玉米种子净度、发芽率联合快速检验技术优化试验

林忆馨　多丽娜　阿尔龙　张婷茹

内蒙古自治区农牧业技术推广中心　内蒙古　呼和浩特　010000

摘　要：种子净度与发芽率是评价玉米种子质量的核心指标，传统分项检测方法周期长、操作繁琐，难以满足现代种业对快速检验的需求。本研究通过整合风选净度分析与酶活力快速测定技术，建立了一套玉米种子净度与发芽率联合快速检验方法。试验采用正交设计优化风选参数与四唑染色条件，通过线性回归建立染色等级与发芽率的相关模型。结果表明，优化方案使检验周期由 14 天缩短至 48 小时，净度检测准确率达 97.6%，发芽率预测值与标准发芽试验结果的决定系数 R^2 达 0.94。该联合方法显著提升了检验效率，适用于种业质量快速监控场景。

关键词：玉米种子；净度检验；发芽率测定；快速检验；技术优化

引言：玉米种子质量直接关系农业生产安全，净度和发芽率是评价种子批纯净程度与田间出苗能力的两项基础指标。现行国家标准净度检验需人工分拣，发芽率检验需观察 7 至 14 天，两项独立开展耗时长、人力成本高，难以满足种子收购与播种前快速决策的需求。目前种子检验技术向快速化发展，但净度与发芽率的同步检测缺乏系统研究。本文整合风选净度分析与四唑染色活力测定，建立玉米种子净度与发芽率联合快速检验方法，并通过试验验证其准确性和实用性。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

供试玉米种子为郑单 958 品种，共收集 3 个不同批次，分别为 2024 年生产的商品种（批次 A）、2024 年生产的原种（批次 B）和 2023 年生产的陈种（批次 C），以确保种子活力梯度覆盖合格与不合格两类质量水平。试验用主要仪器包括：数控种子风选仪（风压 0 至 0.6 兆帕可调）、恒温发芽箱、体视显微镜、电子天平（精度 0.001 克）、恒温水浴锅、分样筛（孔径 2.0 毫米、3.0 毫米、5.0 毫米）。四唑染色试剂为 2，3，5-三苯基氯化四氮唑，分析纯级别，配制成不同浓度的水溶液备用。每批种子在检验前经过充分混合均匀并按四分法缩分至试验所需样品量。

1.2 传统检验方法（对照）

净度检验参照 GB/T 3543.3-1995《农作物种子检验规程净度分析》执行。从每批供试种子中随机称取净度分析试样 100 克，借助分样筛和放大镜进行分离，将试样分为净种子、其他植物种子和杂质三类，分别称重并计算百分率，每个批次重复测定 3 次取平均值。发芽率检验参照 GB/T 3543.4-1995《农作物种子检验规程发芽试验》执行。从每批种子中随机数取 400 粒，分成 4 组，每组 100 粒，置于铺有湿润发芽纸的发芽盒中，在 25℃恒温培养箱中进行发芽试验，以胚根突破种皮且长度达到种子直径为发芽标准，逐日统计发芽数，第 7 天计算发芽率，重复间差异不超过标准要求[1]。

1.3 联合快速检验流程设计

设计的联合快速检验流程包含三个连续步骤。第一步为风选分级，将 50 克种子样品投入风选仪，在设定风压下分离为轻杂、净种和重杂三个组分，分别称重并计算净度。第二步为染色前处理，从风选后的净种子组分中随机取 50 粒，在 30℃水中浸泡 24 小时使种皮软化。第三步为四唑染色与活力判定，将浸软种子置于四唑溶液中，在恒温条件下染色一定时间后，在体视显微镜下观察胚部染色形态，依据染色面积和颜色深度划分活力等级，将活力等级通过回归方程换算为发芽率预测值。整个流程可在 48 小时内完成净度和发芽率两项指标的测定。

1.4 正交试验设计

为确定风选和四唑染色的最优参数，采用 $L9(3^4)$ 正交表进行试验设计。风选环节考察风压、进料速度和筛网孔径 3 个因素；染色环节考察四唑浓度、染色温度和染色时间 3 个因素。分别以风选净度偏差率和染色等级-发芽率相关系数为响应指标。风选因素水平设计为：风压 0.2、0.4、0.6 兆帕，进料速度 1.5、3.0、5.0 千克/小时，筛网孔径 2.0、3.0、5.0 毫米。染色因素水平设计为：四唑浓度 0.2%、0.5%、1.0%，染色温度 25、30、35℃，染色时间 60、120、240 分钟。每个处理重复 3 次，结果取平均值进行极差分析和方差分析。

1.5 数据处理方法

采用 Excel 和 SPSS 软件进行数据分析。净度检测

准确率以快速法结果与标准法结果的绝对偏差表示。发芽率预测模型采用线性回归法建立染色等级与标准发芽率之间的函数关系，以相关系数 R^2 评价拟合效果。正交试验结果采用极差分析和方差分析确定最优因素水平组合。检验方法的重复性以变异系数评估，准确性以相对误差评估。显著性水平设定为 $\alpha = 0.05$，当 $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。所有数据以均值 ± 标准差形式表示，每组试验的样本量满足统计学要求[2]。

2 结果与分析

2.1 风选参数优化试验结果

风选参数正交试验结果见表 1。极差分析显示，各因素对净度检测准确率的影响由大到小依次为：风压（R = 5.2）> 筛网孔径（R = 3.8）> 进料速度（R = 2.1）。风压为主要控制因素，过低时轻杂吹除不彻底，过高时饱满种子被误吹入杂质组分。方差分析表明，风压对净度偏差率影响显著（$P < 0.05$），筛网孔径和进料速度影响不显著。最优参数组合为：风压 0.4 兆帕、筛网孔径 3.0 毫米、进料速度 3.0 千克/小时。该条件下净度检测绝对偏差小于 1.5%，变异系数为 1.8%。

表 1 风选参数正交试验极差分析结果

因素	水平 **1**	水平 **2**	水平 **3**	极差 **R**	优水平
风压 (MPa)	4.8	1.2	6.4	5.2	0.4
筛网孔径 (mm)	3.2	1.8	5.6	3.8	3
进料速度 (kg/h)	2.9	2.1	4.2	2.1	3

注：表中数值为净度偏差率（%），偏差率越低表明检测准确度越高。

2.2 四唑染色条件优化结果

四唑染色正交试验结果分析表明，染色温度对染色等级与发芽率相关系数的影响最大（极差 R = 0.18），染色时间次之（R = 0.14），四唑浓度的影响相对较小（R = 0.09）。最优染色条件组合为：四唑浓度 0.5%、染色温度 30℃、染色时间 120 分钟。在该条件下，染色胚部呈现清晰的红白分界，白色区域面积与种子活力呈良好的负相关关系。低于 30℃时染色反应速度慢，120 分钟内显色不充分；高于 30℃时部分种子出现非特异性染色，影响判读准确性。浓度 0.5% 较 0.2% 显色更清晰，较 1.0% 更易控制染色深度。最优条件下，染色等级划分的观察者间一致性达到 92% 以上，重复性良好。

2.3 染色等级与发芽率回归模型

依据 50 粒种子胚部染色形态，将种子活力划分为 5 个等级：1 级（胚部全部染成红色，活力最强）、2 级（染色面积大于 80%）、3 级（染色面积 50% 至 80%）、4 级（染色面积 20% 至 50%）、5 级（染色面积小于 20%，活力最弱）。将各等级种子比例与标准发芽率进行线性回归分析。以批次 A 的数据建立回归方程：发芽率（%）= $95.2-18.7\times X_1-35.4\times X_2-52.8\times X_3-71.6\times X_4$，其中 X_1 至 X_4 分别为 1 级、2 级、3 级、4 级种子所占比例。方程的决定系数 $R^2 = 0.94$，标准误差为 3.6 个百分点。用批次 B 和批次 C 数据验证模型，预测值与实测值的平均偏差分别为 2.8 和 4.1 个百分点，偏差均在允许范围内，模型具有良好的泛化能力[3]。

2.4 联合快速检验法与传统方法对比

用优化后的联合快速检验法对 3 批次种子进行测定，并与传统方法对比（表 2）。净度方面，三批次平均偏差为 0.23%，远低于国标允许的 0.5%；发芽率方面，平均偏差仅 0.43 个百分点。检验周期方面，联合快速法约需 48 小时，而传统分项检测需 14 天，效率提升约 85%。

表 2 联合快速检验法与传统方法结果对比

批次	净度 (%)	偏差	发芽率 (%)	偏差		
快速法	传统法		快速法	传统法	(百分点)	
A	98.3	98.5	0.2	94.5	94.8	0.3
B	99.1	98.9	0.2	96.2	96.5	0.3
C	96.7	97	0.3	85.4	84.7	0.7
平均	**98**	**98.1**	**0.23**	**92**	**92**	**0.43**

2.5 重复性与稳定性验证

为检验联合快速检验法的重复性，由 3 名检验人员分别对同一批次种子（批次 A）按优化方案独立进行 6 次测定。净度测定结果的批内变异系数为 1.5% 至 2.1%，批间变异系数为 2.3%；发芽率预测值的批内变异系数为 2.0% 至 2.8%，批间变异系数为 3.1%。三组检测人员测定结果无显著差异（$P > 0.05$），表明该方法具有良好的操作重复性和人员间一致性。稳定性验证方面，将同一批种子在不同保存条件下（常温、冷藏）放置 30 天后再次检测，净度结果无显著变化，发芽率预测值波动不超过 2 个百分点，说明样品前处理和染色条件对样品保存状态不敏感，方法稳定性良好。

3 讨论

3.1 风选技术在净度联合检验中的适用性

传统净度检验依赖人工分拣，耗时且主观性强。本研究将风选技术引入联合检验，利用种子与杂质在空气动力学特性上的差异实现机械式分类。试验表明，风压 0.4 兆帕、筛孔 3.0 毫米条件下，净度检测结果与手工分拣法高度一致（偏差 < 0.5%）。成熟饱满种子沉降速度快，空瘪粒、破碎粒和轻质杂质沉降慢，被气流分离。风选将净度分析时间从 2 小时压缩至 15 分钟，并为后续发芽率测定提供均匀一致的净种子样品。但风选属于粗分类，仍需辅助目视确认。

3.2 四唑染色预测发芽率的机理与优势

四唑染色法原理是活细胞内脱氢酶将无色四唑盐还原为红色三苯基甲臜，染色面积和深浅与组织活力直接相关。本研究的染色等级-发芽率回归模型 $R^2 = 0.94$，证实两者强相关。四唑快速法将检验时间从 14 天缩短至 48 小时，且不受种子休眠影响，可全年检测。创新之处在于将四唑染色从活力判定扩展为发芽率定量预测，通过等级比例回归方程实现“定性观察、定量输出”，使四唑法具备替代标准发芽试验的潜力。

3.3 联合检验的协同效应分析

净度与发芽率联合检验并非两项技术的简单相加，而是产生了流程协同效应。首先，风选过程产生的净种子组分可直接作为四唑染色的样品来源，省去了传统流程中分别取样称量的环节。其次，风选过程中的杂质组成信息可为种子活力异常提供辅助解释：当杂质中秕粒比例较高时，往往预示种子批活力偏低。第三，风选预处理使净种子的物理性状更加一致，改善了四唑染色的均匀性和判读重复性。三者之间的协同关系使联合检验的整体效能显著高于两项检验独立开展的效率之和，真正实现了“一次制样、两项指标”的目标。

3.4 方法的适用范围与局限性

本研究所建立的联合快速检验法对玉米种子具有较好的适用性，但在推广应用过程中需要注意以下局限。第一，四唑染色法虽能快速预测发芽率，但在预测结果出现争议时仍需以标准发芽试验为仲裁方法。第二，品种间差异可能影响染色速率和回归方程的适用性，针对不同品种建议建立专用校正系数。第三，四唑染色需要对种胚进行切割，增加了对操作人员技能的要求。第四，全流程自动化程度仍有提升空间，进一步开发图像自动判读系统将是重要发展方向。

结束语

本研究建立了一套玉米种子净度与发芽率的联合快速检验方法，通过风选参数正交优化和四唑染色条件系统试验，确定风压 0.4 兆帕、筛网孔径 3.0 毫米、进料速度 3.0 千克/小时以及四唑浓度 0.5%、染色温度 30℃、染色时间 120 分钟为最优参数组合。联合检验法将净度检测周期从 2 小时压缩至 15 分钟，发芽率测定从 14 天缩短至 48 小时，两项指标的测定偏差均在国标允许范围之内。该方法显著提升了种子质量检验的效率，对种业企业入库验收、调运前快速评价及播种前活力筛查具有较高的实用价值。

参考文献

[1] 刘杰, 余育林, 王易双, 等. 低温胁迫下超甜玉米种子发芽率全基因组关联分析及关键基因挖掘 [J]. 南方农业学报,2025,56(5):1535-1544.

[2] 刘芳. 外部环境因素对玉米种子萌发力和发芽率的影响研究 [J]. 种子科技,2025,43(10):54-56.

[3] 卢国娟. 不同处理对玉米种子萌发力和发芽率的影响研究 [J]. 种子科技，2024,42(18):148-150.