

珍稀植物银杉的种子萌发特性

曹基武, 刘春林*, 张 斌, 吴 毅, 朱 玲, 刘 国, 李双春

(中南林业科技大学, 湖南 长沙 410004)

摘要:银杉(*Cathaya argyrophylla*)为我国特有珍稀古生树种,其种群自然更新困难,被列为国家 I 级重点保护植物。由于银杉种子自然发芽率低,对其种子萌发过程的生理生态特性进行研究显得十分必要。对银杉种子的千粒重、含水率等物理特性及不同保存方法对种子生理活性影响进行了研究,重点研究了银杉种子经激素处理后其发芽率的变化趋势以及不同贮藏方法对种子萌发率以及抗氧化酶系统活性的影响。结果表明:储存时的水分条件是保证生活力的关键,失水带来的逆境胁迫导致银杉种子抗氧化酶活性变化剧烈,长时间的胁迫(报纸储存 90 d)造成种子能量消耗严重,抗氧化酶活性下降剧烈,导致发芽率极低(2.50%);用苔藓包裹低温贮藏的方法对种子活力影响最小,种子的发芽率最高,且能较长时间的保存。用不同激素处理后,能对种子的发芽有一定的促进作用,其中以 IAA 表现最好,特别是 100 mg/L 浓度的 IAA 能提高种子发芽率 30.30%,效果明显,但随着贮藏时间的延长,由于银杉种子自身活力丧失迅速,激素浸泡处理效果并不显著。

关键词:银杉;种子萌发;生理活性;酶活性;激素处理

Seed germination of endangered *Cathaya argyrophylla* Chun & Kuang

CAO Jiwu, LIU Chunlin*, ZHANG Bin, WU Yi, ZHU Ling, LIU Guo, LI Shuangchun

Central South University of Forestry & Technology, Changsha, Hunan 410004, China

Abstract: *Cathaya argyrophylla* Chun & Kuang, a monotypic genus of the pine family, is endemic to China. Chinese government lists it as a Class-I protected plant because of its limited individuals in the wild. Natural regeneration is rare and it is imperative to better understand its eco-physiological characteristics of seed germination. Cones of *Cathaya argyrophylla* were collected from selected healthy and 60—100 years old individuals and there are 490 to 520 cones per kilogram. Every 100 cones produced 4.36 seeds and every 1 000 seeds weight 15.8 grams. TTC test concluded that the seed viability is 50.50%. Storage method and duration significantly affected seed germination. The highest germination rate, 33.00%, was produced under moisture moss at 4 °C after storing for 30 days. Both moisture newspaper and sand did not greatly reduce germination rate at 30 days. However, average seed germination was significantly lower from 31.0% to 18.0% to 7.0% as the storage durations went from 30 to 60 to 90 days. After storing for 90 days, seed germination were 13.0% and 2.7% for storing in moisture moss and newspaper, respectively. For the long-term storage, moisture moss is recommended. Seed POD, SOD activities and MAD levels during storages changed dramatically. The highest POD and SOD activities, 5.58 mmol/g and 300 U/(g min), occurred under moisture newspaper at 30 days, which significantly higher than other two storage methods. As storage days went up, no significantly difference occurred among three storage methods. The average POD and SOD were 0.48 and 100 at 60 days, 0.71 and 96.8 at 90 days. MAD content kept high at 2.71 mmol/g under the moisture newspaper stored for 30 days, then from 0.08 to 0.51 for other storage methods and duration. After storing for 60 and 90 days, POD, SOD activities and MAD level were relatively lower and no significant difference was found among the storage methods. Hormones GA, NAA, and IAA could significantly influenced germination rates. Under the moisture newspaper storage, seeds soaked for 24 hours in 100 mg/L of NAA and IAA after storing for 30 days yielded 55.00% and

基金项目:国家林业公益性行业科研专项(200804001);国家 948 项目(2009-4-14);国家林业局项目(2007-353);湖南省科技厅项目(S2006N333);长沙市园林局重大项目(2008-01)。

收稿日期:2010-01-10; **修订日期:**2010-05-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chunlin3721@163.com

55.01% germination rates, which were 83.31% higher than that of the control at 30.0%. After 60 days, only NAA at 150 mg/L soak produced the significantly higher germination rate of 24.2% than that of the control at 16.0%. All other treatments reduced the germination rate significantly. After 90 days, NAA at 150 mg/L soak yielded 11.08% germination rate, which is significantly higher than that of the control at 4.62%. GA soaks under all three storage durations resulted significantly lower germination rates than that of the controls and should be avoided. For seeds stored at moisture sand and moss, GA had the similar effects as NAA and IAA. Regardless of storage durations and hormone concentrations, all three hormones had less significant impact on germination rates comparing with seeds stored in the moisture sand. NAA at 100 mg/L soaked for 24 hours is recommended for *Cathaya argyrophylla* seed germination. Lower or higher concentrations of NAA and IAA might promote seed germination, but not as well as 100 mg/L in general. As storage time went longer, NAA had better effect than that of IAA.

Key Words: *Cathaya argyrophylla*; seed germination; enzyme activities; hormone

银杉(*Cathaya argyrophylla* Cheng et Kuang)是我国特有的珍稀、古老、残遗植物,已列为国家Ⅰ级保护树种^[1]。银杉现分布于广西、湖南、四川、贵州4省(区)10县的30多个分布点上,种群分布呈高度片断化及岛屿化,且种群规模甚小,有些分布地甚至为单株散生^[2],其濒危形势极其严峻。因此,有关银杉致濒的原因、保育措施、繁育生物学及如何扩大种群规模等问题是研究者所关注的焦点。目前有关银杉的生物学特性、群落学特征及演替趋势、更新和生长、光合生理生态等方面^[3-5]已开展了较多的研究,对揭示银杉濒危机制及其如何保育具有重要意义。但作者认为保育银杉的根本途径还是在繁育生物学上一些技术环节上的突破,即通过人工繁育或人工促进天然更新繁育,不断扩大它的种群规模是挽救银杉免于灭绝的途径。

银杉的无性繁殖极其困难^[1]。种子繁殖虽然也存在一定的困难,但还是目前唯一可行的繁殖策略。种子繁殖的关键在于种子能否正常发芽和成苗,因而,种子萌发机制和过程是银杉繁育的重要环节之一,开展银杉种子萌发特性的深入研究对于银杉种群的保护与恢复及其开展人工繁殖具有重要意义。目前有关银杉种子生理生态学方面的研究报道较少,谢宗强等^[6]的研究表明:与其它松科植物相比,银杉单个球果出种率低、种子平均重低,种子空粒比例高,有生活力的种子比例低,表现出较高的败育率和较低种子萌发率特性^[7-8]。杨重军等发现在高浓度IBA(吲哚丁酸 Indole butyric acid)所在部位切除胚乳方法可以大幅度提高种子萌发率^[9]。在种子储存条件的探索上,谢宗强等^[7]的研究表明湿沙储存有利于长期保存银杉种子并维持其生活力。

然而,以上研究均未探讨银杉种子储藏过程中抗氧化酶活性动态变化过程。辛霞等指出:种子萌发过程中,呼吸作用旺盛,体内产生的自由基积累至一定水平就会对组织产生危害;而组织内含有一套抗氧化系统来维持自由基和活性氧的平衡。超氧化物歧化酶(SOD)催化以活性氧为底物的歧化反应,能将攻击能力强的超氧阴离子活性氧转化为毒性较小的 H_2O_2 ;过氧化物酶(POD)是清除 H_2O_2 的关键酶;丙二醛(MDA, malonaldehyde)是脂质过氧化作用的终产物,MDA含量表示脂质过氧化强度和膜系统伤害程度,是逆境生理的主要指标^[10]。SOD、POD和CAT是促抗氧化系统的主要酶。其活性的高低可以反映组织抵抗自身活性氧伤害和抗逆境胁迫能力的水平。因此,研究种子贮藏过程中抗氧化酶的活性水平可以反映出种子对不良环境的抵抗能力^[10]。

本研究的目的是:(1)了解银杉种子的基本特性(球果的出种率、千粒重等);(2)研究不同储存方法对种子萌发率以及抗氧化酶活性水平的变化及其对种子发芽的影响;(3)研究不同激素处理对银杉种子萌发的影响。在对以上3个问题的研究结果基础上,提出长期保存银杉种子的科学方法,为银杉高效种子育苗提供关键技术。

1 材料与方法

1.1 实验材料

银杉球果于2008年10月采自湖南省新宁县麻林乡界富山,选择生长健壮,树龄60—100 a的优良母树

20 株,每株采位于树冠中层外部的球果 0.50—0.75 kg,种子从球果上分离后按 3 种方法进行贮藏:报纸包裹室温贮藏(报纸干藏)、湿沙层积室温贮藏(湿沙贮藏)和苔藓包裹 4 ℃贮藏(苔藓冷藏)。

1.2 种子的基本特性测定

种子的球果的出种率、千粒重、优良度、含水率、吸水率、种子生活力等测定参考《林木种苗育苗技术及林业工程管理实务全书》进行^[11]。

1.3 生理活性指标(抗氧化酶系统)的测定

将种子带回实验室,经蒸馏水冲洗后擦干,每个处理重复 4 次,每次重复分别称取银杉种子 0.2 g,放入置有冰浴的研钵中,加入少量 0.05 mol/L pH7.8 磷酸缓冲液及石英砂,研磨成匀浆,将匀浆转入 10 mL 的离心管中,用磷酸缓冲液定容到 7 mL,在 8 500 r/min 条件下离心 20 min,取上清液定容到 10 mL,即为酶粗提液,用于测以下酶活性。

(1) POD 活性测定 采用愈创木酚法^[12]酶活性的测定;反应体系包括:2.9 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液;1.0 mL 2% H₂O₂;1.0 mL 0.05 mol/L 愈创木酚和 0.1 mL 酶液。用加热煮沸 5 min 的酶液为对照,反应体系加入酶液后,立即于 34 ℃水浴中保温 3 min,然后迅速稀释 1 倍,470 nm 波长下比色,每隔 1 min 记录 1 次吸光度,共记录 5 次,然后以每分钟内 A₄₇₀变化 0.01 为 1 个酶活性单位(U)。酶活性以 U/(g·min)表示。

(2) SOD 活性测定 参照 Stewart 和 Bewley^[13]抑制 NBT 光化还原的方法。反应液总体积 3 mL,其中含有 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 1.5 mL,130 mmol/L 甲硫氨酸 0.3 mL,75 μmol/L 氮兰四唑 0.3 mL,100 μmol/L EDTA-Na₂液 0.3 mL,20 μmol/L 核黄素 0.3 mL,蒸馏水 0.25 mL 和酶液 0.05 mL,在 4 000 lx 日光下反应 20 min,以缓冲液代替酶液作为对照,在 560 nm 波长下比色。以 SOD 抑制氮兰四唑光还原 50% 时所需酶液量为 1 个酶活力单位。

(3) MDA 含量的测定 采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法^[14]。取上述统一提取酶液 2 mL,加 0.67% TBA 2 mL,混合后在 100 ℃水浴上煮沸 30 min,冷却后再离心 1 次。分别测定上清液在 450、532 nm 和 600 nm 处的吸光度值,按公式 $C/\mu\text{mol/L} = 6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}$ 算出 MDA 浓度,再算出单位鲜量组织中的 MDA 含量(μmol/g)。

1.4 银杉种子激素处理实验

将 3 种不同贮藏条件下的种子,贮藏 30、60、90 d 后再分别用浓度 50、100、150、200 mg/L 的赤霉素(GA)、奈乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IAA)溶液浸种 24 h,种子进行发芽测定。实验共计 12 个处理,每组处理各设 4 个重复,每个重复 100 粒种子。

1.5 统计分析方法

按以下公式计算各参数:萌发率(Germination Rate) = (萌发种子数/参试种子数) × 100%。平均值、标准差及图表处理用 SAS 9.0、Excel 2003 完成,最终的萌发结果以“萌发百分率 ± 标准差”表示,不同处理间的差异性分析均采用单因子方差分析(One Way ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 银杉种子的质量

参照《林木种苗育苗技术及林业工程管理实务全书》^[11]。所述方法,对银杉种子的球果的出种率、千粒重、优良度、含水率、吸水率、种子生活力等质量指标进行了测定,结果见表 1。

表 1 银杉种子的一般特性
Table 1 Physical characteristics of *Cathaya argyrophylla* seeds

千粒重/g Weight/1000 seeds	优良度/% Seed quality	含水率/% Moisture content	吸水率/% Absorption rate	出种数/粒 Seeds/100 cones	种子生活力/% Seed viability
15.80 ± 1.40	70.50 ± 8.80	11.83 ± 0.37	37.45 ± 3.07	4.36 ± 3.05	50.50

经测定,1 kg 银杉球果 490—520 个,平均长 2.89 cm,直径 1.42 cm。球果出种率 2.5%,种子优良度

70.50%, 含水率 11.83%。银杉每百球果间出种量差异显著, 其中最大为 13 粒占 1%, 平均为 4.36 粒, 变异系数高达 70%。进一步的观察分析表明, 同一株银杉的不同球果的出种量没有明显差异; 银杉种子千粒重为 15.80 g; TTC 染色法测定银杉种子的生活力表明, 有生活力的种子占总数 50.50%, 无生活力占 43.75%, 空粒占 5.75%。

2.2 不同保存时间和保存方法对银杉种子发芽率的影响

种子的保存时间和保存方法对种子发芽率的影响一直是种子生理研究的一个基础和热点, 为了探讨适合银杉种子的储存时间和方法。进行了不同保存时间和保存方法对银杉种子发芽率的影响试验, 结果见图 1。

由图 1 可以看出, 银杉种子储存 30 d 时的平均发芽率为 31%, 60 d 时下降到 18%, 到 90 d 时仅为 7%, 说明随着保存时间的延长, 银杉种子的发芽率呈显著下降趋势; 随着保存时间的延长, 不同的保存方法均呈现发芽率逐渐降低的相同趋势。同时可以看出不同的储存方法对银杉种子发芽率的影响不同, 其中苔藓的含水率为 12.28%, 湿沙的含水率为 11.91%, 报纸的含水率为 11.39%, 在储存 30 d 时, 不同储存方法对发芽率影响差异不显著, 60 d 和 90 d 的处理, 苔藓冷藏法的发芽率要显著高于湿沙贮藏法和报纸贮藏法。因此, 实验表明将苔藓包裹置于冰箱(4 °C)保存方法为银杉种子的合适保存方法。

2.3 不同保存方法对种子抗氧化酶系统的影响

2.3.1 不同保存方法对 MDA 含量和 POD 活性的影响

图 2 表明贮藏 30d 时, 报纸贮藏条件下银杉种子的 MDA 含量为 2.67 mmol/g 显著高于苔藓贮藏和湿沙贮藏法的 0.17 mmol/g, 0.47 mmol/g; 60 d 和 90 d 这 2 个阶段, 3 种贮藏方法的 MDA 都处于较低水平。说明报纸贮藏条件下, 种子膜脂过氧化作用非常强烈, 苔藓贮藏和湿沙贮藏条件有利于种子活力的保持, 膜脂过氧化作用弱。苔藓冷藏和湿沙贮藏条件下, 种子 MDA 含量都表现出先升高后降低的趋势, 说明短时间(30 d)的贮藏使得种子质膜过氧化增强, 但随着时间的延长(90 d), 种子平均 MDA 含量略有下降, 同时部分种子已经完全丧失活力, 但差距都没有达到显著性水平。

不同保存方法对过氧化物酶(POD)活性的影响见图 2。保存 30 d 以后, 苔藓冷藏和湿沙贮藏法对种子

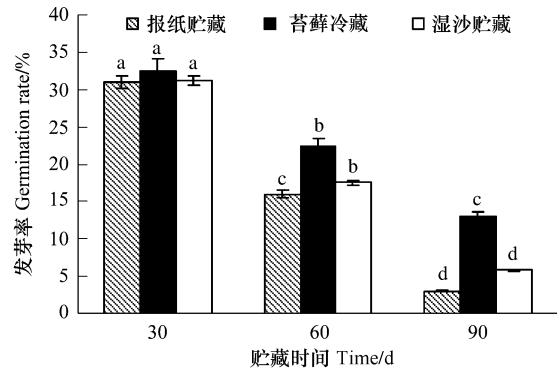


图 1 不同贮藏条件及时间对种子发芽率的影响

Fig. 1 Influence of various storage methods and duration on seed germination of *Cathaya argyrophylla* seeds

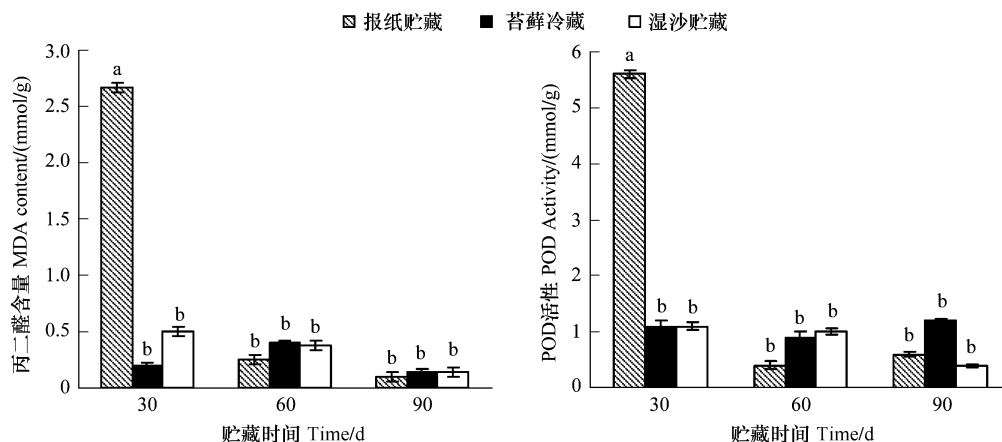


图 2 不同保存方法对银杉种子 MDA 含量和 POD 活性的影响

Fig. 2 Influence of various seed storage methods on MDA content and POD activity of *Cathaya argyrophylla* seeds

POD 活性的影响差异不大,而报纸贮藏法的 POD 活性要显著高于其它两种方法。但随着保存时间的延长,3 种贮藏方法的种子 POD 活性较低,相互间差异均没有达到显著水平。

2.3.2 不同保存方法对 SOD 活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)广泛存在于植物细胞中,几乎是所有植物抗氧化防御机制中不可或缺的蛋白成分,与细胞的抗氧化能力极其相关^[15]。实验表明(图 3),贮藏方法对银杉种子的 SOD 酶活力有显著影响。贮藏 30 d 时,报纸贮藏条件下,种子受到逆境的胁迫,产生大量的 O_2 ,这导致 SOD 酶活性的大幅增高,达 $300 U/(g \cdot min)$,与其图 2 中方法相比达到极显著水平;随着贮藏时间的延长,种子的 SOD 下降,3 种贮藏方法的 SOD 活性没有显著差异。

2.4 不同激素处理对银杉种子发芽率的影响

植物激素对种子萌发起着重要的调节作用。将报纸干藏、湿沙贮藏、苔藓冷藏 3 种储存方法贮藏的银杉种子,贮藏 30、60、90 d 后再分别用浓度 50、100、150、200 mg/L 的赤霉素(GA)、萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IAA)溶液浸种 24 h,测定了不同浓度的赤霉素(GA),萘乙酸(NAA)和吲哚丁酸(IAA)对银杉种子发芽率的影响,结果见图 4。

从图 4 可以看出,银杉种子经不同浓度的 GA 处理,其发芽率都普遍低于对照组的,说明 GA 的存在不利于银杉种子的萌发。NAA 和 IAA 对银杉种子的萌发有一定的促进作用,且对银杉种子萌发的促进作用主要表现在储存的前期,即 30 d 这个时期;NAA 和 IAA 的浓度对银杉种子萌发有正面的影响,50 mg/L 和 100 mg/L 的 NAA 和 IAA 处理的银杉种子的发芽率都显著高于对照组,其中以 100 mg/L 的浓度最佳,100 mg/L NAA 处理的银杉种子的发芽率比对照提高了 27%;100 mg/L IAA 的发芽率比对照高出 30.30%。随着储存时间的延长,银杉种子的发芽率逐渐降低,不同的激素种类和浓度对发芽率的影响差异不显著。

3 结论与讨论

(1)银杉种子生理生态特征表明从种子到幼苗的转化率较低是其濒危机制之一

前人研究表明,银杉种子千粒重为 19.7 g,本试验的千粒重为 15.8 g,远远低于其他乔木树种的种子平均千粒重 327.9 g,甚至比灌木种子的平均千粒重(69.1 g)都低,本研究结果与其类似,种子质量的好坏是影响种群未来命运的关键因子,对不同母树上采集的种子测定结果显示,同一株银杉的结实性状基本相同,球果的发育程度也相近,但不同植株之间的结实性状差异很大,结实率和结实质量差异明显,造成银杉种子总体质量不高^[6],而且经常产生大量的死粒和空粒,这些死粒和空粒很难除去,因此经常造成种子质量参差不齐,这种现象可能是球花花期不遇或授粉不足造成的^[16]。不利的气象条件也会降低种子的质量,花期多雨会阻碍花粉粒飞散。春季的高山严寒会使部分球花甚至全部球花中途败育^[6]。本研究还表明银杉种子活力的保持常局限在一定的贮藏时间内,活力随贮藏时间延长而急剧下降,种子不耐过长的时间贮藏,随采随播可能更佳。种子经苔藓冷藏 90 d 后,发芽率较冷藏 30 d 的下降 50% 以上,但是银杉种子具后熟过程,有一定休眠期,播种至发芽所需时间较长,而且发芽持续时间也较长,个别种子播种 1a 后才发芽^[17]。为提早萌发需要将种子低温和湿沙处理一段时间后方能播种^[6]。由于种子发芽期持续较长,影响因子众多,致使种子长成幼苗的成功率较低,这是银杉的生活周期中的脆弱环节,也是致濒的重要原因之一^[2]。

试验还表明,报纸包裹不能有效的保持银杉种子的水份,特别是由于室内空气的温湿度变化频繁,造成银杉种子生理活性代谢下降剧烈,其种子失水严重,生活力下降迅速。作为对谢宗强等^[6]方法的补充,本研究

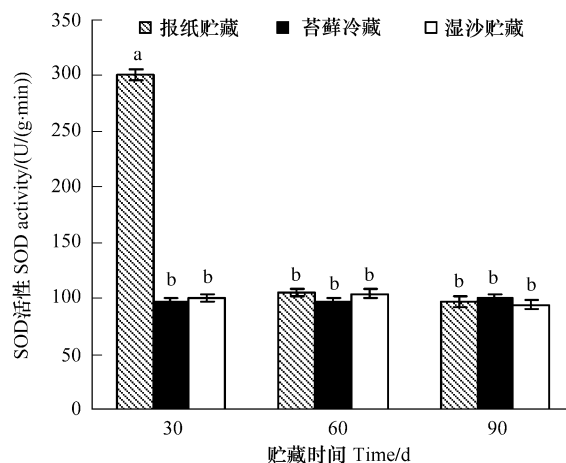


图 3 不同保存方法对银杉种子 SOD 活性的影响

Fig. 3 Influence of various seed storage methods on SOD activity of *Cathaya argyrophylla* seeds

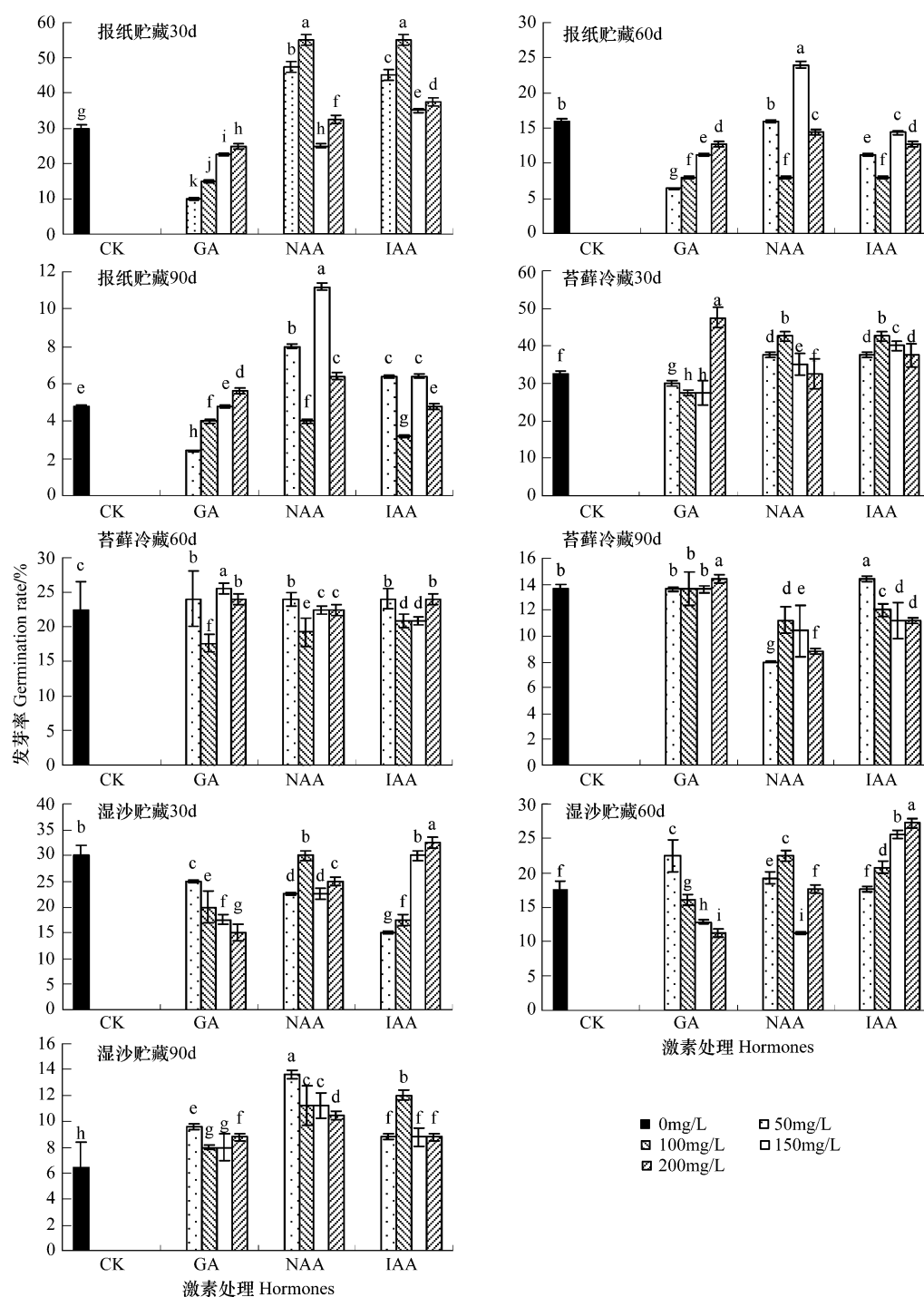


图4 不同激素处理对银杉种子发芽率的影响

Fig. 4 Influence of hormones on seed germination of *Cathaya argyrophylla* seeds

发现苔藓冷藏(温度4℃,苔藓含水率为12.28%)既能较好的保持种子的水份,又能降低种子的代谢作用,延长种子的寿命。因此,低温苔藓包裹是银杉种子的适宜保存方法。

(2) IAA 处理可以显著提高短时间储存银杉种子的发芽率

使用激素浸泡种子能不同程度的提高银杉种子的活力,增加发芽率。本研究表明,IAA、NAA 处理能提高银杉种子的发芽率表现,其中以100 mg/L 的 IAA 效果最好。但随着贮藏时间的延长,种子自身活力丧失严重,此时使用激素的效果并不明显。很多研究表明,适当浓度的 IAA 参与有助于解除种子休眠,促进种子

萌发^[9]。

(3)不同保存方法对银杉种子抗氧化酶含量及活性水平的变化

报纸保存的银杉种子其抗氧化酶活性及 MDA 含量变化剧烈,表明此种处理方法会使银杉种子处在活性氧大量产生的逆境中。报纸 30 d 处理情况下银杉种子细胞膜出现很高的过氧化程度,相应的清除活性氧的酶系统其活性也大幅度提高。然而,抗氧化酶系统的运转需要能量的输入[ATP,还原型辅酶(IINADPH)]^[18],能量大小和维持时间与呼吸作用速率大小及其消耗新陈代谢底物的程度相关^[19]。因此,报纸储存 60 d 以后抗氧化酶系统活性的剧烈下降可能与能量消耗殆尽相关。报纸储存 60 d 后 MDA 含量也出现剧烈下降表明细胞膜可能丧失了其渗透调节的生理功能,导致其外泄生理活性物质从而导致生活力的剧烈下降,发芽率明显降低^[20]。

与此相反,苔藓和湿沙储存相对稳定了银杉种子抗氧化酶活性含量和活力。以这 2 种方法储存 90 d 后的银杉种子,MDA、SOD 和 POD 表现都较为平稳,表明活性氧产生量较低并且平稳,同时这种动态也表明银杉种子可以将储存的有限能量用于更长时间的持续萌发,这对于提高银杉从种子到幼苗的转化率是非常有利的。

总之,本试验研究表明,银杉种子生理生态特征表明在自然状态下银杉从种子到幼苗的成功率较低,这是其濒危的生理生态原因之一。在银杉种子保存和提高发芽率的技术手段上来看,苔藓冷藏既能较好的保持种子的水分,又能降低种子的代谢作用,延长种子的寿命。因此,苔藓包裹 4℃低温并保持一定湿度的保存方法是银杉种子的适宜保存方法。NAA 和 IAA 的浓度对银杉种子萌发有影响,其中以 100 mg/L 的浓度最佳,100 mg/L NAA 处理的银杉种子的发芽率比对照组提高了 27.0%;100 mg/L IAA 的发芽率比对照高出 30.3%,处理条件最佳。

然而,从种子到幼苗的长成仅仅只是银杉生活周期的一个重要环节,从幼苗长成大树以至开花结实再繁育还有一系列的生命环节的关键技术需要突破,银杉的保育生物学研究仍是任重而道远。此外,从银杉种子的繁育生物学特性来看,它具有一系列的竞争劣势,如种子质量低劣、发芽率低、种子到成苗过程成功率低下等,均反应出银杉生存和进化上的缺陷。据此,如不采取坚决的人为保育和繁育措施,任其自然选择淘汰,其灭绝的命运将是不可避免的。

致谢:美国缅因大学张冬林对本文写作给予帮助,中国科学院植物研究所樊大勇研究员及中南林业科技大学祁承经、金小玲教授给予指点,特此致谢。

References:

- [1] Peng D C, Lin M J, Luo Z C. A living fossil plant—*Cathaya argyrophylla*. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 1984: 26-84.
- [2] Xie Z Q, Chen W L. The endangering causes and preserving strategies for *Cathaya argyrophylla* a plant endemic. *Acta Phytocologica Sinica*, 1999, 23(1): 1-7.
- [3] Xie Z Q, Chen W L. The present and future research of *Cathaya argyrophylla*. *Chinese Biodiversity*, 1994, (2): 11-15.
- [4] Zhang W F, Fan D Y, Xie Z Q, Jiang X H. The seasonal photosynthetic responses of seedlings of the endangered plant *Cathaya argyrophylla* to different growth light environments. *Chinese Biodiversity*, 2005, 13(5): 387-397.
- [5] Xie Z Q, Chen W L. The present and future research of *Cathaya argyrophylla*. *Chinese Biodiversity*, 1994, (2): 11-15.
- [6] Xie Z Q, Li Q M. Seed characteristics of the endangered plant *Cathaya argyrophylla*. *Acta Phytocologica Sinica*, 2000, 24(1): 82-86.
- [7] Tang S H, Sun M. Studies on seed germination of *Cathaya Argyrophylla* by orthogonal test. *Journal Guizhou University (Natural Science)*, 1994, 11(2): 106-110.
- [8] Xin X, Jing X M, Sun H M, Lun Z M, VAARIO L M. An effective in vitro protocol for increasing mycorrhizal formation rate of *Cathaya argyrophylla*. *Acta Phytocologica Sinica*, 2006, 30(2): 323-329.
- [9] Yang C J, Zhang X S, Zhang Z K. Effect of acetylcholine on seed germination and endogenous IAA and ABA contents of *Cistanche tubulosa*. *Plant Physiology Communications*, 2007, 43(2): 572-577.
- [10] Xin X, Jing X M, Sun H M, Lin J, Wang X F. Ecophysiological characteristics of seed germination of the relict plant *Metasequoia glyptostroboides*. *Chinese Biodiversity*, 2004, 12(6): 572-577.

- [11] Wang H Y. Forest tree seedling nursery technology and forestry management practices. Beijing: China Knowledge Press, 2009: 45-143.
- [12] Li H S, Sun Q, Zhao S J. Principles and techniques of plant physiological and biochemical tests. Beijing: Higher Education Press, 2000: 164-167.
- [13] Stewart R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiol., 1980, (65): 245-248.
- [14] Heath R L, Parker L. Photoperitization in isolated chloroplasts kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biophys., 1968, (25): 189-198.
- [15] Tao J L. Seeds vigor. Beijing: Science Press, 1991: 35-36.
- [16] Lai J S, Li Q M, Xie Z Q. An effective *in vitro* protocol for increasing mycorrhizal formation rate of *Cathaya argyrophylla*. Acta Phytocologica Sinica, 2003, 27(5): 661-666.
- [17] Huang Z F, Li R G, Shi J H. Preliminary report on *Cathaya argyrophylla* seed multiplication. Guihaia, 1981, 1(2): 40-44.
- [18] Wang R G. Salt-induced Oxidative Stress and the Relevance to Salt Tolerance in Poplar. Beijing Forestry University, 2007.
- [19] Sun H M. Studies on Optimal Moisture Contents and Physiological-Biochemical Characteristics on Seed Germplasm Conservation. Beijing: The Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, 2006.
- [20] Lu J, Li Z H, Zhang B, Li C Z, OU R M. Effects on N^+ ion implantation on physiological and biochemical characters of *Sloanea hemsleyana* seeds. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2008, 22(5): 617-620.

参考文献:

- [1] 彭德纯, 林睦就, 罗仲春. 植物活化石——银杉. 长沙: 湖南科技出版社, 1984: 26-84.
- [2] 谢宗强, 陈伟烈. 中国特有植物银杉的濒危原因及保护对策. 植物生态学报, 1999, 23(1): 1-7.
- [3] 谢宗强, 陈伟烈. 中国特有植物银杉林的现状和未来. 生物多样性, 1994, (2): 11-15.
- [4] 张旺锋, 樊大勇, 谢宗强, 蒋晓晖. 濒危植物银杉幼树对生长光强的季节性光合响应. 生物多样性, 2005, 13(5): 387-397.
- [5] 谢宗强, 陈伟烈. 中国特有植物银杉林的现状和未来. 生物多样性, 1994, (2): 11-15.
- [6] 谢宗强, 李庆梅. 濒危植物银杉种子特性的研究. 植物生态学报, 2000, 24(1): 82-86.
- [7] 汤绍虎, 孙敏. 银杉种子萌发的多因子正交试验. 贵州大学学报: 自然科学版, 1994, 11(2): 106-110.
- [8] 邢树堂, 李玉花, 孙雪, 伦志明, 瓦里奥禄敏. 一种有效提高银杉人工菌根苗诱导率的方法. 植物生态学报, 2006, 30(2): 323-329.
- [9] 杨重军, 张秀省, 庄志坤. 乙酰胆碱对管花肉苁蓉种子萌发及其内源 IAA 和 ABA 含量的影响. 植物生理学通讯, 2007, 43(2): 572-577.
- [10] 辛霞, 景新明, 孙红梅, 林坚, 汪晓峰. 孑遗植物水杉种子萌发的生理生态特性研究. 生物多样性, 2004, 12(6): 572-577.
- [11] 王海漾. 林木种苗育苗技术及林业工程管理实务全书. 北京: 中国知识出版社, 2009: 45-143.
- [12] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化试验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-167.
- [15] 陶嘉龄, 郑光华. 种子活力. 北京: 科学出版社, 1991: 35-36.
- [16] 赖江山, 李庆梅, 谢宗强. 濒危植物秦岭冷杉种子萌发特性的研究. 植物生态学报, 2003, 27(5): 661-666.
- [17] 黄正福, 李瑞高, 石金华. 银杉种子繁殖初报. 广西植物. 1981, 1(2): 40-44.
- [18] 王瑞刚. 盐诱导氧化胁迫与杨树耐盐性研究. 北京: 北京林业大学学报, 2007.
- [19] 孙红梅. 种子种质保存最适含水量及生理生化特性研究. 北京: 中国科学院, 2006.
- [20] 陆佳, 李志辉, 张斌, 李昌珠, 欧日明. 氮离子注入对仿栗种子当代生理生化性状的影响. 核农学报, 2008, 22(5): 617-620.