

活力测定手册

国际种子检验协会
活力测定委员会主席
D A . 佩里主编

徐迎译 范平、毕辛华、叶常丰校

一九八二年

前 言

活力测定委员会是国际种子检验协会(ISTA)于1950年建立的一个技术委员会。在几位主席的指导下,其成员讨论了种子活力的定义和范围,并对各种类型种子的活力测定方法进行了系统试验,与此同时,广大种子分析家和农学家们对种子田间成苗的影响及对高效简便的测定方法的探求发生了兴趣。作为过去工作中精华的总结和对外界需求的反应,本手册收集了几种已经发展的并证明与田间成苗有关的各类种子活力测定方法的细节。其中每章都由创立这种测定方法的研究成员或对该法的应用具有丰富的实践经验的人员所撰写。由于活力测定技术尚处于发展初期,本书应看作初版。今后它将为技术知识和技术标准化的积累所代替。

活力测定手册

国际种子检验协会,活力测定委员会主席 DA. 佩里主编

目 录

1. 序言.....(1)
2. 活力测定的方法和应用.....(4)
3. 幼苗生长和幼苗评定试验.....(5)
4. 希尔特纳试验.....(13)
5. 低温试验.....(19)
6. 电导率测定.....(29)
7. 加速老化试验.....(34)
8. 人工变质试验.....(40)
9. 局部解剖四唑测定.....(50)
- 10 糊粉层四唑测定.....(55)
- 后记.....(58)

1. 序 言

种子检验的目的是向种植者提供种子的种用价值及在贸易中对种子质量提出公平合理的保证。种子活力(viability)是种子质量的重要组成部分,是当发芽试验方法已经改进而达到高水平的重演性和可靠性。检验站内和检验站之间检验结果的一致对国际贸易是很重要的。为了达到这一结果最好将种子放在最适条件下发芽,不同的种子要求不同的最适条件,如不符合它的最适条件就会导致发芽率的变异,特别是对质量较差的种子。胚根的生长常用来作为发芽的生理标准,但从种子检验角度来看仅以这点作为发芽标准是不够的,因为,发芽后的幼苗可能出现畸形并在田间不能长成正常的植株。因此,在国际种子检验的规程(Anon,1976)中,种子发芽必须达到能做出幼苗判断的水平。不正常的幼苗,即有部分损伤、腐烂或残缺的幼苗不能最终列入发芽率。在幼苗鉴定手册中(Wellington 韦林顿,1970)对于一般作物的正常与不正常的幼苗已经作了详细的描述和说明。这样,解决了最适条件下试验发芽和播种质量之间的矛盾,但这仅指种子播于适宜的土壤条件时,在田间很少存在发芽检验的最适条件,即使温度、水分和通气都适宜,还有覆盖的土壤层所施加的机械压力、土壤微生物和各种动物的干扰。因此,田间出苗率常常小于发芽率,而且也常受到周围条件的影响而发生变化。

诺伯(Nobbe,1876)承认个别种子特性,如发芽和幼苗生长速度,在一批种子内部有变化,且不同种子批的平均数也

常常是不同的。他给这一现象取名为Trickkraft(产生力)，字义上为推动力driving force。同时这一现象在英国有不同的名称，如发芽能力(germinationenergy)和活力(Vitality)等，近年主要采用“种子活力”(Seed Vigour)这一术语。

在现代种子检验法发展期间，美国和欧洲的分析人员的发芽结果互有误差。因为前者倾向于把发芽和种子田间出苗相联系，而后者，为了寻求一致性在无机的发芽床上做试验常常产生较高的结果。不管怎样，1950年国际种子检验协会(ISTA)的会议上就发芽试验提出，一般应在无机发芽床上进行，取得了一致意见，并将与土壤中试验结果相同的任何试验称为“幼苗活力测定”(Fnanck 弗兰克，1950)。为了明确和研究种子活力的特性，会议组成了生物化学和幼苗活力测定委员会。由于这一术语被应用于许多种子的不同特性，其差异之大就像酶的活性和田间出苗率一样，所以，活力测定委员会直到1977年才对定义取得了一致意见。它不像发芽那样是一项单一的质量标准，而是描述若干特征的概念。它们都与种子发芽或发芽后幼苗的各个方面相联系。因此，必须有一个概括的基本定义。下面就是由1977年的国际种子检验协会代表大会(Perry 佩里，1978)通过的定义：

“种子活力是决定种子和种子批在发芽和出苗期间的活性强度和那些种子特性的综合表现。良好的种子称为高活力种子，表现差的种子称为低活力种子。”

定义说明了由于不同种子活力引起变化的各方面特性的表现详述如下：

- 1) 发芽期间的一系列生物化学变化及反应例如酶的反应和呼吸强度。
- 2) 种子发芽和幼苗生长的速度和整齐度。

- 3) 田间出苗、生长的速度和整齐度。
- 4) 在不良环境条件下种子的出苗能力。活力强度可持续影响植株的生长，作物的整齐度及产量。

影响活力的原因是多种多样的为了进一步说明活力的概念，将通常已了解的影响活力强度的因素例举如下。

- 1) 遗传因素。
- 2) 环境及母株的营养。
- 3) 收获时的成熟阶段。
- 4) 种子的大小，重量或比重。
- 5) 机械损伤度。
- 6) 变质和衰老。
- 7) 病源。

在实验室测定中，种子休眠会使种子批的潜在活力模糊不清。但如果出苗并不是受田间播种的影响，就不应作为活力的一个组成部分。

虽然这个定义包括了若干可能受活力强度影响的生物化学过程，这一名词最适用于描述田间环境下种子批特性能的比较。

一个已知播种量的田间出苗率普遍被认为是受种子活力支配的特性。它常能反映种子对不利土壤条件的忍耐程度，即高活力种子批的田间出苗率比低活力种子批的出苗率高。发芽和出苗的速度及整齐度也包含在活力特性之中。其中抗逆性特别重要，例如在移栽幼苗的特殊生长阶段。低活力的种子其平均发芽速度通常较慢，而且各个体间发芽速度的差异比高活力的种子大。早期幼苗生长速度快是高活力种子的另一个特性，有时这个特性持续时间较长可以使作物产量提高。但这不是绝对的，因为生长季节中环境因素会影响限制

最初的有利条件。

所有这些表现特性在现代作物学中十分重要，高活力的种子是许多作物机耕极为需要的。

2. 活力测定的方法和应用

活力测定应提供能重演的结果，在某些情况下，它与田间出苗的关系比发芽试验关系更为密切，已经创立的几种方法大致可分为直接测定和间接测定。

直接测定是在实验室可控制的条件下，利用可以降低田间出苗率的恶劣因素。玉米(zea mays)低温试验是一个很好的例子。在有病菌的大田土壤中低温能诱发种子的损伤。田间土壤不管有无温度、湿度等不良因素的存在，都已用于多种作物的田间出苗能力试验。单一的恶劣因素，在某种情况下具有限制作用，例如低温，缺氧或低湿度可用于实验室发芽试验。希尔特纳Hiltner test测定是另一种直接测定。在该试验中，无菌的沙粒对幼苗出土将有一个机械抑制力。直接的逆境试验特别是那些需要田间土壤的试验，在试验站之间难以统一标准，而且比发芽试验有更多的变化。

间接测定法是指那些在试验室里测定与田间出苗力相关的种子特性的试验，最早的间接测定法之一是测量发芽率，它可以用发芽试验的初次算法来评价。由于初次算法难于标准化，结果落得名声狼藉。但是，如果仔细控制条件，它可以提供某些作物种用价值的指标。还有一种方法是通过测量经一定时间生长后的幼苗，得出幼苗生长率。豌豆电导率测定是另一种间接测定法，是测定经过24小时浸种后渗入水中的电解质的数量与出苗的相关。相类似的，经过高温高

湿处理引起迅速变质后存活下来的种子的比率也可能与出苗相关。最后，种子浸入氯化三苯基四唑溶液中，凡显示出坏死组织的，其种用价值就差。坏死组织的部位和范围是与种用价值有关的。

一个已知田间播种量的出苗率不能用活力测定法预测，这是由于播种后的气候条件通常是不可预知的。在非常不利条件下，不管活力强度怎样，只有少数幼苗出土。相反，在适宜的发芽条件下，出苗和发芽试验的结果可能相符。活力测定将不会显示其优越性。实验室发芽时的一些条件常常和田间出苗关系不大，因此有些种子较另一些生活力相似的种子表现更好。活力测定应预测最高和最低可适条件之间种子批的相对生产能力，并可确定种子批对环境的适应性。另一方面，它们可用来鉴定快速同时出苗的种子批或长出一致茁壮幼苗的种子批。

3. 幼苗生长和幼苗评定试验

D. A. Perry 佩里

幼苗鉴定时形态不正常的幼苗不计在发芽试验的结果中 (Wellington 韦林顿, 1970), 但在做这种判断时只要幼苗的全部主要构造存在并显示出平衡的发育, 可不考虑发芽和生长速度, 也不考虑幼苗强壮的程度。种子批之间在这些特征方面的差别常常是明显的, 诺伯 (Nobbe) 在1876年提出的活力的最早定义 (Triebkraft) 是把这些特征作为基础的。虽然费尔贝 (Verbay, 1960) 认为由于标准化和重演性方面存在困难, 将“首次计算”所得发芽速率的指标作为种子质量的依据, 但是在1976年的种子检验规程中仍作了这样的规定。

尽管如此，在适宜的发芽条件下进行严密的发芽速率和幼苗生长的测定还是可以用来评价种子的活力的。

现有两个主要发展方向：1) 幼苗生长测定，2) 幼苗评定。

幼苗生长测定

序 言

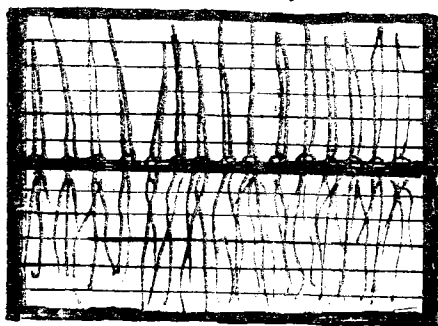
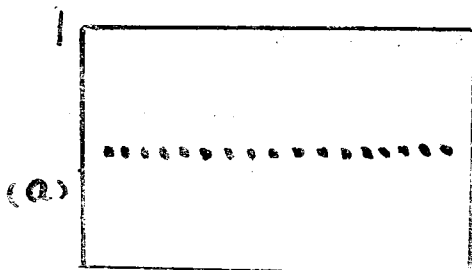
一定阶段后的幼苗长度是一定发芽时间的产物，即初期发芽及以后的生长速度，这比经常地长期地观测和计算种子发芽数目更方便。这种方法适用于具有一个正直胚芽的作物如禾谷类，或直根系作物，如莴笋等。

格姆 (Germ, 1949) 首先提议用测量胚芽的生长作为禾谷类和甜菜的活力测定法。这个方法被佩里 (Perry, 1977) 进一步发展用于大麦和小麦。这一方法还被伍德斯多克 (Woodstock, 1969) 用于玉米，并且由伯里斯 (Bunis) 和费尔 (Fehr, 1971) 提议用于大豆。史密斯 (Smith, 1973) 等成功地用于莴笋根生长的测量。

佩里 (Perry, 1977) 描述了大麦和小麦种子测定方法的细则。

设 备

硬质吸水性纸巾， $30 \times 25 \text{ cm}^2$ (肯特，梅德斯通，金伯利克拉克公司 Hi-Dri, Kimberley Clark Ltd, Maidstone, Kent)。也可以用过滤纸和吸墨水纸，但必须在湿润后能保持一定硬度，并不会紧紧裹着种子。在纸长中心线中央画一条线，并于中线的一侧画五条间隔 2 cm 的平行线。为了放置种子，中心线上标 25 个点，每点间隔 1 cm (图 1 a)。



2



无毒性的橡胶粘合剂 (Cow gum, Lilo Ltd, Woking, Surrey)。

无光, 高温度, 恒温箱保持 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的温箱。

装筒状纸巾的金属丝筐或聚乙烯盒子用作垂直放置纸巾之用。

方 法

用橡胶粘剂将种子粘在标定的中心线上, 使种胚背着纸, 胚芽以垂直的角度朝向平行线。每张纸上放25粒种子, 并且每个种子批应有四次重复 (图 1 a)。

把两张纸放在种子上面, 一张放在背面承受种子, 将所有的纸都浸入水中。多余的水可以从纸里漏出。基部的2cm向上折叠。然后, 把它们松卷成直径约为4cm的筒形, 用橡皮圈固定好。圆筒应能不用支撑而能直立。将圆筒放进黑暗的 20°C 的恒温箱的筐子或盒子里。恒温箱应保持高湿度, 避免干燥, 必要时用喷雾器加水。对种子提供充足、均匀的通风也是很重要的。

试验通常7天结束, 为了确保高活力种子的幼苗达到10cm的长度, 周期可作调整。

记 录

于试验终期统计处于每条平行线之间的胚芽尖端的数目 (图1b)。顺序的几对平行线显示出从中线到 midpoint 距离的值, 即1、3、5、7、9、11。将位于每对平行线之间的胚芽尖端的数目乘对应中点长度并相加。总长度被种子数25除。用公式表示:

$$L = \frac{nx_1 + nx_3 + \dots + nx_{11}}{25}$$

公式中L = 胚芽平均长度, 单位cm, n = 每对平行线中间的胚芽尖端的数目, x = 中点离中线的距离。在发芽试验中列为不

正常的幼苗不包括在长度统计中。

因为试验时期和环境条件稍有不同会影响生长的变化，因此在不同的试验的种子批之间的实际生长不能进行比较。但如果在一系列试验中始终包括一个高活力种子批作为对照，对照的生长可调整到10，别的种子批在这个基数上按比例校准，即

$$L = \frac{Y}{C} \times 10$$

Y = 样品测定的值，C = 对照样品的值。这样就可以进行不同类型的种子批之间的比较了。

注意事项

各种不同的基因型可具有内在的不同，其幼苗生长速度，可能与田间出苗能力无关，因此，仅可在各基因型之间进行比较。使用杀菌剂和杀真菌剂会对纸上的种子发芽生长产生不良的影响，因此试验前对种子应不作任何处理。种子休眠会降低试验中的生长势但不影响田间出苗率。另外，种子放到纸上以后，对推测为休眠的种子可以用热处理来打破休眠。对于植物生长激素的应用如目前推荐的赤霉素，了解也还是不够的。

发芽速率受到种子原始水份的影响，应使过湿和过干的种子在试验前达到相同的水分。

田间应用

生长力为对照的75%的大麦种子批，播于湿冷的土壤中时，高活力的种子批出苗后作物产量比对照的种子批差。

结 论

用这种试验方法可以容易地进行精确测定并在小范围内

使用简单设备,然而这种方法需要准备时间,而且容易因环境的轻微变化而产生变化。

这一幼苗测定法已为联合王国 (UK)种子商成功地用来鉴定大量活力不明的小麦和大麦种子。此种测定包括在活力测定委员进行的协作试验中(佩里 Perry 1978)。当时参加试验的实验室的幼苗生长平均数产生了较大的差异,这说明需要更标准化的测定法。这种测定与田间出苗的关系并不比与发芽试验的关系更为密切,因为后者和出苗高度相关。

莴笋根的生长试验

史密斯, 韦尔奇和利特尔 (Smith, Welch, Little, 1973) 创立了一种莴笋试验。在该试验中, 预先吸透的种子被放于吸水纸上画好的一条中线上, 纸用有机玻璃板撑着。这些板与水平面呈 70° 角立放于盒子里, 盒子放在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 的黑暗的恒温箱中。3 天后测得的根长与田间的地上部分有密切的关系(史密斯, 韦尔奇和麦科伊, Smith, Welch 和 M. co. 1973)。该试验有可能应用于其它的作物, 特别是小粒的根用作物种子, 如胡萝卜, 萝卜和甜菜。

幼苗评定试验

序 言

单线测量法不适于某些作物, 如大粒种子豆类作物。因为它们的形态上的关系及低活力的种子会形成弱而细长的幼苗, 这些幼苗可以长得像高活力的种子形成的幼苗一样长。对于这些作物来说需要一种比用于发芽试验的幼苗评定法更严格的方法, 这种方法已为豌豆种植价值提供了指标。(佩里 Perry 1969)。

设 备

聚乙烯盒约 $15 \times 20 \times 10$ cm。

Molochite在(石灰铝硅土, 1—2mm级, 圣奥斯特尔英格兰瓷粘土)。粗沙或砖粒(用于希尔特纳试验的Ziegelgrus)可任选一种发芽床。

植物生长箱温度为 $20 \pm 1^\circ$, 相对湿度95—98%, 光周期2小时, 光照强度12000勒克斯。

方 法

加水清洗, 无菌的 Molochite(或其它发芽床) 加至其最大持水力[约15% W/W(重量百分比浓度)]并搅拌均匀。不应存有多余水分。

在聚乙烯盒的底部铺2cm厚砂粒。

放置50粒种子, 间隔距离相等, 再往上面盖一层3cm厚的 Molochite。

记载每盒的总重量。

将盒放入生长室箱内, 在规定条件下放6天以上。盒子可放在多孔的聚乙烯袋中, 可限制水分的蒸发但须提供充足的氧气。盒子应定时称量并补充损失的水分。

6天后从盒子中拿出幼苗洗涤干净(图2a)。

记 录

将种子分为发芽和不发芽二类, 幼苗分类如下, 健壮的幼苗—胚芽强壮, 发育好, 深绿色, 初生根强壮, 如缺乏初生根则要有大量次生根。

低活力幼苗—出现一个或更多的下列缺陷的幼苗, 幼苗短, 即小于试验中最大幼苗长度的二分之一, 幼芽细长的, 未露出外种皮的, 褪绿的, 根少、弱或无(图2a)。

田间应用

田间应用的结果，早播豌豆的出苗与健壮幼苗的比率相关较与发芽试验结果的相关更好（佩里 Perry, 1970）。

结 论

幼苗强弱的主观划分是这一试验的缺点。但种子分析员们习惯于判断不正常幼苗，而且这一试验只要求近似的评价在沙土试验中已得到同样的结果。与标准发芽试验同时进行或在标准发芽试验终期进行，种子批要重复的试验应给以相同的温度，湿度和光照条件，是很重要的，此外，这种试验比通常的试验结束得早。当与发芽试验同时进行，幼苗分类应为：

- 1) 健壮的幼苗、如上所述。
- 2) 低活力幼苗、幼芽短或细长，或发育迟缓、
- 3) 不正常幼苗，在幼芽鉴定手册中（韦林顿 Welling, 1970）规定。

一类和二类构成发芽试验的结果，而一类则是活力测定的结果。

这一试验尚未作常规法应用，但是由于它的简易及其与发芽试验联合进行的可能性使它能快速成为核对种子活力测定，不须任何额外劳动或设备。而在美国建议用该得与大豆，棉花、花生和豌豆的纸卷巾发芽同时进行（伍德斯多克 Woodstock, 1976）。

插图1大麦幼苗生长试验。

(a) 纸巾卷的准备。

(b) 试验终期幼苗状态。

插图2豌豆幼苗评定试验。

试验终期幼苗的状态。

(a) 是高活力种子；(b) 是低活力种子。

4、希尔特纳试验

H·Fuchs富克斯

序 言

希尔特纳 (Hiltner) 试验是用来测定感染镰刀霉菌的带病种子由希尔特纳 (Hiltner) 和伊森 (Ihssen 1911) 最先创立的。当时观察到发芽时感病种子芽鞘变短, 虽无明显的损伤也不能穿透 3 厘米厚的砖砂层。他们建议试验在室温下和黑暗中进行以便提供适于真菌发育的条件和使幼芽明显损伤的数量增加的条件。默尔 (Merl 1931) 建议, 为了打破种子休眠状态, 发芽箱温度在最初五天应保持 11—13°C。

以后的发展分两个方向。首先, 作为种子健康测定当时发现低于 20°C 促进真菌发育, 格姆 (Gevm 和基特赖贝尔 Kietniber, 1955; 德·唐普 de. Templ 1964) 并且建议用不同温度试验测定镰刀菌 (尼尔加德 Neergaard, 1977; 德·唐普, de Tempe 1964); 链球菌 (*Drechslera* spp), 壳单胞属 (*Ascochyta Pisi*) 和壳针孢属菌 (*Septoria* spp.) 诺伯 (Noble 1965)。其次, 作为活力测定通过实验发现该试验显示出非真菌引起的抑制正常幼苗生长的缺点 (希尔特纳 Hiltner 和伊森 Ihssen 1911; 埃格布雷希特 Eggebrecht 1949)。由于这一原因希尔特纳 (Hiltner) 试验已归入“德国农业研究院分析协会技术手册”中的种子检验规程中 (埃格布雷希特 Eggebrecht, 1949)。这一检验方法已用于测定禾谷类萌芽损伤 (塑雷尔, Schoorel, 1960; 富克斯, Fuchs, 1964), 热水处理 (德·唐普 de. Tempe 1963; 布拉 Bulat,

1972), 脱粒损伤 (蒂勒拜因 Thielebein 1953), 霜冻损伤 (塑雷尔 Schoorel, 1960) 及过量的化学处理所造成的损伤 (卡尔·希特德因, 塑雷尔 Kahre, cited in Schoorel, 1910)。

因为难于获得符合条件的砖砂或由于砖砂对某些作物不适合, 目前开始使用另外的发芽床, 如 Molochite (佩里, Perry 1969, 1978) 或 Terraperl (埃弗里 Eifrig 和比歇尔, Buscher 1975)。其他改进的方法已有报导, 例如, “简易箱种植法” 和 “德利特凯斯克沙培法 Deritikischs” (埃格布雷希特 Eggebrecht 1949; 伍德斯多克, Woodstock, 1976), 其中, 基层用沙制成, 覆盖层用砖砂或颗粒大小不同的沙组成。艾德尔, Adcr (1975) 推荐用土壤做甜菜种子试验的基础层。复盖层的厚度比重量更重要, 因为必须让幼芽充分发育穿过复盖层。当种子小于被检验的谷类时复盖层必须减少 (艾德尔 Adcr 1975) 佩里 perry 1978)。弗里茨 Fricz (1965) 发明的用于谷类穿透试验是一个例外, 因为胚芽还必须穿透一层过滤纸。

设 备

砖砂, 用颗粒最大为 2—3 mm 的碎砖石制成。也可用 Molochite (煨瓷土, 硅酸铝盐代替), 磨成 2—3 mm 大小的颗粒 (联合王国圣·沃茨坦, 英格兰瓷土有限公司) 或用 2—3 mm 大小颗粒的粗沙。每次试验前, 发芽床必须清洗, 消毒, 使用若干次后, 必须检查化学残质。

特制的锌盒约 $10 \times 10 \times 8.5$ cm, 或聚苯乙烯或聚乙烯盒 $9.5 \times 9.5 \times 8$ cm (Mar Richter kc, kumsgtsto-ffrerarbeitung, Postfach 1128, D-6109 Mühlthal) 或其它有盖或