



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **42742** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
A01C 1/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**  
**ДО ПАТЕНТУ**  
**НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МОРОЗОСТІЙКОСТІ ЗЛАКІВ**

1

2

(21) u200812382

(22) 21.10.2008

(24) 27.07.2009

(46) 27.07.2009, Бюл.№ 14, 2009 р.

(72) МОЙСА ІВАН ІВАНОВИЧ, ДАСКАЛЮК ОЛЕКСАНДР ПАВЛОВИЧ, МЕЛЬНИК ПАВЛО ОЛЕКСІЙОВИЧ

(73) УКРАЇНЬСЬКА НАУКОВО-ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ  
КАРАНТИНУ РОСЛИН

(57) Спосіб визначення морозостійкості злаків, що включає пророщення рослин до десятиденного віку, інкубацію їх протягом 105 хв у повітряному середовищі 100 %-ної вологості при температурі -25 °С (дослідні рослини) і +25 °С (контрольні рослини), визначення кореляційної залежності відношення витоку електролітів із незагартованих рослин, інкубованих при -25 °С, та рослин, інкубованих при +25 °С.

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, зокрема селекції озимої пшениці та інших злаків на морозостійкість.

Оцінка морозостійкості являє собою важливий попередній етап визначення їх зимостійкості, яка, хоч і корелює із морозостійкістю, залежить від інших факторів [3], тому для її визначення необхідні тривалі польові дослідження в умовах перезимовування, що змінюються з року в рік [2, 3].

Методи визначення морозостійкості суттєво відрізняються один від одного як по специфіці підготовки рослин для аналізу, так і оцінкою стану рослин після дії морозу [1, 2, 3]. Зазвичай перед визначенням морозостійкості озимі злаки загартовують різними прийомом в лабораторних умовах [4], а потім визначають стан рослин за морфологічними [1, 2], біохімічними [1, 2, 5], чи біофізичними показниками [1, 2, 6]. В даний час відсутній єдиний метод для оцінки ступеня закаливання рослин, тому на результати оцінки морозостійкості рослин будь якими методами, крім помилки характерної для даного методу, має певний відбиток і невизначеність ступеня закаливання рослин, отриманого в природних чи лабораторних умовах.

Мета - визначити вихідну морозостійкість абсолютно не загартованих рослин.

В зв'язку з цим, пропонується високочутливий метод, що дозволяє розрізняти злаки за морозостійкістю на основі кореляції значення показника відношення витоку електролітів (BBE) із десятиденних проростків після інкубації 105 хвилин при температурі -25°C та їх витоку після інкубації при +25°C. Кореляційна залежність між цими показниками будується з використанням сортів класифіка-

торів, морозостійкість (зимостійкість) яких відома, та оцінюється по п'ятибальній шкалі.

Відомі методи, що використовують відтік електролітів для визначення морозостійкості рослин [2, 8]. Всі вони включають загартовування рослин, а витік електролітів виражається у відсотках від повного виходу електролітів з біологічного матеріалу.

**Приклад 1**

Визначення морозостійкості по ступені проникності протоплазми для електролітів.

Рослини вирощують до фази 2-3 листків, перший етап закаливання здійснюють протягом семи днів при +2°C, другий - протягом трьох днів при -4°C. Проморожуванню піддають відрізки стебел при -7°C, -9°C, -15°C протягом 6 годин. Після проморожування беруть три наважки по 0,5 г (з кожного варіанту), поміщають в кювети для визначення електропровідності та заливають одночасно в кожну кювету по 50 мл дистильованої води. Тривалість екстракції 4 години при кімнатній температурі.

В якості контролю використовують значення електропровідності розчину, отриманого при виході електролітів із вбитих при кип'ятінні, тканин стебла.

Вихід електролітів визначають по опорі розчинів за допомогою реохордного моста Р-38. Для аналізу результатів використовують відносну електропровідність (відношення провідності живої тканини до провідності тканини, вбитої при кип'ятінні, %) [11].

**Приклад 2**

Метод поступового проморожування рослин.

(13) **U**  
(11) **42742**  
(19) **UA**

Насіння висівають в ящики, весь осінньо-зимовий період вони знаходяться в природних умовах на вегетаційній площадці. Проморожування проводять в морозильних камерах в період максимальної стійкості рослин при семи температурах (від -7 до -24°C). Початкова температура в камері повинна відповідати температурі вузла кушіння в природних умовах. Щоденно її знижують на -3°C, рослини витримують 24 год. Відносять рослини добу при +2°C, потім поміщають на місяць в теплицю для відрощування. Результати досліджень виражають в % рослин, що вижили до загальної кількості [9].

#### Приклад 3

Метод оцінки морозостійкості озимих культур по виходу електролітів.

Рослини вирощують до фази 2-3 листків. В процесі закалювання та проморожування відбирають вузли кушіння із частиною несправжнього стебла розміром 1 см. Дані відрізки використовують для вивчення проникності тканин для електролітів. Кожен варіант дослідження складається із трьох наважок по 0,5 г (25-30 рослин). Тривалість екстракції 4 год. при кімнатній температурі. Вихід екстрагованих електролітів визначали по опорі розчинів за допомогою реохордного моста Р-38. Для аналізу даних використовують відносну електропровідність - процент від рівня екзосмосу електролітів із тканин, що пройшли закалювання та проморожування до повного виходу електролітів із вбитих при кип'ятінні тканин [10].

Метод оцінки морозостійкості озимих культур по виходу електролітів є відносним. Він чітко відрізняє контрастні по стійкості сорти та слабо диференціює середньо стійкі.

Вказані способи мають наступні недоліки:

1. Вони трудомісткі.
2. Потребують довготривалих досліджень на різних етапах загартування рослин.
3. Нема науково обґрунтованих методик визначення рівня закалювання рослин. Умови та динаміка закалювання в різних генотипів може суттєво відрізнятися, тому отримані результати не завжди відповідають реальним відмінностям між сортами.

4. Результати виражають у відсотках від максимального виходу електролітів, що знижує шкалу чутливості методу.

#### Приклад 4

Спосіб визначення морозостійкості злаків.

В основі запропонованого способу є визначення морозостійкості злакових культур на основі кореляційної залежності відношення витоку електролітів із незагартованих рослин інкубованих при -25°C та рослин інкубованих при +25°C. При цьому виключеним є вплив невизначеності рівня закалювання до морозу різних генотипів, тоді використовується кореляція між первинною морозостійкістю та загальною морозостійкістю рослин, а також розширюється шкала чуттєвості за рахунок прийняття за контроль рівень рівня витоку електролітів із непроморожених рослин (а не рівень максимального витоку електролітів).

Насіння різних сортів озимої пшениці (таблиця) інкубували на 30 хвилин в розчині 0,1 % перманганату калію, потім заливали відстояною во-

дою і поміщали на 12 годин в холодильник при температурі 4-6°C. Після цього їх висівали на фільтрувальний папір в чашки Петрі та вирощували при природному світлі в лабораторному приміщенні при середньому PAR 40 та приблизному фотоперіодизмі 14 годин світла та 10 годин темноти впродовж 10 днів. На 10 день рослини були добре розвинені. Для аналізу відбирали 100 мг проростків, поміщали в пробірки і вносили в морозильну камеру при температурі -25°C, де інкубували впродовж 105 хвилин. Контрольні рослини інкубували у повітряному середовищі, при температурі 25°C та 100%-ї вологості.

Після інкубації рослини виймали з морозильника, розморожували, заливали 5 мл дистильованої води, потім витримували при кімнатній температурі (+25°C) впродовж 2 годин. Досліди над проростками контрольних рослин проводили аналогічним способом. Потім вимірювали електропровідність дослідів та контролю за допомогою кондуктометра №5721М (фірма ELWRO, США). Електропровідність вмісту пробірок вимірювали в  $\text{ms/m}$  (мікросіменсах на метр). Відносний витік електролітів (BBE) виражали як відношення електропровідності дослідних варіантів (-25°C) до електропровідності контрольних варіантів (+25°C). Отримані дані (таблиця 1.) виражали у вигляді залежності значення групи стійкості (ГС) сортів пшениці від BBE. Лінійна апроксимація ГС від BBE описується рівнянням:  $ГС = 1,919 \cdot BBE - 1,0647$ . Коефіцієнт кореляції (КК) між BBE та ГС дорівнює 0,935081, що вказує на високу кореляцію (максимально можливий КК дорівнює 1, а мінімальний - 0). Ці дані, в комплексі, вказують на можливість точного передбачення морозостійкості сорту (генотипу) пшениці даним способом.

Метод характеризується високою повторюваністю та чутливістю.

Поставлене завдання досягається тим, що в запропонованому способі беруть 100 мг десятиденних проростків, поміщають їх на 105 хвилин в повітряний холодильник при -25°C (дослідні рослини) чи при температурі при +25°C (контрольні рослини). Їх стан після інкубації перевіряється наступним чином:

1. Обидва варіанти проростків інкубуються в дистильованій воді при температурі +25°C впродовж 120 хвилин.

2. Визначають електропровідність (ЕП) водного середовища дослідного та контрольного варіантів.

3. Відносний витік електролітів (BBE) визначають із відношення ЕП розчину із проростків, попередньо інкубованих в повітряному середовищі при -25°C, до ЕП тих проростків, які були інкубовані при +25°C.

4. По значенню BBE із проростків сортів-класифікаторів визначають кореляційну залежність між рівнем морозостійкості (за п'ятибальною шкалою) та BBE, а також визначають співвідношення, яке дозволяє визначити морозостійкість любого генотипу на основі значення BBE.

До суттєвих ознак, що характеризують корисну модель, відноситься той факт, що вперше визначення морозостійкості злакових культур використовується спосіб визначення кореляційної залеж-

ності відношення витоку електролітів із незагартованих 10-денних проростків інкубованих при -25°C до рослин інкубованих при +25°C.

Той факт, що вперше використовується відношення витоку електролітів із незагартованих 10-денних проростків інкубованих при -25°C до рослин інкубованих при +25°C для визначення морозостійкості злакових культур, забезпечує даній корисній моделі відповідність критерію „новизна” та „суттєва відміна”.

Технічний результат, якого можна досягти при застосуванні корисної моделі, полягає у використанні співвідношення витоку електролітів із незагартованих 10-денних проростків інкубованих при -25°C до рослин інкубованих при +25°C для визначення морозостійкості злакових культур.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак і технічним результатом полягає в тому, що для визначення морозостійкості злакових культур використовується відношення витоку електролітів із незагартованих 10-денних проростків рослин інкубованих при -25°C та рослин інкубованих при +25°C.

Таким чином, використовуючи відношення витоку електролітів із незагартованих 10-денних проростків рослин інкубованих при -25°C та рослин інкубованих при +25°C можна в короткий термін визначити морозостійкість злакових культур.

Літературні джерела

1. Алексеева Е.Н. Оценка морозоустойчивости озимых культур //Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (методическое руководство), Л.: 1988, с.186-195.

2. Барашкова Э.А., Виноградова В.В. Оценка зимоморозостойкости полевых культур //Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (методическое руководство), Л.: 1988 с.128-154.

3. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. М.: Наука, 1979. 350с.

4. Методы определения морозостойкости растений //Под редакцией И.И. Туманова, М.: 1967, 88с.

5. Перший Н.П. Определение жизнеспособности растений при помощи тетразола //Зерновое хозяйство, 1971, 1, с.32-35.

6. Павлов Е.И., Стрельцов С.А. Замедленная флуоресценция озимых зерновых как метод ранней диагностики их морозоустойчивости //Методы и технические средства исследований физических процессов в сельском хозяйстве: Сб. науч. тр. /РАСХН. Сиб. отд-ние. СибФТИ. - Новосибирск, 1997. - 4.2. - С.71-76.

7. Dascaluc A., Tate III., R.L. Systemic Approach in Determining the Biological Role of Natural Products //Advanced biological technologies and their impact on economy - Natural products: technologies for their capitalization in agriculture, medicine and food industry, Chisinau, AGEPI, 2005, p.24-37.

8. Барашкова Э.А. Методические указания. Определение морозостойкости озимых и зимующих культур методом промораживания проростков. Л.: 1983, 88с.

9. Статистическая обработка результатов промораживания и распределение сортов озимых зерновых культур по группам устойчивости при оценке морозостойкости растений. Виноградова В.В., Барашкова Э.А. «Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды», 1976, с.138-151.

10. Лабораторные методы оценки морозоустойчивости озимых культур. Е.Н. Алексеева. «Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды», 1976, с.128-132.

11. Практикум по физиологии растений /Н.Н. Третьяков, Т.В. Карнаухова, Л.А. Паничкин и др. - 3-е изд. /перераб. и доп. (Под ред. проф. Н.Н. Третьякова) - М.: Агропромиздат, 1990. - 271с.: ил. (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. заведений).

Додаток 1

Таблица 1

Відносний витік електролітів із проростків сортів пшениці із різною морозостійкістю (в ms/m)

№ п/п	Сорти пшениці	Група стійкості	Відносний витік електролітів
1	Albidium 114	1	1,618±0,0905
2	TAM 105	2	2,305±0,1581
3	Mironovskaya 808	3	2,820±0,1745
4	Bezostaya 1	4	3,647±0,1608
5	KS93U140	5	4,086±0,2152