

УДК 635.11:631.559:57.086.13:661.94

Н.О. Шевченко<sup>1\*</sup>, Г.В. Коваленко<sup>1</sup>, Н.О. Баштан<sup>2</sup>, А.В. Мозговська<sup>2</sup>,  
Т.М. Мірошніченко<sup>2</sup>, Т.Ф. Стрибуль<sup>1</sup>, Т.В. Івченко<sup>2</sup>, О.В. Куц<sup>2</sup>

## Вплив фізичних факторів передпосівної обробки насіння буряка столового сорту Дій на посівну якість і врожайність

UDC 635.11:631.559:57.086.13:661.94

N.O. Shevchenko<sup>1\*</sup>, G.V. Kovalenko<sup>1</sup>, N.O. Bashtan<sup>2</sup>, A.V. Mozgovska<sup>2</sup>,  
T.M. Miroshnichenko<sup>2</sup>, T.F. Strybul<sup>1</sup>, T.V. Ivchenko<sup>2</sup>, O.V. Kuts<sup>2</sup>

## Physical Factors of Beetroot Seed Presowing Treatment Affect Sowing Quality and Crop Yield

**Реферат:** У роботі досліджено вплив озонування та заморожування до температури рідкого азоту, поєднаної дії двох чинників на показники посівної якості та врожайності насіння буряка столового сорту Дій. Визначали оптимальну вологість, дозу озону в озонно-повітряній суміші та термін експозиції, які б не знижували показники схожості. Озонування, заморожування та їхня сумісна дія не впливала на показники проростання насіння в лабораторних умовах та біометричні — у польових дослідженнях. Встановлено, що заморожування насіння до температури рідкого азоту значуще підвищувало його врожайність. Біохімічний аналіз коренеплодів показав, що усі методи передпосівної обробки призводили до зменшення вмісту загальних цукрів та бетаніну. Кількість сухої речовини після заморожування та озонування зменшувалася, а після поєднаного впливу — збільшувалася. Озонування та подальше заморожування призводили до зниження вмісту аскорбінової кислоти. Значуще зменшення досліджених показників не досягало мінімальних значень, характерних для цієї культури. Заморожування та поєднаний вплив вивчених факторів на насіння підвищували вміст нітратів у коренеплодах, який не перевищував максимально допустиму норму.

**Ключові слова:** буряк столовий, озонування, заморожування, врожайність, посівна якість.

**Abstract:** In this work, we have studied the impact of ozonation, freezing down to liquid nitrogen temperature and their combination on sowing quality and crop yield for Dii cultivar beetroot seeds. The optimal moisture, ozone dose within the ozone-air mixture, and the exposure time, not reducing the germination rate, were determined. The ozonation, freezing, and their combined effect affected neither the seed germination in laboratory, nor biometric indices in a field. The seed freezing down to liquid nitrogen temperature was found to significantly increase its crop yield. Biochemical analysis of root crops showed all the ways of pre-sowing treatment to reduce the content of total sugars and betanin. After freezing and ozonation, the amount of dry matter decreased, but after combined exposure it augmented. Ozonation and subsequent freezing lowered the content of ascorbic acid. Significantly reduced studied parameters did not reach the minimum values specific to this crop. Freezing and a combined impact of the studied factors on the seeds increased the nitrate content in root crops, which did not exceed the maximum allowable rate.

**Key words:** beetroot, ozonation, freezing, crop yield, sowing quality.

У структурі посівних площ столові коренеплоди в Україні займають близько 15%, серед яких найбільш поширеними є морква та столовий буряк *Beta vulgaris* L. var. *conditiva Alef* [2]. За вмістом поживних, цінних і лікувальних речовин він вважається однією з найбільш вживаних овочевих культур, оскільки має високу лежкість, що дозволяє цілорічно використовувати його в свіжому вигляді. Коренеплоди містять (% на сиру речовину): від 12 до 20% — сухої речовини; 8,6–12,5 — цукрів (у тому числі до 9,7% сахарози); 1,0–3,5 — сирого білка; 0,7–2,0 — кліткови-

The root vegetables, among which the most common are carrot and beetroot (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva Alef*), occupy about 15% within the cultivated areas in Ukraine [25]. According to the content of nutritious, valuable and medicinal substances, the beetroot is one of the most consumed vegetable crops because of its high keeping quality, that allows using it fresh throughout the year. Root crops contain the following substances (% of raw matter): from 12 to 20 of dry matter; 8.6–12.5 of sugars (including up to 9.7 of sucrose); 1.0–3.5 of crude protein; 0.7–2.0 of

<sup>1</sup>Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, Україна

<sup>2</sup>Інститут овочівництва і баштанництва НААН України, с. Селекційне, Харківська область, Україна

\*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;  
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52  
електронна пошта: shevchenko\_nadyusha@ukr.net

Надійшла 30.06.2022

Прийнята до друку 07.09.2022

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Vegetable and Melon Growing of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Selekttsiine village, Kharkiv region, Ukraine

\*To whom correspondence should be addressed:

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;  
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952  
e-mail: shevchenko\_nadyusha@ukr.net

Received 30, June, 2022

Accepted 07, September, 2022

ни; 1,1–4,8 — пектинових речовин; 1,0–2,8 — золи; до 1,26 — азотистих речовин, 0,2–0,3 % — жиру; до 2,35 — безазотистих екстрактів; 0,032 мг/100 г — каротину та 11,3–23,3 мг — аскорбінової кислоти [3]. Буряк багатий не тільки на поживні речовини, мінерали та вітаміни, а й на безліч унікальних біологічно активних сполук, які мають лікувальні та терапевтичні властивості. Він є потужним антиоксидантом завдяки наявності беталаїнів, фенольних кислот, сапонінів, алкалоїдів, стероїдів/тритерпенів, катехинів і флавоноїдів. Різні частини буряка володіють лікувальними властивостями: знеболювальною, гепатопротекторною, гіпотензивною, протимікробною, протизапальною, протимігренозною, протівірусною, антигіперглікемічною, антиоксидантною, антигестагенною, протиалергічною, антитромботичною, протипухлинною [22].

Посівні якості насіння визначаються багатьма факторами: роком репродукції, умовами та термінами зберігання тощо. Втрата посівних якостей насіння відбувається, зокрема, через зараження бактеріальними, грибовими та вірусними збудниками. Для боротьби з інфекціями різного походження застосовують методи передпосівної обробки насіння [21, 25]. Аналізуючи результати ефективності альтернативних технологій передпосівної обробки насіння, перевага віддається екологічним методам знезараження насінневого матеріалу, зокрема фізичним, одним з яких є передпосівна обробка насіння озono-повітряною сумішшю (ОПС) [6, 13, 19, 24]. Озон як активуючий агент в її складі справляє комплексну дію на насіння, а технологія його застосування є досить простою й екологічно безпечною. Озон — сильний окисник, тому в ОПС високих концентрацій насамперед гинуть мікроорганізми, комахи та ін. Малі концентрації озону сприяють інтенсифікації обміну речовин, у тому числі в насінні, яке проростає після обробки [4]. Застосування ОПС не приводить до появи небажаних побічних продуктів розпаду і до того ж її використання для обробки насіння зернових культур стимулює проростання і розвиток проростків [6–8].

Крім того, ще одним фізичним фактором, який, як правило, не погіршує, а навіть може позитивно впливати на посівні якості, є передпосівне заморожування, що додатково використовується для подовження довговічності насіння. Кріоконсервування — один з методів довгострокового зберігання *ex situ* різних типів рослинних клітин, тканин і органів без втрати життєздатності, змін та/або дегенерації матеріалу, оскільки в умовах екстремально низьких температурах рідкого азоту ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) та/або його парів ( $-150^{\circ}\text{C}$ ) при-

fiber; 1.1–4.8 of pectin substances; 1.0–2.8 of ash; up to 1.26 of nitrogenous substances, 0.2–0.3 of fat; up to 2.35 of nitrogen-free extracts; 0.032 mg/100 g of carotene and 11.3–23.3 mg of ascorbic acid [27]. Beetroot is rich not only in nutrients, minerals and vitamins, but in many unique biologically active compounds with a number of medicinal and therapeutic properties. It has powerful antioxidant properties due to the presence of betalains, phenolic acids, saponins, alkaloids, steroids/triterpenes, catechins and flavonoids. The phytochemicals present in different parts of beetroot have a wide range of medicinal properties, including analgesic, hepatoprotective, hypotensive, antimicrobial, anti-inflammatory, antimigraine, antiviral, antihyperglycemic, antioxidant, antigestagen, antiallergic, antithrombotic, antitumor ones [17].

Many factors, such as the year of reproduction, terms and storage conditions, *etc.* determine the sowing quality of seeds. The loss of seed sowing qualities occurs due to contamination with bacterial, fungal and viral pathogens, among others. To prevent infections of various origins, the pre-sowing seed treatments are used [16, 20]. When analyzing the efficiency of alternative techniques for pre-sowing seed treatment, the preference is given to ecological ways for seed material decontamination, particularly physical ones. The use of ozone-air mixture (OAM) for pre-sowing seed treatment is among these ways [6, 12, 19, 22]. Ozone, being an activating agent within it, has a combined effect on seeds, and the technique for its application is quite simple and environmentally safe. Since ozone is a strong oxidizing agent, the microorganisms, insects, *etc.* are the first to die in the high-concentrated OAM. Low ozone concentrations intensify the metabolism, and in seeds germinating after treatment as well [15]. As a result of OAM application, no undesirable degradation by-products occur, moreover, it stimulates the germination and seedling development when using it for grain crop seed treatment [22–24].

Moreover, another physical factor, generally not impairing, but even positively affecting the seed quality, is the pre-sowing freezing, used additionally to extend the seed lifespan. Cryopreservation is among the techniques for long-term *ex situ* storage of various types of plant cells, tissues and organs without loss of viability, changes and/or degeneration of the material, because under extremely low temperatures of liquid nitrogen ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) and/or its vapors ( $-150^{\circ}\text{C}$ ) the metabolic processes are stopped [13]. Notably, that material is stored in a small space, protected against contamination,



пинаються метаболічні процеси [20]. Слід зазначити, що матеріал зберігається у невеликому просторі, він захищений від забруднення, а на його обслуговування (поповнення втрат азоту) потребуються незначні фінансові витрати [15].

Мета роботи — визначення впливу передпосівної обробки насіння буряка озono-повітряною сумішшю, заморожуванням до температури рідкого азоту і сумісної дії цих факторів на розвиток рослин та їхню продуктивність.

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження було насіння буряка сорту Дій репродукції 2018 р., яке піддавали озонуванню, заморожуванню до температури рідкого азоту та поєднаній їхній дії. До початку експерименту насіння зберігали у герметичній тарі без доступу світла за температури 10–20°C. Усі дослідження проводилися протягом 2021 р.

Для визначення ефективних режимів озонування у першій серії експериментів досліджували вплив різних доз озону та вологості насіння на показники енергії проростання та схожості.

Використовували насіння різного ступеня вологості: контрольне з початковою вологістю 11% та штучно зволожено до 23 та 65%. Оскільки озон легко розчиняється у водному середовищі, а обробка зерна ОПС здійснюється в різні періоди (від збирання врожаю до посіву), то вона передбачає різні концентраційні та часові режими, які залежать від вологості зразків (10–24%) [8]. У зв'язку з цим важливо було дослідити рівень вологості насіння за умов застосування ОПС із різною концентрацією озону. Кількість води ( $\Delta n$ ), яку необхідно додати до наважки насіння для підвищення його вологості, визначали за формулою:

$$\Delta n = m (n_k - n_i) / 100,$$

де  $m$  — маса насіння, яку необхідно зволожити, г;  $n_k$  — вологість, яку треба одержати, %;  $n_i$  — початкова вологість, %.

Озонування проводили наступним чином: насіння буряка (600 шт.) з різним рівнем вологості поміщали у поліпропіленові пробірки типу Falcon (Starlab, Україна) об'ємом 50 мл, до яких при'єднували трубки для подачі та вивільнення ОПС, рівномірний розподіл ОПС забезпечувався інтенсивним перемішуванням зразків. Використовували три концентрації озону в ОПС: 0,5, 1 та 3,5 мг/л, час експозиції складав 10 хв. З метою визначення оптимального часу експозиції насіння буряка в ОПС зразки з початковим

and its maintenance (replenishment of liquid nitrogen losses) requires small financial costs [8].

The research aim was to find out whether the pre-sowing treatment of beetroot seeds with the ozone-air mixture, freezing down to liquid nitrogen temperature, and their combined effect affects the plant development and yield.

### Materials and methods

The research object was the Dii cultivar beetroot seeds of 2018 reproduction, subjected to ozonation, freezing down to liquid nitrogen temperature and their combined effect. Before the experiment start, the seeds were stored in a sealed, light-tight container at 10–20°C. All the studies were carried out during 2021.

In the first series of experiments, the effect of different ozone dosages and seed moisture on germination energy and germination rate was studied to determine the efficient modes of ozonation.

We used the seeds with different moisture contents, such as: the control seeds with initial moisture of 11% and those artificially moistened up to 23 and 65%. Since ozone is easily dissolved in water medium, and the seeds are OAM-treated within different periods (from harvesting to sowing), it foresees different concentrations and time regimens, depending on moisture content in the samples (10–24%) [23]. In this regard, it was important to study the moisture level of seeds when using OAM with different ozone concentrations. The amount of water ( $\Delta n$ ) that should be added to the seed weight to increase its moisture content was determined by the formula:

$$\Delta n = m (n_k - n_i) / 100,$$

where  $m$  is the seed mass to be moistened, g;  $n_k$  is the moisture to be obtained, %;  $n_i$  is initial moisture, %.

Ozonation was carried out in the following way: beetroot seeds (600 pcs.) with different moisture contents were placed into 50 ml Falcon type polypropylene tubes (Starlab, Ukraine), to which the tubes for OAM supply and release were attached. The OAM uniform distribution was ensured by intensive mixing of samples. We used three ozone concentrations within OAM: 0.5, 1 and 3.5 mg/l, the exposure time was 10 min. In order to determine the optimal time for beetroot seed exposure to OAM, the samples with an initial moisture content were treated with 1 mg/l of ozone for 5, 10, 20, and 30 min.

To study the impact of freezing on laboratory parameters, the beetroot seeds (450 pcs.) were placed into 15 ml polypropylene centrifuge tubes



рівнем вологості обробляли 1мг/л озону протягом 5, 10, 20 та 30 хв.

Для дослідження впливу заморожування на лабораторні показники насіння буряка (450 шт.) поміщали у поліпропіленові центрифужні пробірки (Starlab, Україна) об'ємом 15 мл та занурювали у рідкий азот на добу. Відігрівання пробірок з насінням проводили при температурі 22°C.

На наступному етапі експерименту досліджували сумісний вплив дії озонування та заморожування на показники насіння в лабораторних умовах. Для цього насіння з початковим рівнем вологості озонували протягом 20 хв у ОПС, концентрація озону в якій складала 1,0 мг у літрі повітря. Наступного дня насіння піддавали заморожуванню до температури рідкого азоту та відігріванню за температури 22°C.

Насіння висівали на пророщування в лабораторних умовах згідно з ДСТУ 4138-2002 «Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості».

Для дослідження дії озонування, заморожування та сумісної дії цих факторів визначали енергію проростання, схожість, довжину, вологу та суху масу проростків [26].

Динаміку проростання насіння визначали шляхом підрахунку кількості пророслого насіння починаючи з першого дня після висіву. Час проростання 50% насіння від загальної кількості пророслого насіння ( $T_{50}$ ) розраховували за формулою [16]:

$$T_{50} = t_i + \frac{(N+1)/2 - N_i}{(n_j - n_i)}(t_j - t_i),$$

де  $N$  — кінцева загальна кількість пророслого насіння;  $N_i$  — кількість насіння, яке проросло на день  $i$ ;  $n_i$  і  $n_j$  — кількість пророслого насіння починаючи з першого дня до  $t_i$  і  $t_j$  днів спостереження відповідно ( $i \geq 1, j \geq 2$ ) за умови:

$$n_i < (N+1)/2 < n_j.$$

Середній час проростання ( $MGT$ ) насіння вираховували за формулою [17]:

$$MGT = \frac{\sum D_n}{\sum n},$$

де  $n$  — кількість насіння, пророслого на день  $D$ ;  $D$  — день з початку висіву насіння до дня підрахунку (з першого дня після висіву до останнього, коли з'явився останній проросток).

(Starlab, Ukraine) and immersed into liquid nitrogen for a day. The tubes with seeds were thawed at 22°C.

The combined effect of ozonation and freezing on seed parameters under laboratory conditions was studied at next stage of the experiment. For this purpose, the seeds with initial moisture were ozonated for 20 min in OAM, where the ozone concentration was 1.0 mg per liter of air. The next day, the seeds were frozen down to liquid nitrogen temperature and thawed at 22°C.

Seeds were sown for germination under laboratory conditions according to DSTU 4138-2002 'Seeds of agricultural crops. Methods of quality appreciation'.

To study the effect of ozonation, freezing and their combination, we measured the germination energy, germination rate, length, wet and dry weight of seedlings [21].

The dynamics of seed germination was assessed by counting the number of germinated seeds starting from the first day after sowing. The germination time of 50% of seeds from the total number of germinated seeds ( $T_{50}$ ) was calculated by the formula [9]

$$T_{50} = t_i + \frac{(N+1)/2 - N_i}{(n_j - n_i)}(t_j - t_i),$$

where  $N$  is the final total number of germinated seeds;  $N_i$  is the number of seeds that germinated to day  $i$ ;  $n_i$  and  $n_j$  are the number of germinated seeds starting from the first day to  $t_i$  and  $t_j$  days of observation, respectively ( $i \geq 1, j \geq 2$ ) if the following condition is met:

$$n_i < (N+1)/2 < n_j.$$

The mean germination time ( $MGT$ ) of seeds was calculated according to the formula [10]:

$$MGT = \frac{\sum D_n}{\sum n},$$

where  $n$  is the number of seeds germinated to day  $D$ ;  $D$  is the day from the beginning of seed sowing to the day of counting (from the first day after sowing up to the last, when the last seedling appeared).

The germination index ( $GI$ ) was calculated by Walker-Simmons formula [28]:

$$GI = \sum \frac{n_i}{t_i},$$

where  $n_i$  is the number of germinated seeds;  $t_i$  is the day from the beginning of seed germination.





Індекс проростання ( $GI$ ) було розраховано за М. Walker-Simmons [28]:

$$GI = \sum \frac{n_i}{t_i},$$

де  $n_i$  — кількість пророслого насіння;  $t_i$  — день з початку пророщування насіння.

Наступним етапом нашого дослідження було визначення польових характеристик та урожайності насіння після різних способів обробки.

Насіння столового буряка висівали у першій декаді червня широкорядним способом (міжряддя 45 см) з нормою висіву 10 кг/га, глибиною загортання 4 см. Одразу після сівби, для захисту сходів від однорічних злакових та дводольних бур'янів, площу обробляли ґрунтовим гербіцидом «Авангард» (Хімагромаркетинг, Україна) з розрахунку 1,8–2,2 л/г. Оскільки насіння вирощували на зрошеному поливі, то у період від сходів до формування коренеплодів вологість ґрунту підтримували на рівні 75–80 та 65–70% найменшої вологоємності у період формування й росту коренеплода. Збір урожаю проводили у першій декаді жовтня. Визначали кількість та ширину листків, довжину гички, діаметр черешка, довжину та діаметр коренеплодів, загальну врожайність та проводили дослідження біохімічних показників коренеплодів [1].

Одержані результати аналізували статистично за допомогою програми «Past Statistic V.3.01» (Університет м. Осло, Норвегія). Визначали середнє значення та стандартне відхилення ( $M \pm \sigma$ ). Значущість різниці між показниками оцінювали за критерієм Тьюкі. Різницю між вибірками вважали значущою при  $p \leq 0,05$ .

Експерименти проводили у п'ятикратній повторюваності для інтерпретації впливу озонування, заморожування до температури рідкого азоту та поєднаної їхньої дії. Кількість вимірювань показників складала від 5 до 7 у разі визначення енергії проростання та схожості, від 4 до 6 — розрахунку  $T_{50}$ , MGT, GI та від 15 до 20 — довжини та маси проростків.

### Результати та обговорення

Результати визначення найбільш ефективної програми озонування насіння з різним рівнем вологості наведені у табл. 1. Отримані дані свідчать, що підвищення вологості з 11 до 23 і 65% призводило до зниження показників енергії проростання та схожості.

У дослідженні було застосовано три режими озонування. Показано, що обробка насіння ОПС із концентрацією озону 0,5 мг/л не змінювала енергії проростання зразків з початковою

The next stage of our research was to measure the field characteristics and seed yield after different treatments.

In the first decade of June, the beetroot seeds were wide-row sown (row spacing 45 cm) with a sowing rate of 10 kg/ha, 4 cm hilling depth. Immediately after sowing, to protect seedlings from annual grass and dicotyledonous weeds, the area was treated with the soil herbicide 'Avangard' (Khimagromarketing, Ukraine) in an amount of 1.8–2.2 l/h. Since the seeds were grown under drip irrigation, the soil moisture was maintained at 75–80% within the period from germination to root crop formation and the lowest moisture content of 65–70% was within the root crop formation and growth. Harvesting was carried out in the first decade of October. The number and width of leaves, top length, petiole diameter, length and diameter of the roots, total crop yield were measured, and biochemical parameters of roots were studied [5].

The obtained results were statistically processed using the 'Past: Paleontological Statistics, ver. 3.01' software package (University of Oslo, Norway). The mean and standard deviation ( $M \pm \sigma$ ) were determined. The significant difference between indices was assessed by Tukey's test. The difference between the samples was considered significant at  $p \leq 0.05$ .

Experiments were performed in five repeats to interpret the impact of ozonation, freezing down to liquid nitrogen temperature, and their combined effect. The number of measurements for the studied indices was from 5 to 7 to detect the germination energy and germination rate, from 4 to 6 to calculate  $T_{50}$ , MGT, GI, and from 15 to 20 for length and seedling mass assessment.

### Results and discussion

The results of finding the efficient ozonation protocol for seeds with different moisture levels are shown in Table 1. These data displayed an increase in moisture from 11 to 23 and 65% to result in a decrease in germination energy and germination rate.

Three ozonation modes were applied in this study. The OAM seed treatment with 0.5 mg/l ozone concentration was shown not to change the germination energy of the samples with initial moisture content and that of 23%, but reduced their germination rate. The mentioned indices were significantly increased in the samples moistened up to 65% (Table 1).

The OAM exposure with 1.0 mg/l ozone concentration caused no change in the studied in-



**Таблиця 1.** Вплив озонування і зволоження на енергію проростання та схожість насіння буряка сорту Дій  
**Table 1.** Impact of ozonation and moistening on germination energy and germination rate in Dii cultivar beetroot seeds

Концентрація озону в ОПС, мг/л Ozone concentration in OAM, mg/l	Енергія проростання, % Germination energy, %	Схожість, % Germination rate, %
Вологість 11% 11% moisture		
Контроль Control	55,3 ± 6,8	78,0 ± 1,7
0,5	56,0 ± 8,5	63,3 ± 7,2*#
1	55,3 ± 5,6	75,0 ± 4,4
3,5	29,0 ± 8,2*#	35,3 ± 8,3*#
Вологість 23% 23% moisture		
Неозоноване насіння Non-ozonated seeds	32,0 ± 9,9#	46,0 ± 2,8#
0,5	31,0 ± 7,5#	36,7 ± 4,7#
1	39,0 ± 7,9#	44,3 ± 9,7#
3,5	22,0 ± 3,5*#	40,7 ± 5,7#
Вологість 65% 65% moisture		
Неозоноване насіння Non-ozonated seeds	16,3 ± 10,1#	42,0 ± 10,5#
0,5	36,0 ± 8,0*#	58,0 ± 4,4*#
1	20,7 ± 2,5#	25,3 ± 1,2*#
3,5	17,0 ± 3,5#	26,7 ± 8,5*#

**Примітки:** \* — різниця значуща по відношенню до насіння певної вологості без додаткових впливів; # — різниця значуща по відношенню до показників, отриманих для контрольного насіння;  $p \leq 0,05$ .

**Notes:** \* – difference is significant with respect to seeds of certain moisture with no additional exposures; # – difference is significant with respect to the indices obtained for control seeds;  $p \leq 0.05$ .

та 23%-ю вологістю, але зменшувала їхню схожість. Спостерігалось значуще підвищення зазначених показників у зразків, зволжених до 65% (табл. 1).

Експозиція ОПС із концентрацією озону 1,0 мг/л не змінювала досліджених показників у процесі пророщування насіння з вологістю 11 та 23%. У зволжених до 65% зразків даний режим озонування не впливав на величину енергії проростання та значуще зменшував показник схожості (табл. 1).

dices during seed germinating with 11 and 23% moistures. In the samples moistened up to 65%, this ozonation mode did not affect the germinating energy and significantly reduced the germination rate (Table 1).

The seed treatment with OAM of 3.5 mg/l ozone concentration was shown to significantly decrease the germination energy and germination rate for seeds with the initial moisture level, and not significantly change these indices for artificially moistened seeds.



**Таблиця 2.** Схожість та біометричні показники проростання насіння буряка сорту Дій після різних термінів озонування ОПС із концентрацією озону 1 мг/л  
**Table 2.** Germination rate and biometric indices of Dii cultivar beet seeds after different terms of OAM ozonation with 1 mg/l ozone concentration

Тривалість обробки, хв Treatment duration, min	ЕП, % Germination energy, %	Схожість, % Germination rate, %	Довжина, см Length, cm	Маса проростків, мг Seedling mass, mg	
				Сира Fresh	Суха Dry
Контроль Control	67,5 ± 12,0	70,8 ± 5,9	15,4 ± 2,1	46,2 ± 2,9	1,7 ± 0,09
5	63,2 ± 11,9	66,2 ± 9,0	15,5 ± 2,0	49,3 ± 4,0	1,7 ± 0,11
10	70,4 ± 3,4	72,8 ± 9,3	15,6 ± 1,5	41,9 ± 4,9	1,8 ± 0,12
20	70,4 ± 7,9	83,3 ± 4,5*	16,6 ± 2,2	49,2 ± 3,1	2,0 ± 0,1
30	49,3 ± 9,0	50,0 ± 7,3*	14,2 ± 2,4	43,1 ± 5,7	1,6 ± 0,2

**Примітка:** \* — різниця значуща по відношенню до контролю,  $p \leq 0,05$ .

**Note:** \* – difference is significant with respect to the control,  $p \leq 0.05$ .

Показано, що обробка насіння ОПС із концентрацією озону 3,5 мг/л значуще знижувала енергію проростання та схожість насіння з початковим рівнем вологості та значуще не змінювала ці показники для штучно зволоженого насіння.

Отримані результати свідчать про те, що під час озонування насіння з високим рівнем початкової вологості слід застосовувати менші концентрації озону в ОПС.

У табл. 2 наведено результати схожості та біометричні дані проростків, отриманих із озонованого протягом різного часу насіння, яке мало вологість 11%. Показано, що обробка зразків протягом 30 хв значуще знижувала енергію проростання та схожість, спостерігалася тенденція до зменшення довжини та маси проростків. Інші терміни обробки значуще не змінювали показники енергії проростання, довжину та масу проростків. Оскільки схожість насіння значуще підвищувалася після 20-хвилинної обробки ОПС, наступні дослідження ми проводили саме з цим терміном експозиції.

У табл. 3 наведено дані пророщування насіння після впливу озонування, заморожування до температури рідкого азоту та їхнього сумісного впливу. Показано, що схожість, час проростання половини від кількості отриманих проростків ( $T_{50}$ ), середній час проростання (MGT), індекс

These findings testify to the fact that when ozonating seeds with a high level of initial moisture, lower ozone concentrations in OAM should be used.

Table 2 presents the results of germination rate and biometric data of seedlings obtained from the seeds ozonated for different times, which had 11% moisture content. A 30-min treatment of the samples was shown to significantly reduce the germination energy and germination rate, and a tendency to seedling length and weight decrease was observed. Other terms of treatment did not significantly modify the germination energy, length and weight of seedlings. Since the germination rate of seeds was significantly increased after 20-min treatment with OAM, the very this exposure time we used for our following studies.

Table 3 presents the data on seed germination after exposure to ozonation, freezing down to liquid nitrogen temperature, and their combined effect. Germination rate,  $T_{50}$ , MGT, GI, length and dry weight of seedlings were shown as not significantly modified after the impact of studied factors.

The next step of our research was to study the crop yield of beetroot seeds after exposure to the mentioned above physical factors. The number and width of leaves, haulm length, petiole diameter, length and diameter of root crops and the total crop yield were assessed (Table 4). The seed freezing



**Таблиця 3.** Показники схожості, динаміки проростання та біометричні дані проростків насіння буряка сорту Дій після озонування, заморожування до температури рідкого азоту та їхньої сумісної дії

**Table 3.** Indices of germination rate, germination dynamics and biometric data of seedlings of Dii beetroot seeds after ozonation, freezing down to liquid nitrogen temperature and their combined effect

Варіант впливу Exposure type	Схожість, % Germination rate, %	$T_{50}$ , доби $T_{50}$ , days	MGT, доби MGT, days	GI	Довжина проростків, см Seedling length, cm	Суха маса проростків, мг Dry mass of seedlings, mg
Контроль Control	68,4 ± 6,0	3,06 ± 0,34	4,58 ± 0,1	8,82 ± 1,57	15,7 ± 2,2	1,8 ± 0,1
ОПС OAM	76,6 ± 9,6	2,87 ± 0,15	4,57 ± 0,01	8,68 ± 0,62	16,2 ± 1,0	1,9 ± 0,3
LN	72,8 ± 11,1	3,01 ± 0,28	4,65 ± 0,15	7,43 ± 1,58	15,4 ± 2,1	1,7 ± 0,1
ОПС-LN OAM-LN	64,3 ± 8,5	2,97 ± 0,23	4,68 ± 0,05	7,90 ± 1,33	16,1 ± 2,2	2,0 ± 0,1

**Примітка:** \* — різниця значуща по відношенню до контролю,  $p \leq 0,05$ , LN — обробка рідким азотом.

**Note:** \* – difference is significant with respect to the control,  $p \leq 0.05$ , LN – liquid nitrogen exposure.

проростання (GI), довжина та суха маса проростків значуще не змінювалися після дії досліджуваних факторів.

Наступним етапом нашої роботи було визначення врожайності насіння буряка після обробки вищезазначеними фізичними чинниками. Визначали кількість та ширину листків, довжину гички, діаметр черешка, довжину і діаметр коренеплодів та загальну врожайність (табл. 4). Показано, що заморожування насіння до температури рідкого азоту значуще підвищувало його врожайність, а результати, отримані для інших біометричних показників, не відрізнялися від контрольних.

У літературі наводяться дані, що передпосівна обробка ОПС насіння зернових і круп'яних культур (яра пшениця, гречка, кукурудза) не тільки пригнічувала розвиток бактеріологічних та вірусних інфекцій, але й підвищувала показники схожості та урожайності тощо [6, 7, 12, 13, 19, 24]. Аналіз умов обробки насіння ОПС показав, що можна використовувати широкий діапазон концентрації озону (від 0,1–1,0 до 10–30 мг/л, навіть до 120 мг/л) та час обробки від кількох хвилин до кількох годин [7, 24]. Добре реагує на озонування в достатньо широкому спектрі умов обробки така культура, як кукурудза. Найкращу стимуляцію фізіологічних показників її проростків спостерігали після озонування при концентрації озону 5–10 мг/л та часі обробки —

down to liquid nitrogen temperature was shown to significantly increase its yield, and the results obtained for other biometric indices did not differ from the control ones.

The pre-sowing OAM treatment for grain and cereal seeds (spring wheat, buckwheat, corn) was reported as not only inhibiting the development of bacterial and viral infections, but increasing the germination rate and crop yield, *etc.* as well [4, 6, 12, 19, 22, 24]. Analysis of conditions for seed OAM treatment showed a wide range of ozone concentration (from 0.1–1.0 to 10–30 mg/l, even up to 120 mg/l) and a treatment time from several minutes to several hours to be suitable for use [19, 24]. Such a crop as maize responds well to ozonation within quite a wide range of treatment conditions. The highest stimulation of physiological indices of its seedlings was observed after ozonation with 5–10 mg/l ozone concentration and treatment time of up to 30 min. It was also noted that a significant increase in germination rate (1.6–1.8 times) was specific to the samples with low initial germination rate (54%) than for seeds with high one (86%) [19]. Under these conditions, the treatment of wheat seeds was reported to inhibit its germination. For this culture, the OAM treatment with 0.1–5 mg/l ozone concentration was optimal [24].

We showed the sowing and yielding qualities of beetroot to remain unimproved after OAM





**Таблиця 4.** Вплив озонування, заморожування та їхньої сумісної дії на врожайність і біометричні показники насіння буряка сорту Дій у польових умовах

**Table 4.** Impact of ozonation, freezing, and their combined effect on crop yield and biometric indices of Dii beetroot seeds under field conditions

Варіант впливу Exposure type	Кількість листків, шт Number of leaves, pcs	Ширина листків, см Width of leaves, cm	Довжина гички, см Haulm length, cm	Діаметр черешка, см Petiole diameter, cm	Довжина коренеплоду, см Root length, cm	Діаметр коренеплоду, см Root diameter, cm	Врожайність, кг/м <sup>2</sup> Crop yield, kg/m <sup>2</sup>
Контроль Control	17,8 ± 2,7	12,25 ± 1,9	43,4 ± 5,2	1,3 ± 0,12	7,4 ± 1,39	8,4 ± 1,43	9,75 ± 0,14
ОПС OAM	20,1 ± 5,7	12,2 ± 1,9	46,35 ± 4,4	1,24 ± 0,16	8,4 ± 1,47	8,4 ± 1,02	9,92 ± 0,13
LN	20,4 ± 5,5	11,95 ± 1,3	43,1 ± 5,3	1,39 ± 0,23	7,2 ± 0,92	7,9 ± 1,41	11,45 ± 0,16*
ОПС-LN OAM-LN	19 ± 5,4	12,1 ± 1,4	42,5 ± 8,8	1,13 ± 0,17	7,4 ± 1,26	8,0 ± 1,08	9,47 ± 0,135

**Примітка:** \* — різниця по відношенню до контролю,  $p \leq 0,05$ , LN — обробка рідким азотом.

**Note:** \* – difference is significant with respect to the control,  $p \leq 0.05$ , LN – liquid nitrogen exposure.

до 30 хв. Також відмічено, що суттєве підвищення схожості (в 1,6–1,8 раза) характерне для зразків з низькою початковою схожістю (54%), ніж для насіння з високою початковою схожістю (86%) [24]. Показано, що після обробки насіння пшениці за таких умов його проростання пригнічувалося. Для цієї культури оптимальною була обробка ОПС із концентрацією озону 0,1–5 мг/л [7].

Нами було показано, що у буряка столового посівні та урожайні якості після обробки ОПС не покращувалися. У переважній більшості досліджених варіантів ці показники не відрізнялись від контрольних.

Різними дослідниками було показано, що заморожування насіння до температури рідкого азоту не погіршувало його посівної та урожайної якості, а в деяких випадках навіть покращувало їх [9–11, 14, 18, 25].

Нами показано, що тільки заморожування насіння буряка підвищувало його урожайність. Обробка зразків ОПС та сумісна дія озонування і заморожування не викликала жодних змін показників лабораторної схожості та урожайності. Можливо це обумовлено якістю насіння та погодними умовами, які склалися у році його формування. У експериментальних зразках буряків ми не спостерігали великої кількості проростків, заражених коренеїдом під час вирощування у лабораторних умовах, а передпосівна

тreatment. In most studied variants, these indices did not differ from the control ones.

Some researchers demonstrated the seed freezing down to liquid nitrogen temperature not to impair its sowing and yielding qualities, but in some cases it even improved them [1–3, 7, 11, 20].

Only the freezing of beetroot seeds was shown to increase its yield. The sample treatment with OAM and a combined effect of ozonation and freezing caused no changes in laboratory germination rate and crop yield. This is likely due to the seed quality and weather conditions, which prevailed in the year of its formation. In experimental samples of beetroots, no big amount of seedlings infected with rootworm during cultivation under laboratory conditions was observed, and a pre-sowing ozone effect was partially related to reduce microbiological and fungal load on seeds [12].

Results of study of biochemical indices in root crops obtained from the treated seeds are presented in Table 5.

Betanine content is one of the important biochemical indices of beet root composition. According to its chemical structure, this pigment belongs to glycosides, it has a general stimulating effect, increases immunity, strengthens capillary walls, and lowers blood pressure. The content of total sugars is the index of market condition [14]. These findings showed the studied ways of pre-sowing



дія озону частково пов'язана зі зменшенням мікробіологічного та грибкового навантаження на насіння [19].

Результати біохімічного дослідження коренеплодів, отриманих з обробленого насіння, подано в табл. 5.

Одним із важливих біохімічних показників складу коренеплодів буряка столового є вміст бетаніну. За хімічною структурою пігмент відноситься до глікозидів, має загальностимулюючу дію, підвищує імунітет, сприяє укріпленню стінок капілярів, знижує артеріальний тиск. Показником товарної якості — вміст загальних цукрів [5]. Результати експериментів показали, що досліджені способи передпосівної обробки зменшували концентрацію загальних цукрів та бетаніну (табл. 5).

Показник харчової безпечності коренеплодів та листової продукції — вміст нітратів. Він корелює з ростом рослин і забезпеченістю азотом, однак висока концентрація нітратів є потенційно небезпечною для здоров'я людини і тварин. Доведено, що у коренеплодах буряка сорту Дій, які були вирощені з насіння після заморожування та сумісної дії зазначених фізичних чинників, значуще підвищувалася концентрація нітратів, проте вона не перевищувала максимально допустимої норми [5]. Передпосівна обробка змінювала кількість сухої речовини, а саме: озонування та заморожування насіння

treatment to reduce the concentration of total sugars and betanine (Table 5).

Nitrate content testifies to the food safety of root crops and leaf products. It correlates with plant growth and nitrogen availability, but a high nitrate concentration is potentially dangerous for human and animal health. The beet root crops of Dii cultivar, grown from the seeds exposed to freezing and a combined effect of specified physical factors showed the significantly increased nitrate concentration, but it did not exceed the maximum allowable norm [14]. Pre-sowing treatment modified the amount of dry matter, *i. e.* the seed ozonation and freezing reduced this index, but their combined effect augmented it. After a combined exposure to ozonation and freezing, a decrease in vitamin C concentration was observed (Table 5).

Both ozonation and cryopreservation are known to enhance the oxidative stress level at the early stages of seed development [16, 18]. The cryopreservation of sorghum, common bean, tomato, tobacco, maize and *Teramnus labialis* seeds was demonstrated to induce some morphological, physiological and biochemical changes, that gradually disappeared during plant growth [26]. There are no reported data on studying the state of pro-oxidant system of plants at the late ontogenesis stages. Bearing in mind the fact that betanine and ascorbic acid are referred to the substances with

**Таблиця 5.** Біохімічні показники коренеплодів буряка Дій, отриманих із озонованого, замороженого до температури рідкого азоту насіння, а також після їх комбінованого впливу  
**Table 5.** Biochemical indices of Dii beet root crops obtained from the seeds, exposed to ozonation, freezing down to liquid nitrogen temperature, and after their combined action

Варіант впливу Exposure option	Загальні цукри, % Total sugars, %	Нітрати, мг/кг Nitrates, mg/kg	Вітамін С, мг/100г Vitamin C, mg/100g	Суша речовина, % Dry matter, %	Бетанін, мг/100г Betanine, mg/100g
Контроль Control	12,66 ± 0,41	648 ± 5,2	12,95 ± 0,72	16,54 ± 0,40	451,5 ± 9,5
ОПС ОАМ	10,70 ± 0,35*	647 ± 6,5	12,25 ± 0,80	14,36 ± 0,35*	208,0 ± 2,7*
LN	9,94 ± 0,30*	943 ± 9,3*	11,7 ± 0,58	14,00 ± 0,33*	216,0 ± 5,7*
ОПС-LN ОАМ-LN	11,36 ± 0,38*	870 ± 6,9*	10,38 ± 0,63*	17,82 ± 0,43*	232,0 ± 7,1*

**Примітка:** \* — різниця значуща по відношенню до контролю,  $p \leq 0,05$ , LN — обробка рідким азотом.

**Note:** \* – difference is significant with respect to the control,  $p \leq 0.05$ , LN – liquid nitrogen exposure.



зменшували цей показник, а сумісна їхня дія — підвищувала. Після сумісного впливу озонування та заморожування спостерігалось зменшення концентрації вітаміну С (табл. 5).

Відомо, що як озонування, так і кріоконсервування підвищують рівень оксидативного стресу на ранніх етапах розвитку насіння [21, 23]. Також було показано, що кріоконсервування насіння сорго, квасолі звичайної, томатів, тютюну, кукурудзи та терамнуса губчатого викликало деякі морфологічні, фізіологічні та біохімічні зміни, які поступово зникали під час зростання рослин [27]. У джерелах літератури відсутні дані щодо вивчення стану прооксидантної системи рослин на пізніх етапах онтогенезу. Беручи до уваги те, що бетанін та аскорбінова кислота відносяться до речовин, які мають антиоксидантну властивість, зниження їхнього вмісту, можливо, пов'язане з дією досліджених факторів.

Таким чином, у коренеплодах буряка столового після усіх варіантів передпосівної обробки зменшувався вміст загальних цукрів та бетаніну. Кількість сухої речовини після заморожування та озонування насіння зменшувалася, а після поєднаного впливу — підвищувалася. Озонування та подальше заморожування насіння призводили до зниження вмісту аскорбінової кислоти. Заморожування та поєднаний вплив досліджених факторів на насіння підвищували вміст нітратів у коренеплодах.

Важливо зазначити, що значуще зменшення концентрації деяких біохімічних показників не досягало мінімальних значень, характерних для цієї культури, а підвищення концентрації нітратів не перевищувало максимально допустимої норми [3].

### Висновки

Отримані результати свідчать про те, що у разі озонування насіння, яке має велику початкову вологість, слід застосовувати менші концентрації озону в ОПС. Схожість, час проростання половини кількості отриманих проростків, середній час проростання, індекс проростання, довжина та суха маса проростків значуще не змінюються після дії досліджених факторів.

Озонування, заморожування до температури рідкого азоту та їхня сумісна дія не змінюють кількість та ширину листків, довжину гички, діаметр черешка, довжину та діаметр коренеплодів. Встановлено значуще підвищення врожайності столового буряка після заморожування насіння.

Біохімічний аналіз коренеплодів показав, що усі варіанти передпосівної обробки насіння знижують вміст загальних цукрів і бетаніну.

antioxidant properties, a decrease in their content may be due to the effect of the studied factors.

Thus, the content of total sugars and betanine was decreased in beet root crops after all the studied ways of pre-sowing treatment. The amount of dry matter after seed freezing and ozonation was reduced, but after combined effect it increased. The seed ozonation and subsequent freezing resulted in a diminution of ascorbic acid content. Freezing and a combined effect of the studied factors on the seeds enhanced the nitrate content in root crops.

Notably, that a significant decrease in concentration of some biochemical indices did not reach the minimum values specific to this culture, and a rise of nitrate concentration did not exceed the maximum permissible norm [27].

### Conclusions

Our findings testify to the fact, that when ozonating seeds with high initial moisture, lower ozone concentrations within the OAM should be used. Germination rate, germination time of half the number of seedlings obtained, mean germination time, germination index, length and dry weight of seedlings were not significantly modified after exposure to the studied factors.

Ozonation, freezing down to liquid nitrogen temperature and their combined effect did not alter the number and width of leaves, haulm length, petiole diameter, length and diameter of the roots. A significant increase in the beetroot yield after seed freezing was established.

Biochemical analysis of root crops showed all the variants of pre-sowing seed treatment to reduce the content of total sugars and betanine. The seed ozonation and freezing lowered the amount of dry matter, but their combined effect enhanced it. Freezing and a combined effect of the studied factors increased the nitrate content in root crops. Vitamin C content was decreased in root crops obtained from the OAM-treated seeds followed by freezing.

### References

1. Arguedas M, Pérez A, Abdelnour A et al. Short-term liquid nitrogen storage of maize, common bean and soybean seeds modifies their biochemical composition. *Agric Sci.* 2016; 4(3): 6–12.
2. Arguedas M, Villalobos A, Gómez D et al. Field performance of cryopreserved seed-derived maize plants. *CryoLetters.* 2018; 39(6): 366–70.
3. Ballesteros D, Pence VC. Survival and death of seeds during liquid nitrogen storage: a case study on seeds with short lifespans. *CryoLetters.* 2017; 38(4): 278–89.



Озонування та заморожування насіння зменшує кількість сухої речовини, а сумісна їхня дія — підвищує. Заморожування та сумісна дія досліджених чинників підвищують вміст нітратів у коренеплодах. Вміст вітаміну С зменшується у коренеплодах, отриманих із насіння, обробленого ОПС з подальшим заморожуванням.

## Література

1. Бондаренко ГЛ, Яковенко КІ. Методика дослідної справи в овочівництві і баштанництві. Харків: Основа; 2001. 370 с.
2. Вдовенко СА. Вирощування буряка столового за різних технологій в умовах Правобережного Лісостепу України. Овочівництво і баштанництво. 2019; (65): 23–31.
3. Вітанов ОД, Могильна ОМ, Романов ОВ. Енергоефективна технологія вирощування насіння буряка столового. Вінниця: «Нілан»; 2020. 275 с.
4. Молдован ВГ, Сучек ММ, Дерев'янський ВП. Вплив обробки насіння та посівів на продуктивність сортів соризу. Корми і кормовиробництво. 2012; 73: 156–65.
5. М'ялковський РО, Безвіконний ПВ. Біохімічні показники коренеплодів буряка столового за використання мікродобрив. Корми і кормовиробництво. 2015, 81: 151–6.
6. Сучек ММ. Екологічно безпечні елементи технології вирощування гречки в умовах Поділля. Агроекологічний журнал. 2017; (1): 68–72.
7. Тимошенко ОП. Особливості розвитку рослин пшениці ярої за передпосівної обробки насіння озono-повітряною сумішшю. Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків. 2013; 17 (1): 461–5.
8. Цуркан ОВ, Присяжнюк ДВ. Математична модель розповсюдження озону у шарі зерна при його сушінні із використанням віброозонуючого комплексу. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: техніка та енергетика АПК. 2018; 298: 55–8.
9. Arguedas M, Pérez A, Abdelnour A, et al. Short-term liquid nitrogen storage of maize, common bean and soybean seeds modifies their biochemical composition. *Agric Sci*. 2016; 4(3): 6–12.
10. Arguedas M, Villalobos A, Gómez D, et al. Field performance of cryopreserved seed-derived maize plants. *CryoLetters*. 2018, 39(6): 366–70.
11. Ballesteros D, Pence VC. Survival and death of sees during liquid nitrogen storage: a case study on seeds with short lifespans. *CryoLetters*. 2017; 38(4): 278–89.
12. Baskakov IV, Orobinsky VI, Gulevsky VA, et al. Influence of ozonation in seed storage on corn grain yield and its quality. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*. 2020; 488(1): 012007.
13. Bourgin M, Albet J, Violleau F. Study of the degradation of pesticides on loaded seeds by ozonation. *J Environ Chem Eng*. 2013, 1(4): 1004–12.
14. Cejas I, Vives K, Laudat T, et al. Effects of cryopreservation of *Phaseolus vulgaris* L. seeds on early stages of germination. *Plant Cell Rep*. 2012; 31: 2065–73.
15. Coelho N, Gonçalves S, Romano A. Endemic plant species conservation: Biotechnological approaches. *Plants* [Internet]. 2020 Mar 9 [Cited 15.06.2022]; 9(3): 345. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/3/345/htm>
16. Coolbear P, Francis A, Grierson D. The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance
4. Baskakov IV, Orobinsky VI, Gulevsky VA, et al. Influence of ozonation in seed storage on corn grain yield and its quality. *IOP Conf. Ser: Earth Environ. Sci*. 2020; 488(1): 012007.
5. Bondarenko HL, Yakovenko KI. [Methods of research in vegetable and melon growing]. Kharkiv: Osnova, 2001. 369 p. Ukrainian.
6. Bourgin M, Albet J, Violleau F. Study of the degradation of pesticides on loaded seeds by ozonation. *J Environ Chem Eng*. 2013; 1(4): 1004–12.
7. Cejas I, Vives K, Laudat T et al. Effects of cryopreservation of *Phaseolus vulgaris* L. seeds on early stages of germination. *Plant Cell Rep*. 2012; 31: 2065–73.
8. Coelho N, Gonçalves S, Romano A. Endemic plant species conservation: Biotechnological approaches. *Plants* [Internet]. 2020 Mar 9 [Cited 15.06.2022]; 9(3): 345. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/3/345/htm>
9. Coolbear P, Francis A, Grierson D. The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance and membrane integrity of artificially aged tomato seeds. *J Exp Bot*. 1984; 35: 1609–17.
10. Ellis RA, Roberts EH. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci Technol*. 1981; 9: 373–409.
11. Faria AD, Luz PBD, Sobrino SDP, et al. Efficacy of passion fruit cryopreservation using cryoprotectant agents. *Int J Fruit Sci*. 2020; 20 (Supl. 2): 627–35.
12. Granella SJ, Christ D, Werncke I, et al. Effect of drying and ozonation process on naturally contaminated wheat seeds. *J Cereal Sci*. 2018; 80: 205–11.
13. Matsumoto T. Cryopreservation of plant genetic resources: Conventional and new methods. *Rev Agric Sci*. 2017; 5: 13–20.
14. Mialkovsky RA, Bezikonny PV. [Biochemical indices of beet roots when applying microfertilizers]. *Kormy i kormovyrobnytstvo*. 2015; 81: 151–6. Ukrainian.
15. Moldovan VG, Suchek MM, Derevyansky VP. [Influence of seed and plant treatment on crop productivity of soriz varieties]. *Kormy i kormovyrobnytstvo*. 2012; 73: 156–65. Ukrainian.
16. Pandiselvam R, Mayookha VP, Kothakota A, et al. Impact of ozone treatment on seed germination — a systematic review. *Ozone Sci Eng*. 2020; 42(4): 331–46.
17. Pandita D, Pandita A, Pamuru RR, Nayik GA. Beetroot. In: Nayik GA, Gull A, editors. *Antioxidants in vegetables and nuts — properties and health benefits*. Singapore: Springer; 2020. P. 45–74.
18. Roque-Borda CA, Kulus D, Vacaro de Souza A, et al. Cryopreservation of agronomic plant germplasm using vitrification-based methods: an overview of selected case studies. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 June 7 [Cited 25.07.2022]; 22(11): 6157. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/11/6157/htm>
19. Rosa CC, de Alencar ER, Souza NOS, et al. Physiological quality of corn seeds treated with gaseous ozone. *Ozone Sci Eng*. 2022; 44(1): 117–26.
20. Shevchenko N, Lialiuk O, Stribul T, Ivchenko T. Influence of seed priming techniques on seedling establishment and yield of asparagus hybrids. *Biol Life Sci Forum* [Internet]. 2021 Dec 1 [Cited 06.06.2022]; 4: 31. Available from: <https://www.mdpi.com/2673-9976/4/1/31/htm>
21. Silva LJD, Medeiros ADD, Oliveira AMS. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. *J Seed Sci*. 2019; 41(2): 250–7.
22. Suchek MM. [Ecologically safe elements of buckwheat growing technology in Podillya conditions.] *Ahroekologichnyi zhurnal*. 2017; (1): 68–72. Ukrainian.
23. Tsurkan OV, Prysyzhnyuk DV. [Mathematical model of ozone distribution in grain layer during its drying using vibo-ozonating complex.] *Scientific Bulletin of NULES of Ukraine. Series: Technology and power engineering in agriculture*. 2018; 298: 55–8. Ukrainian.
24. Tymoshenko E. [The features of growth of spring wheat plants after pre-sowing seed treatment with ozone-air





- and membrane integrity of artificially aged tomato seeds. *J Exp Bot.* 1984; 35: 1609–17.
17. Ellis RA, Roberts EH. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci Technol.* 1981; 9: 373–409.
  18. Faria AD, Luz PBD, Sobrino SDP, et al. Efficacy of passion fruit cryopreservation using cryoprotectant agents. *Int J Fruit Sci.* 2020; 20(Supl. 2): 627–35.
  19. Granella SJ, Christ D, Werncke I, et al. Effect of drying and ozonation process on naturally contaminated wheat seeds. *J Cereal Sci.* 2018; 80: 205–11.
  20. Matsumoto T. Cryopreservation of plant genetic resources: Conventional and new methods. *Rev Agric Sci.* 2017; 5: 13–20.
  21. Pandiselvam R, Mayookha VP, Kothakota A, et al. Impact of ozone treatment on seed germination — a systematic review. *Ozone Sci Eng.* 2020; 42(4): 331–46.
  22. Pandita D, Pandita A, Pamuru RR, Nayik GA. Beetroot. In: Nayik GA, Gull A, editors. *Antioxidants in vegetables and nuts — properties and health benefits.* Singapore, Springer; 2020. p. 45–74.
  23. Roque-Borda CA, Kulus D, Vacaro de Souza A, et al. Cryopreservation of agronomic plant germplasm using vitrification-based methods: an overview of selected case studies. *Int J Mol Sci [Internet].* 2021 June 7 [Cited 25.07.2022]; 22(11): 6157. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/11/6157/htm>
  24. Rosa CC, de Alencar ER., Souza NOS, et al. Physiological quality of corn seeds treated with gaseous ozone. *Ozone Sci Eng.* 2022; 44(1): 117–26.
  25. Shevchenko N, Lialiuk O, Stribul T, Ivchenko T. Influence of seed priming techniques on seedling establishment and yield of asparagus hybrids. *Biol Life Sci Forum [Internet].* 2021 Dec 1 [Cited 06.06.2022]; 4: 31. Available from: <https://www.mdpi.com/2673-9976/4/1/31/htm>
  26. Silva LJD, Medeiros ADD, Oliveira AMS. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. *J Seed Sci.* 2019; 41(2): 250–7.
  27. Villalobos A, Arguedas M, Escalante D, et al. Cryopreservation of sorghum seeds modifies germination and seedling growth but not field performance of adult plants. *Artic J Appl Bot Food Qual.* 2019; 92: 94–9.
  28. Walker-Simmons M. Enhancement of ABA responsiveness in wheat embryos by high temperature. *Plant Cell Environ.* 1988; 11: 769–75.
  29. mixture]. *Naukovi pratsi Instytutu Bioenerhetychnykh kultur ta tsukrovykh burakiv.* 2013; 17 (1): 461–5. Ukrainian.
  25. Vdovenko SA. [Cultivation of garden beet using different techniques under conditions of the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine]. *Ovochivnytstvo i bashtannytstvo.* 2019; 65: 23-31. Ukrainian.
  26. Villalobos A, Arguedas M, Escalante D, et al. Cryopreservation of sorghum seeds modifies germination and seedling growth but not field performance of adult plants. *Artic J Appl Bot Food Qual.* 2019; 92: 94–9. doi: 10.5073/JABFQ.2019.092.013
  27. Vitanov OD, Mohylina OM, Romanov OV. [Energy-efficient technology of growing table beet seeds]. *Vynnytsia: Nilan;* 2020. 275 p. Ukrainian.
  28. Walker-Simmons M. Enhancement of ABA responsiveness in wheat embryos by high temperature. *Plant Celt Environ.* 1988, 11: 769–75.

