

利用四唑染色图像测定玉米种子活力*

常 飘¹, 黄正仙², 何丽萍^{1**}, 孙 雁¹

(1. 云南农业大学 农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南省种子管理站, 云南 昆明 650031)

摘要:【目的】研究能快速准确测定玉米种子活力的技术方法。【方法】采用3个年份生产的杂交玉米种子, 玉米种胚经四唑染色后, 利用数码显微镜(Smart Zoom 5)拍照和获取四唑染色图像, 测定种胚中胚根、胚轴、胚芽和子叶(盾片)结构的染色面积和染色深浅, 并与田间出苗率做相关性分析。【结果】玉米种胚各结构全部染色且颜色深时, 种子活力水平与田间出苗率具有显著相关性, 其相关系数为1.000; 若种胚全部未染色、全部染色浅和只有部分结构染色的种子则与田间出苗率呈显著负相关关系, 其相关系数分别为-0.905、-0.921和-1.000。【结论】玉米种子经四唑染色后, 只有种胚结构全部染色且颜色深的种子, 在田间才能够出苗, 可判定为有活力的种子; 而种胚部分结构染色或者全部染色但颜色浅的种子, 在田间不能出苗, 即为无活力的种子。这一结论可为快速测定玉米种子活力提供新的技术方法和指标, 为玉米种子质量检验提供了一种准确、实用、方便和廉价的测定方法, 可供种子检验机构和种业公司采用。

关键词: 玉米; 种子活力; 四唑染色图像; 种胚结构; 田间出苗率

中图分类号: S 513.032

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2021) 03-0547-06

Study on the Determination of Maize Seed Vigor by Tetrazolium Staining Imagination

CHANG Piao¹, HUANG Zhengxian², HE Liping¹, SUN Yan¹

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Seed Management Station of Yunnan Province, Kunming 650031, China)

Abstract: [Purpose] To develop a rapid and accurate method for determination of maize seed vigor. [Method] Using hybrid maize seeds produced in 3 years, the embryos of the maize embryos were stained with tetrazolium, and then digital microscope (Smart Zoom 5) was used to photograph and obtain tetrazolium staining imagination of maize embryo structure, the stained area and the extent of the staining of the radicle, hypocotyl, plumule and cotyledon (scutellum) of seed embryo were measured, the correlation analysis was made with the field emergence of maize seeds. [Result] There was a significant correlation between seed and field emergence when all parts of maize embryo structure were staining and the staining color was red, the correlation coefficient was 1.000; and there was a significant negative correlation between the field emergence and the seeds stained in white or light color (pink), or only part of embryo structure staining, and the correlation coefficient was -0.905, -0.921 and -1.000, respectively. [Conclusion] When the seed embryo is staining with all the em-

收稿日期: 2020-10-29

修回日期: 2021-02-09

网络首发时间: 2021-05-21 10:41:40

*基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201303002); 云南农业大学教改项目(20170YNAUJY004)。

作者简介: 常飘(1995—), 女, 云南镇雄人, 在读硕士研究生, 主要从事种子科学研究。E-mail:

1750857515@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 何丽萍(1966—), 女, 云南东川人, 硕士, 副教授, 主要从事种子科学与技术的教学和科研工作。E-mail: 1604913517@qq.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20210520.1606.007.html>



bryo structures and the color is red, the seed can emergence in the field and be judged to be vigorous seeds. On the contrary, the seed embryo is staining with part of the embryo structures and the color is red; the seeds embryo structure stained in white or light color (pink), the seed cannot emergence in the field and be judged to be non-vigorous or non-viable. This conclusion is for TTC staining method used for determination of maize seed vigor directly, which is a rapid, accurate, practice and economy technical method, could be used for seed quality testing institutions and seed companies for seed vigor assessment.

Keywords: maize; seed vigor; tetrazolium staining imagination; embryo structure; field emergence

玉米是世界上总产量最高的粮食和饲料作物^[1], 在中国玉米的种植面积和产量均占主要粮食作物的 30% 以上^[2]。种子的质量优劣直接影响了农业生产的成效, 种子活力 (seed vigor) 是种子最重要的质量指标之一, 高活力的种子具有明显的生长优势和生产潜力, 能确保田间快速整齐一致的出苗, 能影响作物在田间整齐一致的生长发育, 影响最终收获的产量和质量^[3], 尤其是在机械单粒播种越来越普及的区域, 种子活力已成为最重要的种子质量指标^[4]。筛选出高质量、高活力的种子满足农业生产的需要, 对企业或农民都具有非常重要的意义。玉米种子活力测定大多采用种子发芽试验中的一些参数和指标, 采用低温发芽试验和加速老化试验等实验室测定的方法, 这些检测和评价的方法多与种子生理发芽指标和潜在的生理指标有关, 测定程序较为复杂且时间较长, 至少需要 7~10 d^[5-6]。近年来, 随着光学技术的发展, 高光谱成像作为一种无损、快速的种子质量和安全性评估方法, 广泛应用于检测萝卜^[7]、青椒^[8]、西瓜^[9]和玉米^[10]种子的活力水平, 但目前尚无成熟可商用的种子活力光学检测装备, 且光学检测的技术成本较高。

种子生活力 (seed viability) 是指种胚潜在的发芽能力和种胚所具有的生命力, 四唑染色法是其快速测定方法之一。四唑 (2,3,5-三苯基氯化四氮唑, TTC 或 TZ) 可被种子中活细胞的脱氢酶还原生成稳定的、不溶于水、不挥发的红色甲臢类物质, 使活组织和细胞呈现红色, 而种子中的死细胞由于缺乏脱氢酶则不会被染色, 而呈现白色, 同时根据染成红色的深浅程度表明种子生活力的高低。四唑法测定种子生活力由国际种子检验协会 (ISTA) 于 1953 年列入国际种子检验规程, 是世界公认的最有效的种子生活力的测定方

法^[11], 被广泛应用于各种农作物、园艺和其他种子的生活力测定^[12-15]。FRANÇA-NETO 等^[15]提出种子四唑染色后, 依据染成红色的深浅程度以及种胚或组织染色结构来区分种子活力水平, 把种子分为 A (活力高)、B (有活力但活力低)、C (无活力水平) 三级, 并把大豆种子分为 1~5 级有活力和 6~8 级无活力。徐本美等^[16]利用 TTC 定量法测定不同作物种子的活力, 并提取生成的红色甲臢类物质, 利用分光光度计比色确定种子的活力, 结果表明: 在一般情况下 TTC 染色法测定种子活力是准确和可靠的; 赵新子等^[17]采用计算机图像处理与识别测定种子活力, 计算机检测结果对四唑染色法人工测定结果准确度达 93.7% 以上。PEREIRA 等^[18]将光学和 TTC 染色法结合, 通过计算机采集 TTC 染色后大豆种子的图像特征, 并建立了一套有效的大豆种子活力分类等级。本试验尝试研究利用 TTC 染色图像测定和评价玉米种子活力水平的可能性, 试图找到一种准确可靠、快速简便、重复性高、成本低廉以及与田间出苗率相关的玉米种子活力测定方法, 以供种业公司、种子质量检验站和其他人员在快速测定玉米种子活力时使用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

玉米种子为正太 619 杂交种子, 由云南正大种子有限公司 2013、2014 和 2015 年生产, 2016 年夏季收到种子后于 4 ℃ 冰箱贮藏, 试验时间为 2018 年 3—9 月。

1.2 方法

1.2.1 玉米种子四唑染色

玉米种子室温下预先浸湿 16 h, 沿胚纵切, 留取其中一半, 另一半舍去, 保证留下的一半种

子中包含种胚的各部分,且完整暴露出来。切好的种子置于小烧杯中,加入0.1%的TTC溶液(上海馨晟试化工科技有限公司生产)浸没,35℃避光染色6h。染色结束后滤去溶液,清水清洗2次备用。每处理100粒种子,4次重复。

1.2.2 数码显微镜对四唑染色玉米种胚主要结构图像采集

开启数码显微镜 Smart Zoom 5 (德国卡尔·蔡司股份有限公司),将染色后的玉米种子放置到数码显微镜的载物台上,固定种子种胚使其切面朝上,将显微镜放大34倍并拍下种胚的图像,观察鉴定种胚中各主要结构的染色深浅,以RGB颜色模式为标准,划分为染色深、染色浅和未染色3个等级:当种胚颜色为珊瑚色(R: 255; G: 127; B: 80)或深于珊瑚色时,判定种子染色深;当种胚颜色浅于珊瑚色时,判定种子染色浅。

1.2.3 种胚结构染色面积测定和染色面积划分

利用 Smart Zoom 5 的面积测量工具,分别测量种胚各结构[胚芽、胚轴、胚根和盾片(子叶)]未染色的面积以及种胚的总面积,计算种胚染色面积的百分率。

依据玉米种胚染色区域的面积大小划分为5个区间,分别为[0, 25%)、[25%, 50%)、[50%, 75%)、[75%, 100%) 和 100%。

1.2.4 玉米田间出苗率试验

每个年份设置4个小区(重复),每个小区播种100粒种子,3个年份共计12个小区。播种深度为3~4 cm,定期浇水和除草田间管理,第20天记录玉米出苗数,计算田间出苗率。

1.2.5 相关性分析

利用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理,用 IBM SPSS Statistics 25.0 进行分析比较,用 Graphpad Prism 8 进行作图。

2 结果与分析

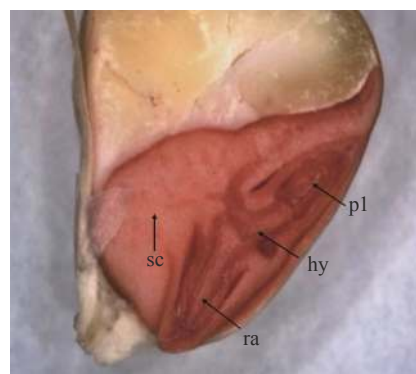
2.1 玉米种子种胚结构四唑染色图像

染色后的玉米种胚各主要结构(胚芽、胚轴、胚根和盾片)均呈红色(图1);根据染色颜色的深浅标准(图2)分为染色颜色深、染色颜色浅和未染色3类,并将试验中所获得的玉米种子种胚染色颜色进行区分和计数。其中,种胚部分未染色又包括盾片上部未染色、盾片中部未染色、盾片下部未染色、胚根未染色和胚轴未染色5类(图3)。

2.2 不同年份玉米种子种胚四唑染色结果

2.2.1 玉米种胚主要结构染色及颜色分级

由表1可知:从玉米种子种胚染色情况来看,2015、2014和2013年的种胚中,盾片整体染色深的数量均低于胚芽、胚轴和胚根;盾片上部与下部染色浅的数量高于种胚其他结构。2015和2013年的玉米种胚各结构的染色深浅均存在显著性差异($P<0.05$),说明随着贮藏时间的延



注: pl. 胚芽; hy. 胚轴; ra. 胚根; sc. 盾片(子叶)。

Note: pl. plumule; hy. hypocotyl; ra. radical; sc. scutellum.

图1 玉米种胚主要结构四唑染色图

Fig. 1 Tetrazolium staining imagination of maize seed embryo structure

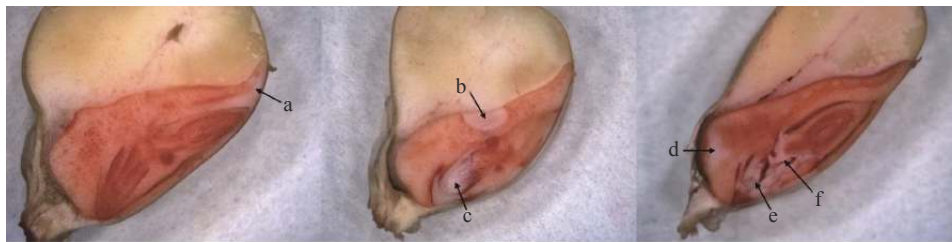


注: a) 种胚主要结构全部染红色且色深; b) 种胚结构全部染色但颜色浅; c) 种胚结构全部未染色。

Note: a) the embryo structure staining and staining red; b) the embryo structure staining and staining pink; c) the embryo structure unstaining.

图2 玉米种胚四唑染色图像分级

Fig. 2 Classification of tetrazolium staining imagination of maize seed embryo structure



注: a. 盾片上部未染色; b. 盾片中部未染色; d. 盾片下部未染色; c 和 e. 胚根未染色; f. 胚轴未染色。
Note: a. tip part of scutellum unstaining; b. middle of scutellum unstaining; d. lower part of scutellum unstaining; c and e. radical unstaining; f. hypocotyl unstaining.

图 3 玉米种胚结构未染色图示
Fig. 3 Unstaining imagination of maize seed embryo structures

表 1 不同年份玉米种子种胚结构染色深浅的比较

Tab. 1 Comparison of staining in embryo structure of different year maize seeds

年份 year	胚芽 plumule			胚轴 hypocotyl			胚根 radical		
	深 red	浅 pink	未染色 unstaining	深 red	浅 pink	未染色 unstaining	深 red	浅 pink	未染色 unstaining
2015	96.00±2.83 a	2.50±0.58 b	1.50±0.58 c	96.50±3.42 a	2.50±1.00 b	1.00±0.82 c	93.50±5.26 a	2.50±0.58 b	4.00±1.41 b
2014	94.50±5.97 ab	1.50±0.58 b	4.00±1.41 b	94.50±4.44 a	3.50±1.29 ab	4.00±1.41 b	95.00±4.76 a	1.00±0.82 b	4.00±1.63 b
2013	87.00±4.76 b	5.50±1.73 a	7.50±1.92 a	86.00±5.89 b	5.50±1.92 a	8.50±2.65 a	78.50±7.90 b	5.00±2.16 a	16.50±2.52 a

年份 year	盾片上部 upper scutellum			盾片中部 middle scutellum			盾片下部 lower scutellum		
	深 red	浅 pink	未染色 unstaining	深 red	浅 pink	未染色 unstaining	深 red	浅 pink	未染色 unstaining
2015	88.50±1.92 a	9.00±2.58 b	2.50±1.00 c	91.50±5.26 a	7.00±2.16 b	1.50±0.58 b	83.00±3.83 a	13.50±3.70 b	3.50±1.00 b
2014	83.50±3.42 a	7.50±2.08 b	9.00±1.83 b	88.00±5.89 a	7.00±1.83 b	5.00±2.16 b	80.00±5.89 a	13.00±2.58 b	7.00±1.83 b
2013	49.00±4.76 b	25.00±4.16 a	26.00±4.32 a	71.00±4.76 b	19.00±3.83 a	10.00±4.32 a	46.50±5.51 b	39.50±6.61 a	14.00±4.32 a

注: 同列数据不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); 下同。
Note: Different lowercase indicate significant differences in the same column of data ($P<0.05$); the same as below.

长, 玉米种子的生活力逐渐降低。2015 与 2014 年的种胚中, 胚芽、胚轴和盾片上部未染色均存在显著性差异, 其他种胚结构和染色深浅间不存在显著性差异, 这说明在一定的贮藏时间内, 玉米种子的生活力差异不显著。

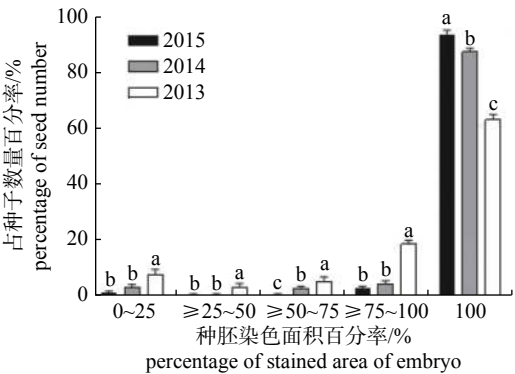
2.2.2 不同年份玉米种胚染色面积比较

经四唑染色后未染色和染色浅的种子是死种子或生活力低的种子, 表明其已经发生衰老劣变和死亡。由图 4 可知: 在 2015 与 2014 年间, 种胚染色面积为 [50%, 75%) 和 100% 的玉米种子占比存在显著性差异, 而其他染色面积的种子占比无显著性差异; 2015 和 2014 年种胚各染色面积的玉米种子占比均与 2013 年存在显著性差异; 3 个年份中, 染色面积达 100% 的种子最多, 分别为 94.5%、88.5% 和 64%, 且存在显著性差异, 表明随着种子贮藏时间的延长, 玉米种子活力逐渐降低。

2.2.3 不同年份玉米种子染色深浅比较

由图 5 可知: 2015 和 2014 年的玉米种子种

胚染色变化均无显著性差异, 其中种胚全部染色深的种子占比显著高于 2013 年, 种胚部分染色深、种胚染色浅和种胚未染色的种子占比显著低于 2013 年, 表明随着贮藏时间的延长, 种子衰老增加, 种子活力水平逐渐下降。



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); 下同。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$); the same as below.

图 4 不同年份的玉米种胚染色面积
Fig. 4 Stained area of maize embryo in different years

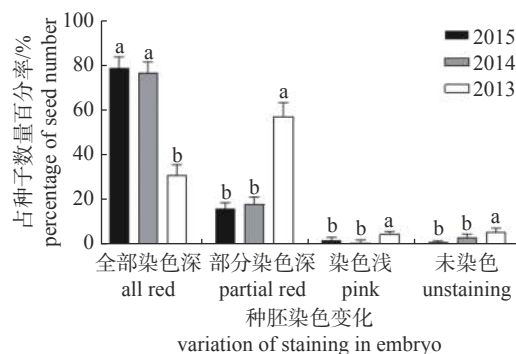


图5 不同年份玉米种子种胚染色变化

Fig. 5 Staining variation of maize seeds embryo in different years

2.3 玉米种胚四唑染色与田间出苗率

2.3.1 玉米种胚染色面积与田间出苗率的相关性

当玉米种子种胚部分染色, 染色面积在 [0, 25%)、[25%, 50%)、[50%, 75%) 和 [75%, 100%) 区间, 即染色面积低于 100% 时, 与玉米种子田间出苗率呈负相关关系, 其相关系数 (R) 分别为 -0.959 、 -1.000 ($P < 0.05$)、 -0.875 和 -0.998 ($P < 0.05$), 玉米种子田间均不能出苗, 为无活力的种子; 而当玉米种胚全部染色, 且染色面积为 100% 时, 与田间出苗率呈正相关关系 ($R = 0.986$), 表明此时玉米种子能够出苗, 为具有活力的种子。

2.3.2 玉米种子染色分级与田间出苗率的相关性

玉米种子种胚全部染色而且颜色深时, 与田间出苗率呈显著正相关 ($R = 1.000$, $P < 0.05$); 玉米种子部分种胚染色深时, 种子与田间出苗率呈显著负相关 ($R = -1.000$, $P < 0.05$); 全部种胚染色浅和全部未染色时, 与田间出苗率均呈负相关 ($R = -0.921$ 和 -0.905)。说明只有当玉米全部种胚染色深时, 玉米种子在田间才具备出苗能力, 为有活力的种子; 其他染色情况下, 种子则不出苗, 为无活力的玉米种子。

3 讨论

3.1 评价种子活力与田间出苗状况之间的关系

种子活力测定的目的是为种子提供准确的潜在生理能力差异的信息, 尤其是发芽率相似, 但经过贮藏无法断定田间播种后是否具备较好出苗状况的种子。而测定田间出苗状况并非易事, 种子活力代表的是种子较多综合特性的总和。单一的活力指标是否能准确描述和表达真实的种子

活力水平, 一直是学者长期以来研究和追寻的目标^[19]。100 多年来, 种子学家们提出的描述种子的活力和活力测定评价方法, 可以说得上是一个世纪的编年史, 直到 20 世纪 80 年代初, McDonald 提出种子活力的概念得到了国际种子检验协会 (ISTA) 和美国官方种子分析家协会 (AOSA) 的认可^[20], 即指在广泛的田间条件下, 决定种子迅速整齐出苗和长成正常幼苗潜在能力的总称^[21], 也即表明有活力的种子在广泛的田间条件能快速整齐出苗, 而无活力的种子在田间条件下不能够出苗。因此, 在实验室测定种子活力水平的方法, 应最终与田间出苗率也即田间表现相关。

3.2 四唑染色法测定玉米种子活力的优势

种子活力测定的方法可以分为基于发芽试验方法的生理测定和生化测定, 而理想的种子活力测定方法, 需要满足结果准确、简单易行、快速省时、重复性好、成本低廉和与田间出苗率相关的要求^[22]。周雷^[23]曾做过探索测定玉米种子活力的最佳方法的研究, 将常用的种子活力测定方法如标准发芽试验、低温测定、盐度测定、四唑染色和电导率测定等方法测出的结果与田间出苗率进行相关分析, 其中低温测定法与田间出苗率的相关系数最高 (0.979), 即该方法为最佳测定方法; 张守润^[24]曾做过玉米种子活力测定及其与田间出苗率的关系指出: 对于鉴别早播条件下种子批的田间出苗能力, 遇冷试验及活力指数均为有效的方法, 与田间出苗率的相关系数分别为 0.71 和 0.77, 而电导率测定结果与田间出苗率的相关系数最高, 达到了 0.85, 为最佳测定方法。本试验采用四唑染色测定玉米种子活力, 种胚全部染色且染色深时与田间出苗率的相关系数达到了 1.000, 即在测定时只需观察玉米种胚是否全部 100% 染色以及是否染色颜色深就可以确定种子是否具备出苗能力, 全部染色且颜色深的种子是有活力的种子, 其他情况下种子都不具有活力, 测定的方法更为简便和准确。本试验从预先湿润玉米种子开始到试验结束只需 1 d (24 h), 而低温测定最少需要 7 d, 因此, 四唑染色图像法大大缩短了检测时间。

目前, 中国玉米种子活力测定的方法并未列入农作物种子检验规程, 玉米种子活力测定在企业中并不普及, 主要是因为大部分企业没有掌握种子活力测定的技术方法。本试验根据四唑染色

法染色后的种胚是否完全染色而且染色颜色深,利用肉眼或者放大镜就能判定种子是否具有种子活力和田间出苗能力。该技术方法简化了玉米种子活力测定方法,在当前单粒机械播种区域越来越广、对整齐一致的出苗率要求越来越高的情况下,对保障高效和简化的农业生产和用种安全具有非常重要的意义。

4 结论

玉米种子经四唑染色后,只有种胚结构全部染色且染色深的种子才能够在田间出苗,可判定为有活力的种子;而种胚部分结构染色或者全部染色但染色浅的种子在田间不能出苗,即为无活力的种子。这一结论可为快速测定玉米种子活力提供新的技术方法和指标,为玉米种子质量检验提供一种准确、实用、方便和廉价的测定方法,可供种子检验机构和种业公司采用。

[参考文献]

- [1] 王美霞,赵怀生,李海燕,等.山西玉米产业现状与发展思考[J].山西农业科学,2013,41(3):301. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2481.2013.03.26.
- [2] 黎红球.我国玉米生产现状及发展趋势[J].商品与质量,2018(35):21. DOI: 10.3969/j.issn.1006-656X.2018.35.018.
- [3] MARCOS-FILHO J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective[J]. Scientia Agricola, 2015, 72(4): 363. DOI: 10.1590/0103-9016-2015-0007.
- [4] 程金平.水稻种子活力相关QTL分析及耐盐主效QTL qGR3.2的精细定位[D].南京:南京农业大学,2014.
- [5] 傅丹桂,孙雁,黄正仙,等.水稻种子不同活力测定方法的比较[J].云南农业大学学报(自然科学),2018,33(5):811. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).201709035.
- [6] 曹栋栋,阮晓丽,詹艳,等.杂交水稻种子不同活力测定方法与其田间成苗率的相关性[J].浙江农业学报,2014(5):6. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1524.2014.05.01.
- [7] MIN T G, HONG B R. 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[J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2013, 54(3): 249. DOI: 10.1007/s13580-013-0023-0.
- [8] 郝丽珍,敖秀珠,林维申. CO₂激光对青椒种子活力影响的研究[J].激光杂志,1990(4):197.
- [9] YASMIN J, AHMED R M, LOHUMI S, et al. Classification method for viability screening of naturally aged watermelon seeds using FT-NIR spectroscopy[J]. Sensors, 2019, 19(5): 1190. DOI: 10.3390/s19051190.
- [10] ZEPEDA-BAUTISTA R, HERNÁNDEZ-AGUILAR C, DOMÍNGUEZ-PACHECO A, et al. Electromagnetic field and seed vigour of corn hybrids[J]. International Agrophysics, 2010, 24(3): 329.
- [11] 胡晋.种子检验学[M].北京:科学出版社,2015.
- [12] 韩春艳,孙卫邦,董青松,等.广州相思子和毛相思子种子活力TTC测定方法研究[J].种子,2011,30(7):13. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4705.2011.07.004.
- [13] 刘雅岚,代飞飞,吴柳,等.5种热带林木种子生活力染色最佳条件[J].海南师范大学学报(自然科学版),2018,34(4):90. DOI: 10.12051/j.issn.1674-4942.2018.04.015.
- [14] 李英,沈永宝.枳椇种子生活力的四唑测定方法[J].林业科技开发,2013,27(4):106. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8101.2013.04.028.
- [15] FRANÇA-NETO J B, KRZYZANOWSKI F C, COSTA N P DA. The tetrazolium test for soybean seeds[M]. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998.
- [16] 徐本美,顾增辉,郑光华.测定种子活力方法的探讨(I)——TTC定量法[J].种子,1982(2):12. DOI: 10.16590/j.cnki.1001-4705.1982.02.021.
- [17] 赵新子,吴巍,司秀丽,等.玉米种子活力图像识别与处理技术研究[J].吉林农业大学学报,2004,26(5):572. DOI: 10.3969/j.issn.1000-5684.2004.05.027.
- [18] PEREIRA D F, BUGATTI P H, LOPES F M, et al. Contributing to agriculture by using soybean seed data from the tetrazolium test[J]. Data in Brief, 2019, 23: 103652. DOI: 10.1016/j.dib.2018.12.090.
- [19] POWELL A A, THORNTON J M, MITCHELL J A. Vigour differences on *Brassica* seed and their significance to emergence and seedling variability[J]. The Journal of Agricultural Science, 1991, 116(3): 369. DOI: 10.1017/S0021859600078187.
- [20] ELIAS S G, COPELAND L O, MCDONALD M B, et al. Seed testing: principles and practices[M]. East Lansing: Michigan State University Press, 2012.
- [21] MCDONALD M B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment[J]. Seed Science and Technology, 1999, 27(1): 177. DOI: 10.1007/BF01288216.
- [22] POWELL A A. Seed vigor and its assessment[M]// BASRA A S. Handbook of seed science and technology. New York: Haworth Press, Inc., 2006.
- [23] 周雷.玉米种子活力测定方法的研究[J].西北农业学报,1996,5(3):54.
- [24] 张守润.玉米种子活力测定及其与田间出苗率的关系初析[J].甘肃农业科技,1997(2):13.

责任编辑:何馨成