

木薯种子休眠特性及破除方法研究

郭长林¹, 宋记明², 骆凯¹, 唐丽¹, 符秀梅³, 陈银华^{1*}, 张瑞^{1*}

1. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228; 2. 云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所, 云南保山 678000; 3. 海南科技职业大学, 海南海口 571126

摘要: 木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 作为全球重要的粮食作物和生物能源作物, 杂交育种是木薯种质改良和品种选育的重要手段之一。然而, 由于木薯存在种子萌发困难等一系列问题, 极大限制了新品种的选育。本研究以新收获的华南 124 号母本自然结实种子为材料, 通过一系列室内试验, 对木薯种子休眠特性及休眠破除方法进行研究, 结果表明: (1) 解剖学和扫描电镜发现, 木薯种子呈卵圆形, 由种皮、胚乳和胚组成; 其中, 种子外表皮整体光滑, 由外至内依次为表皮层、海绵组织层和栅栏组织, 且栅栏层细胞排列较为致密。(2) 种阜和种皮虽减缓木薯种子本身吸水速率, 但种阜不是诱导其休眠的原因, 而种皮的机械阻碍作用或抑制物的存在是诱导种子休眠的主要原因, 从而判断木薯种子休眠类型为生理休眠。(3) 采用砂纸打磨发芽口、去种皮和砂纸打磨发芽口+冷热循环 2 次处理均可有效破除种子休眠, 显著提高种子萌发率; 其中, 砂纸打磨发芽口效果最佳, 可使萌发率由 2% 提高至 88%, 处理后萌发速率最快。(4) 35 °C 是木薯种子萌发的最佳温度, 其萌发率和萌发指数分别达 88% 和 36.6。本研究从木薯种子结构、种子休眠特性及其有效破除方法等方面为生产实践提供科学依据, 也为木薯杂交后代优良性状得以表达提供理论参考。

关键词: 木薯; 种子休眠特性; 萌发; 休眠破除

中图分类号: S533 文献标识码: A

Seed Dormancy Characteristics and Breaking Technique of *Manihot esculenta*

GUO Changlin¹, SONG Jiming², LUO Kai¹, TANG Li¹, FU Xiumei³, CHEN Yinhua^{1*}, ZHANG Rui^{1*}

1. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou Hainan 570228, China; 2. Institute of Tropical and Subtropical Economic Crops, Yunnan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Baoshan, Yunnan 678000, China; 3. Hainan Vocational University of Science and Technology, Haikou, Hainan 571126, China

Abstract: Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is an important food and bioenergy crop globally. One of the most significant methods for germplasm development and variety selection is hybridization. However, a series of problems including difficulty in seed germination hinder severely the development of new cultivars. Thus, in present study, seed dormancy characteristics as well as dormancy breaking methods were investigated with freshly harvested natural hybrid seeds of SC124. The cassava seeds are oval and contain a seed coat, endosperm and embryo according to the observation of anatomy and scanning electron microscopy. The outer epidermis is smooth and contains epidermal layer, spongy parenchyma and densely arranged palisade parenchyma from outside to the inside. The seed coat and seed caruncle slow down the water absorption of cassava seeds, while the primary reason for inducing seed dormancy is the mechanical hindrance of seed coat and the existence of the inhibitor, which could be classified as physiological dormancy. Treatments by scarified seed micropyle, removing seed coat and scarified seed micropyle + two alternating cycles of moist cold temperature (0 °C) for 2 h followed by moist warm temperature (30 °C) for 2 h could effectively break seed dormancy and improve seed germination percentage. Treatment by scarified seed micropyle was the most effective

收稿日期 2022-09-09; 修回日期 2022-09-27

基金项目 海南省基础与应用基础研究计划(自然科学领域)高层次人才项目(No. 2019RC112); 国家木薯产业体系生物防治与综合防控岗位科学家专项(No. CARS-11-hncyh)。

作者简介 郭长林(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 热带作物种子生物学。*通信作者(Corresponding author): 张瑞(ZHANG Rui), E-mail: zhangrui@hainanu.edu.cn; 陈银华(CHEN Yinhua), E-mail: yhchen@hainanu.edu.cn。

methods, which promoted seed germination from 2% to 88% and germination rate was also the fastest. The optimum temperature for germination of cassava seeds was 35 °C, and the germination percentage and germination index was 88% and 36.6, respectively. The research could provide scientific basis for understanding seed structure, seed dormancy characteristics and the best broken method for cassava seeds in production practice, and also provide a theoretical reference for the expression of excellent traits of cassava hybrid offspring.

Keywords: *Manihot esculenta*; seed dormancy characteristics; germination; dormancy breaking

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.08.012

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 为大戟科 (Euphorbiaceae) 木薯属植物, 是世界三大薯类作物、全球第六大粮食作物之一, 素有“地下粮仓”“淀粉之王”和“特用作物”之誉称, 为全世界近 6 亿人提供粮食保障^[1-4]。我国于 19 世纪 20 年代对木薯进行引种栽培, 现已广泛种植于广西、广东和海南等华南 8 省 (区), 种植面积约 30.47 万 hm^2 。随着我国经济的发展以及对生物能源需求的快速增长, 木薯作为我国燃料乙醇原料的非粮能源首选作物, 已成为我国绿色能源发展战略的新焦点^[5]。

杂交育种是木薯种质改良和品种选育的重要手段之一, 可以保证后代遗传的多样性。然而, 木薯种子存在种子萌发率低、发芽时间长、出苗率低等问题, 严重影响木薯杂交后代优良性状的表达, 极大地限制了木薯新品种的选育^[4, 6]。针对木薯种子萌发困难的问题, 前人开展了一系列研究。MUMFORD 等^[7]研究发现, 当含水量为 1.9%~5.9% 的木薯种子经室内贮藏 6 个月后, 萌发率由 80% 下降至 28%, 故认为木薯种子属于顽拗型种子, 但这一论断很快被否定。EILLS 等^[8-9]研究证明木薯种子属于正常型种子, 即种子含水量处于 6%~8% 时, 在 5 °C 条件下安全贮藏 7 a, 种子生活力未发生明显变化。MARIN 等^[10]将含水量为 6.1% 的木薯种子密封保存在 -20 °C 条件下, 种子生活力在 14 a 间基本保持不变, 进一步证实了该观点。后续研究表明, 木薯种子存在休眠是导致其不萌发的主要原因, 且研究多集中在休眠破除方法上, 如 MARTIN^[11]和 NARTEY^[12]研究发现, 机械破除、层积、硫酸处理、常温或热水浸泡均不能显著提高木薯种子的发芽率。而 PUJOL 等^[13]研究表明高温干燥处理后木薯种子萌发率为 55%; 韦本辉等^[14]发现经低温干燥贮藏或浸泡处理后木薯种子萌发率达 20%~60%; 此外, ddH_2O 和 600 mg/L GA_3 浸泡 36 h 后, 华南 5 号木薯种子萌发率由 25% 分别提高至 40% 和

75%^[6]; 划破处理+冷热循环 2 次处理后, 木薯种子萌发率达 64%^[15]。综上, 以往研究对木薯种子休眠最佳破除方法尚无一致看法。

针对木薯种子存在休眠这一关键问题, 一方面可以通过研发高效快捷的种子休眠破除技术来解决, 另一方面, 可通过选育低休眠率的种质来实现, 而明确木薯种子休眠特性是开展以上 2 种解决途径的关键和前提。不同于水稻、小麦、玉米等种子繁殖型的作物, 木薯在生产上通常采用茎秆繁殖, 且常规育种目标主要聚焦于薯块产量和品质方面, 尚未针对低休眠率特性研究以指导品种选育。因此, 在明确木薯种子休眠特性的基础上探究高效安全的休眠破除方法, 是解决木薯种子萌发率低, 提高杂交木薯育种进程的重要途径。基于此, 本研究以华南 124 号母本自然结实种子为材料, 通过种子形态结构观察、吸水率测定以及萌发试验对木薯种子休眠特性及休眠破除方法进行探究, 以期在木薯在生产实践中的应用推广提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试木薯种子 (华南 124 号母本自然结实种子) 于 2022 年 2 月采自国家木薯产业体系保山综合试验站示范基地西双版纳州勐海县布朗山乡 (21°58'N, 99°58'E, 1261 m), 该地区年均温为 18~21 °C, 年均降水量为 1374 mm。在木薯蒴果成熟裂开前, 用透气网袋 (20 cm×20 cm) 将其固定。待其自然开裂后带回实验室清选, 获得足量木薯种子。室温干燥后装入牛皮纸袋中, 置于 4 °C 冰箱贮藏备用。

1.2 方法

1.2.1 种子形态指标测定 随机数取 30 粒饱满的木薯种子, 使用游标卡尺测量种子长、宽、高, 取平均值, 设置 3 次重复。随后, 参照 TANG 等^[16]的方法, 将木薯种子经固定、脱水、干燥及导电

处理后,使用扫描电子显微镜(HITACHI Regulus 8100, Japan)分别对木薯种子的表面和横切面进行显微结构观测,并采集图片。

1.2.2 种子百粒重测定 从饱满种子中随机选取 100 粒种子,用万分之一电子天平进行称重,重复 8 次。

1.2.3 种子生活力测定 随机选取 25 粒种子,4 次重复。用温水(30 ℃)浸泡 24 h,剥去种皮后置于培养皿中,加入足量 0.5%的 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)溶液使种子完全浸没,随后将其置于 30 ℃恒温培养箱避光培养 12 h,参考国际种子检验规程^[17],将去种皮的种子纵切 1/2 露出胚,立即观察种胚着色的情况,最后计算种子生活力。

1.2.4 种子吸水率和吸水曲线测定 选取未处理(CK)、去种阜和砂纸打磨发芽口处理的木薯种子各 25 粒作为 1 个重复,共设置 4 个重复,分别在 30 ℃条件下浸泡于盛有 50 mL 蒸馏水的培养皿(直径 11 cm)中分别浸泡 0、4、8、12、24、36、48、60、72、84、96 h 后取出,用吸水纸吸干种子表面水分,迅速称重。当出现种子胚根突破种皮时,吸水试验停止^[18]。

种子吸水率=(种子吸水后重量-种子初始重量)/种子初始重量×100%。

1.2.5 不同休眠破除方法处理木薯种子 在不同休眠破除方法处理前,选取足量的木薯种子用 10%的 NaClO 溶液浸泡 1 min,蒸馏水冲洗 3~4 次,室温置于滤纸上晾干后立即使用。

(1)机械处理。a. 去种阜。用镊子固定种子后去除种阜(种阜部位如图 1 所示)。b. 划破种皮。用砂纸打磨木薯外种皮(侧部),直至露出白色内种皮时停止。c. 砂纸打磨发芽口。用砂纸轻拭发芽口,直至露出白色内种皮时停止。d. 去种皮。用钳子轻微用力夹破种皮,尽量不划伤种胚和胚乳,再用解剖刀缓慢剥除。

(2)湿热处理。将种子置于 50 mL 离心管后加满蒸馏水,封口膜密封,放入 80 ℃的热水中分别浸种 0(CK)、5、10 min。

(3)冷热循环处理。将未经处理的种子和砂纸打磨发芽口的种子分别放入 50 mL 离心管中,加满蒸馏水,封口膜密封,以冰水静置 2 h,随后放入 30 ℃的温水 2 h 作为 1 次循环,共进行 2 次循环。

(4)赤霉素浸种处理。分别将种子浸泡在 0(CK)、100、200 mg/L GA₃ 溶液中,35 ℃水浴 8

h。

(5)硝酸钾浸种处理。分别将种子置于 0(CK)、2%和 4%硝酸钾(KNO₃)溶液中,35 ℃水浴 8 h。

1.2.6 种子萌发试验 (1)不同休眠破除方法对木薯种子萌发的影响。采用纸上萌发法,将 1.2.5 处理后的木薯种子置于培养皿中,在光照培养箱 35 ℃(12 h 光/12 h 暗)条件下进行培养,以未处理的木薯种子为对照。每处理 25 粒种子,4 次重复。以胚根突破种皮作为判断种子萌发的标准,逐日统计各处理的萌发种子数,持续统计 14 d^[19-20]。

萌发率(germination percentage, GP)=供试种子中萌发的种子数/供试种子数×100%

萌发指数(germination index, G₁)= $\sum G_t/D_t$ 式中, G_t为萌发试验终期内每日萌发数; D_t为萌发日数; \sum 为总和。

(2)休眠破除后木薯种子萌发对温度的响应。选取适量最佳休眠破除方法处理后(砂纸打磨发芽口)的木薯种子,分别将其置于 25、30、35、40 ℃(12 h 光/12 h 暗)条件下进行培养,每处理 25 粒,4 次重复。种子萌发统计标准及萌发指标测定同 1.2.6-(1)。

1.3 数据处理

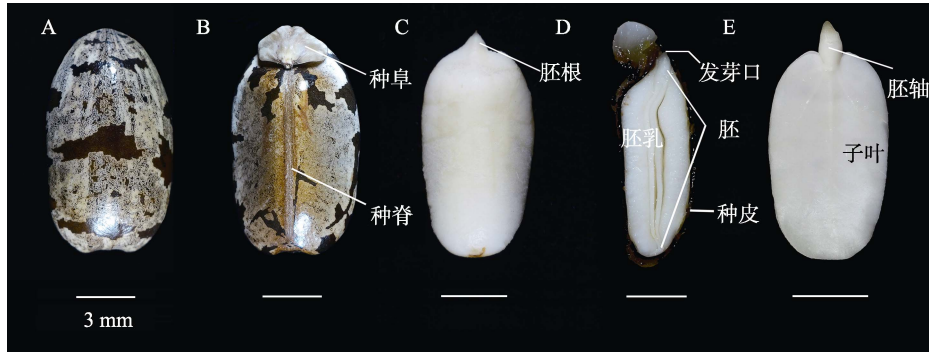
采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析,采用 Duncan's 检验对不同处理的平均值进行多重比较,采用 Excel 2021 软件制作图表。

2 结果与分析

2.1 木薯种子形态

新收获的木薯种子呈卵圆形,其种皮、胚乳和胚部分如图 1 所示。种皮包括外种皮、内种皮和种阜;外种皮硬壳质,表面光滑,有黑色和褐色斑纹,种脊与种子长轴平行,位于种子腹侧中央,种阜位于种子一端呈膨大的浅棕色隆起物;内种皮半透明膜质,与外种皮相连不易分开。胚乳呈白色,光滑饱满占种子体积绝大部分。胚由子叶、胚芽、胚轴及胚根组成,与胚乳在空间上分离。经测定,供试木薯种子长、宽、高分别为(10.17±0.13)、(5.94±0.08)、(3.74±0.05)mm,种子千粒重为(89.79±5.41)g,种子生活力为 94.00%±2.40%。

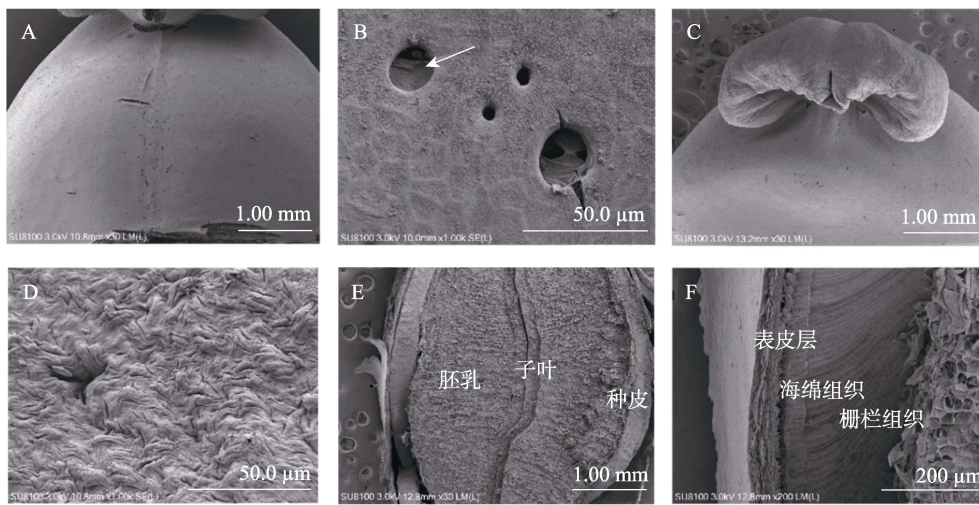
显微观察结果显示,木薯种子外表皮整体光滑(图 2A),多见大小不一的圆形小洞呈线性排



A: 种子背面观; B: 种子腹面观; C: 去除外种皮的种子; D: 与子叶垂直的纵切面; E: 游离的胚。
A: Back view of a seed; B: Ventral view of a seed; C: A seed without epispem; D: Longitudinal section perpendicular to the plane of cotyledon; E: Free embryo.

图 1 木薯种子的形态

Fig. 1 Shape of *M. esculenta* seed



A: 种子腹侧端, 示种阜; B: 种阜表面局部放大图; C: 种子腹侧种皮; D: 种脊处局部放大图;

E: 子叶中部横切面, 示 2 片子叶被胚乳包围; F: 种皮结构局部放大图。

A: The end of seed ventral, showing caruncle; B: Local enlargement of the caruncle surface; C: Seed testa of seed ventral; D: Local enlargement of raphe; E: Transection of middle cotyledon; F: Local enlargement of seed testa.

图 2 木薯种子显微结构

Fig. 2 Seed microstructure of *M. esculenta*

在种脊处 (图 2B), 其余部位有些许裂缝。木薯种子种阜膨大呈海绵状隆起 (图 2C), 表面皱缩 (图 2D), 中部有一个呈“Y”字型的种阜管道。扫描电镜下, 木薯种子子叶中部横切面展示, 胚乳占种子体积的大部分, 以不同厚度包裹着种胚, 胚乳外侧依次由内种皮和外种皮包裹 (图 2E), 其中种子外种皮各部分结构基本相似, 由外至内依次为表皮层、海绵组织层和栅栏组织, 且栅栏层细胞排列较为致密 (图 2F)。

2.2 种阜与种皮对木薯种子吸水率的影响

分别对去种阜、砂纸打磨发芽口和未处理种子进行吸水率测定 (图 3)。结果显示, 木薯种子吸水率在 0~24 h 内均快速增加, 浸泡 24 h 后, 未

处理种子和去种阜种子的吸水率开始缓慢提升, 随后逐渐趋于平稳, 而砂纸打磨发芽口木薯种子在 24 h 左右已开始萌发。3 种处理的木薯种子在吸水 24 h 的吸水率分别为: CK (36.5%) > 砂纸打磨发芽口 (32.4%) > 去种阜 (24.0%), 说明种阜与种皮并不影响木薯种子吸水, 但对种子吸水率有一定影响。对照组吸水率大于砂纸打磨发芽口和去种阜处理, 是由于种阜是海绵状的隆起物, 其本身可吸收大量水分。

2.3 不同休眠破除方法对木薯种子萌发的影响

2.3.1 机械处理对木薯种子萌发的影响 通过不同机械处理方法对木薯种子休眠破除的研究, 结果表明, 35 °C 培养 14 d 后, 木薯种子萌发率表现

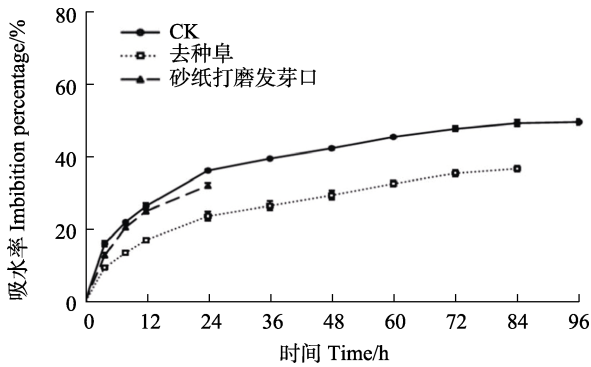


图 3 种阜与种皮对木薯种子吸水率的影响

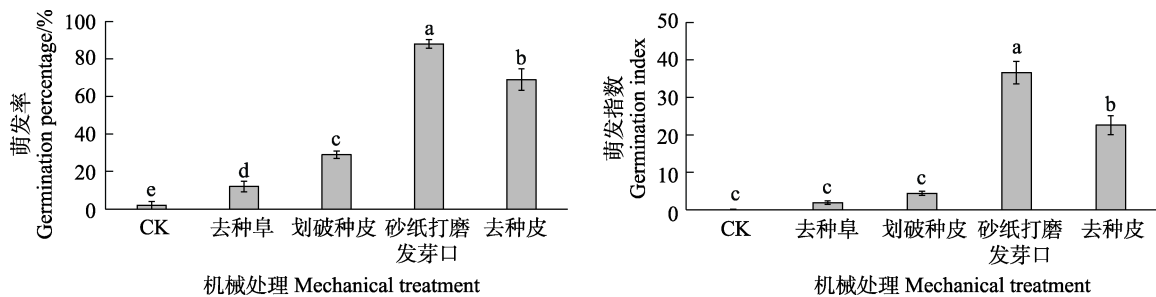
Fig. 3 Effect of caruncle and testa on seed imbibition percentage of *M. esculenta*

为砂纸打磨发芽口 (88%) > 去种皮 (69%) > 划破种皮 (29%) > 去种阜 (12%), 均显著高于 CK (2%) ($P < 0.05$), 其中砂纸打磨发芽口 (36.6) 和去种皮 (22.6) 处理后木薯种子萌发指数显著高于其他处理 ($P < 0.05$), 而去种阜 (1.9) 和划破种皮 (4.4) 处理后木薯种子萌发指数与 CK 组无显著差异 (图 4)。去种皮处理后木薯种子萌发率和萌发指数显著低于砂纸打磨发芽口处理, 可能是由于在去除种皮的过程中易导致种胚损伤,

加之去种皮处理相比砂纸打磨发芽口操作更为繁琐。由此可见, 种皮可能是导致木薯种子休眠或抑制种子萌发的关键因子, 而砂纸打磨发芽口可直接减少胚根伸出的阻力, 从而提高木薯种子萌发率和萌发指数。

2.3.2 湿热处理对木薯种子萌发的影响 湿热处理能够通过改变种皮结构或透性影响种子萌发, 采用不同时间湿热处理 (80 °C) 对木薯种子休眠破除进行探究, 结果如图 5 所示, 相比 CK 组, 5 min 和 10 min 湿热处理能显著提高木薯种子萌发率 (19%和 16%) 和萌发指数 (3.6 和 2.6), 萌发率分别提高 8.5 倍和 7.0 倍, 萌发指数分别提高 3.5 倍和 2.5 倍。而 10 min 湿热处理后, 木薯种子萌发率和萌发指数略低于 5 min 湿热处理, 说明湿热处理提高木薯种子萌发的效果因处理时间而异, 需控制好湿热处理的时间。

2.3.3 冷热循环处理对木薯种子萌发的影响 冷热循环处理引起种子休眠破除的主要原因是由于温度的急剧变化引起种皮开裂, 从而导致种皮透性增加。从图 6 可知, 未处理的种子和砂纸打磨发芽口后的种子经冷热循环处理后, 种子萌发率

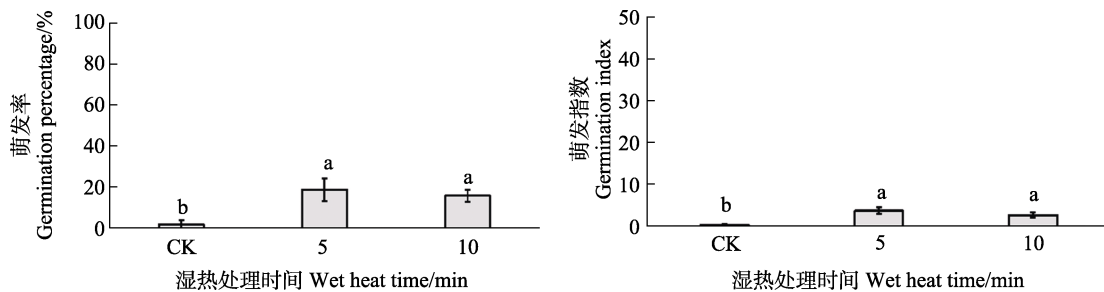


不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 4 机械处理对木薯种子萌发的影响

Fig. 4 Effect of mechanical treatments on seed germination percentage and germination index of *M. esculenta*



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

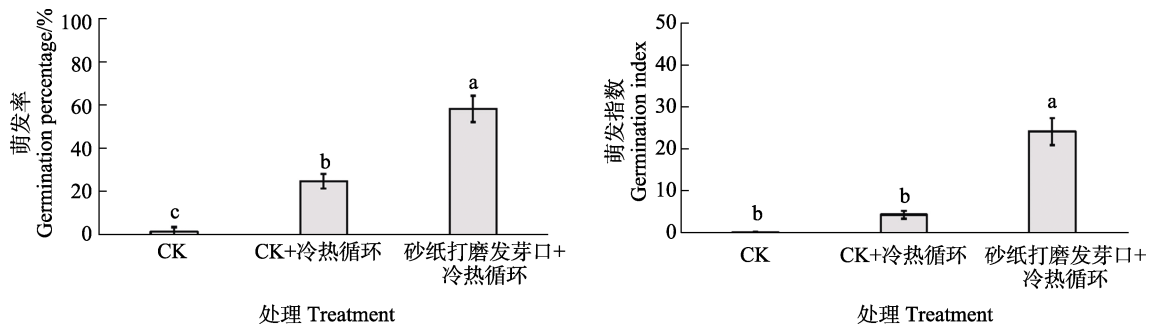
图 5 湿热处理对木薯种子萌发的影响

Fig. 5 Effect of wet heat on seed germination percentage and germination index of *M. esculenta*

和萌发指数均显著提高, 其中砂纸打磨发芽口+冷热循环 2 次处理后, 木薯种子萌发率和萌发指数分别达 58% 和 24.3, 显著高于 CK+冷热循环两次处理后的 (25% 和 4.6) ($P < 0.05$), 说明冷热循环对引起种皮透性改变的程度不如机械处理更直接有效。

2.3.4 赤霉素浸种处理对木薯种子萌发的影响
由图 7 可知, 与 CK 相比, 不同浓度赤霉素浸种处

理后, 木薯种子萌发率和萌发指数无显著差异, 0 (CK)、100、200 mmol/L GA_3 浸种 8 h 处理后种子萌发率分别为 2%、1% 和 2%, 萌发指数分别为 0.9、0.2 和 0.5 (图 7)。可能是由于木薯种皮较为致密 (图 2), 赤霉素虽促进胚生长能力, 但仍不足以突破种皮的机械障碍, 导致其促进萌发作用不显著。

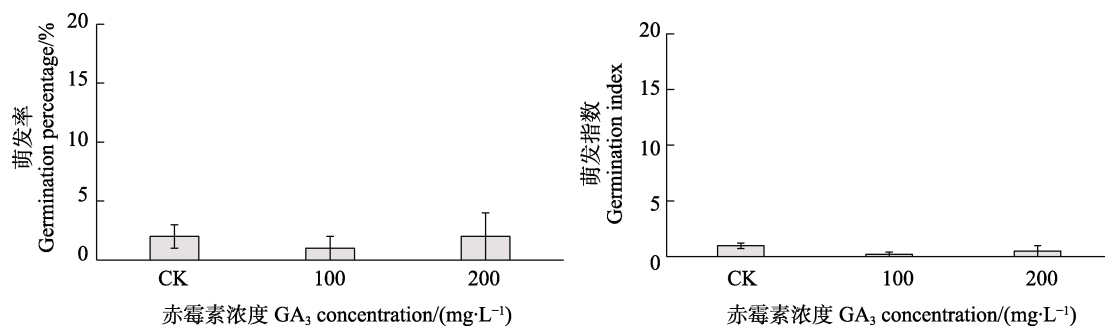


不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 6 冷热循环处理对木薯种子萌发的影响

Fig. 6 Effect of alternating cycles of cold and warm on seed germination percentage and germination index of *M. esculenta*



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 7 赤霉素浸种对木薯种子萌发的影响

Fig. 7 Effect of soaking GA_3 on seed germination percentage and germination index of *M. esculenta*

2.3.5 硝酸钾浸种处理对木薯种子萌发的影响
硝酸钾 (KNO_3) 通过加速细胞代谢、提高营养物质或增强种子内部酶活性打破植物种子休眠, 促进萌发。通过不同浓度硝酸钾浸种处理对木薯种子萌发的影响, 结果发现 4% KNO_3 浸种 8 h 能一定程度提高木薯种子的萌发率和萌发指数, 与 CK 相比, 萌发率由 2% 提高至 9%, 萌发指数由 0.1 提高至 1.8 (图 8)。但是, 整体效果不佳, 可能的原因, 一方面是由于 KNO_3 浓度偏低, 更可能是因为木薯种皮栅栏层结构致密, KNO_3 不易进入种子内部, 导致其不能发挥作用。

2.3.6 综合比较 根据上述不同休眠破除方法效果的比较, 可看出砂纸打磨发芽口、砂纸打磨发

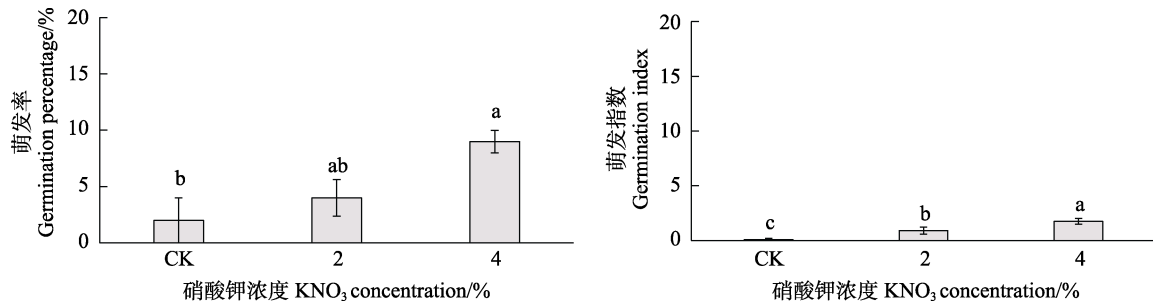
芽口+冷热循环、湿热处理 5 min 和 4% KNO_3 处理后, 木薯种子萌发率和萌发指数均显著高于 CK, 其中砂纸打磨发芽口处理效果最佳, 其次为砂纸打磨发芽口+冷热循环处理, 而湿热处理 5 min 和 4% KNO_3 处理效果不理想 (图 9), 进一步说明种皮是影响种子木薯种子萌发的关键因素, 机械处理砂纸打磨发芽口处理效果佳, 而湿热处理可通过增加种皮的通透性, 一定程度提高木薯种子萌发率。

2.4 休眠破除后木薯种子萌发对温度的响应

最佳休眠破除方法处理后的木薯种子, 萌发率和萌发指数随温度的升高呈先增加后减小的趋势, 其中 30 °C 和 35 °C 条件下, 木薯种子萌发率

分别为 84%和 88%，显著 ($P<0.05$) 高于 25 °C 和 40 °C 条件下的 51%和 0。种子萌发指数则表现为 35 °C (36.6) >30 °C (36.0) >25 °C (14.0) >40 °C

(0)，35 °C 条件下种子萌发指数显著高于其他温度条件下，即萌发速度最快 (图 10)，表明 35 °C 是休眠破除后木薯种子萌发的最适温度。

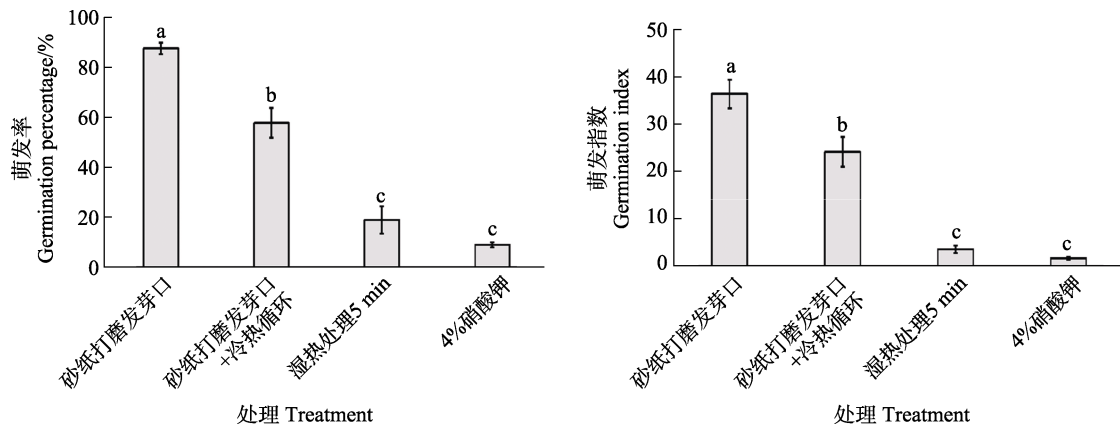


不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 8 硝酸钾浸种对木薯种子萌发的影响

Fig. 8 Effect of soaking KNO₃ on seed germination percentage and germination index of *M. esculenta*

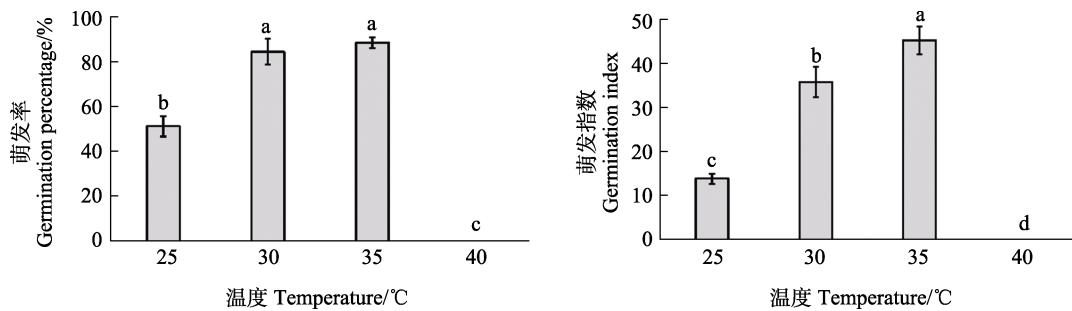


不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 9 不同休眠破除方法对木薯种子萌发的影响

Fig. 9 Effect of different dormancy broken methods on seed germination percentage and germination index of *M. esculenta*



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 10 休眠破除后木薯种子萌发对温度的响应

Fig. 10 Effect of temperature on germination percentage and germination index of *M. esculenta* seeds after dormancy broken

3 讨论

3.1 木薯种子的休眠机制

种子休眠是指具生活力的种子在适宜环境条

件下一定时长不能萌发的现象^[21]。BASKIN 等^[22]在 NIKOLAEVA^[23]对种子休眠划分类型的基础上，将种子休眠划分为物理休眠 (PY)、生理休

眠(PD)、形态休眠(MD)、形态生理休眠(MPD)和复合休眠(PY+PD)。吸水试验结果表明,新收获的木薯种子能够吸水,排除物理休眠和复合休眠;通过对新收获木薯种子形态结构观测,发现木薯种子成熟时种胚是发育完全的,即排除形态休眠和形态生理休眠,最终判定木薯种子存在生理休眠,即由于种胚生长势不足导致其无法顺利穿过种胚包被物而引起的休眠。

BASKIN 等^[21]提出引起种子生理休眠的原因主要有以下几种:(1)种子胚包被物通过减缓吸水、阻碍气体交换或存在抑制物等阻碍种子萌发;(2)种子胚包被物的机械阻碍等;(3)种子胚包被物阻碍内部抑制物质的排出等。本研究结果表明,种阜与种皮虽减缓了木薯种子吸水速率,但并不阻碍种子本身吸水或影响种子萌发的最终吸水量,因此排除第一种可能原因。木薯种子去除种阜后,最终萌发率与对照无显著差异($P>0.05$),表明种阜不是抑制种子萌发或引起种子休眠的原因。郭学民等^[24]对同为大戟科的蓖麻(*Ricinus communis*)种子进行显微结构观察,结果发现,蓖麻种子的发芽口并未被种阜所覆盖,说明种阜不存在诱导生理休眠的可能。木薯种子经冷热循环和湿热处理后,萌发率均显著高于CK,究其原因可能是由于冷热循环和湿热处理增加种皮的通透性,不仅能够减弱种皮的机械阻碍作用,还有利于萌发抑制物的渗出^[25-27]。通过显微结构观察,发现木薯种子种皮栅栏层细胞排列较为致密,可能是引起木薯种子吸水缓慢和阻碍胚根伸出的原因所在。此外,本研究中砂纸打磨发芽口和去种皮处理后的木薯种子萌发率显著高于其他处理,也进一步验证了这一观点。综上所述,种皮的机械阻碍作用及内源抑制物质的存在是引起木薯种子休眠的主要原因,而具体抑制物质的种类及其所在部位尚需进一步探究。

3.2 木薯种子的休眠破除方法

根据 NIKOLAEVA^[28]休眠划分体系,由胚包被物机械阻碍引起的休眠属于机械休眠,由萌发抑制物存在引起的休眠属于化学休眠,其实质均属于 BASKIN 等^[22]休眠划分体系中的生理休眠类型,其表现形式为胚生长势不足,使胚根不易突破种皮束缚。对于此种休眠类型,通常采用机械处理如去种皮、划破种皮、砂纸打磨种皮等,化学处理如 KNO_3 、NaOH、浓硫酸等,激素处理如

赤霉素(GA_3)等,浸种处理、层积处理等方法进行种子休眠破除^[21, 29-32]。研究表明,种皮的机械阻碍和种皮内源抑制物存在是皇后帝王花(*Protea manifica*)种子休眠的可能原因,30 min 酸蚀(98%浓硫酸)处理可有效打破其种子休眠^[20]。郑广进等^[33]研究发现,不同浓度的 HCl、NaOH、 KNO_3 及赤霉素(GA_3)处理均不能有效打破龙爪茅(*Dactyloctenium aegyptium*)种子休眠,是由于种皮的完整性阻碍了 KNO_3 和 GA_3 进入种胚,而摩擦种皮处理后低浓度的 KNO_3 及 GA_3 处理后萌发率显著提高,因而其休眠主要是由种皮对种胚的束缚引起的机械阻碍造成的。与本研究结果类似,砂纸打磨发芽口处理后,木薯种子萌发率达 88%,萌发速率最快(萌发指数达 31),其破除休眠效果均优于其他处理如 KNO_3 和 GA_3 浸种处理,是目前已报道最为有效的休眠破除方法。韦祖生等^[6]研究表明 ddH₂O 和 600 mg/L GA_3 浸泡 36 h 后,华南 5 号木薯种子萌发率由 25%分别提高至 40%和 75%,显著高于本研究中蒸馏水和 GA_3 浸种处理,其原因可能是:(1)二者所选用木薯种质不同,其种皮结构或化学成分存在差异;(2)可能是由于浸种时间存在差异。NWAKO 等^[15]研究结果表明划破处理+冷热循环 2 次处理后,木薯种子萌发率达 64%,与本研究中砂纸打磨发芽口+冷热循环处理结果基本一致,但均显著低于本研究中砂纸打磨发芽口处理,可能是由于砂纸打磨发芽口处理时种皮被不同程度破坏,如若继续进行冷热循环处理容易造成种胚损伤。去种皮处理后的木薯种子萌发率显著低于砂纸打磨发芽口处理,可能也是由于在去种皮的过程中,易造成木薯种子胚或胚乳部分损伤,从而导致部分种子腐烂或死亡。此外,相比对照组,湿热处理和冷热循环能够显著提高木薯种子萌发率,是由于湿热处理能够通过改变种皮透性进而促进种子萌发,与布海丽且姆·阿卜杜热合曼等^[34]对准噶尔无叶豆(*Eremosparton songoricum*)、银沙槐(*Ammodendron bifolium*)和乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)的研究一致,冷热循环处理则是由于温度的急剧变化使种皮既膨胀又收缩改变其透性,进而促进种子萌发,与 TANG 等^[16]对含羞草(*Mimosa pudica*)种子的研究结果一致。与本研究结果相似,上述 4 种植物种子种皮结构均较为致密,胚根不足以突破种皮的束缚进而萌发。

3.3 木薯种子萌发对温度的需求

种子萌发是种子植物生命周期最为关键的阶段,易受温度、光照、水分、盐分、pH、埋深等多种环境因子综合影响^[21]。许多研究表明,温度作为种子萌发最关键的环境信号之一,通过影响种子内部相关酶活性和物质代谢控制种子萌发,温度过高或过低均不利于种子萌发^[35]。一般来说,种子萌发随温度的升高呈先增加后减小的趋势,种子萌发的三基点温度(最低温、最适温和最高温)也证实了这一观点^[36-37]。本研究结果表明,木薯种子萌发率和萌发指数在 25~40 °C 范围内,呈先增加后减小的趋势,与曹敏等^[38]对热带牧草崖州硬皮豆(*Macrotyloma uniflorum* ‘Yazhou’)的研究结果一致。木薯种子萌发最佳温度为 35 °C,此温度条件下萌发率最高且萌发速度最快,与梁振华等^[39]对木薯种子的研究结果基本相似,35 °C 恒温条件下,种子萌发最早,发芽速率最快。此外,本研究发现当木薯种子置于 40 °C 温度条件下培养时,由于萌发温度过高,导致其胚根突破种皮时腐烂进而发霉死亡。因此,35 °C 可作为木薯种子繁育的最佳育苗温度。

综上所述,木薯种子存在生理休眠,种皮的机械阻碍作用及种子内部抑制物质的存在是引起木薯种子休眠的主要原因。砂纸打磨发芽口可有效破除木薯种子休眠,休眠解除后的种子在 35 °C 条件下萌发率最高、萌发速度最快。因此,在实际生产过程中,将木薯种子采用砂纸打磨发芽口处理后在 35 °C 条件下育苗,有利于其后期成功建植,但在操作的过程中,应注意打磨力度,避免因伤害到胚根而影响种子萌发进而形成不正常苗甚至死亡。

参考文献

- [1] 李开绵,林雄,黄洁. 国内外木薯科研发展概况[J]. 热带农业科学, 2001, 89(1): 56-60.
LI K M, LIN X, HUANG J. General situation of cassava scientific research at home and abroad[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2001, 89(1): 56-60. (in Chinese)
- [2] 方佳,濮文辉,张慧坚. 国内外木薯产业发展近况[J]. 中国农学通报, 2010, 26(16): 353-361.
FANG J, PU W H, ZHANG H J. The development status of cassava industry at home and abroad[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(16): 353-361. (in Chinese)
- [3] EI-SHARKAWY M A. Cassava biology and physiology[J]. Plant Molecular Biology, 2004, 56(4): 481-501.
- [4] 严华兵,叶剑秋,李开绵. 中国木薯育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(15): 63-70.
YAN H B, YE J Q, LI K M. Progress of cassava breeding in China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(15): 63-70. (in Chinese)
- [5] 赵水香. 木薯淀粉合成酶基因 *MeSS* 的克隆及序列分析[D]. 广州: 仲恺农业工程学院, 2013.
ZHAO S X. Cloning and sequence analysis of *MeSS* gene from cassava[D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2013. (in Chinese)
- [6] 韦祖生,杨秀娟,付海天,田益农. 木薯种子诱导萌发因子关联分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(18): 89-93.
WEI Z S, YANG X J, FU H T, TIAN Y N. Correlation analysis of cassava seeds induced germination factors[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(18): 89-93. (in Chinese)
- [7] MUMFORD P M, GROUT B W W. Germination and liquid nitrogen storage of cassava seed[J]. Annals of Botany, 1978, 42(177): 255-257.
- [8] ELLIS R H, ROBERTS E H. Germination of stored cassava seed at constant and alternating temperatures[J]. Annals of Botany, 1979(6): 677-684.
- [9] ELLIS R H, HONG T D, ROBERTS E H. The influence of desiccation on cassava seed germination and longevity[J]. Annals of Botany, 1981, 47(1): 173-175.
- [10] MARIN M L, MAFLA G, ROCA W M, WITHERS L A. Cryopreservation of cassava zygotic embryos and whole seeds in liquid nitrogen[J]. Cryo-Letters, 1990, 11(4): 257-264.
- [11] MARTIN F W. Cytogenetics and plant breeding of cassava: a review[J]. Plant Breeding Abst, 1976: 46.
- [12] NARTEY F. *Manihot esculenta* (cassava, tapioca, manioc, mandioca, yuca): cytogenesis, ultrastructure and seed germination[M]. Copenhagen: Munksgaard, 1978: 230-259.
- [13] PUJOL B, GIGOT G, LAURENT G, PINHEIRO-KLUPPEL M, MCKEY D. Germination ecology of cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) in traditional agroecosystems: seed and seedling biology of a vegetatively propagated domesticated plant[J]. Economic Botany, 2002, 56(4): 366-379.
- [14] 韦本辉,甘秀芹,陆柳英,何虎翼,唐秀桦,胡泊,吴延勇,宁秀呈,韦广泼. 广西木薯诱导开花结实及发芽试验研究初报[J]. 南方农业学报, 2009, 40(8): 982-986.
WEI B H, GAN X Q, LU L Y, HE H Y, TANG X H, HU B, WU Y Y, NING X C, WEI G P. Experiment on induction of seed germination, flowering and seed setting in cassava[J]. Journal of Southern Agriculture, 2009, 40(8): 982-986. (in Chinese)

- [15] NWAKO K G, HAMADINA E I. Physiological dormancy in mature cassava (*Manihot esculenta* var Brakpo) seeds[J]. International Journal of Modern Botany, 2020, 10(2): 21-26.
- [16] TANG L, BASKIN C C, BASKIN J M, LUO K, YU X H, HUANG W, ZHANG R, CHEN Y H. Methods of breaking physical dormancy in seeds of the invasive weed *Mimosa pudica* (Fabaceae) and a comparison with 36 other species in the genus[J]. PeerJ, 2022, 10: e13567
- [17] International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing[S]. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2017.
- [18] 李欣勇, 黄迎, 金雪, 刘国道. 碎米莎草种子休眠与萌发特性研究[J]. 热带作物学报, 2021, 42(7): 2001-2007.
LI X Y, HUANG Y, JIN X, LIU G D. Seed dormancy and germination characteristics of *Cyperus iria*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(7): 2001-2007. (in Chinese)
- [19] CHEN D L, CHEN X L, WANG J J, ZHANG Z X, HU X W. Estimation of thermal time model parameters for seed germination in 15 species: the importance of distribution function[J]. Seed Science Research, 2021, 31(2): 83-90.
- [20] 武怀燕, 郭志铭, 山金凤, 陈婕, 吴向崇, 刘子嘉, 祝遵凌. 皇后帝王花种子休眠及解除方法研究[J]. 热带作物学报, 2021, 42(9): 2631-2637.
WU H Y, GUO Z M, SHAN J F, CHEN J, WU X C, LIU Z J, ZHU Z L. Causes of *Protea magnifica* seed dormancy and methods for breaking dormancy[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(9): 2631-2637. (in Chinese)
- [21] BASKIN J M, BASKIN C C. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination[M]. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2014.
- [22] BASKIN J M, BASKIN C C. A classification system for seed dormancy[J]. Seed Science Research, 2004, 14(1): 1-16.
- [23] NIKOLAEVA M G. Factors controlling the seed dormancy pattern//Khan A A. The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination[M]. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1977: 51-74.
- [24] 郭学民, 赵晓曼, 徐珂, 王蕊蕊, 张辰瑜, 东方阳. 蓖麻种子结构的解剖和显微观察[J]. 作物学报, 2020, 46(6): 914-923.
GUO X M, ZHAO X M, XU K, WANG X R, ZHANG C Y, DONGFANG Y. Anatomy and microscopic observation of *Ricinus communis* seed structure[J]. Acta Agronomica Sinica, 2020, 46(6): 914-923. (in Chinese)
- [25] 何学青, 胡小文, 王彦荣. 羊草种子休眠机制及破除方法研究[J]. 西北植物学报, 2010, 30(1): 120-125.
HE X Q, HU X W, WANG Y R. Study on seed dormancy mechanism and breaking technique of *Leymus chinensis*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(1): 120-125. (in Chinese)
- [26] 古瑜, 孙俊, 尤福洋, 韩启厚, 于海龙, 孙德岭. 破除菜豆种子硬实方法初探[J]. 中国农学通报, 2014, 30(1): 221-225.
GU Y, SUN J, YOU F Y, HAN Q H, YU H L, SUN D L. Preliminary exploration of improved germination rate of hard seeds in snap bean[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(1): 221-225. (in Chinese)
- [27] GEISLER G E, PINTO T T, SANTOS M, PAULILO M T S. Seed structures in water uptake, dormancy release, and germination of two tropical forest Fabaceae species with physically dormant seeds[J]. Brazilian Journal of Botany, 2017, 40(1): 67-77.
- [28] NIKOLAEVA M G. Physiology of deep dormancy in seeds (Fiziologiya glubokogo pokoya semyan)[M]. St. Petersburg: Academy of Sciences of the USSR, 1969.
- [29] SRINIVASARAO C, SONI A, DULLOO M E, NAITHANI S C. Overcoming physiological dormancy in *Ceropegia odorata* seeds, an endangered rare species, with GA₃, H₂O₂ and KNO₃[J]. Seed Science & Technology, 2010, 38(2): 341-347.
- [30] HU X W, PAN J, MIN D D, FAN Y, DING X Y, FAN S G, BASKIN C C, BASKIN J M, SMITH R. Seed dormancy and soil seedbank of the invasive weed *Chenopodium hybridum* in north-western China[J]. Weed Research, 2017, 57(1): 54-64.
- [31] BARROS-GALVAO T, VAISTIJ F E, GRAHAM I A. Control of seed coat rupture by ABA-INSENSITIVE 5 in *Arabidopsis thaliana*[J]. Seed Science Research, 2019, 29(2): 1-6.
- [32] 叶清华, 王威, 谢倩, 陈清西. 橄榄种子休眠生理与层积效应[J]. 热带作物学报, 2021, 42(6): 1646-1653.
YE Q H, WANG W, XIE Q, CHEN Q X. Dormancy physiology and stratification effects of Chinese olive [*Canarium album* (Lour.) Raeusch.] seeds[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(6): 1646-1653. (in Chinese)
- [33] 郑广进, 杨彬丽, 韦佩花, 张军, 韦慧娟. 龙爪茅种子休眠解除方法研究[J]. 杂草学报, 2020, 38(1): 31-34.
ZHENG G J, YANG B L, WEI P H, ZHANG J, WEI H X. Seed dormancy breaking methods for *Dactyloctenium aegyptium* (L.) P. Beauv.[J]. Journal of Weed Science, 2020, 38(1): 31-34. (in Chinese)
- [34] 布海丽且姆·阿卜杜热合曼, 刘会良, 张道远, 管开云. 不同温度、水热条件对 3 种植物种子物理休眠解除的影响[J]. 干旱区研究, 2016, 33(3): 525-533.
BUHAILIQIEMU A, LIU H L, ZHANG D Y, GUAN K Y. Effects of different temperature and water-heat conditions on the physical dormancy release of three desert legume spe-

- cies[J]. *Arid Zone Research*, 2016, 33(3): 525-533. (in Chinese)
- [35] 宋兆伟, 郝丽珍, 黄振英, 李娜, 赵清岩. 光照和温度对沙芥和斧翅沙芥植物种子萌发的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(10): 2562-2568.
- SONG Z W, HAO L Z, HUANG Z Y, LI N, ZHAO Q Y. Effects of light and temperature on the germination of *Pugionium cornutum* (L.) Gaern. and *Pugionium dolabratum* Maxim. seeds[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(10): 2562-2568. (in Chinese)
- [36] BEWLEY J D, BRADFORD K J, HILHORST H W M, NONOGAKI H. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*[M]. New York: Springer-Verlag, 2013.
- [37] ZHANG R, LUO K, CHEN D, BASKIN J M, BASKIN C C, WANG Y R, HU X W. Comparison of thermal and hydrotime requirements for seed germination of seven *Stipa* species from cool and warm habitats[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 560714.
- [38] 曹敏, 张瑞, 钟婷, 虞道耿, 陈银华, 骆凯. 几种环境因子对崖州硬皮豆种子萌发的影响[J]. *草业科学*, 2019, 36(12): 3085-3092.
- CAO M, ZHANG R, ZHONG T, YU D G, CHEN Y H, LUO K. Effects of several environmental factors on seed germination of *Macrotyloma uniflorum* 'Yazhou'[J]. *Pratacultural Science*, 2019, 36(12): 3085-3092. (in Chinese)
- [39] 梁振华, 李恒锐, 黎萍, 刘连军, 郭素云, 杨海霞. 不同温度及基质对木薯种子发芽的影响[J]. *种子*, 2018, 37(2): 100-102.
- LIANG Z H, LI H R, LI P, LIU L J, GUO S Y, YANG H X. The influence of different temperature and the matrix of cassava seed germination[J]. *Seed*, 2018, 37(2): 100-102. (in Chinese)