

JANINA BUDZYŃSKA

KRZYSZTOF NIEMYSKI

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Radzików  
Zakład Metodyki Kontroli Materiału Siewnego

## Przyspieszenie oznaczania potencjalnej zdolności kiełkowania nasion pszenicy ozimej metodą tetrazolinową

Определение потенциальной всхожести зерна озимой пшеницы  
тетразольным методом

Acceleration of the determination of potential germinability of winter wheat seed  
by a more rapid tetrazolium method

Jednym z problemów metodycznych spotykanych przy laboratoryjnej ocenie jakości materiału siewnego, którego rozwiązanie ma istotne znaczenie gospodarcze, jest przyspieszenie oceny zdolności kiełkowania. Problem dotyczy nasion wszystkich gatunków roślin uprawnych, w największej jednak mierze oceny kiełkowania ziarniaków zbóż ozimych, pochodzących ze zbioru w danym sezonie i badanych bezpośrednio po spręczeniu. Przede wszystkim odnosi się to do ziarna pszenicy ozimej, ponieważ u tego gatunku spoczynek późniwy występuje jako normalne zjawisko, poza tym okres między zbiorem a siewem jest stosunkowo krótki, masa towarowa zaś — olbrzymia.

Zastosowanie topograficznej metody tetrazolinowej Lakona (1942) umożliwia oznaczanie potencjalnej zdolności kiełkowania\*) nasion w ciągu trzech dni (Rules ISTA 1966, Rules ISTA 1976,

\*) Zgodnie z założeniami Lakona i Bulat potencjalna zdolność kiełkowania oznaczana metodą tetrazolinową (żywołność) odpowiada faktycznej zdolności kiełkowania nasion, u których spoczynek późniwy lub wtórny został przelamany lub zakończony.

PN-69/R-65950). Podjęto próbę dalszego skrócenia czasu wykonywania testu z założeniem, by przyspieszenie to nie spowodowało zmniejszenia prawidłowości oznaczeń, co jest przedmiotem badań przedstawionych w niniejszej pracy.

Test tetrazolinowy obejmuje następujące czynności: moczenie ziarniaków, oddzielanie zarodków od ziarniaków, inkubacja zarodków w roztworze tetrazoliny oraz ocena zarodków z podziałem ich na żywołne i nieżywołne według zasad opracowanych przez Lakona (1949) i Bulat (1963), przyjętych następnie przez ISTA (Rules ISTA 1966, Rules ISTA 1976).

Skrócenie czasu wykonywania testu można byłoby osiągnąć przy moczeniu ziarna i przy inkubacji zarodków w roztworze tetrazoliny. Dlatego prace nad skróceniem czasu wykonywania testu prowadzono w tych dwóch kierunkach.

### MATERIAŁ I METODY

Do badań wstępnych wzięto ziarniaki pszenicy ozimej, żyta, jęczmienia ozime-

go i jarego oraz owsa, pochodzących ze zbioru w 1974 i 1975 roku. W doświadczeniach porównawczych badano ziarno pszenicy ozimej ze zbioru 1975 i 1976 roku głównie odmiany „Grana” oraz mniej liczne próbki następujących odmian: „Kaukaz”, „Mironowska”, „Dana”, „Jana”, „Aria” i „Bezostaja”. Oznaczano żywotność i zdolność kiełkowania ziarna 154 partii ze zbioru 1975 oraz — 126 partii ze zbioru 1976 roku.

Roztwory chlorku 2, 3, 5-trójfenylo-tetrazoliny (tetrazolina, w skrócie — TTC) przygotowywano z preparatów: Reanal — produkcji węgierskiej, Merck — RFN, Loba — Austria i Sigma — USA.

Płynny buforowy do rozpuszczania odczynników TTC przygotowywano z soli fosforanowych:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  cz.d.a. — CIECH, w proporcjach według obliczeń Sørensen’a, przedstawionych w podręczniku Beloserskiego i Proskurjakowa (1956).

Kwasowość 1% roztworów tetrazoliny, wodnych i w płynach buforowych, oznaczano przy użyciu pH-metru typu N-512, marki Elpo (dokładność  $\pm$  pH 0,04).

Kiełkowanie ziarna przeprowadzano w kiełkownikach szafkowych firmy Labor ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). Jako podłoże kiełkowania stosowano bibułę filtracyjną, „Jakościową” z Jeziornej — BN-67/73-27-04.

Zarodki inkubowano w roztworze tetrazoliny w termostacie o dokładności regulacji temperatury  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

Metoda tetrazolinowa w z o r c o w a — metoda A. Jest to metoda Lakona i Bulat (1957), objęta przepisami ISTA (Rules ISTA 1976) i przepisami PN-69/R-65950. Ziarniaki moczono w wodzie o temperaturze pokojowej  $20\text{--}24^\circ\text{C}$  w ciągu  $16\text{--}20$  godzin. Zarodki oddzielano od ziarniaków skalpelem chirurgicznym i traktowano 1% roztworem tetrazoliny o temperaturze  $20^\circ\text{C}$  w ciągu około 16 godzin. Roztwór tetrazoliny przygotowywano przez rozpuszczenie preparatu TTC firmy Reanal w płynie buforowym o pH 7,0.

Metoda tetrazolinowa przyspieszona — metoda B. Moczono

ziarna i oddzielano zarodków od ziarniaków przeprowadzając analogicznie jak w metodzie A. Zarodki inkubowano w 1% roztworze tetrazoliny firmy Reanal w temperaturze  $40^\circ\text{C}$  w ciągu 3 godzin. Preparat TTC rozpuszczano w płynie buforowym o pH 8,34, w wyniku czego otrzymywano roztwór o końcowym pH  $7,2\text{--}7,4$ .

Do oznaczania żywotności metodami A i B brano po  $4 \times 50$  ziarniaków. Ocenę żywotności przeprowadzano na podstawie topograficznego rozmieszczenia i wielkości nekroz, zaliczając zarodki do 12 klas. Zarodki żywotne zaliczano do klas I—V według Bulat (1963) i Przepisów ISTA (1966). Zarodki nieżywotne zaliczano do klas VI—XII, opracowanych częściowo na podstawie istniejących dotychczas klas (Bulat 1963). Do klasy XI zaliczano zarodki niezabarwione lub zabarwione bardzo słabo, o barwie jasnoróżowej; natomiast do klasy XII — zarodki uszkodzone mechanicznie w czasie preparowania, lecz częściej takie, których uszkodzenie stało się widoczne po oddzieleniu od tarczki zarodkowej.

Metoda kiełkowania na bibule — metoda C. Oznaczano zdolność kiełkowania ziarniaków ( $4 \times 100$ ) rozkładanych na podłożu z bibuły formowanej w rulony. Wilgotność podłoża doprowadzano do 60% pełnej pojemności wodnej. Ziarniaki w rulonach umieszczano w termostacie o temperaturze  $20^\circ\text{C}$ . Jako zabieg wstępny stosowano chłodzenie w temperaturze  $10^\circ\text{C}$  w ciągu 3 dni. Kiełki klasyfikowano według opisów podanych w PN-69/R-65950 (1970).

Przy sprawdzaniu istotności różnic między indywidualnymi wynikami żywotności, uzyskiwanymi w badaniach metodami A i B, posługiwano się danymi z tabeli  $G_1$  podręcznika tolerancji ISTA (Miles 1963); dla oceny istotności różnic średnich stosowano test „t” Fishera-Studenta. Wykonano ponadto analizę wariancji w układzie nieortogonalnym, w której istotność różnic oceniano na podstawie wskaźnika F Fishera-Snedecora. Program obliczeń zestawionych

danych opracował P. Kolasiński w pracowni SPETO-IHAR. Podstawową ocenę istotności dokonywano przyjmując, że współczynnik prawdopodobieństwa  $P = 0,05$ ; w dyskusji uwzględniono także przy ocenie istotności niektórych różnic współczynnik  $P = 0,001$ .

Aby zachować tradycyjny układ artykułu podano wcześniej przy opisie metod warunki przeprowadzania badań zarówno metodami A i C, jak i metodą B. W rzeczywistości do ustalenia warunków odpowiednich dla nowo wprowadzonej metody B przeprowadzono doświadczenia wstępne — stąd w następnym rozdziale podane będą także pewne szczegóły metodyczne.

### WYNIKI I DYSKUSJA

Zauważono wcześniej (Niemyski i Budzyńska 1973), że preparaty tetrazoliny niektórych marek po rozpuszczeniu mogą zakwaszać wodę destylowaną, a nawet płyny buforowe. Konieczne było zatem sprawdzenie kwasowości 1% roztworów tetrazoliny. Wyniki tych pomiarów podajemy w zestawieniu:

preparat firmy	roztwór wodny pH:	roztwory buforowe o wyjściowym pH:		
		4,94	6,98	8,68
Reanal	1,1—3,5	2,8—3,1	6,6—6,8	7,3—7,4
Merck	5,5—6,3	5,1—5,2	7,0—7,2	8,4—8,6
Loba	5,0	4,8—5,1	7,0—7,1	8,2—8,6
Sigma	2,4	—	6,6	7,4

Dane liczbowe uzyskane przy pomiarach pH-metrem świadczą o różnej kwasowości preparatów TTC poszczególnych marek.

Tetrazolina firm Merck i Loba zakwaszała tylko nieznacznie płyny, w których odczynniki te rozpuszczano; w niektórych przypadkach pH roztworów wodnych było bliskie 6,5, a więc kwasowości polecanej w Przepisach ISTA (1976) i PN-69/R-65950 (1970). Tłumaczy to dobre wyniki oceny żywotności, jakie uzyskiwali Lakon i Bulat (1957), którzy przez wiele lat używali wodnych roz-

tworów tetrazoliny, prawdopodobnie firmy Merck, powszechnie używanej w RFN. Natomiast preparaty firm Reanal i Sigma zakwaszały silniej płyny, w których rozpuszczano te odczynniki, obniżając istotnie kwasowość nawet 0,067 molarnych płynów buforowych Sörensena. Uzyskane wyniki oznaczeń, w których posługiwano się preparatem firmy Reanal, potwierdzają wcześniejsze obserwacje Niemyskiego i Budzyńskiej (1973), w których roztwory wodne TTC Reanal wykazywały kwasowość poniżej pH 2,0.

Wykazano także, że jeżeli rozpuszcza się tetrazolinę w płynach buforowych, przygotowanych zgodnie z przepisami (Rules ISTA 1976, PN-69/R-65950), o pH 6,98, to kwasowość 1% roztworów tetrazoliny może być niższa od pH 6,5. Jak wykazali Bennett i Loomis (1949), Cottrell (1948), Bielig i współautorzy (1949), Marré i Agrigoni (1954), Jambor (1960), Joelsson (1961) zarówno przepuszczalność błon komórkowych, regulująca przenikanie tetrazoliny do mitochondriów, w których zlokalizowane są dehydrogenazy, jak i aktywność dehydrogenaz, są największe przy pH

7,4. W związku z tym pH roztworu tetrazoliny, a nie płynu wyjściowego do sporządzania roztworu, powinno wynosić conajmniej 7,0.

Roztwór tetrazoliny firmy Reanal o kwasowości w zakresie pH 7,2—7,4 otrzymywano przy rozpuszczaniu odczynnika w buforze fosforanowym o pH 7,73, 8,04, 8,34 i 8,68.

Kwasowość 1% roztworów buforowych tetrazoliny firmy Merck i Loba, wykonywanych zgodnie z przepisami ISTA (Intern. Rules 1976) i krajowymi (PN-69/R-65950 1970), była bardziej

zblizona do kwasowości optymalnej dla przebiegu reakcji, niż roztworów wodnych.

Z przytoczonych danych wynika, że zakres pH 6,5—7,0 dla 1% roztworu tetrazoliny wyznaczony jest poniżej optymalnej dla przebiegu reakcji kwasowości, niekorzystnej zwłaszcza z punktu widzenia szybkości badań wykonywanych metodą tetrazolinową. Można więc przyjąć założenie, że podwyższenie pH roztworu tetrazoliny do 7,4 powinno przyspieszyć szybkość reakcji, a tym samym szybkość barwienia się zarodków. Wychodząc z tego założenia wykonano doświadczenie, w którym badano wpływ kwasowości roztworów tetrazoliny i temperatury w czasie inkubacji na intensywność zabarwienia zarodków, a także na wyniki liczbowe oznaczeń potencjalnej zdolności kiełkowania. Badano ziarniaki 4 partii pszenicy ozimej, 3 partii żyta, 3 partii jęczmienia jarego i 2 partii owsa. Zarodki traktowano 1% roztworem tetrazoliny o różnej kwasowości w zakresie pH 6,0—8,0 w ciągu 3 godzin, w temperaturze 25, 30, 35 i 40°C.

Inkubację zarodków w roztworze tetrazoliny przeprowadzano w ciągu 1, 2, 3, 4 i 5 godzin. Intensywność zabarwienia zarodków zwiększała się w miarę przedłużania czasu inkubacji zarodków w roztworze tetrazoliny. Po 3 godzinach inkubacji intensywność zabarwienia zarodków była dostateczna do oceny ich żywotności przy optymalnej temperaturze 40°C i optymalnej kwasowości pH 7,2—7,4.

Średnie wyników oznaczania potencjalnej zdolności kiełkowania podano w tabeli 1. Przytoczone w tabeli 1 dane ujawniają, że liczba zarodków uznanych za żywotne była praktycznie taka sama, niezależnie od kwasowości roztworu i temperatury. Średnie otrzymane dla każdej kombinacji po zaokrągleniu według zasad przyjętych w urzędowej ocenie jakości materiału siewnego wynosiły 87%. Odchylenia od średniej były minimalne.

Zauważono natomiast, że w każdym z zakresów pH intensywność zabarwie-

Tabela 1

Potencjalna zdolność kiełkowania ziarniaków zbóż po inkubacji zarodków w roztworze tetrazoliny w różnych warunkach (średnie arytmetyczne dla kombinacji w %)

Temperatura °C	Kwasowość 1% roztworu tetrazoliny (pH)				Średnie
	6,0—6,5	6,6—7,0	7,1—7,5	7,6—8,0	
30	86,4	86,4	87,4	86,9	86,8
35	86,8	87,6	87,3	87,3	87,2
40	88,2	87,6	86,9	87,3	87,5
Średnie	87,1	87,2	87,2	87,2	87,2

Tabela 2

Liczba zarodków uszkodzonych w czasie oddzielania od ziarniaków pszenicy ozimej odmiany Grana ze zbioru 1975 roku

Moczenie nasion		Liczba zarodków uszkodzonych %
Temperatura °C	Czas godziny	
25	1	44,5
	2	37,5
	3	35,5
	4	31,0
	5	25,0
	6	17,5
30	1	25,5
	2	13,0
	3	8,5
	4	6,0
	5	5,5
	6	4,0
35	1	23,5
	2	12,0
	3	10,5
	4	7,5
	5	6,0
	6	3,0
40	1	34,0
	2	23,0
	3	14,0
	4	10,5
	5	7,5
	6	3,5
20	20	1,0

nia zarodków zwiększała się wraz ze wzrostem temperatury. Podobnie przy każdej temperaturze inkubacji zarodki zabarwiały się intensywniej w miarę zwiększania się wartości pH. Jednak przy inkubacji zarodków w roztworze tetrazoliny o zakresie pH 7,6—8,0 znajdowano wiele zarodków zabarwionych nierównomiernie na całej powierzchni, której część była zabarwiona intensywnie ciemnowiśniowo, a inna — jasnoróżowo. Takie zabarwienie przy mniej uważnej ocenie może prowadzić do błędnych wyników końcowych.

Na podstawie danych wymienionych wcześniej cytologów i biochemików oraz wyników własnych ustalono, że w dalszych badaniach będzie stosowany roztwór tetrazoliny o pH 7,2—7,4, jako optymalny przy skróconym do 3 godzin czasie inkubacji, przy temperaturze 40°C.

W ostatnim doświadczeniu poprzedzającym zasadniczy sprawdzian przyspieszonej metody B badano możliwość skrócenia czasu moczenia. Do badań wzięto ziarniaki pszenicy ozimej odmiany 'Grana' (4×50). Ziarniaki moczone w wodzie o temperaturze 20—40°C w ciągu 1 do 6 godzin. Jako wzorzec stosowano moczenie w ciągu ok. 20 godzin przy temperaturze 20°C. Oddzielone od ziarniaków zarodki obserwowano pod lupą binokularową MSt-131 produkcji PZO, najczęściej pod powiększeniem 6,3×1,6. W tabeli 2 podano liczby zarodków uszkodzonych w czasie preparowania w stopniu uniemożliwiającym ocenę ich żywotności. Zaliczano do nich zarodki z odciętymi lub silnie uszkodzonymi strukturami, decydującymi o możliwości wytworzenia normalnej siewki, a więc z odciętą szczytową częścią piórka, z odciętą strefą korzeniową lub uszkodzonym stożkiem wzrostu łodygi.

Analiza otrzymanych wyników wykazała, że przy skróconym czasie moczenia liczba zarodków uszkodzonych była bardzo duża. Obserwowano dość znaczną zmienność wyników, tendencja ogólna była jednak wyraźna. Liczba zarodków uszkodzonych zmniejszała się w miarę przedłużania czasu moczenia ziarna.

Wyższa temperatura wody również wpływała na zmniejszenie liczby zarodków uszkodzonych, choć w mniejszym stopniu. Najlepsze wyniki otrzymano po całonocnym moczeniu ziarna przy temperaturze pokojowej. Dlatego w dalszych badaniach moczenie ziarna przeprowadzano zgodnie z przepisami: ok. 20 godzin przy temperaturze pokojowej.

W celu sprawdzenia prawidłowości wyników, otrzymanych przy zastosowaniu przyspieszonej metody B w porównaniu z osiąganymi metodą wzorcową A, przeprowadzono badania żywotności ziarna pszenicy ozimej. Materiał nasieniny ze zbioru 1975 i 1976 roku obejmował łącznie 280 partii. Jednocześnie oznaczano zdolność kiełkowania ziarna metodą kiełkowania na bibule — metodą C. Porównanie wyników żywotności i zdolności kiełkowania ziarna, otrzymanych metodą przyspieszoną B, metodą wzorcową A i metodą kiełkowania C, przedstawiono w zestawieniu:

	1975 $\bar{x}(F)y$	1976 $\bar{x}(F)y$
żywoćność w % — metoda A	95,8	94,9
— metoda B	95,1	94,6
zdolność kiełkowania w % — metoda C	94,3	92,0
wartość „t” dla różnicy wyników otrzymanych metodami A i B	0,008	0,627
istotność różnicy między metodami — przy P = 0,05	nieistot.	nieistot.
— przy P = 0,001	nieistot.	nieistot.
liczba wyników indywidualnych poza granicami tolerancji ISTA	2	3
liczba wyników indywidualnych poza granicami tolerancji ISTA w %	1,3	2,4
liczba partii	154	126
F empiryczne *)		
— dla metod	1,4456	(3,00)
— dla lat zbioru	3,8371	(3,85)
— dla współdziałania metody × lata zbioru	0,6488	(3,00)

\*) w nawiasach podano F tabelaryczne dla P = 0,05

Wyniki podane w zestawieniu dowodzą całkowitej równorzędności przyspieszonej metody tetrazolinowej B i dotychczas stosowanej, wzorcowej — A. Analiza statystyczna z zastosowaniem

**Szczegółowe wyniki oznaczania żywotności i zdolności kiełko-  
badanych metodami tetrazolinowymi A i B oraz metodą**

Rok zbioru	Metoda A												żywo- tność % x	Metoda B												
	klasy <sup>1)</sup> (liczba zarodków ‰)													klasy <sup>1)</sup> (liczba zarodków ‰)												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
1975	73,5	22,0	0,5	0,5	0,5	0,0	0,0	0,5	0,5	0,0	1,0	1,5	97	82,0	12,5	2,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	2,5		
	68,5	25,0	1,0	1,5	0,5	0,0	0,5	0,5	0,0	0,5	0,0	2,0	97	72,0	23,5	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	2,0		
	76,0	18,0	3,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	2,0	98	85,5	12,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	1,0		
	65,0	29,0	1,0	0,5	1,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	1,0	1,5	97	68,0	26,5	1,5	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	2,0	
	68,5	24,0	0,0	2,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	4,0	95	52,0	39,5	0,0	2,0	1,5	1,0	0,5	0,0	0,0	0,5	1,5	1,5
	57,0	40,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,5	98	57,0	37,0	0,0	1,5	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	1,0	
	76,0	20,5	1,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	1,0	98	82,0	14,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	2,5	
	70,0	27,5	0,5	0,0	0,0	1,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	98	74,0	22,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	2,5	
	75,5	12,0	2,0	1,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	2,0	98	74,5	18,5	2,0	1,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	
	71,0	27,0	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	99	74,5	24,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	
	79,5	18,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	98	83,0	15,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	
	63,0	28,0	0,5	1,5	2,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	3,5	0,5	95	48,5	43,0	0,0	2,0	1,5	0,5	1,0	0,0	0,5	0,0	2,0	1,0	
	51,0	37,0	3,5	1,0	2,5	2,0	0,0	0,5	0,5	0,0	1,0	1,0	95	47,5	42,5	1,0	1,0	3,0	1,0	0,5	1,0	0,5	0,5	1,0	0,5	
	78,0	19,0	0,0	1,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	99	74,5	23,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	
	77,0	18,5	0,0	1,0	0,5	1,0	0,0	0,5	0,0	0,0	1,5	0,0	97	79,0	16,5	0,0	0,0	1,5	1,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5	1,0	
1976	66,0	21,5	2,5	1,0	0,5	0,5	0,0	0,5	1,0	0,5	2,0	4,0	92	58,5	28,0	2,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	2,0	5,0	2,0	
	85,0	12,0	1,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	99	92,0	5,5	0,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	
	84,5	15,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	90,5	9,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	
	69,5	25,0	0,5	1,0	0,5	1,0	0,0	0,5	0,5	0,5	1,0	0,0	97	69,0	24,5	1,0	1,5	0,5	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	
	58,0	17,0	0,5	2,0	2,5	2,0	5,5	0,0	0,5	0,5	8,0	3,5	80	55,0	18,5	1,5	2,5	1,5	1,0	1,0	0,0	0,5	0,5	11,0	7,0	
	68,0	24,5	0,0	0,5	0,0	1,5	0,5	0,0	0,5	0,5	3,0	1,0	93	68,0	21,0	0,5	1,0	1,5	0,5	0,0	0,0	1,0	0,0	5,0	1,5	
	86,5	11,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,0	98	76,5	19,5	0,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	1,5	
	66,0	22,5	0,5	3,0	1,0	1,0	0,5	0,0	0,0	1,0	3,0	1,5	93	48,5	41,0	1,0	1,0	1,0	2,0	0,5	0,5	0,0	0,0	2,0	2,5	
	82,0	12,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,5	1,5	3,0	94	48,5	42,0	0,5	1,0	1,0	0,5	0,5	0,0	0,5	0,5	1,5	3,5	
	66,0	25,0	2,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	4,5	94	39,5	52,5	1,0	1,5	0,0	0,5	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	3,0	
	78,0	11,0	1,0	0,5	0,5	0,5	1,0	0,5	0,5	0,0	5,0	1,5	91	78,5	8,5	1,0	1,0	1,5	0,5	1,0	0,5	0,5	1,0	4,0	2,0	
	59,0	15,0	1,0	0,5	1,5	1,0	0,5	0,5	0,0	0,0	5,0	16,0	77	52,5	18,0	1,5	3,5	1,5	0,5	1,5	0,0	0,0	0,0	4,5	16,5	

- 1) klasy: I—V — zarodki żywotne według ISTA; VI—X — zarodki nieżywotne według ISTA  
 2) istotność różnicy według Podręcznika tolerancji ISTA z 1963 r. (Miles 1963)  
 3) istotność różnicy według PN-69/R-65950 (1970)

testu „t”, jak i „F” potwierdziła pewno-  
 ść wnioskowania przy  $P = 0,05$  i  $P =$   
 $= 0,001$ . Szybsza metoda może być za-  
 tem stosowana w praktyce, gdyż gwa-  
 rancja zgodności wyników jest tu wię-  
 ksza od wymaganej. Przepisy ISTA  
 (1976), podobnie jak tabele tolerancji  
 ISTA (Miles 1963), a także Przepisy  
 PN/PN-69/R-65950/ wymagają zgodno-  
 ści wyników dopuszczając 5 wyników  
 niezgodnych na 100. Z przeprowadzo-  
 nych badań wynika, że liczba takich  
 wyników jest mniejsza niż 1 na 1000.

Analiza wariancji ujawniła także, że

w poszczególnych latach może występo-  
 wać większa zmienność wyników. Po-  
 twierdza to liczba partii, dla których  
 otrzymano wyniki nie mieszczące się  
 w granicach tolerancji: w materiale ze  
 zbioru 1975 roku ich liczba wynosiła  
 1,2‰, ze zbioru 1976 — 2,4‰. W danym  
 przypadku zatem potencjalna zdolność  
 kiełkowania ziarna nie różniła się od  
 tradycyjnie oznaczanej zdolności kieł-  
 kowania. Jest to zgodne z założeniami  
 Lakona i Bulat (1957), które były po-  
 twierdzone wynikami wieloletnich ba-  
 dań ankietowych ISTA (Bulat 1970)

wania ziarna pszenicy ozimej z wylosowanych partii (grupa M) standardową C.

żywołność 0/0 y	Różnica wyników żywołności — metody A i B x - y	Istotność różnicy <sup>2)</sup>	Metoda C			Różnica wyników żywołności i zdoln. kieł. — metody B i C x - z	Istotność różnicy <sup>3)</sup>
			skiełk. nienor. 0/0	spleśniałe 0/0	zdołn. kiełk. 0/0 z		
97	0	-	1,75	4,25	96	1	-
97	0	-	0,50	3,00	97	0	-
98	0	-	1,25	0,50	98	0	-
97	0	-	0,50	1,00	99	2	-
95	0	-	1,75	4,50	94	1	-
97	1	-	1,00	0,75	92	5	-
97	1	-	1,50	3,25	97	0	-
97	1	-	1,25	0,75	98	1	-
98	0	-	2,75	3,50	94	4	-
99	0	-	1,25	2,25	97	2	-
98	0	-	1,25	1,50	97	1	-
95	0	-	2,00	3,75	94	1	-
95	0	-	3,50	6,25	90	5	+
99	0	-	0,50	2,25	97	2	-
97	0	-	2,00	0,75	97	0	-
90	2	-	4,25	19,75	76	14	+
99	0	-	3,00	1,50	96	3	-
100	0	-	4,50	2,00	95	5	-
97	0	-	6,25	3,50	90	7	-
79	1	-	11,50	12,50	72	7	-
92	1	-	7,25	6,25	86	6	-
98	0	-	4,25	1,75	93	5	-
93	0	-	3,25	11,50	85	8	-
93	1	-	3,75	7,25	89	4	-
95	1	-	6,75	5,75	88	7	+
91	0	-	5,00	6,75	88	3	-
77	0	-	5,25	23,75	64	13	+

klasa XI — zarodki zabarwione na różowo; klasa XII — zarodki uszkodzone mechanicznie

i zostały zaakceptowane przez ISTA w przepisach z roku 1976 (Intern. Rules 1976).

Zebrany materiał doświadczalny umożliwił ponadto pogłębienie analizy wyników oraz wyjaśnienie przyczyn zmienności, obserwowanej przy posługiwaniu się metodami tetrazolinowymi, a także przyczyn ewentualnych rozbieżności wyników oznaczania żywołności metodami A i B, a metodą kiełkowania ziarna na bibule — metodą C. Uzyskane wyniki są porównywalne, teoretycznie powinny one być takie same, gdyż ziar-

niaki były poza spoczynkiem późnym, dodatkowo zaś stosowane przechładzanie chroniło przed ewentualnym wpływem spoczynku wtórnego.

W tabeli 3 i 4 podano wyniki szczegółowe dla 10% przebadanych partii ze zbioru 1975 i 1976 roku. W tabeli 3 zestawiono dane dla 15 partii ze zbioru 1975 i 12 — 1976 roku, wylosowanych spośród grupy partii, których wyniki żywołności otrzymane metodą A i B różniły się nieznacznie (grupa M). W tabeli 4 natomiast podano wyniki otrzymane dla analogicznie wylosowanych

**Szczegółowe wyniki oznaczania żywotności i zdolności kiełko-  
badanych metodami tetrazolinowymi A i B oraz metodą**

Rok zbioru	Metoda A												żywo- tność % X	Metoda B												
	klasy <sup>1)</sup> (liczba zarodków %)													klasy <sup>1)</sup> (liczba zarodków %)												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
1975	53,0	39,5	0,5	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	2,5	1,5	2,0	94	58,5	36,5	2,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	1,5	0,0	0,5	0,5	
	44,0	42,5	2,5	1,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	3,0	4,5	92	63,0	31,0	0,0	1,0	0,0	0,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,5
	79,0	17,5	0,0	1,5	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	98	72,0	20,0	0,5	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	2,0	3,0
	50,0	34,5	8,5	1,0	2,0	0,5	0,0	1,0	0,0	0,0	2,5	1,5	95	76,5	22,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0
	30,5	36,0	13,5	7,0	0,5	6,0	0,0	0,0	0,0	1,5	1,0	4,0	88	50,0	38,5	0,0	2,5	2,5	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	2,0	2,0
	72,0	26,0	0,5	0,0	0,0	1,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	99	50,5	35,0	1,5	2,5	3,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,5	0,0
	61,0	31,0	2,5	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,0	2,5	96	54,0	42,0	1,0	0,0	0,5	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
	65,5	28,0	0,5	0,0	1,5	0,5	0,0	0,0	1,5	0,5	0,0	2,0	96	67,0	21,5	2,5	1,0	0,5	2,0	0,5	0,5	0,0	1,0	1,0	2,5	
	54,5	33,5	1,5	1,5	3,0	1,5	0,0	0,0	0,0	1,0	3,5	0,0	94	55,0	33,0	0,0	2,5	1,0	1,0	0,0	1,0	0,5	0,5	5,0	0,5	
	51,5	41,5	0,0	0,5	1,5	1,5	1,0	0,0	0,5	0,5	1,5	0,0	95	48,5	39,5	0,0	2,0	1,5	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	7,5	0,0	
	66,5	28,0	0,0	1,0	1,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	98	68,5	26,5	0,5	1,5	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,0	
	58,5	33,5	0,5	1,5	0,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	3,0	95	78,5	19,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	
	70,5	23,0	0,0	0,5	1,5	1,5	0,0	0,0	0,5	0,0	2,0	0,5	96	56,5	29,5	0,5	3,5	1,5	1,0	0,0	0,0	2,5	0,5	4,5	0,0	
56,0	18,5	1,0	5,0	9,0	1,5	1,5	0,0	0,0	0,0	7,5	0,0	90	56,5	15,5	0,0	3,0	2,0	1,5	0,0	0,0	1,0	1,0	15,0	4,5		
75,0	19,0	0,0	1,5	1,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	1,5	1,5	97	58,5	39,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	1,5		
1976	64,0	24,0	0,0	0,5	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	1,0	3,5	5,5	89	68,0	13,5	1,5	2,0	0,5	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	11,5	0,0	
	72,0	17,5	1,0	1,5	0,5	0,5	0,0	0,0	0,5	0,5	2,0	4,0	93	80,0	14,0	2,0	1,5	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,5	1,0	0,0	
	75,5	14,5	1,5	2,5	1,5	0,5	0,5	0,5	0,0	0,0	1,0	2,0	96	80,0	18,0	0,0	0,5	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	
	61,0	25,0	0,5	2,0	0,5	2,0	1,0	0,5	1,0	0,0	3,5	3,0	89	57,0	17,5	5,5	3,5	1,0	2,5	1,0	0,0	0,5	0,5	9,5	1,5	
	65,5	24,0	1,5	1,5	0,5	1,0	0,5	0,0	0,5	0,5	2,5	2,0	93	55,0	26,0	3,5	3,5	1,0	2,5	1,0	0,0	1,0	0,5	3,5	2,5	
	63,5	21,5	2,0	2,0	1,0	2,0	2,0	0,5	0,0	0,0	3,0	2,5	90	52,5	28,5	0,5	2,5	0,5	3,0	1,5	0,5	0,5	0,0	4,5	5,5	
	71,5	15,0	1,5	3,0	0,5	1,0	0,5	0,0	0,0	1,0	3,0	3,0	92	54,0	31,0	0,5	1,5	0,5	2,0	2,0	0,0	1,0	0,0	4,5	3,0	
	54,5	25,0	0,5	1,0	0,5	6,5	0,5	0,0	1,5	1,0	4,5	4,5	82	60,5	26,5	1,0	2,0	0,5	0,5	1,0	1,0	0,5	0,0	2,5	4,0	
	78,5	17,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	1,0	2,0	98	80,0	16,0	0,5	0,5	0,5	1,0	0,0	0,5	0,0	0,0	1,0	0,0	
	79,5	8,0	0,5	1,5	0,5	1,5	0,0	0,5	0,0	0,5	4,5	3,0	90	80,5	14,0	0,5	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,5	1,0	2,0	0,0	
	72,0	24,0	0,0	0,5	1,5	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,5	98	71,0	21,5	0,5	1,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,5	0,5	1,0	3,5	
	90,0	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	98	83,5	10,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	2,5	

- 1) klasy: I—V — zarodki żywotne według ISTA; VI—X — zarodki nieżywotne według ISTA;  
2) istotność różnicy według Podręcznika tolerancji ISTA z 1963 r. (Miles 1963)  
3) istotność różnicy według PN-69/R-65950 (1970)

partii, których wyniki różniły się najbardziej (grupa D). W obu tabelach podano także wyniki oznaczeń metodą standardową C: zdolność kiełkowania oraz liczbę ziarniaków skiełkowanych nienormalnie i spleśniałych.

Zabarwienie zarodków badanych metodą B było mniej intensywne w porównaniu z badanymi metodą A. Zdaniem Moore'a (1970) jest to korzystne, gdyż łatwiej jest wówczas wykrywać ziarniaki o zarodkach barwiących się nieprawidłowo. Ziarniaki takie mogą występować zdaniem tego autora w partiach, które były przegrzane, niewłaś-

ciwie suszone, uszkodzone przez mróz czy czynniki chemiczne. Także autorzy normy NRD (TGL-80-6779/2) zalecają wykonać dodatkowe badania nasion, których jakość pogorszyła się wskutek przegrzania lub stosowania zapraw. Wówczas należy oznaczać zdolność kiełkowania nasion metodą kiełkowania w rulonach, na piasku lub w ziemi. Heydel (1970) ostrzega przed stosowaniem metod biochemicznych przy oznaczaniu jakości ziarna o dużej liczbie uszkodzeń mechanicznych.

Zauważono także, że wśród ziarniaków z partii, dla których w badaniach



wania ziarna pszenicy ozimej z wylosowanych partii (grupa D) standardową C.

ż y w o t n o ść o n o y	Różnica wyników ż y w o t n o ści metody A i B x - y	Istotność różnicy <sup>2)</sup>	Metoda C			Różnica wyników ż y w o t n o ści i zdoln. kieł. — metody B i C x - z	Istotność różnicy <sup>3)</sup>
			skiełk. nienor. 0/0	spleśniałe 0/0	zdołn. kiełk. 0/0		
97	3	--	2,25	4,50	93	4	+
95	3	--	6,00	9,25	85	10	+
95	3	--	3,00	1,75	95	0	--
99	4	+	3,75	1,75	95	4	+
94	6	--	3,50	0,75	96	2	--
93	6	+	1,25	4,25	95	2	--
98	3	--	2,00	1,25	97	1	--
93	3	--	2,00	1,75	96	3	--
92	2	--	0,00	3,75	96	4	--
92	3	--	1,75	3,75	95	3	--
97	1	--	1,25	1,50	97	0	--
98	3	--	4,25	3,00	93	5	+
92	4	--	0,00	1,50	99	7	+
77	13	+	6,50	19,75	74	3	--
98	1	--	0,25	1,00	99	1	--
86	3	--	9,50	17,00	91	5	--
98	5	+	2,50	9,75	88	10	+
99	3	--	0,50	1,25	98	1	--
85	4	--	8,75	19,75	70	15	+
89	4	--	3,00	12,75	84	5	--
85	5	--	8,00	7,50	83	2	--
88	4	--	3,75	9,25	87	1	--
91	9	+	6,25	8,00	85	6	+
98	2	--	0,25	1,25	99	1	--
96	6	+	5,00	4,50	91	5	+
94	4	+	2,25	0,25	98	4	+
95	3	--	2,25	4,00	94	1	--

: klasa XI — zarodki zabarwione na różowo; klasa XII — zarodki uszkodzone mechanicznie

metodami A, B i C otrzymano wyniki rozbieżne, zwiększała się liczebność zarodków w klasie XI — zabarwione na całej powierzchni, lecz bardzo słabo (jasnoróżowe). Obecność większej liczby takich zarodków w próbie jest wskazówką, że należy badanie powtórzyć, stosując metodę kiełkowania.

Dane o liczebności ziaren pleśniejących i kiełków nienormalnych wskazują, że jedną z przyczyn niezgodności wyników otrzymywanych metodami A i B a metodą kiełkowania C są drobnoustroje. Opinia ta jest zgodna ze zdaniem większości nasionoznawców. Interesują-

ce jest występowanie większej liczby ziaren pleśniejących i kiełków nienormalnych w próbach ze zbioru 1976 roku (tab. 5). W sezonie 1975 roku wilgotność ziarna w czasie zbioru wynosiła ok. 19%, w 1976 — 12—14%. Jedną z przyczyn pleśnienia i nienormalności mogą być niedostrzegalne przy odliczaniu ziarniaków, drobne pęknięcia czy inne uszkodzenia. Gromadzić się w nich mogą zarodniki grzybów, a na ich rozwój wpływać mogą asymilaty, wydostające się na zewnątrz przez te pęknięcia (Matthews i Bradnock 1968). Przy zbiorze ziarna suchego z reguły powstaje

Tabela 5

Porównanie wyników wartości siewnej ziarniaków pszenicy ozimej ze zbiorów 1975 i 1976 roku badanych metodami tetrazolinowymi (A i B) i metodą standardową (C) (średnie dla grupy partii)

Rok zbioru	Grupa partii	Metoda	Liczba zarodków %												Żywotność %		Metoda biologiczna C (wyniki kiełkowania %)			Różnica	
			klasy												$\bar{x}$ lub $\bar{y}$	$\bar{x}_1$ lub $\bar{y}_1$	zdoln. kiełk. $\bar{z}$	nie- nor- mal.	sple- śniałe	$\bar{x} - \bar{z}$ lub $\bar{y} - \bar{z}$	$\bar{x}_1 - \bar{z}$ lub $\bar{y}_1 - \bar{z}$
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII							
1975	M(15)	A	69,97	24,80	0,87	0,77	0,60	0,47	0,13	0,20	0,10	0,13	0,73	1,23	97,27	95,64	95,80	1,52	2,55	1,47	-0,16
		B	70,27	24,77	0,53	0,57	0,77	0,43	0,20	0,07	0,20	0,10	0,63	1,47	97,07	95,57				1,27	-0,23
	D(15)	A	59,16	30,13	2,10	1,53	1,60	1,10	0,27	0,10	0,20	0,47	1,83	1,53	94,87	91,39	93,67	2,78	3,97	1,20	-2,28
		B	60,90	29,93	0,57	1,43	0,93	0,70	0,13	0,17	0,47	0,27	3,00	1,50	94,00	91,40				0,33	-2,27
1976	M(12)	A	72,37	17,71	0,75	0,79	0,58	0,75	0,67	0,17	0,33	0,29	2,58	3,00	92,33	90,83	86,00	5,42	8,94	6,33	4,83
		B	64,75	24,00	0,96	1,33	0,71	0,46	0,58	0,17	0,25	0,33	3,00	3,46	92,00	89,71				6,00	3,71
	D(12)	A	70,62	18,62	0,75	1,37	0,62	1,33	0,50	0,21	0,33	0,37	2,42	2,83	92,17	89,99	89,00	4,33	7,94	3,17	0,99
		B	68,50	19,75	1,37	1,58	0,42	1,12	0,67	0,25	0,46	0,29	3,67	1,92	92,00	89,62				3,00	0,62

$\bar{x}_1, \bar{y}_1$  — suma zarodków z klas I, II, III (średnia z 15 partii dla nasion ze zb. 1975 i z 12 partii dla nasion ze zb. 1976)

$\bar{x}, \bar{y}$  — średnia liczba zarodków żywotnych (z 15 partii nasion ze zb. 1975, z 12 partii nasion ze zb. 1976)

$\bar{z}$  — średnia liczba ziarniaków, które skiełkowały normalnie w % (1975 — 15 partii; 1976 — 12 partii)

więcej uszkodzeń mechanicznych, stąd w latach suchych wyniki oznaczania żywotności nasion metodą tetrazolinową mogą okazać się mniej pewne. W latach nadmiernie wilgotnych porażenie ziarna przez drobnoustroje także może utrudniać jego prawidłową ocenę.

Na podstawie zgromadzonych wyników dotyczących liczebności poszczególnych klas, występujących zarówno przy stosowaniu metody A, jak i B, podjęto próbę zaostrożenia kryterium oceny zarodków żywotnych. Choć Lakon i Bulat (1957) uważali, że metoda tetrazolinowa daje wyniki równe zdolności kiełkowania otrzymanej przez kiełkowanie ziarna na określonym podłożu, jednak sami oni donosili, że wyniki żywotności są zwykle o 1—3% wyższe niż zdolność kiełkowania. Tego rzędu różnice podają również Heydel (1970) i Bulat (1970). W proponowanym wariacie przyjęto, że do żywotnych zaliczone zostaną tylko te nasiona, których zarodki zaklasyfikowano do klasy I, II i III. Różnice średnich żywotności dla grupy partii M i grupy D z obu lat zbioru podano w tabeli 5. Wartości  $\bar{x} - z$  i  $\bar{y} - z$  stanowią różnice średnich uzyskanych metodami A i C oraz B i C. Analogicznie wartości  $x_1 - z$  i  $y_1 - z$  stanowią różnice średnich uzyskanych przy stosowaniu ostrzejszej oceny żywotności. Jak wynika z przedstawionych danych różnice wyników otrzymanych przy oznaczaniu zdolności kiełkowania metodą C oraz żywotności metodami A i B były mniejsze w przypadku ostrzejszej oceny, wykluczającej z grupy żywotnych zarodki z klas IV i V, a więc zarodki z większymi uszkodzeniami zaczątków korzeni.

Wyniki te nie mogą jeszcze być podstawą do wniosku o celowości powszechnego stosowania omawianego wariantu, są jednak zachętą do sprawdzenia jego przydatności zwłaszcza w latach, w których w materiale nasiennym zwiększa się liczba nasion pleśniejących.

#### WNIOSKI

1. Oznaczanie zdolności kiełkowania przyspieszoną metodą tetrazolinową B daje wyniki zgodne z otrzymywanymi przy stosowaniu metody tetrazolinowej według Przepisów ISTA 1976 i PN-69/R-65950.
2. Przy oznaczaniu żywotności nasion metodą B wyniki oceny uzyskiwane są o jeden dzień wcześniej niż metodą urzędową A.
3. W celu otrzymania 1% roztworu chlorku 2, 3, 5-trójfenylo-tetrazoliny o pH wskazanym w Przepisach ISTA i PN-69/R-65950 należy rozpuszczać preparat w odpowiednio dobranym płynie buforowym, niekiedy o pH wyższym niż 7. Wskazane jest sprawdzanie kwasowości 1% roztworu tetrazoliny przy pomocy pH-metru.
4. W przypadku stosowania tetrazoliny firmy Reanal w celu otrzymania 1% roztworu tetrazoliny o pH 7,2—7,4 należy preparat rozpuszczać w płynie buforowym o pH 8,34.
5. W przypadku stwierdzenia w czasie oznaczania żywotności dużej liczby zarodków uszkodzonych mechanicznie lub słabo zabarwionych należy przeprowadzić dodatkowo badania kontrolne kiełkowania ziarniaków na podłożu z bibuły lub z piasku.

#### LITERATURA

- Beloserski A. N., Proskurjakow N. J. 1956. Praktikum der Biochemie der Pflanzen. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin.
- Bennett N., Loomis W. E. 1949. Tetrazolium chloride as a test reagent for freezing injury of seed corn. *Plant Physiology* 24: 162—174.
- Bielig H., Kauschke G. A., Haardick K. 1949. Detecting of reduction loci in bacteria. *Ztschr. Naturforschung* 4: 80—85.
- Bulat H. 1963. Das allmähliche, durch ungünstige Lagerungsbedingungen beschleunigte, Absterben der Samen bzw. Rückgang der Keimfähigkeit im Bilde des Topographischen Tetrazoliumverfahrens. *Proc. ISTA* 28, 4: 713—751.
- Bulat H. 1970. Das topographische Tetrazoliumverfahren in der Saatgutprüfung. *Landw. Forsch. Sond.*, 24: 95—103.
- Cottrell H. J. 1948. Tetrazolium salt as a seed germination indicator. *Ann. Appl. Biol.* 35: 123—131.
- Heydel H. R. 1970. Einige Erfahrungen bei

- der Säurefuchsinmethode zur Feststellung der Keimfähigkeit von Getreide. Saatu. Pflanzgut 4: 65—67.
- International Rules for seed testing 1966. 1966. Proc. ISTA 30: 1—300.
- International Rules for seed testing 1976. 1976. Seed Science and Technology 4/1: 51—177.
- Jambor B. 1960. Tetrazoliumsälze in der Biologie, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Joelsson G. 1961. Tetrazoliummethoden för bekomning av livsdugghoten hos strasod. Skaara Sta. Centr. Frokontrollanst. Nord. Jorbrugsforsten 43: 89—107.
- Lakon G. 1942. Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit der Getreidefrüchte durch Tetrazoliumsälze. Berichte der Deutsche Botanischen Gessellschaft 60: 299—305.
- Lakon G. 1949. The topographical tetrazolium method for determining the germinating capacity of seeds. Pl. Physiol. 24 (3): 389—394.
- Lakon G., Bulat H. 1957. Die Feststellung der Keimfähigkeit der Gramineen nach dem Topographischen Tetrazoliumverfahren. Saatgut Wirt 9: 40—42.
- Marré S. R., Arrigoni O. 1961. Determinazione „in vivo“ dell'attività deidrogenasica mediante la tecnica al tetrazolio Nuovo G. Bot. Ital. 61: 21—28.
- Material siewny. Metody badania nasion. PN-69-R-65950. Wyd. Norm., Warszawa, 1970.
- Matthews S., Bradnock W. T. 1968. Relationships between seed exudation and field emergence in peas and French Beans. Hort. Res. 8: 89—93.
- Miies S. 1963. Handbook of tolerances and of measures of precision for seed testing Proc. ISTA 28/3: 525—688.
- Moore R. P. 1970. Tetrazolium for diagnosing causes for disturbances in seed quality. Landw. Forsch. Sond. 24: 104—109.
- Niemyski K., Budzyńska J. 1973. Przygotowanie roztworu chlorku 2, 3, 5-trójfenylo-tetrazoliny do badań żywotności nasion metodą Lakona. Przegląd Nasionozn., Biul. IHAR 3—4: 167—170.
- TGL-80-6779/2. Prüfung von Roh- und Saatware. Prüfmethdik.

#### Резюме

В статье излагаются результаты исследований по определению жизнеспособности зерна хлебных злаков с целью сокращения продолжительности проведения анализа по тетразольному методу. Изучалось влияние температуры, кислотности раствора 2,3,5-трифенилтетразолхлорида и времени обработки зародышей раствором тетразола на интенсивность окраски тканей зародыша. Велись наблюдения по интенсивности окрашивания зародышей, которые подвергались воздействию 1% раствора тетразола с кислотностью в пределах pH 6,0—8,0, при температуре 25, 30, 35, 40°C в течение 1, 2, 3, 4 и 5 часов.

Итогом этих исследований является новый, ускоренный вариант стандартного тетразольного метода. Согласно ускоренного

метода зародыши обрабатывались 1% раствором тетразола с кислотностью pH 7,2—7,4, при 40°C, в течение 3 часов.

Определялась всхожесть, а также жизнеспособность зерна у 280 партий озимой пшеницы урожая 1975 и 1976 года ускоренным и стандартным тетразольным методом. В результате обработки полученных данных по методу дисперсионного анализа установлено отсутствие существенных различий между сравниваемыми методами определения жизнеспособности и всхожести зерна. Следовательно ускоренный и стандартный методы равнокачественны. Сокращение периода обработки зародышей тетразолом даёт возможность получить результат анализа на 1 день раньше, чем по стандартному методу.

#### Summary

Investigations were carried out on a method of shortening the time of viability assessment of cereal seed by the tetrazolium topographical (TT) method. The influence of temperature, acidity of the tetrazolium solution and incubation time of excised embryos on the intensity of staining were tested. The range of variables covered the temperatures: 25°, 30°, 35° and 40°C, the acidity of pH 6,0 to 8,0 and times of incubation of 1, 2, 3, 4, 5 hours. A 1% 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride solution (TTC) was used in all cases.

Taking into account the obtained results a new more rapid version of the TT method is proposed. The excised embryos should be

incubated in a 1% TTC buffered solution, having an acidity of pH 7,2—7,4 at the temperature 40°C for 3 hours.

Determinations of germinability and viability by the standard TT procedure, the new quicker method were carried out on 280 samples of winter wheat seed, representing lots from the 1975 and 1976 harvests. The analysis of variance proved that the new method and the standard TT method are equal on the 0,001 level. As the two methods can be considered as equivalent, the most advantageous is the proposed one, allowing for the final assessment of seed viability one day earlier.