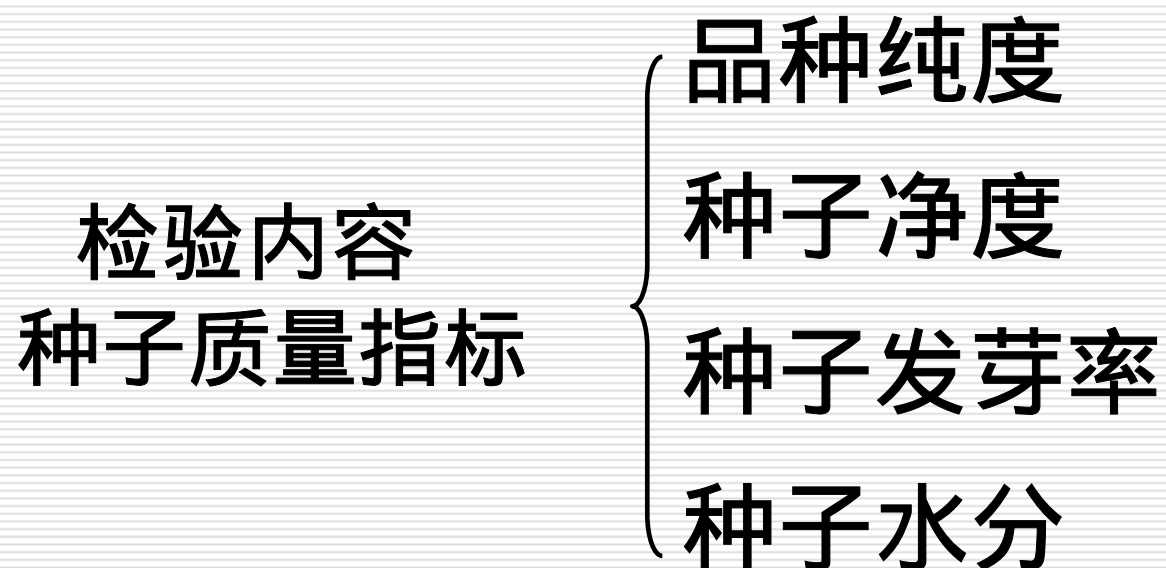


第11章 种子质量的室内检验

农作物种子质量分级标准



必要性：保证农业生产上使用优质良种

第一节 种子净度分析

一、种子净度分析的意义

1. 概念：种子净度(**purity**)是指种子清洁干净的程度，具体地讲是指样品中除去杂质和其它植物种子后留下本作物（种）净种子重量占分析样品总重量的百分率。

2. 必要性：

种子净度低，泥沙、秸秆影响种子安全贮藏；
杂草、病、虫、异作物影响作物生长发育；
有毒植物种子影响人畜健康。

3. 目的：①通过对样品的分析，推断种子批的组成情况，
为种子清选分级提供依据。

②分离出的净种子为其它项目的分析提供样品。

二、种子净度分析的标准

精确法标准：**F.Nobbe**创立于**1875**年，**GB3543-83**中采用
现已停用。将样品分成：好种子、废种子、有生命杂质、
无生命杂质

特点：好种子标准难把握、技术复杂、主观性大、分
析费时

快速法标准：1809年创立于加拿大

1953年列入国际种子检验规程；

GB3543-3-95中采用

将样品分为 {
净种子
其它植物种子
杂质

特点：净种子标准易掌握、分析省时

快速法具体标准

1. 净种子 (pure seed)

从**种类**上看是指送验者所叙述的种，包括该种的全部植物学变种和栽培品种。

从**构造**上看是指完整的种子单位和大于原来大小一半的破损种子单位。

说明:

①即使是未成熟的、瘦小的、皱缩的、带病的、发过芽的种子，如能明确地鉴别出它属于所分析的种，应作为净种子，但已变成菌核、黑穗病孢子团或线虫瘿的应除外。

②个别种属例外

A 豆科十字花科种皮完全脱落的为杂质

B 有胚芽、胚根，并带有超过原来大小一半种皮的豆科种子的分离子叶也列为杂质

C 甜菜属超过一定大小的种子单位才为净种子。单胚品种除外（筛孔 $1.5 \times 20\text{mm}$ 筛理 1mm 后留在筛上的）

D 燕麦属、高粱属附着的不育小花不必除去，而列入净种子。

③禾本科中复粒种子单位分类

④不同作物净种子具体定义

2. 其它植物种子 (other seed)

是指净种子以外的任何植物种类的种子单位（包括其它植物种子和杂草种子），其鉴别标准与净种子标准基本相同。

但甜菜种子单位作为其它植物种子时不必筛选，可用遗传单胚的净种子定义。

3. 杂质 (impurity)

包括除净种子和其它植物种子以外的所有种子单位、其它杂质及构造。

①明显不含真种子的种子单位

②小于规定大小的甜菜属种子单位（单胚品种除外）

③小于或等于原有大小一半的破损或受损伤的种子单位

④净种子定义中未提及可划入净种子的那些附属物

⑤种皮完全脱落的豆科十字花科种子

⑥菟丝子种子

⑦脱下的不育小花、空的颖片、稃壳、茎叶、花、线虫
瘿、真菌、沙石土等非种子物质

三、种子净度分析的步骤

(一) 送验样品称重和重型杂物的检查

1. 送验样品称重：见附表1

2. **重型杂物的检查：**

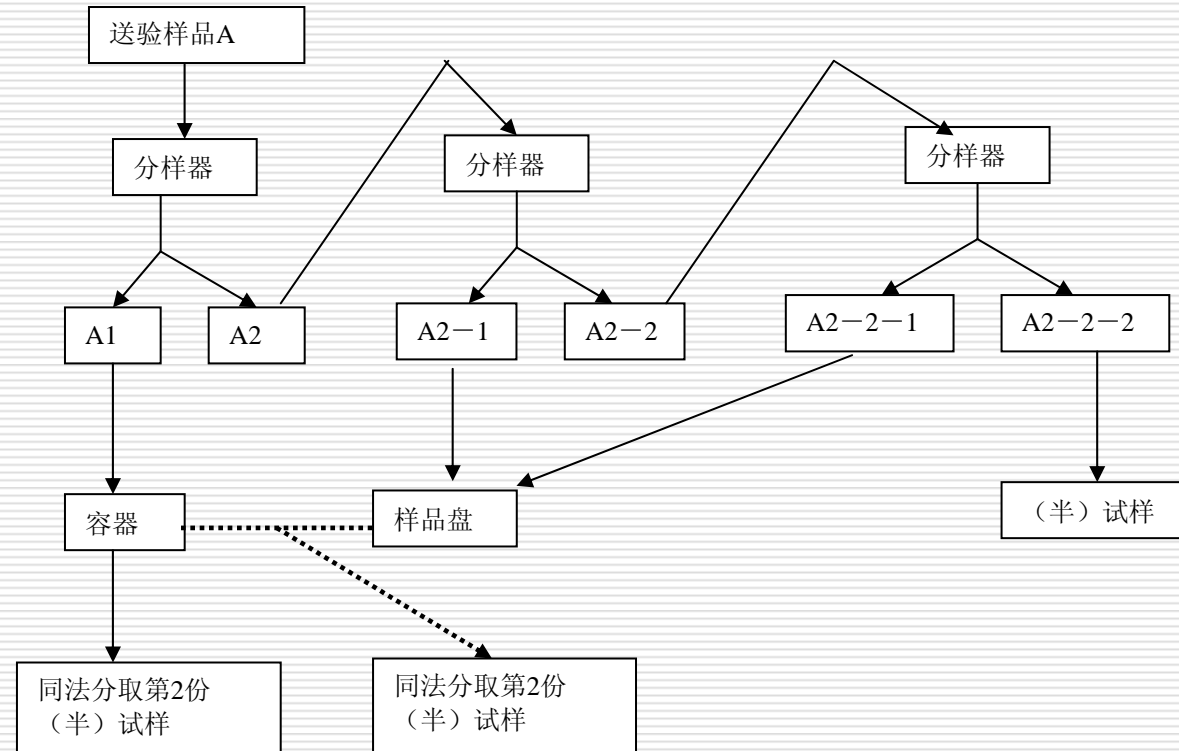
定义：是指重量和体积明显大于所分析的种子，并对检验结果有较大影响的混杂物，包括大粒其它植物种子和大杂质。

检验：从送验样品中挑出、称重后再分类称重（即其它植物种子重 m_1 、杂质重 m_2 ）

(二) 试验样品 (working sample) 的分取

定义：由送验样品中分出一定量的种子，供检验种子品质各个项目用的样品。（附表1）。

独立分取一份或二份半试样（试样重量的一半），分取方法同送验样品。



（三）试验样品的称重

精度按（表11-2）要求进行。

（四）试样的分析

- 借助仪器：
1. 两层筛子：上层大孔下层小孔
 2. 放大镜和双目解剖镜
 3. 反射光
 4. 吹风机：

试样分析：电动筛选器筛理**2**分钟筛理后对各层筛上物按照净种子，其它植物种子和杂质的分析标准，各归其类。

甜菜复胚种子单位，规定用筛孔**1.5×2mm**大小为**200×300mm**的长方形筛子上筛理**1min**，留在筛上的为净种子，通过筛孔的为杂质（单胚品种除外）。

说明：

①当不同植物种间区分困难或不能区分困难时，则填报属名，该属的全部种子均为净种子。

②从表面发现瘦果、分果、分果片等果实中明显无种子的，列入杂质。

③对于损伤的种子，如果明显地伤及种皮或果皮，则不管是空瘪或充实、均作为净种子，或其它植物种子；若种皮或果皮有一裂口，检验员必须判断留下的部分是否超过原来大小一半，如不能迅速决定，则将其列为净种子或其它植物种子。

（五）各种成分称重 精度按表11-2要求

(六) 结果计算与报告

(1) 核查试样有无增失

$$\frac{|\text{试样原重} - \text{各成分之和}|}{\text{试样原重}} \times 100\% \begin{cases} \leq 5\% & \text{计算各成分 (\%)} \\ > 5\% & \text{重做} \end{cases}$$

(2) 计算各成分%

$$\text{净种子}\% = \frac{\text{净种子重 (g)}}{\text{三种成分之和重(g)}} \times 100$$

$$\text{其它植物种子}\% = \frac{\text{其它植物种子重 (g)}}{\text{三种成分之和重 (g)}} \times 100$$

$$\text{杂质}\% = \frac{\text{杂质重 (g)}}{\text{三种成分之和重 (g)}} \times 100$$

注意：①三种成分之和为分母

②各成分%小数位数

}	全试样	1位小数
	半试样	2位小数

(3) 结果处理

①**半试样：**两份半试样任一成分结果相差不超容许差距
(表11-2) 取其 \bar{x} ；超容许差距，按下列方法处理。

a 再重新分析成对样品，直到一对数值在容许差距范围内（但全部分析不超过四对）

b 凡一对间的相差超过容许差距两倍时，均略去不计。

c 各种成分百分率的最后记录，应从全部保留的几对加权平均数计算。

②全试样：两份试样 (x_1, x_2) 任一成分结果相差不超容许差距，取其平均值，超过容许差距，再分析一份试样 (x_3)。

$$x_{\max} - x_{\min} \leq 2 \text{倍容许差距}$$

$$\frac{x_1 + x_2 + x_3}{3} = \bar{x}$$

若有些结果显然是由于差错引起的，应将其除去。

(4) 最终结果的修正

三种成分的最终结果应保留1位小数，三种成分之和应为**100.0%**，若不是**100%**，需修正。

修正方法：

在最大成分加上不足或减去超过的部分（修正值不大于**0.1%**），使三种成分之和为**100.0%**。

若修正值大于**0.1%**，应检查有无计算错误。

含量小于**0.05%**的成分应将数字除去，填报微量。

•当送验样品中**不含重型杂物时**，可采用上述方法直接修正。

例 P=97.4% OS=1.3% I=1.4%

P+OS+I=100.1%

P-0.1%=97.3%

•当送验样品中含重型杂物时

按下式计算:

$$\text{净种子 } P_2 (\%) = P_1 \times \frac{M-m}{M}$$

$$\text{其它植物种子 } OS_2 \% = OS_1 \times \frac{M-m}{M} + \frac{m_1}{M} \times 100$$

$$\text{杂质 } I_2 \% = I_1 \times \frac{M-m}{M} + \frac{m_2}{M} \times 100$$

式中 M ——送验样品重 (g)

m ——重型混杂物重 (g)

m_1 ——重型混杂物中其它植物种子重 (g)

m_2 ——重型混杂物中杂质重 (g)

2010-3 P_1 ——除去重型杂物后净种子重量%

OS₁——除去重型杂物后其它植物种子重量%

I₁——除去重型杂物后杂质重量%

若分析的是两份全试样或两份半试样，**P₁**和**OS₁**和**I₁**应用平均值。

最后应检查 **P₂+OS₂+I₂=100.0%**

(5) 结果报告：各成分含量填写在检验证书的相应空格内，某一成分含量少于**0.05%**，则填报“微量”，某一成分为零，用**-0.0-**表示。

例：某批小麦种子的送验样品净度分析结果数据如下：

M=1000g

m=1.538g { **m₁=0.853g**
 { **m₂=0.685g**

半试样	半试样重g	净种植g	其它植物种子重g	杂质重g	合计g
	64.533	64.363	0.016	0.202	64.581
	63.589	63.430	0.058	0.147	63.635

①检查样品有无增失

$$[(64.581-64.533)/64.533] \times 100\% = 0.074\% < 5\%$$

$$[(63.635-63.589)/63.589] \times 100\% = 0.117\% < 5\%$$

②计算各成分%与结果处理

	净种子%	其它植物种子%	杂质%
I	$\frac{64.363}{64.581} \times 100 = 99.66$	0.02	0.31
II	99.68	0.09	0.23
x	99.67	0.055	0.27
Δx	0.02	0.07	0.08
容差	0.61	0.55	0.33

③结果修正

$$P_2\% = P_1 \times \frac{M-m}{M} = 99.67 \times \frac{1000-1.538}{1000} = 99.5$$

$$OS_2\% = OS_1 \times \frac{M-m}{M} + \frac{m_1}{M} \times 100 = 0.055 \times \frac{1000-1.538}{1000} + \frac{0.853}{1000} \times 100 = 0.1$$

$$I_2\% = I_1 \times \frac{M-m}{M} + \frac{m_2}{M} \times 100 = 0.27 \times \frac{1000-1.538}{1000} + \frac{0.685}{1000} \times 100 = 0.3$$

$$(P_2 + OS_2 + I_2)\% = (99.5 + 0.5 + 0.3)\% = 99.9\%$$

$$P_2 + 0.1 = 99.6$$

④结果报告 $P_2 = 99.6\%$ $OS_2 = 0.1\%$ $I_2 = 0.3\%$

四、其它植物种子数目的测定

1. 测定对象 杂草、其它作物种子

2. 区别 净度分析中测定其它植物种子重量%

该项目测定其它植物种子数目

3. 根据送验人的要求，分为4种检验

①完全检验 (**complete test**) 从整个试样中找出所有其它植物种子。

②有限检验(**limited test**) 从整个试样中找出送验者指定的种。

③简化检验(**reduced test**) 仅对试验样品的一部分进行检验，样品可少至规定试样重量的1/5。

④简化有限检验 (**reduced-limited test**) 是指用规定重量较小的部分样品的试验样品检验指定种的测定方法。

4. 测定方法

①**试样重量** 附表1 约为**25000**粒种子重，指定种较难鉴别时，可用规定试样重量的**1/5**。

②**分析测定** 根据送验人的要求，借助放大镜和光照设备，逐粒观察，找出其它植物种子并计数。

③结果计算

$$\text{其它植物种子含量 (粒/kg)} = \frac{\text{其它植物种子数}}{\text{试样重 (g)}} \times 1000$$

④核对容许差距

判断同一批种子的两个样品（重量应大体相等）的测定结果是否存在显著差异时，需核对容许差距。

例： $OS_1=58/\text{kg}$ $OS_2=48/\text{kg}$

$OS=53/\text{kg}$ 容差21

实差10<21容差

两个测定结果无显著差异。

第二节 种子发芽试验

(Germination Test)

一、种子发芽试验的目的和必要性

1. 目的
- ①了解种子发芽力
 - ②据此比较种子批的质量和播种价值
 - ③估计种子在田间的出苗情况

发芽力 (Germinability): 是指种子在适宜的条件下发芽并长成正常幼苗的能力。

发芽势 (Germinative Energy) (初次计数) 是指在发芽试验初期 (规定条件和日期内) 长成的正常幼苗数占供试种子数的百分率。反映种子发芽迅速、整齐程度。

发芽率 (Germination percent)：是指在发芽试验终期（规定条件和日期内）长成的全部正常幼苗数占供试种子数的百分率。反映种子质量的重要指标。

2. 必要性

①播前做好发芽试验，可正确计算播量，防止劣种下田，为作物高产打下基础。

②收购入仓前做好发芽试验，可正确评定种子等级和确定种子价格。小麦、玉米发芽率不低于**85%**。

③调运前做好发芽试验，可避免盲目调发芽率低的种子而造成的人力、交通运输等经济损失。

④贮藏期间做好发芽试验，利于检查贮藏质量。发芽率↓，贮藏条件不利。

3. 做发芽试验的时期：“三前一间”

二、种子发芽的条件

内在条件：种子具生活力，已通过休眠

环境条件：水分、温度、氧气、光或暗

(一) 水分

1. 水是种子萌发的首要条件
2. 不同作物种子发芽的需水量不同
3. 发芽试验用水：干净，无毒无害，富氧，不含酸碱，PH6~7.5，自来水

4. 依据种粒大小和发芽床的保水供水特性加水。

砂床：可按干砂饱和含水量的**60~80%**加水

禾谷类等中小粒种子按**60%**加水

豆类大粒种子加水**80%**

滤纸床：水分达到饱和，略有余水。

土壤床：加水量是风干土重的**20~25%**，
砂子手握成团指缝间不流水

手握土粘成团，手指一压土团就碎

5. 发芽试验期间要定期定量向发芽床上补充水分，

以保持其湿润、水分适宜、一致。

(二) 温度

1. 温度是种子萌发的又一重要条件

温度过低：酶活性低、生理生化过程缓慢、发芽缓慢

温度过高：抑制酶活性抑制生理生化过程，不利于发芽

发芽试验应采用适宜温度

2. 不同作物种子发芽试验的温度不同（附表1）

①恒温：发芽试验期间保持同一温度

如：葱类15 、 20 ，麦类20 ，玉米20 、 25 ，

棉花30 ，花生25 等

发芽箱温度变幅不超规定温度 ± 1

②**变温** 发芽试验期间一天**24h**中，较低的温度保持**16h**，较高的温度保持**8h**。

变温范围多为低温**20** ，高温**30** 。

完成变温所需要的时间：

非休眠种子：**3h**

休眠种子：**1h**或更短，可采用调换发芽箱的方法完成。

实际工作中先用恒温发芽，若发芽结果不好，改用变温。若不清楚发芽的适温，可根据播期定。

早春播 **10~15**

晚春播 **20~25**

夏 播 **30~35**

秋 播 **20~25**

3. 氧气 是种子萌发的又一必要条件

发芽床上的水分要适当，以水调气，发芽试验期间要常打开发芽箱发芽皿，通风换气。

4. 光照

农作物种子 { 对光不敏感的种子 多数农作物种子
好光性种子 芹菜、烟草、茼蒿
忌光性种子 黑种草、铃兰

标准发芽试验需加光照

目的 { 正确鉴定幼苗、区分绿苗、黄苗、白苗
减少病原物感染

方法：人工光照或自然光照 每天8h

光强 750~1250 Lx，已通过休眠的可降至250 Lx

光照在高温期间供给

三、种子发芽试验的设备

1. 光照培养箱：

结构

功能

使用

2. 发芽盒

3. 发芽床

4. 数种设备：数种板、真空数种器

四、标准发芽试验

1. 数取试样：随机取净种子

中小粒	100粒×4
大粒	50粒×8
特大粒	25粒×16

复胚种子单位可按单粒种子进行试验，不需分开，芜荑例外。

（**多胚种子**：指一粒种子有两个或两个以上的胚）

（**复粒种子**：禾谷类植物的一朵花中发生二个或两个以上的子房，受精后同时发育成为籽实）

（**复胚种子单位**：能够产生一株以上幼苗的种子单位，甜菜的果球，伞形科未分离的分果）

注意：用真空数种器应避免吸轻型种子

手工数取避免专数大粒

数种板数取应注意一孔两粒或孔中无粒

2. 选择发芽床

发芽床：用来安放种子并供给种子水分的衬垫物。

种类：砂床、滤纸床、土壤床等。

性能：保水、供水良好、无毒无病、**PH6~7.5**

砂使用前处理：①过筛和洗涤 孔径**0.05mm、0.8mm**，
砂粒粒径**0.05~0.8mm**，清水洗涤至
无污物。

②烘干消毒 **130 3~4h**

杀死病原物和其它植物种子

砂子重复使用必须经洗涤、烘干、消毒。

2010-5-8 **化学药品处理的种子发芽试验后的砂子不能重复使用。** 33

土壤使用前处理：疏松土壤过筛、高温消毒，土壤床不宜重复使用

选择发芽床 根据作物种子种类选择（附表1）

大粒种子 砂床

小粒种子 纸床

中粒种子 砂、纸床

鉴定带病种子样品

纸床上幼苗出现中毒症状

对鉴定幼苗有怀疑

特定的研究目的

土壤床

砂床制备 将处理好的砂按要求调好水份装入发芽盒内,铺平,砂厚约占盒深度的2/3

纸床制备 取滤纸四层,面积略小于发芽盒底面积,铺于盒底,加水浸湿滤纸达饱和稍过

3. 种子置床 按一定粒距将种子置于发芽床上， 方式按附表1规定

- 砂床
- 砂上 (TS) 将种子 (禾谷类种胚向上) 压入湿润砂的表层
 - 砂中 (S) 将种子播于湿砂表面，再盖10~20mm厚的湿砂。(大粒种子盖20mm，小粒种子盖10mm)
- 纸床
- 纸上 (TP) 将种子直接放在发芽皿内的纸床上
 - 纸间 (BP)
 - 盖纸法：是将种子摆在纸床上，其上再盖一层湿滤纸
 - 纸卷法：是把种子摆在一层或两层湿滤纸，其上再盖一层同样大小的湿滤纸，卷成纸卷，直立放在保湿容器内

注意事项

- ①各重复间水分要一致
- ②各粒种子间要有一定的间距，保证幼苗有充足的生长空间，减少幼苗株间相互影响和病原物的相互感染。

4. 贴标签

标签内容：样品号码

品种名称

重复次数

置床日期

粘贴位置：发芽皿底盘外侧

登记于发芽记载簿上，盖好盖子

5. 入培养箱

按附表1，根据作物种子种类确定适宜温度，

小麦20℃、玉米25℃、白菜20℃、西瓜25℃

RH90%以上，箱内底部放一水盘

6. 检查管理

①水分：定时向发芽床上补给适宜水分

②温度：箱内保持规定温度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ；按时变温

③通风换气：箱内注意通风换气

④霉烂种子 { 霉种子，流水洗涤后放回原处
霉种子多时，需更换发芽床
腐烂种子，应取出并记载

减少生霉方法——种子表面消毒

0.1%HgCl₂→浸泡种子→清水冲洗→置床

7. 幼苗鉴定与计数

①时间 (天)	附表1	小麦	玉米	棉花	西瓜
	初次计数	4	4	4	5
	末次计数	8	7	12	14

例外 { 延长：规定时间内只有几粒种子发芽，可延长7天
或规定时间的一半
提前：规定时间前，样品已达到最高发芽率

说明：破除休眠的处理时间不作为发芽试验时间的一部分

②标准 { 正常幼苗 }
{ 不正常幼苗 }

③内容 { 初次计数 { 正常幼苗取出并记载
腐烂种子拿出并记载
未达正常苗标准的继续留在发芽床上 }
末次计数 { 正常幼苗
不正常幼苗
新鲜未发芽种子
死种子
硬实 }

④复胚种子单位幼苗鉴定与计数

复胚种子单位作为单粒种子计数、试验结果用至少产生一株正常幼苗的种子单位的%表示。

也可根据送验人的要求测定100个种子单位所产生的正常幼苗数，产生一株、两株或二株以上正常幼苗的种子单位数。

8. 结果计算和核对容许差距

①把不是100粒的重复合并成100粒

②计算各重复

发芽势%

发芽率（正常幼苗）%

不正常幼苗%

硬实%

新鲜不发芽种子%

死种子%

各指标重复的平均值（到最近似的整数）总和应为**100%**，若不是**100%**，应在最大值上修正，修正值一般为**0.5%**。

③核对容许差距

A四次重复间

$x_{\max i} - x_{\min i} \leq$ 容许差距（表11-3）， \bar{x} 结果可靠

$x_{\max i} - x_{\min i} >$ 容许差距， x 不能做为结果，需重做，得 \bar{x}

$|\bar{x} - \bar{x}| \leq$ 容许差距（表11-4） \bar{x} 为结果

$|\bar{x} - \bar{x}| >$ 容许差距 再重做，得 \bar{x}

$(\bar{x} - \bar{x}) >$ 容许差距

$(\bar{x} - \bar{x}) \leq$ 容许差距 取 \bar{x} 作为结果

例：①四次重复的发芽试验结果为（%）99、91、94、94

$$\bar{x} = 95 \quad x_{\max} - x_{\min} = 99 - 91 = 8 < 9 \text{容差(表11-3)}$$

可靠 ↙

②四次重复的发芽试验结果为（%）99、89、95、97

$$\bar{x} = 95 \quad 99 - 89 = 10 > 9 \text{容差 重做}$$

$$\bar{x} = 96\%$$

$$\bar{x} = 95.5\% = 96\%$$

$$\bar{x} - \bar{x} = 96 - 95 = 1 < 3 \text{容差 (表11-4)}$$

测定结果为 $\bar{x} = 96\%$

9. 重新试验

- ①发芽试验结果超容许差距
- ②怀疑有休眠种子存在
- ③病原物感染，正确评定幼苗有困难
- ④试验条件、幼苗评定或计数有误

10. 结果报告

- ①正常幼苗、不正常幼苗、硬实、新鲜不发芽种子、死种子的百分率，其中任何一项为零，用符号—0—表示
- ②发芽床、温度、试验持续时间、促进发芽所采用的方法

五、**幼苗鉴定标准**（文字后附图片）

正常幼苗和不正常幼苗鉴定标准（发芽标准）

（一）正常幼苗：在良好的土壤及适宜的水温光条件下，能继续生长发育成正常植株的幼苗

1. 完整幼苗：幼苗主要构造发育良好、完全、均称和健康。因种不同应具下列一些构造

①根：发育良好的根系，其组成如下：

A、细长的初生根、长满根毛，末端细尖

B、在规定的试验时期内产生的次生根

C、在燕麦属、大麦属、黑麦属、小麦属和小黑麦属中，由数条种子根代替一条初生根

②中轴：发育良好幼苗中轴，其组成如下：

- A、子叶出土型发芽的幼苗，应具有一个直立、细长并有伸长能力的下胚轴。大豆、棉花
- B、子叶留土型发芽的幼苗，应具有一个发育良好的上胚轴。豌豆、蚕豆
- C、有些子叶出土型发芽的一些属中（菜豆属、花生属），应具有伸长的上胚轴和下胚轴
- D、在禾本科的一些属（玉米、高粱）中，应具有伸长的中胚轴

③子叶：具有特定数目的子叶

A、单子叶植物具有一片子叶，子叶可为绿色和呈圆筒状（葱属）或变形而全部或部分遗留在种子内（如石刁柏、禾本科）

B、双子叶植物具两片子叶，在出土型发芽的幼苗中子叶为绿色，展开呈叶状；而在留土型发芽的幼苗中，子叶为半球形和肉质状，并保留在种皮内。

④初生叶：具展开、绿色的初生叶

A、在互生叶幼苗中有一片初生叶，有时先发生少数鳞状叶，如豌豆属、石刁柏属、巢菜属

B、在对生叶幼苗中有两片初生叶，如菜豆属

⑤顶芽或苗端

⑥芽鞘：在禾本科植物中有一个发育良好，直立的芽鞘，其中包着一片绿叶延伸到顶端，最后从芽鞘中伸出，麦类、玉米等。

2. 带有轻微缺陷的幼苗： 幼苗主要构造出现某种轻微缺陷，但在其它方面能均衡生长，并与同一试验中的完整幼苗相当。

3. 次生感染的幼苗： 由真菌或细菌引起，使幼苗主要构造发病和腐烂，但有证据表明病原不来自种子本身。

(二) 不正常幼苗

- 1. 受损伤的幼苗：**由机械处理、加热、干燥、昆虫损害等外部因素引起，使幼苗构造残缺不全或受到严重损伤，以致于不能均衡生长者。
- 2. 畸形或不匀称幼苗：**由于内部因素引起生理紊乱，幼苗生长细弱，或存在生理障碍，或主要构造畸形，或不匀称者。
- 3. 腐烂幼苗：**由初生感染（病源来自种子本身）引起，使幼苗主要构造发病和腐烂，并妨碍其正常生长者。

六、快速发芽试验

①适用：引、调种，播前急需了解种子发芽力

②依据：除去阻碍种子萌发的皮壳
给予适当的高温高湿

加速吸胀和内部生化反应的进行，
从而促进种子萌发

③方法：

A、禾谷类、豆类高温盖砂法

取净种子100粒×4→30℃水浸种4-6h或室温一夜→标准砂床（砂中）→贴标签→入发芽箱，适当高温

豆类25~28℃

玉米、高粱、籼稻35℃~37℃

2010-3 粳稻32℃

48h

96h

检查计算发芽率

B、棉花硫酸脱绒切割法 棉籽 $\left\{ \begin{array}{l} \text{短绒} \\ \text{皮硬} \end{array} \right\}$ 影响吸水

取净种子100粒×4→小烧杯+浓 H_2SO_4 →脱绒→冲洗至无酸性→内脐附近斜切割一小口,约为种长的1/4→切口向下平放置砂中→ 35°C 48h→检查发芽率

七、休眠种子发芽试验前处理

1. 破除生理休眠

①**预先冷冻** 将净种子置于湿润的发芽床上→ $5\sim 10^\circ\text{C}$

3d (麦类) →规定温度下发芽

② **HNO_3 处理** 休眠的水稻种子用 0.1mol/LHNO_3 浸种

16~24h →置床发芽

③ **KNO₃处理** 0.2%KNO₃湿润发芽床。适合处理茄科、禾谷类休眠种子。发芽试验期间补充水分

④ **GA₃处理**

燕麦、大麦、小麦、黑麦0.05%湿润发芽床 { 休眠深0.1%
芸苔属于 { 0.01% { 休眠浅0.02%
 { 0.02%

⑤ **H₂O₂处理**

		浓度	浸种
浓度为29%	小麦浸种5min	1%	24h
	大麦 10~20min	1.5%	
	水稻 2h	3%	

- ⑥去稃壳处理 水稻大麦去稃
 菠菜切去果皮
 瓜类嗑开种皮

⑦加热干燥 将种子摊成薄层、干燥温度和时间。

2. 破除硬实的方法

- ①开水烫种 棉花、豆类硬实开水烫**2min**→发芽试验
②机械损伤 刺、削、锉伤种皮、砂纸摩擦

3. 除去抑制物质的方法

甜菜	复胚种子单位流水洗涤 2h 单胚种子单位流水洗涤 4h	} 25℃以下干燥
菠菜		

第三节 种子生活力和活力测定

一、种子生活力 (Viability of seed) 测定

1. 必要性

①测定休眠种子的生活力：利于正确评定种子品质、
合理利用种子；

②可在短期内了解种子的发芽状况

{	引、调种前
	林木、花卉、牧草
	发芽所需时间长

③测试研究新品系或新品种的休眠特性

2.四唑法

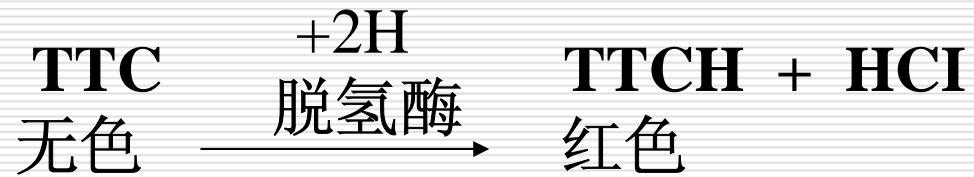
①简况：1942年德国H.Lakon发明。

1984年ISTA四唑测定手册：650多个属、种 种子测定

GB3543.7-1995：58种作物种子

②试剂：2、3、5—氯化三苯基四氮唑（TTC、TTB或TZ）、白色粉末，易溶于水，有微毒，见光易还原成红色，若溶液变红，不能再用。

③测定原理：有生活力的种子活细胞在呼吸过程中都有氧化还原反应的发生，当四唑渗入种子后，参与活细胞的还原反应，从脱氢酶上接受氢，自身被还原成稳定、红色、不扩散、不溶于水的三苯基甲腈，使其显红色、而死种子或种胚某一部位无生活力时，则不显红色，据此鉴别种子有无生活力及无生活力种子死组织的部位。



④测定方法

A. 配制试剂

常用 $\left\{ \begin{array}{l} 1\% \text{——测整胚种子} \\ 0.1\% \text{——测纵切种胚的种子} \end{array} \right\}$ PH6.5~7.5

试剂不纯，溶液酸性强（ $\text{pH} \leq 4$ ）不能用于测定。

可用 $\text{pH}7$ 的 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲液作溶剂配制四唑溶液。

缓冲液的配制

a 1000mL H_2O +9.078g KH_2PO_4

b 1000mL H_2O +11.876g Na_2HPO_4

取a 400ml+b 600ml+10gTTC，即成PH7、1%溶液

如用0.1%，可用1%四唑溶液稀释

B.取试样：随机取净种子100粒2~4次重复，至少2次重复；
发芽试验末期的休眠种子

C.种子预措、预湿和暴露种胚

预措：除去种子外部除属物（花生去壳，
水稻去稃） } 利于吸湿
在种子非要害部位弄破种子

预湿：缓慢吸湿 将种子置于湿纸上或湿纸间进行吸湿，
豆类纸间6—8h

此法适合于 { 吸水过快引起种皮破裂的种子；
过度干燥的种子；陈种子

水中浸泡：适合于禾谷类、棉花、白菜等，30℃水浸3-4h

目的 { 软化种皮，便于切割种子或剥果种皮
活化酶，利于氧化还原反应进行

暴露种胚：禾谷类沿胚中部纵切显示出胚各部分的结构，

取半粒；切面平光滑

棉花：纵切种子；切去部分种皮；去掉胚乳遗迹

D.四唑浸泡显色：

例如：小麦、玉米等纵切种胚的为 0.1%、35℃ 0.5~1h

棉花 0.5% 35℃ 2~3h

豆类、瓜类等整胚 1% 35℃ 2~3h

注意：溶液浓度、反应温度、反应时间，影响显色结果。

一般切开种子；溶液浓度高；反应温度高（ $<40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）显色快，反之则慢。反应时间过长，种胚表面出现白色沉淀，影响鉴定。

一般以有生活力的种胚呈樱桃红色为准。

E.观察鉴定：清水冲洗后用放大镜对照标准，观察鉴定。

标准：凡胚的主要构造和有关活的营养组织全部染成有光泽的鲜红色或不染色部分未超过允许不染色的最大面积的，且组织状态正常的为有生活力种子。

凡胚的主要构造和有关活的营养组织全部不显红色，大部分不显红色或显浅红色或显异常颜色的为无生活力种子

F.计算结果与核对容许差距

计算 各重复有生活力种子%， \bar{X} （近似整数）

核对容许差距

重复间的最大差距 \leq 容许差距，以 \bar{X} 为测定结果。

豆类、棉籽中的硬实包括在有生活力种子百分率中。

说明：①熏蒸受药害的种子，不宜用此法

②四唑测定结果与发芽试验结果有一定差异，差异大小与种子发芽力有关，发芽力高的种子差异小，反之，则大。

③四唑有毒，工作完毕要洗手，处理的种子要深埋，不能给家畜食用。

二、种子活力测定 (Seed vigor test)

发芽法

逆境法

生理生化法

评价种子活力应以同品种（同作物）高活力种子为**CK**

1.发芽法

(1) 利用普通发芽试验，测定

种子的萌发速度

幼苗生长速度

健壮程度

判定种子

活力高低

适用于各种作物种子活力测定

方法：采用普通发芽试验，记载每天正常发芽的种子数，发芽试验结束时，测定幼苗或幼根的长度或重量，计算各指标，比较各样品种子活力的高低。

实例：有两批小麦种子、100粒×4 发芽试验结果如下：

发芽日数		3	4	5	6	7	8	总和	8天内单株幼苗平均 长度 (cm)
发芽数	甲	3	10	30	50	3	0	96	4.1
\bar{X}	乙	11	30	40	10	5	0	96	5.6

计算各种指标。

①初次发芽率（发芽势）
 (Germination energy) = $\frac{\text{发芽试验初期规定日期内发芽种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100$

$$\text{甲} = \frac{13}{100} \times 100 = 13\%$$

$$\text{乙} = \frac{30+11}{100} \times 100 = 41\%$$

种子活力 乙 > 甲

②发芽指数 $GI = \sum (Gt/Dt)$

式中： Dt 为发芽日数； Gt 为 与 Dt 相对应的每天发芽种子数

(Germination Index)

发芽日数

$$\text{甲 } GI = \frac{3}{3} + \frac{10}{4} + \frac{30}{5} + \frac{50}{6} + \frac{3}{7} = 18.23$$

$$\text{乙 } GI = \frac{11}{3} + \frac{30}{4} + \frac{40}{5} + \frac{10}{6} + \frac{5}{7} = 21.58$$

种子活力 乙>甲

③活力指数 (Vigor Index) $VI = GI \cdot S$

$$\text{甲 } VI = 18.23 \times 4.1 = 74.743$$

$$\text{乙 } VI = 21.58 \times 5.6 = 120.848$$

种子活力 乙>甲

→ 规定日期内幼苗
(根) 重量或长度

④简化活力指数 $VI=G \cdot S$ (不能每天记载发芽种子数时采用)



甲 $VI=96 \times 4.1=393.6$

乙 $VI=96 \times 5.6=537.6$

种子活力 乙>甲

⑤高峰值 $PV= \frac{\text{达峰值的累计发芽率}}{\text{达峰值的天数}}$

(Peak Value)

甲 $PV= \frac{3+10+30+50}{6} =15.5$

乙 $PV= \frac{11+30+40}{5} =16.2$

种子活力 乙>甲

⑥平均发芽日数

$$\text{发芽速率 (日)} = \frac{\sum (\text{Gt} \times \text{Dt})}{\text{发芽率}}$$

$$\text{甲 发芽速率 (日)} = \frac{3 \times 3 + 10 \times 4 + 30 \times 5 + 50 \times 6 + 3 \times 7}{96} = 5.35$$

$$\text{乙 发芽率 (日)} = \frac{11 \times 3 + 30 \times 4 + 40 \times 5 + 10 \times 4 + 5 \times 7}{96} = 4.67$$

平均发芽日数 甲 > 乙 活力 乙 > 甲

(2) 种苗生长和种苗评价测定

① 种苗生长测定 (Seedling growth test)

适用于直立胚芽或胚根的作物

}	禾谷类
	莴苣 甜菜

② 种苗评价测定 (Seedling evaluation test)

适用于大豆、棉花、花生、豌豆等大粒种子

2. 逆境试验测定

该法是将种子置于不同的逆境条件下处理，高活力种子抗逆力强，经逆境处理后仍能萌发，其结果与田间出苗率较为一致。

(1) 加速老化测定 (Accelerated aging test)

原理：是将种子置在高温高湿条件下加速老化，劣变程度在几天内相当于数月或数年之久，活力低的种子很快失去发芽能力或不能形成正常幼苗，高活力的种子经老化处理后仍能形成正常幼苗，依此来判定种子活力。

方法：利用老化箱，**RH100%**，温度与处理时间因作物不同而异，通过普通发芽试验鉴定正常苗（高活力种子）

2010-3 **注意：**老化开始时，各种子批样品的含水量应相近

(2) 控制劣变测定 (Controlled deterioration test)

适合于小粒蔬菜种子，应严格控制老化的温度与时间。

测样品水分 → 取400粒种子称重 → 种子盒种子吸湿至



10°C下过夜

使水分均匀

密封的铝盒内

45°C 24h

→ 普通发芽试验 → 鉴定

胚根显露时，种子为发芽，发芽率高的，种子活力亦高。

测定结果与田间出苗率相关显著

(3) 低温测定 (cold test)

主要适用于喜温作物，如玉米、棉花、大豆等。

是在发芽试验前期用低温处理种子，经普通发芽试验后判定种子活力高低，高活力种子经低温处理后仍能形成正常幼苗，而低活力的种子则不能形成正常幼苗。

按普通发芽试验方法置床 → **10°C 7天** → 移入正常温度下交替光照 (**12h 黑暗, 12h 光照**) → 鉴定高低活力幼苗

3. 生化测定

(1) 电导率测定 (Electrical conductivity test)

适用于豌豆、大豆、玉米、棉花等种子

原理：高活力种子细胞膜完整性好，浸入水中后渗出的可溶性物质和电解质少，浸泡液的电导率低；反之、低活力的种子细胞膜完整性差，浸泡时就会使细胞内的可溶性物质外渗、浸泡液的电导率高，依此来区分种子活力高低。

方法：取试样**50~100**粒种子，两次重复——→ 分别称重
 ——→干净烧杯 + **250mL**无离子水 + 盖——→ **20℃24h**——→ 测定
 （另一只烧杯 + **250mL**无离子水 **CK**）

电导率仪

样品较少时将电极直接插入待测液
 样品较多时可将种子与浸出液分离
 后测定，避免因浸种时间不同而引起误差。

结果表示

$$\left(\frac{\text{I-CK}}{\text{I 种子重 (g)}} + \frac{\text{II-CK}}{\text{II 种子重 (g)}} \right) \div 2$$

单位： $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$
 微西门子/cm·g
 $\mu\text{v}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$
 微姆欧/cm·g

结果处理 重复间差 $>4\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 时应重做

当样品的电导率为 $30\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上时，

允许差值 $5\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$

影响因素

①水质：应用无离子水

蒸馏水电导率值大于 $20\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ 时不能用

②浸泡温度和时间： 20°C ， 24h ，温度、时间变化均影响结果

③种子微损伤：损伤种子浸泡液电导率高，故不能作为样品

(2) 四唑测定

- ①原理：同生活力测定，活种子胚部的三苯基甲 可用乙醇或丙酮提取出来，在分光光度计上测定其光密度值，光密度值高，说明TTCH含量高，种子活力高。
- ②方法：按TTC测定种子生活力的方法处理种子→提取→测定（490nm，以95%乙醇或丙酮为CK）→比较确定种子活力高低
- ③利用标准曲线（Na₂S₂O₄），计算每克样品中TTCH的含量。

$$A=100C/W$$

A——每克样品TTCH含量 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

C——从曲线中查得TTCH浓度 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

W——样品重（g）

100——提取液定容体积

选用活力测定方法应考虑

- A** 所用测定方法能真正反映该批种子的活力水平
- B** 所用测定方法简单易行，成本低
- C** 所用测定方法测定结果有重演性
- D** 所用测定方法快速及时

第四节 品种纯度检验

一、品种纯度检验概述

(一) 品种纯度 (Cultivar purity) 的含义

品种纯度检验的含义 { 真实性 (genuineness of
一致性 (品种纯度)

首先鉴定真实性,在此基础上鉴定品种纯度

真实性:是指该批种子所属品种的特征特性与所附的文件(品种说明、标签等)是否相符,是否名符其实。

品种纯度：是指一批种子（种子生产田）中个体与个体间在特征特性方面的一致程度，即本品种的种子数（或株穗数）占供检本作物（种）样品数的百分率。

2. 品种纯度**检验的分类**

①田间检验

②室内检验

③田间种植检验

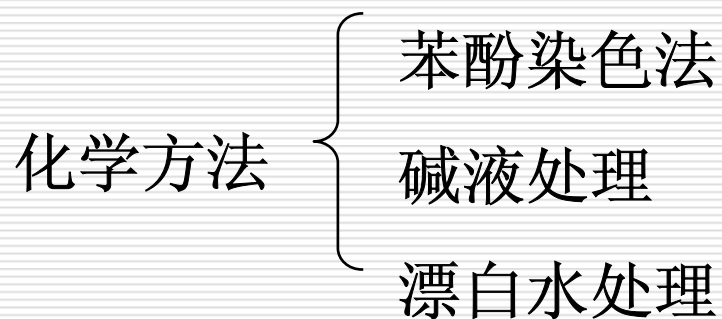
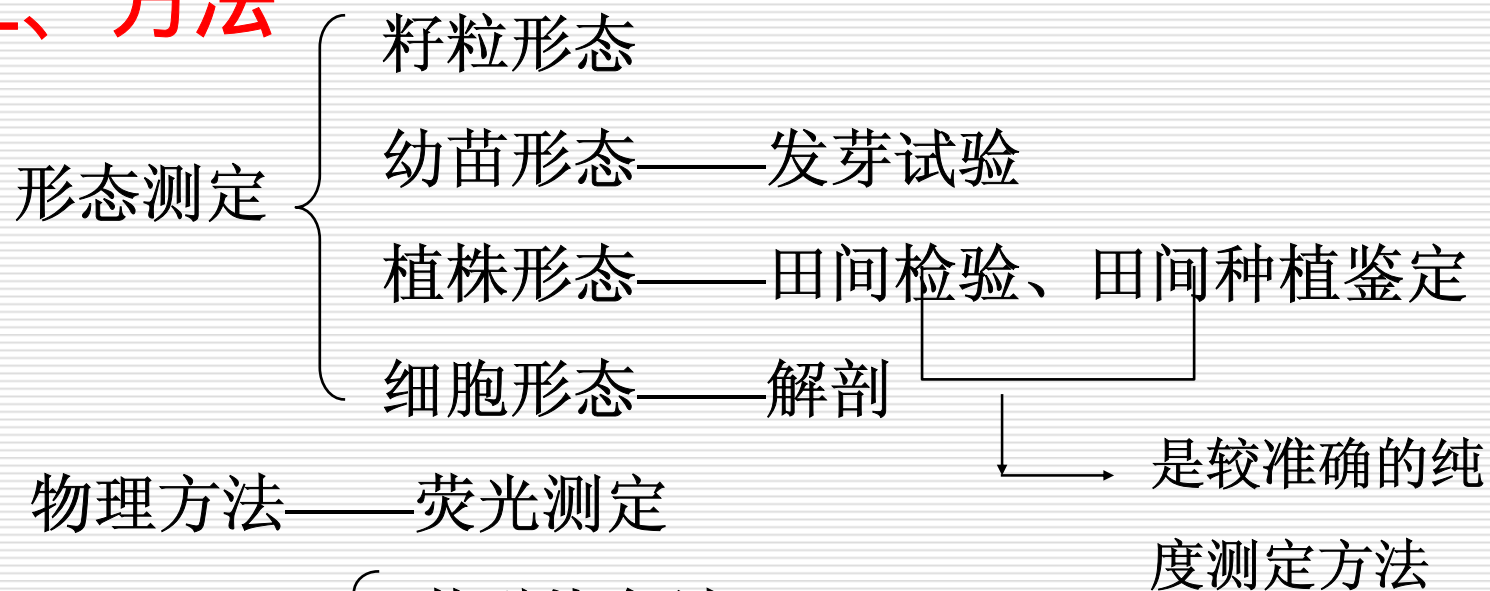
3. 品种纯度**检验的对象**

种子、幼苗、植株等植物或器官

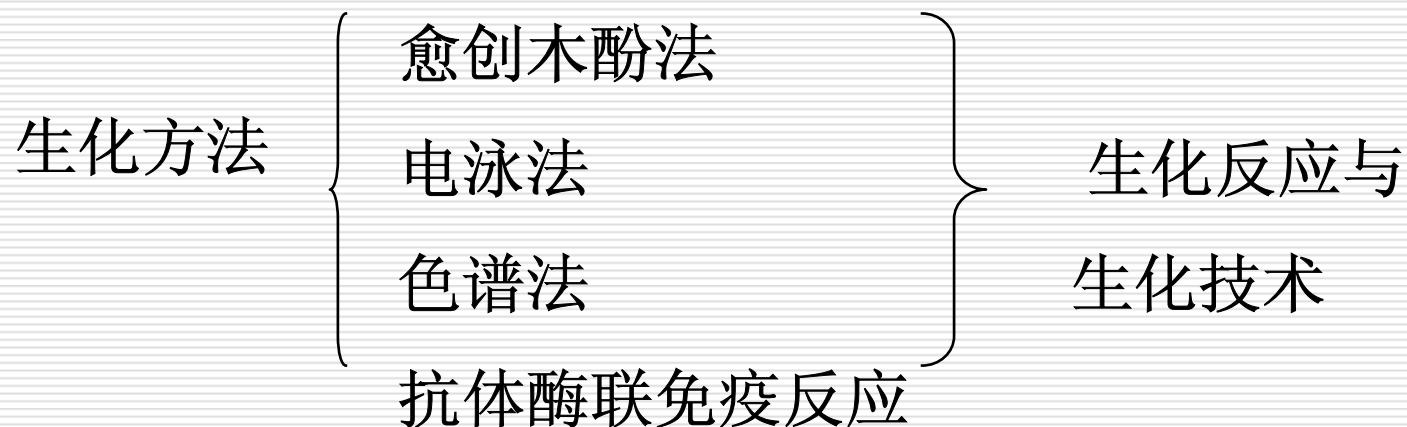
4. 品种纯度检验的意义

- ①防止品种混杂，提高种子质量的一项措施
- ②利于发挥良种特性，保证子代产量和品质
- ③是正确评定种子等级，贯彻优质优价政策的主要依据
- ④鉴定种子真实性,防止假劣种子充斥市场，避免生产上因用种不宜而造成的经济损失
- ⑤在品种登记管理，品种产权保护，品种亲缘关系研究以及遗传多样性研究中都有很高的应用价值。

二、方法



分子生物学方法



分子生物学技术： RAPD 、 RFLP、 AFLP、 SSR等

国家标准：三系杂交水稻及亲本真实性和品种纯度鉴定DNA分析方法已列为（GB/T20396-2006）。

目前采用的**转基因品种检测**

一是采用生物表现型法，即通过培养或种植，观察幼苗或植株是否具有特定的GM（genetically modified）的特定性状。

二是利用酶联免疫方法检测特异蛋白质。

三是利用PCR进行定性或定量测定。

基于PCR的转基因种子样品分析流程是：

根据ISTA规程扦样。

扦样前，扦样器等用具须用吸尘器清扫干净。

准备样品，至少1000粒种子，玉米可用1000g种子，磨碎混匀取粉样，用于DNA提取，PCR定性或定量分析，最后评价和报告结果。

(一)形态测定

1.籽粒形态测定

一般程序：随机取净种**100粒×4**→逐粒观察鉴定（放大镜、立体解剖镜）→区分本品种异品种→计算品种纯度

$$\text{样品纯度} = \frac{\text{供检验种子数} - \text{异品种种子数}}{\text{供检验种子数}} \times 100\%$$

测定的结果（x）是否符合国家农作物种子质量标准值或合同、标签值（**a**）要求可利用表**11-6**判别。

表11-6 品种纯度的容许差距（5%显著水平的一尾测定）

标准规定值		样本株数、苗数或种子粒数							
50%以上	50%以下	50	75	100	150	200	400	600	1 000
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
99	1	2.3	1.9	1.6	1.3	1.2	0.8	0.7	0.5
98	2	3.3	2.7	2.3	1.9	1.6	1.2	0.9	0.7
97	3	4.0	3.3	2.8	2.3	2.0	1.4	1.2	0.9
96	4	4.6	3.7	3.2	2.6	2.3	1.6	1.3	1.0
95	5	5.1	4.2	3.6	2.9	2.5	1.8	1.5	1.1
94	6	5.5	4.5	3.9	3.2	2.8	2.0	1.6	1.2
93	7	6.0	4.9	4.2	3.4	3.0	2.1	1.7	1.3
92	8	6.3	5.2	4.5	3.7	3.2	2.2	1.8	1.4
91	9	6.7	5.5	4.7	3.9	3.3	2.4	1.9	1.5
90	10	7.0	5.7	5.0	4.0	3.5	2.5	2.0	1.6

-
- 如果 $|a-x| \geq$ 容许差距（表**11-6**），说明不符合国家种子质量标准值或合同、标签值要求。
 - 容许差距，可以通过下列公式计算：

$$T = 1.65\sqrt{p \times q / n}$$

- 式中：**T**为容许差距；
p为标准或合同或标签植；
q为**100-p**；
n为样品的粒数或株数。

依据性状

(1) **水稻** 谷粒形状 长宽、大小、稃壳、稃尖色、稃毛长短，稀密、水稻夹持率（不育系及其杂交种）

(2) **玉米** 粒型（马齿型、半马齿型 硬粒型）

粒色（白色、黄色、红色、紫色）深浅

粒顶部形状（长方、长圆、圆）颜色

粉质多少

胚的大小形状、胚部皱褶的有无、多少

花丝遗迹的位置与明显程度

(3) 小麦

粒色(白、红、琥珀)深浅

粒形(短柱、卵圆、椭圆、长圆、圆形)

粒质(角质、粉质)

种脊性状(宽窄、光滑与否)

腹沟(宽窄、深浅)

胚大小、籽粒大小等

茸毛的多少、长短

(4) 大麦

粒形(长宽比) 颜色

腹沟展开程度

浆片长短及茸毛长短

小基刺长短及其茸毛长度

外稃基部皱褶, 侧背脉纹齿状物及脉色

芒的光滑与否

(5) **大豆** 种子大小、光泽

形状（球形、扁球形、扁椭球形）

脐 { 颜色（黄、青、红、褐、黑）
脐色 黄、青、极淡褐、淡褐、褐、深褐、黑
脐形状 圆、椭圆、倒卵圆、肾脏形、脐凹凸

(6) **十字花科** 种子大小

形状（球形、椭圆形）

颜色(白色、黄色、黄褐色、红褐色、黑褐色)

胚根隆起的程度

种脐的形状

种子表面有无附属物、网纹、网脊、网眼

(7) 棉花种子：①用左右分梳法测定棉纤维的平均长度计算

纤维整齐度，估测种子纯度。

$$\text{纤维整齐度}\% = \frac{\text{纤维平均长度} \pm 2\text{mm 以内的棉籽粒数}}{\text{供检棉籽粒数}} \times 100$$

纤维整齐度	90%以上	纤维整齐、纯度高
	80-90%	纤维较整齐、纯度较高
	<80%	纤维不整齐、纯度较差

②测定杂籽%

海岛棉	正常籽	杂籽
	灰绿籽、光籽	白灰籽、畸形籽
陆地棉	白色籽	绿籽（日晒后呈棕色籽）
	灰白色籽	稀毛籽

2. 幼苗形态测定

一般程序 随机取净种子**100粒×4**(条件所限可**2次重复**)

适宜的生长发育条件下，根据幼苗的形态特征区分品种

或在一定的逆境条件下，根据幼苗对逆境的反应鉴定品种

为鉴定**下胚轴、芽鞘、苗端的花青素或紫色素**的发育，所有样品都应种植在无杂质的砂床里。

为鉴定**花色、叶片特征**，并且从播种至抽穗或开花需要较长时间的样品，应播种在惰性砂床里或灌溉土壤里。同时，必须以附加营养进行特别的处理。

生长箱鉴定品种的适合方法（表**11-7**）

^{2010-3,8} 幼苗和植株性状的鉴定方法（表**11-8**）

表11-8 种植在生长箱和温室测定条件下幼苗和植株性状的鉴定方法

高粱和玉米	芽鞘颜色 苗端颜色	出苗至 14天	C, OT
大豆	茎的色素	10~14天	C, OT
	茸毛颜色	21天	C, OT
	茸毛角度	21天	C, OT
	叶形	21天	C, OT
	开花(光周期)	至75天	C
	赛克津敏感性	30天	C
小麦	芽鞘和茎的颜色	7天	C, OT
	抽穗	大约30天	C, OT

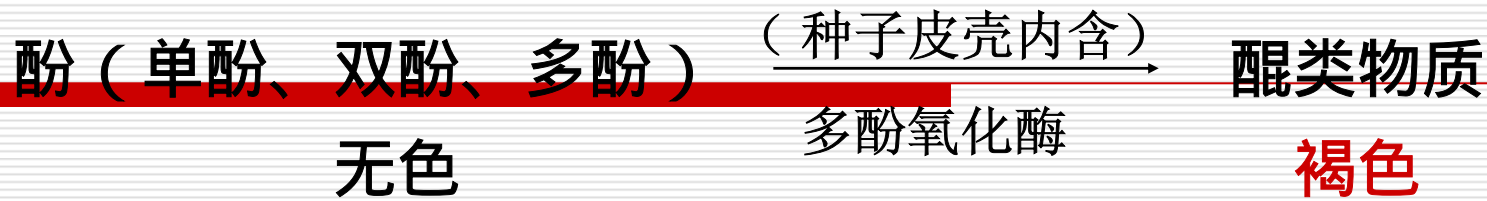
注：1.用于区分栽培品种，以C表示；

2.用于检出异型株，以OT表示；

3.用于区分种(类)，以S表示；

4.用于区分类型，以T表示。

3. 苯酚染色法原理：



不同品种此酶的含量和活性不同

在同一底物（苯酚）浓度
同一反应温度
同一反应时间

生成的褐色醌类物质的多少
不同，种子被染成不同颜色
由不染色到褐色或黑色，据
此区分品种

适应种子：麦类（小麦、大麦、燕麦）水稻

(1) 麦类 ① 国标法：

小麦
大麦
燕麦

种子水浸18—24h→滤纸吸干种子表面水分

腹沟向下摆在
1%苯酚湿润滤纸上 → 室温

小麦4h	观察颖果颜色
燕麦2h	观察内外稃色
大麦24h	

将与基本颜色不同的种子作为异品种

一般染色后的颜色分为五种 不染色、淡褐色、褐色、
深褐色、黑色

②快速法 1%苯酚浸小麦种子15min → 同标准法
→ 30~40 、 0.5~1h → 观察鉴定

注意事项：①滤纸湿润即可，苯酚溶液不可过多

②观察时不要翻动种子

③执行规定的染色时间

④某些小麦品种利用标准法染色后颜色相同无法区别

可用加速或延缓剂处理后再染色鉴定，染色深的用**0.3% Na₂CO₃**浸种**18h**（室温），对染色很浅的用**0.01% CuSO₄**浸种**18h**，然后置培养皿内染色。

(2) 水稻

水浸稻种**6h**→**1% 苯酚溶液**浸稻种**12h**（室温）→清水冲洗种子→将种子置于湿滤纸上**24h**→观察鉴定

谷粒 不染色、淡茶褐色、茶褐色、黑褐色、黑色五级

米粒 不染色、淡茶褐色、褐色三级

4 种子纯度的电泳测定

(1) 种子纯度电泳测定的发展

国外 1961年德国**H.Stegemann**博士利用**PAGE**对马铃薯块茎组织蛋白质谱带进行了研究

1966年**Nilson**等利用蛋白质和同工酶淀粉凝胶电泳对2个春性大麦变种进行了研究

1983年**R.J.cook**电泳鉴定燕麦、大麦品种

1974年**D.Smith**用同工酶电泳对玉米品种进行鉴定

1984年**wilson**利用等电聚焦（**IEF**）对玉米醇溶蛋白进行分析

1991年**Orman, B.A.**用同工酶电泳评价玉米自交系的遗传纯度

2010-3-8

J.M.Hughes(1992)利用**IEF**区分向日葵和高粱的栽培品种
chevre,A.M. (1991) 利用同工酶电泳鉴定油菜品种等。

国内

颜启传（**1979**）利用电泳技术鉴定水稻三系及其杂交种的真实性与纯度

黄亚军（**1983**）用**IEF**进行芸苔属品种鉴定的研究；

郑州粮院利用玉米蛋白电泳技术鉴定玉米种子纯度；

本校种子教研室开展了利用玉米过氧化物酶同工酶（**1985**）和种子蛋白（**1992**）鉴定玉米种子纯度的研究棉花种子水溶性蛋白鉴定棉花种子纯度的研究工作，

许多学者开展了西瓜同工酶，黄瓜同工酶（苹果酸脱氢酶）十字花科酯酶同工酶电泳谱带在亲本和杂种一代间的差异研究。

(2) 电泳技术在作物种子纯度鉴定上的应用

大小麦醇溶蛋白电泳已列入国际种子检验规程，我国亦将该法列入95国家种子检验规程。

玉米种子蛋白电泳在国内已有行业标准和地方标准

(3) 电泳法测定种子纯度的原理

①**遗传基础** 电泳法测定种子纯度主要是以蛋白质和同工酶作为电泳对象，找出品种间差异的生化指标，依此区分品种。为什么？

根据遗传中心法则 **DNA** $\xrightarrow{\text{转录}}$ **RNA** $\xrightarrow{\text{翻译}}$ 蛋白质(酶)

研究利用在品种间存在并差异的那种蛋白质或同工酶作为电泳对象——区分品种的生化指标。

利用同工酶作为电泳对象具有一定的局限性

同工酶具有组织或器官的特异性

同工酶的提取、电泳条件较蛋白质严格，操作不便，

②聚丙烯酰胺凝胶电泳的原理（连续系统）

分子筛效应

Acr和交联剂**Bis**在催化剂的作用下聚合成三维网状结构的凝胶，凝胶孔径的大小与凝胶浓度有关，凝胶浓度增大，孔径变小。

当不同分子量和不同形状的蛋白质分子通过一定孔径的凝胶时，所受的阻力不同，小分子蛋白质受到阻力较小，大分子蛋白质受到阻力较大，即分子筛效应。

蛋白质分子量	凝胶浓度
$1 \times 10^4 \sim 10^5$	15~20%
$1 \times 10^5 \sim 10^6$	10%±
1×10^6 以上	5%

电荷效应 蛋白质（酶）为两性电解质

不同的pH条件下所带电荷多少不同；

不同的蛋白质酶等电点pI不同，在同一pH条件下所带的电荷也不同。

pI与溶液pH相差越大，蛋白质所带电荷越多。由于蛋白质带的电荷多少不同，在电场中受到的作用力的大小不同，带电荷多，受到的作用力就大，移动的就快，反之则慢。

描述蛋白质泳动速度的指标

迁移率 $m=dl/vt$ 单位 $cm/V\cdot S$

式中 d — pro (谱带)移动距离 cm

l —凝胶的有效长度 cm

v —电压 (伏)

t —电泳时间 (s)

相对迁移率 $R_f = \frac{\text{谱带在分离胶上的迁移距离}}{\text{前沿指示剂在分离胶上的迁移距离}}$

(4) 电泳所需样品的数量

应根据样品的混杂率和要求的概率水平来定一般测**100**粒；

若只作真实性测定，可**50**粒。

(5) 电泳的一般过程：（录像）

①配制溶液

样品提取液、凝胶溶液和电极缓冲液都应根据电泳对象确定。

②制胶

③样品提取

④上样电泳

⑤染色分析鉴定

第五节 种子水分测定

一、种子水分及其测定意义

1. 种子水分的含义：亦称种子含水量，是指种子样品中含有的水分重量占种子样品重的%。

表示

以湿重为基数 $H_2O\% = \frac{\text{样品重} - \text{烘干样品重}}{\text{样品重}} \times 100\% \quad (\text{常用})$

以干重为基数 $H_2O\% = \frac{\text{样品重} - \text{烘干样品重}}{\text{烘干样品重}} \times 100\%$

2. 种子水分的存在形式及其性质

(1) 自由水

存在于种子细胞间隙中，具一般水的性质（100℃ 沸点，0℃ 结冰）易蒸发和外界环境呈动态平衡。

与贮藏检验的关系：

影响种子的安全贮藏；

影响水分测定结果的准确性，在水分测定前和测定过程中要尽可能防止这部分水散失，**是种子水分测定的对象。尤其是高水分种子。**

(2) 束缚水

与种子中的亲水胶体紧密结合，如与蛋白质、糖类、磷脂等，不具一般水的特性，不易蒸发，也不易受外界环境条件的影响。

与贮藏检验的关系：

低恒温条件下较难烘出

高温烘干必须严格掌握规定的烘干温度和时间

也是种子水分测定的对象

3. 影响种子水分测定结果正确性的种子内含物

(1) 化合水：是种子中化合物的组成成分，如糖类分子中含有一定比例的水分子，失掉后糖类就会变质。在测定种子水分时，要**防止**这部分水分蒸发出来，否则测定结果偏高。所以**高温烘干**测定种子水分要**严格掌握规定的温度和时间**。

(2) 易挥发性物质：如不饱和脂肪酸，不饱和脂肪酸易氧化，使不饱和键上结合氧分子，增加了样品重量，芳香油，汽化点低，受热汽化而蒸发烘干重增加，测定结果偏高，对这类含易挥发性物质的种子应采用**低恒温**烘干测定水分。

4. 种子水分测定的意义

(1) 正确及时测定种子水分是保证种子安全贮藏的必要措施

高水分种子不耐藏

呼吸作用旺盛 → $O_2 \downarrow$ $CO_2 \uparrow$ 无氧呼吸
种温 \uparrow 贮藏物质 \downarrow

易遭冻害

熏蒸时易受药害

(2) 根据种子含水量确定适宜的堆放方式

散装	水分低	堆高可高
	水分高	堆高应低、种堆表面开沟，通风设备
袋装	水分低	实垛
	水分高	通风垛

(3) 根据种子水分确定种子能否入库和调运

分级标准规定	小麦、玉米	13%	高于此值不能入库
	棉花	12%	
	花生	10%	

收购入库前、包装调运前、药剂熏仓前、贮藏期间测种子水分（三前一间）

二、种子水分测定的方法

烘干法 { 低恒温烘干法 (103±2 ,8h)
高温烘干法 (130~133 ,1h)
高水分种子预先烘干法 } 标准法

电子仪器 { 电阻式: TL-4型粮食快速水分测定仪
电容式 { PM5012 } 日本
PM888 }

甲苯蒸馏——测定特殊样品时采用

(一) 烘干法

1. 干燥原理 仪器——电热干燥箱

电热丝发热 $\frac{\text{对流}}{\text{传导}}$ → 箱内温度↑ 湿度↓ 同时 样品温度↑ 水分汽化蒸发。

由于样品内的蒸汽压大于样品外的蒸汽压，样品水分不断向外扩散，通过烘箱通气孔向大气中扩散。

2. 仪器设备

(1) 电热干燥箱

构造

使用——烘干样品

(2) 电动粉碎机：磨碎样品

种类 { 滚刀式
磨盘式

性能要求

密闭性好，转速均匀，可调至规定细度，不至磨碎材料发热，使空气流动引的水分散失降低到最小限度。

(3) 干燥器——冷却烘盒与样品

干燥剂 变色硅胶

颗粒状 兰色 $\xrightleftharpoons[\text{干燥}]{\text{吸湿}}$ 粉红色 吸湿率31%

70

粉末状 无效

氯化钙 CaCl_2 白色 $\xrightleftharpoons[\text{干燥}]{\text{吸湿}}$ 白色
130 °C

(4) 烘盒 规格 4.5~4.6cm, 高2~2.5cm

样品重 4.5~5.0g

标准 样品在烘盒内厚度 $0.3\text{g}/\text{cm}^2$

烘盒使用前洗净、烘干、干燥器中存放备用。

2010-3-8 (5) 感量1/1000天平—称量

(6) 磨口瓶—盛样品

(7) 粗棉纱线手套—操作时带

(8) 牛角匙、毛笔等

3. 测定方法

(1) 低恒温烘干法 $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 8h

(low constant temperature oven method)

测定作物种类 葱属、大豆、花生、棉花、萝卜、芸苔、向日葵、辣椒、茄子、芝麻、等油料作物种子及含有易挥发性物质的种子。

工作室条件 RH<70%

测定步骤

① 预调烘箱温110—115 (烘箱的使用)

② 制备样品

送验样品 需磨碎 100g > 除去大杂和其它杂质
其它 50g

→混合→取样20-30g→磨口瓶→处理

燕麦、水稻、甜荞、黑麦、高粱属 } 50%通过0.5mm筛孔
小麦属、玉米、苦荞 } 90%通1.0mm筛孔

大豆、菜豆属、豌豆属、西瓜、巢菜—50%通过4.0mm筛孔

蓖麻、棉属、花生 —— 磨碎或切成薄片

③称量 称盒重 + 样品称重**4.500~5.000g**(天平**1/1000**)

两次重复→记盒号、盒重、摊平样品

④烘干 入**110~115℃**烘箱内，距温度计水银球
2~2.5cm，**103℃ ± 2℃** 计时**8h**→戴手套取出烘盒盖好盒盖→
干燥器中冷却

⑤称重、计算结果

$$\text{种子水分}\% = \frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} \times 100$$

式中：**M1**—样品盒和盖的重量（g）

M2—样品盒和盖与试样烘前重（g）

M3—样品盒和盖与试样烘后重（g）

(2) 高温烘干法

(high constant temperature oven method)

测定作物种类：玉米、大小麦、水稻、黍属、豌豆、荞麦等粉质种子。

预调烘箱温度140-145

烘干温度130-133 时间1h

测定方法步骤同低恒温烘干法

注意事项 严格掌握烘干温度和时间，一旦温度过高时间过长，化合水散失，样品呈焦黄色，测定结果偏高。

(3) 高水分种子预先烘干法 (predrying)

适用 需磨碎 { 粮食作物种子水分超过**18%**
油料作物种子水分超过**16%**

原因 种子水分含量高时很难磨至规定细度，若磨至规定细度，易引起水分散失，影响结果正确性。

方法 第一次烘干 取整粒种子**25g×2**→直径≥**8cm**烘盒内

→预烘 { 粮食作物 **103 30min**
油料作物 **70 °C 1h** } 根据作物种类确定

第二次烘干 { 低恒温烘干
高温烘干 } 冷却 (室温) →称重

计算：种子水分%=S1+S2- $\frac{S_1 \times S_2}{100}$

S1-第一次测得水分%

S2-第二次测得水分%湿重为基数

4. 结果处理 两次重复容许差距0.2% 精确度0.1%

两次重复的差超过容许差距，应重做。

5. 电子仪器法

(1) 电阻式水分测定仪

基本原理 种子在电路里作为一个电阻，在一定的范围内种子含水量高，溶解的物质增多，电离度增大，电流较大，反之则小。

仪器读数盘是非均匀分割 种子水分与电流之间并非完全直线关系。

测量范围 种子水分太低，相当于断路，种子水分太高，相当于短路。玉米8—18%，小麦9—20%。

每种作物都有特定的刻度盘 种子化学成化不同，含有相同水分时，其自由水和束缚水的比例不同，溶解的可溶性物质的多少不同，电阻不完全一致。

⑤校正 样品电阻大小受待测温度的影响，温度高离子运动加快，电阻降低，测定结果偏高，反之则低。当待测样品温度非**20** 时，需对读数进行校正。

实际水分%=读数值+**0.1**（**20**-实际温度）

⑥构造 **TL-4**型粮食水分测定仪

⑦使用（略）

(2) 电容式水分测定仪

①测定原理 是将种子放在电路里，作为电容的一个组成部分。由于电容量 $C = \epsilon S/d$ ，当 S （样品量）和 d （两板间的距离）一定时，电容量随介电常数的变化而变化。

介电常数 ϵ

空气	1
干物质	10
水	80

水的微小变化就可引起电容量的变化，故测得电容量的变化，就可间接测得种子水分

②仪器：PM5012

③使用（略）

(3) 电子仪器使用注意事项

- ①新购进或长期搁置不用的仪器使用前必须与标准法核对。
- ②待测样品不含杂质，水分不能过高或过低，外表不得沾附水分，样品不可过多或过少，按要求取样。
- ③测量完毕，应关闭电源，若长期不用应将电池取出。