



НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР НАН БЕЛАРУСИ ПО БИОРАЗНООБРАЗИЮ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ им. В.Ф. КУПРЕВИЧА

Г.Н. АЛЕКСЕЙЧУК

**СИЛА РОСТА СЕМЯН
ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР И ЕЕ ОЦЕНКА
МЕТОДОМ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ**

Минск
ИООО «Право и экономика»
2009

УДК 581.14:631.53.011/.027.2/3

ББК 28

А46

Научный редактор:

Н.А. Ламан, академик НАН Беларуси

Рецензенты:

А.И. Заболотный, доктор биологических наук
В.М. Белявский, кандидат сельскохозяйственных наук

Рекомендовано к изданию решением Ученого Совета
Института экспериментальной ботаники
им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси
(протокол № 6 от 17.02.2009)

Алексеичук Г.Н.

А4 Сила роста семян зерновых культур и ее оценка методом ускоренного старения – Мн.: Право и экономика, 2009. – 44 с.
ISBN 978-985-442-647-1.

Alekseichuk H.N.

А4 Seed vigor of cereal crops and its evaluation with accelerated aging method – Minsk: Pravo i Economica, 2009. – 44 p.
ISBN 978-985-442-647-1.

© Алексеичук Г.Н. 2009

© Оформление. ИООО «Право и экономика», 2009

ISBN 978-985-442-647-1.

МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА

Одна из основных проблем растениеводства заключается в том, что посеянные семена не всегда способны наилучшим образом реализовать генетический потенциал продуктивности сельскохозяйственных культур. Поэтому необходимо уделять внимание совершенствованию способов оценки качества семян перед посевом.

Качество семян является суммой физиолого-биохимических показателей, которые могут сильно варьировать под воздействием условий окружающей среды при сохранении генотипа сорта. Генетическая компонента качества определяется чистотой сорта и служит основой реализации его потенциальной продуктивности. Семена высокого качества обеспечивают стартовый потенциал для оптимального формирования агрофитоценозов.

В то же время онтогенетически обусловленная экспрессия генов, обеспечивающих развитие признаков и свойств сорта, во многом зависит от конкретных агроэкологических условий. Формирование качества семян начинается уже в процессе их развития и созревания на материнском растении, и далее на него оказывают влияние все процедуры, проводимые после уборки урожая, в том числе условия хранения и обработки.

Как материал для размножения, семена характеризуются посевными качествами, т.е. совокупностью свойств, определяющих степень их пригодности для посева и хранения. Согласно ГОСТам, посевные качества семян оцениваются по следующим показателям: чистота сорта, содержание примесей и семян сорняков, зараженность патогенами, жизнеспособность, энергия прорастания и всхожесть.

Жизнеспособность семян является одним из важнейших показателей их качества. Этот термин имеет несколько трактовок. В отечественном семеноведении жизнеспособность оценивается количеством живых семян в исследуемом образце и характеризует способность семян к наклевыванию вне зависимости от особенностей дальнейшего развития проростка (ГОСТ20290-74; ГОСТ 12039-82).

Более строгие требования к определению жизнеспособности семян нашли свое отображение в решениях Международной ассоциации по контролю семян (International Seed Testing Association – ISTA). В соответствии с требова-

ниями ISTA жизнеспособность - это способность семян прорасти при оптимальных (стандартных) условиях проращивания. Жизнеспособность семян в таком понимании оценивают в результате лабораторного анализа всхожести как процент семян, которые формируют проростки, способные развиваться в нормально развитые растения при проращивании в стандартизированных условиях субстрата, влажности и температуры.

Оценка жизнеспособности может проводиться многими методами: тетразолюно-топографическим, окрашиванием индигокармином и кислым фуксином, люминесцентным и по скорости набухания семян (ГОСТ 12039-82). Эти методы применяют для получения быстрой информации о качестве семян, находящихся в состоянии покоя и при оценке непроросших семян после завершения установленного срока прорастания.

Однако наиболее достоверным является определение жизнеспособности путем проращивания семян с законченным периодом покоя (полная лабораторная всхожесть). Способность полученных проростков развиваться в нормальные растения оценивают на основании морфологического анализа их корневой системы и побегов.

Трудности объективной оценки жизнеспособности во многом связаны с интерпретацией самого понятия прорастания семян. ISTA, например, рекомендует считать окончанием прорастания семени в ботаническом (физиологическом) значении - появление кончика зародышевого корешка (наклевывание); в агрономическом значении - появление всходов и переход ювенильных растений к автотрофному питанию; в контрольно-семенном деле - развитие морфологических структур прорастающего семени до такого состояния, которое позволило бы судить о формировании здорового нормально развитого растения.

Лабораторная всхожесть характеризует способность семян образовывать нормально развитые проростки при оптимальных стандартизированных для каждой культуры условиях проращивания.

Методология определения всхожести хорошо разработана и непрерывно совершенствуется в сторону повышения воспроизводимости и статистической достоверности результатов (Международные правила анализа семян, 1984; Шпаар, 2001; Круг, 2000; Лобода и др., 1991; Леурда и др., 1974; Овчаров, 1976; Гриценко и др., 1976).

Всхожесть семян в конкретных полевых условиях определяется сложными взаимосвязями семени с окружающей средой и является результатом фенотипической реализации заданных наследственных свойств организма. Ее определяет целый комплекс биотических и абиотических факторов, которые должны находиться в оптимальном соотношении для получения дружных всходов (Рис.1).



Рисунок 1 – Факторы, определяющие полевую всхожесть семян

Предсказать полевую всхожесть при оценке семян в лабораторных условиях сложно и методы оценки не так надежны. Когда условия прорастания оптимальны, полевая всхожесть близка к лабораторной. Однако поскольку на практике редко встречаются идеальные условия, то стрессорные условия окружающей среды (например, низкая или высокая температура и/или влажность) ведут к появлению различий в лабораторной и полевой всхожести. Такие стрессоры первоначально влияют на скорость появления всходов, а затем приводят к различиям по темпам роста проростков и конечной продуктивности.

Большое значение при определении посевных качеств имеет энергия прорастания, показатели которой, как правило, более тесно коррелируют со всхожестью семян в поле. **Энергия прорастания** - способность семян быстро

и дружно прорасти за более короткий срок, чем при определении всхожести.

а практике часто случается ситуация, когда энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян не различаются и тогда лабораторная оценка не позволяет получить нужную информацию. Ряд авторов прибегает в этом случае к так называемой *энергии наклевывания*, когда оценивают количество наклеванных семян на самых ранних этапах прорастания. Но этот метод не стандартизирован и может быть применен только в научных исследованиях.

В 1876 году для характеристики способности посевного материала к быстрому и одновременному прорастанию в полевых условиях был введен термин «движущая сила» (Nobbe, 1876). Позже названия менялись и в настоящее время в мире принят универсальный термин «сила семян или сила роста семян» (seed vigor или seed vigour).

Сначала сила семян служила только как показатель силы роста проростков, которая характеризует их способность быстро и хорошо развиваться после прорастания. Строна (1966) под силой семян понимал способность побегов выполнять механическую работу по преодолению сопротивления почвы. Grabe (1966) предлагал употреблять термин "сила" для оценки позитивных качеств проростков, таких как повышенная скорость роста. Germ (1960) под этим термином понимал способность семян в течение определенного периода времени при оптимальных условиях влажности, температуры и света формировать здоровые проростки с достаточной длиной побега и корешков. По Woodstock (1965), термин «сила» характеризует то состояние активного здоровья и естественной прочности семян, которое способствует быстрому их прорастанию и появлению всходов в разных экологических условиях.

Хайдекер (1969) считал, что правильнее определять «силу» как состояние семян, когда они находятся на вершине своих потенциальных возможностей; при этом во внешней среде отсутствуют негативно влияющие факторы и присутствуют факторы, которые способствуют максимальному проявлению силы.

По Лихачеву (1986) сила роста – это степень фило- и онтогенетически обусловленной потенциальной способности зародыша использовать при прорастании в полной мере запасные питательные вещества (включая таковые

самого зародыша), развивать нормальный проросток и плодоносное растение в специфических условиях культуры.

В настоящее время наиболее распространено мнение, что силу роста семян следует рассматривать как совокупность свойств, которые дают возможность при прорастании в субоптимальных условиях защищаться и противостоять неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам. Согласно определению Международного общества по оценке семян, **сила роста семян - это сумма тех свойств, которые определяют их активность и способность к прорастанию в широком диапазоне окружающих условий** (Handbook of Vigor Test Methods, 1995).

Партии семян с высокой силой роста, имеющие более высокие показатели по лабораторной всхожести, могут не отличаться от партий семян с низкой силой роста, однако полевая всхожесть у семян высокого качества будет выше. Согласно распределению партий семян по силе роста, показанному на рисунке 2, предсказываемая полевая всхожесть у партии высокого качества будет не ниже 90%, а у партии низкого качества – около 60%.

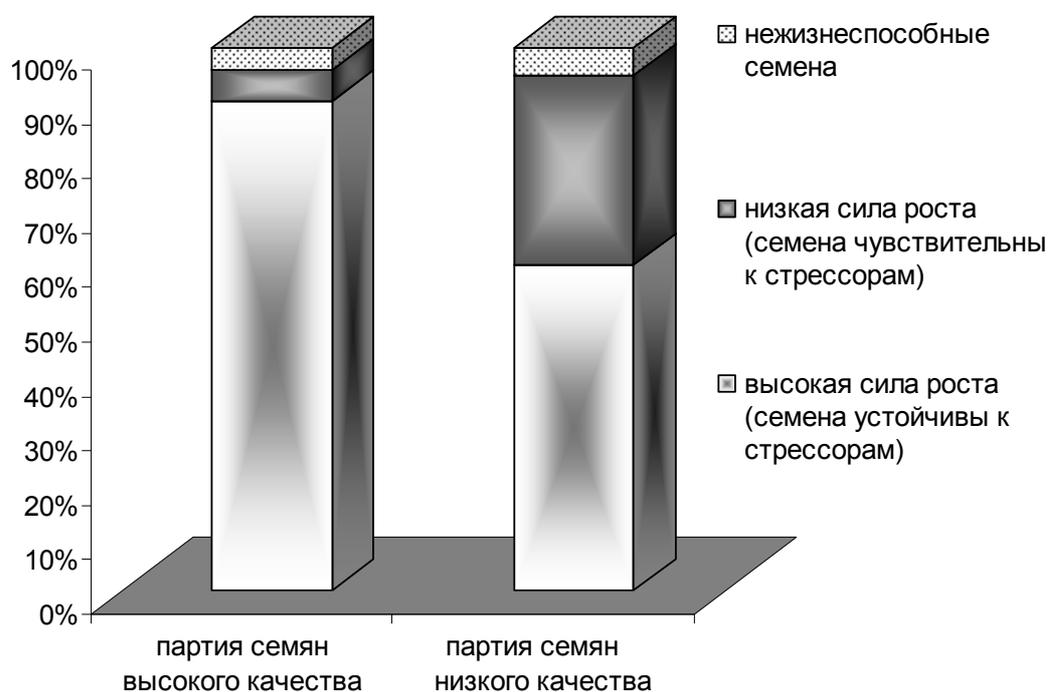


Рисунок 2 – Распределение партий семян высокого и низкого качества по силе роста

Следствием многообразия определений термина "сила роста семян", является разнообразие методов ее оценки. Большинство определений силы роста семян основаны на оценке скорости или интенсивности роста проростков, а также их устойчивости к неблагоприятным условиям выращивания.

Существующие на сегодняшний день методы оценки силы роста семян могут быть также разделены по следующим категориям: 1) уровень целого организма; 2) биохимический уровень (Taylor, 2003). Уровень целого организма включает оценку энергии прорастания и всхожести семян в условиях, имитирующих неблагоприятные полевые условия. Биохимические методы основаны на измерении показателей, характеризующих активность метаболизма при изменении качества семян, и не обязательно должны включать стрессорное воздействие на семена.

В отечественном семеноводстве для исследования силы роста семян зерновых культур был принят ГОСТ 12040-66. Согласно ему, семена проращивают в сосудах с кварцевым песком и показатель силы их роста выражают:

1) количеством семян, давших нормальные проростки, вышедшие на поверхность на 10-ые сутки; 2) массой проростков в пересчете на 100 штук. Этот показатель, хорошо характеризующий партии семян по силе начального роста, получил всеобщее признание (Фирсова, 1969). По мнению Строна (1964), его было бы правильнее называть интенсивность начального роста, поскольку он выражается не в единицах силы, а в процентах ростков, способных преодолеть сопротивление слоя грунта и накапливать сухое вещество.

К сожалению действие ГОСТа 12040-66 на территории СНГ в настоящее время прекращено. В 1995 году в Институте сахарной свеклы академии аграрных наук Украины был разработан, а с 1997 года введен в действие на территории Республики Беларусь ГОСТ 30168-95 «Семена сахарной свеклы. Метод определения силы роста», который по методологии практически не отличается от описанного выше ГОСТа 12040-66.

Определение силы роста семян зерновых культур было дополнено и другими показателями: длина надземной части и корней проростков, масса 100 проростков на 10-й день после закладки семян на всхожесть. Экспериментально подтверждено, что эти показатели хорошо коррелируют с качеством семян (Леурда и др., 1964; Строн, 1964). Высокую оценку получил также

метод Прикладова (1962), с помощью которого можно измерять физическую силу (вертикальную и радиальную) развивающихся проростков.

В настоящее время на территории СНГ наиболее распространен метод оценки силы роста семян на основе морфофизиологической оценки проростков, которая учитывает размеры проростка, его целостность, степень развития и пигментацию листа, число и размеры зародышевых корешков, степень поражения фитопатогенными микроорганизмами. Впервые данный метод был предложен Perry (1978) для семян гороха, шестидневные проростки которого по морфологическим показателям делили на сильные и слабые.

Лихачев (1974, 1977, 1986), работая в лаборатории семеноведения ВИРа, применил этот метод для зерновых культур и предложил классифицировать проростки по баллам на пять подгрупп. Данный метод представляет собой дифференцированное определение всхожести, что позволяет учитывать индивидуальные особенности в развитии проростков и тем самым повышает объективность оценки посевных качеств семян. Лихачев (1977) подчеркивает, что разработка приемов и методов определения этого показателя должна идти обязательно в направлении установления связи его с уровнем полевой всхожести семян, последующими темпами роста и развития растений, их продуктивностью. По его мнению, таким методом является морфофизиологическая оценка проростков, при которой учитываются: размеры побега, его целостность, степень развития и пигментация листа, число и размеры зародышевых корешков, общее состояние проростка (морфологические отклонения, степень поражения фитопатогенными микроорганизмами и др.). Эти признаки являются конечным результатом, который наиболее полно отражает сложные физиолого-биохимические процессы, которые сопровождают рост и развитие проростков, и, кроме того, являются наиболее удобными для идентификации.

Метод морфологической оценки проростков по Лихачеву можно отнести к так называемым методам истощения, с помощью которых определяют развитие проростков до перехода их на автотрофное питание. Указанный метод представляет собой дифференцированное определение всхожести, что позволяет учитывать индивидуальные особенности в развитии проростков и тем самым повышает точность и объективность оценки посевных качеств семян.

В 60-80-ых годах 20 века проблема оценки силы роста семян подробно изучалась отечественными семеноводами, а разрабатываемые методы внедрялись в практику в виде ГОСТов и методических рекомендаций. Однако затем наблюдается спад интереса к этой проблеме. Дальнейшее развитие этой области семеноводства происходило в основном за рубежом, где при международных обществах по тестированию семян были созданы специальные комитеты по разработке и внедрению методов оценки силы роста семян.

За последние 20 лет предложен ряд оригинальных методов, причем некоторые из них внедрены на уровне ГОСТов и рекомендованы к применению для сертификации семян. К ним относятся холодовой тест для семян кукурузы, кондуктометрический тест для семян бобовых культур и тест на ускоренное старение для семян сои (Handbook of seed vigour test methods, 1995; Алексейчук и др., 2005а).

При использовании *холодового теста* оценивают способность семян прорасти и продуцировать нормально развитые проростки в условиях низких положительных температур, высокой влажности и в присутствии почвенных патогенов.

При низких температурах из семян плохого качества, имеющих более высокую проницаемость мембран, чем семена хорошего качества, выделяется значительное количество сахаров, аминокислот и др. веществ, что создает благоприятные условия для размножения патогенных микроорганизмов.

Поскольку способность прорасти и развиваться в холодной влажной почве зависит не только от генотипических особенностей семян, но и от их физиологического состояния, холодовой тест рекомендуется в первую очередь для оценки партий семян, предназначенных для раннего весеннего посева.

Кондуктометрический тест позволяет оценить целостность клеточных мембран по выходу электролитов в раствор. По мере того как семена гидратируются, способность их клеточных мембран к восстановлению повреждений, полученных в период созревания и хранения, будет влиять на степень выхода электролитов (таких как сахарофосфаты, аминокислоты, ионы K^+ и т.п.). Следовательно, чем выше скорость, с которой семена могут восстанавливать целостность мембран, тем ниже выход электролитов и тем лучше качество семян.

Выход метаболитов из семян с низким качеством, кроме того, имеет вторичные эффекты, поскольку выделения стимулируют развитие болезнетворных микроорганизмов.

Метод хорошо разработан и надежен при работе с семенами двудольных растений, у которых нет эндосперма и семенная оболочка не задерживает выхода веществ (бобовые, крестоцветные). Семена с эндоспермом или полупроницаемой семенной оболочкой (ячмень, морковь) таким методом оценивать сложнее.

Метод ускоренного старения основан на кратковременном хранении семян при повышенной влажности и температуре в контролируемых условиях с последующей оценкой скорости прорастания и всхожести.

Этот метод первоначально был разработан для определения потенциальной способности семян к хранению: семена хорошего качества лучше переносят эти экстремальные условия и повреждаются медленнее, чем семена плохого качества. Исследования также показали, что получаемые результаты хорошо коррелируют с полевой всхожестью семян.

Принцип метода заключается в инкубации семян в течение определенного времени при двух основных переменных окружающей среды, которые вызывают ухудшение их качества при хранении: высокая температура и высокая влажность воздуха.

Существует два основных методических приема: *первый* представляет собой инкубацию семян одновременно при повышенной температуре и влажности воздуха; *второй* состоит из двух последовательных этапов – вначале повышают влагосодержание семян при температуре 20-25⁰С, затем семена герметично запаковывают и инкубируют при повышенной температуре.

Установлено, что условия первого метода не пригодны при использовании мелкосемянных культур, поскольку происходит нежелательное их набухание и слишком сильное развитие болезней. В этой связи первый метод рекомендуется для крупносемянных культур, таких как кукуруза, горох и т.п., а второй – при работе с мелкими семенами.

Несмотря на то, что общий принцип метода старения семян в контролируемых лабораторных условиях известен, при работе с конкретными культурами следует подбирать необходимые параметры влагосодержания и темпе-

ратуры, а также длительность неблагоприятного хранения (Лихачев, 1985; ТеКrony, 1995; Magaressi et al., 2003; Meriaux, 2007).

Существует еще ряд методов, достаточно информативных, применение которых ограничено вследствие того, что они требуют сложного оборудования и дорогих реактивов, а также высокой квалификации исследователей (Алексейчук и др., 2005а, 2005б). К ним относится, например, **тетразолиевый тест**. Он основан на измерении суммарной активности дегидрогеназ, которая коррелирует с жизнеспособностью семени (Tetrazolium testing handbook, 2000).

В 1942 г. Лакон впервые использовал реакцию с хлоридом 2,3,5-трифенилтетразолия как тест для определения жизнеспособности семян, наблюдая появление красного окрашивания в живых тканях. Под влиянием дегидрогеназ он образует водонерастворимое вещество красного цвета – формазан. В результате семена окрашиваются в красный цвет, интенсивность которого зависит от активности дегидрогеназ. Такой метод определения жизнеспособности одинаково пригоден как для семян с завершённым периодом послеуборочного дозревания, так и для семян, которые продолжают находиться в этом состоянии.

В семенах с высокой всхожестью различия между показателями всхожести и жизнеспособности незначительные. В семенах с механическими повреждениями, зараженных болезнями, незрелых, поврежденных в результате неправильного режима высушивания, с фитотоксичностью, обусловленной обработкой химикатами, показатели жизнеспособности могут быть сильно завышенными. К погрешности может привести и наличие в семенах микроорганизмов, которые также окрашиваются солями тетразолия. Однако, невзирая на эти недостатки, тетразолиевый метод является надежным и принятым в разных странах тестом (ГОСТ 12039-82). В Международных правилах ISTA его используют в качестве основного метода оценки жизнеспособности семян (Tetrazolium testing handbook, 2000; Santos, 2007).

Методы, используемые для оценки качества семян, должны быть объективными и воспроизводимыми, обеспечивать возможность работать с большим количеством образцов и быть непродолжительными во времени. На деле ни один из известных на сегодня биохимических тестов, имея достаточное

количество достоинств, не отвечает всем этим требованиям, что стимулирует ученых к совершенствованию уже известных и поиску новых методов.

Разработка новых подходов, позволяющих оценивать качество семян в лабораторных условиях и прогнозировать их полевую всхожесть, имеет важное практическое значение, на котором должны быть сконцентрированы усилия ученых. При этом существует необходимость теоретического обоснования методических положений по оценке посевных качеств и урожайных свойств семян с учетом опыта, накопленного в зарубежных странах.

ПРОЦЕССЫ, ПРОИСХОДЯЩИЕ В СЕМЕНАХ ПРИ УСКОРЕННОМ СТАРЕНИИ

В настоящее время *старение семян* считается основной причиной снижения их силы роста и, в конечном счете, жизнеспособности. Под старением семян понимают процесс ухудшения их качества, приводящий к накоплению деструктивных метаболических изменений до тех пор, пока их способность к прорастанию не теряется полностью (Ellis et al., 1990; Roberts et al., 1972; Powell, 1988). У семян процесс старения заключается в физиолого-биохимических изменениях, происходящих при неблагоприятных условиях хранения (Justice et al., 1978; Алексейчук и др., 2008).

К физиологическим изменениям, индуцируемым при старении семян на уровне целого растения, можно отнести: уменьшение скорости прорастания и роста проростков, увеличение количества морфологически аномальных проростков и повышенную чувствительность проростков к патогенам (Taylor, 1997). На биохимическом уровне старение семян сопровождается снижением метаболической активности при прорастании (McDonald, 1999), увеличением вытекания клеточных метаболитов сквозь мембраны и семенные оболочки (Roberts et al., 1972; Dawidowich-Grzegorzewska et al., 1992), снижением митохондриальной активности и активности ряда ферментов (Aung et al.; Dell'Aquila, 1994).

Ухудшение физиологического качества (детериорация) семян обычно начинается уже на стадии физиологической зрелости и продолжается при уборке урожая, обработке и хранении семян (Алексейчук, 2005в). При этом скорость детериорации определяется как генетическими особенностями, так и экзогенными факторами. Продолжительность процесса может варьировать от

нескольких дней до многих лет. Процесс детериорации является последовательным и прогрессирующим, хотя бывает очень трудно отделить первичные причины, вызывающие старение, от вторичных.

Процесс старения реализуется посредством физиологических изменений и физических повреждений клеточных мембран (Ladonne, 1989). Одновременно наблюдаются изменения активности ферментов (особенно антиоксидантных), интенсивности дыхания, снижение синтеза белков и РНК, генетические повреждения на уровне ДНК и накопление токсических метаболитов (Priestly, 1986).

Вследствие детериорации семена постепенно теряют способность к прорастанию и устойчивость к экзогенным стрессорам. Потеря силы роста у семян предшествует потере всхожести, поэтому семена различных партий с одинаковой всхожестью часто могут различаться по их физиологическому состоянию (степени детериорации) и иметь различную силу роста.

В работах Т.В. Веселовой с соавторами (Веселова и др., 1999; 2003; 2006) указывается, что при изучении механизмов изменения всхожести семян при хранении и под действием внешних факторов следует учитывать гетерогенность партий семян. Каждую партию семян можно условно разделить на три фракции: жизнеспособные семена высокого качества, из которых формируются нормально развитые сильные проростки; жизнеспособные семена низкого качества, которые способны прорасти, но формируют слабые проростки с морфологическими отклонениями; нежизнеспособные семена, полностью потерявшие всхожесть. При этом всхожесть партии семян под влиянием экзогенных обработок может увеличиваться только за счет фракции семян низкого качества, которые в процессе хранения сохранили жизнеспособность.

Возможность ухудшать качество семян в течение короткого времени позволила осуществить значительный прогресс в понимании механизмов старения у семян. Однако до настоящего времени не разработана точная модель, которая бы полностью описывала данный процесс. Происходит накопление фактов, которые часто противоречат друг другу, возможно вследствие разнообразия самих семян и неоднозначности их реакции на неблагоприятные условия.

Гидролиз и синтез белков. При потере жизнеспособности у семян наблюдаются изменения в составе белков и снижение скорости мобилизации запасных питательных веществ. С другой стороны, снижается способность самих зародышей использовать запасные питательные вещества для синтетических процессов при прорастании вследствие нарушения процессов трансляции РНК и синтеза белков (Rajjou et al., 2007).

Лихачев (1974) в своих экспериментах продемонстрировал, что в нормально развитых проростках пшеницы процессы гидролиза и синтеза биополимеров хорошо сбалансированы. В проростках, характеризующихся меньшей длиной надземной и корневой систем, ферментативная система, катализирующая гидролиз крахмала, функционирует нормально, клетки щитка транспортирует продукты гидролиза к зародышу, однако последний не в состоянии их утилизировать с той же скоростью, что приводит к перенасыщенности проростков растворимыми углеводами. Другая картина наблюдается в ненормально развитых проростках: у них нарушены процессы гидролиза и транспорта веществ через щиток, в результате чего содержание растворимых углеводов в зародышах резко снижается.

Таким образом, нарушение сопряженности между процессами гидролиза запасных веществ, их транспортировки к прорастающему зародышу и скоростью синтетических процессов является одной из причин нарушения нормального развития проростков из семян низкого качества.

Интенсивность дыхания. Существует взаимосвязь между интенсивностью дыхания семян, уровнем их влагосодержания и скоростью старения при различных условиях хранения (Zhang et al., 1995b).

Хранение семян при высокой относительной влажности воздуха приводит к усилению процесса спиртового брожения. При спиртовом брожении, которое обычно наблюдается в организмах в анаэробных условиях, ацетальдегид восстанавливается до этанола с участием алкогольдегидрогеназы, использующей НАДН в качестве восстанавливающего агента. Наличие алкогольдегидрогеназы в сухих семенах позволяет контролировать процесс конверсии ацетальдегида в этанол. При этом содержание алкогольдегидрогеназы регулируется балансом между ее продукцией, гликолизом и циклом трикарбоновых кислот. Экспозиция семян сои в цианистом водороде индуцировала сдвиг митохондриального дыхания в сторону спиртового брожения.

Помимо этанола, основными летучими компонентами, которые детектировались в подвергнутых старению семенах сои, являются ацетальдегид и метанол (Lee et al., 2000; Kataki et al., 2001). Метиловый спирт в семенах накапливается как продукт распада пектинов (метиловых эфиров полигалактуроновых кислот) (Zhang et al. 1995a).

При набухании семян зернобобовых культур часто наблюдается эффект снижения всхожести семян после замачивания. Это связано с тем, что происходит слишком быстрое поглощение воды за счет высокого градиента водного потенциала, который устанавливается, когда сухие семена вступают в контакт со свободной водой (Powell et al., 1986b). При этом семена подвергаются так называемому стрессу набуханием.

Избыток воды, попавший в полость между семядолями, во время расширения семени при набухании, оказывает сильное механическое давление на зародыш, повреждая его. Кислород, поступающий с водой при замачивании семян, способен усугубить это повреждение, активируя метаболизм зародыша, при этом в активном состоянии зародыш переходит в стадию еще более чувствительную к стрессу.

Степень повреждения семян зависит от темпов набухания: при быстрой гидратации содержимое клеток становится подвижным, но мембраны еще недостаточно сформированы, чтобы предотвратить вытекание веществ. Это приводит к потере растворимых и мобилизуемых запасных веществ, необходимых для нормального развития зародыша, а также к размножению внутри-семенных патогенных микроорганизмов.

Нарушение роста и развития у ненормально развитых проростков во многом обусловлено повреждениями клеточных мембран, вследствие чего вода поступает в семена слишком быстро и зародыш испытывает дефицит кислорода при дыхании (Веселова и др., 2003). После перехода от гипоксии к аэробному дыханию могут образовываться свободные радикалы и семена испытывают уже пост-гипоксический окислительный стресс.

Способность семян прорасти и формировать нормально развитые проростки в анаэробных условиях объясняется способностью сохранять интактность субклеточных структур путем мобилизации резервных веществ эндосперма семени, транспортировки их в растущий зародыш и поддержании вы-

сокого уровня активности гликолиза и брожения, т.е. генерации АТФ (Вартапетян, 2005).

При интенсивном этанольном брожении в клетках колеоптиля риса не наблюдается деструкции митохондрий, возможно вследствие использования ими АТФ гликолитического происхождения. Было показано, что во время анаэробного прорастания семян риса имеет место экспрессия гена *Ramy 3D*, ответственного за синтез изофермента α -амилазы, обеспечивающего распад крахмала в семенах в условиях аноксии (Perata, 1997). Синтез этого фермента индуцируется низким содержанием сахаров в анаэробно прорастающих семенах. Поступающие из эндосперма субстраты поддерживают анаэробное продуцирование АТФ в процессе гликолиза.

Неферментативное гликозилирование. В условиях ускоренного старения семян сои и других бобовых имеют место процессы неферментативного гликозилирования белков, вызывающие появление коричневой окраски у старых семян, называемого также реакцией Амадори-Майларда (Wettlaufer et al., 1991; Sun et al., 1995).

Первым этапом гликозилирования является образование альмидина, который формируется путем взаимодействия между свободными аминогруппами белковой молекулы и альдегидными группами глюкозы или другого редуцирующего сахара. Альмидин является лабильным соединением, для его образования требуется всего несколько часов.

При сохранении повышенного уровня глюкозы образуются более стабильные продукты Амадори (1-амино, 1-дезоксикетоза), которые окисляются в конечные продукты глубокого гликозилирования (Кудинов, 1994). Конечные продукты реакции Майларда труднорастворимы, устойчивы к протеолитическому расщеплению и весьма активны химически. Негативный эффект гликозилирования определяется не собственно присоединением глюкозы к долгоживущим белкам, а происходящим вследствие этого их окислительным повреждением. Продукты реакций гликозилирования способны накапливаться в семенах в процессе хранения, поскольку для этого не требуется высокого влагосодержания.

Нуклеотиды и ДНК также подвергаются неэнзиматическому гликозилированию, что приводит к модификации ДНК и нарушению системы репарации. Это может быть причиной потери активности ферментов репарации ДНК в

сухих семенах в процессе старения (Osborne, 1980). Присутствие редуцирующих сахаров в сухих семенах способствует потере их жизнеспособности в результате этих реакций. Известно, что у большинства ортодоксальных семян (семена, которые при созревании обезвоживаются до низкого уровня влажности) сахара обычно присутствуют в виде олигосахаридов. Редуцирующие сахара такие как глюкоза, фруктоза или галактоза в них отсутствуют, однако накапливаются под влиянием старения (Kristal et al, 1992). Установлена корреляция между гидролизом сахаров, накоплением продуктов реакций Амадори - Майларда и перекисным окислением липидов (Narayana et al., 2000).

Образующиеся в процессе перекисного окисления липидов (ПОЛ) альдегиды вступают в реакцию с аминогруппами аминокислот, пептидов, белковых фрагментов и с нуклеиновыми кислотами с промежуточным образованием свободных радикалов. Установлено, что некоторые продукты реакции альдегидов и восстанавливающих сахаров (например, глюкозы) с аминокислотами сами по себе проявляют токсичность и обладают мутагенным действием. По мере развития процесса ПОЛ, образующиеся альдегиды могут вступать в реакцию Майларда. В свою очередь, по мере накопления изменений в структуре белковых фрагментов последние могут прекращать осуществление своих биологических функций. Продукты ПОЛ могут реагировать с терминальной группой аминокислот мембранных белков, вызывая повреждение мембран. В зародышах семян сои содержание продуктов перекисидации липидов, оцененное по содержанию окрашенных продуктов тиобарбитуровой кислоты, вступивших в реакцию с малоновым диальдегидом, коррелировало с содержанием продуктов Амадори (Feeney et al., 1982).

Это свидетельствует о том, что гидролиз сахаров и перекисидация липидов сопряжены с реакциями гликозилирования, и эти процессы совместно могут вызывать потерю жизнеспособности при хранении семян.

В настоящее время выдвинуто предположение, что реакции Майларда являются первичным механизмом старения семян, наблюдающимся в семенах всех видов при всех условиях хранения (Murthy, 2003). Однако окончательно это еще не доказано.

Свободные радикалы и антиоксидантные системы. Hendry (1993) представил обзор о влиянии кислорода и свободных радикалов на длитель-

ность хранения семян, в котором приводит доказательства гипотезы свободных радикалов в процессах старения. Одно из основных положений этой гипотезы состоит в том, что свободно-радикальные реакции протекают по-разному в живых, стареющих и мертвых тканях.

Одним из наиболее опасных последствий физиологического стресса является образование свободных радикалов и таких активных форм кислорода, как супероксиданион ($O_2^{\cdot-}$) и пероксид водорода (H_2O_2).

Негативному действию свободных радикалов в растительной клетке препятствуют различные по природе вещества-антиоксиданты, такие как ферменты (супероксиддисмутаза, пероксидаза, каталаза), ряд витаминов (аскорбиновая кислота, токоферолы) и каротиноиды. Показано, что важную роль при кислородном стрессе, возникающем в быстро набухающих семенах бобовых растений, играет трипептид глутатион (Klapheck et al. 1990).

Свободные радикалы, образующиеся в результате кислородного стресса, влияют на активность антиоксидантных ферментов, таких как супероксидоксидазы и пероксидазы, что в результате приводит к снижению качества семян (Nandi et al. 1997).

В свою очередь, постепенное снижение антиоксидантной активности ферментов вызывает деградацию белков и нарушение целостности ферментов. Молекулы ферментов могут подвергаться перестройкам посредством потери или добавления функциональных групп, окисления сульфгидрильных групп или конверсии аминокислот в белковой структуре. Кроме этого, ферменты могут подвергаться изменениям конфигурации - частичному «уплотнению» или «раскручиванию» ультраструктуры, конденсации с образованием полимеров, разобщению субъединиц фермента.

Зародыши, выделенные из семян высокого качества, обладают более высокой активностью супероксиддисмутазы и пероксидазы (Bowler et al., 1992, 1994; Balesevic-Tubic, 2005; Zhu et al., 2007). Накопление пероксида водорода в апопласте является одной из основных причин снижения растяжимости клеточных стенок при старении клеток (Андреева, 1988). Баланс между продуктами свободно-радикальных реакций и активностью антиоксидантных ферментов, присутствующих в сухих зародышах, определяет состояние мембран и макромолекул при набухании семян (Puntario et al., 1990). Неблагоприятные условия хранения семян ведут к повышению уровня активных

форм кислорода, который, в конечном итоге, приводит к необратимым процессам деградации клеточных мембран (Standman, 1992; Wilson et al., 1986a, 1986b).

В работе Ponquett с соавторами (1992) приведены доказательства взаимосвязи между окислением липидов и старением семян сои, чечевицы, фасоли, гороха и томатов. Авторы разработали регрессионную модель, согласно которой отношение содержания линоленовой кислоты к содержанию общих токоферолов коррелирует с качеством семян всех бобовых культур. Khan (1996) указывает, что потеря жизнеспособности семян сои связана с перекисным окислением липидов в семенной оболочке. Считают, что семенная кожура может являться источником свободных радикалов при хранении сухих семян в условиях высокой температуры и таким образом способствует детериорации семян.

Защита растений от избытка активных форм кислорода может происходить через аскорбат-глутатионовый цикл. Имеются сообщения о важной роли этого цикла также и в антиоксидантной системе семян (Paula et al., 1996). Глутатионредуктаза, восстанавливающая окисленный глутатион, присутствует в воздушно-сухих семенах и быстро активируется при их гидратации, причем этот процесс зависит от доступности НАДФ-Н. Показано, что у семян подсолнечника и томата, подвергнутых ускоренному старению, наблюдалось снижение содержания восстановленного глутатиона на фоне значительного повышения его окисленной формы, что говорит о нарушении сопряженности окислительных и восстановительных процессов (Vos et al., 1994).

Активность ферментов. Прорастание семян включает процессы деления и роста клеток, которые требуют много энергии и являются АТФ-зависимыми. Anderson и Gupta (1986) показали, что воздушно-сухие нестарые семена содержат низкий уровень АТФ, но при набухании усиливается окислительное фосфорилирование и катаболизм углеводов, что обеспечивает достаточное количество АТФ. При прорастании семян бобовых наблюдалось увеличение активности сукцинат- и малатдегидрогеназ, а также цитохрома а, цитохрома а₃ и цитохрома с. (Morohashi et al., 1981).

Митохондрии, изолированные из нежизнеспособных зародышей кукурузы, имели деформированные снаружи мембраны и дезорганизованные кристы (Berjak et al., 1986). Митохондрии в клетках зародышевых корешков се-

мян кукурузы первыми повреждались в процессе ускоренного старения и при естественном старении (Berjak et al., 1972; Berjak et al., 1986). Старение в сухих семенах может быть связано с потерей интегрированности плазматических мембран вследствие дегградации липидов (Duxbury et al., 1991).

Aung и McDonald (1995) исследовали общую активность эстераз в связи с детериорацией семян арахиса. Активность этих ферментов обычно повышается в процессе набухания семян, когда в клетках достигается оводненность, достаточная для перехода их из связанного на мембранах состояния в воду. При этом семена более низкого качества характеризовались снижением активности этих ферментов.

Детериорация семян при старении связана с хромосомными абберациями и изменениями в синтезе РНК, белков и ферментов. Неполный синтез белков происходит вследствие повреждений ДНК, что нарушает процессы транскрипции и трансляции (McDonald, 1999).

Livesley и Bray (1991) изучали влияние старения на активность α -амилаз и синтез белков в алейроновом слое семян злаковых культур. У ненормально развитых проростков пшеницы наблюдалось повышение активности α -амилаз через 3-6 дней прорастания с последующей потерей активности ферментов через 12 дней. При этом в нормально прорастающих семенах идентифицировали α -амилазы с высокой и низкой изоэлектрической точкой ($pI < 5.8$), а в ненормально прорастающих семенах отмечено снижение количества α -амилаз с низкой изоэлектрической точкой.

Abdul-Baki и Anderson (1972) в своих работах впервые продемонстрировали корреляцию между потерей жизнеспособности и снижением активности ферментов в семенах пшеницы. Сниженная активность α -амилаз в стареющих семенах наблюдалась вследствие того, что этот фермент синтезировался менее интенсивно. В опытах Perata с соавторами (1993) было показано, что в нежизнеспособных семенах пшеницы и ячменя ферменты, ответственные за мобилизацию крахмала, либо отсутствуют, либо находятся в неактивном состоянии.

Дегградация ДНК. Большинство авторов (Amable et al., 1986; Gidrol et al., 1988; Hampton, 2002; Gutierrez et al., 1993) считает, что детериорация вызывает дегградацию ДНК, что приводит к нарушению транскрипции и обуславливает неполный синтез ферментов, жизненно необходимых на начальных

этапах прорастания. Gidrol с соавторами показали, что синтез белка *in vivo* начинался лишь после 12 часов набухания детериорированных семян бобовых, вызванный деградацией долгоживущей мРНК (Gidrol et al, 1988).

Cruz-García и др. (1995) обнаружили, что ускоренное старение являлось причиной снижения синтеза ДНК и дыхания в семенах кукурузы (Cruz-García et al., 1995; Hendry, 1993). Процесс повреждения ДНК ведет к нарушению синтеза ДНК и образования мРНК, что влечет за собой, в конечном итоге, снижение синтеза ферментов жизненно необходимых на ранних этапах прорастания семян.

Существует предположение, что повреждение генома при старении семян может осуществляться в результате программированной клеточной смерти (ПКС) (Song et al., 2007). ПКС индуцируется в клетках животных и растений как генетически детерминированная программа развития (Raff, 1998), а также под воздействием стрессоров различного происхождения в клетках растений (Pennell et al., 1997; Veers et al., 2001). При этом наблюдаются конденсация хроматина и дробление ядра. Протопласт сжимается, цитоплазматическая мембрана образует складки, в наружном монослое плазматической мембраны появляется фосфатидилсерин, происходит межнуклеосомная фрагментация ДНК (Hadfield et al., 1997).

Деградация хроматина происходит ступенчато под действием эндонуклеаз, которые сначала атакуют хроматин в области относительно протяжённых розеточных петель (доменов) с высвобождением крупных 50–300 т.п.н. фрагментов ДНК. Затем крупные фрагменты хроматина атакуются эндонуклеазами в области межнуклеосомных спейсеров, которые по сравнению с ассоциированной с октамерами гистонов нуклеосомной ДНК более доступны действию эндонуклеаз (Oberhammer et al., 1993). Поскольку размер ДНК в составе одной нуклеосомы составляет ~ 200 пар нуклеотидов, в агарозном геле при электрофорезе образуется «нуклеосомная» лестница, каждая ступень которой соответствует фрагменту ДНК с длиной, кратной двумстам парам оснований (Steller, 1995).

В настоящее время не существует однозначного мнения, в отношении того, имеет ли место нарушение целостности ДНК в процессе хранения семян или в прорастающих семенах. Однако современная модель детериорации се-

мян основана на том, что повреждения, вызванные свободными радикалами, приводят к нарушению целостности генома в ядре.

Osborne с коллегами изучала молекулярную дисфункцию ДНК в зародышах риса. В результате старения при длительном хранении наблюдалось увеличение активности ДНКаз вследствие инактивации ингибиторов ДНКаз. Это приводило к нарушениям в целостности ДНК. Авторы также сообщали о появлении одиночных разрывов ДНК в конденсированном хроматине жизнеспособных семян. Репарационные ферменты могут повреждаться при хранении семян, и потому им тоже требуется лаг-фаза для восстановления активности (Vazquez et al., 1991).

Elder и Osborne (1993) показали, что репарация ДНК наблюдается при набухании семян. Общее содержание РНК, а также ее 18S-субъединица деградировали в нежизнеспособных сухих семенах риса, что также может быть причиной их старения (Roberts et al. 1973). Повышенная активность нуклеаз может приводить к нарастающим повреждениям при набухании семян низкого качества. При этом скорость активации репликации ДНК при прорастании семян определяется количеством накопленных повреждений: чем больше времени требуется на репарацию ДНК, тем позже клетки переходят из G_0/G_1 фазы клеточного цикла в S-фазу (Алексейчук и др., 2006; Zadvornova et al., 2006).

Таким образом, детериорация семян оказывает деструктивные воздействия на процессы, происходящие в нормально функционирующей клетке на всех уровнях ее организации. Действие свободных радикалов и перекисное окисление липидов приводит к деградации структуры мембран и целостности ДНК, а также сопровождается снижением активности большинства ферментов в клетке. Одной из причин такого снижения активности может быть разрушение ферментов, либо нарушения в работе белоксинтезирующего комплекса под действием свободных радикалов в целом.

Однако вопрос о том, насколько процессы, происходящие в семенах при искусственном старении, совпадают с процессами долговременного старения при длительном хранении, все еще остается открытым. Обзоры, представленные в литературе, подтверждают, что могут быть разные пути ухудшения качества семян (Walters, 1998; Murthy, 2003). При ускоренном старении в условиях высокой влажности и температуры воздуха основными реакциями яв-

ляются перекисидация липидов и потеря мембранами фосфолипидов. При старении воздушно-сухих семян в процессе длительного хранения происходят в основном неферментативные реакции, не требующие присутствия большого количества воды.

В настоящее время накоплен большой объем информации, требующей систематического анализа и создания общей концепции физиологического качества у семян сельскохозяйственных растений как комплексного параметра, характеризующего способность семян к прорастанию в неблагоприятных полевых условиях, и ответственного за формирование стрессоустойчивости проростков. Семена являются основой успешного возделывания сельскохозяйственных культур. Накопление фундаментальных знаний о механизмах, лежащих в основе развития, покоя и прорастания семени, необходимо для обоснования новых передовых технологий, позволяющих поддержать конкурентоспособность семенной индустрии и увеличить производство пищевого сырья.

В Республике Беларусь оценка посевных качеств семенного материала проводится на основе показателей лабораторной всхожести и энергии прорастания семян, которые не всегда являются достаточно информативными. Поэтому поиск надежных маркеров для оценки качества семян при хранении и перед посевом, а также способов повышения физиологического качества у посевного материала с последующим их внедрением в практику семеноводства и селекции является перспективным направлением научной работы. Актуальность данной проблемы определяется существующим несоответствием качества посевного материала потребностям семеноводства и семеноведения и необходимостью разработки новых высокоэффективных методов оценки физиологического качества посевного материала, позволяющих характеризовать потенциальную стрессоустойчивость растений.

ОПИСАНИЕ МЕТОДА УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ

Метод ускоренного старения позволяет моделировать условия неблагоприятного хранения посевного материала и тем самым производить быструю и эффективную оценку силы роста семян в лабораторных условиях, дополняющую стандартные методы оценки их посевных качеств, и прогнозировать их полевую всхожесть и урожайность. Несмотря на то, что общий принцип метода известен, при работе с конкретными культурами следует подбирать необходимые параметры влагосодержания и температуры, а также длительность неблагоприятного хранения.

Область применения

Настоящий метод распространяется на семена зерновых культур и дополняет стандартные методы оценки посевных качеств семян.

Принцип данного метода заключается в выдерживании семян в течение определенного времени при высокой влажности и температуре воздуха с последующей оценкой лабораторной всхожести семян.

В настоящих рекомендациях использованы нормативные ссылки на ГОСТ 20290-74, ГОСТ 12038-84 и ГОСТ 12039-82.

Основные положения

Определение качества семян состоит из последовательных этапов: 1) определение начальной всхожести партии семян, 2) инкубация семян при высокой влажности и температуре воздуха (ускоренное старение), 3) определение конечной всхожести партии семян. Определение всхожести семян – по ГОСТ 12038-84.

К числу нормально проросших относят семена, проростки из которых имеют:

- не менее двух нормально развитых корешков размером более длины семени и росток не менее половины его длины с просматриваемым первичным листочком, занимающим не менее половины длины coleoptilya;
- незначительные поверхностные повреждения основных органов, не затрагивающих проводящие ткани;
- нормально развитые органы, но загнившие в местах соприкосновения с больными семенами (вторичное заражение).

К непроросшим семенам относят:

▪ твердые или набухшие семена, которые к моменту окончательного учета всхожести не проросли, но имеют здоровый вид и при нажиме пинцетом не раздавливаются.

К невсхожим семенам относят:

▪ загнившие семена с мягким разложившимся эндоспермом, почерневшим или загнившим зародышем и проростки с частично или полностью загнившими корешками;

▪ ненормально проросшие семена, у которых нет зародышевых корешков или их меньше установленной нормы, или они короткие, прекратившие рост, слабые, спирально закрученные, водянистые;

▪ ненормально проросшие семена, у которых coleoptиль деформированный, пустой, имеет трещину или отсутствует;

▪ ненормально проросшие семена, у которых первичный листочек занимает меньше половины coleoptиля или обесцвечен, раздроблен или продольно расщеплен, веретенообразный, водянистый, обычно с короткими или прекратившими рост зародышевыми корешками.

При определении энергии прорастания и всхожести семян учитывают также поражение семян патогенами. Средний процент пораженных семян определяют визуально и устанавливают степень поражения: слабая (до 5%), средняя (до 25%), сильная (более 25%).

Оборудование, материалы и реактивы

Для проведения анализа следует применять:

- термостат с допустимыми колебаниями температуры $\pm 2^{\circ}\text{C}$;
- 2 контейнера типа эксикатора с рекомендуемым объемом не менее 3 литров со съемной, плотно прилегающей крышкой;
- 2 поддона (сит) с отверстиями, не превышающими размер семян зерновых культур, которые вставляются в описанные выше контейнеры;
- весы аналитические с точностью не ниже до 0,01 г;
- кальций хлористый (CaCl_2);
- натрий хлористый (NaCl) или калий хлористый (KCl);

Также требуется стандартное оборудование для определения всхожести семян (ГОСТ 12038-84). Все емкости должны быть из нержавеющей стали, латуни, стекла или пластмассы.

Подготовка к анализу

- Поддон с отверстиями (сито) и контейнер (эксикатор) тщательно промывают, стерилизуют и высушивают.
- Готовят насыщенные растворы кальция хлористого, натрия хлористого (или калия хлористого) путем добавления солей в дистиллированную воду комнатной температуры до насыщения.
- Насыщенный раствор кальция хлористого наливают в контейнер так, чтобы он занимал не более 1/3 объема, и аккуратно вставляют туда поддон с отверстиями, так чтобы он не касался воды. Контейнер закрывают плотно прилегающей крышкой, ставят в термостат с температурой 20-22⁰С и выдерживают не менее 24 ч до выравнивания температур. Относительная влажность воздуха внутри контейнера при этом составляет 35%.
- Насыщенный раствор натрия хлористого или калия хлористого наливают в контейнер так, чтобы он занимал не более 1/3 объема, и аккуратно вставляют туда поддон с отверстиями, так чтобы он не касался воды. Контейнер закрывают плотно прилегающей крышкой, ставят в термостат с температурой 40⁰С или 50⁰С и выдерживают не менее 24 ч до выравнивания температур. Относительная влажность воздуха внутри контейнера при использовании натрия хлористого составляет 75%, при использовании калия хлористого - 86%.

Проведение анализа

- Начальное влагосодержание семян должно находиться в диапазоне, соответствующем воздушно-сухим семенам зерновых культур при закладке на хранение (12 - 14 %). Выравнивание семян по влагосодержанию осуществляют путем их размещения в контейнере на сите над насыщенным раствором кальция хлористого с 35%-ной влажностью воздуха. Контейнер помещают в термостат с температурой 20-22⁰С сроком не менее 3 дней. Следует избегать случайного контакта семян с раствором под ситом.
- Далее семена достают, взвешивают и размещают навеску в 1-2 слоя в контейнере на сите над насыщенным раствором натрия хлористого с 75%-ной влажностью воздуха. Следует избегать случайного контакта семян с раствором под ситом.
- Контейнер закрывают крышкой и помещают в термостат с температурой 40⁰С или 50⁰С сроком на 5 дней. Между контейнером и стенками термостата долж-

но быть не менее 2 см свободного пространства, чтобы обеспечить равномерность их нагревания. В ходе эксперимента температура должна быть постоянной, поэтому дверь термостата желательно не открывать до его окончания.

- Достают семена и подсушивают до начального уровня влагосодержания: сначала сутки на открытом воздухе (избегать прямых солнечных лучей) и далее путем размещения в контейнере на сите над насыщенным раствором кальция хлористого с 35%-ной влажностью воздуха. Контейнер помещают в термостат с температурой 20-22⁰С сроком не менее 3 дней.
- Подсушенные семена можно сразу раскладывать для стандартного определения всхожести или хранить в холодильнике в закрытых емкостях.
- Определяют всхожесть семян по ГОСТу 12038-84. Контролем служат семена, не подвергавшиеся ускоренному старению.
- Сравнивают результаты энергии прорастания и всхожести семян до и после ускоренного старения. Если показатели снизились незначительно, повторяют эксперимент, увеличивая продолжительность инкубации семян при повышенной влажности и температуре воздуха. Если семена после ускоренного старения потеряли всхожесть, повторяют эксперимент, уменьшая продолжительность инкубации семян при повышенной влажности и температуре воздуха.

Интерпретация результатов

При сравнении результатов определения всхожести семян, подвергнутых ускоренному старению, с результатами определения всхожести необработанных семян, у семян хорошего качества показатели будут приближены друг к другу в большей степени, чем у семян плохого качества. Показатели энергии прорастания и лабораторной всхожести семян после ускоренного старения хорошо коррелируют с полевой всхожестью семян и урожайностью посевов.

В случае если партия семян сильно снижает посевные качества после ускоренного старения, ее не рекомендуется использовать при раннем высеве, поскольку высок риск повреждения всходов при неблагоприятных погодных условиях.

В случае если партия семян сильно снижает посевные качества после ускоренного старения, рекомендуется при посеве использовать более высокие нормы посева.

ПРИМЕРЫ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Объектами исследования являлись партии семян яровых зерновых культур: ячмень, пшеница, тритикале и овес. Оценка посевных качеств исследуемых партий семян показала, что ячмень, пшеница и тритикале в контроле имели хорошую всхожесть (выше 90%) и формировали нормально развитые проростки, в то время как овес отличался большим количеством ненормально развитых проростков, что вероятнее всего связано с большим сроком хранения семян (5 и 9 лет) (Табл.1).

Таблица 1. Всхожесть семян яровых зерновых культур после воздействия ускоренного старения (УС)

Культура	нормально развитые проростки	ненормально развитые проростки	непроросшие семена
<i>контроль</i>			
ячмень Бровар, 2007	99 ± 2	0	1 ± 1
пшеница Ростань, 2007	98 ± 1	0	2 ± 1
ячмень Зубр, 2005	97 ± 2	1 ± 1	2 ± 1
тритикале Лана, 2005	96 ± 2	2 ± 1	2 ± 1
овес Юбиляр, 2003	54 ± 5	39 ± 5	7 ± 3
овес Асилак, 1999	64 ± 6	35 ± 7	2 ± 1
<i>УС при 40⁰С и 75%-ной влажности воздуха</i>			
ячмень Бровар, 2007	97 ± 1	0	3 ± 1
пшеница Ростань, 2007	89 ± 6	4 ± 2	7 ± 5
ячмень Зубр, 2005	77 ± 2	6 ± 1	17 ± 3
тритикале Лана, 2005	81 ± 4	7 ± 2	12 ± 5
овес Юбиляр, 2003	50 ± 5	36 ± 5	14 ± 5
овес Асилак, 1999	52 ± 9	33 ± 6	15 ± 3
<i>УС при 40⁰С и 86%-ной влажности воздуха</i>			
ячмень Бровар, 2007	97 ± 1	0	3 ± 1
пшеница Ростань, 2007	80 ± 2	3 ± 2	17 ± 3
ячмень Зубр, 2005	25 ± 4	26 ± 3	49 ± 3
тритикале Лана, 2005	8 ± 2	15 ± 3	77 ± 2
овес Юбиляр, 2003	13 ± 6	38 ± 4	49 ± 9
овес Асилак, 1999	4 ± 3	35 ± 3	61 ± 3
<i>УС при 50⁰С и 75%-ной влажности воздуха</i>			
ячмень Бровар, 2007	68 ± 6	11 ± 2	21 ± 4
пшеница Ростань, 2007	64 ± 2	5 ± 1	31 ± 3
ячмень Зубр, 2005	3 ± 2	12 ± 2	85 ± 3
тритикале Лана, 2005	0	0	100
овес Юбиляр, 2003	0	4 ± 1	96 ± 1
овес Асилак, 1999	0	2 ± 1	98 ± 1

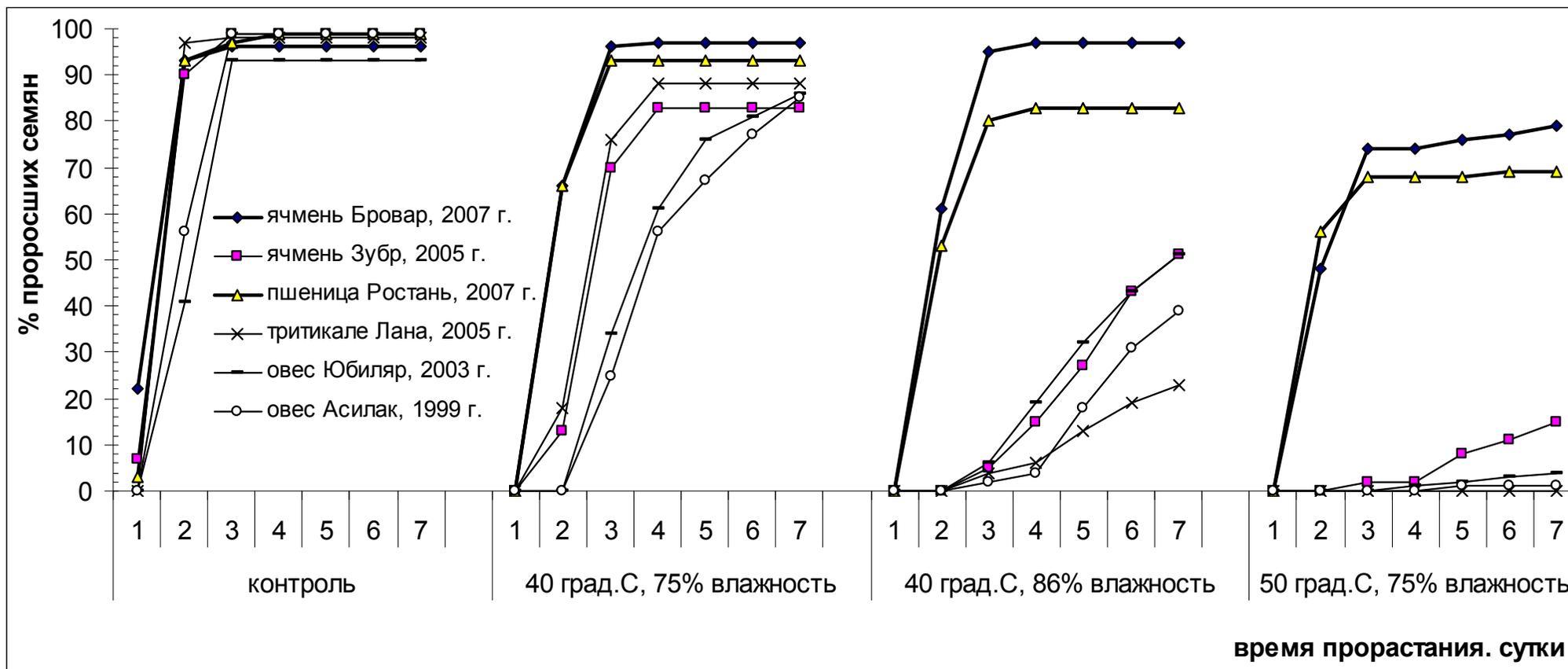
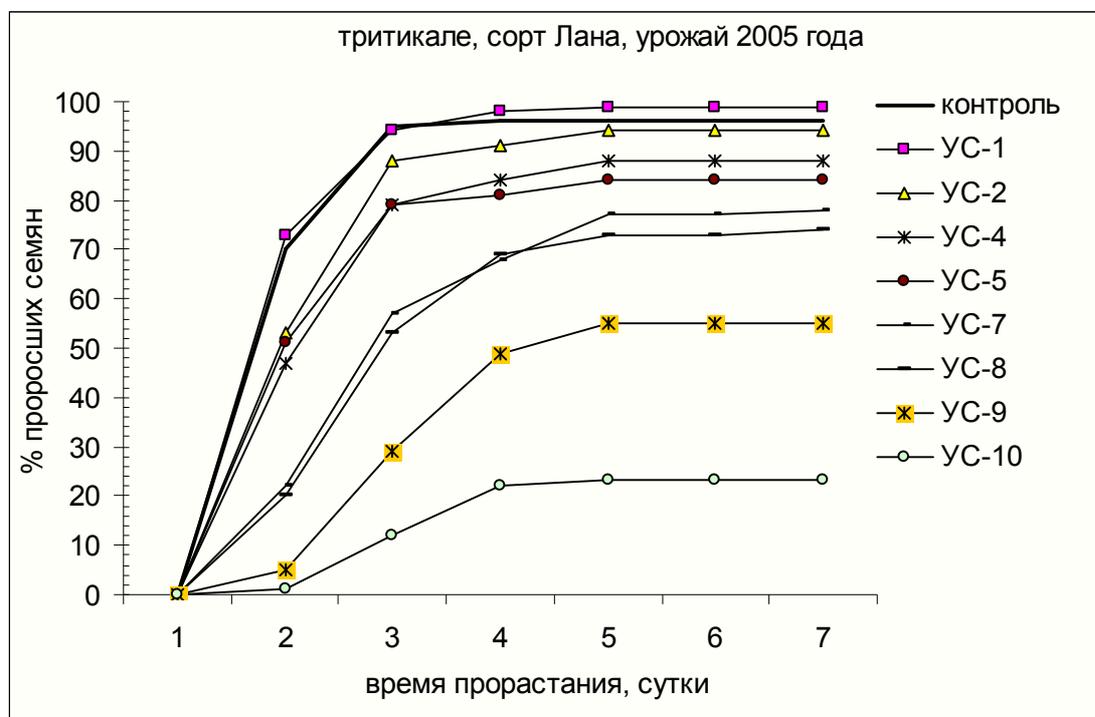


Рисунок 3 – Динамика прорастания семян яровых зерновых культур после воздействия ускоренного старения при разных условиях температуры и влажности воздуха

Для оценки силы роста семена подвергали ускоренному старению в течение 5 дней при следующих условиях: 1) 40⁰С и 75%-ная влажность воздуха; 2) 40⁰С и 86%-ная влажность воздуха; 3) 50⁰С и 75%-ная влажность воздуха.

По мере усиления стрессорного воздействия, создаваемого комбинацией показателей влажности и температуры воздуха, семена медленнее прорастали (Рис.3.), а также снижали всхожесть и формировали больше ненормально развитых проростков (Табл.1). При этом наиболее устойчивыми были семена ячменя сорта Бровар и пшеницы сорта Ростань урожая 2007 года. Далее следовали тритикале сорта Лана и ячмень сорта Зубр урожая 2005 года со средней степенью устойчивости. Семена овса урожая 2003 и 1999 годов наиболее значительно снижали всхожесть под действием стресса ускоренного старения.

Подводя итог вышеизложенному, следует сказать, что в наибольшей степени сила роста партий семян зависела от сроков их хранения. Условия ускоренного старения позволяют моделировать процессы, происходящие в семенах при длительном хранении. Инкубация одной и той же партии семян тритикале при 40⁰С и 75%-ной влажности воздуха в течение от 1 до 10 суток приводила к последовательному снижению их посевных качеств (Рис.4).



УС (1-10) – продолжительность инкубации семян в условиях УС (от 1 до 10 суток)

Рисунок 4 – Динамика прорастания семян при разной длительности ускоренного старения

Однако необходимо учитывать и вариабельность показателей внутри партии семян. Семена тритикале были фракционированы по удельной плотности на сортировочной машине «САД-1» в РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию». Фракции семян различались также и по массе 1000 зерен, варьируя от 38 до 29 грамм. Полевая всхожесть и урожайные свойства сортированных семян различались, демонстрируя ухудшение показателей по мере снижения их массы и удельной плотности (Белявский и др., 2007).

Наибольшую устойчивость к стрессовым условиям ускоренного старения проявили семена из удельно-тяжелой фракции. Соответственно, семена из удельно-легкой фракции после УС более значительно снижали скорость прорастания и всхожесть (Рис.5).

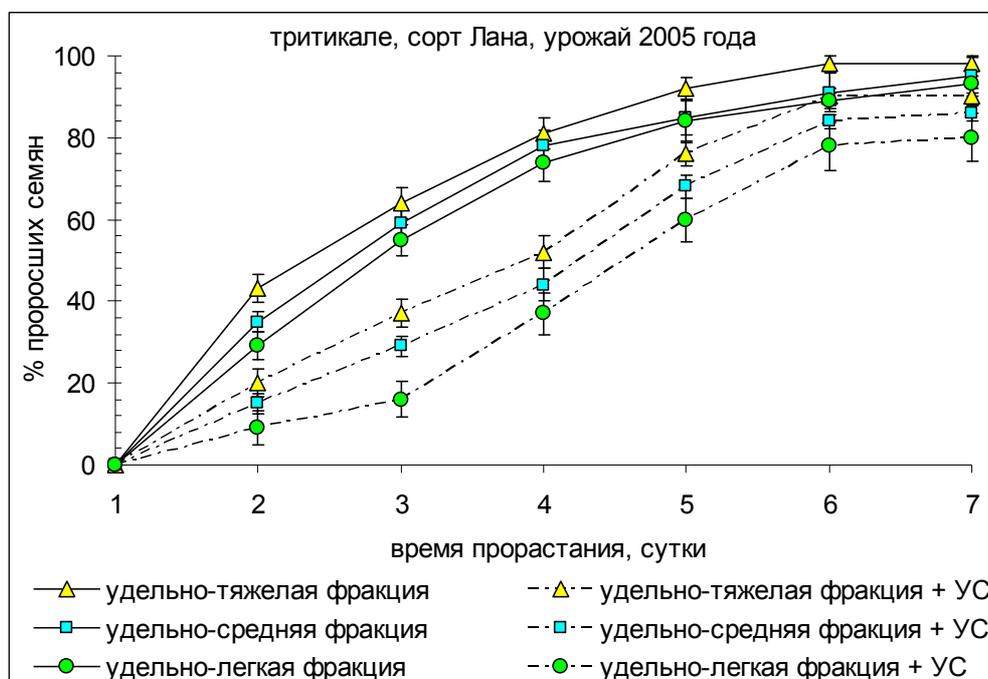


Рисунок 5 – Динамика прорастания семян тритикале сорта Лана, отсортированных по удельной плотности на машине «САД-1»

Таким образом, использование метода ускоренного старения, представляющего собой кратковременную инкубацию семян при повышенной влажности и температуре воздуха, позволяет моделировать условия неблагоприятного хранения посевного материала и производить быструю и эффективную оценку силы роста зерновых культур в лабораторных условиях, дополняющую стандартные методы оценки посевных качеств семян.

ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

Отечественные ГОСТы

- ✚ ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести
- ✚ ГОСТ 12039-82 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения жизнеспособности
- ✚ ГОСТ 12044-93 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями
- ✚ ГОСТ 12045-97 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения заселенности вредителями
- ✚ ГОСТ 12040-66 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения силы роста
- ✚ ГОСТ 30168-95 Семена сахарной свеклы. Методы определения силы роста

Международные правила оценки качества семян

- ✚ Association of Official Seed Analysts. Seed Vigor Testing Handbook / Contribution No 32 to the Handbook of Seed Testing. - USA, 1983. - 88 p.
- ✚ Handbook of Seed Vigour Test Methods / Ed. J.G. Hampton, D.M. TeKrony. ISTA Vigour Test Committee, Zurich, Switzerland. 3rd Edition, 1995. - 120 p.
- ✚ International Seed Testing Association. International rules for seed testing. // Seed Science and Technology. - 1999. - V.27, Supplement.
- ✚ International Seed Testing Association. International rules for seed testing. Edition 2004. The International Seed Testing Association (ISTA). – Switzerland, 2004.
- ✚ Seedling Evaluation Handbook / Contribution No 35 to the Handbook of Seed Testing. - USA, 1992.
- ✚ Tetrazolium Testing Handbook / Contribution No 29 to the Handbook of Seed Testing. - USA, 2000.

Статьи

- ✚ Алексейчук Г.Н., Ламан Н.А. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки (методическое руководство). – Мн.: Право и экономика, 2005а. – 48 с.
- ✚ Алексейчук Г.Н., Ламан Н.А., Задворнова Ю.В., Солоненко Ю.А. Современные подходы к оценке посевных качеств семян сельскохозяйственных культур // Земляробства і ахова раслін. – 2005б, №2.- С.19-22.
- ✚ Алексейчук Г.Н. Ортодоксальные семена сельскохозяйственных культур: механизмы приобретения и потери устойчивости к обезвоживанию и другим стрессам // Ботаника: исследования. - Вып.33. Мн.: Право и экономика.- 2005в. - С.194-204.
- ✚ Алексейчук Г.Н., Задворнова Ю.В., Ламан Н.А. Эпигенетическая регуляция активации клеточного цикла при прорастании семян разного физиологического качества // Ботаника: исследования. Вып.34. Мн.: Право и экономика. 2006. С.33-42.
- ✚ Алексейчук Г.Н., Ламан Н.А. Механизмы старения семян при неблагоприятных условиях хранения // Ботаника: исследования. Вып. 36. Мн: Право и экономика. 2008. С. 311–325.
- ✚ Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. - М.: Наука, 1988. – 128 с.
- ✚ Белявский В.М., Алексейчук Г.Н., Крылова Т.М., Ламан Н.А., Павлова Л.Д., Каляцкая Ж.Н., Дорошук О.В. К проблеме отбора семян с высокими урожайными свойствами и методики лабораторной оценки их качества // Сб. науч.трудов РУП НПЦ по земледелию «Земледелие и селекция в Беларуси». – Жодино, 2007. – Выпуск 43. - С.90-97.

- ✚ Вартапетян Б.Б. Учение об анаэробном стрессе растений – новое направление в экологической физиологии, биохимии и молекулярной биологии растений. 1. Становление новой научной дисциплины // Физиология растений. – 2005. - Т.52, №6. – С. 931-953.
- ✚ Веселова Т.В., Веселовский В.А., Леонова Е.А. Что означает изменение гетерогенности популяции семян при ускоренном старении? // Физиология растений. – 1999. – Т.46. - №3. – С. 2477-483.
- ✚ Веселова Т.В., Веселовский В.А. Возможность участия аквапоринов в поглощении воды семенами гороха разного качества // Физиология растений. – 2006. – Т.53. - №1. – С. 106-112.
- ✚ Веселова Т.В., Веселовский В.А., Усманов П.Д., Усманова О.В., Козарь В.И. Гипоксия и повреждения при набухании стареющих семян // Физиология растений. - 2003. – Т. 50.-. № 6. – С. 930-937.
- ✚ Гриценко В.В., Калошина З.М. Семеноведение полевых культур. - М.: Колос, 1976.
- ✚ Круг Г. Овощеводство (пер. с нем. В.И. Леунова). – М.: Колос, 2000. – 576 с.
- ✚ Кудинов Ю.Г. Патологические последствия накопления конечных продуктов ферментативного гликозилирования при старении // Пробл. старения и долголетия. - 1994. - Т. 4. - С. 434-451.
- ✚ Леурда И.Г., Бельских Л.В. Определение качества семян. Альбом. – М.: Колос, 1974. – 100 с.
- ✚ Лихачев Б.С. Оценка проростков на ранней стадии развития – один из методов определения силы роста семян // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1974. Т.51, вып.2. – С. 97-114.
- ✚ Лихачев Б.С. Морфофизиологическая оценка проростков и сила роста семян // Селекция и семеноводство. – 1977. – С. 67-68.
- ✚ Лихачев Б.С., Захарова Л.Г. Критерии оценки состояния зерновых культур при длительном хранении // Научно-технический Бюллетень ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. - 1985. - Вып. 152. - С. 26-30.
- ✚ Лихачев Б.С. Сила роста (теория, методы, значение): автореф. дис... д-ра с.-х. наук. - Краснодар, 1986. - 39 с.
- ✚ Лобода Н.В., Весна Б.А., Сирота М.М. и др. Справочник по семеноводству – К.: Урожай, 1991.
- ✚ Справочник по семеноводству/ Под ред. Н. В. Лободы; Сост. М. М. Сирота. - Киев: Урожай, 1991. - 352 с.
- ✚ Мак-Кей Д.Б. Определение жизнеспособности // Жизнеспособность семян. - М.: Колос.- 1978. - С. 167-201.
- ✚ Международные правила анализа семян / Пер. с англ. Н.Н. Антошкиной; - М.: Колос, 1984. - 310 с.
- ✚ Овчаров К.Е. Физиология формирования и прорастания семян. - М.: Колос, 1976. – 256 с.
- ✚ Прикладов Н.В. Новые представления о силе роста семян // Научные вопросы семеноводства, семеноведения и контрольно-семенного дела. - Киев: Урожай, 1962. - С. 116-134.
- ✚ Строна И.Г. Методика изучения силы роста семян полевых культур. – М.: Колос. - 1964.
- ✚ Строна И.Г. Общее семеноведение полевых культур. - М.: Колос, 1966. – 464 с.
- ✚ Фирсова М.К. Семенной контроль. – М.: Колос, 1969.
- ✚ Хайдекер У. Стресс и прорастание семян: агрономическая точка зрения // Физиология и биохимия покоя и прорастания семян / под ред. А.А. Кана. – М.: Колос, 1982. – С. 273 – 320.

- ✚ Посевной и посадочный материал сельскохозяйственных культур. Кн.2 / С. Гриб [и др.] ; Ред. Д. Шпаар. - Берлин : [б. и.], 2001. - 380 с.
- ✚ Abdul B., Anderson J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds // Seed biology / eds. T.T. Kozłowski. - NY: Academic Press, 1972. - P. 283-315.
- ✚ Amable R.A., Obendorf R.L. Soybean seed respiration during simulated preharvest deterioration // J. Experimental Botany. — 1986. — Vol. 37, № 179. — P. 1364—1375.
- ✚ Anderson J.D., Gupta K. Nucleotide alterations during seed deterioration // Physiology of seed deterioration / eds. M.B. McDonald, C.J. Nelsonseds. — Madison: Crop Science Society of America, 1986. - P. 47-63.
- ✚ Aung U.T., McDonald M.B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed deterioration // Seed Science and Technology. - 1995. — Vol. 23. — P.101-111.
- ✚ Balesevic-Tubic S., Malencic D., Tatic M., Miladinovic J. Influence of aging process on biochemical changes on sunflower seeds // Helia. — 2005. — Vol.28. — P.107-114.
- ✚ Basra A.S. Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications. - NY: Food Products Press, 1995 — 389 p.
- ✚ Beers E.P., McDowell J.M. Regulation and execution of programmed cell death in response to pathogens, stress and development cues // Current opinion in plant biology. — 2001. — Vol.4. — P.561-567.
- ✚ Berjak P., Villiers T.A. Ageing in plant embryos III. Acceleration of senescence following artificial ageing treatment // New Phytologist. - 1972. — Vol. 71. — P. 513-518.
- ✚ Berjak P., Dini M., Gevers H.O. Deteriorative changes in embryos of long-stored uninfected maize caryopses // South African Journal of Botany. - 1986. — Vol. 52. — P. 109-116.
- ✚ Bowler C., van Montagi M., Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. — 1992. —Vol. 43. — P.83-116.
- ✚ Bowler C., van Camp W., van Montagi M., Inze D. Superoxide dismutase in plants // Crit. Rev. Plant Science — 1994. —Vol. 13. — P.199-218.
- ✚ Cruz-Garcia F., Gonzalez-Hernandez V.A., Molina-Moreno J., Vazquez-Ramos J.M. Seed deterioration and respiration as related to DNA metabolism in germinating maize // Seed science and technology. — 1995. — Vol. 23, № 3. — P. 477—486.
- ✚ Dawidowicz-Grzegorzewska A., Podstolski A. Age-related changes in the ultrastructure and membrane properties of *Brassica napus* L. seeds // Annals of Botany. — 1992. — Vol. 69, № 1. — P. 39—46.
- ✚ Dell'Aquila A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation // Seed Science Research. — 1994. — Vol. 4, № 2. — P. 293—298.
- ✚ Duxbury C.L., Legge R.L., Paliyath G., Thompson J.E. Lipid breakdown in smooth microsomal membranes from bean cotyledons alters membrane proteins and induces proteolysis // Journal of Experimental Botany. - 1991. — V.42. — P.103-112.
- ✚ Elder R.H., Osborne D.J. Function of DNA synthesis and DNA repair in the survival of embryos during early germination and in dormancy // Seed Science Research. — 1993. — Vol.3. - P.43-53.
- ✚ Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H. Effect of moisture content and method of rehydration on the susceptibility of pea seeds to imbibition damage // Seed Science and Technology. - 1990. - Vol. 18, № 1. - P. 131-137.
- ✚ Feeney R.E., Whitaker J.R. The Maillard reaction and its prevention // Food protein deterioration: mechanisms and functionality / Ed. J.P. Cherry. — Washington: American Chemical Society. - 1982. — P.201-229.
- ✚ Germ H. Methodology of the vigour test for wheat, rye and barley in rolled filter paper // Proc. Int. Seed Test. Ass. - 1960. - Vol. 25. - P. 515-518.

- # Gidrol X., Serghini H., Noubhani A., Mocquot B. Effect of accelerating ageing on protein synthesis in two legume seeds // *Plant Physiol. Bioch.* - 1988. - Vol. 26, № 3. - P. 281–288.
- # Grabe D.F. Significance of seedling vigor in corn // 21st Ann. Hybrid Corn Ind.-Res. Conf. - 1966. - P. 39-44.
- # Gutiérrez G., Cruz F., Moreno J., González-Hernández V.A., Vázquez-Ramos Y.M. Natural and artificial seed ageing in maize: germination and DNA synthesis // *Seed Science Research.* — 1993. — Vol. 3, № 3. — P. 279–285.
- # Hadfield K.A., Bennet A.B. Programmed senescence of plant organs / K // *Cell Death Diff.* — 1997. — Vol. 4. —P. 662–670.
- # Hampton J.G. What is Seed Quality? // *Seed Science and Technology.* - 2002. - Vol. 30. - P. 1-10.
- # Hendry G.A.F. Oxygen, free radical processes and seed longevity // *Seed Science Research.* - 1993. — Vol. 3. — P. 141-153.
- # Justice O.L., Bass L.N. Principles and practices of seed storage // *Agricultural handbook.* — USA: Government Printing Office, 1978. — 290 p.
- # Kataki P. K., Taylor A.G. Time course study of ethanol production by corn and soybean to optimize the use of ANA ethanol index as an accurate seed quality test // *J. New Seeds.* — 2001. Vol.3. — P.1-17.
- # Khan M.M., Hendry G.A.F., Atherton N.M., Vertucci-Walters C.W. Free radical accumulation and lipid peroxidation in tests of rapidly aged soybean seeds: a light promoted process // *Seed Science Research.* - 1996. — V.6. — P. 101-107.
- # Klapheck S., Zimmer I., Cosse H. Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase // *Plant and Cell Physiology* - 1990. — V. 31. — P. 1005-1013.
- # Ladonne F. Relationship between standard germination test, conductivity test and field emergence of pea seeds // *Acta Horticulturae.* — 1989. — Vol. 253, № 2. — P. 153–162.
- # Lee P.C., Taylor A.G., Zhang M., Esashi Y. Volatile compounds and accumulation of acetaldehyde-protein adducts in relation to seed quality and storage conditions // *Journal-of-New-Seeds.* — 2000. — Vol. 2, N 1. — P. 59-76.
- # Livesley M.A., Bray C.M. The effects of ageing upon α -amylase production and protein synthesis by wheat aleurone layers // *Annals of Botany.* - 1991. — Vol. 68. - P.69-73.
- # Modaressi R., van Damme P. Application of the Controlled Deterioration Test to Evaluate Wheat Seed Vigour // *Seed Science and Technology.* — 2003. — Vol.31. — P. 771 – 775.
- # McDonald M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment // *Seed Science and Technology.* — 1999. — Vol. 27, № 1. — P. 177–237.
- # Meriaux B., Wagner M.H., Ducournau S., Ladonne F., Fougereux J.A. Using sodium chloride saturated solution to standardize accelerated aging test for wheat seeds // *Seed Science and Technology.*— 2007. — Vol. 35. — P. 722-732.
- # Morohashi Y., Bewley J.D., Young E.C. Biogenesis of mitochondria in imbibed peanut cotyledons: influence of the axis // *Journal of Experimental Botany.* - 1981. — Vol. 32. — P. 605-613.
- # Murthy U.M., Kumar P.P., Sun W.Q. Mechanisms of seed ageing under different storage conditions for *Vigna radiate* (L.) Wilczek: lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillard reactions and their relationship to glass state transition // *J. of Exp. Botany.* — 2003. — Vol.54. — P.1057-1067.
- # Nandi S., Sen-Mandi S., Sinha T.P. Active oxygen and their scavengers in rice seeds (*Oryza sativa* cv. IET 4094) aged under tropical environmental conditions // *Seed Science Research.* - 1997. — Vol. 7. — P. 253-259.

- # Narayana M.U.M., Wendell Q.S. Protein modification by Amadori and Maillard reactions during seed storage: roles of sugar hydrolysis and lipid peroxidation // *Journal of Experimental Botany*. - 2000. – Vol. 51. – P. 1221-1228.
- # Nobbe F. *Handbunch der Samenkunde*. Wiegand, Hempel and Parey.- Berlin, 1876.
- # Oberhammer F. Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DNA to 300 and/or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation // *EMBO J.* – 1993. – Vol.12. – P. 3679–3684.
- # Osborne D.J. Senescence in seeds // *Senescence in plants* / ed. K.V. Thimann - Boca Raton: CRC Press, 1980. – P.13-37.
- # De Paula M., Perez-Otaola M., Darder M., Torres M. Fruros G., Martinez-Honduvilla C.J. Function of ascorbate-glutathione cycle in aged sunflower seeds // *Physiologia Plantarum*. - 1996. – Vol. 96. – P. 543-550.
- # Pennell, R.I. Programmed cell death in plants / R.I. Pennell, C. Lamb // *Plant Cell*. – 1997. – Vol.9, № 7. – P.1157–1168.
- # Perata P., Geshi N., Yamaguchi J., Akazawa T. Effect of anoxia on the induction of α -amylase in cereal seeds // *Planta*. – 1993. – Vol. 191. - P.402-408.
- # Perry D.A. Report of the vigor test committee // *Seed Science and Technology*. – 1978. – Vol. 6, № 1. – P. 159–181.
- # Ponquett R.T., Smith M.T., Ross G. Lipid autoxidation and seed aging: putative relationships between seed longevity and lipid stability // *Seed Science Research*. - 1992. – Vol. 2. – P. 51-54.
- # Powell A.A., Oliveira M.A., Matthews S. The role of imbibition damage in determining the vigour of white and coloured seed lots of dwarf Frech beans (*Phaseolus vulgaris*) // *Journal of Experimental Botany*. - 1986. – Vol. 37. – P. 716-722.
- # Powell A.A. Seed vigour and field establishment // *Advances in research and technology of seeds*. – 1988. – Vol. 11, № 1. – P.29–80.
- # Priestly D.A. *Seed Ageing. Implications for Seed Storage and Persistence in the Soil - USA*: Comstock, Ithaca, 1986.
- # Puntario S., Boveris A. Effect of natural and accelerated aging on the hydroperoxide metabolism of soybean embryonic axes // *Plant Science* // 1990. –Vol. 68. – P. 27-32.
- # Raff M. Cell suicide for beginners // *Nature*. – 1998. – Vol. 396. – P.119–122.
- # Rajjou L., Lovigny Y., JobC., Belghazi M., Groot S., Job D. Seed quality and germination // *Seeds: biology, development and ecology* / Eds. S.W. Adkins, S.E. Ashmore, S.C. Navie. - Oxford: CABI International, 2007. - P.324-332.
- # Roberts E.H. Predicting the storage life of seeds // *Seed Science and Technology*. - 1973. - №1. - P. 499-514.
- # Roberts E.H., Ellis R.H. Physiological, ultrastructural and metabolic aspects of seed viability // *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination* / eds. A.A. Khan. — Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1972. — P. 465–485.
- # Santos M.A.O., Novembre A.D.L.C., Marcos-Filho J. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds // *Seed Science and Technology*.– 2007. – Vol. 35. – P. 213-223.
- # Sen S., Osborne D.J. Decline in ribonucleic acid and protein synthesis with loss of viability during the early hours of imbibition of rye (*Secale cereale* L.) embryos // *Biochemical Journal*. - 1977. –Vol. 166. – P. 33-38.
- # Song S.Q., Tian X., Fu J.R. Possible involvement of programmed cell death events during accelerated ageing of *Glycine max* axes // *Seeds: biology, development and ecology* / Eds. S.W. Adkins, S.E. Ashmore, S.C. Navie. Oxford: CABI International. 2007. P.71-84.

- ✚ Standman K.J. Protein oxidation and aging // *Science*. – 1992. – Vol. 257. – P. 1220-1224.
- ✚ Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide // *Science*. – 1995. – Vol.267. – P.1445–1449.
- ✚ Sun W.Q., Leopold A.C. The Maillard reaction and oxidative stress during aging of soybean seeds // *Physiologia Plantarum*. - 1995. – Vol. 94. - P. 94-105.
- ✚ Taylor A.G. Seed Quality // *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* / eds. B. Tomas, D.J. Murphy, B.G. Murray. - Elsevier Academic Press, 2003. - P.1284-1291.
- ✚ Taylor A.G. Seed storage, germination and quality // *The Physiology of vegetable crops* / ed. H.C. Wien. – USA: CAB International, 1997. – P. 1–36.
- ✚ TeKrony D.M. Seed Vigour Testing // *Journal of seed technology*. – 1995. - Vol. 8. - P. 55-60.
- ✚ Vazquez E., Montiel R.J., Vazquez-Ramos J.M. DNA ligase activity in deteriorated maize embryonic axes during germination: a model relating defects in DNA metabolism in seeds to loss of germinability // *Seed Science Research*. - 1991. – Vol. 1. – P. 269-273.
- ✚ Vos C.H.R.D., Kraak H.L., Bino R.J. Ageing of tomato seeds involves glutathione oxidation // *Physiologia Plantarum*. - 1994. – Vol. 92. - P. 131-139.
- ✚ Walters C. Understanding the Mechanisms and Kinetics of Seed Aging // *Seed Science Research*. - 1998. – Vol. 8. - P. 223-244.
- ✚ Wettlaufer S.H., Leopold A.C. Relevance of Amadori and Maillard products to seed deterioration // *Plant Physiology*. - 1991. – Vol. 97. – P. 165-169.
- ✚ Wilson D.O., McDonald M.B. A convenient volatile aldehyde assay for measuring seed vigor // *Seed Science and Technology*. – 1986a. – Vol. 14, № 2. – P. 259–268.
- ✚ Wilson D.O., McDonald M.B. The lipid peroxidation model of seed deterioration // *Seed Science and Technology*. – 1986b. – Vol. 14, № 2. – P. 269–300.
- ✚ Woodstock L.W., Feeley J. Early seedling growth and initial respiration rate as potential indicators of seed vigor in corn // *Proc. Ass. Off. Seed. Anal.* - 1965. - Vol. 5. - P. 131-139.
- ✚ Zadvornova Y.V., Alekseichuk H.N., Laman N.A., Khripach V.A., Bergervoet J.H.W., Groot S.P.C. Influence of epibrassinolide and homobrassinolide on activation of the cell cycle in cabbage seeds with different maturation and quality // *Advances of Agricultural Sciences. Problem Issues. Warsaw. Issue 509. 2006. P. 353-359.*
- ✚ Zhang M., Yoshiyama M., Nagashima T., Nakagawa Y., Yoshioka T., Esashi Y. Aging of soybean seeds in relation to metabolism at different relative humidities // *Plant and Cell Physiology*. – 1995a. – Vol. 36. – P. 1189-1195.
- ✚ Zhang M., Yajima H., Umezawa Y., Nakagawa Y. Enzymatic conversion of volatile metabolites in dry seeds during storage // *Plant and Cell Physiology*. – 1995b. – Vol. 36. – P. 157-164.
- ✚ Zhu C., Chen J. Changes in soluble sugar and antioxidant enzymes in peanut seeds during ultra dry storage and after accelerated aging // *Seed Science and Technology*. – 2007. – Vol. 35, - P. 387-401.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. ОЦЕНКА СКОРОСТИ ПРОРАСТАНИЯ И ЛАБОРАТОРНОЙ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН

Уровень целого организма включает широко известные в семеноводстве методы оценки всхожести семян. Согласно ГОСТу 12038-84, **всхожесть** - это способность семян давать нормально развитые проростки за определенный срок (предусмотренный для каждой культуры) при оптимальных условиях проращивания. Процент всхожести устанавливают отношением нормально проросших семян к общему их количеству, взятому для проращивания. **Энергия прорастания** характеризует дружность прорастания семян, т.е. количество семян, нормально проросших за более короткий срок, установленный для каждой культуры. Всхожесть и энергию прорастания определяют, вычисляя среднее значение из четырех повторностей по 100 семян и выражая его в процентах.

Срок учета прорастания семян определяется средним минимальным количеством дней, в течение которых прорастает максимальное количество семян данной культуры (ГОСТ 12038-66). Для определенных культур сроки учета энергии прорастания и всхожести следующие: для озимой пшеницы и ячменя 3 и 7, для овса – 4 и 7, для сорго – 5 и 10 суток. Число семян, проросших за данный срок, выражают в процентах к числу семян, заложенных на испытание.

Семена с хорошей энергией прорастания дают более дружные и ровные всходы, чем семена одинаковой с ними окончательной всхожести, но с меньшей энергией прорастания. Это приводит к тому, что при низкой энергии прорастания появление всходов в полевых условиях растягивается на более продолжительное время. Тем не менее, данные, получаемые при оценке энергии прорастания, не всегда достаточно полно характеризуют качество семян. Например, у ячменя энергию прорастания семян следует определять через 3 дня. Однако в лабораторных условиях проращивания часто случается так, что все семена прорастают за 3 дня и в результате показатели энергии прорастания не отличаются от всхожести. Чтобы получить больше информации, рекомендуют оценивать **скорость прорастания** (Круг, 2000). Подсчеты делают каждый день и рассчитывают время, за которое проросло определенное количество семян. Например, D_{50} есть количество дней, за которые проросло 50% от общего числа проросших семян. Можно также определить **среднюю скорость прорастания (ССП)**. Для этого количество проросших на опреде-

ленный день семян умножают на число дней, которые потребовались для их прорастания. Результат делится на общее количество проросших семян.

Пример (повторность включает 100 семян):

3 дня	15 семян	$3 \cdot 15 = 45$
4 дня	50 семян	$4 \cdot 50 = 200$
5 дней	20 семян	$5 \cdot 20 = 100$
8 дней	8 семян	$8 \cdot 8 = 64$
10 дней	2 семени	$10 \cdot 2 = 20$
Σ	95 семян	429

Расчетные показатели прорастания: Всхожесть = 95%

ССП = 4,5 дней (429/95)

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. СПОСОБЫ ПРОРАЩИВАНИЯ СЕМЯН В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Проращивание семян на бумаге

Для определения всхожести семян отсчитывают по 100 штук семян из средней пробы в четырех повторностях и раскладывают на одном или нескольких слоях предварительно увлажненной фильтровальной бумаги. При этом основное требование для успешного прорастания семян – обеспечение необходимого количества влаги и кислорода. На контрольно-семенных станциях используют специальные аппараты, в частности аппарат Якобсона. Ниже приведено описание устройства для проращивания семян, позволяющее обеспечить соблюдение этого требования в лабораторных условиях (Рис.6).

В поддон наливают воду, сверху на поддон укладывают решетку соответствующего размера. На решетку рядами ставят пластмассовые чашки Петри. Для постоянного притока воды в чашках Петри предварительно делают прорезы и вставляют в них полоску фильтровальной бумаги, так чтобы оба ее конца свисали вниз и были опущены в воду. Таким образом, помещенный сверху кружок фильтровальной бумаги будет соприкасаться с увлажняющейся полоской бумаги, и обеспечивать постоянный приток воды к семенам. На фильтровальную бумагу раскладывают семена, и чашки Петри накрывают прозрачными воронками с отверстиями сверху (в качестве таких воронок можно использовать верхнюю часть прозрачных пластмассовых бутылок с горлышками). При работе с крупными семенами, требующими много воды для прорастания (напр., бобовые), их можно сверху накрыть еще одним слоем бумаги, а уже затем воронкой.

Проращивание ведут при соответствующей температуре, которая указана в ГОСТ 12038-84 для семян каждого вида, в темноте или на свету. Данный способ позволяет учитывать одновременно скорость прорастания (для этого подсчитывают проклюнувшиеся семена каждый день), а также всхожесть. Рекомендуется для мелкосемянных культур.

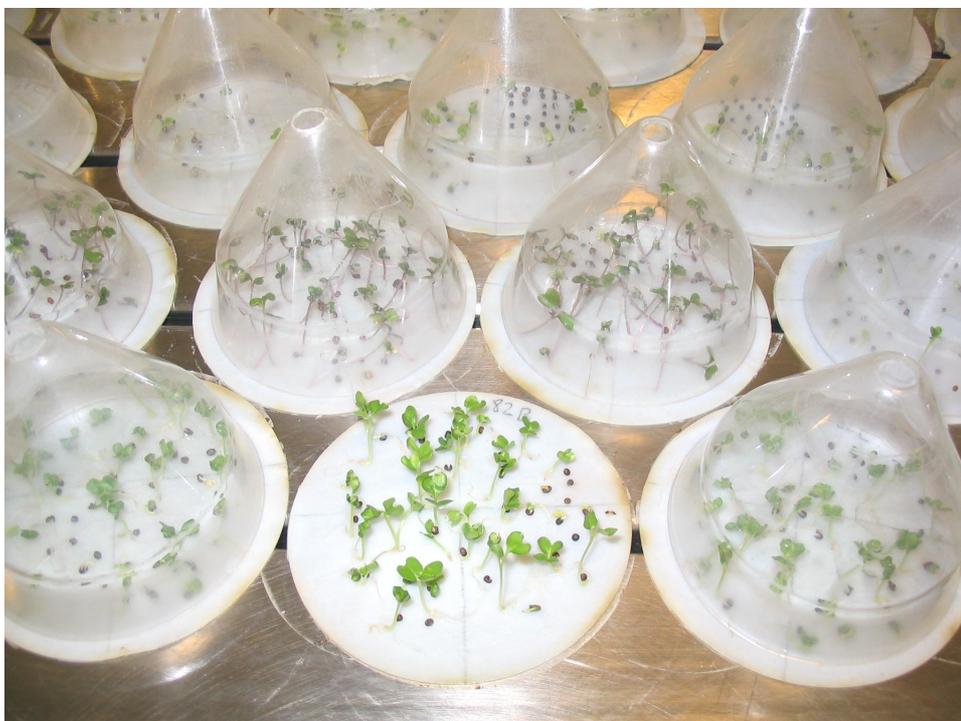


Рисунок 6 – Проращивание семян на бумаге в чашках Петри

Проращивание семян между слоями бумаги

При данном способе семена помещают между слоями фильтровальной бумаги путем: закрытия семян в чашках Петри вторым слоем бумаги; помещением семян в пакетики из фильтровальной бумаги; помещением семян в рулоны из фильтровальной бумаги

Проращивание семян в рулонах (рекомендуется для выращивания проростков, позволяет оценивать линейные размеры и биомассу).

Каждый рулон должен содержать три слоя бумаги: два под раскладываемыми семенами и один сверху. Увлажняют бумагу и раскладывают семена в один ряд за ряды вниз по линии, проведенной на расстоянии 2-3 см от верхнего края. Расположение семян во втором ряду должно быть таким, чтобы каждый формирующийся проросток оказывался между семенами верхнего ряда. Накрывают семена третьим слоем бумаги, плотно сворачивают рулон в трубку примерно 4 см в диаметре. Готовые рулоны помещают в контейнер в вертикальном положении (желательно, чтобы контейнер имел разделительные перегородки, не позволяющие рулонам соприкасаться). В контейнеры на дно наливают охлажденную воду и накрывают сверху полиэтиленовыми пакетами для предотвращения потери влаги. Контейнеры ставят в термостат или на свет.

Проращивание семян на гофрированной бумаге

Фильтровальную бумагу гофрируют так, чтобы получились складки с высотой зубца по 20-22 мм. Гофрированную бумагу укладывают в контейнер и в каждой складке размещают семена, так чтобы они не соприкасались друг с другом.

Для постоянной подачи воды рекомендуется контейнер заполнять водой примерно на 1/3 часть, далее над водой поместить пластмассовую П-образную подставку, на нее положить полоски бумаги, так чтобы их концы свисали в воду, а сверху - гофрированную бумагу с семенами. При этом сама по себе бумага не должна соприкасаться с поверхностью воды, а подпитываться только через лежащие под ней бумажные полоски. Сверху контейнер накрывают прозрачной пластиковой или полиэтиленовой пленкой, что позволяет создать внутри высокую влажность воздуха.

Метод особенно рекомендуется для крупносемянных культур.

Проращивание семян на песке или в песке

Метод 1. На дно контейнера (растильни) укладывают один слой насыщенной водой фильтровальной бумаги. Насыпают сверху 3 см слой равномерно увлажненного песка (или смесь почва-песок). Раскладывают семена, слегка вдавливают их в песок и/или присыпают 1-2-см слоем увлажненного песка. Сверху контейнер накрывают прозрачной пластиной или полиэтиленовой пленкой, что позволяет создать внутри высокую влажность воздуха, и ставят для проращивания в термостат или на свет. Для контроля влажности субстрата каждый ящик, перед тем как поставить его в термостат, рекомендуем взвешивать, а затем периодически повторять контрольные взвешивания и добавлять при необходимости нужное количество воды по весу. Перед оценкой проростки достают из песка и тщательно промывают.

Метод 2. На дно контейнера наливают небольшое количество воды, далее над водой помещают пластмассовую П-образную подставку, на нее кладут полоски бумаги, так чтобы их концы свисали в воду, а сверху – слой фильтровальной бумаги. При этом сама по себе бумага не должна соприкасаться с поверхностью воды, а подпитываться только через лежащие под ней бумажные полоски. Наверх тонким слоем (примерно 3 мм) насыпают песок или смесь почва/песок. На почве раскладывают семена.

Хотя данные методы трудоемки и требуют много места, они имеют важное преимущество: выращивание растений на субстрате приближает эксперимент к условиям полевого опыта и результаты хорошо коррелируют с полевой всхожестью.

ОГЛАВЛЕНИЕ

МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА	3
<hr/>	
ПРОЦЕССЫ, ПРОИСХОДЯЩИЕ В СЕМЕНАХ ПРИ УСКОРЕННОМ СТАРЕНИИ.....	13
<hr/>	
ОПИСАНИЕ МЕТОДА УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ.....	25
<hr/>	
ПРИМЕРЫ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ.....	29
<hr/>	
ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ.....	33
<hr/>	
<i>ПРИЛОЖЕНИЕ 1. ОЦЕНКА СКОРОСТИ ПРОРАСТАНИЯ И ЛАБОРАТОРНОЙ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН</i>	<i>39</i>
<hr/>	
<i>ПРИЛОЖЕНИЕ 2. СПОСОБЫ ПРОРАЩИВАНИЯ СЕМЯН В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ.....</i>	<i>40</i>

Научное издание

АЛЕКСЕЙЧУК Галина Николаевна

**СИЛА РОСТА СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР И
ЕЕ ОЦЕНКА МЕТОДОМ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ**

Техн. редактор *Гавриленко В.Г.*

Подписано в печать 05.03.2009. Формат 69х84_{1/16} Бумага офсетная.

Гарнитура Roman. Печать цифровая. Усл.печ.л. 2,7. Уч.изд.л. 2,9.

Тираж 150 экз. Заказ № 739

ИООО «Право и экономика» Лицензия ЛИ № 02330/0056831 от 01.04.2004.

220072 Минск Сурганова 1, корп. 2. Тел. 284 18 66, 8 029 684 18 66.

Отпечатано на настольно-издательской системе XEROX

в ИООО «Право и экономика».