

岩黄连种子萌发特性研究

潘燕林^{1,2}, 郭伦发^{1,2*}, 王新桂¹, 张怡彬¹, 秦洪波¹

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西 桂林 541006)

摘要: 岩黄连是一种多年生草本植物, 主要分布于我国西南部岩溶地区, 具有重要的生态及医药价值, 开发利用前景广阔。生存环境脆弱和人为采挖的影响使得野生岩黄连资源面临枯竭, 被列入 2021 年国家重点保护野生植物名录。为探索该物种濒危的原因, 同时为其保育及大田种苗繁育提供参考, 该文研究了种子保存方法、化学试剂前处理、温度、光照、干旱、pH 以及混沙保湿冷藏处理对种子萌发的影响。结果表明: (1) 低温保存能够延长岩黄连种子的活性, 保存 2 年的种子萌发率仍能达到 30%。(2) 化学试剂 HCl 及 NaClO 对种子的前处理使其发芽率提升至 50%~60%; 种子在 20 °C 时萌发率能达到 50%, 而 30 °C 时基本不能萌发; 黑暗条件下的萌发率显著高于周期性光照条件; 萌发率随着干旱程度加深不断下降; 萌发率在 pH 值 3.0~8.0 的条件下无显著变化。(3) 混沙保湿冷藏使种子发芽势和萌发率显著提高, 萌发率达到对照的 2 倍。综上, 岩黄连种子在室温条件下易失活且不能在 30 °C 以上高温萌发的特性与其濒危有较大关系; 高效的种子萌发方法可以为岩黄连保护与产业化应用提供有效途径。

关键词: 岩黄连, 种子贮藏, 萌发方法, 萌发力指标, 萌发特性

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号:

Study on seed germination characteristics of *Corydalis saxicola*

PAN Yanlin^{1,2}, GUO Lunfa^{1,2*}, WANG Xingui¹, ZHANG Yibin¹, QIN Hongbo¹

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, 541006, Guangxi, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guilin, 541006, Guangxi, China)

Abstract: *Corydalis saxicola* is a perennial herbaceous plant, which mainly distributed in the karst areas of southwest China. Due to its important ecological and medicinal value, *Corydalis saxicola* has great prospects for development and utilization. With fragile living environmental condition and anthropogenic harvesting pressure, the wild resource of *Corydalis saxicola* is on the verge of exhaustion, so it has been included in the list of national key protected wild plants in 2021. In order to explore the causes for the endangerment of *Corydalis saxicola* and provide reference for its conservation and seedling breeding, this paper investigated the influencing factors on seed germination that including seed preservation methods, chemical pre-treatments, temperature, light, drought, pH, mix with wet sand and refrigerate treatment. The results were as

基金项目: 中央引导地方科技发展资金 (桂科 ZY21195035); 桂林市重点研发计划 (20210211-1); 广西科学院基本科研业务费 (CQZ-C-1913) [Supported by Central Guidance on Local Science and Technology Development Fund (ZY21195035)]; Key Research and Development Program of Guilin (20210211-1); Basic Research Fund of the Guangxi Academy of Sciences (CQZ-C-1913)].

第一作者: 潘燕林(1986-), 博士, 副研究员, 主要从事特色经济植物重要性状及功能基因研究, (E-mail) panyanlinll@163.com。

***通信作者:** 郭伦发, 副研究员, 主要从事特色经济植物的研究与利用研究, (E-mail) 37623630@qq.com。

follows: (1) Low-temperature storage can prolonged the seed activity, germination rate of 2-years stored seed could still reached 30%. (2) Germination rates of seed pre-treatments by HCl and NaClO solutions can reached to 50%~60%; germination rate was 50% at 20 °C, while closed to zero at 30 °C; darkness was more favorable for seed germination than periodic light condition; the seed germination rate kept decreasing with deepening drought; the seed germination rate did not changed significantly under the conditions of pH 3.0~8.0. (3) Mix with wet sand and refrigerate treatment can significantly promoted the seed germination potential and germination rate, and the germination rate was twofold of the control. In summary, the seed inactivation at room temperature and germination inability at high temperatures above 30 °C are more related to its endangerment; efficient seed germination methods can provide an effective way for conservation and industrial application of *Corydalis saxicola*.

Key words: *Corydalis saxicola*, seed storage, germination method, index of germination ability, germination characteristic

种子是植物有性繁殖的基础, 种子萌发是植物生长和发育的第一步。种子萌发受到其自身因素和外部环境的共同作用: 种子的形态构造、化学成分、发育、成熟、休眠等均能影响萌发进程 (Bareke, 2018); 另外, 环境因素如温度、水分、氧气、光照、土壤酸碱度等也会对种子萌发产生重要的影响 (Carrera-Castaño et al., 2020); 细菌、真菌、病毒等微生物则是种子萌发的生物影响因素 (Xiao et al., 2020)。种子萌发和幼苗定居障碍是许多珍稀濒危植物致濒的重要原因 (Nicole et al., 2011; 盛茂银等, 2011)。研究濒危植物的种子萌发特性, 探寻种子萌发的限制因素, 可以为其致濒机制研究及保护策略的制定提供依据, 也可以为其开发利用奠定基础。

岩黄连 (*Corydalis saxicola*), 又名石生黄堇, 是罂粟科 (Papaveraceae) 紫堇属 (*Corydalis*) 植物, 主要分布于广西、贵州、云南等地的岩溶地区 (余姣娇等, 2018)。岩黄连全株可入药, 主要药用成分为生物碱类, 包括脱氢卡维丁、巴马汀和小檗碱等 (Xie et al., 2021), 具有抗炎、抗病毒和抗肿瘤的药理作用 (Guo et al., 2022), 临床上已被开发成相应的注射液和片剂用于肝炎、肝硬化及肝癌等治疗。由于自身繁育困难与人为采挖, 岩黄连野外种群数量锐减, 被列入 2021 年国家重点保护野生植物名录。为了解决野生资源保护与生产应用之间的矛盾, 开展岩黄连种苗繁育、野外回归保育及人工种植等工作势在必行。

岩黄连植株多为丛生, 7~14 cm 长的总状花序以顶生或叶对生方式从枝条上长出, 授粉后形成的蒴果单个含 20~30 粒种子 (蒋水元等, 2002), 30 d 左右种子即能成熟。岩黄连种子细小, 每克种子数量达 1 700~2 000 粒。以上这些特性对于种子育苗和人工种植都具有一定优势。研究证实, 岩黄连种子发芽率较低, 即采即播发芽率最高 40%~50%, 一般在 20%~30% 之间; 随着存储时间增加发芽率不断降低, 室温存储半年后发芽率基本丧失 (蒋水元等, 2002)。蒋运生等 (2006) 对岩黄连种子的不同着生部位、贮藏方法、贮藏时间和播种基质等影响因素进行实验, 证实着生在果穗中部的种子发芽率最高、纸袋密封和低温贮藏的种子发芽率最好、火土加肥泥的播种基质更利于种子萌发。另外, 酸碱溶液对种子的萌发前处理也能影响其萌发率 (陈柯羽, 2011)。以上是关于岩黄连种子萌发的一些研究结果, 但种子萌发特性在岩黄连致濒原因、野外回归保育及生产应用方面的研究还有待进一步加强, 可推广应用的优良种子萌发方法也还需深入探索。

该文以岩黄连种子为实验材料, 针对种子保存条件和种子萌发处理方法进行研究, 拟探究以下问题: (1) 岩黄连种子较适合的保存方法; (2) 化学试剂前处理、温度、光照、干旱及 pH 对种子萌发的影响; (3) 可推广的岩黄连种子高效萌发方法。基于以上的研究, 探究岩黄连的致濒原因, 从而为野生岩黄连的保育提供理论和技术保障; 为其大田栽培和产业化推广提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试岩黄连种子为2020年6月及2021年6月从广西壮族自治区河池市东兰县桂源药材专业合作社的栽培基地采收,脱壳后的种子用塑料袋密封后置于4℃冰箱中避光保存备用。岩黄连种子呈椭圆形,种皮黑亮、质地坚硬;种子颗粒饱满、健康;千粒重为0.465~0.472 g,水分含量为17.2%~18.5%。

1.2 实验方法

1.2.1 温度对岩黄连种子活力及其萌发的影响

将适量2020年和2021年岩黄连种子分装到密封袋中,分别置于室温和4℃冰箱中避光保存。分别取保存1、3、6个月后的种子,用4% NaClO溶液浸泡10 min除菌,无菌水洗6次后进行播种。每个培养皿播100粒左右的种子,每个处理3皿,每隔2~3 d加入1 mL无菌水保持种子湿润,于25℃培养箱中暗培养条件下进行萌发。从萌发实验的第10天开始,每隔2 d统计种子萌发数,连续10 d无种子萌发则实验结束。

另外,取4℃冰箱中保存的2021年种子,经4% NaClO溶液浸泡及无菌水清洗后播种于培养皿中,分别置于20、25、30、35℃恒温培养箱中,黑暗条件下进行萌发实验。

1.2.2 化学试剂前处理对种子萌发的影响

取4℃冰箱中保存的种子,进行以下4种处理:①种子用清水漂洗后,直接用无菌水洗6次进行播种;②种子用4% NaClO溶液浸泡10 min,无菌水漂洗6次后播种;③种子用1M HCl溶液浸泡1 h,无菌水漂洗6次后播种;④种子经1M HCl溶液浸泡1 h,再经4% NaClO溶液浸泡10 min,最后用无菌水漂洗6次后播种。置于25℃黑暗条件下进行萌发实验。

1.2.3 光照、干旱及pH对种子萌发的影响

取4℃冰箱保存的2021年种子,用1.2.2的4种处理方式处理种子后分别置于25℃周期性光照(12 h光照/12 h暗)和完全黑暗条件进行萌发实验。

以PEG6000建立干旱胁迫,研究不同干旱胁迫下种子的萌发情况。取4℃冰箱保存的2021年种子,经4% NaClO溶液浸泡10 min后无菌水清洗6次,分别置于去离子水对照,5%、10%、15%和20%的PEG6000溶液浸润滤纸的培养皿中,每隔2~3 d向培养皿中加入1 mL的无菌水,保持PEG6000的相应浓度,于25℃黑暗条件下进行萌发实验。

分别用HCl及NaOH溶液调节无菌去离子水pH值至3.0、4.0、5.0、6.0、7.0及8.0,取4℃冰箱保存的2021年种子,经4% NaClO溶液浸泡10 min后无菌水清洗6次,置于不同pH值去离子水浸润滤纸的培养皿中,每隔2~3 d向培养皿中加入1 mL相应pH值的无菌水,于25℃黑暗条件下进行萌发实验。

1.2.4 混沙保湿冷藏对种子萌发的影响

将4℃冰箱保存的2020年和2021年种子与干净的河沙、无菌水按1:10:3的体积比例混合,置于密封袋中,4℃冰箱中避光保藏60 d,之后取出种子于室温条件下进行萌发。同时,以干燥冷藏的种子作为对照,将其直接与河沙、无菌水混合后于室温条件下进行萌发。

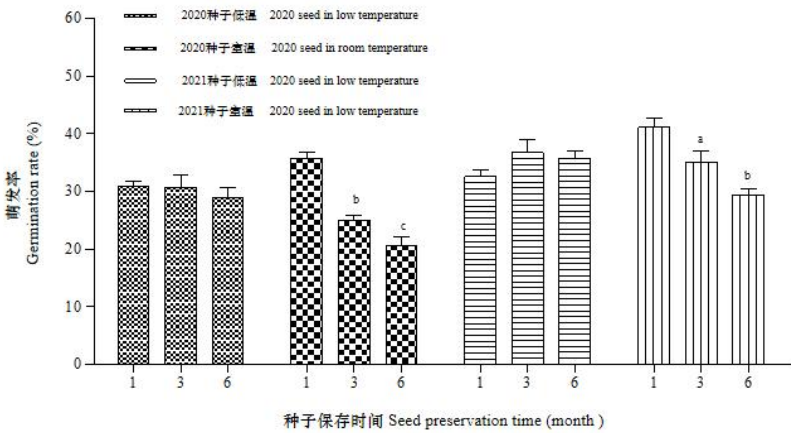
1.3 数据分析

萌发率=全部萌发种子数/播种种子数;发芽势为萌发处理15 d后的种子萌发率。运用Excel软件对数据进行统计、均值、方差分析;利用GraphPad prism 5软件进行显著性分析和绘图。

2 结果与分析

2.1 温度对岩黄连种子活力及萌发率的影响

取保存于 4 ℃冰箱的 2020 年和 2021 年种子,于 2021 年 11 月开始分别进行室温和 4 ℃冰箱存储,分别在存储 1、3 和 6 个月对种子进行萌发实验。结果显示,4 ℃冰箱存储的 2020 年种子发芽率基本没有降低,保持在 30%左右;4 ℃冰箱存储的 2021 年种子的发芽率也没有降低,而且还稍微有所提升;2020 年种子经室温保存后,发芽率随保存时间增加不断降低;2021 年的种子与 2020 年种子相似,发芽率随室温保存时间增加也逐渐降低(图 1)。该结果说明,相比于室温,4 ℃冰箱保存更有利于延长种子活力,4 ℃冰箱保存 2 年的种子萌发率仍能够达到 30%左右。



a. $P < 0.05$; b. $P < 0.01$; c. $P < 0.001$ (t 检验)。下同。

a, b, and c indicate statistically significant differences at $P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.001$, respectively(Student's t-test). The same below.

图 1 不同存储方法对种子萌发率的影响

Fig. 1 Effects of different storage on the *Corydalis saxicola* seed germination

以 2021 年种子为材料,分别在 20、25、30、35 ℃的恒温培养箱中进行萌发实验。实验结果显示,20 ℃条件下的种子发芽率最高,25 ℃发芽率相较 20 ℃稍微有所降低,但不显著;而在 30 ℃时,种子基本不能萌发,35 ℃时种子完全不能萌发,与 20 ℃条件相比均呈显著降低(图 2)。以上结果说明,高温明显不利于种子的萌发。

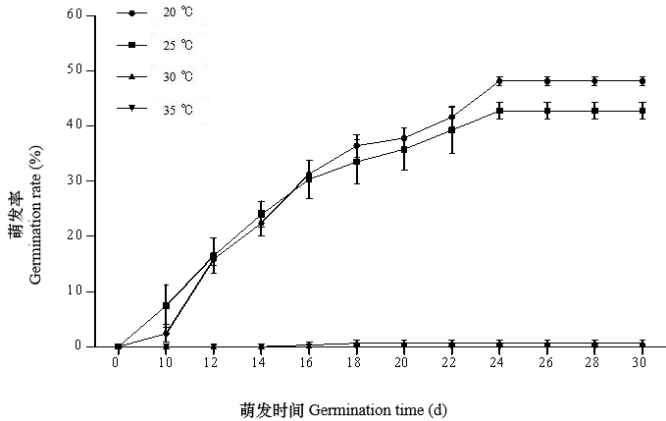


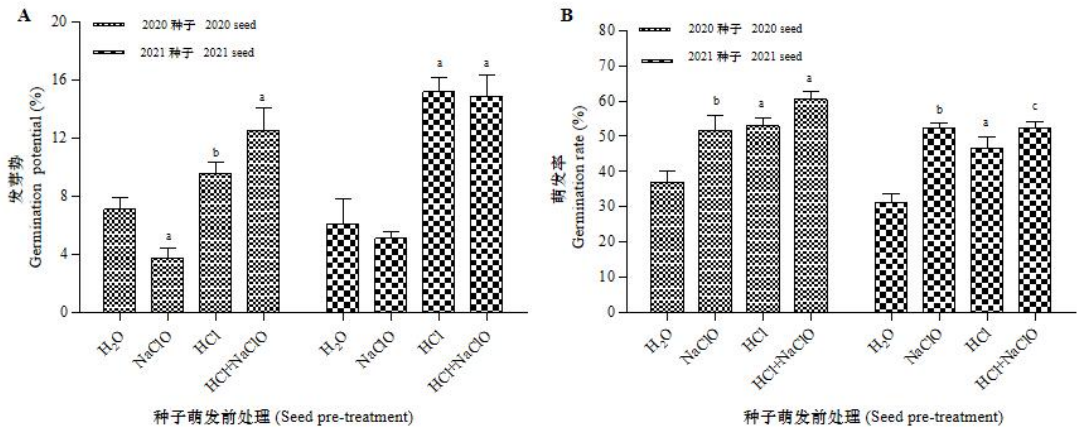
图 2 不同温度对岩黄连种子萌发的影响

Fig. 2 Effects of different temperatures on the *Corydalis saxicola* seed germination

综上，温度是影响种子活力及萌发率至关重要的因素之一。与室温相比，低温保存更有利于延长种子的活力；种子在 20~25 ℃ 条件下的发芽势及发芽率都能保持在较高水平，而 30 ℃ 以上的高温下，种子几乎完全失活，丧失萌发率。

2.2 化学试剂处理对岩黄连种子萌发的影响

以 2020 年及 2021 年的种子为材料，进行了以下处理：①种子经无菌水漂洗后直接播种，作为对照；②种子经 4% NaClO 溶液浸泡 10 min 后无菌水漂洗播种；③种子经 1M HCl 溶液浸泡 1 h 后无菌水漂洗播种；④种子经 1M HCl 溶液浸泡 1 h，再用 4% NaClO 溶液浸泡 10 min，最后用无菌水漂洗播种。实验结果显示，与 H₂O 对照相比，4% NaClO 溶液处理种子对发芽势无促进作用，甚至会使发芽势稍微降低，而 1M HCl、HCl+NaClO 处理均能显著提高种子发芽势（图 3:A）。无论是 1M HCl、4% NaClO 单独处理还是两种试剂合并处理，均能显著提高种子发芽率（图 3:B）。除利用 HCl 和 NaClO 溶液处理种子外，也尝试使用 NaOH 溶液处理种子，处理后基本未能观察到种子萌发（结果未展示）。以上实验结果说明，酸性化学试剂对种子的前处理能显著提高其发芽率，其中 HCl、HCl+NaClO 溶液的处理能同时显著提高发芽势和发芽率，是较优的种子前处理方法。



A. 种子的发芽势；B. 种子的萌发率；H₂O、NaClO、HCl 和 HCl+NaClO 分别代表不同的种子前处理方法。下同。

A. Germination potential of seed collected in 2020 and 2021; B. Germination rate of seed collected in 2020 and 2021; H₂O, NaClO, HCl and HCl+NaClO represent different seed pre-treatments, respectively. The same below.

图 3 不同化学试剂处理对岩黄连种子萌发的影响

Fig. 3 Different chemical reagent treatments on the *Corydalis saxicola* seed germination

2.3 光照和化学试剂处理对岩黄连种子萌发的影响

以 2021 年种子为材料，进行了以下实验：①种子无菌水漂洗后直接进行播种，作为对照；②种子用 4% NaClO 溶液浸泡 10 min 后无菌水漂洗播种；③种子用 1M HCl 溶液浸泡 1 h 后无菌水漂洗播种；④种子经 1M HCl 溶液浸泡 1 h 后，再用 4% NaClO 溶液浸泡 10 min，最后用无菌水漂洗播种。分别将种子置于 25 ℃ 周期性光照（12 h 光照/12 h 暗）和完全黑暗条件进行萌发。结果显示，经 4 种前处理的种子在黑暗条件下的发芽率都显著高于光照条件；而且 NaClO+HCl 处理后，暗培养条件下种子发芽率增高率比直接水浸更为显著（图 4）。以上结果说明黑暗条件更有利于种子的萌发。

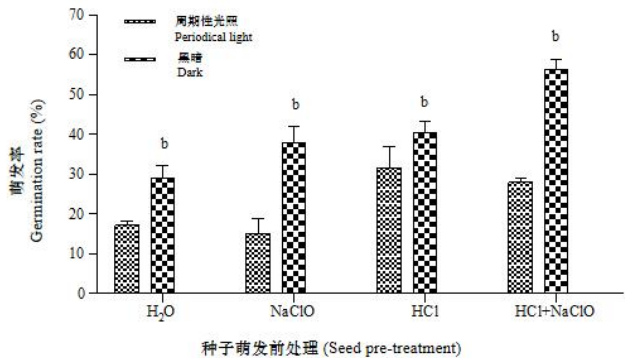
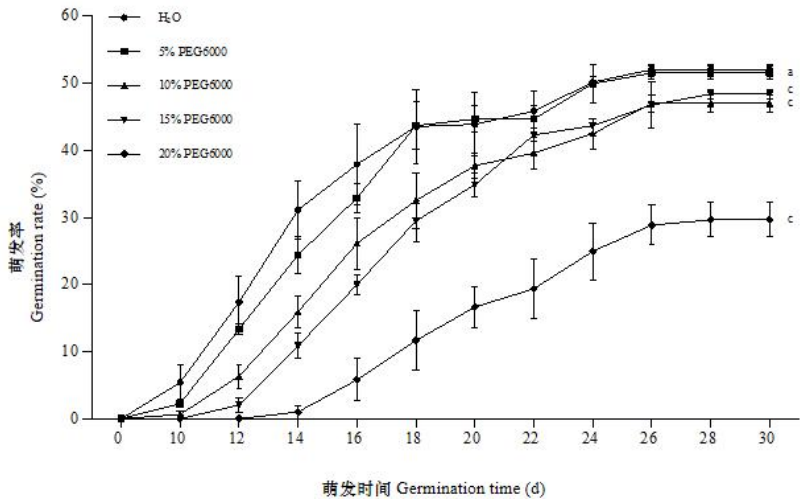


图 4 光照和黑暗条件对岩黄连种子萌发的影响

Fig. 4 Light and dark conditions on the *Corydalis saxicola* seed germination

2.4 干旱对岩黄连种子萌发的影响

以 2021 年种子为材料，以 H₂O 为对照，5%、10%、15%和 20% PEG6000 溶液为不同干旱条件，于 25 °C 黑暗条件下进行萌发实验。结果显示，种子在 H₂O 条件下发芽势和萌发率最高；在 5% PEG6000 溶液处理下发芽势降低，萌发率与对照无明显差异；10%和 15% PEG6000 溶液处理下的种子发芽势和萌发率与对照相比均显著降低；在 20% PEG6000 处理下，种子萌发明显滞后，且萌发率显著低于对照，为对照组的 50%左右（图 5）。以上结果说明，干旱胁迫对种子的萌发具有一定影响，随着干旱程度增加，发芽势逐渐降低，但只有达到较高程度的干旱时，其种子萌发率才会显著降低。



H₂O、5% PEG6000、10% PEG6000、15% PEG6000 和 20% PEG6000 分别代表不同干旱程度。
H₂O, 5% PEG6000, 10% PEG6000, 15% PEG6000 and 20% PEG6000 represent different drought conditions, respectively.

图 5 不同干旱条件对岩黄连种子萌发的影响

Fig. 5 Effects of different drought conditions on the *Corydalis saxicola* seed germination

2.5 不同 pH 条件对岩黄连种子萌发的影响

以 2021 年种子为材料，分别置于 pH 值为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 及 8.0 的无菌去离子水润湿的培养皿中，于 25 °C 黑暗条件下进行萌发实验。结果显示，6 个不同 pH 条件下的

种子萌发率均在 40%左右浮动，发芽势差异也不大（图 6）。以上结果说明，种子在 pH 值 3.0~8.0 不同条件下萌发，发芽势和萌发率均无显著差异。

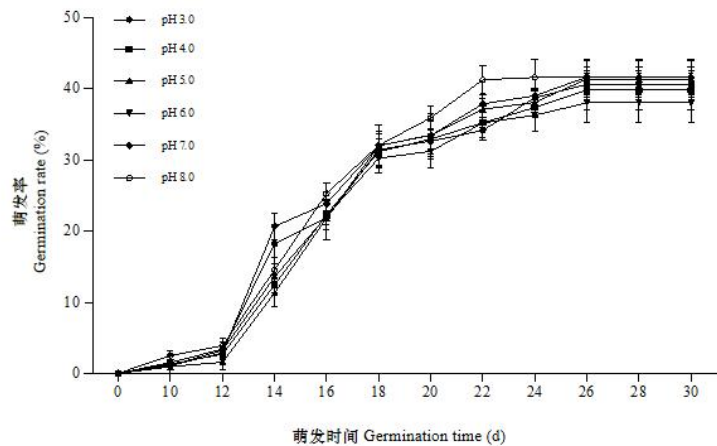


图 6 不同 pH 对岩黄连种子萌发的影响

Fig.6 Effects of different pH on the *Corydalis saxicola* seed germination

2.6 混沙保湿冷藏对岩黄连种子萌发的影响

以 2020 年和 2021 年的种子为材料，采用混沙保湿冷藏 60 d 后室温萌发和直接室温萌发 2 种方式，研究岩黄连种子适宜的发芽方式。结果显示，由于冬季室温偏低，室温条件下种子需要 38 d 后才开始萌发，在 76 d 后萌发才基本结束；而经混沙保湿冷藏处理的种子，置于室温条件下仅需 4 d 即可萌发，且快速达到萌发高峰。从发芽率结果来看，经过低温混沙湿藏的种子萌发率显著高于直接室温萌发的发芽率（图 7）。以上的结果说明，混沙保湿冷藏处理能显著提高种子的发芽势和萌发率，有利于提升苗的整齐度。

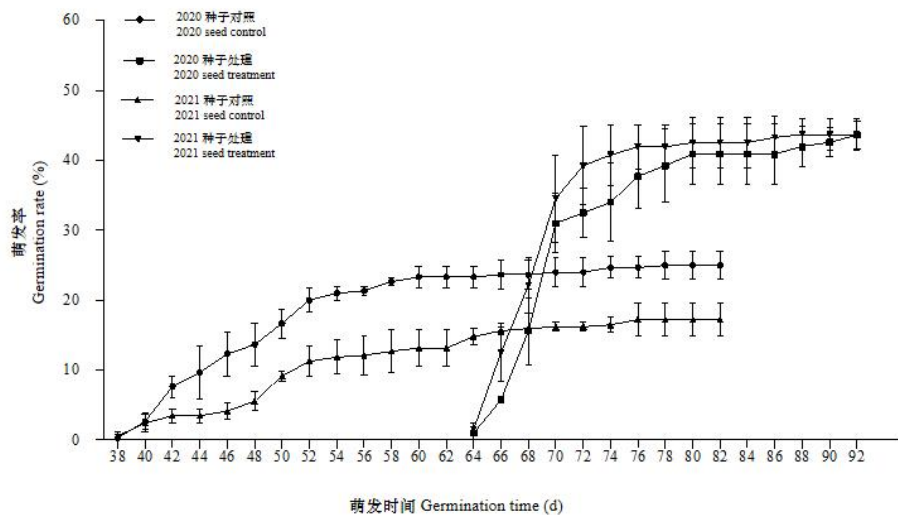


图 7 低温混沙湿藏对岩黄连种子萌发的影响

Fig. 7 Effects of mix with wet sand and refrigerate treatment on the *Corydalis saxicola* seed germination

3 结论与讨论

3.1 环境因子对岩黄连种子萌发的影响

种子生存能力受其自身特性和储藏条件的共同影响，低温干燥保存有利于降低种子变质、减缓种子呼吸和其他代谢进程，是一种常用的种子保存方法（Bareke, 2018）。前人研究证实，岩黄连种子寿命很短，常温保存几个月后就会丧失大部分活力（蒋水元等, 2002）。本研究中，低温密封保存种子的萌发率显著高于常温密封保存，常温保存 6 个月的种子萌发率为低温保存的 2/3 左右，说明岩黄连种子较适宜低温干燥的保存方式。本研究中，常温保存种子萌发率与蒋水元等（2002）报道的结果有所差异，推测保存室温相对偏低（本研究中保存时间为 11 月至次年 5 月）及密封保持种子水分含量等因素能够有效延缓岩黄连种子活力降低进程。

适宜的温度有助于种子体内酶的活化、促使赤霉素和脱落酸等影响种子萌发的激素水平发生改变，从而促进种子萌发（Carrera-Castaño et al., 2020）。温度梯度实验证实，20~25 °C 对种子的萌发较为有利，30~35 °C 时种子发芽率基本丧失，说明岩黄连种子萌发对温度的耐受范围较窄。岩黄连植株生长期最适宜的温度为 10~20 °C，高于 25 °C 后，各器官的衰老加剧（蒋水元等, 2002）。以上结果说明岩黄连从种子萌发到生长发育阶段都偏好于凉爽的气候，高温等极端天气可能是加剧该物种濒危的重要因素。

种皮是种子与外界环境的屏障，具有保护种胚和防止病虫害入侵的作用，但是种皮也会对种子萌发造成障碍。研究证实，毛茛种子外被蜡质，影响了吸水膨胀和通气，对萌发有一定的抑制作用（韩凤等, 2012）。岩黄连种子与其近源种毛茛种子类似，其种皮对种子萌发也可能存在抑制作用。适量的酸能腐蚀种皮、增强种子的透水透气性、解除种子内外物质交换的障碍，从而提高其发芽率和缩短萌发周期（Bareke, 2018）。此外，酸还能降解种皮上的部分抑制性成分、杀死细菌或真菌以减少霉变，从而促进萌发（李兵兵等, 2013）。本研究中，利用 HCl 和 NaClO 对岩黄连种子进行萌发前处理，其发芽势和萌发率都得到了显著提升，说明适当的酸处理能够解除岩黄连种皮对萌发的抑制作用，促进种子萌发。

水分和光照也是种子萌发的关键影响因素。种子吸水能触发呼吸活动的恢复、能量的产生、修复机制的激活、蛋白质生物合成和运输等生理生化反应（Carrera-Castaño et al., 2020）。不同物种的种子萌发对光照需求差异也很大（Yang et al., 2020），光抑制种子萌发被认为是避免种子在土壤表面或接近土壤表面发芽，从而保护幼苗在极端高温下免受脱水和暴露的一种生理适应性（Carta et al., 2017）。野生岩黄连植株常生长于无直射光且雨水不能直接淋湿的陡壁石缝中（陆瑞群, 2006），具有避强光和一定的干旱耐受性。本研究中，种子的发芽势随着干旱程度的增加逐渐降低，低程度干旱胁迫下的发芽率与对照相比无显著差异，只有在较高干旱胁迫时发芽率才会明显降低，说明岩黄连种子萌发能耐受一定的干旱胁迫。光照和黑暗条件下的萌发实验证实，岩黄连种子在黑暗条件下萌发率更高，说明强光对岩黄连种子萌发具有抑制作用。

种子萌发和幼苗生长阶段对酸碱环境的适应性是决定植物能否生存的关键（申玉华等, 2016）。本研究中，pH 值为 3.0~8.0 条件下，种子发芽势及萌发率均无显著差异，说明岩黄连种子萌发能耐受较宽范围的酸碱度变化，这与其植株对黑色石灰土与酸性红壤的较强适应能力（蒋水元等, 2002）具有一致性。

前人研究结果证实，岩黄连种子的发芽过程慢而不整齐（陆瑞群, 2006）；本研究中，种子在恒温条件下萌发需要 1 个月左右完成，室温条件萌发则需要 2 个月左右。该种子萌发特性可能对岩黄连这类珍稀濒危植物类群在恶劣生境中的持续存在具有重要意义，发芽过程缓慢有助于部分种子避开高温、干旱和强光等恶劣环境后再进行萌发、生长和繁衍。

3.2 岩黄连种苗繁育困难的原因分析及对其野外保育的启示

岩黄连母株的种子产量较高，其野外的幼苗更新却仍非常困难，推测是由种子难萌发和幼苗难存活等方面原因共同造成的。本研究证实，岩黄连种子在温度超过 30 °C 时基本不能

萌发；随干旱程度加深种子发芽势和发芽率都会降低。自然环境下，岩黄连植株于3月下旬至4月进入盛花期，种子成熟后掉落萌发时间为6—8月之间（钱月华，2019）。6—8月的气温基本都会超过25℃，常在30~35℃左右波动，严重制约了岩黄连种子的萌发；另外，空气湿度变化大和岩黄连所生长的岩缝环境缺少水分等因素，也不利于岩黄连种子的萌发；再者，岩黄幼苗具有高度依赖外部环境和易感病害等特性（蒋水元等，2006），使得能存活长大的植株数量进一步减少。以上的原因共同导致岩黄连野外幼苗的更新困难，而人为采挖进一步威胁了种群更新和扩大。

本研究中，低温保存2年种子的发芽率都还能达到30%左右，有效的延长了岩黄连种子的活力；化学试剂对种子的前处理能进一步将萌发率提高至50%左右。以上的研究结果证明，岩黄连播种不必受限于即采即播，可以在种子采集后进行低温冷藏以保持其活力，再选择适当的气候进行播种；另外，还可以在播种前通过化学试剂处理来进一步提高其萌发率。在岩黄连野外回归保育上，采取错峰播种，使其种子更易萌发，或许可以获得更多的幼苗，从而提高其种群存活数量，实现其野外保育的目的。

3.3 可推广应用的岩黄连种苗繁育方法

岩黄连除了用于药品生产外，还被利用于岩溶区的植被恢复、林下种植、园林景观等领域，应用前景广阔。由于生产应用条件的限制，人们较难对岩黄连种子的消毒灭菌和萌发条件进行严格的控制。本研究中，与直接室温萌发相比，岩黄连种子混沙保湿冷藏一段时间后再进行室温萌发的操作能够显著提高种子的发芽势和萌发率，该方法操作简单，所需设备仅为4℃冰箱，在实际生产上具有普遍推广和应用的潜能。

参考文献

- BAREKE T, 2018. Biology of seed development and germination physiology[J]. Adv Plants Agric Res, 8(4): 336-346.
- CARRERA-CASTAÑO G, CALLEJA-CABRERA J, PERNAS M, et al., 2020. An updated overview on the regulation of seed germination[J]. Plants, 9(6): 703.
- CARTA A, SKOURTI E, MATTANA E, et al., 2017. Photoinhibition of seed germination: occurrence, ecology and phylogeny[J]. Seed Sci Res, 27(2): 131-153.
- CHEN KY, 2011. Molecular cloning and expression analysis of involved in berberine alkaloids biosynthesis in *Corydalis saxicola* Bunt. and microbial transformation of steroidal alkaloids in *Veratrum nigrum* Linn[D]. Shanghai: Second Military Medical University: 1-176. [陈柯羽, 2011. 岩黄连中小檗碱型生物碱生物合成途径相关基因的研究及藜芦中甾体生物碱的微生物转化[D]. 上海: 第二军医大学: 1-176.]
- GUO Y, ZHAO L, CHANG B, et al., 2022. The traditional uses, phytochemistry, pharmacokinetics, pharmacology, toxicity, and applications of *Corydalis saxicola* Bunting: a review[J]. Front Pharmacol, 13: 822792.
- HANG F, LING MX, XIAO JY, et al., 2012. Preliminary study on the seed germination characteristics of *Corydalis tomentella*[J]. Hunan Agric Sci, 8: 20-21. [韩凤, 林茂祥, 肖杰易, 等, 2012. 毛黄堇种子萌发特性的初步研究[J]. 湖南农业科学, 8: 20-21.]
- JIANG SY, HU XH, ZHAO RF, 2002. Study on the introduction and cultivation of *Corydalis saxicola* Bunting[J]. Guihaia, 22 (5): 469-473. [蒋水元, 胡兴华, 赵瑞峰, 2002. 岩黄连引种栽培研究[J]. 广西植物, 22 (5): 469-473.]
- JIANG SY, WEI X, LI H, et al., 2006. GAP standard operating procedure on *Corydalis saxicola* Bunting[J]. Guihaia, 26(6): 675-680. [蒋水元, 韦霄, 李虹, 等, 2006. 岩黄连规范化种植标准操作规程(SOP) [J]. 广西植物, 26 (6): 675-680.]

- JIANG YS, ZHU HJ, JIANG SY, et al., 2006. Seeding propagation of *Corydalis saxicola* Bunting[J]. Guangxi Sci, 13(4): 324-326. [蒋运生, 朱鸿杰, 蒋水元, 等, 2006. 岩黄连种子繁殖研究[J]. 广西科学, 13(4): 324-326.]
- LI BB, WEI XH, XU Y, 2013. The causes of *Gentiana straminea* Maxim. seeds dormancy and the methods for its breaking[J]. Acta Ecol Sin, 33(15): 4631-4638. [李兵兵, 魏小红, 徐严, 2013. 麻花秦艽种子休眠机理及其破除方法[J]. 生态学报, 33(15): 4631-4638.]
- LU RQ, 2006. The geologic background and the tissue culture technique research of *Corydalis Saxicola* Bunting[D]. Guilin: Guangxi Normal University: 1-45. [陆瑞群, 2006. 岩黄连的地质背景及组织培养技术研究[D]. 桂林: 广西师范大学: 1-45.]
- NICOLE F, DAHLGREN JP, VIVAT A, et al., 2011. Interdependent effects of habitat quality and climate on population growth of an endangered plant[J]. J Ecol, 99(5): 1211-1218.
- QIAN YH, 2019. Cultivation techniques for rare medicinal plant *Corydalis saxicola*[J]. Anhui For Sci Technol, 45(2): 28-30. [钱月华, 2019. 珍稀药用植物岩黄连的栽培技术[J]. 安徽林业科技, 45(2): 28-30.]
- SHENG MY, SHEN CZ, CHEN X, et al., 2011. Resources situation and conservation strategies of endangered wild plants in china[J]. Chin J Nat, 33(3): 149-154. [盛茂银, 沈初泽, 陈祥, 等, 2011. 中国濒危野生植物的资源现状与保护对策[J]. 自然杂志, 33(3): 149-154.]
- SHEN YH, WANG JH, KANG JH, et al., 2016. Study on seed germination characteristics of *medicago sativa* L. under acid and alkali stress[J]. Seed, 35(9): 68-72. [申玉华, 王嘉慧, 亢俊桦, 等, 2016. 酸碱胁迫下紫花苜蓿种子萌发期的抗逆性研究[J]. 种子, 35(9): 68-72.]
- XIAO ZX, ZOU T, LU SG, et al., 2020. Soil microorganisms interacting with residue-derived allelochemicals effects on seed germination[J]. Saud J Biol Sci, 27(4): 1057-1065.
- XIE GY, JIN SY, LI HT, et al., 2021. Chemical constituents and antioxidative, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of wild and cultivated *Corydalis saxicola*[J]. Ind Crop Prod, 169(537): 113647.
- YANG LW, LIU SR, LIN RC, 2020. The role of light in regulating seed dormancy and germination[J]. J Integr Plant Biol, 62(9): 1310-1326.
- YU JJ, QIU ZX, LIU QY, et al., 2018. Research advance on *Corydalis saxicola* Bunting[J]. J Pharm Res, 137(6): 342-345. [余姣娇, 邱志霞, 刘秋燕, 等, 2018. 岩黄连的研究进展[J]. 药学研究, 137(6): 342-345.]