•综述•

14种中国典型极小种群野生植物繁育特性和人工繁殖研究进展

邓 莎^{1,2} 吴艳妮^{1,2} 吴坤林¹ 房 林¹ 李 琳¹ 曾宋君^{1,3*}

1 (中国科学院华南植物园华南农业植物分子分析与遗传改良重点实验室, 广州 510650)

2 (中国科学院大学, 北京 100049)

3 (中国科学院华南植物园广东省应用植物学重点实验室, 广州 510650)

摘要: 繁殖是植物种群更新与维持的重要环节。包括极小种群野生植物在内的受威胁物种, 其濒危原因是在长期演化过程中自身繁育力的衰退、生活力的下降等内在因素和人类的过度采挖和生境的破坏等外在因素共同作用的结果。对极小种群野生植物进行高效的人工繁殖, 能扩大种群数量并应用于迁地保护、自然回归和满足商品市场的需求, 有利于其种质资源的保护和可持续利用。为了保持物种的遗传多样性, 采用种子繁殖育苗是有效的方法, 扦插、嫁接和组织培养技术等无性繁殖方法则可用于对难以用种子繁殖的种类进行快速繁殖。本文对14种中国典型极小种群野生植物的繁殖特性和已有的人工繁殖方法进行了综述, 并简要介绍在其种苗繁殖研究方面取得的进展。其中利用播种繁殖成功的物种有12种, 共繁殖230,000株种苗; 利用扦插繁殖成功的物种有5种, 共繁殖33,100株种苗; 华盖木(*Manglietiastrum sinicum*)、河北梨(*Pyrus hopeiensis*)和黄梅秤锤树(*Sinojackia huangmeiensis*)采用嫁接繁殖出了2,415株种苗; 9个物种的组织培养技术获得成功, 共繁殖了24,850株种苗。这些种苗有些已应用于迁地保护和自然回归。上述研究结果为这14种极小种群野生植物的保护和利用提供了理论和技术基础, 也能为其他极小种群野生植物的保护和利用提供参考。

关键词: 极小种群野生植物; 播种; 扦插; 嫁接; 组织培养

Breeding characteristics and artificial propagation of 14 species of Wild Plant with Extremely Small Populations (WPESP) in China

Sha Deng^{1,2}, Yanni Wu^{1,2}, Kunlin Wu¹, Lin Fang¹, Lin Li¹, Songjun Zeng^{1,3*}

1 Key Laboratory of South China Agricultural Plant Molecular Analysis and Gene Improvement, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

3 Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Botany, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650

Abstract: Reproduction is an important part of plant population renewal and maintenance. Threatened species including the Wild Plant with Extremely Small Populations (WPESP), are the result of a combination of internal factors, such as declines in reproductive ability and evolutionary longevity, and external factors, such as artificial over-harvesting and habitat destruction. Efficient artificial reproduction of WPESP can be used for *ex situ* conservation, reintroduction, and, in some cases, meet the demands of the commodities market, which underscores the need for protection and sustainable use of their germplasm. Seed propagation is the most effective method for maintaining genetic diversity in these species. However, cutting, grafting and tissue culture are effective supplements for these species that are especially difficult to propagate from seed. Here, we report on the breeding characteristics and propagation methods of 14 typical species of WPESP selected by our National Key Research Projects of China, and the progress of seedling propagation. A total of 230,000 seedlings from 12 species were produced via sowing, 33,100 seedlings from 5 species via cutting,

收稿日期: 2020-02-17; 接受日期: 2020-04-27

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC0503100)“极小种群野生植物扩繁技术与示范”课题(2016YFC0503104)和中国科学院战略生物资源服务网络计划植物种质资源创新项目(kj-fbrsn-2018-6-005)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: zengsongjun@scib.ac.cn

2,415 seedlings from 3 species including *Manglietiastrum sinicum*, *Pyrus hopeiensis* and *Sinojackia huangmeiensis* via grafting, 24,850 plantlets from 9 species via tissue culture. The results of this study provide a basis for the protection and use of these 14 species, providing a reference for other WPESP in China.

Key words: Wild Plant with Extremely Small Populations (WPESP); sowing; cutting; grafting; tissue culture

极小种群野生植物(Wild Plant with Extremely Small Populations, WPESP, 也有学者译作 Plant Species with Extremely Small Populations, PSESP)是指地区分布狭窄或呈间断分布、长期受到外界因素胁迫干扰而呈现出种群退化和数量持续减少、种群及个体数量都极少,已经低于稳定存活界限的最小可存活种群而随时濒临灭绝的野生植物种(Ren et al, 2012; Ma et al, 2013)。全国极小种群野生植物大多是国家和各省区亟需优先保护的濒危物种,依据全国重点保护野生植物调查和相关专项调查结果,《全国极小种群野生植物拯救保护工程规划(2011–2015年)》提出优先保护的极小种群野生植物共120种。笔者参与的国家重点研发计划项目“典型极小种群野生植物保护与恢复技术研究(2016YFC0503100)”(以下简称“本项目”)选择了14种典型极小种群野生植物作为研究对象(表1),其中海伦兜兰(*Paphiopedilum helenae*)和瑶山苣苔(*Dayaoshania cotinifolia*)为草本植物,其他为木本植物。研究包括其生存潜力与维持机制、种质资源保护技术与示范、就地保护及生境恢复技术与示范、扩繁技术与示范、迁地保护技术与示范和回归技术与示范等内容(臧润国等, 2016),其中扩繁技术与示范是本项目的基础,只有繁育出足够的种苗才能进行有效的近地保护、迁地保护和自然回归。

繁殖是植物种群生活史循环过程中最关键的环节之一,也是种群更新与维持的重要基础。繁殖能力低下是大多数珍稀濒危物种包括我国120种极小种群野生植物的共同特征,是在长期演化过程中内在因素和外在因素综合作用的结果。物种自身繁育力的衰退、生活力的下降等是导致它们走向濒临灭绝的内在原因,而人类的过度采挖和生境的破坏是主要的外在因素(臧润国等, 2016)。包括极小种群野生植物在内的受威胁物种,尤其是在依靠种子繁殖的濒危植物中,种子活力与种群幼苗建成、幼苗更新密切相关,所以对濒危植物的保护首先应该摸清种子生理生态的基础生物学特性以及限制种子

生产、萌发的生态环境因子。利用种子繁殖扩大其种群数量是最有效的方式,但一些种类极难获得种子,或种子的萌发率极低,在这种情况下,利用扦插、嫁接、无菌播种和组织培养等多种技术手段进行快繁是扩大其种群数量的有效手段。本文对14种中国典型极小种群野生植物的繁殖特性和已有的人工繁殖方法进行综述,介绍了种苗繁殖研究近期取得的进展,以期为我国极小种群野生植物的保护和利用提供参考。

1 14种中国典型极小种群野生植物的分布、种群数量及人工繁殖研究概况

《全国极小种群野生植物拯救保护工程规划(2011–2015年)》中公布了我国120种极小种群野生植物在中国的分布点、分布区和株数,本文涉及的14种中国典型极小种群野生植物信息见表1。其中有4个种在国外也有分布:东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)还分布于朝鲜北部、韩国济州岛、俄罗斯、日本、英国和美国等地;坡垒(*Hopea hainanensis*)和海伦兜兰还分布于越南北部;密叶红豆杉(*Taxus fuana*)还分布于印度、巴基斯坦、尼泊尔等国。本项目在对这14种植物进行深入调查时发现:(1)除湖北利川县、重庆石柱县、湖南龙山县外,华东师范大学陈小勇团队在重庆万州和湖南桑植县发现了水杉(*Metasequoia glyptostroboides*)新的分布点,至此,共发现水杉野生个体5,746株,多于已报道的5,681株;(2)中国科学院武汉植物园江明喜团队发现黄梅秤锤树(*Sinojackia huangmeiensis*)虽然只有黄梅县1个分布点,但野生植株有1,225株,多于已报道的867株;(3)北京林业大学李俊清团队发现梓叶槭(*Acer catalpifolium*)除已报道的四川都江堰市、峨眉山市、雷波县、筠连县、北川县5个分布点外,在四川平武县和大邑县也有分布;(4)笔者研究团队发现海伦兜兰除在广西那坡县分布外,在广西靖西县、大新县和龙州县也有分布,共发现507株,远多于已报道的35株;(5)海南大学杨小波团队发现坡垒在我国除

海南乐东县、白沙县、琼中县有分布以外, 在海南省东方市、保亭县、陵水县、澄县、崖县等地也有分布, 包括幼苗在内, 数量约200,000株。有关这14个极小种群野生植物的繁殖特性均已研究, 但其中的黄梅秤锤树、河北梨(*Pyrus hopeiensis*)、密叶红豆杉和仙湖苏铁(*Cycas fairylakea*) 4个种尚未有任何人工繁殖研究的报道, 其他10个种均有播种繁殖的研究, 其中7个还有扦插繁殖或组织培养的报道, 2个有嫁接繁殖的报道(表1)。在采用播种繁殖的种类中, 海

伦兜兰由于种子极小且没有胚乳, 野外自然生境下需要与真菌共生才能萌发, 且萌发率极低, 播种是在采用人工培养基上进行的非共生萌发(Lee, 2007); 而利用组织培养的7个种类中, 东北红豆杉、华盖木(*Manglietiastrum sinicum*)、天目铁木(*Ostrya rehderiana*)和崖柏(*Thuja sutchuenensis*) 4个种均没有获得生根再生植株, 没有建立起有效的再生体系。

在项目实施过程中, 项目组对14种中国典型极小种群野生植物进行了繁殖技术的系统研究(表2)。

表1 项目开展前14种中国典型极小种群野生植物在中国的分布、种群大小和人工繁殖状况
Table 1 Distributions and population size of 14 species of Wild Plant with Extremely Small Populations in China and their artificial propagation status before the Project

物种 Species	中国分布地点 Distributions in China	分布地点数 No. of localities	野生植株数 No. of wild plants	人工繁殖方法 Artificial propagation methods			
				播种 Seeding	扦插 Cutting	嫁接 Grafting	组织培养 Tissue culture
水杉 <i>Metasequoia glyptostroboides</i>	湖北利川县、重庆石柱县和湖南龙山县 Lichuan City of Hubei, Shizhu County of Chongqing, and Longshan County of Hunan	3	5,681	√	√	√	√
东北红豆杉 <i>Taxus cuspidata</i>	辽宁省、吉林省、黑龙江省 18 个县 18 counties of Liaoning, Jilin, and Heilongjiang	18	42,700	√	√	—	√
坡垒 <i>Hopea hainanensis</i>	海南乐东县、白沙县和琼中县 Ledong, Baisha, and Qiongzong counties of Hainan	4	89,300	√	√	√	—
盐桦 <i>Betula halophila</i>	新疆阿勒泰和博乐市 Alatai and Bole cities of Xinjiang	2	282	√	√	—	√
华盖木 <i>Manglietiastrum sinicum</i>	云南西畴县和马关县 Xichou and Maguan counties of Yunnan	1	18	√	√	—	√
天目铁木 <i>Ostrya rehderiana</i>	浙江临安县 Lin'an County of Zhejiang	1	5	√	√	—	√
崖柏 <i>Thuja sutchuenensis</i>	重庆城口县和开县 Chengkou and Kaixian counties of Chongqing	2	4,500	√	√	—	√
梓叶槭 <i>Acer catalpifolium</i>	四川都江堰市、峨眉山市、雷波县、筠连县、北川县 Dujiangyan, Emeishan, Leibo, Junlian, and Beichuan counties of Sichuan	5	53	√	—	—	—
海伦兜兰 <i>Paphiopedilum helenae</i>	广西那坡县 Napo County of Guangxi	1	35	√	—	—	—
瑶山苣苔 <i>Dayaoshania cotinifolia</i>	广西金秀县 Jinxiu County of Guangxi	1	9,600	√	—	—	√
黄梅秤锤树 <i>Sinojackia huangmeiensis</i>	湖北黄梅县 Huangmei County of Hubei	1	867	—	—	—	—
河北梨 <i>Pyrus hopeiensis</i>	河北昌黎县 Changli County of Hebei	1	200	—	—	—	—
密叶红豆杉 <i>Taxus fuana</i>	西藏吉隆县 Jilong County of Xizang	1	34,000	—	—	—	—
仙湖苏铁 <i>Cycas fairylakea</i>	广东深圳市、曲江县、连县、鹤山县 Shenzhen, Qujiang, Lianxian, and Heshan counties of Guangdong	4	1,500	—	—	—	—

表中的分布地点、分布地点数、野生植株数来自于《全国极小种群野生植物拯救保护工程规划(2011–2015 年)》。
The distribution, the number of distribution locations and the number of wild plants in the table are from the National Plan for the Rescue and Protection of the Wild Plant with Extremely Small Populations (2011–2015).

综述

表2 项目实施过程中14种中国典型极小种群野生植物采用的繁殖方法和获得的种苗数量

Table 2 Number of seedlings of 14 species of Wild Plant with Extremely Small Populations in China by artificial propagation in the Project

物种 Species	人工繁殖数量 Number of seedlings by artificial propagation			
	播种 Seeding	扦插 Cutting	嫁接 Grafting	组织培养 Tissue culture
水杉 <i>Metasequoia glyptostroboides</i>	50,000	1,500		500
东北红豆杉 <i>Taxus cuspidata</i>	50,000			—
坡垒 <i>Hopea hainanensis</i>	50,000			—
盐桦 <i>Betula halophile</i>	4,500			10,000
华盖木 <i>Manglietiastrum sinicum</i>	5,000		200	50
天目铁木 <i>Ostrya rehderiana</i>	5,000			0
崖柏 <i>Thuja sutchuenensis</i>	50,000	300		100
梓叶槭 <i>Acer catalpifolium</i>	2,000			300
黄耬秤锤树 <i>Sinojackia huangmeiensis</i>	500	30,000	15	2,000
河北梨 <i>Pyrus hopeiensis</i>	—		2,200	900
密叶红豆杉 <i>Taxus fuana</i>	—	800		0
仙湖苏铁 <i>Cycas fairylakea</i>	1,000			0
海伦兜兰 <i>Paphiopedilum helenae</i>	10,000			1,000
瑶山苣苔 <i>Dayaoshania cotinifolia</i>	2,000	500		10,000
合计 Total	230,000	33,100	2,415	24,850

采用种子繁殖成功的有12种，繁殖幼苗数量达230,000株，没有繁殖成功的2个种分别是河北梨和密叶红豆杉。河北梨仅有1个分布点，由于其遗传多样性水平极低、自交不亲和，难以获得种子。来源于西藏吉隆县5个分布点的密叶红豆杉由于获得的种子均发育不良，空壳率较高，中南林业科技大学徐刚团队参考东北红豆杉的播种方法并经过两个冬季的低温处理再进行发芽实验，未获得成功，因此有关密叶红豆杉的种子状态和萌发机制需要进一步研究。针对来源于广西的海伦兜兰和瑶山苣苔，笔者研究团队利用无菌播种均获得了种苗。利用扦插繁殖种苗的种类有5种，共繁殖出种苗33,100株。尽管通过播种获得了大量的水杉种苗，但一些核心种质不能结实，因而采用扦插和组织培养法对其进行了繁殖。黄耬秤锤树只有湖北黄梅县1个分布点，自然结实率低，难以获得种子，一些种群不能结实，采用该种群中植株的枝条进行扦插和组织培养法繁殖，利用秤锤树(*Sinojackia xylocarpa*)

嫁接成功了15株。至于瑶山苣苔，在原生地采用叶片扦插繁殖方法，不但能保持其遗传多样性，扦插植株第二年就能开花结果。华盖木和河北梨的扦插繁殖难度大，利用嫁接分别繁殖出了200株和2,200株种苗，利用圈枝技术也获得了200株。

除东北红豆杉、坡垒外，对其他12个种均进行了组织培养技术研究。除天目铁木、密叶红豆杉和仙湖苏铁没有获得生根的再生植株外，其他9种均获得成功，其中盐桦(*Betula halophile*)、黄耬秤锤树、瑶山苣苔和海伦兜兰的组织培养再生体系非常有效，已能进行种苗的规模化繁殖。

2 14种中国典型极小种群野生植物繁育特性和人工繁殖研究进展

2.1 水杉

水杉是中国学者于1941年在湖北利川谋道镇(当时四川万县磨刀溪)首次发现闻名中外的古老珍稀孑遗树种，在《中国植物红皮书》(傅立国, 1991)中被列为稀有种，为国家一级保护植物，被称为植物的“活化石”。目前，全国人工种植的有数百万株。我国之所以仍将其定为极小种群保护植物，主要是由于栽培水杉仅来源于湖北利川的母株，遗传多样性低、不能自然更新，而野生种群数量较少，且存在自然更新不良和种群衰退现象(朱莹莹和徐晓婷, 2019)，多项研究报道水杉种子质量差、产地春季温度不适宜、枯落物覆盖等原因影响其种子的萌发(辛霞等, 2004; 尤冬梅和马广礼, 2008; 李淑娴等, 2012)。

项目开展前，已报道水杉的人工繁育方式有播种、扦插、嫁接及组织培养等，其中有关播种和扦插的文献较多，但多是基层科研机构对其繁殖方法的经验性介绍。由于水杉的特殊地位，20世纪70年代已利用播种和扦插等方式生产了大量种苗并在全国广泛栽培，如1976年江苏省如东县通过播种方式繁殖了146,360株幼苗，江苏省六合县灵岩山林场1976年报道生产了400多万株。在原产地，种子多在冬天成熟，由于采种时天气变冷，需要贮藏至第二年3—4月才能播种(Yu, 2008)。傅紫菱(1981)报道在0℃条件下贮藏1年发芽率为87.4%，第二年仍有85.9%的发芽率，但室温下贮藏1年的种子就完全失去发芽能力。景丹龙等(2011)对5种同工酶含量研究发现，4℃、50%湿度沙藏是最适合水杉种子贮藏的条件。不同浸种时间、浸种温度及发芽温度、生根

粉浸种及不同覆盖物育苗等均会影响种子的萌发(廖绍忠和周万良, 1989; 巢全良等, 1991; 杨玉杰等, 2015)。

20世纪对水杉进行扦插繁殖的主要原因是难以获得种子(Creech, 1948), 我国20世纪50年代和70年代就有大量扦插繁殖的报道, 相关的研究涉及母树年龄(洪建峰等, 2016)、枝条年龄和状态(续建国等, 1980; 于永根等, 2012)、扦插时间(杨登俊等, 2008; 于泽波, 2008)、扦插的基质和环境(王嵘, 1980; 张梅, 2005)、插穗处理(王嵘, 1980)、植物生长调节剂应用等(杜化堂和熊雪梅, 1992; 林玲和普布次仁, 2008)。

采用水杉成年植株的枝条嫁接能使之提前开花。李锦清(1987)报道, 水杉实生苗需要25–30年才能结实。浙江省余杭县长乐林场以本砧嫁接10年时仍未见结实, 而以杉木(*Cunninghamia lanceolata*)为砧木进行“髓心形成层靠接”和“形成层插皮接”时, 成活率为89.6%, 在嫁接的第二年就有16.5%–43.0%的接株开始结实, 并认为砧穗体中砧木根或接穗叶片及顶端分生组织中较高的 GA_3 和C/N比含量等促使水杉提前开花(傅远志等, 1997; 曾广文等, 1997; 陆军等, 1998)。

有关水杉的组织培养报道较少。四川林业科学研究所组织培养组(1980)用水杉的嫩茎茎段进行了组织培养的初步研究。黄翠等(2010)探讨了种胚、幼叶切块、茎段、根段等外植体和植物生长调节剂对不定芽直接再生和愈伤组织途径再生的影响, 结果表明: 在MS培养基中添加2,4-D、NAA和6-BA不同组合都能诱导得到愈伤组织, 其中种胚诱导愈伤组织效果最好, 诱导率可达100%, 茎诱导效果次之, 诱导率为97.1%。愈伤组织在不含植物生长调节剂的MS培养基上能再生植株, 再生率为62.5%。

本项目实施过程中, 华东师范大学陈小勇团队在对全部5,746株野生水杉植株进行遗传多样性分析的基础上, 筛选出了能包含其遗传多样性的40株核心种质。湖北民族学院艾训儒团队对这40株核心种质的繁殖状况进行了调查, 发现只有7株能结实。采用这7株的种子进行了播种繁殖, 其中2株种子数量较少(吴漫玲等, 2020)。播种方法是于当年11月采集种子用纸袋装好后放入4℃冰箱贮藏至第二年4月播种。采用沙播覆盖稻草, 萌发率约30%, 特别是湖北利川的1号母株, 由于年龄大, 种子发育状态

差, 萌发率极低; 大田播种育苗时, 由于空壳率高, 萌发率仅为1%左右。对于没有种子的其他核心母株采用枝条进行了扦插繁殖: 在秋季采用休眠的枝条直接插入沙中, 不经生长素处理, 成活率达到30%左右, 远高于夏季的嫩枝扦插成活率。在利用种子数量较少的重庆万州核心种质播种获得种苗的基础上, 笔者研究团队利用2年生野生水杉实生苗的侧芽为外植体, 建立了丛生芽再生繁殖体系。消毒成功的外植体在WPM培养基上能诱导出不定芽, 不定芽切段在WPM + 16.0 μ M zeatin + 0.5 μ M IBA培养基上的增殖率可达5.5倍, 在WPM + 0.05 μ M NAA中生根率可达68.5%, 移栽成活率达78.3%。在没有经生长素处理的河沙和蛭石(1:1)的混合基质中, 生根率可达65.4%, 移栽成活达93.3% (Xiong et al, 2020)。

2.2 东北红豆杉

东北红豆杉是红豆杉科红豆杉属的常绿乔木, 属于慢生树种。在自然条件下, 东北红豆杉的种子需要两冬一夏才能萌发, 大量种子在漫长的休眠期间丧失了生命力, 使其自然繁殖率低, 天然更新能力差。刘彤等(2008)对天然东北红豆杉土壤种子库进行研究发现, 种子库中具有活力的种子数量极少, 不到总量的1%, 种子丧失活力的首要原因是被昆虫和啮齿类动物啃食, 占损失量的52%, 其次是腐烂, 占29%。此外, 由于其药用价值、用材价值和观赏价值高导致其遭到过度开发, 以致被列入极小种群植物进行保护。东北红豆杉的繁殖方法有播种繁殖、扦插繁殖及组织培养等。

有关东北红豆杉的播种繁殖, 在综述文献的基础上, 可以总结出一个比较标准的流程: 在9–10月种子成熟时及时采下, 采用低温层积打破休眠(马小军等, 1996; 韩雪等, 2010; 廖云娇等, 2010)。操作时, 首先可采用手工或机械方法磨损种皮后, 用流水冲洗以减少ABA含量, 然后用激素处理和暖温转低温的变温层积的方法提高发芽率(程广有等, 2004; 尹丽文等, 2014; 秦祎婷等, 2015)。播种时先在基质中施基肥, 再用辛硫磷、硫酸亚铁等消灭害虫及调节土壤酸碱度, 最后用0.3%的高锰酸钾或福尔马林消毒后进行播种(马盈等, 2013)。

东北红豆杉的扦插繁殖已有大量研究成功的报道(曹玉峰等, 2008)。影响东北红豆杉扦插成活的因素包括材料来源(王云志等, 2005; 房伦革和姚国

年, 2007)、取材部位与时间(马小军等, 1994; 李向林等, 2014)、植物生长调节剂等对插穗的预处理方式(马小军等, 1994; 王乐祥等, 1995; 王兆东等, 2007)、扦插基质(曹玉峰等, 2008; 李向林等, 2014)、扦插时间和苗期管理等(程政军和马妍, 2005)。

有关东北红豆杉的组织培养已有较多的报道, 包括丛生芽再生途径和愈伤组织诱导途径, 但只有丛生芽再生途径培育出了生根的植株(程广有等, 1997)。程广有等(1997)认为不定芽的形成与植物生长调节剂的种类和比例及母树树龄有关。大量有关愈伤组织的研究集中在不同外植体种类、消毒方法、基本培养类型、植物生长调节剂等对愈伤组织诱导和增殖的影响, 但未获得生根的再生植株(于世选, 1994; 刘丽萍等, 1998; 金贞兰等, 2010)。

项目实施过程中, 对黑龙江省、吉林省、辽宁省等地的东北红豆杉的种质资源进行了调查, 发现其野生状态下的结实率较高。北华大学的郭忠玲团队采用上述调查点的东北红豆杉种子, 利用上述标准流程进行播种实验, 种子萌发率可达90%以上。由于播种技术比较成功, 本项目没有进行其他繁殖技术研究。

2.3 华盖木

木兰科植物中有7种被列入了极小种群, 其繁殖难度均较大。我们选择了最为珍稀的国家一级保护植物华盖木作为代表种类进行研究。华盖木仅分布在云南省东南部的西畴县、马关县和金平县境内(袁永俊, 2009), 目前野外植株极少, 仅有18株成年植株。它的花期4月下旬, 果期9–11月, 但每隔1–2年才开花1次, 即使开花, 其雌蕊也通常被昆虫咬食, 导致结实率极低。此外, 由于华盖木种子外种皮含油率高、各个部位都含有萌发抑制物, 具休眠特性, 不易萌发(郑艳玲等, 2008), 导致自然更新难度极大。而引种的植株由于脱离了原有的生境, 更难开花, 中国科学院华南植物园引种栽培了40年的植株至今未开花。

尽管难以获得种子, 但种子繁殖仍然是目前华盖木的主要繁殖途径。Zheng和Sun (2009)研究发现, 在利用植物生长调节剂 GA_3 、NAA、6-BA和2,4-D预处理24 h, 只有 GA_3 才能显著提高种子的萌发率。郑艳玲等(2008)报道, 利用500 mg/L GA_3 处理的种子的萌发率约为66%, 对照为7%; 采用4℃湿冷处理3周也能有效打破种子休眠, 其中56%的种子在

30 d后萌发。车永福(2015)采取两段式容器育苗技术进行大田生产: 先采用木箱在大棚内进行种子萌发, 待幼苗长出2–3片真叶、苗木已开始长根时, 再移入营养袋中进行培育。此方法可以防止老鼠偷食。

楚永兴等(2012)对华盖木的扦插进行了研究。他们选取半木质化的6–8 cm插穗, 按每100 kg黄泥水浆加入50 mL CL2010-D₁号植物生根剂, 以及过磷酸钙、复合肥各0.75 kg后充分拌匀, 将插穗下端进行浆根后插入黄泥浆中。扦插时插穗倾斜45°, 扦插深度为2–3 cm, 盖上农膜, 再用土压紧密封, 遮阴度70%–80%, 此方法生根率低(文中未报道其扦插的生根率), 但对已生根的扦插苗上袋培育时, 1年后成活率可达86.5%。

已有学者对华盖木的组织培养进行了初步研究, 但只涉及外植体消毒和褐化处理等方面, 有关其增殖、生根培养等均未见报道(刘均利和马明东, 2007; 马均和马明东, 2008)。

项目实施过程中, 在华盖木的种苗繁殖中发现, 通过人工辅助授粉能提高结实率, 在野外18株植株上获得了8,000多颗种子, 播种前, 采用500 mg/L GA_3 处理, 萌发率约为70%。虽然中国科学院华南植物园进行华盖木扦插实验时未获得生根苗, 但利用圈枝专利技术获得成功: 即以华盖木植株3–4年生的枝条, 在枝条基部离树干8–12 cm处上、下分别环割树枝一圈, 两圈之间的宽度为2–3 cm, 深达木质部, 然后将两圈之间的树皮剥除晾干后, 在环割处涂抹生根粉溶液。将剖开两半的合适大小的竹段合扣在枝条上, 使枝条穿过空圈和竹段内的中空管, 在竹段内填满预先配好的湿润生根基质, 保持竹段内的基质湿润, 适时向竹段内基质补充水分。30 d后开始生根, 180 d后可以将树枝锯下作为苗木进行定植栽培。利用该技术已繁殖出了200多株种苗。笔者研究团队利用二乔玉兰(*Manglietiastrum soulangeana*)为嫁接砧木, 采用切接方法, 成活率约50%, 也获得200株嫁接苗。同时, 笔者研究团队对华盖木组织培养再生体系进行了深入研究, 已获得初步成功: 在培养基中加入柠檬酸钠等抗褐化剂, 褐化率能控制在15%以下; 采用WPM培养基, 加入合适的植物生长调节剂和椰子水, 2个月内增殖系数达2.5以上; 采用试管外生根移栽, 生根率约20%, 已获得了生根的再生植株。如何提高其试管苗的生根率, 还需进一步研究。

2.4 坡垒

坡垒为龙脑香科坡垒属常绿乔木, 是海南岛热带沟谷雨林的 대표树种。其木材结构均匀致密, 为海南五大特类木材之一, 由于采伐严重而面临濒危。坡垒种子寿命短, 采后两周就会干燥失水而丧失活力, 温度过高或过低也会降低其发芽率从而导致其自然更新能力低。坡垒的繁殖已有播种、扦插和嫁接成功的报道。

云南省林科所勐旺试验林场1977年用迁地保护的坡垒种子为材料, 经冷水浸种5–10 min后采用条播法播种, 保持基质湿润, 40 d后出苗率为46.7%。文彬等(2002)研究了温度、光照、土壤水分对坡垒种子萌发和寿命的影响, 结果表明坡垒种子萌发的最适温度为15–20℃。种子在全黑暗条件与周期性光照条件下处理的萌发结果无明显差异, 土壤含水量为30%–50%时效果最好。在室内自然摊放10 d时, 萌发率可达86%以上, 而到第14 d时发芽率仅为20%, 18 d时完全丧失发芽能力。采用成熟的种子即采即播, 以干净的河沙作为播种基质, 于温室或阴棚下, 保持遮荫度60%–90%, 播种后6–7 d发芽, 10–12 d出苗, 种子发芽率可达95%以上。黎国运等(2015)以鹦哥岭的坡垒优树为实验对象, 得出最佳采种时间为3月中旬, 纱布包裹保湿处理运输效果较好, 河沙和红土(1:1)混合基质播种效果较好。

李璟和段宗亮(2012)于1–2月选取健壮的半木质化枝条作为插条, 插穗长15 cm, 直径0.2–0.4 cm, 穗条平剪, 用浓度为90–110 mg/L的IBA溶液浸泡插穗基部1 h, 扦插于不同基质中。结果表明35%森林表土和65%珍珠岩混合后的基质条件下坡垒的扦插苗长势最好, 成活率为78%。

黄桂华等(2011)在3–4月以1–2年生的坡垒种子苗做砧木, 选择粗细较为一致的略带木质的优株接穗, 采用形成层靠紧楔形对接法, 前10 d淋水时注意不能淋到嫁接口和接穗处以防止切口感染腐烂。嫁接10–15 d后接口开始愈合, 25–30 d接穗可萌出新芽, 成活率可达92%。

本项目实施过程中, 海南大学杨小波团队在对海南省五指山、吊罗山、尖峰岭、霸王岭、鹦哥岭和屯昌枫木等6个地点进行资源调查的基础上, 选择优树采集种子, 在河沙 + 椰糠 + 红土以1:1:1的混合基质中采用即采即播方法已获得50,000多株种苗, 种子萌发率80%以上, 大部分已应用于迁地保

护、野外回归和自然造林。

2.5 天目铁木

天目铁木属桦木科铁木属落叶乔木, 本物种已十分珍稀, 野外植株只有浙江临安县天目山1个分布点5株。天目铁木属于雌雄同株且单性花, 由于雌雄花花期不一致, 导致结实率低, 果实干瘪粒较多, 发芽率低, 自然更新能力弱。目前已有利用播种、扦插和组织培养进行天目铁木繁殖的报道。

管康林和陶银周(1988)报道天目铁木的种子具有休眠性, 经过100–120 d的亚高温→低温→亚低温层积处理才能完成生理后熟, 破除休眠, 促进萌发, 但种子发芽率也只有20%左右; 赤霉素处理种子2–3 d对萌发有一定促进作用。乐笑玮等(2013)认为天目铁木种子存在相对复杂的发芽和休眠机制, 种子一般在11月成熟, 不经休眠即可萌发, 但如果此时没有合适的萌发条件, 会被随后而来的冬季低温诱导休眠, 时间越长, 休眠越深, 第二年春季需要非常复杂的条件才能打破休眠。因此, 天目铁木在繁育时需采种后人工施加赤霉素, 置于恒温培养箱中萌发以获得较高的萌发率, 在15–25℃条件下施用400–600 mg/L的赤霉素对天目铁木种子萌发有较好的促进作用。张若蕙等(1988)也报道了天目铁木种子宜采后即播, 采用正交组合赤霉素150 ppm + 强力增产素1 ppm + 半去苞 + 浸种36 h来处理种子的萌发率最高。

天目铁木一年四季均可进行扦插繁殖, 以春季为好, 但成活率不高。插穗以1–2年生枝条最好, 从扦插到出根需50–60 d (管康林和陶银周, 1988)。张若蕙等(1990)等报道在冬季取幼苗休眠枝, 先用ABT-1号生根粉100 ppm处理, 露天沙藏过冬至春季休眠芽萌动前扦插于细沙和珍珠岩混合插壤中, 成活率可达20%。

顾地周等(2013)采用天目铁木嫩茎尖基部进行愈伤组织诱导, 合适培养基为1/2 DR + TDZ 2.30 mg/L + 2,4-D 0.55 mg/L, 诱导率为93.5%; 愈伤组织再分化出芽的培养基为1/2 DR + TDZ 3.30 mg/L + KT 0.70 mg/L, 分化率达99.8%以上, 但无生根报道。顾地周等(2014)随后采用嫩茎尖基部再生不定芽进行诱导, 合适培养基为1/4 DR + TDZ 3.80 mg/L + NAA 0.03 mg/L + KT 1.50 mg/L, 诱导率达99.0%以上; 试管苗在保存培养基1/8 DR + TDZ 0.45 mg/L + KT 1.60 mg/L + 根皮苷2.80 mg/L上, 在试管内保

存18个月,平均生长率为2.26%,但无增殖和生根报道,没有获得完整的试管苗再生体系。

本项目实施过程中,尽管对天目铁木进行了扦插和组织培养实验,但均未获得生根植株。浙江省林业科学研究院柳新红团队通过利用不同株系间的人工辅助授粉获得了较多的种子,采用专利技术已繁殖出了5,000多株种苗。其专利技术要点为:(1)先将种子在室温下阴干;(2)将阴干处理后的种子采用400–600 mg/L的赤霉素(GA₃)溶液中浸泡12–24 h,然后置于25℃的人工气候箱中6 d后取出晾干;(3)将晾干后的种子均匀撒播在铺有3 cm基质的容器中,之后在种子上方铺设0.5 cm的基质将种子完全覆盖,用喷雾器喷入适量水分使基质达到饱和持水量,再用保鲜膜将容器密封后戳5–10个小孔;将容器置于25℃的人工气候箱中,萌发率可达到30%左右。当芽苗萌发生长至4–8 cm高且2片真叶完全展开时,可将芽苗移栽入温室大棚内的无纺布容器中进行栽培。

2.6 崖柏

崖柏为柏科崖柏属常绿乔木,其濒危主要是因为结实量低且种子败育严重,自然更新能力差等内因和人为砍伐和采挖等外因。项目开展前已有崖柏播种、扦插和组织培养的报道。

Zhang等(2015)研究了温度和基质对崖柏种子发芽率及出苗率的影响,结果表明:崖柏种子成熟后不休眠,发芽适宜的温度为15–20℃,最适温度为20℃,发芽率可达95%,而在25℃条件下崖柏种子基本上不能萌发。在40℃的温水中浸泡24 h有利于提高种子的发芽率。在基质实验中,采用保水透气性好的锯末有利于育苗,锯末2/3,森林表土和一般土各占1/6,有利于提高崖柏容器苗的出苗率。

由于难以获得崖柏种子,对崖柏扦插繁殖研究较多。易思荣和黄娅(2001)1999年10月采回枝条后,由于气温较低,一部分枝条剪成40 cm以上的大枝条插于蛭石中,在苗床上采用塑料薄膜覆盖保温,5个月后再剪成10 cm长的枝条扦插于蛭石中;另一部分枝条直接扦插于18–20℃的温室的蛭石中。4个月后,前者在温室中的插条生根率为78%,后者在温室蛭石中的插条生根率为65%。金江群等(2013)对采穗母树年龄、枝条类型、不同激素种类及其组合、激素浓度、扦插基质、物理促根等不同处理方式下的扦插生根效应进行了系统的研究,在重庆市

城口县咸宜乡苗圃,采用自动喷雾设施,以蛭石:泥炭土:珍珠岩(1:1:1)为扦插基质,用2,000 mg/L IBA处理崖柏幼树一年生枝条,扦插后160 d的生根率为96.70%;在中国林科院温室用1,000 mg/L IBA + 50 mg/L NAA处理崖柏幼树一年生枝条,扦插后120 d的生根率仅为45.37%。朱莉等(2014)利用正交实验研究母株年龄、扦插基质和生长调节剂对2–6年生崖柏幼树硬枝扦插的影响发现,崖柏幼树硬枝扦插存在明显的年龄效应,不同扦插基质成为影响插穗生根率的主要因素。最佳处理组合为:从两年生母株上采集的插穗、GGR6 1,000 mg/L速蘸2 min、以草炭土:蛭石:珍珠岩(1:1:2)的混合物为基质,扦插345 d时生根率为75%。

项目实施过程中,中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所秦爱丽等(2018)在研究崖柏母树年龄、生长调节剂、扦插容器、扦插基质等对插穗生根率、不定根数量、根长及根系干重的影响时发现,从3年生母树上采集插穗、用2,000 mg/L IBA速蘸处理、黑色软塑料营养杯:草炭土:珍珠岩:蛭石(1:1:1),生根率达95%。

在项目实施过程中,三峡植物园的王毅敏等(2019)对崖柏的组织培养进行了初步研究。采用当年生未木质化的枝条,先用75%酒精消毒1 min,再用0.1%升汞消毒12 min,表面灭菌效果最好;培养基盐浓度过高或过低对崖柏外植体生长都不利,1/2 MS浓度时生长状况及生长量最好,新生芽深绿健壮,但没有生根培养的报道。笔者研究团队在崖柏组织培养研究中取得重要进展,以2年生植株的幼嫩茎段为外植体,使用低浓度的6-BA能进行崖柏不定芽的诱导和增殖,经IBA处理的试管小苗在温室中能进行试管外诱导生根,但生根率较低,需要进一步研究。

2.7 盐桦

盐桦是桦木科桦木属的多年生落叶小乔木或灌木,国家二级重点保护植物。已有播种、扦插和组织培养等方法进行其种苗繁殖的报道。

李宏等(2010)等研究发现,盐桦的种子萌发并不需要高盐浓度的培养液,有一定的耐盐能力,采用NaCl胁迫进行种子萌发实验时,低浓度的盐胁迫(< 0.1%)对于盐桦种子发芽的各项指标没有明显的影响,发芽率与对照相比分别为82.3%和85.7%;当NaCl浓度达到0.2%以后,种子的发芽率、发芽势显

著降低, 萌发时间延长; 当浓度为0.6%时, 种子不能萌发。

朱建峰等(2009)曾提到盐桦扦插繁殖成活率低, 但没有实验数据报道。

由于难以获得种子, 组织培养成为盐桦重要的繁殖手段, 包括丛生芽再生体系和愈伤组织再生体系研究。梅新娣等(2004, 2006a)以盐桦茎尖和茎段为外植体, 在MS + 1.0 mg/L BA + 0.50 mg/L IBA中进行不定芽的诱导、增殖和壮苗, 增殖倍数6.00–8.00, 在1/2 MS + 0.2 mg/L IBA培养基上生根率96.68%–100%, 移栽至高压灭菌过的蛭石基质中, 成活率95%–100%。梅新娣等(2006b)也通过愈伤组织途径建立了盐桦再生体系, 在LS + 0.50 mg/L 6-BA + 0.40 mg/L NAA中的愈伤组织诱导效果最好, LS + 0.50 mg/L 6-BA + 0.02 mg/L NAA中最有利于愈伤组织分化。

江晓珩等(2006)报道在MS + 0.50 mg/L 6-BA + 0.02 mg/L NAA + 3.0%蔗糖 + 0.6%琼脂中进行丛生芽的诱导与增殖, 其增殖系数为5.80; 最佳生根培养基为1/2MS + 0.3 mg/L IBA + 0.15%蔗糖 + 0.6%琼脂, 生根率为100%, 平均根数5.7条。

朱建峰等(2009)采用种子无菌播种后的茎段为外植体进行研究, 用2.00 mg/L GA对种子进行预处理, 能够提高种子的萌发率, 最适增殖培养基为MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L IBA, 丛生芽增殖系数为5.20, 在1/2 MS + 0.3 mg/L IBA培养基上, 生根率可达100%。阿依先木等(2008)采用正交实验筛选出最佳生根培养基为1/2 MS + 0.10 mg/L NAA + 30 g/L蔗糖; 最有利于盐桦无菌苗移栽成活的基质类型为腐殖质土:珍珠岩 = 1:1, 成活率为64.4%。

项目实施过程中, 中国林业科学院林业研究所邱德有团队通过抚育获得了较多的盐桦种子, 在播种前采用400–600 mg/L的赤霉素处理, 在15–25℃温度下, 萌发率达80%, 已繁殖出了4,500多株实生苗应用于迁地保护和自然回归。同时, 他们和笔者研究团队分别对一些难以获得种子的株系进行了组织培养研究, 发现盐桦通过丛生芽繁殖途径再生出苗的难度并不大, 增殖系数非常高, 最高可达10.0以上, 生根与移栽也较容易, 在1/2 MS + 0.5 mg/L IBA培养基上生根可达100%。只是由于增殖系数太高, 丛生芽较细弱, 在生根培养前需要在1/2 MS基本培养基上壮苗以提高试管苗移栽的成活率并使

其健康生长。

2.8 梓叶槭

梓叶槭为槭树科槭属落叶乔木, 属于国家二级重点保护植物。其分布区域狭窄, 野外种群数量少, 低温和果翅导致种子休眠; 种子中无胚乳, 成熟后容易失水丧失发芽力, 幼苗在林下自然更新能力差(余道平等, 2008)。

有关梓叶槭的繁殖只有2例播种的报道。余道平等(2008)在种子的萌发实验中发现, 温度对四川省峨眉山和都江堰2个种源地的种子萌发率均有显著影响, 25℃为种子萌发的适宜温度, 2个种源地种子的萌发率分别为42%和48.7%, 光照对其萌发没有影响。马文宝等(2014)认为种子萌发率和萌发速率显著地受到温度、果翅以及二者交互作用的影响, 在最佳萌发温度20℃和10℃下, 翅果和小坚果的萌发率分别为28.67%和50.00%。

在项目实施过程中, 北京林业大学李俊清团队在对梓叶槭野生资源进行调查时发现, 其种子不饱满并有虫害。播种方法是: 在10月采集梓叶槭成熟种子, 进行剥除种皮等处理, 在10–20℃的夜昼温差下, 梓叶槭种子发芽率达90%, 此项成果已经申请了专利。而笔者研究团队以梓叶槭实生苗侧芽为外植体已建立了丛生芽再生体系并繁育出生根的种苗, 但繁殖系数较低, 目前正在继续进行其离体快速繁殖体系优化研究。

2.9 海伦兜兰

在37种兰科极小种群植物中, 其濒危的原因主要是人为的过度采挖和生态环境的破坏, 但一些种类自然繁殖难度大也是其重要致濒因子。生态环境的破坏使其生长环境温湿度的改变, 以及其传粉昆虫和种子共生萌发真菌消失, 最后导致不能结实或不能自然萌发。目前, 兰科植物人工繁殖多采用无菌播种的方法, 37种兰科极小种群植物中仅有13种有繁殖的报道。其中, 杓兰属(*Cypripedium*)和兜兰属(*Paphiopedilum*)是兰科植物中最难繁殖的种类(Zeng et al, 2016), 列为极小种群野生植物的6种杓兰还没有任何繁殖技术的报道; 7种兜兰属极小种群的植物中, 天伦兜兰也未见繁殖研究报道, 海伦兜兰仅有1例报道(Lee, 2007)。兜兰属植物无性克隆难度大, 无菌播种是其主要的人工繁殖方法。

海伦兜兰分布于我国广西中越边境一带的石灰岩地区常绿阔叶林的山顶石缝中, 由于缺乏授粉

的昆虫,自然结实率极低,自然更新难度大。有关海伦兜兰的繁殖仅有简单的报道:海伦兜兰非共生萌发适宜的果荚成熟度为授粉后150 d,萌发率35%左右(Lee, 2007)。

在项目实施过程中,胡琦敏等(2016)采用野外授粉获得的成熟种子进行无菌播种和组织培养发现,提高海伦兜兰种子萌发率的较好的预处理方法是用0.1 mol/L KOH处理10 min;最适合种子萌发的培养基为1/4 MS + 0.1%活性炭 + 60 g/L香蕉泥,种子萌发率达69.40%;最适合丛生芽诱导的培养基为1/2 MS + 0.50 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L NAA + 0.10%活性炭 + 60 g/L香蕉泥;最适合生根壮苗的培养基为MS + 60 g/L马铃薯泥或MS + 30 g/L香蕉泥。笔者研究团队又对5个居群的野外开花植株进行大量人工授粉,获得果荚后进行无菌播种,发现种子在授粉后210 d时萌发率较高,约为36%,不同产地的海伦兜兰萌发率存在差异。在此基础上,我们采用无菌播种获得的原球茎为外植体建立了丛生芽、愈伤组织和类原球茎再生体系,并繁殖出了大量试管苗取得了3项国家发明专利。

2.10 瑶山苣苔

瑶山苣苔是苦苣苔科瑶山苣苔属多年生常绿草本,其濒危的主要原因是分布区极其狭小、种子萌发时间长、萌发率较低等内在原因和生境遭到破坏等外在原因。莫耐波等(2012)对瑶山苣苔生长的群落进行研究发现,瑶山苣苔成年植株生长情况良好,但更新小苗却十分稀少。王玉兵等(2011)研究发现该种开花多但结实率低,是由于传粉媒介较为缺乏等原因所致,虽存在“自发自交”使其适应不稳定传粉环境,但狭窄的分布或许使瑶山苣苔面临近交衰退的风险。

王玉兵等(2008)报道瑶山苣苔种子萌发时间长,萌发率较低,采用500 mg/L赤霉素溶液处理能提高种子的萌发率,处理过的种子经过30 d左右的培养后才能萌发,萌发率为60%,而不经赤霉素溶液处理的种子很少萌发。

由于难以获得足够的瑶山苣苔种子,张博等(2013)以种子萌发的无菌苗幼叶为培养材料,探究不同植物生长调节剂及活性炭对瑶山苣苔丛生芽和生根诱导的影响。结果表明:叶片外植体在MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA培养基上的丛生芽诱导率较高,为96.43%;在MS + 0.1% AC培养基中,

丛生芽诱导率为83.67%,且丛生芽比添加植物生长调节剂诱导出的不定芽更加健壮;在1/2 MS + 0.1 mg/L NAA + 2%蔗糖的培养基中,不定根诱导率高达100%;在1/2 MS培养基中添加活性炭,幼苗的生长比在添加NAA的培养基上更健康;幼苗经炼苗后移栽到混合基质(沙子:蛭石:珍珠岩 = 1:1:1)中成活率可达85%。

笔者研究团队采用播种技术已获得2,000多株瑶山苣苔种苗并应用于迁地保护和自然回归,但在中国科学院华南植物园、广西农业科学院等地的迁地保护中,由于其对生长环境要求苛刻,很难成活。在组织培养研究中,将成熟的瑶山苣苔的种子浸泡于500 mg/L GA₃溶液中24 h,再用0.1% HgCl₂消毒5 min,无菌水清洗数次后接种于MS培养基中诱导无菌苗,以小芽上完全伸展的幼叶为培养材料,探究不同植物生长调节剂对不定芽再生的影响。结果表明,MS + (1.0–3.0) μM 6-BA + 1.0 μM NAA和MS + (1.0–3.0) μM TDZ + 1.0 μM NAA培养基最适合瑶山苣苔不定芽的诱导,不定芽增殖最佳培养基为MS + 2.0 μM 6-BA + 0.5 μM IBA,芽增殖系数为58.1。不定芽在培养基1/2 MS + 3.0 μM IBA/NAA + 0.1%活性炭中生根均为100%,移栽于沙:蛭石:腐殖质 = 1:1:1的基质中,成活率92% (Yang et al, 2014)。近期,笔者研究团队在以野生瑶山苣苔的叶片为外植体进行组织培养时,由于其叶片上绒毛极多,污染率高,在接种前通过对母株进行适当的杀菌剂处理、接种后加入抗生素等方法,获得了无菌的外植体并建立了丛生芽再生体系,已能进行瑶山苣苔种苗的规模化生产。另外,我们在原生地直接利用野生植株的叶片扦插进行繁殖也获得成功,成活植株500多株,第二年就能开花结实,已完成了原生地的加强回归。

2.11 黄梅秤锤树

黄梅秤锤树是安息香科秤锤树属落叶灌木或小乔木。由于其分布区极其狭窄,自身结实率低,种子外表皮厚且难以去除而萌发率低,加之人为砍伐和生境的破坏,导致其濒危。武汉大学李家儒团队进行了黄梅秤锤树的播种、扦插、嫁接和组织培养研究,均已获得成功。播种时,需去除种皮并用赤霉素处理打破休眠,萌发率约20%。在扦插实验中发现,一般幼龄树上的插穗比老龄树上的插穗容易生根,母树中下部和基部插条较易生根,采用穗

长7–10 cm, 顶端留2片嫩叶扦插, 在15–25℃ 采用喷水、间隔喷雾和扣拱棚等方法保持80%–90%的空气相对湿度时, 成活率高, 笔者研究团队利用扦插苗的枝条进行组织培养也获得了成功。

2.12 河北梨

河北梨是蔷薇科梨属落叶乔木。河北农业大学张军团队在对河北省昌黎县的河北梨进行分析时发现, 野外植株约有200株, 但遗传多样性非常低。通过授粉发现, 河北梨自交不亲和, 不能获得种子, 只能进行无性繁殖。目前, 利用杜梨(*Pyrus betulifolia*)枝接和芽接已繁殖了2,200株种苗, 已应用于迁地保护和自然回归, 而利用组织培养技术也获得了900多株种苗。

2.13 密叶红豆杉

密叶红豆杉又称喜马拉雅密叶红豆杉, 是红豆杉科红豆杉属的常绿乔木, 产于中国西藏、印度、巴基斯坦、尼泊尔等地, 我国约34,000株。是我国红豆杉属植物中分布区最小、资源蕴藏量最少的种类。中南林业科技大学徐刚团队在吉隆县吉隆镇进行资源调查时发现, 虽然其原生环境基本未遭破坏, 但由于砍伐严重且野生实生小苗极少, 其自然更生能力差。由于没有相关的繁殖技术参考, 采用红豆杉属其他种类的播种繁殖技术均未获得成功。其原因除种子空壳率较高之外, 可能还存在影响其萌发的关键因子。徐刚团队采用密叶红豆杉枝条在西藏吉隆镇和湖南攸县扦插均获得成功, 通过选择合适的生长素处理和合适的扦插基质, 成活率可达50%, 已获得800株生根植株并保存在苗圃中。

2.14 仙湖苏铁

仙湖苏铁是苏铁科苏铁属植物, 由于过度采挖和生境破坏, 野生种群数量仍在继续减少。同时由于仙湖苏铁开花植株少、雌雄异株、雌雄异熟、种群年龄结构老化以及演化上可能出现雄性退化现象等原因, 野外自然情况下很难获得种子。笔者研究团队利用人工辅助授粉获得了2,000多粒仙湖苏铁种子, 经浓流酸处理打破种子休眠, 种子的萌发率可达60%左右, 已获得了1,000多株种苗并应用于迁地保护和原生地回归。尽管利用吸芽可进行仙湖苏铁的分蘖繁殖, 但由于吸芽少, 利用分蘖繁殖数量非常有限。仙湖苏铁的组织培养难度也非常大, 增殖系数非常低且难生根, 还未获得生根的再生植株。

3 极小种群野生植物人工繁殖方法的建议

种苗繁育一直是极小种群野生植物保护的瓶颈。通过对上述14种中国典型极小种群野生植物的人工繁殖方法进行总结, 可为其他极小种群野生植物的人工繁殖提供参考。

(1)在选择好拟研究的典型极小种群野生植物后, 需在原生地建立保护小区研究平台, 系统开展目标物种的繁殖生物学特性研究, 明确其繁育的限制因素及濒危原因。

(2)为了保持物种的遗传多样性, 应尽可能在筛选出核心种质的基础上, 利用有性繁殖进行种苗生产。对一些不能自然获得种子, 或由于花粉败育、近交不亲和等结实率低的典型极小种群野生植物, 通过人工辅助的方式获得可萌发的种子并保存, 然后进行常规的播种繁殖或无菌播种获得种苗。播种繁殖时可根据种子的不同特性而采用不同的播种方法, 如低温处理、沙藏、物理或化学方法去除种皮等, 以提高种子萌发率; 对于种子数量极多、在自然条件或常规条件下极难萌发的物种(如兰科植物等), 可采用无菌播种技术进行大规模繁殖。

(3)对于不能采用播种繁殖或播种繁殖满足不了需求的种类, 可采用无性繁殖扩繁技术, 如扦插、嫁接、压条、组织培养等。

(4)在规模化繁殖的基础上, 建立极小种群野生植物的示范生产区, 生产出足够的苗木用于迁地保护和自然回归, 并满足商品市场的需要。

致谢: 论文中采用了国家重点研发计划“典型极小种群野生植物保护与恢复技术研究”(2016YFC0503100)其他课题的一些未公开发表的数据, 在此致谢。

参考文献

- Ayixianmu A, Tuerxun T, Wang WQ (2008) Research on tissue embryo rooting, transferring and salt tolerance of endangered plant *Betula halophila*. Journal of Xinjiang Agricultural University, 31(6), 42–45. (in Chinese with English abstract) [阿依先木·阿西木, 吐尔逊·吐尔洪, 王文全 (2008) 濒危植物盐桦丛生芽生根、移栽及耐盐性研究. 新疆农业大学学报, 31(6), 42–45.]
- Cao YF, Han HJ, Su DH, Li X (2008) Cutting propagation tests of *Taxus cuspidata*. Protection Forest Science and Technology, (5), 61–62. (in Chinese with English abstract) [曹玉峰, 韩

- 红娟, 苏丹鹤, 李雪 (2008) 东北红豆杉扦插繁殖试验. 防护林科技, (5), 61–62.]
- Chao QL, Lu HZ, Xu LS (1991) Application of shading net in sowing in *Metasequoia glyptostroboides*. Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology, 18(3), 8–11. (in Chinese with English abstract) [巢全良, 陆焕正, 许林松 (1991) 遮阳网在水杉播种育苗上的应用试验. 江苏林业科技, 18(3), 8–11.]
- Che YF (2015) Technology of two-stage vessel seedling of *Manglietiastrum sinicum* Law. Modern Gardening, (6), 40. (in Chinese) [车永福 (2015) 华盖木两段式容器育苗技术. 现代园艺, (6), 40.]
- Cheng GY, Tang XJ, Gao HB, Shen XH (2004) Dormancy mechanism and relieving techniques of seeds of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. Journal of Beijing Forestry University, 26(1), 5–9. (in Chinese with English abstract) [程广有, 唐晓杰, 高红兵, 沈熙环 (2004) 东北红豆杉种子休眠机理与解除技术探讨. 北京林业大学学报, 26(1), 5–9.]
- Cheng GY, Tang XJ, Yang ZG (1997) The culture of new bud tissue of *Taxus cuspidata*. Journal of Jilin Forestry University, 13, 209–211. (in Chinese with English abstract) [程广有, 唐晓杰, 杨振国 (1997) 东北红豆杉茎尖组织培养. 吉林林学院学报, 13, 209–211.]
- Cheng ZJ, Ma Y (2005) Study on cuttaging and breeding technique of *Taxus cuspidata*. Forestry Science and Technology Information, 37(3), 8. (in Chinese with English abstract) [程政军, 马妍 (2005) 东北红豆杉扦插繁殖技术的研究. 林业科技情报, 37(3), 8.]
- Chu YX, Li F, Ouyang ZQ (2012) Cutting propagation techniques of *Manglietiastrum sinicum*. Forest Inventory and Planning, 37(1), 128–130. (in Chinese with English abstract) [楚永兴, 李帆, 欧阳志勤 (2012) 华盖木扦插育苗技术. 林业调查规划, 37(1), 128–130.]
- Creech JL (1948) Propagation of *Metasequoia* by juvenile cuttings. Science, 108, 664–665.
- Du HT, Xiong XM (1992) Preliminary study on cutting and seedling of *Metasequoia glyptostroboides* with ABT treatment. Henan Forestry Science and Technology, (4), 17–18. (in Chinese) [杜化堂, 熊雪梅 (1992) ABT生根粉处理水杉扦插育苗试验初报. 河南林业科技, (4), 17–18.]
- Fang LG, Yao GN (2007) Study on the rapid propagation technology of *Taxus cuspidata*. Forestry Science and Technology Communication, (4), 3–5. (in Chinese) [房伦革, 姚国年 (2007) 东北红豆杉快速繁殖技术的研究. 林业科技通讯, (4), 3–5.]
- Fu LK (1992) China Plant Red Data Book, Vol. 1: Rare and Endangered Plants. Science Press, Beijing. (in English) [傅立国 (1991) 中国植物红皮书: 稀有濒危植物(第一册). 科学出版社, 北京. (in Chinese)]
- Fu YZ, Lu J, Fu MZ (1997) Distribution and change of endogenous hormone contents in plant tissue if intergeneric grafting of *Metasequoia glyptostroboides*. Plant Physiology Communications, 33, 30–33. (in Chinese) [傅远志, 陆军, 符梅忠 (1997) 水杉异砧嫁接植株体内激素的分布和含量变化. 植物生理学通讯, 33, 30–33.]
- Fu ZL (1981) Preliminary study on seed storage conditions of *Metasequoia glyptostroboides* and *Ulmus pumila*. Forestry Science and Technology Communication, (11), 2–3. (in Chinese) [傅紫菱 (1981) 水杉、白榆种子贮藏条件的初步研究. 林业科技通讯, (11), 2–3.]
- Gu DZ, Lu S, Ba CY, Li YY (2013) Technique of callus induction and bud seedling of *Ostrya rehderiana* Chun. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 40, 216–220. (in Chinese with English abstract) [顾地周, 陆爽, 巴春影, 李媛媛 (2013) 天目铁木愈伤组织和芽苗诱导技术. 浙江大学学报(理学版), 40, 216–220.]
- Gu DZ, Shen HM, Yan ZX, Xu PJ, Yuan H (2014) A technique on shoots induction and profitability in vitro conservation with plantlets of *Ostrya rehderiana*. Forestry Science and Technology Development, 28(4), 79–82. (in Chinese with English abstract) [顾地周, 沈红梅, 闫中雪, 徐鹏佳, 袁浩 (2014) 天目铁木丛生芽诱导和试管苗保存技术. 林业科技开发, 28(4), 79–82.]
- Guan KL, Tao YZ (1988) Current situation and propagation of rare tree species—*Ostrya rederiana*. Journal of Zhejiang Forestry College, 5(1), 90–92. (in Chinese) [管康林, 陶银周 (1988) 濒危树种天目铁木的现状和繁殖. 浙江林学院学报, 5(1), 90–92.]
- Han X, Dai JJ, Yang B (2010) Effects of different temperatures on the seed viability of *Taxus cuspidata*. Journal of Jilin Agricultural Science and Technology College, 19(4), 11–12. (in Chinese with English abstract) [韩雪, 代俊杰, 杨波 (2010) 不同温度对东北红豆杉种子活力的影响. 吉林农业科技学院学报, 19(4), 11–12.]
- Hong JF, Lü WJ, Chen X, Tan ZM, Huang S (2016) Study on the hardwood cutting technologies of native trees of *Metasequoia glyptostroboides*. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 44, 245–247, 288. (in Chinese with English abstract) [洪建峰, 吕文君, 陈旭, 谭曾米, 黄升 (2016) 水杉原生母树硬枝扦插繁殖研究. 安徽农业科学, 44, 245–247, 288.]
- Hu QM, Li YY, Huang YF, Hu RC, Wu KL (2016) Aseptic seeding and rapid propagation of *Paphiopedilum helenae*. Plant Physiology Journal, 52, 1443–1448. (in Chinese with English abstract) [胡琦敏, 李勇毅, 黄云峰, 胡仁传, 吴坤林 (2016) 海伦兜兰的无菌播种与快速繁殖. 植物生理学学报, 52, 1443–1448.]
- Huang C, Jing DL, Wang YB, Fan SH, Chen FJ (2010) Callus induction and plant regeneration of a living fossil, *Metasequoia glyptostroboides*. Chinese Bulletin of Botany, 45, 604–608. (in Chinese with English abstract) [黄翠, 景丹龙, 王玉兵, 范深厚, 陈发菊 (2010) 水杉愈伤组织诱导及植株再生. 植物学报, 45, 604–608.]
- Huang GH, Liang KN, Lin MP, Zhou ZZ, Ma HM (2011) Seedling technology of *Hopea hainanensis* and *Alseodaphne hainanensis*. Practical Forestry Technology, (10), 23–24. (in

- Chinese) [黄桂华, 梁坤南, 林明平, 周再知, 马华明 (2011) 珍贵树种坡垒和油丹及其育苗技术. 林业实用技术, (10), 23–24.]
- Jiang XH, Li G, Alimu, Buzalolu (2006) Research of *Betula halophila* organism's excised culture and quick reproduce technology. Forestry Science & Technology, 31(6), 1–3. (in Chinese with English abstract) [江晓珩, 李刚, 阿里木, 布早拉木 (2006) 盐桦芽器官离体培养与快繁技术的研究. 林业科技, 31(6), 1–3.]
- Jin JQ, Guo QS, Zhu L, Xu GX (2013) Study on cutting propagation of *Thuja sutchuenensis*, an endangered species endemic to China. Forestry Research, 26, 94–100. (in Chinese with English abstract) [金江群, 郭泉水, 朱莉, 许格希 (2013) 中国特有濒危植物崖柏扦插繁殖研究. 林业科学研究, 26, 94–100.]
- Jin ZL, Liu JS, Lu JL, Liu XH, Xu MZ (2010) Effects of different medium on callus induction from *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 38, 9993–9994, 9997. (in Chinese with English abstract) [金贞兰, 刘继生, 鲁京兰, 刘宪虎, 许明子 (2010) 不同培养基对东北红豆杉愈伤组织诱导的影响. 安徽农业科学, 38, 9993–9994, 9997.]
- Jing DL, Liang HW, Wang YB, Wang J, Zhang DC (2011) Influence of different light and storage temperature on germination rate and enzyme activities of *Metasequoia glyptostroboides* seeds. Hubei Agricultural Sciences, 50, 3980–3983. (in Chinese with English abstract) [景丹龙, 梁宏伟, 王玉兵, 王静, 张德春 (2011) 不同光照及储藏温度对水杉种子萌发及酶活性的影响. 湖北农业科学, 50, 3980–3983.]
- Le XW, Cui MY, Yang SZ, Luo Y, Zhao MS, Li YY (2013) Characters on the seed dormancy and germination of an endangered species, *Ostrya rederiana*, in Tianmu Mountain, China. Journal of East China Normal University (Natural Science), (6), 150–158. (in Chinese with English abstract) [乐笑玮, 崔敏燕, 杨淑贞, 罗远, 赵明水, 李媛媛 (2013) 濒危植物天目铁木种子休眠及萌发特征研究. 华东师范大学学报(自然科学版), (6), 150–158.]
- Lee YI (2007) The asymbiotic seed germination of six *Paphiopedilum* species in relation to the time of seed collection and seed pretreatment. Acta Horticulturae, 755, 381–385.
- Li GY, Chen FF, Yang ZL (2015) Studies on seedling cultural techniques of *Hopea hainanensis*. Tropical Forestry, 43(4), 7–8. (in Chinese with English abstract) [黎国运, 陈飞飞, 杨枝林 (2015) 坡垒种子育苗技术研究. 热带林业, 43(4), 7–8.]
- Li H, Deng JY, Cheng P (2010) Effects of NaCl stress on seeds germination and seedlings growth of *Betula halophila*. Xinjiang Agricultural Sciences, 47, 472–476. (in Chinese with English abstract) [李宏, 邓江宇, 程平 (2010) NaCl胁迫对盐桦种子发芽和幼苗生长的影响. 新疆农业科学, 47, 472–476.]
- Li J, Duan ZL (2012) Experiment of cutting and seedling cultivation of *Hopea hainanensis*. Hebei Forestry Science and Technology, (6), 21, 33. (in Chinese) [李璟, 段宗亮 (2012) 海南坡垒扦插育苗试验. 河北林业科技, (6), 21, 33.]
- Li JQ (1987) Preliminary study intergeneric grafting of *Metasequoia glyptostroboides* to promote early fruiting. Journal of Zhejiang Forestry College, 4(2), 134–135. (in Chinese) [李锦清 (1987) 水杉异砧嫁接促进早实试验初报. 浙江林学院学报, 4(2), 134–135.]
- Li SX, Yao YL, Dai XG, Yin TM, Gao HD (2012) Effects of environmental conditions and covering soil after sowing on seedling emergence rate of *Metasequoia glyptostroboides*. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 32(2), 26–30. (in Chinese with English abstract) [李淑娴, 姚亚莉, 戴晓港, 尹冬明, 高捍东 (2012) 环境条件和播后覆土对水杉种子出苗率的影响. 中南林业科技大学学报, 32(2), 26–30.]
- Li XL, Li ZB, Liu CH, Hao GM, Tang YC, Li J, Wang YS (2014) Reproduction test on *Taxus cuspidata* tree top cuttings. Journal of Beihua University (Natural Science), 15, 671–674. (in Chinese with English abstract) [李向林, 李政博, 刘春华, 郝广明, 唐永川, 李军, 王延生 (2014) 东北红豆杉树尖扦插繁殖试验. 北华大学学报(自然科学版), 15, 671–674.]
- Liao SZ, Zhou WL (1989) Experiment on seed germination condition of *Metasequoia glyptostroboides*. Sichuan Forestry Science and Technology, 10(1), 71–74. (in Chinese) [廖绍忠, 周万良 (1989) 水杉种子发芽条件试验. 四川林业科技, 10(1), 71–74.]
- Liao YJ, Li X, Dong XH (2010) Effect of different temperature stratifications on physiological and biochemical characteristic and seed embryos development of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. Journal of China Agricultural University, 15(1), 39–44. (in Chinese with English abstract) [廖云娇, 李雪, 董学会 (2010) 不同变温层积过程中东北红豆杉种子生理生化特性和胚形态的变化. 中国农业大学学报, 15(1), 39–44.]
- Lin L, Phurbu Tsering (2008) Cutting propagation of *Metasequoia glyptostroboides* in Nyingchi region, Tibet. Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology, 35(3), 38–39. (in Chinese) [林玲, 普布次仁 (2008) 西藏林芝地区引种水杉扦插繁殖试验. 江苏林业科技, 35(3), 38–39.]
- Liu JL, Ma MD (2007) Study on browning of endangered *Manglietiastrum sinicum* in tissue culture. Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 27(1), 20–23. (in Chinese with English abstract) [刘均利, 马明东 (2007) 华盖木组织培养中褐化控制研究. 浙江林业科技, 27(1), 20–23.]
- Liu LP, Zhang LY, Jia JM, Cao P, Hao SC, Bu XY, Liu SQ (1998) Study on tissue and cell culture in *Taxus cuspidata*. Journal of Shenyang Agricultural University, 29, 302–305. (in Chinese with English abstract) [刘丽萍, 张立莹, 贾景明, 曹萍, 郝泗城, 卜秀燕, 刘世强 (1998) 东北红豆杉组织培养的研究. 沈阳农业大学学报, 29, 302–305.]
- Liu T, Hu LL, Zheng H, Zhou ZQ (2008) Researchs on soil seed bank of Japanese yew. Acta Ecologica Sinica, 29,

- 1869–1876. (in Chinese with English abstract) [刘彤, 胡林林, 郑红, 周志强 (2008) 天然东北红豆杉土壤种子库研究. 生态学报, 29, 1869–1876.]
- Lu J, Fu YZ, Fu MZ (1998) The changes of soluble carbohydrate, nitrogenous compound and endogenous hormone contents in intergeneric grafting of *Metasequoia glyptostroboides*. Plant Physiology Communications, 34, 22–24. (in Chinese) [陆军, 傅远志, 符梅忠 (1998) 异砧嫁接水杉的碳氮水平及内源激素含量变化. 植物生理学通讯, 34, 22–24.]
- Ma J, Ma MD (2008) Effect of the hormone component of the culture medium on the germination of axillary bud for *Manglietiastrum sinicum*. Forestry Science and Technology, 33(2), 1–3. (in Chinese with English abstract) [马均, 马明东 (2008) 培养基激素组成对华盖木腋芽萌发的影响. 林业科技, 33(2), 1–3.]
- Ma WB, Xu G, Ji HJ, Liu XL (2014) Preliminary study on germination characteristics of the rare plant *Acer catalpifolium*. Seeds, 33(12), 87–90. (in Chinese with English abstract) [马文宝, 许戈, 姬慧娟, 刘兴良 (2014) 珍稀植物梓叶槭种子萌发特性初步研究. 种子, 33(12), 87–90.]
- Ma XJ, Ding WL, Chen Z (1994) Study on cutting propagation of *Taxus cuspidata*. China Journal of Chinese Materia Medica, 19, 337–338. (in Chinese) [马小军, 丁万隆, 陈震 (1994) 东北红豆杉扦插繁殖的研究. 中国中药杂志, 19, 337–338.]
- Ma XJ, Ding WL, Chen Z (1996) Effect of temperature on seed germination of *Taxus cuspidata*. China Journal of Chinese Materia Medica, 21, 20–22. (in Chinese) [马小军, 丁万隆, 陈震 (1996) 温度对东北红豆杉种子萌发的影响. 中国中药杂志, 21, 20–22.]
- Ma Y, Feng QY, Yang K (2013) Talk about the research progress of the propagation technique of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. Forestry Exploration Design, (1), 62–64. (in Chinese with English abstract) [马盈, 丰庆义, 杨凯 (2013) 东北红豆杉繁殖技术研究进展评述. 林业勘查设计, (1), 62–64.]
- Ma YP, Chen G, Grumbine RE, Dao L, Sun WB, Guo HJ (2013) Conserving plant species with extremely small populations (PSESP) in China. Biodiversity and Conservation, 22, 803–809.
- Mei XD, Ma J, Zhang FC (2006a) Rooting cultivation of rare endangered plant *Betula halophila* in vitro. Xinjiang Agricultural Sciences, 43, 218–223. (in Chinese with English abstract) [梅新娣, 马纪, 张富春 (2006a) 新疆濒危植物盐桦试管苗生根培养的研究. 新疆农业科学, 43, 218–223.]
- Mei XD, Zhang FC, Lv HP (2006b) High Efficient callus induction and adventitious bud differentiation of *Betula halophila*. Xinjiang Agricultural Sciences, 43(1), 78–81. (in Chinese with English abstract) [梅新娣, 张富春, 吕会平 (2006b) 盐桦(*Betula halophila*)愈伤组织的高效诱导和不定芽的分化. 新疆农业科学, 43(1), 78–81.]
- Mei XD, Zhang FC, Zeng YL (2004) Tissue culture and rapid propagation of rare endangered *Betula halophila*. Plant Physiology Communications, 40, 714. (in Chinese) [梅新娣, 张富春, 曾幼玲 (2004) 濒危植物盐桦的组织培养及快速繁殖. 植物生理学通讯, 40, 714.]
- Mo MB, Xie YZ, Qin KP, Tu DH, Wang YB (2012) Traits of concomitant communities of rare and endangered plant *Dayao-shania cotinifolia*. Guangxi Forestry Science, 41, 246–247. (in Chinese with English abstract) [莫耐波, 谢云珍, 覃康平, 涂德华, 王玉兵 (2012) 珍稀濒危植物瑶山苣苔伴生群落特征. 广西林业科学, 41, 246–247.]
- Qin AL, Jian ZJ, Ma FQ, Guo QS, Zheng XK (2018) Effects of the mother tree age, growth regulator, containers and substrates on softwood cutting propagation of *Thuja sutchuenensis*. Scientia Silvae Sinica, 54(7), 43–53. (in Chinese with English abstract) [秦爱丽, 简尊吉, 马凡强, 郭泉水, 郑祥坤 (2018) 母树年龄、生长调节剂、容器与基质对崖柏嫩枝扦插的影响. 林业科学, 54(7), 43–53.]
- Qin YT, Li X, Zhai ZX, Dong XH (2015) The influence of plant growth regulators on seed development in Japanese yew (*Taxus cuspidata*). Seed, 34(2), 59–62. (in Chinese with English abstract) [秦祎婷, 李雪, 翟志席, 董学会 (2015) 植物生长调节剂对东北红豆杉种子发育的影响. 种子, 34(2), 59–62.]
- Ren H, Zhang QM, Lu HF, Liu HX, Guo QF, Wang J, Jian SG, Bao HO (2012) Wild plant species with extremely small populations require conservation and reintroduction in China. Ambio, 41, 913–917.
- The Group of Tissue Culture of Sichuan Forestry Research Institute (1980) The tissue culture of *Metasequoia glyptostroboides*. Sichuan Forestry Science and Technology, (2), 24–27. (in Chinese) [四川林业科学研究所组织培养组 (1980) 水杉茎段的离体培养. 四川林业科技, (2), 24–27.]
- Wang LX, Sun PQ, Meng WY, Li SY, Liang SZ, Feng JW (1995) Asexual propagation technology of *Taxus cuspidata*. Jilin Forestry Science and Technology, (3), 44–45. (in Chinese) [王乐祥, 孙培琦, 孟维洋, 李树友, 梁松召, 冯景文 (1995) 东北红豆杉无性繁殖技术. 吉林林业科技, (3), 44–45.]
- Wang R (1980) Study on cuttage propagation of *Metasequoia glyptostroboides*, *Taxodium ascendens* and *Taxodium distichum* by electronic intermittent spraying. Jiangsu Forestry Science and Technology, (1), 17–19. (in Chinese) [王嵘 (1980) 采用电子叶间歇喷雾方法“无土”嫩枝扦插繁殖水杉池杉落羽杉试验. 江苏林业科技, (1), 17–19.]
- Wang YB, Liang HW, Chen FJ, Qin KP, Mo NB (2008) The endangered causes and protecting strategies for *Dayao-shania cotinifolia*, an endemic plant in Guangxi. Ecology and Environment, 17, 1956–1960. (in Chinese with English abstract) [王玉兵, 梁宏伟, 陈发菊, 覃康平, 莫耐波 (2008) 广西特有植物瑶山苣苔的濒危原因及保护对策. 生态环境, 17, 1956–1960.]
- Wang YB, Liang HW, Mo NB, Qin KP, Tang GG (2011) Flo-

- wer phenology and breeding system of rare and endangered *Dayaoshania cotinifolia*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 31, 958–965. (in Chinese with English abstract) [王玉兵, 梁宏伟, 莫耐波, 覃康平, 汤庚国 (2011) 珍稀濒危植物瑶山苣苔开花生物学及繁育系统研究. 西北植物学报, 31, 958–965.]
- Wang YM, Gao H, Gao BW, Song ZJ, Chen FJ (2019) Preliminary study on tissue culture of *Thuja sutchuenensis*. *Hubei Forestry Science and Technology*, 48(2), 16–18. (in Chinese with English abstract) [王毅敏, 高晗, 高本旺, 宋正江, 陈发菊 (2019) 崖柏组织培养初探. 湖北林业科技, 48(2), 16–18.]
- Wang YZ, Li YH, Cui LC (2005) Propagation and cultivation of *Taxus cuspidata*. *Forestry Science and Technology Communication*, (12), 24. (in Chinese) [王云志, 李延辉, 崔连成 (2005) 东北红豆杉的繁殖与栽培. 林业科技通讯, (12), 24.]
- Wang ZD, Sun XH, Zhang RZ (2007) Research on cuttage propagation techniques of *Taxus cuspidata*. *Modern Landscape Architecture*, (12), 82–83. (in Chinese with English abstract) [王兆东, 孙习华, 张荣哲 (2007) 东北红豆杉扦插繁殖技术研究. 现代园林, (12), 82–83.]
- Wen B, Lan QY, He HY (2002) Effects of illumination, temperature and soil moisture content on seed germination of *Hopea hainanensis*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 10, 258–262. (in Chinese with English abstract) [文彬, 兰芹英, 何惠英 (2002) 光、温度和土壤水分对坡垒种子萌发的影响. 热带亚热带植物学报, 10, 258–262.]
- Wu ML, Yao L, Ai XR, Zhu J, Zhu Q, Wang J, Huang X, Hong JF (2020) The reproductive characteristics of core germplasm in a native *Metasequoia glyptostroboides* population. *Biodiversity Science*, 28, 303–313. (in Chinese with English abstract) [吴漫玲, 姚兰, 艾训儒, 朱江, 朱强, 王进, 黄小, 洪建峰 (2020) 水杉原生种群核心种质资源的繁殖特性. 生物多样性, 28, 303–313.]
- Xin X, Jing XM, Sun HM, Lin J, Wang XF (2004) Ecophysiological characteristics of seed germination of the relict plant *Metasequoia glyptostroboides*. *Biodiversity Science*, 12, 572–577. (in Chinese with English abstract) [辛霞, 景新明, 孙红梅, 林坚, 汪晓峰 (2004) 孑遗植物水杉种子萌发的生理生态特性研究. 生物多样性, 12, 572–577.]
- Xiong YP, Chen SY, Guo BY, Niu MY, Zhang XH, Li Y, Wu KL, Zheng F, Teixeira da Silva JA, Zeng SJ, Ma GH (2020) An efficient micropropagation protocol for *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng from shoot segments of 2-year-old trees. *Trees*, 34, 307–313.
- Xu JG, Liu YY, Li SP (1980) Study on cuttings and seedling cultivation of *Metasequoia glyptostroboides*. *Forestry Science and Technology Communication*, (9), 1–3. (in Chinese) [续建国, 刘玉媛, 黎寿朋 (1980) 水杉扦插育苗的研究. 林业科技通讯, (9), 1–3.]
- Yang DJ, Xu ZC, Wang HW (2008) Propagation and construction technology of *Metasequoia glyptostroboides* in the surrounding area of Hongze Lake wetland. *Protection Forest Science and Technology*, (2), 87–88. (in Chinese) [杨登俊, 徐仲才, 王海伟 (2008) 洪泽湖湿地周边地区水杉繁殖与营造技术. 防护林科技, (2), 87–88.]
- Yang G, Lü JF, Teixeira da Silva JA, Chen HF, Ma GH (2014) Shoot organogenesis from leaf explants of *Dayaoshania cotinifolia* W. T. Wang. *In Vitro Cellular Developmental Biology—Plant*, 50, 451–457.
- Yang YJ, Fu H, An DF (2015) Sowing and seedling technology of *Metasequoia glyptostroboides*. *Modern Rural Science and Technology*, 18, 49. (in Chinese) [杨玉杰, 付浩, 安东辉 (2015) 水杉播种育苗技术. 现代农村科技, 18, 49.]
- Yi SR, Huang Y (2001) Successful cuttage propagation of *Thuja sutchuenensis*. *Plants*, (5), 30. (in Chinese) [易思荣, 黄娅 (2001) 崖柏扦插繁殖获得成功. 植物杂志, (5), 30.]
- Yin LW, Yang B, Yang B, Zhang QC (2014) Seed vigor of *Taxus cuspidata* under cryopreservation. *Guizhou Agricultural Sciences*, 42(12), 53–55. (in Chinese with English abstract) [尹丽文, 杨波, 杨波, 张启昌 (2014) 超低温保存下东北红豆杉种子的活力. 贵州农业科学, 42(12), 53–55.]
- You DM, Ma GL (2008) Effects of different litter layer depth on seed germination of *Metasequoia glyptostroboides*. *Journal of Nanyang Normal University*, 17(6), 51–53. (in Chinese with English abstract) [尤冬梅, 马广礼 (2008) 水杉枯落物对其种子萌发的影响初探. 南阳师范学院学报, 17(6), 51–53.]
- Yu DP, Peng QX, Li CH, Xie KP, Zhang GZ, Li SL (2008) Research on the biological characters of the seeds of *Acer catalpifolium* Rehd. *Chinese Wild Plant Resources*, 27(6), 30–32. (in Chinese with English abstract) [余道平, 彭启新, 李策宏, 谢孔平, 张国珍, 李世丽 (2008) 梓叶槭种子生物学特性研究. 中国野生植物资源, 27(6), 30–32.]
- Yu SX (1994) Study on *Taxus cuspidata* tissue culture. I. The induce of leaf callus. *Biotechnology*, 4(2), 30–32. (in Chinese with English abstract) [于世选 (1994) 东北红豆杉组织培养的研究. I. 叶片愈伤组织的诱导. 生物技术, 4(2), 30–32.]
- Yu YG, Cai KF, Ling BF, Zhang CT, Xia ZJ (2012) Cuttings and seedling cultivation of leatherleaf of *Metasequoia glyptostroboides*. *Journal of Green Science and Technology*, (4), 148, 151. (in Chinese) [于永根, 蔡开锋, 凌柏芳, 张春桃, 夏钟杰 (2012) 水杉羽叶扦插育苗技术. 绿色科技, (4), 148, 151.]
- Yu ZB (2008) Propagation and cultivation of *Metasequoia glyptostroboides*. *Northern Horticulture*, (6), 168–169. (in Chinese) [于泽波 (2008) 水杉的繁殖栽培. 北方园艺, (6), 168–169.]
- Yuan YJ (2009) Wooden canopy to protect the survival of the status quo and its countermeasures. *Modern Agricultural Sciences*, 16(5), 132–133. (in Chinese with English abstract) [袁永俊 (2009) 华盖木生存现状及其保护对策. 现代农业科学, 16(5), 132–133.]

- Zang RG, Dong M, Li JQ, Chen XY, Zeng SJ, Jiang MX, Li ZQ, Huang JH (2016) Conservation and restoration for typical critically endangered wild plants with extremely small population. *Acta Ecologica Sinica*, 36, 7130–7135. (in Chinese with English abstract) [臧润国, 董鸣, 李俊清, 陈小勇, 曾宋君, 江明喜, 李镇清, 黄继红 (2016) 典型极小种群野生植物保护与恢复技术研究. *生态学报*, 36, 7130–7135.]
- Zeng GW, Fu YZ, Lu J, Fu MZ (1997) Effects of intergeneric grafting on promotion of flowering and fruiting in *Metasequoia glyptostroboides*. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 23, 237–240. (in Chinese with English abstract) [曾广文, 傅远志, 陆军, 符梅忠 (1997) 异砧嫁接促进水杉开花结果的效应. *浙江农业大学学报*, 23, 237–240.]
- Zeng SJ, Huang WC, Wu KL, Zhang JX, Teixeira da Silva JA, Duan J (2016) In vitro propagation of *Paphiopedilum orchids*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36, 521–534.
- Zhang B, Mo NB, Chen L, Liang HW, Wang YB (2013) Adventitious shoot induction and plant regeneration of *Dayaoshania cotinifolia* W. T. Wang. *Plant Physiology Journal*, 49, 824–828. (in Chinese with English abstract) [张博, 莫耐波, 陈龙, 梁宏伟, 王玉兵 (2013) 瑶山苣苔的不定芽诱导及植株再生. *植物生理学报*, 49, 824–828.]
- Zhang M (2005) Cutting and seedling cultivation of *Metasequoia glyptostroboides* in winter. *Forestry Science and Technology Communication*, (9), 25–26. (in Chinese) [张梅 (2005) 水杉冬季扦插育苗技术. *林业科技通讯*, (9), 25–26.]
- Zhang RH, Gong GW, Shen XK, Zou DM, Kang ZX, Yang FC (1988) A study of pollen, seed and seedling of *Ostrya rederiana* Chun. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 8(4), 7–11. (in Chinese) [张若蕙, 龚关文, 沈锡康, 邹达明, 康志雄, 杨逢春 (1988) 天目铁木花粉、种子及幼苗的研究. *浙江林业科技*, 8(4), 7–11.]
- Zhang RH, Shen XK, Ni JH (1990) Cutting propagation of *Ostrya rederiana*. *Forestry Technology Communication*, (11), 2, 25. (in Chinese) [张若蕙, 沈锡康, 倪继红 (1990) 天目铁木扦插繁殖技术. *林业科技通讯*, (11), 2, 25.]
- Zhang SQ, Tan XM, Wu B, Lu W (2015) Study on seed breeding of *Thuia sutchuenensis*. *Agricultural Science & Technology*, 16, 712–715.
- Zheng YL, Sun WB (2009) Seed germination of huagaimu, a critically endangered plant endemic to southeastern Yunnan, China. *Horttechnology*, 19, 427–431.
- Zheng YL, Sun WB, Zhao XF (2008) Seed dormancy and germination of *Manglietiastrum sinicum* Law., a globally critical endangered plant in China. *Plant Physiology Communications*, 44, 100–102. (in Chinese with English abstract) [郑艳玲, 孙卫邦, 赵兴峰 (2008) 极度濒危植物华盖木的种子休眠与萌发. *植物生理学通讯*, 44, 100–102.]
- Zhu JF, Guan YY, Yuan HZ, Dong JS, Liu ZH (2009) Study on aseptic germination and rapid propagation of *Betula halo-philis*. *Hebei Forestry science and Technology*, (Suppl.), 1–3. (in Chinese) [朱建峰, 管耀义, 袁惠贞, 董军生, 刘朝华 (2009) 盐桦种子无菌萌发及快速繁殖研究. *河北林业科技*, (增刊), 1–3.]
- Zhu L, Guo QS, Qin AL, Pei SX, Zhu NN, Ma FQ (2014) Study on the hardwood cutting cultivation of a severely endangered species, *Thuja sutchuenensis*, in the world. *Hebei Journal of Forestry and Orchard Research*, 29, 5–11. (in Chinese with English abstract) [朱莉, 郭泉水, 秦爱丽, 裴顺祥, 朱妮妮, 马凡强 (2014) 世界极危物种—崖柏幼树硬枝扦插繁殖研究. *河北林果研究*, 29, 5–11.]
- Zhu YY, Xu XT (2019) Effects of climate change on the distribution of wild population of *Metasequoia glyptostroboides*, an endangered and endemic species in China. *Chinese Journal of Ecology*, 38, 1629–1636. (in Chinese with English abstract) [朱莹莹, 徐晓婷 (2019) 气候变化对我国特有濒危物种水杉野生种群分布的影响. *生态学杂志*, 38, 1629–1636.]

(责任编辑: 黄振英 责任编辑: 周玉荣)