

種子活力檢測 技術介紹

許鑄云¹、黃玉梅²

一、前言

種子是植物遺傳訊息的載體之一，亦是作物生產最基本的要素，其活力的好壞直接影響植株生長發育和田間表現。國際種子檢查協會(International Seed Testing Association, ISTA)在 2011 年所發行之國際種子檢查規則將種子活力定義如下：

- (1)種子發芽與幼苗生長之一致性表現；
- (2)種子於不良環境下之發芽能力；
- (3)種子儲藏期間之表現，特別是發芽能力的保持。

種子活力受許多因子影響，影響種子發芽活力的環境條件包括：土壤水分含量、土壤養分含量、土壤溫度、大氣溫度、大氣溼度等。另外，種子採收期及收穫後的調製過程包括：乾燥、脫粒、精選及包裝等所造成的機械損傷，以及種子儲藏條件包括：儲藏溫溼度條件、儲藏時間長短及種子類型等均會對種子活力造成影響。綜括上述，種子活力的高低主要是由(1) 遺傳因素，(2) 種子發

育、成熟、採收、加工和儲藏等條件，以及(3) 種子萌發環境三方面決定(劉，1988；Adam *et al.*, 1989)。高活力種子發芽早、出苗整齊迅速，對不良環境的抵抗力強，具有明顯的生長優勢和生產潛力。低活力種子在適宜的環境雖然能發芽，但是發芽緩慢，在不良環境下出苗不整齊，甚至不出苗。

伴隨著種子成熟，其體內之澱粉、蛋白質等物質逐漸累積，種子發芽率及活力也逐漸升高，至生理成熟期達到高峰，其後經歷活力下降的不可逆反應，這些不可逆變化的綜合效應稱為劣變(*deterioration*)或老化現象(*aging*)。當種子一旦達到生理成熟期後，便開始產生劣變過程，活力便會逐漸降低；在種子活力下降初期，雖不影響種子發芽率，但卻能影響幼苗生長勢，而一直至種子劣變後期，種子發芽率才會下降(劉，1988；Delouche and Caldwell, 1960)。由於發芽率試驗是在最合適的室內條件下進行，並無考慮影響種子田間出苗的各種因素，故無法評價種子對環境因素的忍受能力，

1 行政院種苗改良繁殖場種苗經營課 助理研究員

2 行政院種苗改良繁殖場種苗經營課 研究員兼課長

而種子活力檢測為評估種子於各種環境下的活性表現，尤其在不良環境下，更能據以評斷種子質量的好壞，因此種子活力檢測可為發芽率試驗提供額外資訊以協助區分各批種子品質情況。

種子活力檢測技術主要可分成2種：

- (1)直接試驗：在實驗室製造環境壓力或其他環境條件，並記錄幼苗萌芽的百分比及速率；
- (2)間接試驗：測量已經被證實與種子生長表現有關的生理生化特性。本文主要介紹數種已廣為通用之種子活力檢測法及新穎種子活力檢測技術－「Q2 種子活力測定法」。

二、種子活力檢測技術

(一)四唑檢定法(Tetrazolium test, T.T.C.法或 TZ 法)

此法主要依據種子生理代謝功能進行測試，使用指示劑為一種無色三苯基四唑氯鹽(2,3,5-triphenyl tetrazolium



圖 1、四唑檢定法-小麥種子(Tetrazolium test, T.T.C.法或 TZ 法)

chloride)(或溴鹽)水溶液。當水溶液被種子吸收後，在種子組織內可與活細胞發生還原作用，並從脫氫醇素中獲得氫氣，產生紅色不透性之三苯基化物，藉此分辨紅色活力組織和無色死亡組織(圖 1)。根據胚或胚乳或配子體組織的染色部分和大小即可決定種子活力之有無，此外若有微生物存在於種子組織中，也可能被染色進而影響結果。T.T.C.法用在種子是否為休眠狀態及機械損傷具很大辨識功效，且已普遍應用於許多農藝、園藝及林木種子。

(二)電導度法(Conductivity test)

種子活力下降和細胞膜的損傷有關，當種子老化或劣變時，細胞膜解體發生，造成溶質外滲，因此測量浸種液的導電度可用以評估種子組織溶質滲出的程度。當浸種液的導電度值較高，表示有大量電解質滲出，可視為低活力表現，而滲出量少者(導電度低)可視為高活力表現。ISTA國際種子檢查規則(2011年版)已公告適用本法進行種子活力檢測的作物及其檢測方法，包括豌豆(*Pisum sativum*)、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)及大豆(*Glycine max*)等。

(三)人工加速老化法(Accelerated ageing test)

此方法為以人工製造不適宜種子生長的环境，測定種子活力狀況。操作時將種子暫時置於高溫(40~45°C)及高溼

研究成果

度(相對溼度 100 %)環境下，種子因吸收環境中的水氣，加以配合高溫提高種子含水量而加速種子老化。由於高活力種子可以承受極端逆境條件，老化速度比低活力種子慢，因此，在加速老化試驗後，高活力種子較低活力種子可維持較佳狀態。目前 ISTA 國際種子檢查規則(2011 年版)已公告大豆(*Glycine max*)標準加速老化活力檢測法。

(四) 酵素活性測定(Enzyme activity test)

種子老化過程中產生有害的自由基和過氧化物，造成種子品質下降。種子含有可用以清除自由基及过氧化物的過氧化酵素(POD)、超氧歧化酵素(SOD)、過氧化氫酵素(CAT)及穀胱甘肽還原酵素(GR)等酵素，惟此防禦機制會隨著老化時間增加而減弱，因此，藉由偵測種子內上述之酵素含量多寡，可反映種子活力狀態。

(五) Sinapine 測定法

Sinapine 為十字花科作物種子內主要之酚類化合物，此化合物於低活力或不具活力甘藍(*Brassica oleracea*)種子會滲出而產生青綠色螢光物質。在種子老化過程中，因細胞膜損傷，造成細胞內溶質外滲。當十字花科種子老化，具有 sinapine 的有機質滲出，即在種子周圍產生螢光，sinapine 測定法即依據此螢光強弱判斷十字花科種子活力。(宋等, 2007)

三、Q2 種子活力測定法

Q2 種子活力測定法可有效縮短測定時間，如番茄可由傳統發芽試驗 14 天縮短至 5~7 天，大豆由 8 天縮短至 1~2 天。目前已成功應用於檢測番茄(Chen *et al.*, 2010)，玉米(Zhao *et al.*, 2009)...等作物上，為種子活力快速之檢測技術。

(一) 測定原理

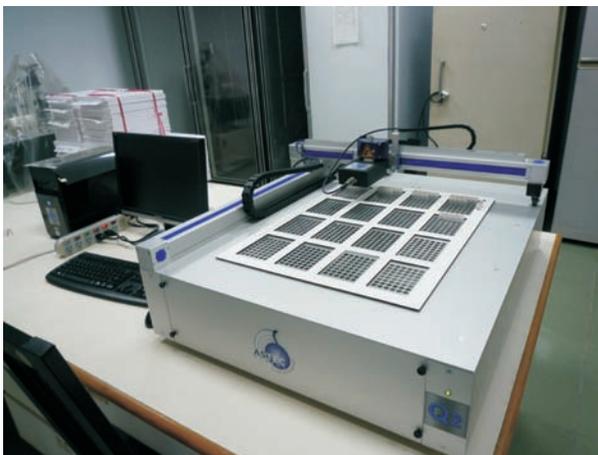


圖 2、48 孔盤之 Q2 種子活力測定儀(左)

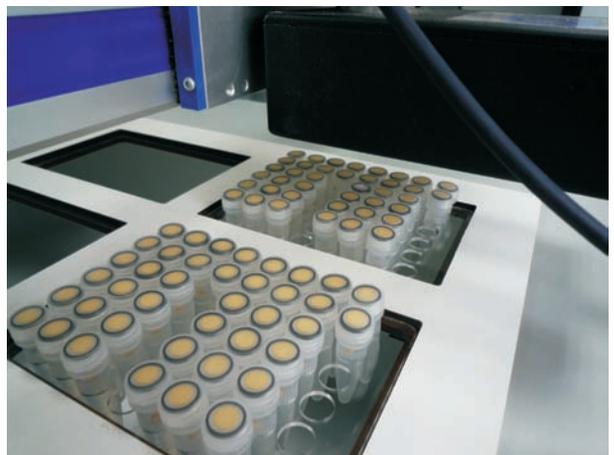


圖 3、正在進行偵測的感測器(測試管蓋上黃色部分為特殊螢光膜)(右)

種子儲藏物質經由呼吸作用產生能量且提供大量中間產物做為種子生理生化代謝之基質，因此，一般種子之發芽率、生長勢和其耗氧量具相關性(Bewley and Black, 1994)，Q2 種子活力測定法即藉由偵測單位時間內種子耗氧量多寡測定種子活力情況。

本儀器(圖 2)氧氣測量方式是利用感測器偵測密閉測試管中的氧氣消耗量，測試管蓋內側塗有一層特殊螢光膜可將感測器發射出的藍色螢光吸收，並轉換成紅色螢光再傳回感測器，其傳回的紅色螢光強度愈大，代表測試管內氧氣濃度愈低。因此當測試管中種子開始進行呼吸作用，管內氧氣濃度逐漸下降時，傳回的紅色螢光也會隨之增強(圖 3)。由於測量氧氣過程並未破壞種子結構，完成測試之種子仍可進行後續相關幼苗試驗。為維持儀器測試之穩定性，測試時室溫應保持穩定狀態，最適溫度為 20°C，

惟室溫控制仍可依不同種子發芽溫度需求予以調整，調整範圍為 10~35°C。

(二)測試方法

本儀器每次測試最多可放置 16 個測定盤，依測試種子大小有 24、48 及 96 孔等規格之測定盤可供選用。24 孔測定盤孔徑最大，適合放置玉米、瓜類、豆科等大粒種子，48 孔測定盤適合放置水稻、高粱、小麥等種子，96 孔測定盤孔徑最小，適合放置十字花科、茄科等小粒種子。此外，依種子外部型態需選用不同規格之測試管，例如：適用 48 孔測試管之種子，可依其外部型態差異選用 0.5ml、1.5ml 及 2.0ml 之不同規格測試管。

每測試管只放置單粒種子，為維持測試管內溼潤環境，置入種子前，測試管可添加洋菜膠或溼潤濾紙或直接加水，種子置入後鎖上測試管蓋，放置於測定盤上，隨後依不同作物種子設定測試條件(溫度、試驗時間、感測器偵測間隔時間...等)(圖 4)，設定後感測器會自動偵測測試管氧氣濃度。影響本儀器測試結果之因子如下：

1. 水分供給

主要方式有：(1) 直接將水加入測試管，(2) 測試管內放入濕潤濾紙，(3) 先放入洋菜膠，待凝固後再放種子，不再添加水分，(4) 種子預先進行浸潤處理等，其中以添加洋菜膠為宜，因可避免

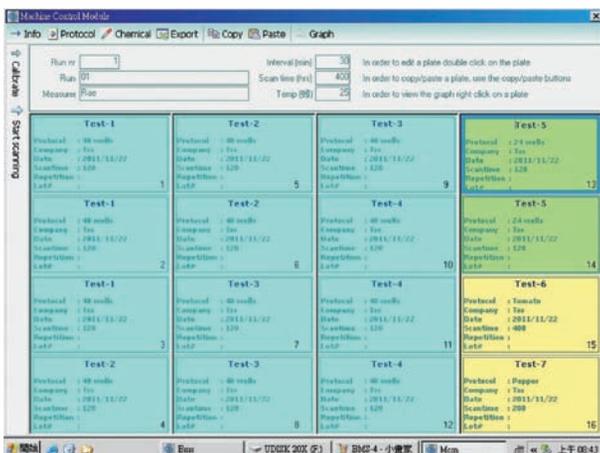


圖 4、Q2 分析軟體 - 16 盤測定盤，不同孔盤可用不同顏色區分

種子長時間浸水而缺氧，且因測試期間不可打開管蓋，洋菜膠較其他方式可維持水分至試驗結束。一般洋菜膠濃度為 0.3~1.0 %，若濃度太低易造成整粒種子進入洋菜膠而缺氧，若濃度太高造成胚根不易穿透洋菜膠而無法吸水。

2. 剩餘空間

測試管中扣除種子及洋菜膠容量，剩餘空間則為種子可利用之全部氧氣含量，當管內氧氣消耗殆盡，儀器會分析數值並轉換成氧氣消耗曲線。若剩餘空間過小，管內氧氣不足造成偵測數值不完全；若剩餘空間過大，為使能得完整氧氣消耗曲線，需花費較長測試時間。因此，須根據不同作物種子大小選擇適當的測試管規格，並配合調整洋菜膠容量。

3. 藥劑處理

一般種子經過調製包裝等各種處理後，其表面可能會攜帶病原。為減少病原影響氧氣含量偵測，需預先進行藥劑處理。藥劑處理主要方式有乾拌及浸種等。

4. 種子放置

種子放置方式需確保種子發芽時胚根能接觸到洋菜膠，進而吸收到水分。尤其水稻、玉米、瓜類等較大型種子放置時，需注意胚根突出端朝向洋菜膠。

5. 休眠處理

依據不同作物種子特性及發育狀態，有些種子在進行發芽試驗前需進行打破休眠之預前處理，惟經預前處理之種子內部生理生化已發生，甚至可能導致胚根突破種皮，造成無法偵測種子耗氧起始情況，因此進行 Q2 試驗之休眠種子需依休眠原因考慮是否予以休眠處理。

(三) 測定結果分析

1. 測定曲線分析

「Q2 種子活力測定儀」分析判別之資訊可呈現 W(錯誤)、L1(死亡)、L2(休眠)、L3(發芽直線：氧氣曲線為直線，但出現一組氧氣消耗值)、S1(不完全曲線：氧氣曲線至時間停止時，僅跑至一半並未達到終點)、S2(忽略值：氧氣曲線呈正常反 S 型，但出現至少一組反常 ASTEC 偵測值)及 S3(正常反 S 型氧氣曲線)等曲線(表一)。每一曲線代表單粒種子活力測定結果，根據各個測定曲線可作為該批種子活力判定之參考。

2. ASTEC 值

ASTEC 值係根據 Q2 分析偵測後的數值轉換為 5 個不同的參數。透過種子氧氣消耗量變化，用以顯示種子不同階段的代謝反應，並藉此判斷種子活力情況(表二)。

(1) IMT(increased metabolism time)

種子胚根突破種皮前階段(imbibition)之代謝時間，以小時為單位。種子種皮

結構及滲透能力、種子自身代謝能力均會影響 IMT 值。IMT 數值愈低，代表種子胚根愈快突破種皮、活力愈高。IMT 值亦可顯示種子打破休眠時所需時間。

(2)OMR(oxygen metabolism ratio)

OMR 值代表種子在單位時間內消耗之最大值氧氣量(種子氧氣代謝速率)，單位為單位小時內百分比氧氣含量。OMR 值愈高代表種子活力愈高，表示種子需要更多能量以應付旺盛的代謝活動。

(3)QT50(time till 50% oxygen consumption)

種子達到 50% 氧氣消耗量所需之時間，單位為小時。QT50 值反映種子發芽速度，當 QT50 值愈低時，表示種子代謝速率快、活力愈高。

(4)RGT(relative field emergence)

RGT 值為時間預測值，代表在氧氣充足下種子開始消耗氧氣到終止消耗所需的時間，以小時為單位。當 RGT 值愈低時，種子發芽速度愈快、活力愈高。此值可反映種子實際發芽情況，並可更進一步判斷種子田間生長情況。

(5)HOM(homogeneity)

HOM 值可視為 RGT 值之延伸，表示一批種子發芽時間之接近程度，當 HOM 值愈低，代表此批種子所需發芽時間愈相近，發芽整齊度愈高，可用於種子田間生長之整齊度預測。

四、結論

提供優良種子係種苗界相關產、官、學者共同之目標，生產優良種子各環節環環相扣。在種子發育階段必須使種子活力達到遺傳的潛在高峰；在採收調製過程必須在種子最適期採收，並避免種子調製過程發生機械傷害；種子調製後應做好貯存工作，以保持種子活力；在播種前適時進行種子預措以提高種子活力(劉，1988)。因此，為確實掌握種子活力狀況，以即時進行後續相關處理，建立快速及準確度高的種子活力檢測技術是為種子檢測技術研發重要課題。

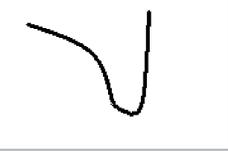
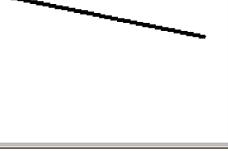
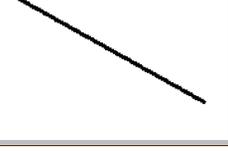
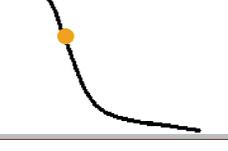
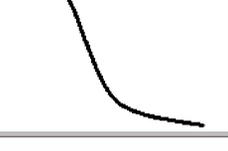
現今種子活力檢測方法均存在著些許缺點，如傳統發芽率試驗時間太長，短至 7 天如玉米，長至 28 天如草莓，且測試結果與田間表現偶有落差。T.T.C. 法、電導度法及人工加速老化法則無法一次大量偵測，檢測完後的種子已被破壞無法利用等。此外，T.T.C. 法主觀意識太強，不同人判別可能有不同結果。相較於上述檢測方法的缺點，Q2 種子活力測定法不但以少量種子進行大量檢測，且在短期內即可得測試結果，在應用上於同次試驗可同時比較不同處理技術、採收時間或儲藏時間之不同批種子活力狀態及檢測後的種子可移出測試管進行後續相關試驗。

研究成果

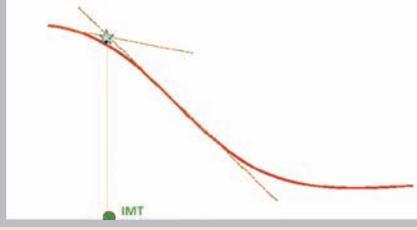
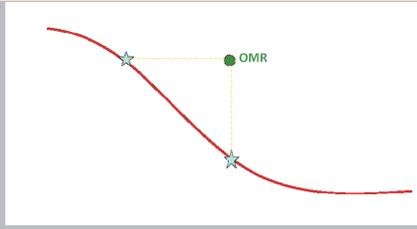
然而，由於Q2種子活力測定技術係測定密封測試管內氧氣濃度變化，若種子帶有病原或測試管消毒不完全(測試管蓋因塗有特殊螢光膜，故僅能以70°C高

溫消毒)，病原所消耗的氧氣會干擾種子活力判定。此外，Q2種子活力分析共有7種曲線結果，其中直線型曲線在判定上和實際狀況誤差較大，仍有待進一步試驗和改進。

表一 Q2 種子活力測定儀之分析曲線表

分析曲線類型	說明
	W：錯誤
	L1：死亡
	L2：休眠
	L3：發芽直線：氧氣曲線為直線，但出現一組氧氣消耗值
	S1：不完全曲線：氧氣曲線至時間停止時，僅跑至一半並未達到終點
	S2：忽略值：氧氣曲線呈正常反S型，但出現至少一組反常AS-TEC偵測值
	S3：正常反S型氧氣曲線

表二 Q2 種子活力測定儀之不同分析數值表

分析數值	數值增加	數值減少
	種子胚根突破種皮前階段之代謝時間(increased metabolism time, IMT, hrs)	— ^z +
	種子氧氣代謝速率(maximum oxygen metabolism ratio, OMR, %O ₂ /hrs)	+ —
	達到 50% 氧氣消耗量所需之時間(time till 50% oxygen consumption, QT50, hrs)	— +
	種子田間生長速率之預測(relative field emergence, RGT, hrs)	— +
	種子田間生長之整齊度預測(homogeneity, HOM)	— +

^z “—” 代表低活力種子； “+” 代表高活力種子。