



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **107607** (13) **C2**
(51) МПК (2015.01)
G01N 21/64 (2006.01)
A01G 7/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2013 05514	(72) Винахідник(и): Артеменко Дмитро Михайлович (UA), Колесник Юрій Степанович (UA), Романов Володимир Олександрович (UA), Федак Володимир Семенович (UA)
(22) Дата подання заявки: 29.04.2013	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ КІБЕРНЕТИКИ ІМ. В.М. ГЛУШКОВА НАН УКРАЇНИ, вул. Академіка Глушкова, 40, м. Київ-187, 03187 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 26.01.2015	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 24908 U, 25.07.2007, UA 82894 C2, 26.05.2008, UA 72708 U, 27.08.2012, UA 91452 C2, 26.07.2010, RU 2010139735 A, 10.04.2012, SU 1276963 A1, 15.12.1986, SU 1768071 A1, 15.10.1992, US 2012018356 A1, 26.01.2012, US 6080950, 27.06.2000, NZ 524174 A, 26.11.2004,
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.11.2014, Бюл.№ 2	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.01.2015, Бюл.№ 2	

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СТАНУ РОСЛИН

(57) Реферат:

Спосіб належить до області дослідження матеріалів шляхом визначення їх фізичних властивостей, зокрема індукції флуоресценції нативного хлорофілу інтактного листка рослини і може бути використаний в рослинництві при експресній діагностиці стану рослин. Спосіб діагностики стану рослини включає одержання сигналів наведеної флуоресценції та побудови з них індукційних кривих для контрольної та дослідних рослин. Спосіб полягає у побудові градуальної залежності діагностичного показника стану від значення зовнішнього чинника, визначенні границь діапазону значень для нормального стану та проведення діагностики шляхом порівняння показників поточного стану дослідної рослини із діапазоном нормального стану. Технічним результатом винаходу є створення такого експресного способу діагностики стану рослини в якому стало б можливим визначення та віднесення стану рослини до певного значення стану в ряду можливих станів та визначення величини чинника, що викликав цей стан.

UA 107607 C2

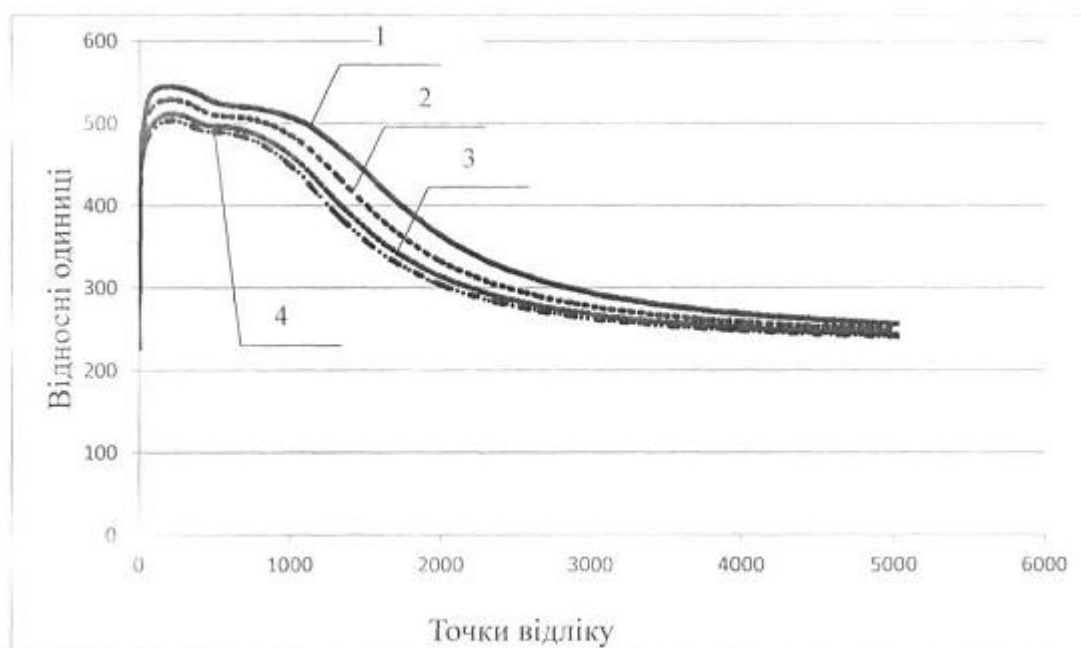


Fig. 1

Запропонований спосіб діагностики стану рослин належить до області дослідження матеріалів шляхом визначення їх фізичних властивостей, зокрема флуоресценції нативного хлорофілу інтактного листка рослини. Спосіб призначений для використання у рослинництві, селекційній роботі, сільському та лісовому господарствах і в екології.

Відомо "Спосіб визначення фізіологічного стану рослин методом індукції флуоресценції хлорофілу", патент України на корисну модель № 24908, Бюл. № 11, 2007 г. Шерер В.О., Сарахан Е.В., який включає відбір проб рослин, збудження флуоресценції хлорофілу рослини шляхом опромінювання світлом, реєстрацію інтенсивності, за якою визначають стан рослин, а об'єкт витримують в темноті протягом 5-7 хвилин, реєструють флуоресценцію шляхом співвідношення її інтенсивності і часу виміру, причому значення інтенсивності флуоресценції $F > 1$ вказує на нормальний фізіологічний стан, а $F < 1$ - на критичний стан рослин.

Спільними рисами аналога та запропонованого способу є: темпова адаптація листка рослини, збудження флуоресценції хлорофілу шляхом опромінення листка рослини світлом та реєстрація флуоресценції хлорофілу.

Причиною, що заважає отримати очікуваний технічний результат є те що спосіб аналог не дозволяє діагностувати стан рослини в залежності від величини зовнішнього чинника.

Найближчим по суті до запропонованого способу є "Спосіб ідентифікації карбонатного хлорозу рослин", патент України на винахід № 82894, Бюл. № 10, 2008 р. Спосіб прототип включає опромінення листка рослини світлом в діапазоні довжин хвиль 400-650 нм, прийом, виділення, вимірювання і реєстрацію сигналів наведеної флуоресценції в діапазоні довжин хвиль 670-770 нм, із значень яких будують криву індукції флуоресценції з виділенням початкового F_0 і максимального F_m значень флуоресценції а також в ньому визначають ширину кривої індукції флуоресценції на рівні 0,75 ($F_m - F_0$) для дослідної t_d і контрольної t_k рослин, а одержані значення порівнюють і при $t_d > 2t_k$ дослідну рослину вважають ураженою карбонатним хлорозом.

Спільними рисами запропонованого способу і способу прототипу є опромінення рослини, після темпової фази світлом з довжиною хвилі у діапазоні довжин хвиль 400-650 нм, прийом, вимірювання і реєстрації сигналів флуоресценції в діапазоні хвиль 670-770 нм, із значень яких будують криву індукції флуоресценції, для дослідної та контрольної рослин.

Причиною, що заважає отримати очікуваний технічний результат є те, що спосіб прототип розглядає тільки два стани рослини і один критерій порівняння для ураженої і неуразеної карбонатним хлорозом рослини, що не дозволяє визначити інші стани рослини, а також його залежність від величини зовнішнього чинника.

В основу винаходу поставлена задача створення такого експресного способу діагностики стану рослини, в якому завдяки введенню у відомий спосіб нових операцій, їх послідовності та інтерпретації результатів, стало б можливим визначення та віднесення стану рослини до певного значення стану в ряду можливих станів та визначення величини чинника, що викликав цей стан.

Вирішення поставленої задачі досягається тим, що запропонований спосіб діагностики стану рослин ґрунтується на опроміненні листка рослини після темпової фази світлом з довжиною хвилі у діапазоні довжин хвиль 400-650 нм, прийом, вимірювання та реєстрацію сигналів флуоресценції в діапазоні хвиль 670-770 нм, із значень яких будують криву індукції флуоресценції та визначають значення фонові F_0 , максимальної F_m , стаціонарної флуоресценцію F_{st} , та значення флуоресценції плато F_{pl} , для дослідної і контрольної рослини на дослідні рослини діють зовнішнім чинником різної величини, порівнюють відповідні значення вимірюваних флуоресценцій контрольної та дослідних рослин, знаходять максимальні значення їх різниці і по залежності різниці від зовнішнього чинника судять про етап рослини.

Відмінними ознаками запропонованого способу є те, що на дослідні рослини діють зовнішнім чинником різної величини, порівнюють відповідні значення вимірюваних флуоресценцій контрольної та дослідних рослин, знаходять максимальні значення їх різниці і по залежності різниці від зовнішнього чинника судять про стан рослини.

Введення у відомий спосіб операцій зміни стану дослідної рослини шляхом зміни впливу зовнішнього чинника, визначення різниць флуоресценцій контрольної і дослідної рослин, знаходження максимальних значень їх різниць, побудова градувальної залежності максимальних значень різниць від зовнішнього чинника дозволяє діагностувати стан дослідної рослини як значення градувальної залежності відповідне зовнішньому чиннику.

Під діагностикою стану рослин розуміють визначення значень показників стану та встановлення їх місця в ряду нормативних значень стану або по шкалі значень, визначених експериментально для контрольної рослини. Під діагнозом розуміють відхилення поточних значень показників стану від значень показників оптимального стану.

При наявності нормативних значень діагностичних показників стану рослини, вони слугують зразками для порівняння при діагностиці стану дослідної рослини. При відсутності нормативів, згідно з запропонованим способом, як зразки для порівняння використовують характерні значення та характерні діапазони значень діагностичних показників, які визначають експериментально шляхом градування.

Стан рослини визначають як сукупність внутрішніх властивостей рослини та їх відношень до зовнішніх впливів, які характеризуються миттєвими значеннями сукупності показників.

Запропонований спосіб діагностики реалізує наступний порядок дій:

- вибирають флуоресцентний показник стану рослини;
- будують градувальну залежність цього показника від значень чинника;
- задають границі показника для оптимального (нормального) стану рослини;
- визначають значення показника для поточного стану;
- здійснюють діагностику цього стану.

Відомо, що певні ділянки кривої індукції флуоресценції хлорофілу є індикаторами відповідних фізіологічних процесів у ланцюгу фотосинтезу. Тому порушення окремих ланок фотосинтезу, викликані екзо та ендогенними чинниками проявляються у характерних змінах відповідних ділянок кривої індукції флуоресценції хлорофілу. Такі зміни кривої індукції флуоресценції хлорофілу дослідної рослини, на яку діє збуджуючий чинник у порівнянні з індукцією флуоресценції хлорофілу контрольної рослини на яку чинник не діє, свідчать про вплив чинника. Ідентифікація дії чинника потребує вибору специфічного показника кривої індукції флуоресценції хлорофілу якому відповідає дія саме цього чинника.

Досі такими показниками є різні індекси флуоресценції хлорофілу, які використовують характерні значення індукційної кривої, як то F_0 , F_m , F_{pl} , F_{st} тощо.

За діагностичну ознаку стану рослини у запропонованому способі прийнято максимальне значення різниці відповідних по часу значень флуоресценцій індукційних кривих дослідної і контрольної рослин. Наявність такої різниці свідчить про вплив чинника і такий вплив буде максимальним при максимальній різниці. Далі на ряд дослідних рослин діють зовнішнім чинником різної величини. Шляхом опромінення листка рослини після темпової фази світлом з довжиною хвилі у діапазоні довжин хвиль 400-650 нм, прийому, вимірювання та реєстрації сигналів флуоресценції в діапазоні хвиль 670-770 нм, будують криву індукції флуоресценції контрольної і дослідних рослин. Порівнюючи відповідні поточні значення флуоресценції дослідної і контрольної рослин знаходять максимальні значення їх різниць і будують градувальну залежність максимальної різниці від зовнішнього чинника.

Градувальна залежність дозволяє вирішувати пряму і обернену задачу діагностики. Так за виміряним миттєвим значенням діагностичного показника стану можна визначити чинник, що викликав відхилення показника стану від нормального та його величину. Або за величиною чинника можна спрогнозувати значення показника стану.

На градувальній залежності задають діапазон значень діагностичного показника і відповідних значень зовнішнього чинника для нормального стану рослин. На цьому закінчується етап підготовки нормативу для діагностики.

Тепер власне діагностика полягає у визначенні стану рослини і порівнянні його з нормативом. Для цього будують індукційні криві дослідної і контрольної рослин зазначеним вище способом, порівнюють відповідні значення флуоресценцій, виділяють значення максимальної різниці і порівнюють його із значеннями діапазону значень нормального стану на градувальній кривій. Якщо визначена різниця лежить у межах заданого діапазону, то стан рослини вважають нормальним якщо зовні діапазону, то стан рослини відрізняється від нормального. По величині відхилення від нормальних значень показників стану судять про ступінь відхилення від норми. При цьому визначають величину чинника, що викликав таке відхилення від норми.

Приклад реалізації запропонованого способу.

Досліди проводились на листях рослин кави, який вирощували в горщиках по гідропонній системі у фітокамері при однакових умовах для контрольної і дослідних рослин. Діючим чинником був розчин добрива у концентраціях $K_1:K_2:K_3:K_4=0:10:20:30$. Позначимо їх як (a_1 , a_2 , ... a_n). Значення n у нашому випадку дорівнює 4. Поточні значення флуоресценції нативного хлорофілу інтактного листка визначали флуорометром "Флоратест" (патент UA 12382 з сенсором по патенту UA 13481). Позначимо їх як F_{a1} , F_{a2} , F_{an} . Але можуть бути використані будь-які і інші флуорометри.

За цикл вимірювань здійснюють темпову адаптацію, опромінення листка, виділення та вимірювання сигналів флуоресценції з подальшим накопиченням і зберіганням у пам'яті приладу. З поточних значень флуоресценції будують ряд індукційних кривих (фіг. 1), де крива 1

- для контрольної рослини, а криві 2, 3, 4 - дослідних рослин з відповідними значеннями концентрацій добрива.

Далі порівнюють відповідні значення флуоресценцій контрольної 1 і дослідних рослин 2,3,4, тобто визначають їх різницю $(F_{a1}-F_{a2})=\Delta_2$, $(F_{a1}-F_{a3})=\Delta_3$, ... $(F_{a1}-F_{a4})=\Delta_4$. Будують криві різниць відповідних флуоресценцій у часі (фіг. 2), які викликані відповідними значеннями чинника (a_2 , ... a_4).

З максимальних значень таких різниць будують градовальну залежність від значення чинника (фіг. 3).

На цій залежності задають діапазон значень різниць відповідних нормальному стану рослини, наприклад, 0-70. Йому відповідає величина чинника 0-20. Це слугує нормативом при діагностиці. Нормативи готують для певних видів і сортів сільгоспрослин та для певних зовнішніх чинників, наприклад, метеоумов, показників ґрунту, засобів захисту рослин, агротехнічних заходів тощо.

Якщо визначена різниця лежить у межах заданого діапазону, то стан рослини вважають нормальним. Якщо різниця лежить за межами діапазону, то стан рослини відрізняється від нормального. При цьому ще визначають величину чинника, що викликав таке відхилення від норми.

На цьому закінчується підготовка нормативів для діагностики.

Далі, власне діагностика включає: визначення стану рослини, тобто знаходять максимальну різницю відповідних значень флуоресценції контрольної і дослідної рослин, визначають її відношення до нормативного діапазону значень (0-70) і роблять висновок про стан рослини, а також про значення чинника, який викликав цей стан.

Більшість літературних джерел, обіцяючи методики інструментальної діагностики стану рослини, фактично надають способи визначення стану рослини, помилково вважаючи його діагнозом.

Запропонований спосіб діагностики стану рослин, як видно з його опису, може бути реалізований у виробничих умовах з використанням будь яких хлорофіл-флуорометрів. Спосіб дозволяє значно розширити номенклатуру флуоресцентних ознак стану рослин і підвищити достовірність діагнозу. Спосіб має зацікавити дослідників впливу різних чинників на стан рослини, зокрема добрив, засобів захисту рослин, біологічно активних речовин, агротехнічних заходів тощо.

Запропонований спосіб буде використано в інституті садівництва ЛАН України при створенні експресних польових інструментальних методик діагностики вірусних, бактеріальних та грибкових уражень рослин, зокрема посадкового матеріалу плодово-ягідних культур та винограду.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб діагностики стану рослин, який ґрунтується на опроміненні листка рослини після темної фази світлом з довжиною хвилі у діапазоні 400-650 нм, прийом, вимірювання та реєстрацію сигналів флуоресценції в діапазоні 670-770 нм, із значень яких будують криву індукції флуоресценції та визначають значення фонові F_0 , максимальної F_m , стаціонарної флуоресценції F_{st} та значення флуоресценції плато F_{pl} для дослідних і контрольної рослини, який **відрізняється** тим, що на дослідні рослини діють зовнішнім чинником різної величини, порівнюють відповідні значення виміряних флуоресценцій контрольної та дослідних рослин, знаходять максимальні значення їх різниць і по залежності різниці від величини зовнішнього чинника судять про стан рослини.

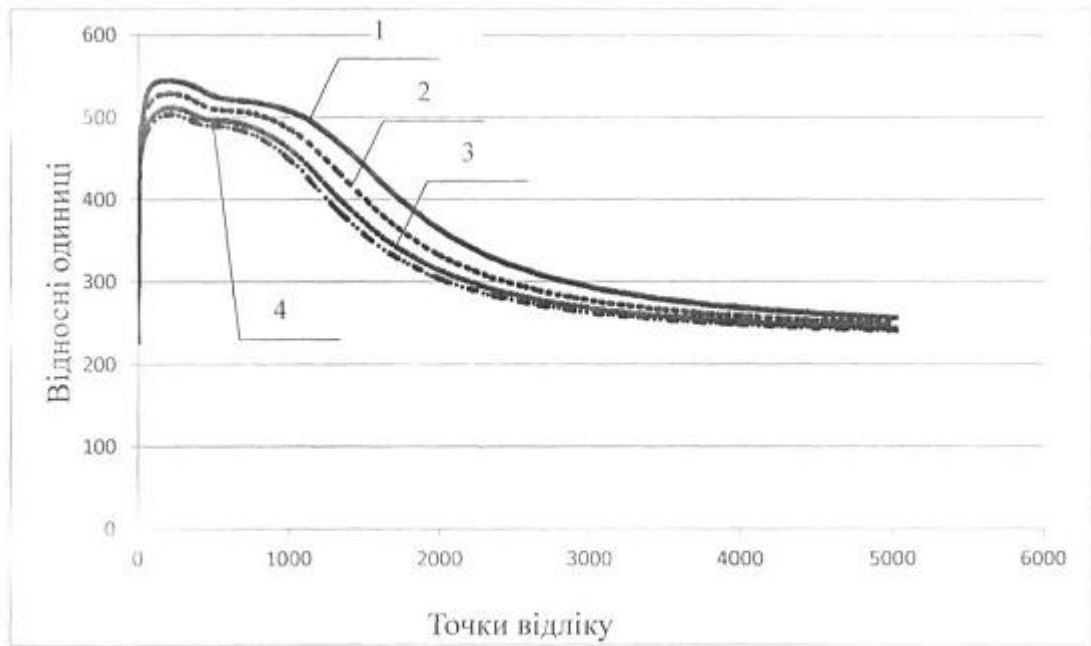


Fig. 1

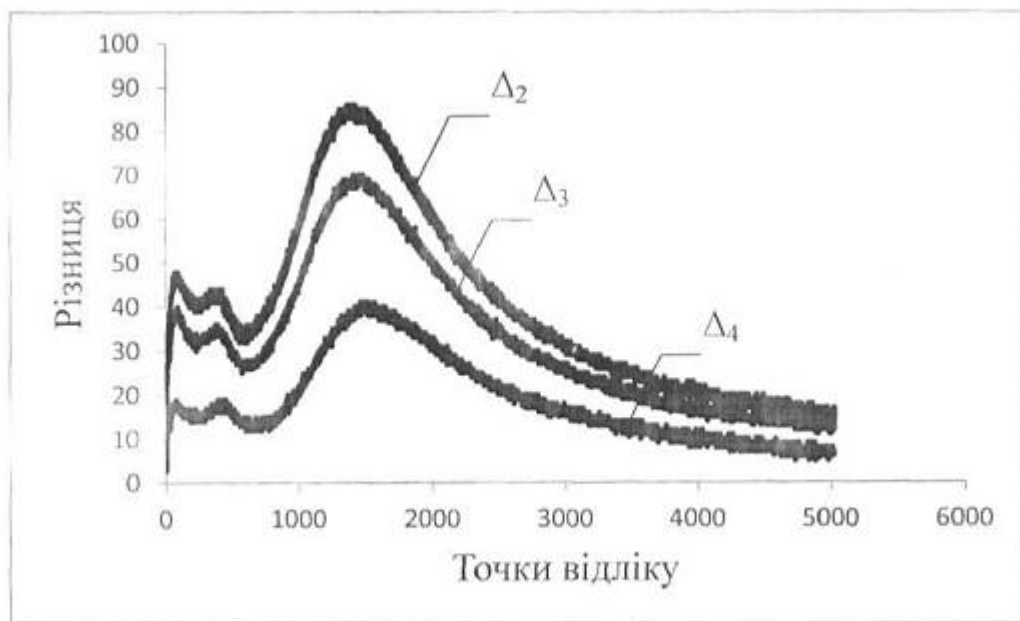


Fig. 2

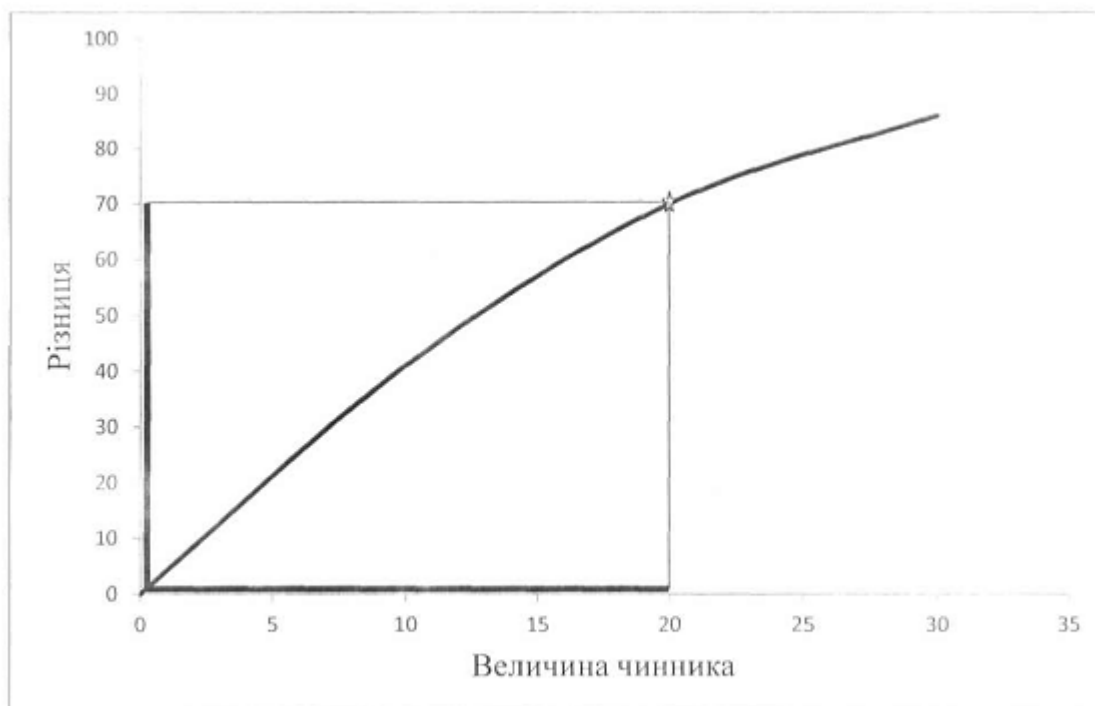


Fig. 3

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601