

## МЕТОД КОНТРОЛЯ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА СЕМЯН ПШЕНИЦЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВСХОЖЕСТИ

Н.Н. Барышева, С.П. Пронин

В статье представлен метод контроля всхожести семян пшеницы мягких сортов по изменению мембранного потенциала. Метод включает в себя подготовку семян к экспериментальным исследованиям путем замачивания их в течение 12 часов при температуре 20°C в дистиллированной воде, измерение начальных значений мембранного потенциала семян пшеницы, обработку полученных данных с применением статистических методов анализа, расчет всхожести по математической формуле.

Ключевые слова: метод контроля, мембранный потенциал, семена пшеницы, всхожесть

### Введение

Во время уборки урожая пшеницы ключевую роль играет контроль посевного качества семян. Отправка семян пшеницы на дальнейшее хранение без контроля их качества, то есть без оценки всхожести, приводит к большим экономическим потерям вследствие замены некондиционных семян на семена более высокой всхожести, а также при повышении нормы высева.

Стабильное производство зерна высокого качества гарантирует продовольственную безопасность. Высокий урожай, прежде всего, определяется качеством посевного материала. Качество зёрен пшеницы является важной составляющей потребительской стоимости семенного материала, его конкурентоспособности.

Качество семян пшеницы обусловлено следующими показателями - всхожесть семян, жизнеспособность, чистота и отход семян, масса тысячи, влажность, зараженность болезнями и заселенность вредителями. Основываясь на эти параметры, рассчитывается посевная годность семенного материала, а также норма высева на гектар.

Требования к семенам пшеницы регламентированы ГОСТ Р 52325-2005, где указаны нормы показателей качества семян.

Одним из важных показателей качества зёрен пшеницы является их всхожесть, которая определяется количеством проросших в лабораторных условиях семян из четырех партий по сто штук в каждой за ограниченный период времени при оптимальной температуре в течение восьми суток. Проращивают семена на специальном ложе, в песке или с использованием увлажненной фильтровальной бумаги. При оценке всхожести из анализируемых партий выбираются проросшие и не

*ПОЛЗУНОВСКИЙ ВЕСТНИК № 2 2015*

проросшие семена, которые делятся на несколько групп: нормально проросших, ненормально проросших, набухших, твердых и загнивших. Затем в каждой из групп подсчитывается количество семян и вычисляется процент всхожести.

Требования к нормам всхожести регламентированы стандартами качества сортовых семян.

Известно, что семена пшеницы по посевным качествам подразделяются на три класса, учитывая всхожесть и чистоту. Сельскохозяйственные культуры первого класса должны обладать всхожестью более 95%. Второй класс семян пшеницы характеризуется всхожестью 92% и более, а третий класс присваивается при всхожести семян в 90% и более. Семена со всхожестью ниже 90% являются некондиционными.

Чем ниже всхожесть семян пшеницы, тем выше норма высева. Для высева семян запрещено использовать некондиционный по всхожести материал. Если использовать для высева семена с максимально достоверной всхожестью, то можно сэкономить в будущем тысячи тонн зерна.

Контроль всхожести семян пшеницы в максимально сжатые сроки во время предпосевного периода является актуальной задачей.

В настоящее время предложен метод контроля всхожести семян, который основан на изменении потенциала действия зерна пшеницы.

Метод определения всхожести по изменению потенциала действия включает в себя несколько этапов:

1. Подготовка зерен пшеницы к проведению анализа путем замачивания 100 зерен пшеницы в течение 12 часов в специальных

ячеистых поролоновых лотках, пропитанных 50 мл дистиллированной водой.

2. Измерение потенциала действия семян пшеницы с помощью средства контроля.

3. Обработка полученных результатов с применением статистических методов анализа, построение графика изменения усредненного значения потенциала действия зерна пшеницы, анализ по отличительным признакам.

На основе графоаналитической модели изменения потенциала действия зерен пшеницы делается заключение о всхожести исследуемой партии семян.

По отличительным признакам определяется семенное зерно - всхожесть более 91%, если всхожесть менее 91%, то это некондиционные семена [2].

Преимущество данного экспресс-метода заключается в минимальных временных и материальных затратах проведения эксперимента, в повышении производительности лабораторного анализа в сравнении с используемым методом ГОСТ 12038-84. Но этот метод обладает низкой достоверностью данных о всхожести семян пшеницы. Метод основан на графоаналитической модели, которая, во-первых, не учитывает воздействие температуры на изменение мембранного потенциала, во-вторых, не позволяет оценить воздействие солевых растворов разной концентрации на изменение мембранного потенциала, так как при проращивании семян пшеницы используют только дистиллированную воду.

Поэтому разработка нового метода контроля всхожести семян пшеницы по изменению мембранного потенциала дает возможность контролировать всхожесть семян пшеницы с более высокой степенью достоверности в сжатые сроки.

#### **Метод контроля всхожести по изменению мембранного потенциала**

Метод контроля всхожести семян пшеницы состоит из следующих этапов:

Первый этап - подготовка зерен пшеницы к экспериментальным исследованиям путем замачивания их в течении 12 часов при температуре 20°C в дистиллированной воде.

Второй этап – это измерение начального значения мембранного потенциала семян пшеницы с помощью измерительных электродов.

Заключительный этап – это обработка полученных данных с применением статистических методов анализа, расчет всхожести по формуле (8), используя значения мембранно-

го потенциала семян пшеницы, пророщенных с использованием дистиллированной воды.

Перед проведением экспериментального исследования семена пшеницы замачивают в дистиллированной воде, исключая воздействие внешней концентрации на значение мембранного потенциала или, наоборот, в специальном растворе (в экспериментальных исследованиях используется раствор KCl).

Для экспериментального исследования используется 150 зерен пшеницы (по методу, описанному в ГОСТ 12038-84, анализируется 4 партии по 100 зерен). Зерна раскладывают на фильтровальной бумаге (либо используется прокаленный песок) на расстоянии не менее 15 мм между зерновками. В исследуемом методе используется альтернативный вариант размещения семян на ячеистой поролоновой форме (рисунок 3.4) размером 150x20x20 мм, которая хорошо впитывает и удерживает влагу, позволяет проводить многократные эксперименты, сокращая тем самым расходы на бумагу и песок. Поролоновые формы тщательно промываются перед использованием, сушатся.

В каждую ячейку поролоновой формы выкладывается по одной зерновке на расстоянии 10 мм. В одной поролоновой форме помещается 25 зерновок.

Затем формы помещаются в пластиковые лотки для предотвращения протекания (в один лоток помещаются две формы) и заливаются дистиллированной водой в объеме 150 мл. После подготовки формы помещаются в термокамеру на 12 часов с установленной начальной температурой в 20°C.

Контроль всхожести семян пшеницы осуществляется с помощью разработанной экспериментальной установки, состоящей из герметичной термокамеры и измерительного блока.

Метод разработан в соответствии с уравнением Гольдмана-Ходжкина-Катца и теории мембранного потенциала.

Оболочки зерна пшеницы можно рассматривать в качестве мембраны.

Строение зерен пшеницы характеризуется следующими особенностями:

1. Зерновка пшеницы содержит несколько оболочек. Внешняя оболочка, так называемая плодовая, представляет собой три слоя крупных, полых и толстенных клеток (внешний слой клеток - эпидермис, затем следует эпикарпий, мезокарпий, эндокарпий). Плодовые оболочки - это от 3% до 6% всей массы зерновки. После плодовой оболочки идет семенная оболочка, которая включает в

## МЕТОД КОНТРОЛЯ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА СЕМЯН ПШЕНИЦЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВСХОЖЕСТИ

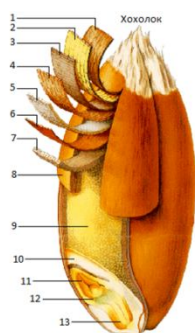
себя три отдельных слоя – водонепроницаемый (который плотно сросся со следующим слоем), пигментный и гиалиновый слой. Семенные оболочки составляют 1-2% от зерна.

2. Зерно пшеницы состоит на 70%-80% из эндосперма (или, так называемого мучнистого ядра), который ограничен алейроновым слоем. Чем ближе к зародышу клетки алейронового слоя, тем сильнее они уменьшаются в размере, а после и совсем исчезают. Масса алейронового слоя - 7-9 %.

3. В узкой части зерновки около эндосперма расположен зародыш, который содержит почечку, щиток и корешок. Зародыш всего составляет 1 – 3% от зерна пшеницы.

Таким образом, около 80% всей массы зерновки пшеницы составляет эндосперм. Соотношение остальных анатомических частей меняется в соответствии с рядом особенностей. К примеру, совокупность оболочек зёрен пшеницы твердых сортов значительно выше, чем мягких сортов

На рисунке 1 представлена схема строения зерновки пшеницы:



1,2,3 – трехслойная плодовая оболочка; 4,5,6 – трехслойная семенная оболочка; 7 – алейроновый слой, который отделяет эндосперм; 8 – слой клеток плодовой оболочки пшеницы с поверхности; 9 – эндосперм (мучнистое ядро); 10 – щиток; 11 – почечка; 12 – осевая часть зародыша; 13 – корешок.

Рисунок 1 – Схема строения зерновки пшеницы.

Для исследования изменения мембранного потенциала оболочки пшеницы (в сумме) выступают в роли мембраны.

Для вычисления мембранного потенциала было выбрано уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца, в котором учитывается проницаемость оболочки зёрен пшеницы, концентрация ионов на внешней и внутренней стороне оболочки, а также температура:

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_{out} + P_{Na}[Na^+]_{out} + P_{Cl}[Cl^-]_{in}}{P_K[K^+]_{in} + P_{Na}[Na^+]_{in} + P_{Cl}[Cl^-]_{out}}, \quad (1)$$

где R - универсальная газовая постоянная; F - постоянная Фарадея; T - абсолютная температура;  $P_K, P_{Na}, P_{Cl}$  – коэффициенты проницаемости для ионов  $K^+, Na^+, Cl^-$ ;  $[K^+]_{out}, [Na^+]_{out}, [Cl^-]_{out}$  – концентрация ионов на внешней стороне мембраны;  $[K^+]_{in}, [Na^+]_{in}, [Cl^-]_{in}$  – концентрация ионов внутри мембраны.

Метод не противоречит нормам подготовки семян к эксперименту, установленным ГОСТ 12038–84.

По критерию максимального диапазона изменения мембранного потенциала в зависимости от всхожести для проведения контроля необходимо обеспечить диапазон температур от 293K (20°C) до 295K (22°C), что соответствует регламентируемому ГОСТ 12038-84 диапазону температур от 20°C до 22°C для проращивания семян пшеницы. В этом диапазоне температур зарегистрирована максимальная разница между значениями мембранных потенциалов для семян пшеницы разной всхожести.

Результаты исследований представлены на рисунке 2.

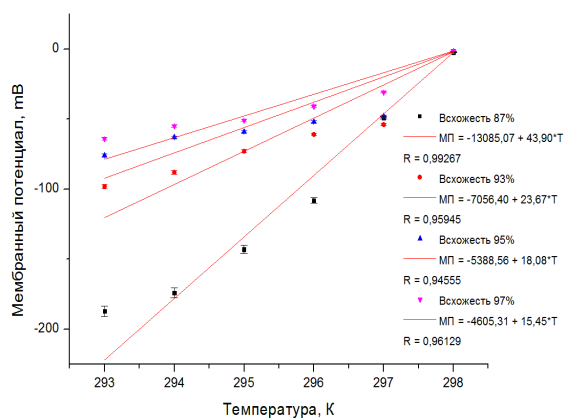


Рисунок 2 – Зависимости мембранного потенциала семян пшеницы, пророщенных с использованием дистиллированной воды, от температуры.

На рисунке 3 представлен полученный в результате многочисленных экспериментальных исследований график зависимости всхожести семян пшеницы, пророщенных в дистиллированной воде при температуре 20°C, от значений мембранного потенциала в начальный момент времени.

Относительную погрешность вычислили по формуле:

$$\varepsilon V_d = \frac{\Delta V_d}{V_d} \cdot 100\% = 0,5\%. \quad (4)$$

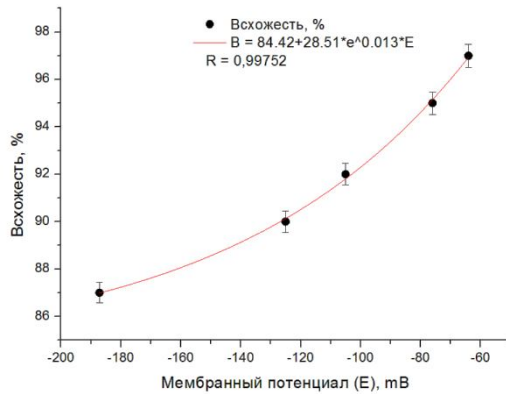


Рисунок 3 – Зависимости всхожести семян пшеницы от значения мембранного потенциала семян, пророщенных с использованием дистиллированной воды.

Аппроксимируя экспериментальные данные, получена следующая зависимость всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала:

$$V_d = 84,42 + 28,51e^{0.013\varphi}. \quad (2)$$

Согласно уравнению (1), изменение мембранного потенциала зависит как от температуры, так и от соотношения концентраций ионов внутри и снаружи оболочки. Стабилизируя температуру, получаем, что мембранный потенциал, определяется только параметрами под логарифмом, а именно внешней и внутренней концентрацией ионов. Поэтому для аппроксимации данных выбрана показательная функция.

На основании формул теории ошибок рассчитана погрешность косвенно измеряемой всхожести семян пшеницы ( $\Delta V_d$ ) путем дифференцирования полученной функции:

$$\Delta V_d = \left| \frac{\partial B}{\partial \varphi} \right| \cdot \Delta \varphi = \left| \frac{dB}{d\varphi} \right| \cdot \Delta \varphi, \quad (3)$$

где  $B(\varphi)$  – косвенно измеряемая величина, зависящая от измеряемого мембранного потенциала  $\varphi$ ;  $\Delta \varphi$  – погрешность непосредственного измерения мембранного потенциала  $\varphi$ .

На рисунке 4 представлен график зависимости всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала семян пшеницы, пророщенных с использованием раствора KCl с концентрацией 0,0005 мг/л при температуре 20°C. Концентрация раствора выбрана по критерию максимального диапазона изменения мембранного потенциала в зависимости от всхожести.

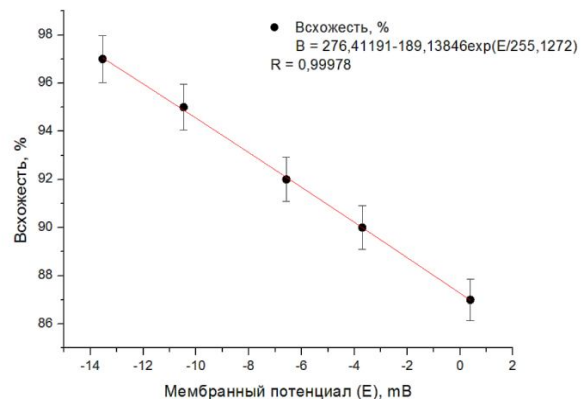


Рисунок 4 – Зависимости всхожести семян пшеницы от значений мембранного потенциала с использованием раствора KCl при проращивании.

Аппроксимируя экспериментальные данные с помощью показательной функции, получена зависимость всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала:

$$V_{KCl} = 276,42 - 189,14e^{0.004\varphi}. \quad (5)$$

Относительная погрешность составляет:  $\varepsilon V_{KCl} = 1,4\%$ .

## МЕТОД КОНТРОЛЯ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА СЕМЯН ПШЕНИЦЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВСХОЖЕСТИ

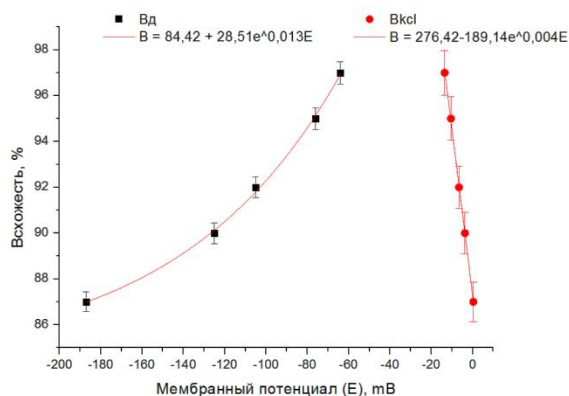


Рисунок 5 – Зависимости всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала с использованием раствора KCl (Вксл) и дистиллированной воды (Вд)

Согласно полученным результатам, для определения всхожести семян пшеницы выбран метод контроля с использованием дистиллированной воды для проращивания. Так как погрешность данного метода значительно ниже, чем погрешность метода с использованием раствора KCl при проращивании семян. Однако чувствительность метода с использованием раствора KCl выше, чем с использованием дистиллированной воды, и чтобы осуществлять контроль всхожести методом с использованием раствора KCl, необходимо применять более точный прибор для регистрации мембранного потенциала. Поэтому для контроля всхожести выбран метод с использованием дистиллированной воды для проращивания семян.

На основе полученных экспериментальных результатов разработан метод контроля всхожести семян пшеницы. Метод включает в себя подготовку семян к экспериментальным исследованиям путем замачивания их в течение 12 часов при температуре 20°C в дистиллированной воде, измерение начальных значений мембранного потенциала семян пшеницы, обработку полученных данных с применением статистических методов анализа, расчет всхожести по математической формуле.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Изд-во стандартов, 1986.
2. Матлаев А.Г., Пронин С.П. Метод и средство контроля всхожести семян пшеницы // Естественные и технические науки, №3, 2009. С.308 – 311.
3. Оприотов В.А., Пятагин С.С. Биоэлектrogenез у высших растений. – М.: Наука, 1991. – 215с.

**Барышева Н.Н.** – аспирант, Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова, тел. 8-923-647-34-43, e-mail: mnn-t@mail.ru

**Пронин С.П.** - д.т.н., профессор, зав. кафедрой ИТ, Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова, тел. 8-913-085-9655, e-mail: sppronin@mail.ru