

文章编号: 1005-0906(2007)06-0122-05

不同类型玉米种子活力检测适宜方法的研究

杜清福¹, 贾希海², 律保春², 郭慧杰², 王建华¹

(1. 中国农业大学种子系, 北京 100094; 2. 北京市种子管理站, 北京 100088)

摘要: 以 3 种不同类型(普通玉米、糯玉米、甜玉米)共 6 个品种的玉米种子为试验材料, 采用了标准发芽、电导率测定、TTC 定量测定、丙二醛含量测定活力检测方法, 对人工老化获得的不同类型玉米不同活力水平的种子进行了各项活力指标的测定, 以确定不同类型玉米种子活力检测的适宜指标和方法。结果表明: 普通玉米种子活力检测的适宜方法为标准发芽试验、电导率测定试验; 糯玉米种子活力检测的适宜方法为标准发芽试验、丙二醛含量测定试验; 甜玉米种子活力检测的适宜方法为标准发芽试验、电导率测定试验。

关键词: 玉米; 种子活力; 检测方法

中图分类号: S513

文献标识码: A

Study on the Fitting Vigor Testing Methods of Different Types Maize

DU Qing-fu¹, JIA Xi-hai², LU Bao-chun², GUO Hui-jie², WANG Jian-hua¹

(1. Seed Department of Agricultural University, Beijing 100094;

2. Beijing seed management station, Beijing 100088, China)

Abstract: This research was conducted with three different types maize (Normal maize, Waxy maize, Sweet maize) to a total of six varieties of maize seed, with different vigor testing methods of standard germination test, electrical conductivity test, TTC test, MDA content test, we tested some vigor indexes of different types maize by the artificial ageing test to confirm the fitting vigor testing indexes and methods of different types maize. The results showed that the fitting vigor testing methods of normal maize is the standard germination test, electrical conductivity test; The fitting vigor testing methods of waxy maize is the standard germination test, MDA content test; The fitting vigor testing methods of sweet maize is the standard germination test, electrical conductivity test.

Key words: Maize; Seed vigor; Vigor testing methods

种子活力是种子质量的重要指标, 高活力种子具有明显的生长优势和生产潜力, 对农业生产具有十分重要的意义。虽然种子活力是种子质量检验的重要指标, 但是直接在田间进行测定不仅麻烦, 而且田间环境错综复杂, 同一时间不同地区或同一地区不同时间测定的结果往往不同。

种子活力室内测定方法国际种子检验协会推荐的主要有: 发芽测定、抗冷测定、加速老化试验、电导率测定和酶活性测定等。发芽测定主要是根据幼苗

生长快慢、幼苗生长健壮与否、苗株的高矮、大小和轻重等生长特性, 来评定种子的活力。抗冷测定首先用于玉米种子活力测定, 其测定结果与早春播种后的实际田间出苗率相符, 随后抗冷测定结果被用于鉴定玉米种子批间及品种间对低温和土壤真菌侵袭的抗性, 筛选耐低温和抗病品系。但该方法所需时间较长、发芽试验条件要求严格, 在实际应用中受到一定的限制。人工加速老化的方法能在较短的时间内得知种子的老化速度, 从而预测出种子的抗老化能力。电导率测定是通过测定玉米种子浸出物的电导度来预测种子的活力水平。种子在水中浸泡一段时间后, 种子可溶性物质或电解质水通过细胞膜外渗。渗漏越多, 细胞膜的完整性越低, 浸泡液的电导性就越高, 种子活力越低。一般情况下, 种子老化、受机械伤害、受冻害、未成熟等情况下, 细胞膜的完整性差, 渗漏严重, 电导率就高。因此, 电导率数值越大, 种子

收稿日期: 2007-03-08

基金项目: 北京市科技计划项目(D0705006040191)

作者简介: 杜清福(1979-), 男, 在读硕士, 从事玉米种子活力研究。

Tel: 010-62732263 E-mail: dqingfu@yahoo.com.cn

王建华为本文通讯作者。Tel: 010-62732263

E-mail: wangjh63@cau.edu.cn

活力就越低。例如玉米种子吸胀 6 h,用电导法即能预测其 0~90%的活力^[1]。许多研究结果指出,每克种子的电导率与种子的发芽率和田间出苗率有很好的-一致性^[2],也有一些研究结果反之^[3]。脱氢酶活性测定是利用氧化态无色 TTC,在接受活种子呼吸过程中脱氢酶产生的氢,会变成还原态的红色的 TTCH。TTCH 含量越高,则表明脱氢酶的活性越强。有实验证明,种子脱氢酶的活性强弱,或者说脱氢作用过程的快慢与种子本身的活力强弱呈正相关^[4]。但 TTC 测定方法操作要求较高。

虽然研究玉米种子活力检测的方法很多,但系统研究不同类型玉米种子活力检测适宜方法的报道却极少。同时对于不同类型的玉米品种,由于其本身的化学成分不同,影响种子活力的构成因素也不同,因此有必要针对不同类型玉米种子采用不同的活力检测方法。

本研究拟针对生产中常见的 3 种类型玉米种子,通过人工老化试验,得到不同活力水平的种子,在进行标准发芽试验、电导率测定试验、TTC 定量测定试验及丙二醛含量测定试验的基础上测定各项活力指标、研究不同类型玉米适宜活力检测指标与方法,同时进一步进行田间出苗率测定,将室内测定活力指标与田间出苗率综合分析其相关性,推测不同类型玉米种子活力检测的适宜方法,为各类型玉米种子质量控制中的活力检测提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为 3 种不同类型(普通玉米、糯玉米、甜玉米)共 6 个品种的玉米种子。由北京市种子管理站提供。

对供试材料进行人工加速老化试验,得到不同活力水平的试验材料。

表 1 供试材料
Table 1 Experimental materials

类 型 Types	品 种 Varieties	遗传类型 Genetic types	产 地 Habitats
普通玉米	郑单 958	马齿型	河北
	唐抗 5	硬粒型	北京密云
糯玉米	中糯 1 号	糯质型	河北张家口
	中糯 302		密云冯家峪镇
甜玉米	甜单 8 号	甜质型	密云冯家峪镇
	昌甜 100		昌平马池口

注:检测时间为 2005 年 10 月。Note: Detection time in October 2005.

自然老化种子为同一种子批供试材料在室温下放置 15 个月(2005 年 10 月至 2007 年 1 月)。

1.2 试验方法

1.2.1 人工加速老化试验

设置 45℃温度梯度(相对湿度为 100%),CK、48、72、96、120 h 分 5 个时间梯度对试验材料进行人工加速老化试验。老化盒内加入 200 mL 蒸馏水,使水面距筛面约 2 cm,然后平铺一层种子于筛网上,密封、标记后按处理批放置在恒温恒湿箱中。试验材料处理完毕后,在室温下放置 3~5 d,使其种子含水量降低到老化前的标准。然后通过标准发芽试验、电导率测定试验、TTC 定量测定试验以及丙二醛含量测定试验,进行各指标的测定。

1.2.2 标准发芽试验(砂中发芽法)

将用于试验的砂子进行筛选去除有机物、碎石等杂质,清洗后放入烘箱内 160℃烘干灭菌 3 h,备用。每个品种随机选取 400 粒种子,用 0.5%的次氯酸钠溶液浸泡 5 min 后,用蒸馏水清洗 3 遍。按照农作物种子检验规程 GB/T3543.4-1995,到第 7 天为止。每个重复选取有代表性的 10 株幼苗,测量其苗鲜重。

发芽势:发芽初期第 4 天的发芽率。

发芽率:发芽终期第 7 天的发芽率。

发芽指数: $GI=\sum Gt/Dt$, Gt : 第 t 天的发芽率; Dt : 发芽天数。

活力指数: $VI=GI\times S$, S : 10 株苗鲜重的平均值。

1.2.3 电导率测定试验

每个品种设 4 个重复,每个重复从颗粒饱满、大小均匀、无破损的玉米种子中随机选取 50 粒种子。种子经自来水冲洗,蒸馏水洗后,滤纸吸干,放入烧杯中加蒸馏水 250 mL,于室温下浸泡 24 h。蒸馏水作对照。用 DDS-12A 型电导仪测定浸出液和对照的电导率,然后将试样电导率减去对照电导率。按以下公式计算样品电导率值:

电导率 = [(试样 1 的值 / 试样 1 的种子质量 + 试样 2 的值 / 试样 2 的种子质量 + 试样 3 的值 / 试样 3 的种子质量 + 试样 4 的值 / 试样 4 的种子质量)]/4

1.2.4 TTC 定量测定试验

参照胡晋(1986)TTC 改进法^[5],将玉米种子样品浸泡 24 h,剥下种胚,4 个重复,每个重复 10 个完整胚。将胚放入到具塞试管中,加入 0.1% TTC 溶液 10 mL 摇匀,盖上塞子,置 35℃温箱(黑暗)中染色 3 h。终止反应后用蒸馏水冲洗 3 次,取出滤干后移入

试管中,加入 10 mL 95%酒精于 35℃的温箱中浸提 24 h,使用 722 型光栅分光光度计测定其在 490 nm 的 OD 值。

1.2.5 丙二醛(MDA)含量测定试验

参照许长城^[6]、黄学林^[7](1990)双组分分光光度计法。称取吸胀 24 h 的种胚约 0.4 g,加入 10 mL 10%的三氯乙酸研磨,匀浆 6 000 r/min 离心 10 min。取上清液 2 mL(对照为 2 mL 蒸馏水),加入 2 mL 0.6%硫代巴比妥酸 (10%三氯乙酸配制)100℃反应 15 min,迅速放入冰浴中终止反应,冷却混匀后,分别在 450 nm、532 nm、600 nm 处测定吸光值,按下面公式计算丙二醛的含量。

$$C(MDA)(\mu\text{mol/L})=6.45(OD_{532\text{nm}}-OD_{600\text{nm}})-0.56OD_{450\text{nm}}$$

$$C(MDA)(\mu\text{mol/g})=C(MDA) \times \text{提取液体积} / \text{植物鲜重}$$

1.2.6 田间试验

将人工老化后得到的不同活力水平的种子进行田间种植试验,每个处理 4 个重复,每个重复 100 粒。从出苗开始,每天记录出苗数至第 7 天结束。

1.3 数据统计处理方法

使用 SAS 8.0 及 Excel 对试验数据进行方差分析及相关性分析。

2 结果与分析

2.1 人工老化不同处理时间对不同类型玉米种子发芽率的影响

随着人工老化处理时间的延长,各类型玉米种子的发芽率均呈降低趋势。但不同类型的玉米品种,由于其本身的化学成分不同,对人工老化的反映也不同。普通玉米对照组的种子发芽率为 97.0%,经过 120 h 的人工加速老化处理后,其发芽率降低为 74.3%,降幅达 23.5%;糯玉米对照组的种子发芽率为 95.0%,经过 120 h 的人工加速老化处理后,其发芽率降低为 55.3%,降幅达 41.8%;甜玉米对照组种子的发芽率为 91.8%,经过 120 h 的人工加速老化处理后,其发芽率急剧降低为 45.0%,降幅达 51.0%。发芽率降幅最大的为甜玉米,其次为糯玉米,普通玉米发芽率的降幅最小。

表 2 不同类型玉米在人工老化不同时间处理下的发芽率
Table 2 Germination percentage of different types maize in the different times

处理(h)	普通玉米	Normal maize	糯玉米	Waxy maize	甜玉米	Sweet maize
Treatments	郑单 958	唐抗 5	中糯 1 号	中糯 302	甜单 8 号	昌甜 100
CK	98.0 a A	96.0 a A	94.0 a A	96.0 a A	92.5 a A	91.0 a A
48	96.5 a A	93.0 a AB	92.5 a A	93.5 ab A	86.5 ab AB	85.5 ab AB
72	95.0 a A	89.5 ab AB	86.0 a A	92.0 ab A	82.5 bc AB	73.0 bc AB
96	81.0 b B	83.0 b B	71.5 b B	86.0 b A	74.5 c B	68.0 c B
120	79.5 b B	69.0 c C	47.5 c C	63.0 c B	40.5 d C	49.5 d C

注:表中数值后大小写字母分别表示在 0.01、0.05 水平上显著。
Note: Capital and lowercase letters after value in the table was expressed 0.01 and 0.05 significant level.

2.2 不同类型玉米活力测定指标与标准发芽试验发芽率的相关性分析

表 3 不同类型玉米活力测定指标与标准发芽试验发芽率的相关性分析
Table 3 Analysis between the vigor indexes and standard germination percentage of the different types maize

活力指标	Vigor indexes	普通玉米	Normal maize	糯玉米	Waxy maize	甜玉米	Sweet maize
发芽率		1		1		1	
发芽势		0.975**		0.932**		0.916**	
发芽指数		0.935**		0.905**		0.903**	
苗鲜重		0.739**		0.749**		0.792**	
活力指数		0.864**		0.894**		0.884**	
电导率		-0.436**		-0.501**		-0.702**	
脱氢酶活性(OD _{490nm})		0.084		0.318**		0.660**	
丙二醛含量		0.421**		-0.663**		-0.491**	

注:*表示显著,**表示极显著。下表同。
Note: *means reach significant.**means reach extreme significant. The same as the following tables.

由表 3 可以看出,3 种类型玉米种子的标准发芽试验的发芽势、发芽指数、苗鲜重、活力指数 4 个测定指标与发芽率均存在极显著正相关关系。

此外,普通玉米电导率与发芽率呈极显著负相关,丙二醛含量与发芽率也达到了极显著正相关。而脱氢酶活性与发芽率的相关性不显著。

糯玉米电导率、丙二醛含量与发芽率达到了极显著负相关,脱氢酶活性与发芽率达到了显著正相关。

甜玉米电导率、丙二醛含量与发芽率达到了极显著负相关,脱氢酶活性与发芽率达到了极显著正相关。

通过各活力指标与室内标准发芽试验的发芽率的相关性分析结果可知,标准发芽试验、电导率测定可作为普通玉米种子活力检测的适宜方法;标准发芽试验、电导率、丙二醛含量、TTC 定量测定可作为糯玉米种子活力检测的适宜方法;甜玉米种子活力检测适宜方法为标准发芽试验、电导率测定、TTC 定量测定和丙二醛含量测定。

2.3 不同类型玉米各活力检测指标与田间出苗率的相关性分析

表 4 不同类型玉米种子田间出苗率与室内测定指标的相关性分析
Table 4 Correlation analysis between the field germination percentage and the indoor testing indexes of the different types maize

活力指标 Vigor indexes	普通玉米 Normal maize	糯玉米 Waxy maize	甜玉米 Sweet maize
田间出苗率	1	1	1
室内发芽率	0.589**	0.674**	0.706**
发芽势	0.615**	0.817**	0.704**
发芽指数	0.540**	0.749**	0.669**
苗鲜重	0.672**	0.562**	0.715**
活力指数	0.667**	0.777**	0.740**
电导率	-0.756**	-0.203	-0.499**
脱氢酶活性(OD _{490nm})	0.556**	0.442**	0.465**
丙二醛含量	0.715**	-0.508**	-0.440**

由表 4 可以看出,3 种类型玉米种子的田间出苗率与室内发芽率均达到了极显著正相关。在普通玉米中,电导率与田间出苗率呈极显著负相关,丙二醛含量、脱氢酶活性与田间出苗率也达到了极显著正相关。其他测定指标与田间出苗率均达到了极显著正相关。

糯玉米电导率与田间出苗率的相关性不显著,丙二醛含量与田间出苗率达到了极显著负相关,脱氢酶活性与田间出苗率达到了显著正相关,其他测

定指标与田间出苗率均达到了极显著正相关。

甜玉米电导率、丙二醛含量与田间出苗率达到了极显著和显著负相关。其他测定指标与田间出苗率均达到了极显著正相关。

通过分析不同类型玉米种子的田间出苗率与室内各活力测定方法指标的相关性,发芽势、发芽指数、苗鲜重、活力指数、电导率、脱氢酶活性可以作为普通玉米种子活力检测的适宜指标,相应的适宜检测方法为室内标准发芽试验、电导率测定、TTC 定量测定;发芽势、发芽指数、苗鲜重、活力指数、脱氢酶活性、丙二醛含量可作为糯玉米种子活力检测适宜指标,相应的适宜检测方法为标准发芽试验、TTC 定量测定和丙二醛含量测定;甜玉米种子活力检测适宜指标为发芽势、发芽指数、苗鲜重、活力指数、电导率、脱氢酶活性、丙二醛含量,相应的适宜检测方法为标准发芽试验、电导率测定、TTC 定量测定和丙二醛含量测定。

2.4 自然老化玉米种子活力检测指标与田间出苗率的相关性研究

表 5 自然老化玉米种子各活力指标与田间出苗率的相关性分析
Table 5 Correlation analysis between the vigor indexes and the field germination percentage of the natural ageing maize

活力指标 Vigor indexes	普通玉米 Normal maize	糯玉米 Waxy maize	甜玉米 Sweet maize
田间出苗率	1	1	1
发芽势	0.648**	0.897**	0.708**
发芽指数	0.168	0.063	0.572*
苗鲜重	0.501*	0.498*	0.532*
活力指数	0.497*	0.562*	0.498*
电导率	-0.502*	-0.406	-0.501*
脱氢酶活性(OD _{490nm})	0.132	-0.533*	-0.229
丙二醛含量	0.220	-0.499*	-0.014

由表 5 可以看出,3 种类型玉米种子的标准发芽试验的发芽势与田间出苗率均存在极显著正相关关系。

此外,普通玉米的苗鲜重、活力指数与田间出苗率呈显著正相关。电导率与田间出苗率呈显著负相关。而发芽指数、脱氢酶活性、丙二醛含量 3 个活力测定指标与田间出苗率的相关性不显著。

糯玉米脱氢酶活性、丙二醛含量与田间出苗率达到了显著负相关,苗鲜重、活力指数与田间出苗率达到了显著正相关。而发芽指数、电导率与田间出苗率的相关性不显著。

甜玉米电导率与田间出苗率达到了显著负相关,发芽指数、苗鲜重、活力指数与田间出苗率达到了显著正相关。而脱氢酶活性、丙二醛含量与田间出苗率的相关性不显著。

通过分析自然老化不同类型玉米种子的田间出苗率与室内各活力测定方法指标的相关性,发芽势、苗鲜重、活力指数、电导率可以作为普通玉米种子活力检测的适宜指标,相应的适宜检测方法为室内标准发芽试验、电导率测定;发芽势、苗鲜重、活力指数、丙二醛含量可作为糯玉米种子活力检测适宜指标,相应的适宜检测方法为标准发芽试验、丙二醛含量测定;甜玉米种子活力检测适宜指标为发芽势、发芽指数、苗鲜重、活力指数、电导率,相应的适宜检测方法为标准发芽试验、电导率测定。

这与利用人工老化种子获得的不同类型玉米种子活力检测适宜方法的结论是一致的。

3 讨论

本研究活力检测适宜方法是在人工老化种子的基础上得到的,通过对自然老化的种子进行进一步的活力检测适宜方法的研究验证,利用人工老化种子获得的不同类型玉米种子活力检测适宜方法是可行的。普通玉米种子活力检测的适宜方法为标准发芽试验、电导率测定试验;糯玉米种子活力检测的适宜方法为标准发芽试验、丙二醛含量测定试验;甜玉米种子活力检测的适宜方法为标准发芽试验、电导率测定试验。但是本研究只有一个自然老化水平的种子,由于时间限制未能获得同一种子批不同年份和不同活力水平的自然老化种子。在糯玉米的研究中,自然老化种子的活力指标脱氢酶活性与发芽率虽然达到了显著相关,但是由于受实验材料的限制,数据变异较大,属于负相关,所以脱氢酶活性是否可用于糯玉米种子活力检测还需进一步研究。

丙二醛是细胞膜脂过氧化作用的产物,它的产生能加剧细胞膜的损伤。丙二醛数量的多少能够代表膜质过氧化的程度,也间接反映种子抗氧化能力的强弱^[8],丙二醛与发芽率呈负相关关系。但在本研

究中,普通玉米的丙二醛含量与发芽率呈正相关关系。这可能与普通玉米种子本身所含营养成分及生理代谢活动能够抑制细胞膜脂的过氧化,降低并修复丙二醛对细胞膜的损伤有关。

不同类型的玉米由于其基因型的不同,因而其活力检测适宜的方法也是不同的,本研究也证实了这一点。但是对于特用玉米超甜、加强甜和普甜的种子间活力差异较大^[9,10],因此对于甜玉米还需要进一步研究不同基因型甜玉米活力测定的适宜方法。在实际种子活力检验工作中,应该针对不同类型的玉米采取不同的活力检测方法,注重选择经济、快速、重复性好,较标准发芽试验敏感、结果容易解释以及与田间出苗或种子耐贮藏密切相关的方法。

参考文献:

- [1] Davidson KGV, Moore FD, Roos E E, et al. Comparison of seed-quality indices resulting from single-seed elechoconductivity measurements [J]. Hort Sci, 1994, 29: 1158-1163.
- [2] Siddique M A, Goodwin P B. Conductivity measurements on single seeds to predict the gemtinability of French beans[J]. Seed Sci & Technol 1985, 13: 643-652.
- [3] Hepburn H A, Powell AA, Matthews S. Problems associated with the routine application of electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination testing of peas and soybeans[J]. Seed Sci. & Technol., 1980, 5: 56-66.
- [4] 郑光华,等. 吡啶核苷酸对杨树种子脱氢酶活性消失的恢复作用[J]. 植物学报, (年?), 12(4): 325-332.
- [5] 胡晋. 对种子活力测定方法——TTC 定量法的修进[J]. 种子, 1986(5): 71-72.
- [6] 赵世杰,许长城,邹琦,等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207-210.
- [7] 黄学林,等. 种子生理实验手册[M]. 北京: 农业出版社, 1990.
- [8] 王爱国,邵从本,罗广华. 丙二醛作为植物脂质过氧化指标的探讨[J]. 植物生理学通讯, 1986(2): 55-57.
- [9] Luther Waters, Jr. and Blanchette B L. 1983. Prediction of sweet corn field emergence by conductivity and cold tests[J]. Journal of American Horticulture Science, 108(5): 778-781.
- [10] Wilson D O., Jr, Alleyne, J.C., Shafii, B., Krishna Mohan, S. 1992. Combining vigor test results for prediction of final stand of shrunk-en-2 sweet corn seed[J]. Crop science, 32(6): 1496-1502.

(责任编辑:朱玉芹)