



进展

种子活力测定方法

余波^①, 杜尚广^①, 罗丽萍^②

① 南昌师范学院生物系, 南昌 330000;

② 南昌大学生命科学学院, 南昌 330000

E-mail: yubojie@163.com

收稿日期: 2015-03-25; 接受日期: 2015-05-20

国家自然科学基金(批准号: 31460055)和南昌师范学院科技创新团队项目(批准号: NSTD20143005)资助
10.1360/N052014-00022

种子活力是种子发芽率、幼苗生长潜势、植株抗逆能力和生产潜力的总和. 它能直接反应植株性状的优劣, 是评价种子质量的一项重要指标, 对农业等相关产业的发展意义重大^[1]. 1950 年, 国际种子会议明确区分种子活力和发芽力, 并确定种子活力为种子品质的一个重要指标; 20 世纪 70 年代, 种子活力的研究日益增多, 现已成为种子生理学研究中十分重要的部分. 种子是农业生产最基本的生产资料, 种子质量的提高是保证农业生产高效、高产的重要措施, 直接影响农业的发展^[2]. 高活力的种子具有完全成熟、颗粒饱满和耐贮藏性好等特点, 在种植过程中, 可以表现出抗逆性强, 萌发快速一致, 长势整齐迅速, 能发育成品质优良的幼苗和植株^[3,4]. 因此, 高活力种子具备显著的生长优势和高产潜力, 是现代化农业高效高产的首要条件.

1 种子活力概念

种子活力(seed vigour)是从传统植物生理学发展而来的一门学科分支, 是以植物生理学、生物化学和遗传学为基础的生理学领域的前沿. 它是种子品质判定的重要指标, 与农、林、园艺等生产密切相关, 对农业生产具有十分重要的意义^[5]. 种子研究初期, 由于对种子的认识有限, 往往将种子活力和种子发芽力视为同一概念, 在实践中简单将种子品质的高低

等同于发芽率的大小. 1950 年, 国际种子会议规定, 种子活力和种子发芽力是有很大差别的 2 个概念, 并认为种子活力是评价种子好坏的重要指标. 此后, 种子生理学家从不同角度对种子活力进行研究和阐述. 1977 年, 国际种子检验协会 (International Seed Testing Association, ISTA) 规定: “种子活力是种子或种子批在发芽和幼苗期其内在活力和各种潜力的所有特征的总和, 表现优者为高活力种子, 反之为低活力种子”^[6]. 1980 年, 北美官方种子分析家协会 (North American Association of Official Seed Analysts, AOSA) 将种子活力定义为: “种子活力是指在广泛的田间条件下, 决定种子迅速整齐出苗以及幼苗正常生长的潜力”. 此后, 生理学家进行深入研究, 认为种子活力是对种子综合性能的阐释, 包括很多潜在的表现, 并将种子在田间的生理性状以及储存时的贮藏表现纳入其中^[7].

20 世纪 80 年代初, 中国科学家着手进行种子活力的研究, 此后不断深入, 并取得了一定的进展. 颜启传等人^[8]更加详细地描述种子活力, 认为种子活力是指充分成熟、充实饱满、健康无病虫、完整无损伤、耐贮藏性好的非休眠种子, 在广泛环境条件下, 表现出抗逆性强, 发芽、出苗快速整齐, 茁壮生长, 正常发育, 能长成健壮整齐的、正常的幼苗, 具有实现高产量和品质的潜在能力. 目前, 种子活力已成为一项全面的性能指标, 对种子品质进行检测.

引用格式: 余波, 杜尚广, 罗丽萍. 种子活力测定方法. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 709–713

Yu B, Du S G, Luo L P. Progress in determinations of seed vigor. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 709–713, doi: 10.1360/N052014-00022

2 传统的种子活力测定方法

2.1 幼苗生长测定法

幼苗生长测定法是把种子萌发和幼苗发育过程中生理生化变化作为指标来检测种子活力, 确定各项指标并进行统计, 分辨种子的优劣. 现在已有很多生理指标测定技术被收录到 ISTA 的活力检测手册, 如低温测定、希氏砖粒测定、发芽速率测定、幼苗生长及种苗评定、老化和控制劣变试验等, 但 ISTA 组织的联合试验表明, 幼苗发芽试验存在重复性差及田间活力性能相关性变异大等问题^[9]. 大量研究证明, 萌发率及活力指数等生理指标是可以反映种子萌发速度、幼苗发育潜力和植株品质, 能够成为判定种子活力高低的可信指标^[10,11]. 幼苗发芽试验法比较直观、指标明确, 但通常一次试验需要 6~10 天, 耗时长、操作繁琐.

2.2 电导率测定法

一般情况下, 用去离子水浸泡种子 24 h, 温度为 25℃, 以去离子水为对照, 测定种子浸出液的电导率. 其原理是, 高活力种子细胞膜完整性好, 浸出液中只有少量可溶物浸出, 浸出液的电导率小, 反之则大. 很多实验证明, 种子浸出液电导率和种子活力之间呈明显负相关^[12,13]. 林位夫等人^[14]用橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 种仁测定发现, 电导率和种子发芽率及幼苗生长势存在显著的负相关; 郑林^[15]测定 2 种松树 (*Pinus*) 种子的电导率, 并建立电导率与种子活力之间的模型. 电导率测定法具有使用方便、检测迅速等优点, 已被 ISTA 推荐为大粒豆类种子活力的测定方法^[9], 也有实验表明, 电导率测定法难以准确检测活力太低的种子^[16]. 因此, 电导率并不能作为种子活力评定的唯一指标.

2.3 加速老化试验测定法

加速老化试验是 AOSA 推荐用来研究种子活力的重要方法, 现已广泛应用于世界各地. 此方法起初是用来测定种子耐贮性^[17], 后来被种子学家用于测定种子活力. 其基本原理是将种子置于高温高湿条件下, 高活力种子耐受性强, 发芽能力可保持较高水平, 低活力种子耐受性差, 发芽能力降低. 加速老化试验测定法可以比较准确地检测种子活力, 并且老化箱可用自制老化装置代替, 所以此方法容易推广

应用^[18,19]. 实践表明, 利用加速老化试验可以得到大量老化程度不同的种子, 大大方便了种子活力的研究^[20,21].

2.4 TTC 定量法

氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)是一种氧化态粉末, 呈白色或淡黄色, 可以用来检测种子活力的高低. 其原理是有活性的种胚细胞在呼吸作用过程中产生还原态的氢, TTC 跨膜进入细胞, 与之反应生成红色的 1,3,5-三苯甲臍(1,3,5-Triphenylformazan), 所以种胚变成红色. 一般情况下, 红色越深, 种子活力越高, 根据染色的位置和深浅可以确定种子活力水平. 李晖^[22]利用 TTC 定量法测定高原植物种子活力, 时间较短、简单快捷, 结果可靠、稳定性好. TTC 定量法测定种子活力具有方便快捷、结果重复性好等优点, 已得到国际认可.

2.5 综合分析测定法

实践发现, 利用一种指标难以准确评定种子活力的高低, 所以通常采用多种指标联合评定. 研究表明, 有些生理生化指标和种子活力呈正相关, 如发芽指数、种子中蛋白质含量和可溶性糖含量等^[23], 有些指标与之呈负相关, 如种子内部不饱和脂肪酸、有毒物质(醇类、醛类、酮类、酸类)和芥子碱含量等^[24,25]. 综合多项指标, 可以较为准确地判定种子活力的高低.

3 基于新技术的种子活力测定方法

3.1 近红外光谱技术测定

近红外光谱技术(near infrared spectroscopy, NIR)的原理是有机物的含氢官能团在近红外光(波长 780~2526 nm)作用下吸收能量不同而形成不同的近红外光谱, 通过收集不同种子的光谱信号, 开展物质的定性、定量分析^[26,27]. 近红外光谱技术在国内外已广泛用于种子活力的测定与分析. 韩亮亮等人^[28]使用近红外光谱技术快速无损地测定甜燕麦种子活力, 校正集样本和预测集样本识别正确率都是 100%. 阴佳鸿等人^[29]将近红外光谱技术和化学计量学方法结合测定燕麦种子活力, 结果表明, 当其含水量在一定范围内时, 近红外技术可以准确测定燕麦种子活力的高低. Song 等人^[30]利用近红外光谱技术研究 γ 射线

照射的水稻(*Oryza sativa*)种子, 使用偏最小二乘法建立模型, 实验表明, 近红外光谱技术可以应用于水稻种子活力的快速无损评定. 目前, 近红外光谱技术已成为一种有利的分析手段, 并以快速无损、无需预处理等优点, 广泛应用于农产品、生物医学分析、高分子等领域^[31].

3.2 激光散斑技术测定

激光散斑技术是激光照射在不光滑的物体表面, 散射光发生干涉形成激光散斑, 图像处理得到重要信号. 经过数十年的研究, 散斑计量技术迅速发展并应用于实践, 如电子散斑干涉法、错位散斑干涉法和散斑相关测量法等已成为普遍的检测方法^[32]. 不同活力水平种子的内部成分和含量不同, 高活力种子内部粒子更加活跃, 激光散斑技术能反应种子内部粒子活跃度, 表征种子活力的高低^[33]. 采集的图像经过电耦合元件(charge-coupled device, CCD)摄像机转化成数字信号, 得到种子内部粒子的活跃度, 然后建立模型, 区分出种子的活跃区域和非活跃区域. Moreira 等人^[34]使用激光散斑技术采集玉米种子的散斑图案, 分析饱和度、曝光度、均匀性和对比度等指标, 初步建立种子活力分析的基本方法. 激光散斑技术测定种子活力尚处在实验室研究阶段, 但以快速无损的优势在种子检测的应用中有很大的潜力^[35].

3.3 红外热成像技术测定

红外热成像技术可以很好地反应物体表面热辐射所形成温度场的细微变化, 通过检测这种温度范围和分布变化的红外热成像仪, 能快速收集可见光以外的物体表面温度场信号, 并在显示屏上以灰度差或伪彩色方式描绘信号的分布和变化, 从而使人的视觉范围扩大到红外波段^[36]. 种子萌发过程中产生的代谢热可以反应其新陈代谢水平, 而新陈代谢水平的高低恰是种子活力高低的重要指标, 即种子温度变化与种子活力存在紧密关系, 所以对种子温度信号的捕捉和分析可以用来研究种子活力. 2010 年, Kranne 等人^[37]利用红外热成像仪采集 5 种老化程度不同的豌豆种子在吸水萌发过程中温度变化的信号, 分析每粒种子的 22000 幅图像, 得到其温度变化曲线, 并建立温度变化“指纹库”. 此研究表明, 红外热成像技术能够较好地分析种子在萌发过程中的温度变化, 可用于种子活力的测定.

3.4 PCR 技术检测

在实验的理想条件下, 有的种子发芽率很高、幼苗健壮无病害, 但在田间种植时, 生理表现却很差, 原因是种子携带的病原菌会侵染幼苗或植株, 导致病害及减产, 所以种子健康度是评定种子活力的重要指标. 人们采用田间种植检验法能得到可靠的种子健康度, 但是耗时耗力, 使用 DNA 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术可以有效解决此问题^[38]. 其基本原理是: 待测核酸序列和标记探针具有一定的同源性, 在设定的实验条件下能以碱基互补配对的方式结合成双链, 然后对标记物进行检测. 20 世纪 80 年代 Millus 发明的 PCR 技术, 大大促进了科学技术的发展, 经典的 PCR 技术可用于病原菌的检测, 现已被收录为《国际种子检验规程》(ISTA Rules)的新增方法^[9]. Robene 等人^[39]利用实时定量 PCR 技术检测洋葱种子表面的柑桔溃疡病菌, 结果表明, 此方法可以灵敏地检测病菌、能够作为防止病菌的远距离传播重要方法.

4 展望

对比国内外种子品质检测规程可以发现, 我国仅检测种子纯度、净度、水分含量和发芽率等基本指标, 而种子活力未被列入. 在生产实践中, 以国内使用的标准发芽试验来检测种子质量, 所得结论难以真实预测该种子批在自然条件下的萌芽和幼苗生长情况. 所以, 笔者提议将种子活力定为种子品质评定的必检项目之一.

幼苗发芽试验法和综合分析测定法可以准确地测定种子活力, 但工作量大、周期长; 电导率测定法和 TTC 定量法能够迅速测定种子活力, 但结果受环境影响大、对种子造成损伤. 近红外光谱技术测定种子活力处于初步实验阶段, 主要种子模型特征数据库尚未建立, 无法快速识别种子的特征信息; 激光散斑技术和 PCR 检测技术还停留在实验室研究阶段, 检测模型尚未建立; 红外热成像技术因种子种类众多、结构和外形相异, 很难将实验得到某一种子的参数评定所有种子. 传统种子活力测定方法主要借助人力操作, 步骤繁杂, 工作量大, 周期长, 对种子造成损伤, 导致测试过的种子不能再用于生产. 近红外光谱技术、激光散斑技术、红外热成像技术和 PCR

检测技术等新方法具备简便、不需预处理、无污染、无破坏和成本低等优点, 在测定种子活力的应用上具有很大潜力. 利用新技术建立种子活力的快速、无

损检测方法, 不仅对检测效率和水平的提高起重要作用, 而且对种子生产、育种及质量管理都具有重要意义.

参考文献

- 1 Tai G M, Ba R H. A simple method to determine amino acid leakage and germination capabilities from single radish (*Raphanus sativus* L.) and Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) seeds. Hort Environ Biotechnol, 2013, 54: 249–256
- 2 Bi K, Wang C. Application of laser speckle technology on the detection of agricultural products. Agri Sci Technol, 2011, 12: 1376–1380
- 3 Brits G J, Brown N A C, Calitz F J, et al. Effects of storage under low temperature, room temperature and in the soil on viability and vigour of *Leucospermum cordifolium* (Proteaceae) seeds. S Afr J Bot, 2015, 97: 1–8
- 4 Lorenzo V, Mattia D, Anca M, et al. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. Plant Physiol Biochem, 2012, 60: 196–206
- 5 Guana Y J, Hua J, Wang Z F, et al. Time series regression analysis between changes in kernel size and seed vigor during developmental stage of *sh₂* sweet corn (*Zea mays* L.) seeds. Sci Horti-Amsterdam, 2013, 154: 25–30
- 6 Batlla D, Grundy A, Dent K C, et al. A quantitative analysis of temperature-dependent dormancy changes in *Polygonum aviculare* seeds. Weed Res, 2009, 49: 428–438
- 7 Campbell M R, Sykes J, Glover D V. Classification of single-and double-mutant corn endosperm genotypes by near-infrared transmittance spectroscopy. Cereal Chem, 2000, 77: 774–778
- 8 颜启传, 胡伟民, 宋文坚. 种子活力测定的原理和方法. 北京: 中国农业出版社, 2006
- 9 International Seed Testing Association (ISTA). International rules for seed testing. Bassersdorf: ISTA, 2012
- 10 Sharma A D, Rathore S V S, Srinivasana K, et al. Comparison of various seed priming methods for seed germination, seedling vigour and fruit yield in okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). Sci Horti-Amsterdam, 2014, 165: 75–81
- 11 Wang W Q, Liu S J, Song S Q, et al. Proteomics of seed development, desiccation tolerance, germination and vigor. Plant Physiol Biochem, 2015, 86: 1–5
- 12 Sibelle S D S, Roberval D V, Camila R D S, et al. Electrical conductivity of different common bean seeds genotypes. J Seed Sci, 2012, 35: 216–224
- 13 Jonathan M E, Barbara C F S, Silvia R S S, et al. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. Ind Crop Prod, 2013, 44: 684–690
- 14 林位夫, 曾宪海, 谢贵水, 等. 橡胶树种子电导率特性及其与种子活力的关系. 热带作物学报, 2002, 3: 1–6
- 15 郑林. 林木种子活力的电导法测定. 福建林业科技, 1996, 4: 11–14
- 16 刘春香, 隋铭, 胡畔, 等. 紫外吸收法、电导率法检验大白菜种子活力的研究. 种子, 2013, 7: 18–21
- 17 Delouche J. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed Sci Technol, 1973, 2: 427–452
- 18 Association of Official Seed Analysts (AOSA). Tetrazolium testing handbook. Association of Official Seed Analysts Ithaca, 2005
- 19 Singh P M, Rai M. Storability of onion seeds and effects of packaging and storage conditions on viability and vigour. Sci Horti-Amsterdam, 2006, 110: 1–6
- 20 Mustafa D. Relationships between antioxidant enzymes and physiological variations occur during ageing of pepper seeds. Hort Environ Biotechnol, 2013, 54: 97–102
- 21 Qin P, Kong Z Y, Liao X H, et al. Effects of accelerated aging on physiological and biochemical characteristics of waxy and non-waxy wheat seeds. J NEAU, 2011, 18: 7–12
- 22 李晖. TTC 法在高原植物种子活力测定中的应用. 西藏科技, 2006, 6: 59–61
- 23 张自阳, 朱俊华, 程媛, 等. 不同成熟度小麦种子活力及其与生理性状的相关性研究. 河南农业科学, 2014, 12: 6–9
- 24 吴聚兰, 周小梅, 范玲娟, 等. 人工老化对大豆种子活力和生理生化特性的影响. 中国油料作物学报, 2011, 6: 582–587
- 25 闫慧芳, 夏方山, 毛培胜. 种子老化及活力修复研究进展. 中国农学通报, 2014, 3: 20–26
- 26 Armstrong P. Rapid single-kernel NIR measurement of grain and oil-seed attributes. Appl Eng Agri, 2006, 22: 767
- 27 Lidia E A, Charles R H J. Limitations and current applications of Near Infrared Spectroscopy for single seed analysis. Talanta, 2014, 121: 288–299
- 28 韩亮亮, 毛培胜, 王新国, 等. 近红外光谱技术在燕麦种子活力测定中的应用研究. 红外与毫米波学报, 2008, 2: 86–90

- 29 阴佳鸿, 毛培胜, 黄莺, 等. 不同含水量劣变燕麦种子活力的近红外光谱分析. 红外, 2010, 7: 39–44
- 30 Song L, Wang Q, Wang C Y, et al. Effect of γ -irradiation on rice seed vigor assessed by near-infrared spectroscopy. J Stored Prod Res, 2015, 62: 46–51
- 31 Williams P, Geladi P. Maize kernel hardness classification by near infrared (NIR) hyperspectral imaging and multivariate data analysis. Anal Chim Acta, 2009, 653: 121–130
- 32 吴德新, 沈锡华. 激光散斑无损检测技术的研究. 机电产品开发与创新, 2008, 2: 125–126
- 33 Roberto A B J, Inacio M D F, Flavio M B, et al. Assessment of seed viability by laser speckle techniques. Biosyst Eng, 2003, 86: 287–294
- 34 Moreira J, Cardoso R R, Bragab R A. Quality test protocol to dynamic laser speckle analysis. Opt Laser Eng, 2014, 61: 8–13
- 35 冯能云. 激光散斑信号处理方法研究. 博士学位论文. 武汉: 华中科技大学, 2012. 1–103
- 36 丁晶, 周志尊, 李帅三. 医用红外线热成像技术的物理学原理探析. 中国医疗设备, 2010, 7: 68–70
- 37 Kranner I, Kastberger G, Hartbauer M. Noninvasive diagnosis of seed viability using infrared thermography. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 3913–3917
- 38 云晓敏. 农作物种子健康检测方法浅析. 中国农技推广, 2013, 29: 99–101
- 39 Robene I, Perret M, Jouen E, et al. Development and validation of a real-time quantitative PCR assay to detect *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* from onion seed. J Microbiol Meth, 2015, 114: 78–86