

УДК 631.531.011:635.1/.7
DOI: 10.25684/NBG.boolt.132.2019.12

БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА КАЧЕСТВА СЕМЯН ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

Алексей Васильевич Солдатенко, Фархад Багадыр оглы Мусаев

ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства, Московская область, 143080,
Одинцовский район, пос. ВНИИССОК, Селекционная, 14
Email: vniissok@mail.ru, musayev@bk.ru

Современный уровень развития технологий и рост семенного рынка требует применения эффективных инструментальных методов анализа качества семян отличающихся от стандартных, большей информативностью и сохранностью анализируемых семян. В совместной работе сотрудников ФНЦ овощеводства, Агрофизического НИИ и СПб государственного электротехнического университета впервые проведены масштабные работы по рентгенографии семян овощных культур. Также впервые была применена цифровая компьютерная морфометрия на семенах овощных культур. Показаны возможности методов в определении внешне различных качественных характеристик семян. Приводимые современные инструментальные методы могут быть успешно применены в деле семенного контроля, как существенное дополнение к стандартным методам.

Ключевые слова: качество семян; всхожесть; рентгенография; дефекты; морфометрия семян; форма семян; овощи

Введение

Качество семян в условиях рыночной экономики затрагивает взаимные интересы как правообладателей сортов растений, так и производителей и потребителей семян. В Российской Федерации введена сертификация семян и посадочного материала - более широкое понятие, чем традиционный сортовой и семенной контроль, являющийся важнейшей составной частью. Кроме него, сертификация семян дополнительно включает охрану интеллектуальных прав на сорта сельскохозяйственных растений, защиту интересов потребителя от недобросовестных производителей и распространителей семян, проведение выборочного инспекционного контроля, оказание информационного содействия потребителям в компетентном выборе семян с высокими сортовыми и посевными качествами. Современной отечественной наукой эти вопросы разработаны не полностью.

Семена сельскохозяйственных растений производимые, привозимые, поступающие в оборот должны пройти обязательную сертификацию. В нашей стране эта функция возложена на ФБУ Россельхозцентр [7]. Оценка посевных качеств семян проводится, в основном, стандартными морфометрическими методами [3,4,5]. Стандартные методы анализа качества семян отличаются своей конкретностью. В то же время современный уровень земледелия предъявляет повышенные требования к качеству семян [14]. Необходимо использовать инструментальные методы анализа качества семян, отличающихся большей информативностью и быстротой исполнения. Инструментально - биофизические методы позволяют выявить недостатки внутренней структуры семян путем получения новой информации об их качестве. Одним из таких методов является микрофокусная рентгенография семян, позволяющая визуализировать внутреннюю структуру семян. Семена овощных культур системному рентгенографическому анализу ранее не подвергались, были лишь пробные, фрагментарные работы. В совместной работе ВНИИ селекции и семеноводства овощных культур (ныне ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства) Санкт-

Петербургского государственного электротехнического университета и Агрофизического научно-исследовательского института разработан метод рентгенографии семян овощных культур и проведены системные исследования [1, 15, 11].

Другим перспективным инструментальным методом в семенном контроле является цифровая морфометрия семян. Известно, что форма семян является наиболее ярким внешним параметром их качества. По форме семян можно определить их выполнненность, объем зародыша и запасающей ткани. Путем автоматического измерения линейных параметров семян, определяется их форма, по которой можно судить о качестве, полноценности семян.

Материал и методы исследований

Объектом исследований явились семена различных овощных культур. Материал для исследований – разнокачественные семена более 300 образцов различных видов овощных культур из 11 ботанических семейств. Работа проведена на базе трех НИУ: ФНЦ овощеводства, Агрофизического НИИ и СПб государственного электротехнического университета.

Рентгенографический анализ качества семян проведен согласно «Методике рентгенографического анализа качества семян овощных культур» [9]. Цифровая морфометрия семян проведена с использованием программного обеспечения «ВидеоТест-Морфология» («Argus-BIO») [16]. *Цифровые изображения семян были получены с использованием планшетного сканера HP Scanjet 200.*

Техническими средствами для исследований явились: передвижная рентгендиагностическая установка ПРДУ-2, рентгеновский микроскоп РМ-1, радиовизиограф DIGORA (рис. 1), профессиональный фотоаппарат CANON-5D с макрообъективом CANON-100.

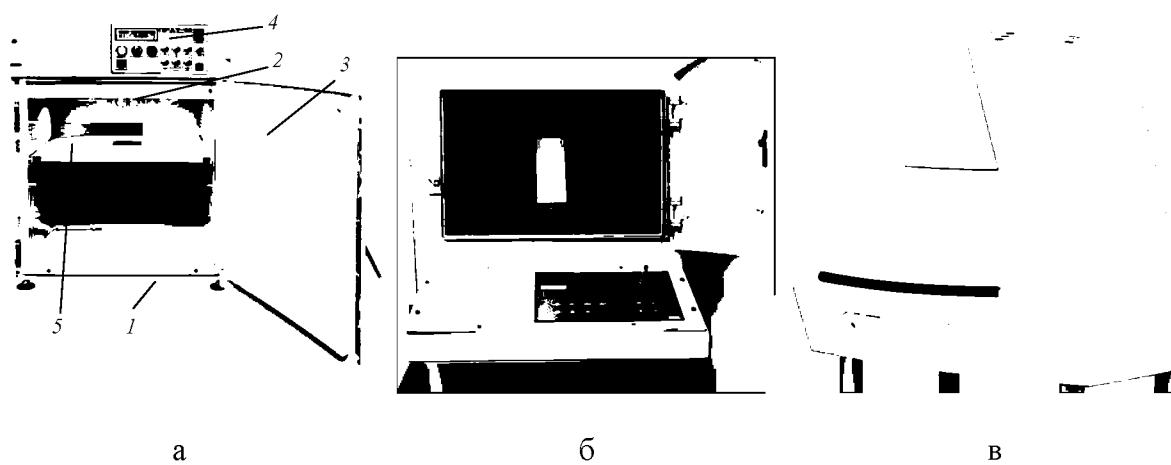


Рис. 1 Аппаратура для рентгенографии семян кафедры электронных приборов и устройств СПбГЭТУ-ЛЭТИ: а) ПРДУ-2, б) РМ-1, в) сканер DIGORA

Цифровая морфометрия семян проведена с использованием серийного программного обеспечения «ВидеоТест-Морфология» («Argus-BIO»), производства ООО «АргусСофт», г. Санкт-Петербург (<http://argussoft.org>).

Цифровые изображения семян были получены с использованием цифрового планшетного сканера HPScanjet 200, формат сохраняемых файлов - TIFF. Алгоритм программной обработки цифровых изображений семян включает следующие основные операции: калибровка (привязка к реальным размерным величинам), выделение области интереса, автоматическое пороговое выделение объектов интереса (семян) по

цвету или яркости, автоматическое измерение выделенных объектов интереса, экспорт таблицы измерений в программу MSExcel.

Результаты и обсуждение

Принцип рентгенографического анализа основан на свойстве различных по плотности и толщине частей семени в разной степени поглощать рентгеновское излучение. Это свойство позволяет отличить на рентгенограммах семенную кожуру, структуру зародыша, эндосперм, а также поврежденные и недостающие участки внутренней структуры семян [13].

Семена овощных культур системному рентгенографическому анализу ранее не подвергались, поэтому экспериментальным путем подобраны режимы съемки (напряжение в трубке, сила тока в трубке и экспозиция съемки) для каждой размерной группы семян.

Посредством анализа многочисленных рентгенограмм семян различных видов овощных культур выявлены, идентифицированы, и классифицированы основные дефекты и недостатки внутренней структуры семян овощных культур, имеющие важное хозяйствственно-биологическое значение и определяющие их качество [2, 8] (рис. 2):

- невыполненная зародыша или эндосперма в различной степени,
- внутренняя травмированность,
- заселенность и поврежденность насекомыми-вредителями,
- внутреннее (скрытое) прорастание,
- морфометрические изменения внутренней структуры, связанные со снижением жизнеспособности семян инбредных потомства или возрастом.

Метод оказался в равной степени эффективным как для анализа крупных семян, так и мелких. Например: крупные семена бобовых овощных культур подвержены к повреждению грызущих насекомых-вредителей, а также - механическим травмам при доработке; мелкие семена майорана, мелиссы, базилика и др. часто не вызревают в неблагоприятных условиях, питательная ткань недоформирована.

Метод рентгенографии семян оказался эффективным при анализе свежеубранных семян, когда они находятся в состоянии покоя и показатели всхожести сильно занижены. Семена овощных культур семейства Сельдерейных (морковь, сельдерей, петрушка, пастернак, фенхель, тмин, кориандр) обладают ярко выраженным периодом покоя. Только по степени выполненности семян, степени созревания и наличию внутренних дефектов, можно судить об их пригодности для посева.

Проращивание семян шпината, спаржи и др. культур в лабораторных условиях затруднено из-за грубой и толстой семенной оболочки, в связи с длительностью процесса и высокими требованиями к условиям тепло- и влагообеспеченности. Рентгенографический анализ семян в таких случаях наиболее предпочтительный.

Метод наиболее показателен на семенах с жесткой оболочкой, когда внутренние пустоты семян не заметны по внешнему контуру семян, то есть оболочка не облегает внутреннее содержимое семян. Это мелкие семена представителей семейства Яснотковых (базилик, мелисса, майоран), более крупные семена спаржи, шпината, артишока и др.

Метод наиболее показателен на семенах с жесткой оболочкой, когда внутренние пустоты семян не заметны по внешнему контуру семян, то есть оболочка не облегает внутреннее содержимое семян. Это мелкие семена представителей семейства Яснотковых (базилик, мелисса, майоран), более крупные семена спаржи, шпината, артишока и др.

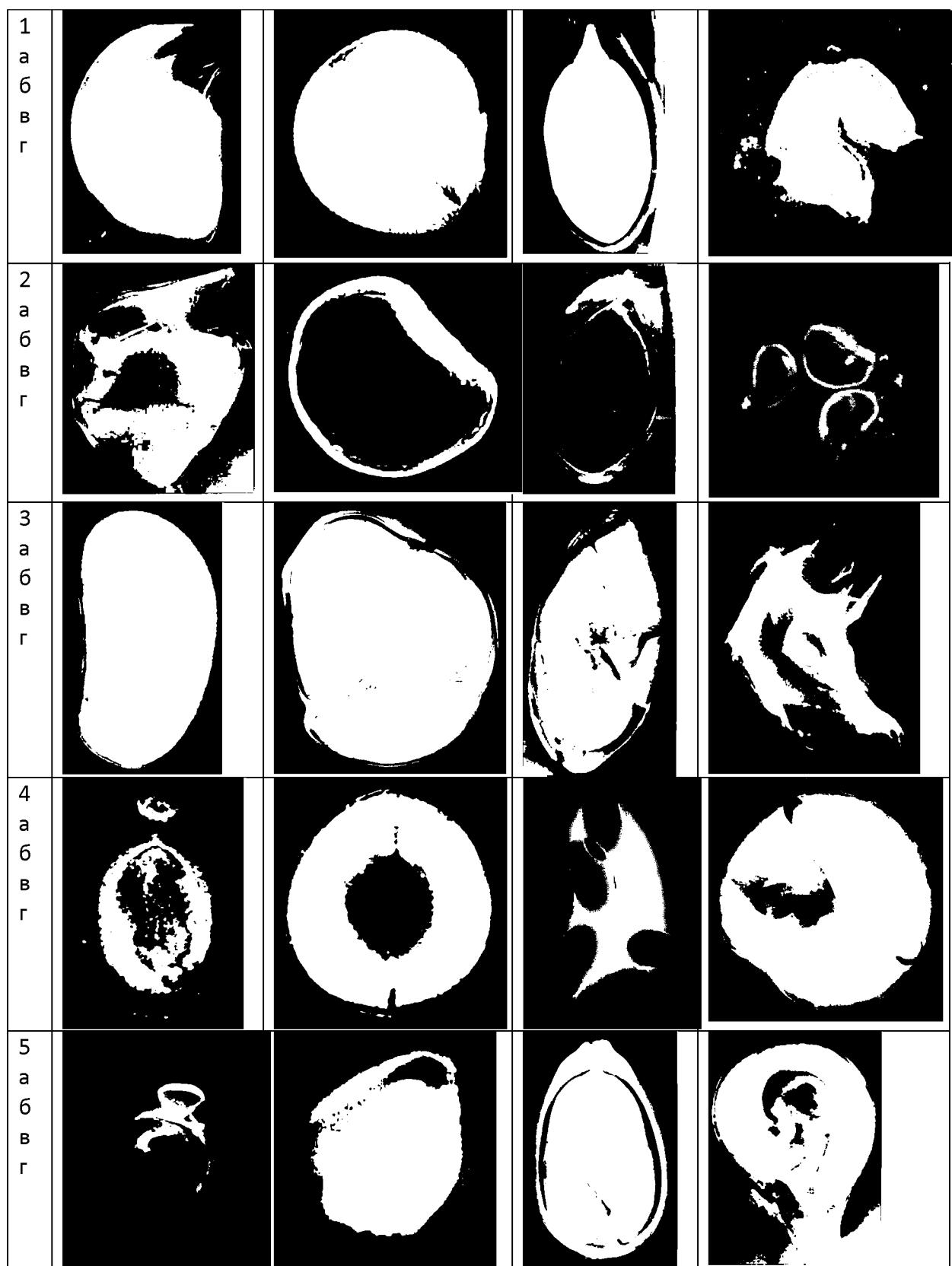


Рис. 2 Примеры различных рентгенографических признаков семян овощных культур: 1) нормальные - а) лук, б) бамия, в) кабачок, г) свёкла; 2) невыполненные - а) лук, б) бамия, в) кабачок, г) свёкла; 3) травмированные - а) фасоль, б) горох, в) огурец, г) лук; 4) поврежденные – а) пастернак, б) горох, в) фасоль, г) спаржа; 5) морфометрические изменения – а) свёкла, редис, артишок, томат

Еще одним направлением наших исследований явилась цифровая компьютерная морфометрия семян. Фирмой «Argus-BIO» (Санкт-Петербург) разработан новый морфометрический метод анализа цифровых сканированных изображений семян с использованием серийного программного обеспечения «ВидеоТесТ-Морфология». Морфометрией семян в связи с их хозяйствственно-биологическим значением занимались в прошлом [6]. Однако ввиду трудоемкости процесса ручной морфометрии, эти работы широкого развития не нашли. Нами впервые цифровая морфометрия применена в отношении семян овощных культур [10, 12]. Новая программа полностью лишена субъективизма, исключает ошибки оператора, существенно ускоряет время анализа и прибавляет новые параметры оценки исследуемого материала. В таблице 3 приведен пример морфометрического анализа экологически разнокачественных семян фасоли, где с помощью программы дается оценка по десяти линейным параметрам семян и партия делится на размерные классы (рис. 3).

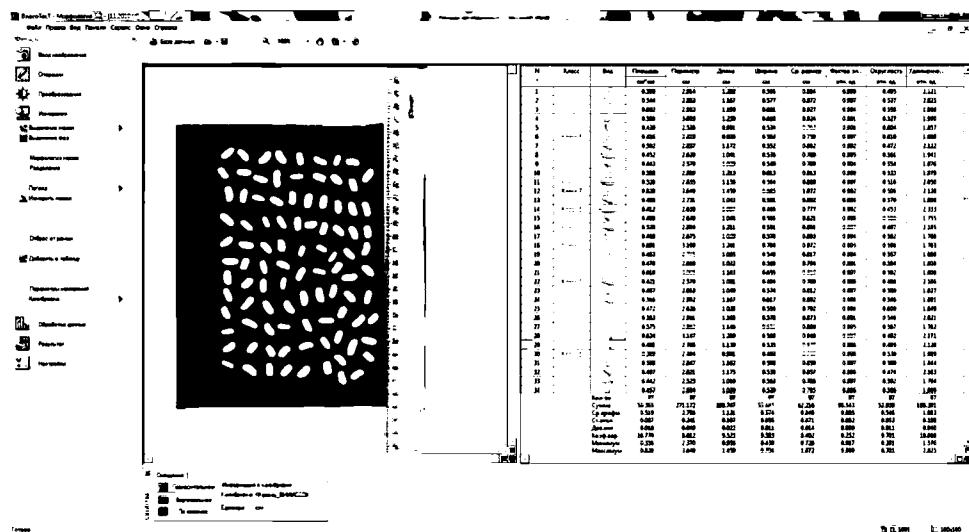


Рис. 3 Интерфейс программы «ВидеоТесТ-Морфология», («Argus-BIO»)

Статистический анализ массива данных (табл. 1), показал, значительную вариацию морфометрических параметров - площади проекции, ширины и длины семян 17,8; 8,1 и 11,5 %, соответственно. Следует отметить, что большую вариацию показывает признак «ширина семян» (11,5 и 10,8%), обладающий почти два раза меньшими значениями (0,63...0,66 см), чем их длина (1,16...1,20 см). Следовательно, выполненная и вызреваемость семян в основном идет за счет роста ширины и толщины семян. Форма семян, определяемая параметрами «округлость» и «удлиненность», в разные годы испытания изменилась незначительно.

Изменчивость линейных параметров семян фасоли овощной

Таблица 1

Параметры Годы	Площадь, см ²		Длина, см		Ширина, см		Округлость, относ.ед.		Удлиненность, относ.ед.	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
\bar{X}	0,59	0,64	1,16	1,20	0,63	0,66	0,57	0,58	1,85	1,84
S	0,105	0,102	0,094	0,094	0,073	0,071	0,023	0,032	0,096	0,126
C_v , %	17,8	15,9	8,1	7,8	11,5	10,8	3,9	5,5	5,2	6,9

Матриально-разнокачественные семена укропа и пастернака, собранные из разных порядков ветвления семенного растения, также показали морфологическое

различие. Анализ данных цифровой морфометрии показал, что наиболее крупные семена каждый год получены с побегов первого порядка ветвления, которые лучше питаются, раньше завязываются и полнее вызревают (рис. 4).



Рис. 4 Морфометрические параметры матрикально-разнокачественных семян укропа, 2015-2017 годы

Большую трудность составляет измерение линейных размеров мелких семян. Среди овощных таковыми являются многие зеленные и пряновкусовые культуры. Нами проведена настройка программы на анализ мелких семян путем тщательного подбора режимов и фона для сканирования и проанализированы в пробном порядке семена пяти партий разнокачественных семян двурядника тонколистного сорта Терция. Размер семян (площадь проекции) среднем составляет около 1 мм^2 (таблица 2). Однако даже такие «микроскопические» семена по линейным размерам достоверно отличаются между партиями (табл. 5), что позволяет использовать программу для морфометрического анализа разнокачественности мелких семян.

**Таблица 2
Линейные параметры разнокачественных семян двурядника**

№№ образцов	Площадь, мм^2		Периметр, мм		Длина, мм		Ширина, мм	
	Среднее значение	Довер. интервал	Среднее значение	Довер. интервал	Среднее значение	Довер. интервал	Среднее значение	Довер. интервал
1	1,074	0,026	3,771	0,048	1,416	0,020	1,023	0,015
2	0,911	0,019	3,458	0,039	1,303	0,015	0,932	0,011
3	0,927	0,016	3,479	0,032	1,285	0,013	0,974	0,011
4	0,981	0,022	3,593	0,040	1,341	0,017	0,988	0,014
5	0,888	0,021	3,411	0,042	1,275	0,016	0,934	0,014

Следует отметить, что в данном случае (при работе с мелкими семенами) альтернативы цифровому анализу нет, поскольку механическое измерение тут не представляется возможным.

Заключение

Традиционные, стандартные методы анализа качества семян хотя и категоричны, но длительны в исполнении, трудоемки и малоинформационны. Современный уровень развития технологий и роста семенного рынка требует применения новых инструментальных информативных методов анализа качества семян. Разрабатываемые нами инструментальные методы от стандартных выгодно отличаются

информационностью, быстротой и легкостью исполнения, сохранностью анализируемой партии семян, что очень важно при работе малой партией семенного материала. Рентгенография семян и цифровая компьютерная морфометрия успешно могут быть применены для анализа качества семян овощных культур как существенное дополнение применяемым стандартным методам.

Список литературы

1. Архипов М.В., Гусакова Л.П., Алферова Д.В. Рентгенография растений при решении задач семеноведения и семеноводства // Изв. Санкт-Петербург.гос. аграрного университета. – 2011. – № 22. – С. 336–341.
2. Бухаров А.Ф., Балеев Д.Н., Мусаев, Ф.Б. Мягколучевая рентгеноскопия – эффективный способ выявления пустосемянности овощных зонтичных культур // Пермский аграрный вестник. – 2015. – №1. – С. 6-11.
3. ГОСТ 12042–80. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения массы 1000 семян. – М., 1980.
4. ГОСТ 12041–82. Семена сельскохозяйственных культур. Метод определения влажности (с изм. № 1). – М., 1982.
5. ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. — М. : Изд-во стандартов, 1985. – 58 с.
6. Макрушин Н.М. Основы гетеросперматологии. – М., 1989. – 288 с.
7. Малько А.М. Основы сертификации семян сельскохозяйственных растений и ее структурные элементы / Изд. 2-е, доп. и перераб. – М.: РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2010. – 335 с.
8. Мусаев Ф.Б., Архипов М.В., Потрахов Н.Н. Анализ качества семян овощных культур методом рентгенографии // Известия ТСХА. – 2014. – №4. – С. 18-27.
9. Мусаев Ф.Б., Потрахов Н.Н., Архипов М.В. Рентгенография семян овощных культур. – СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2016. – 207 с.
10. Мусаев Ф.Б., Прияткин Н.С., Архипов М.В., Щукина П.А., Бухаров А.Ф., Иванова М.И. Цифровая морфометрия разнокачественности семян овощных культур // Картофель и овощи. – 2018. – №6. – С. 35-37.
11. Мусаев Ф.Б. Научно-практические аспекты совершенствования контроля качества семян овощных культур. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора с.-х. наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений. – М.: ФНЦО, 2018. – 50 с.
12. Мусаев Ф.Б., Солдатенко А.В., Балеев Д.Н., Прияткин Н.С., Щукина П.А. Исследование разнокачественности семян овощных культур с использованием компьютерного анализа изображений// Агрофизика. – 2019. – № 1. – С. 38-44.
13. Потрахов Н.Н. Метод и особенности формирования теневого рентгеновского изображения микрофокусными источниками излучения // Вестник новых мед. технологий. – 2007. – Т. 14, № 3. – С. 167–169.
14. Солдатенко А.В. Координация семеноводства в странах СНГ // Овощи России. – 2018. – № 1 (39). – С. 61-62.
15. Arkhipov M.V., Priyatkin N.S., Zhuravleva E.V. A comprehensive approach to studies of the problem of inhomogeneity of seeds by biophysical methods// Science. Information. Spirit XVIII International Scientific Congress: bioelectrography. – 2014. – P. 19–20.
16. <http://argussoft.org>

Статья поступила в редакцию 24.07.2019 г.

Soldatenko A.V., Musaev F.B. Biophysical methods of the analysis of the quality of vegetable seeds // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2019. – № 132. – P. 95-102.

The modern level of technology development and seed market growth demand application of effective instrumental analytical methods of seeds' quality, which differ from standard ones for a better informational content and safety of the analyzed seeds. In collaboration of the employees of Federal Scientific Vegetable Center, Agro-physical Scientific Research Institute and St. Petersburg State Electro-technical University the extensive works on X-ray radiography of vegetable seeds were carried out for the very first time. Also the digital computer morphometric research of vegetable seeds was applied for the first time. The possibilities of the methods in definition of outwardly distinctive qualitative criterion of seeds were shown. The given modern instrumental methods can be successfully applied in a seed monitoring as a significant addition to standard ones.

Key words: *quality of seeds; viability; X-ray; defects; morphometric research of seeds; form of seeds; vegetables*

УДК 633.111./631.527

DOI: 10.25684/NBG.boolt.132.2019.13

ПРЕБРИДИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ПО ПОВЫШЕНИЮ УСТОЙЧИВОСТИ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ В НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЕ РФ

**Сергей Иванович Воронов, Инна Федоровна Лапочкина,
Людмила Александровна Марченкова, Ольга Викторовна Павлова,
Раиса Федоровна Чавдарь, Татьяна Григорьевна Орлова**

Федеральный Исследовательский Центр «Немчиновка» - 143026, Московская обл.,
Одинцовский район, рп Новоивановское, ул. Агрономическая, 6
E-mail: vsi08@mail.ru

В статье дается ретроспективный и современный обзор направлений исследований лаборатории генетики ФИЦ «Немчиновка» по улучшению пшеницы мягкой к грибным болезням с использованием интрагрессивных линий пшеницы мягкой, полученных с участием видов *Aegilops speltoides*, *Ae. triuncialis*, *T. kiharae* и *S. cereale*. Этапы исследований условно поделены на три периода. Первый период (с 1980 по 1996 гг.) связан с разработкой теоретических основ управления рекомбинационными процессами в мейозе у отдаленных гибридов пшеницы, изучением закономерностей формообразовательного процесса при использовании облучения пыльцы доноров и созданием оригинальной коллекции линий пшеницы мягкой яровой и озимой с добавленными хромосомами вида *Aegilops speltoides*, линий с замещениями и транслоцированных форм с генетическим материалом *Ae. triuncialis*, *T. kiharae* и *S. cereale*. Второй период (с 1996 по 2009 гг.) связан с цитологическим и генетическим изучением созданной коллекции по признакам устойчивости к мучнистой росе и бурая ржавчине, а также другим хозяйствственно-ценным и морфологическим признакам и созданием селекционных линий (вторичного улучшенного генофонда пшеницы). Третий период (с 2009 по настоящее время) характеризуется созданием конкурентоспособных селекционных линий – прототипов сортов с групповой устойчивостью к грибным болезням, в том числе и к опасному карантинному заболеванию – стеблевой ржавчине расе Ug99 с использованием маркер-вспомогательной селекции. Предпринята попытка оценить продвинутый селекционный материал пшеницы яровой к абиотическому стрессу – затоплению семян. Выделены генотипы, способные противостоять водному стрессу.

Ключевые слова: *пшеница; сородичи пшеницы; облучение пыльцы; бурая и стеблевая ржавчина; мучнистая роса; гены устойчивости; водный стресс*

Введение

Современные сорта пшеницы мягкой, районированные в Нечерноземной зоне РФ, обеспечивают высокий сбор зерна при возделывании по интенсивной и полуинтенсивной технологиям, но требуют 2 – 3-кратной обработки фунгицидами во время вегетации. Для снижения пестицидной нагрузки на агроценозы необходимы