

УДК 630\*232.318: 57.087.3

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПУСТЫХ И ВЫПОЛНЕННЫХ СЕМЯН ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ МЕТОДАМИ МЯГКОЛУЧЕВОЙ РЕНТГЕНОГРАФИИ И ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

М. В. Архипов<sup>1</sup>, Н. С. Прияткин<sup>2</sup>, Л. П. Великанов<sup>1</sup>, А. С. Бондаренко<sup>3</sup>,  
А. В. Жигунов<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГНУ Агрофизический научно-исследовательский институт Россельхозакадемии  
Гражданский пр-т, 14, Санкт-Петербург, 195220

E-mail: arhipov@spb.lanck.net

<sup>2</sup> ООО «БиоЛайн», 36 Лит. А, Петроградская наб., Санкт-Петербург, 197101

<sup>3</sup> ФБУ Санкт-Петербургский НИИ лесного хозяйства,  
21, Институтский пр-т, Санкт-Петербург, 194021

Поступила в редакцию 30 января 2013 г., принята к печати 19 февраля 2013 г.

Выполнено сравнительное исследование качества семян ели европейской (*Picea abies* L.) методами мягколучевой рентгенографии и газоразрядной визуализации. Установлено, что при исследовании методом газоразрядной визуализации пустые семена не обнаружили газоразрядного свечения в отличие от полнозерных. При исследовании методом мягколучевой рентгенографии пустые семена характеризовались меньшим уровнем яркости по сравнению с полнозерными. Полученные результаты свидетельствуют о том, что методы микрофокусной рентгенографии и газоразрядной визуализации могут служить инструментом для идентификации пустых и выполненных семян ели европейской.

**Ключевые слова:** мягколучевая рентгенография, газоразрядная визуализация, семена, ель европейская, *Picea abies* L.

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в процессе роста и развития семена подвергаются воздействию различных факторов природного и техногенного характера. В результате таких воздействий конечный продукт – посевной материал – может содержать дефекты и аномалии различного типа. Традиционные методы оценки подобного рода дефектов весьма трудоемки и требуют специального анализа по каждому виду дефектов. Особые затруднения при проведении такого анализа возникают при необходимости регистрировать не только внешние, но и внутренние повреждения структуры семени, зачастую даже косвенно не обнаруживаемые на его поверхности (Архипов, Потрахов, 2008). В таких случаях большое значение приобретают широко используемые в медицине интроскопические методы неразрушающего контроля биообъектов.

Одним из наиболее перспективных методов регистрации скрытых дефектов в семенном материале является метод мягколучевой рентгенографии, позволяющий, не

разрушая семени, визуализировать все его внутренние формообразующие структуры и, следовательно, их плотностные, объемные и линейные аномалии. Рентгенографический анализ как эффективный метод контроля качества семян, позволяя получить принципиально новую информацию об их внутренних свойствах и являясь неразрушающим, обеспечивает в совокупности с другими методами (морфофизиологическим, биохимическим, люминесцентным и др.) более высокий уровень экспертной оценки качества семян.

В дополнение к существующим интроскопическим методам неразрушающего контроля биообъектов, исследование характеристик газоразрядного свечения семян растений – одно из интереснейших направлений применения метода газоразрядной визуализации.

Первые эксперименты были проведены в 70-х годах в Алма-Ате в лаборатории профессора В. М. Инюшина (Инюшин и др., 1968). Исследования 6-ти дневной динамики свечения зерен пшеницы выявили, что свечение пророщенного зерна сначала резко

увеличилось по сравнению со свечением сухого, а в последующие дни уровень свечения снижался. На шестой день свечение вновь увеличивалось, хотя и не достигало уровня, установленного в 1-й день (Коротков, 1995).

О. А. Буадзе с соавторами (1989) исследовали влияние гербицида 2,4-Д на физиологическое состояние 7-дневных проростков кукурузы с последующим воздействием витамина В2 как защитного эффекта; при этом в качестве критерия оценки использовалась величина газоразрядного свечения растительного организма. Исследователи зафиксировали изменение характеристик газоразрядных изображений (ГРИ) проростков под воздействием гербицида, причем максимальный сдвиг параметра интенсивности ГРИ был зафиксирован в диапазоне волн от 350 до 450 нм. Значения характеристик ГРИ при воздействии витамина В2 после гербицида были близки к контролю.

Группа исследователей (Борисова и др., 2009) изучала влияние микроволновой обработки на семена рапса, ячменя и пшеницы с использованием метода газоразрядной визуализации. Качество посевного материала оценивалось согласно общепринятым методам, применяемым в семеноводстве и растениеводстве, а также по основным статическим характеристикам газоразрядного свечения (интенсивности свечения). В результате исследований было установлено, что интенсивность свечения при газоразрядной визуализации определенным образом связана с показателем всхожести.

Н. С. Прияткиным с соавторами (2006) изучались характеристики ГРИ, полученные у зерен пшеницы, не имеющих видимых признаков поражения – «внешне здоровые» (группа 1), имеющих слабую (группа 2) и сильную (группа 3) степень пораженности возбудителем фузариоза колоса *Fusarium spp.* Установлено, что «внешне здоровые» зерна характеризуются максимальным значением параметров ГРИ: распределением яркости, коэффициентом формы и трехмерной фрактальностью по сравнению с инфицированными зерновками. ГРИ «внешне здоровых» зерновок отличаются большей изрезанностью контура и разнообразием

спектра яркости, чем ГРИ инфицированных зерновок.

Целью данного исследования было изучение возможности идентификации пустых и выполненных семян с помощью методов неразрушающего контроля. Задача исследования состояла в сравнительном анализе невсхожих и всхожих семян ели европейской (*Picea abies* L.) методами мягколучевой рентгенографии и газоразрядной визуализации.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были отобраны две пробы (№ 3, № 35) семян ели европейской *Picea abies* L., место сбора – спелые насаждения Ленинградской области естественного происхождения. Каждая проба содержала 96 семян. Для идентификации каждое семя помещалось в отдельную лунку 96-луночного планшета с индивидуальным номером.

Исследование пустых и выполненных семян осуществлялось в следующей последовательности: (1) исследование пустых и выполненных сухих семян методом газоразрядной визуализации; (2) исследование пустых и выполненных сухих семян методом мягколучевой рентгенографии; (3) определение всхожести семян по ГОСТ 13056.6-97 (Семена деревьев и кустарников. Метод определения всхожести). После проведения анализа методами газоразрядной визуализации и мягколучевой рентгенографии исследуемые семена проращивались в течение 15 суток, при этом ежедневно проводилась оценка всхожести и измерения длины корешка.

Метод Газоразрядной визуализации (ГРВ) позволяет регистрировать и количественно оценивать свечение, возникающее вблизи поверхности объекта при помещении его в электромагнитное поле высокой напряженности. Принцип метода заключается в следующем (рис. 1): между исследуемым объектом 1 и диэлектрической пластиной 2, на которой размещается объект, подаются импульсы напряжения длительностью 10 мкс от генератора электромагнитного поля 5, для чего на обратную сторону пластины 2 нанесено прозрачное токопроводящее покрытие. При высокой напряженности поля в газовой среде пространства кон-

такта объекта 1 и пластины 2 развивается лавинный и/или скользящий разряд, параметры которого определяются свойствами объекта. Свечение разряда с помощью оптической системы 6-8 преобразуется в видеосигналы, которые записываются в виде одиночных кадров (ВМР-файлов), каждый из которых представляет собой пространственно распределенную группу участков свече-

ния различной яркости (рис. 2) в компьютере 9.

Процедура съемки осуществлялась в программе GDV Capture. Размер кадра 370×285 пикселей. Режим импульсного напряжения прибора 158 В. Схема устройства для съемки газоразрядного свечения семян представлена на рис. 2.

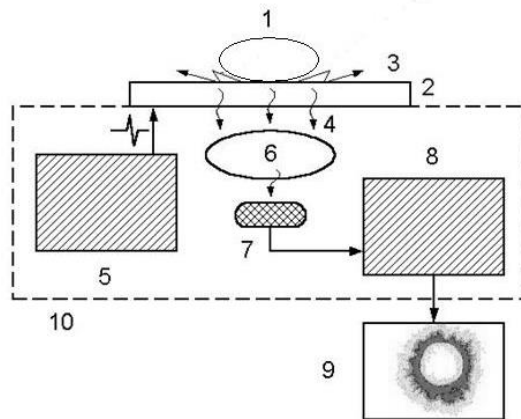


Рис. 1. Схематическое изображение прибора для исследования характеристик газоразрядного свечения: 1 – объект исследования (семя); 2 – прозрачный электрод; 3 – газовый разряд; 4 – оптическое излучение; 5 – генератор; 6 – оптическая система; 7, 8 – видеопреобразователь; 9 – компьютер; 10 – корпус.

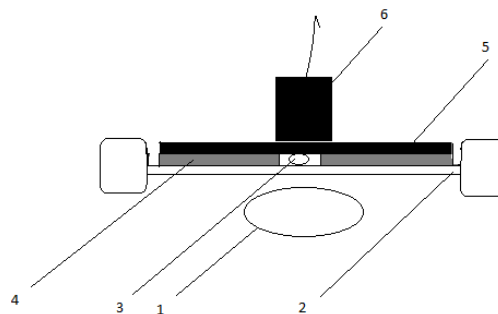


Рис. 2. Схема установки для измерения газоразрядного свечения семени: 1 – оптическая система (аналоговая камера); 2 – токопроводящий прозрачный электрод; 3 – семя; 4 – непрозрачная диэлектрическая пластина; 5 – заземляющий плоский электрод; 6 – металлический тест-объект.

Анализ изменений газоразрядных изображений (ГРИ) включал вычисление характеристик амплитудных, геометрических, яркостных, фрактальных и вероятностных параметров. Программная обработка осуществлялась в программе GDV Scientific Laboratory. Уровень фильтрации шума –

абсолютный, 30 относительных единиц. В программе производился расчет такого параметра газоразрядных изображений, как площадь свечения (пиксели). Газоразрядное изображение пустого и выполненного семени ели европейской представлено на рис. 3.

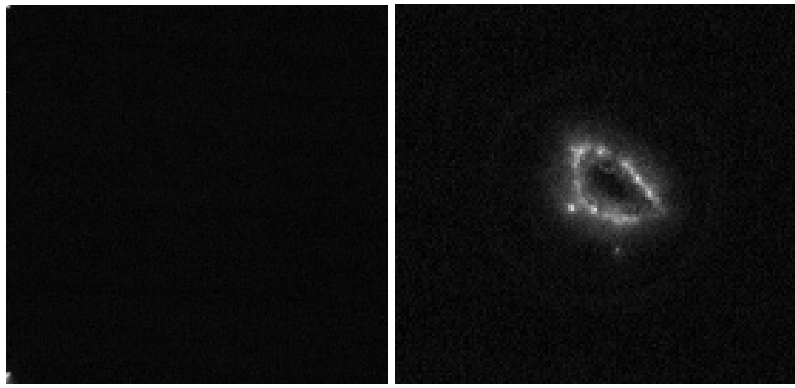


Рис. 3. Пример газоразрядного изображения (ГРИ) пустого (слева) – свечение отсутствует – и выполненного (справа) семени ели европейской.

Повторность газоразрядных изображений для каждого семени – пятикратная, при расчетах параметров газоразрядного свечения использовалось усредненное значение из 5 отдельных изображений.

Метод мягколучевой рентгенографии включает в себя следующие блоки: экспериментальный, программный, диагностический, технологический.

Экспериментальный блок включает подготовку семян для рентгенографии, рентген съемку семян и вывод рентгеновских снимков на экран монитора с предварительным визуальным просмотром, проращивание семян, анализ энергии прорастания, всхожести, морфометрических параметров у проросших семян и зараженности фитопатогенами. Программный блок включает разработку компьютерной программы анализа качества семян по их рентгенограммам, подготовку руководства по применению для пользователя и документации для государственной регистрации. Диагностический блок представляет собой непосредственно результаты автоматизированной диагностики в виде автоотчета со статистической поддержкой. Технологический блок включает разработку биолого-инженерных принципов создания лабораторного сепаратора по отбору качественных семян.

Семена, исследованные методом мягколучевой рентгенографии, оценивались по яркости в баллах: рентгенограммы более темного цвета (балл 1) и рентгенограммы более светлого цвета (балл 2).

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием методов непараметрической статистики путем срав-

нения двух выборок с помощью критерия Манна-Уитни в программе Statistica 6.0.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения анализа семена были разделены на группы: пустые семена («группа 0») и семена, проросшие в течение 5–9 суток («группа 1»). Время прорастания фиксировалось для каждого семени в отдельности.

В обеих пробах (№ 3 и № 35) пустые семена не обнаружили газоразрядного свечения, в отличие от семян, впоследствии проросших. В образце 3 площадь свечения для группы «0» составила в медиане 0 пикселей, а для группы «1» – 882 пикселя. Сравнение групп 0 и 1 по показателю «площадь свечения» на основе критерия Манна Уитни показало, что различия между указанными группами достоверны ( $U = 0.00$ ;  $p < 0.05$ ). В образце 35 площадь свечения для группы «0» составила в медиане 0 пикселей, а для группы «1» – 842 пикселя. Сравнение групп 0 и 1 по показателю «площадь свечения» на основе критерия Манна Уитни показало, что различия между указанными группами достоверны ( $U = 24.00$ ;  $p < 0.5$ ).

Семена, исследованные методом мягколучевой рентгенографии, обнаружили следующие различия: в обеих пробах (№ 3 и № 35) рентгенограммы пустых семян характеризовались меньшей яркостью, в отличие от семян, впоследствии проросших (рис. 4), что также подтверждается данными статистического анализа: в образце 3 яркость рентгенограмм для группы «0» составила в медиане 1 балл, для группы «1» – 2 балла, сравнение групп 0 и 1 по показателю «балл яркости» на основе критерия Манна Уитни показало, что различия между указанными

группами достоверны ( $U = 0.00$ ;  $p < 0.5$ ). В образце 35 яркость рентгенограмм для группы «0» составила в медиане – 1 балл, для группы «1» – 2 балла. Сравнение групп 0 и 1 по показателю «балл яркости» на основе критерия Манна Уитни показало, что различия между указанными группами достоверны ( $U = 40.50$ ;  $p < 0.05$ ).

Рис. 4

Отсутствие газоразрядного свечения пустых зерен может быть объяснено тем, что метод газоразрядной визуализации чувствителен к влажности и электропроводности

объекта. У пустых семян влажность и электропроводность ниже за счет отсутствия зародыша и эндосперма, поэтому инициализации газоразрядного свечения при заданных режимах прибора «ГРВ-камера» не произошло.

Разница в яркости рентгенограмм связана с тем, что пустые семена (по сравнению с нормально выполненными семенами) менее ослабляют рентгеновское излучение и соответственно, дают на рентгенограмме более темное изображение.

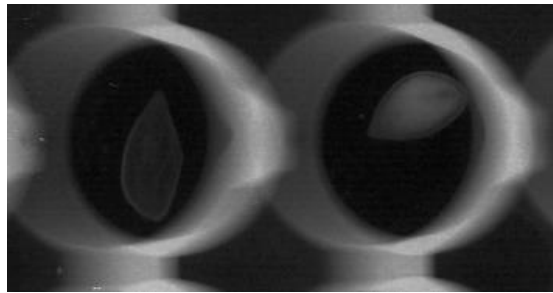


Рис.4. Фотографии семян, полученные с использованием метода мягколучевой рентгенографии.  
Слева: пустое семя, справа – выполненное семя

## ВЫВОДЫ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что методы микрофокусной рентгенографии и газоразрядной визуализации позволяют идентифицировать пустые и выполненные семена ели европейской.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам компании ООО «БиоТехПрогресс», Санкт-Петербург, [www.kti.spb.ru](http://www.kti.spb.ru), организации-разработчика и предприятия-

изготовителя за предоставленный для исследований газоразрядного свечения семян ели европейской серийный прибор «ГРВ Камера». Также авторы благодарят сотрудников компании ЗАО «Элтех-Мед» Санкт-Петербург, [www.eltech-med.ru](http://www.eltech-med.ru), организации-разработчика и предприятия-изготовителя за предоставленный для исследований рентгенографических характеристик семян ели европейской рентгеновский комплекс «ПРДУ-2».

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Архипов М. В., Потрахов Н. Н. 2008 Микрофокусная рентгенография растений. – СПб.: ИПЦ ЛЭТИ. 178 с.
- Борисова М. В., Войнов Г. М., Головач А. А., Яновская Е. Е. 2009. Газоразрядная визуализация - прогрессивный метод контроля физических методов воздействия на посевные качества семян. Тезисы XIII конгресса по биофотонике. Санкт-Петербург, с. 29–30.
- Буадзе О. А., Коротков К. Г., Ратман П. А. 1989. Изучение влияния гербицида 2.4Д на растительный организм с последующим защитным эффектом витамина В2 методом поверхностной газоразрядной визуализации (эффект Кирлиан). Сообщения АН ГССР. 135:1:193-196.
- Инюшин В. М., Гриценко В. С., Воробьев Н. А.. 1968. О биологической сущности эффекта Кирлиан (Концепция биологической плазмы). Изд-во КазГУ. Алма-Ата. 45 с.
- Коротков К. Г. 1995. Эффект Кирлиан. Изд-во Ольга. Санкт-Петербург. 215 с.
- Прияткин Н. С., Коротков К. Г., Куземкин В. А., Дорофеева Т. Б. 2006. Исследование влияния внешней среды на состояние растений на основе метода ГРВ биоэлектрографии. Известия вузов. Приборостроение. 49:2:67-72.