果显示,IAA 与 iPA、ZRS/ABA、iPA/ABA 呈负相关,但相关性不显著($P>0.05$),ABA 与 iPA 呈极显著的负相关($P<0.01$),相关系数为-0.921。

比较不同激素含量与种子发芽指标的相关性,可见 GA_{1/3}与种子发芽指标的相关性最为明显,其与发芽率及发芽势均呈显著正相关($P<0.05$),相关系数分别为 0.688、0.662。iPA 与发芽率也呈显著正相关($P<0.05$),相关系数为 0.612,与发芽势也呈较强正相关($r=0.585$),但相关性不显著。IAA、ABA 与种子发芽率、发芽势呈不显著的负相关,但 ABA 的相关性更强。同时,种子发芽率和发芽势与 GA_{1/3}/ABA 呈显著正相关($P<0.05$)。所以,可以推断种子内 GA_{1/3}/ABA 的增大明显有利于种子的解体发芽。

3 结论与讨论

一般认为,内源 ABA 涉及种子休眠状态的诱

导,对种子内胚的发育、RNA 和蛋白质合成上都起到了非常重要的调节作用。它可能降低胚的吸水能力和渗透势,阻碍了胚根的伸长,抑制种子萌发^[22-23]。因此,ABA 被认为是控制种子休眠的主要内在因素^[24]。本研究表明,在整个低温层积过程中,栎木种子内 ABA 随时间的变化总体是减小的,这与肉苁蓉(*Cistanche deserticola*)^[25]、珙桐(*Davidia involucrata*)^[26]、紫椴(*Tilia amurensis*)^[27]、青钱柳(*Cyclocarya paliurus*)^[28]等深休眠植物种子的相关研究结果基本相似。随着低温层积持续时间的延长,深休眠种子中 ABA 含量趋于下降,这可能是种子萌发前的启动信号,对种子解除休眠起重要作用。

有关 IAA 在解除种子休眠方面的作用有不同的研究报道。一种观点认为,在层积处理中,休眠种子中 IAA 含量总体上是上升的,对解除休眠起到一定的积极作用。Kochankov 等^[29]认为 IAA 参与了种子休眠调节,杨万霞等^[28]认为青钱柳种子在层积处理中 IAA 含量总体是上升的,并对解除休眠起促进作用;另有一些研究则表明种子休眠的解除过程与 IAA 含量关系不大,过高的 IAA 含量甚至起到负面作用。如李金克等^[30]对红松(*Pinus koraiensis*)休眠机理的研究中认为高浓度的 IAA 对种子发芽不利;高红兵等^[31]在东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)层积过程中,认为少量 IAA 的增加是由于胚的生长引起的,IAA 与其休眠和萌发关系不大;黄丹^[32]在研究美国桂花(*Osmanthus americanus*)时也发现,美国桂花种子在层积过程中其 IAA 含量变化不明显。本研究表明,在低温层积期间,栎木种子在

处理前期 IAA 含量是增加的,但是维持一定时间以后又有所下降。因此,作为促进剂的 IAA 在解除栎木种子休眠的过程中起到一定的作用,但其效应不十分明显,这从该激素含量与种子发芽指标的相关性分析中也能得到印证。

Wareing 等^[33]认为,GA_{1/3}通过与 ABA 和环境因子的复杂作用正调节休眠的解除和种子萌发,这种观点在莴苣(*Lactuca sativa*)^[34]、野茉莉(*Styrax japonicus*)^[35]、水曲柳(*Fraxinus mandshurica*)^[36]、冬青属(*Ilex*)^[37]等诸多植物研究中得到证实。但是,Bewley^[38]则认为 GA_{1/3}并不参与对休眠本身的调控,而对促进和维持发芽起作用,拮抗 ABA,即作用于 ABA 的发芽抑制作用。GA_{1/3}/ABA 高比值变化有助于种子萌发抑制物质的降低,从而有利于种子发芽,如此特点在很多经济林木上也有类似报道^[25,28],本试验中栎木种子在低温层积过程中其比值变化也出现同样的趋势。因此,可以认为 GA_{1/3}对打破栎木种子休眠、促进种子萌发起关键作用,这种作用可能是通过 ABA 和 GA_{1/3}的平衡和拮抗来实现的。

植物种子休眠是十分复杂的生理现象,内源激素的变化及相互关系是控制休眠的重要内因,同时

也受到外部环境因素的干扰影响^[7]。低温层积处理目前仍是解除种子深休眠的主要手段^[22,39]。本研究中播种试验结果表明,未经处理以及处理时间短(不足 90 d)的种子发芽率及发芽势均为 0,说明栎木种子处于休眠状态。而栎木种子的外壳异常坚硬,这种结构对于种子的萌发也会产生一定的机械障碍。正是这种异常的生理结构,加上内源抑制物质的共同影响,导致该植物种子处于严重的深休眠。本试验还表明,随着层积处理时间的延长,种子的发芽率及发芽势均明显上升,说明低温层积对解除栎木种子的休眠十分奏效。但是,目前的研究表明,不同植物种类以及同种植物不同的处理方式,层积解除休眠的效果不同。例如红豆杉(*Taxus chinensis*)由于胚休眠与抑制物存在,砂藏 16 个月才能萌发,而美国山核桃(*Caraya illinoensis*),胚休眠解除需要低温层积 30~150 d 以上^[39]。本研究中,低温层积 330 d 的平均发芽率及发芽势达到 39.81%、34.51%,尽管这一结果与诸多核果类植物的发芽指标仍显不足,但已足以说明低温层积是解除栎木种子休眠的有效手段。本研究结果可为生产上开展本植物的实生苗培育提供理论参考。

参考文献:

- [1] 中国树木志编辑委员会. 中国树木志(第 2 卷)[M]. 北京:中国林业出版社,1985:1 686—1 687.
- [2] WU ZH Z(吴志曾). Cultivation techniques of *Cornus macrophylla*[J]. *Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology*(江苏林业科技),1979,(2):46—49(in Chinese).
- [3] 柳 鑾,孙醉君. 中国重要经济树种[M]. 南京:江苏科技出版社,1986:153—159.
- [4] ZHOU D B(周德本),LIANG M(梁 鸣),ZHANG Y(张 悦),et al. Integrated characteristics of wooden plant seeds and the relativity of advanced germination methods[J]. *Bulletin of Botanical Research*(植物研究),2000,**20**(4):35—41(in Chinese).
- [5] GU L P(谷丽萍),GUO Y Q(郭永清),SHEN Y B(沈永宝),et al. Effect of stratification on changes of endogenous hormone contents in seeds of *Liriodendron tulipifera*[J]. *Journal of West China Forestry Science*(西部林业科学),2009,**38**(1):87—90(in Chinese).
- [6] ZHAO J Y(赵俊勇),ZHU P L(朱平乐),WANG Y M(王艳梅),et al. Dynamic change of endogenous hormones inside buds in *Platanus acerifolia* during winter dormancy[J]. *Journal of Henan Agricultural University*(河南农业大学学报),2009,**43**(3):269—273(in Chinese).
- [7] WANG Y F(王友凤),MA X Q(马祥庆). Advances in physiological and ecological characters of tree seed germination[J]. *World Forestry Research*(世界林业研究),2007,**20**(4):19—23(in Chinese).
- [8] YU ZH X(余朝霞),HUANG X Q(黄雪群),FANG ZH SH(方志尚)et al. Advance of effect of GA on tree seed germination regulation[J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*(浙江林业科技),2003,**23**(1):73—77(in Chinese).
- [9] PENG Y F(彭幼芬). The general situation and trend of researches on seed physiology of forest trees in the world[J]. *World Forestry Research*(世界林业研究),1998,**11**(2):8—12(in Chinese).
- [10] KANG Y X(康永祥),YUN Y J(贡玉洁),ZHAO B X(赵宝鑫),et al. Seed propagation technique and seedling growth regularity of *Cornus walteri*[J]. *Journal of Northwest Forestry University*(西北林学院学报),2012,**27**(3):62—67(in Chinese).
- [11] WANG X G(王晓光),LI W(李 蔚),LIU X G(刘先贵). Study on seed germination technique for *Cornus wilsoniana* wanager[J]. *Hubei Forestry Science and Technology*(湖北林业科技),2007,(4):26—28(in Chinese).
- [12] 李宗庭,周 燮. 植物激素及其免疫检技术[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1996:250—295.
- [13] 美国农业部林务局. 李 霆,陈幼生,颜启传,等. 美国木本植物种子手册[M]. 北京:中国林业出版社,1984:44—56.

- [14] 国家林业局国有林和林木种苗工作总站. 中国木本植物种子[M]. 北京:中国林业出版社,2001:390—394.
- [15] TANG D T(唐定台),XU M X(徐民新),FENG Y H(冯永红). *In vitro* flowering from explants in *Dianthus chinensis* L. and factors influenced flower formation[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报),1996,**23**(3):277—278(in Chinese).
- [16] KHAN A. Primary, preventive and permissive role of hormones in plant systems[J]. *Bot. Rev.*, 1975,41:391—420.
- [17] CAO B H(曹帮华),CAI CH J(蔡春菊). Study on the after-ripening physiology and endogenous hormones of *Ginkgo biloba* seeds[J]. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学),2006,**42**(20):32—37(in Chinese).
- [18] HAN M Y(韩明玉),ZHANG M R(张满让),TIAN Y M(田玉命). Effect of plant hormones on seed dormancy and seedling growth of stone fruits[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报),2002,**22**(6):1 348—1 354(in Chinese).
- [19] ZHANG P(张 鹏),SUN H Y(孙红阳),SHEN H L(沈海龙),*et al.* Effects of temperature on substance transformation and endogenous hormone content of *Fraxinus mandshurica* seeds during germination[J]. *Journal of Northeast Forestry University* (东北林业大学学报),2009,**37**(7):5—7(in Chinese).
- [20] SUSZKA B. Conditions for after-ripening and germination of seeds and for seedling emergence of English yew (*Taxus baccata* L.)[J]. *Arboretum Kornickie*, 1985, (3):285—338.
- [21] ZHANG Y J(张艳杰),LU SH B(鲁顺保),GAO H D(高捍东). Dynamic changes in endogenous hormones in *Taxus chinensis* var. *mairei* seed during stratification[J]. *Guihaia* (广西植物),2011,**31**(3):370—376(in Chinese).
- [22] FU T T(付婷婷),CHENG H Y(程红焱),SONG S Q(宋松泉). Advances in studies of seed dormancy[J]. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学报),2009,**44**(5):629—641(in Chinese).
- [23] NAMBARA E, MARION-POLL A. ABA action and interactions in seeds[J]. *Trends Plant Sci.*, 2003,8:213—217.
- [24] HAN M Y(韩明玉),ZHANG M R(张满让),TIAN Y M(田玉命). Effect of plant hormones on seed dormancy and seedling growth of stone fruits[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报),2002,**22**(6):1 348—1 354(in Chinese).
- [25] CHEN Q L(陈庆亮),WANG H L(王华磊),WANG ZH F(王志芬),*et al.* Effects of cold stratification and exogenous Gibberellic acid (GA_3) on seed germination and contents of endogenous gibberellins(GAs) and abscisic acid(ABA) in *Cistanche deserticola* Y. C. Ma[J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯),2009,**45**(3):270—272(in Chinese).
- [26] LEI N F(雷沔菲),PENG SH M(彭书明),NIU B(牛 蓓),*et al.* Changes on the endogenous phytohormone content of the *Davidia involucrate* seed during dormancy and germination process[J]. *Guihai* (广西植物),2009,**29**(1):66—69(in Chinese).
- [27] YANG L X(杨立学),WANG H N(王海南),ZHANG L(张 琳),*et al.* 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).
- [28] YANG W X(杨万霞),FANG SH Z(方升佐). Dynamic changes of endogenous hormones in *Cyclocarya paliurus* seed during stratification[J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Nat. Sci. Ed.) (南京林业大学学报·自然科学版),2008,**32**(5):85—88(in Chinese).
- [29] KOCHANKOV G, GITZESIK M, CHOJNOWSK M, *et al.* Effect of temperature, growth regulators and other chemicals on *Echinacea purpurea* (L.) Moench seed germination and seedling survival[J]. *Seed Sci. & Technol.*, 1998,26:547—554.
- [30] LI J K(李金克),JIN Y J(金幼菊),CHEN H J(陈华君),*et al.* 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).
- [31] GAO H B(高红兵),HAO B H(昊榜华),SUN ZH L(孙振良). Endogenous ABA and IAA content change in the seed of *Taxus cuspidata* during stratifying stage[J]. *Journal of Jilin Forestry University* (吉林林学院学报),1998,**14**(4):187—189(in Chinese).
- [32] HUANG D(黄 丹),XU Y X(许岳香),HU H B(胡海波). Dynamic changes of endogenous hormones in *Osmanthus americanus* seeds during cold stratification[J]. *China Forestry Science and Technology* (林业科技开发),1971,22:261—288(in Chinese).
- [33] WAREING P F, SAUNDERS P F. Hormones and dormancy[J]. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 2003,22:261—288.
- [34] GONAI T, KAWAHARA S, TOUGOU M, *et al.* Abscisic acid in the thermoinhibition of lettuce seed germination and enhancement of its catabolism by gibberellins[J]. *J. Exp. Bot.*, 2004,55:111—118.
- [35] WANG L(王 丽),WANG K L(王奎玲),LIU Q CH(刘庆超),*et al.* Effects of gibberellin and lamination treatment on seed germination of *Styrax japonicus*[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi* (江西农业学报),2010,**22**(3):77—79(in Chinese).
- [36] LING SH Y(凌世瑜). Effects of gibberellin on breaking dormancy of seeds of *Fraxinus mandshurica* Rupr[J]. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学),1986,**22**(1):78—86(in Chinese).
- [37] ZHANG R(张 蕊),WANG X H(王秀花),ZHANG J H(章建红). Physiological seed changes in three *Ilex* species during seed dormancy-breaking[J]. *Journal of Zhejiang Forestry College* (浙江林学院学报),2010,**27**(4):524—528(in Chinese).
- [38] BEWLEY J D. Seed germination and dormancy[J]. *Plant Cell*, 1997,**9**(7):1 055—1 066.
- [39] GUAN K L(管康林). A review on seed dormancy characters of tree[J]. *Journal of Zhejiang Forestry College* (浙江林学院学报),1986,**3**(2):99—109(in Chinese).