**Приложение 3**

**ТРЕТИРАНИЯ И МЕТОДИ ЗА НАРУШАВАНЕ НА ФИЗИОЛОГИЧНИЯ ПОКОЙ НА СЕМЕНАТА**

1. **МЕТОДИ ЗА НАРУШАВАНЕ НА ФИЗИОЛОГИЧНИЯ ПОКОЙ**

Възможността за латентност не може да бъде установен преди провеждането на анализ за кълняемост. За много видове, при които има свежи непокълнали семена поради латентност, може да не се прилагат методи за нарушаване на физиологичния покой преди анализа за кълняемост. След приключване на анализа за кълняемост се отчита процентът на определените като свежи семена.

Когато се предполага, че семената не са преминали физиологичния покой преди провеждането на анализа за кълняемост се прилага метод от Приложение 1 „Методи за кълняемост“, таблица 1, колона 6 .

Когато е необходимо да се извърши повторен анализ за кълняемост в лабораторията или по искане на заявителя, повторното анализиране с помощта на метод за нарушаване на физиологичния покой е от съществено значение. Най-добрият постигнат резултат трябва да бъде отчетен и методът трябва да бъде посочен в сертификата на ISTA.

* 1. **Охлаждане** – семената за анализ за кълняемост се поставят в контакт с влажния субстрат при ниска температура, след това се преместват при температурата, посочена в Приложение 1 Методи за кълняемост, таблица 1 за методите и продължителността на анализ кълняемост при различни видове, колона 3. Температурите, предписани за предварително охлаждане, са тези, на които семената са изложени върху или вътре в субстрата. Те трябва да бъдат с минимална разлика в целия апарат или стая за предварително охлаждане.

Семената от полски, зеленчукови, цветни и медицински култури обикновено се поставят при температура между 5 ºС и 10ºС за период до 7 дни. В някои случаи е необходимо удължаване на периода или повтаряне на охлаждането.

**1.2. Загряване –** сухите семена за анализ за кълняемост се загряват със свободно циркулиращ въздух с температура 30 – 35 ºС за период до 7 дни, преди да се поставят при предписаните в таблицата условия. В някои случаи е необходимо удължаване на периода.

За някои тропични и субтропични видове се прилагат по-високи температури **–** *Arachis hypogaea*: 40 °C; *Oryza sativa*: 50 °C.

**1.3. Светлина**

Когато в Таблица 1 на Приложение 1 на тази процедура е предписано използване на светлина. Пробите трябва да бъдат осветени най-малко 8 часа на всеки 24 часа цикъл и по време на високотемпературния период, когато семената покълват при редуващи се температури. Светлината трябва да се генерира от лампи или LED еквиваленти между 3000 K (неутрално бяло) до 4000 K (студено бяло).

Светлина се препоръчва за някои тропични и субтропични видове **–** *Chloris gayana, Cynodon dactylon*.(за национални цели)

**1.4. Третиране с КNOз**

Когато е предписано третиране с КNOз, субстратът се намокря вместо с вода с 0.2% разтвор на КNOз. Разтворът се приготвя като 2g КNOз се разтварят в 1 литър вода. Ако по време на теста има необходимост от допълнително навлажняване се използва вода.

**1.5. Третиране с гиберелинова киселина GAз** – това третиране се препоръчва главно за следните видове: *Avena sativa, Hordeum vulgare, Secale cereale, x Triticosecale, Triticum aestivum* L*. subsp. aestivum* и *Valerianella locusta.* Субстрата за покълване на семената се намокря с 0.05% разтвор на GAз, получен при разтваряне на 0.5g **GAз** в 1 литър вода. Когато семената не са в дълбок покой може да се използва 0.02% разтвор, при дълбок покой концентрацията може да е до 0.1%. Когато се изисква концентрацията на разтвора на GAз да е по-висока от 0.08% се препоръчва разтвора да се приготвя с участие на фосфатен буферен разтвор. Буферният разтвор се приготвя като 1.7799 g Na2HPO4 × 2H2O и 1.3799 g NaH2PO4 × H2O се разтварят в 1 литър дестилирана вода.

 **1.6. Затворени полиетиленови пликове**

Когато в края на анализа за кълняемост (особено при *Trifolium* spp*)* са останали висок процент от свежи непокълнали семена се препоръчва повтаряне на анализа за кълняемост, като семената се поставят в затворени полиетиленови пликове, с размер достатъчен за да протече анализа успешно, което предизвиква покълването на семената.

**1.7. Скарификация с неорганични киселини**

Семената се накисват в концентрирана сярна киселина *(*H2SO4) до видимо изтъняване на семенната обвивка. Процесът може да протече бързо, затова състоянието на семената се проверява през няколко минути. След скарифицирането семената се измиват под течаща вода преди започване на анализ за кълняемост (*например Urochloa spp.*). При *Oryza sativa* се използва 1 М азотна киселина (HNO3) за 24 часа (след загряване при 50 ±2 °C).

**1.8. Механична скарификация**

Чрез продупчване, надраскване с шкурка и др. на семенната обвивка. Най-доброто място затова механично надраскване е над върха на котиледоните.

**Забележка:** Когато е посочен повече от един метод за прекъсване на физиологичния покой, последователността от алтернативни методи не показва никакво предпочитание и може да се използва всеки метод или комбинация от методи. Въпреки това, ако се използва предварително сушене или H2SO4 в комбинация с друг метод, те трябва да се използват преди другите методи.

1. **МЕТОДИ ЗА НАМАЛЯВАНЕ НА ТВЪРДОСТТА НА СЕМЕНА**

Когато в анализ кълняемост се установяват твърди семена, техният брой се записва в документа за лабораторен анализ и ISTA оранжевия международен партиден сертификат.

По изключение, когато заявителят е поискал, може да се приложи допълнителна процедура за намаляване на твърдите семена. Процедурата може да се приложи преди началото на анализа за кълняемост, при условие, че няма неблагоприятен ефект върху останалите семена или върху семената, които са останали твърди след края на анализа.

**2.1. Методи за отстраняване на инхибиторни субстанции**

**Предварително промиване**

На повърхността на семенната обвивка се намират инхибитори на кълняемостта, чието количество може да бъде намалено чрез промиване на семената с течаща вода с температура 25 ±2 °C преди започването на анализа за кълняемост. След промиването, семената се изсушават при температура от 20 до 25 °C (например *Beta vulgaris*)*.*

Пелетирани семена не се промиват.

**2.2. Отстраняване на някои части на семето**

Кълняемостта на някои видове семена се увеличава при премахване на ципестата обвивка или лемата и палеата при *Poaceae*.

1. **МЕТОД ЗА ДЕЗИНФЕКЦИЯ НА СЕМЕНА**

Само за видовете *Arachis hypogaea* и *Beta vulgaris* може да се приложи третиране с фунгицид преди анализа за кълняемост на семената, когато е известно, че партидата семена нямат такова третиране. На документа за лабораторен анализ се отбелязва името на препарата, процентното съдържание на активното вещество и метода на третиране.