

## 以 Sinapine 檢測甘藍‘秋王’品種種子活力

宋 妤<sup>1)</sup>、汪芝穎<sup>1)</sup>、黃玉梅<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 國立中興大學園藝學系教授(通訊作者)、研究生

地址：台中市南區國光路 250 號

電話：04-22840340#607

E-mail：yusung@dragon.nchu.edu.tw

<sup>2)</sup> 行政院種苗改良繁殖場副研究員

**摘要：**甘藍‘秋王’種子隨著老化時間延長顯著降低其發芽率，以-0.5 MPa PEG 滲調 24 小時及浸種 3 小時後，發芽率高及種子水分含量達 49.3%，利用甲基纖維素或阿拉伯膠膜衣的滲調甘藍種子可保持其發芽率。利用紫外光光測定種子芥子鹼螢光反應，顯示芥子鹼滲漏量與萌芽率呈現負相關性。以滲調-浸種-披衣-選別處理後，0.4%阿拉伯膠+PEG 及 0.3% 甲基纖維素+羥甲基纖維素膜衣種子的 sinapine 滲漏指數及螢光比例皆為零。

**關鍵字：**甘藍種子、芥子鹼酯、發芽率、滲調、膜衣處理

### 前 言

一些文獻報導指出無活力或活力差的種子在浸潤過程中比活力好的種子所滲漏出之物質較多，這些物質包括胺基酸、蛋白質、醣類及酚類物質(Hill *et al.*, 1988)。Sinapine 為十字花科作物種子內主要之酚類化合物，經由苯丙胺酸途徑形成，可由不具活力甘藍種子滲漏出，產生青綠色螢光物質，是一種芳香酯類化合物(3,5-dimethoxy-4-hydroxyl-cinnamoylcholine)，分解後產生 choline 及 sinapic acid 供植物幼苗利用(Taylor *et al.*, 1988；Hill *et al.*, 1988)。

在種子老化過程中，細胞膜發生損傷，細胞內物質易外滲，sinapine 法就是根據失去活力之種子細胞膜通透性增大，具有 sinapine 的有機物滲出，而在種子周圍產生螢光圈(李, 1996)。以 sinapine 法預測十字花科作物種子之發芽率有幾項優點：1) 普遍性：適用於十字花科各種作物和品種，以及不同老化程度之種子；2) 簡單迅速：

收到日期：96 年 08 月 07 日

檢查時間是在種子浸潤初期，而且種子不需其它前處理；3)預測個別種子發芽率：sinapine 滲漏關係於單一種子發芽與否，因此可對族群作相當準確之估計；4)非破壞性：讓種子浸潤幾小時後回乾，並不影響種子發芽力，sinapine 之觀察具非破壞性之特性（李，1996）。為使此方法用於甘藍種子活力之快速檢定上，本研究以不同播種前處理的甘藍種子為試驗材料，比較發芽率與螢光檢定結果，分析有效之評估值，瞭解甘藍種子以 sinapine 檢測活力之可行性。

## 材料與方法

1. 試驗材料：甘藍‘秋王’品種。
2. 種子老化處理：將試驗材料種子置於壓克力盒(32×22×12 cm<sup>3</sup>)中之平板上，底部加入 500 ml 之去離子水溶液後，以凡士林密封盒蓋周圍，置於 41±1°C 烘箱內 36 及 48 小時。
3. 種子致死處理：吸水 4 小時種子置於-80°C 下，30 分鐘後回乾至原含水量。
4. 種子滲調處理：種子以-0.5、-0.6、-0.7 MPa 聚乙二醇(PEG 8000)，於 15°C 進行滲調 24 小時。滲調後回乾或種子浸水四小時再回乾。
5. 膜衣處理：未處理，滲調-浸種後或滲調-浸種及以 sinapine 螢光篩選後之種子以 0.4% 甲基纖維素或 0.3% 阿拉伯膠披衣後，再以包裹劑於披衣機處理，包裹劑種類為 8% 羥甲基纖維素(HPMC)及 1% PEG 8000。
6. 種子發芽試驗：各處理種子 20 粒，播於內置一張 90 mm 濾紙 (Advantec) 培養皿中，加 2 ml 蒸餾水，置於 25°C 生長箱中進行發芽試驗，共三重複。試驗期間保持濾紙濕潤，播種後每四小時計算其發芽粒數(胚根突破種皮視為發芽)，至 3~7 天，計算最終發芽百分率及平均發芽日數。
7. Sinapine 螢光測定：老化、滲調、披衣及未處理種子以 0.3~ 0.5 cm 距離排放於鋪有濾紙(90 mm)之培養皿內，加入約 2 ml 蒸餾水，置於 25°C 生長箱，每隔兩小時於紫外光透光儀(UV Transilluminator 365 nm)下，觀察種子周圍螢光反應及其種子數量並記錄至 48 小時，並調查各處理種子發芽情形。預估發芽率及 sinapine 滲漏指數(sinapine leakage index, SLI)之計算方式如下：

$$\text{預測發芽率}=[1-(f/n)]\times 100$$

f=顯示螢光滲漏反應之種子數

n=試驗之種子數

$$\text{SLI} = X_f / X_t$$

$X_f$ =顯示螢光反應未發芽之種子數

$X_t$ =未發芽種子數

P-A=預測發芽率-實際發芽率; '+'表示高估預測值, '-'表示低估預測值

## 結 果

以加速老化處理'秋王'甘藍種子 36 及 48 小時, 種子發芽率顯著較對照組降低 33~44%, 平均發芽天數顯著增加 1.7 倍, 萌芽率顯著下降 37~52%, 正常苗百分率則顯著減少約 2~3 倍(Table 1)。利用不同濃度 PEG 滲調甘藍種子, 經滲調處理的種子發芽率與未滲調種子間有顯著差異, 以-0.5 及-0.6 MPa PEG 8000 滲調種子, 其萌芽率達 95%以上, 平均發芽天數及平均萌芽天數顯著縮短, PEG 的水份潛勢不影響發芽率、萌芽率及平均發芽天數, 但可縮短平均發芽天數(Table 2)。

Table 1. The germination performance of control and aged 'Autumn King' cabbage seeds at 25°C.

Treatments	Germination (%)	Mean days to germination	Emergence (%)	Mean days to emergence	Normal seedling (%)
Control	96.7 a <sup>z</sup>	1.9 b	95.0 a	3.5 b	91.7 a
Aging 36 h	63.3 b	3.3 a	58.3 b	6.4 a	46.7 b
Aging 48 h	53.3 c	3.4 a	43.3 c	6.4 a	30.0 c

<sup>z</sup> Mean separation within rows followed by different letters are significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

Table 2. The germination performance of primed and unprimed 'Autumn King' cabbage seeds at 25°C.

Treatments	Germination (%)	Mean days to germination	Emergence (%)	Mean days to emergence
Unpriming	95.0 a <sup>z</sup>	1.24 a	88.3 b	3.72 a
Priming <sup>y</sup> -0.5 MPa	100.0 a	0.71 c	98.3 a	3.08 b
-0.6 MPa	98.3 a	0.88 b	95.0 a	3.14 b
-0.7 MPa	100.0 a	0.94 b	93.3 ab	3.18 b

<sup>z</sup> Mean separation within columns followed by different letters are significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

<sup>y</sup> Priming with PEG 8000 at 15°C for 24h.

以 sinapine 螢光測定法比較'秋王'甘藍種子經五種處理後，實際發芽率與預測發芽率情形(Table 3)，經滲調、浸潤和死亡種子的實際發芽率及預測發芽率間的差異範圍在 0~+15%之間，而對照組及滲調種子則會高估其發芽率 1.7%，老化 36 及 48 小時種子則會高估發芽率達+10%和 15%。死亡種子會呈現全部螢光及不發芽的現象，sinapine 滲漏指數(SLI)作為測定螢光-不發芽種子的指標，SLI 增加，產生螢光不發芽的種子百分率也隨之增加。Sinapine 螢光反應及種子經滲調加上浸潤三小時後的發芽情形如 Fig. 1。圖中有三顆種子周圍發出螢光(Fig. 1A)，經發芽實驗後，三顆發螢光的種子只有一顆發芽(Fig. 1B)。

Table 3. The predict germination using the fluorescent leakage assay and actual germination percentage of control and accelerated aging 'Autumn King' cabbage seeds.

Treatments	Germination (%)		P-A (%)	SLI	Fluorescent (%)		Non-fluorescent (%)	
	Predict	Actual			Ungermination	Germination	Ungermination	Germination
Control	98.3 a <sup>z</sup>	96.7 a	+ 1.7	0.00 c	0.0 c	1.7 ab	0.0 a	98.3 a
Priming <sup>y</sup>	100.0 a	98.3 a	+ 1.7	0.00 c	1.7 c	5.0 a	0.0 a	93.3 a
Priming-soaking	96.7 a	96.7 a	+ 0.0	0.67 ab	5.0 c	0.0 b	0.0 a	95.0 a
Aging 36 h	73.3 b	63.3 b	+10.0	0.53 ab	26.7 b	0.0 b	5.0 a	68.3 b
Aging 48 h	68.3 b	53.3 c	+15.0	0.73 ab	25.0 b	0.0 b	1.7 a	73.3 b
Dead	0.0 c	0.0 d	+ 0.0	1.00 a	100.0 a	0.0 b	0.0 a	0.0 c

<sup>z</sup> Mean separation within columns followed by different letters are significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

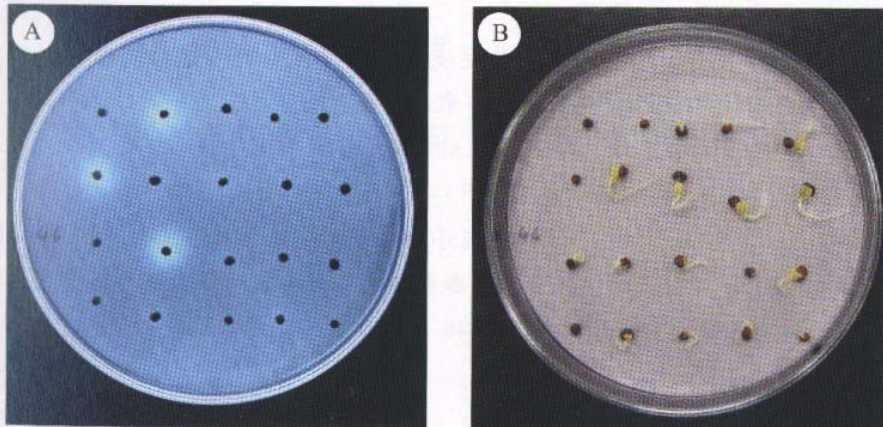


Fig. 1. The fluorescent detected under 360 nm (A) and germination performance (B) of primed-soaked 3 hours 'Autumn King' cabbage seeds.

在種子披衣的部份，分別以單獨披衣、滲調-浸種-披衣及滲調-浸種-選別-披衣處理‘秋王’甘藍種子比較其發芽率及螢光滲漏情形(Table 4)。在預估發芽率方面，以滲調-浸種-選別-披衣處理的甘藍種子，會高估其發芽率，單獨披衣處理的種子，預估其發芽率則會比實際發芽率減少 1~3%，而利用滲調-浸種後以 0.4%阿拉伯膠及 0.3%甲基纖維素加羥甲基纖維素披衣處理的種子在預估發芽率及實際發芽率之間則無差異。以滲調-浸種-選別-披衣處理，0.4%阿拉伯膠+PEG 及 0.3%甲基纖維素+羥甲基纖維素膜衣種子的 sinapine 滲漏指數(SLI)和螢光發生率均為 0，單獨披衣和滲調-浸種-披衣的種子 SLI 範圍在 0.33 到 0.83 之間，未發芽種子的螢光發生率在 3.3-8.3。未有螢光反應的發芽種子，以披衣-浸種-選別-披衣處理的種子發芽率顯著較其他處理高。

## 討 論

由於 sinapine 存在十字花科作物種子中，甘藍種子經吸水後其含量增加，sinapine 為種子浸潤後產生唯一滲漏之螢光物質，可以非破壞性方法檢查種子發芽能力(germinability)並預測發芽率，且其與實際發芽率幾乎符合(李，1996；Lee *et al.*, 1997)。Hill 等學者(1988)指出於甘藍種子 sinapine 之滲漏較導電度滲漏更可作為一種快速測定種子活力的指標。

為使甘藍種子萌芽整齊及促使於逆境下萌芽率，可於播種前以浸種或滲調處理，本研究以三種濃度 PEG 進行，發芽率及萌芽率無顯著差異，但以-0.5 MPa PEG 發芽最快。於預備試驗中結果顯示為使 sinapine 滲漏穩定及快速整齊，與種子含水量有關，分析滲調後種子含水量，以-0.5、-0.6 及-0.7 MPa PEG 滲調後，種子含水量分別為 47.1%、45.5%及 44.8%。吸水三小時後，種子含水量增加為 49.3%、48.3% 及 48.1%。本實驗甘藍滲調後種子無法觀察螢光產生，推測是種子含水量之影響，故再吸水三小時，使種子含水量提高至 48~50%，始可正確觀察及預估種子發芽率。

Table 4. The predict and actual germination percentage of 'Autumn King' cabbage seeds subjected to the different treatments.

Treatments	Germination (%)	P-A	SLI	Fluorescent (%)		Non-fluorescent (%)			
				Predict	Actual	Ungerm. <sup>y</sup>	Germ. <sup>y</sup>	Ungerm. <sup>y</sup>	Germ. <sup>y</sup>
<b>Control</b>									
0.4% Arabic gum <sup>y</sup>	HPMC	95.0 ab <sup>z</sup>	98.3 ab	-3.3 a	0.67 a	8.3 a	0.0 a	1.7 ab	90.0 b
	PEG	95.0 ab	96.5 ab	-1.5 a	0.50 ab	6.7 a	0.0 a	1.7 ab	91.7 b
0.3% Methyl cellulose	HPMC	91.7 b	94.7 b	-3.1 a	0.83 a	5.0 ab	0.0 a	1.7 ab	93.3 b
	PEG	93.3 b	96.5 ab	-3.2 a	0.83 a	3.3 ab	1.7 a	3.3 ab	91.7 b
<b>Priming-soaking</b>									
0.4% Arabic gum	HPMC	95.0 ab	98.3 ab	-3.3 a	0.50 ab	3.3 ab	1.7 a	3.3 ab	91.7 b
	PEG	96.7 ab	94.7 b	+1.9 a	0.33 ab	3.3 ab	0.0 a	6.7 a	90.0 b
0.3% Methyl cellulose	HPMC	93.3 b	96.5 ab	-3.2 a	0.67 a	6.7 a	0.0 a	1.7 ab	91.7 b
	PEG	93.3 b	98.3 ab	-4.9 a	0.67 a	5.0 ab	1.7 a	1.7 ab	91.7 b
<b>Priming-soaking-sorting</b>									
0.4% Arabic gum	HPMC	100.0 a	98.3 ab	+1.7 a	0.00 b	0.0 b	0.0 a	1.7 ab	98.3 a
	PEG	100.0 a	100.0 a	0.0 a	0.00 b	0.0 b	0.0 a	0.0 b	100.0 a
0.3% Methyl cellulose	HPMC	100.0 a	100.0 a	0.0 a	0.00 b	0.0 b	0.0 a	0.0 b	100.0 a
	PEG	100.0 a	98.3 ab	+1.7 a	0.00 b	0.0 b	0.0 a	1.7 ab	98.3 a

<sup>z</sup> Mean separation within columns followed by different letters are significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

<sup>y</sup> Ungerm.: Ungermination; Germ.: Germination

種子加速老化處理為種子活力檢測方法之一，可預測種子貯藏壽命。本試驗中，以人工加速老化處理的甘藍種子，種子活力顯著下降。經 36 小時老化處理的種子，種子發芽率減少 30% 以上。Elias 和 Copeland(1997)利用油菜種子進行種子老化實驗，結果顯示隨著老化時間的增加，種子發芽率會逐漸減少。老化及滲調種子有不同種子活力，經螢光檢察，其 SLI 值為 0.53-0.67，於老化種子其主要為有部分不具螢光種子未發芽，實際與預估差值為 15-10%，滲調再浸種處理的種子預估發芽率與實際發芽率相同，顯示老化種子的發芽率低，以螢光檢測法誤差會較大。

也有些學者使用甘藍之披衣種子，利用披衣劑會吸附 sinapine 之特性在種子出貨或播種前經紫外燈照射將發出螢光之種子挑出，則發芽率可以由 89.5% 增加至 95.9%，因此在商業上利用紫外光分色將種子分級可以提高種子品質 (Lee *et al.*, 1997; Taylor *et al.*, 1991; Taylor *et al.*, 1993)。本實驗觀察種子披衣後，所有處理的發芽率均超過 90%，對照組及滲調-浸種後利用甲基纖維素披衣種子的 SLI 值顯著較阿拉伯膠披衣者低，推測甲基纖維素對水的吸附力較高所致。種子以滲調-浸種-選別之後再進行披衣處理，預估及實際發芽率差異最小，有螢光反應未發芽種子及未發螢光之發芽種子的 SLI 值為最小，顯示以甲基纖維素披衣的滲調甘藍種子可保持其發芽品質。

結果顯示針對不同活力或處理之種子，研究其螢光測定條件，分析有效之評估值，利用 sinapine 滲漏情形可快速檢定甘藍種子之活力。

## 致 謝

本研究經費為行政院種苗改良繁殖場委辦計劃(95 農科-1.3.2-種-Z4(2))提供，謹此致謝。

## 參考文獻

- 李柏靜。1996。簡單準確預測十字花科作物種子發芽率的新方法:Sinapine 法。台灣之種苗第 28 期。13-18。
- Elias, S. G. and L. O. Copeland. 1997. Evaluation of seed vigor tests for canola. *Seed Technol.* 19(1): 78-87.



- Hill, H. J., A. G. Taylor, and X. L. Huang. 1988. Seed viability determinations in cabbage utilizing sinapine leakage and electrical conductivity measurements. *J. Exp. Bot.* 39:1439-1447.
- Lee, S. S., S. B. Hong, and M. K. Kim. 1997. Nondestructive seed viability of Chinese cabbage and radish varieties by sinapine leakage. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38:498-501.
- Taylor, A. G., X. L. Huang, and H. J. Hill. 1988. Sinapine leakage from non-viable cabbage seeds. *J. Exp. Bot.* 39:1433-1438.
- Taylor, A. G., T. G. Min, and C. A. Mallaber. 1991. Seed coating system to upgrade *Brassicaceae* seed quality by exploiting sinapine leakage. *Seed Sci. Tech.* 19:423-434.
- Taylor, A. G., D. H. Paine, and C. A. Paine. 1993. Sinapine leakage from *Brassica* seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118:546-550.

## **Sinapine leakage for detection of cabbage seed vigor**

Yu Sung<sup>1)</sup>、Nan Lar (a) Nan Kyi Yin<sup>1)</sup>、Yu-Mei Huang<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Professor (corresponding author) and graduate student, Hort. Dept., National Chung Hsing University.

Tel: (04)22840340#602

E-mail: [yusung@dragon.nchu.edu.tw](mailto:yusung@dragon.nchu.edu.tw)

<sup>2)</sup> Associate researcher, Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, Taiwan, ROC.

**Summary :** Vigor tests carried out on 'Autumn King' cabbage seed revealed that germination performance decreased significantly with increasing aging time. The germination percentage from seed primed for 24h with -0.5 MPa PEG and soaked for 3h was higher than control seeds which had 49.3% moisture content. Cabbage seed could be treated by priming-soaking and film coating with methyl cellulose and arabic gum to maintain germination quality. The sinapine fluorescent of control and primed seeds was present under UV, while seeds were imbibed for 4-24 h and 1-3 h, respectively. The emergence rate was highly correlated with the values of the vigor tests. The sinapine leakage index (SLI) and the fluorescent percentage of seeds of the priming-soaking-coating-sorting treatments were zero.

**Key words :** cabbage seed, sinapine, germination percentage, priming, film coating