

УДК 574: 57.087: 58.006

DOI: 10.36305/0513-1634-2022-144-51-56

РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СЕМЯН КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МЕТОД В СЕМЕНОВЕДЕНИИ ДРЕВЕСНЫХ ИНТРОДУЦЕНТОВ

Наталья Олеговна Роголева, Николай Викторович Янков, Татьяна Михайловна Жавкина, Полина Владимировна Родионова, Людмила Михайловна Кавеленова

ФГБОУ ВПО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»,
443086, ул. Московское шоссе, д. 34, г. Самара,
E-mail: strona@yandex.ru

Применение методов рентгенографии для изучения живых организмов открыло широкие возможности для семеноведения. На сегодняшний день одним из наиболее перспективных методов выявления скрытых дефектов семенного материала может считаться метод микрофокусной рентгенографии, обеспечивающий визуализацию внутренних структур семени их возможных аномалий без привнесения повреждающих воздействий, что связано с краткой экспозицией и использованием витально приемлемой интенсивности облучения. Рентгенографический анализ сегодня рассматривается в качестве эффективного метода контроля качества семян, позволяющего в экспресс-режиме получить информацию об их внутренних свойствах. В совокупности с морфофизиологическим, биохимическим, люминесцентным и другими методами он обеспечивает более высокий уровень экспертной оценки качества семян. Опыт использования нами данного метода пока ограничен и насчитывает немногим более года. Первоначальное тестирование установки мы проводили, оценивая возможности ее применения для рентгенографии семян и плодов различного размерного ряда. Экспериментальным путем подбирались режимы обработки образцов, различавшихся по плотности оболочек и содержимого семян. В данном сообщении мы хотели бы представить краткую информацию об уже проведенных нами работах. Перечень уже изученных дендрологических объектов, для которых проведено тестовое рентгенографическое изучение семян, включает 22 таксона, среди которых подавляющее большинство объектов является раритетными видами, занесенными в Красную книгу МСОП. Рентгенографическое изучение качества семян древесных интродуцентов показало возможность для широкого круга объектов выполнять неповреждающий экспресс-скрининг их внутреннего содержимого, устанавливая признаки повреждения и дефекты развития. Определены «нижний предел» размера семян и базовые режимы для проведения рентгенографии с учетом необходимости корректировки режимов под конкретные объекты.

Ключевые слова: *качество семян; древесные растения; рентгенографический скрининг; ПРДУ; режимы сканирования; размеры семян; признаки дефектности*

Введение

Качество семян древесных растений определяет успех для сохранения различных видов в культуре (*ex situ*), лесоразведения, создания различных типов насаждений, получения посадочного материала. Однако высшим растениям присуща **гетерокарпия (гетероспермия)** – существенное варьирование качества образуемых растениями диаспор, которое выражается в формировании плодов (семян) различного качества, включая их размер, развитость зародыша и эндосперма, потенциальную всхожесть. В процессе сбора и хранения семена подвергаются воздействию различных факторов, включая их незаметное внешне повреждение насекомыми. Рутинная процедура оценки качества семенного материала с идентификацией признаков дефектности достаточно времезатратна и порой трудоемка. Часть семян при этом необратимо расходуется, что в случае их небольшого количества у особо ценных и редких видов весьма нежелательно. Кроме того, для древесных растений характерно

формирование семян, пребывающих в состоянии физиологического покоя и не прорастающих без прохождения более или менее продолжительного периода стратификации, что делает невозможным оперативное определение как лабораторной, так и полевой всхожести [7]. Дополнительные сложности могут быть связаны с выявлением внутренних дефектов структуры семени, часто не проявляющихся на его поверхности [4]. Начавшееся во второй половине XX века применение методов рентгенографии для изучения биологических объектов открыло широкие возможности для семеноведения. На сегодняшний день одним из наиболее перспективных методов выявления скрытых дефектов семенного материала может считаться метод микрофокусной рентгенографии [2]. Он открывает возможности визуализации всех внутренних структур семени без каких-либо повреждающих воздействий, что связано с краткой экспозицией и использованием витально приемлемой интенсивности облучения. На сегодняшний день рентгенографический анализ не только рассматривается в качестве эффективного метода контроля качества семян, позволяющего в экспресс-режиме получить информацию об их внутренних свойствах. Он в совокупности с другими методами (морфофизиологическим, биохимическим, люминесцентным и др.) обеспечивает более высокий уровень экспертной оценки качества семян [3] и рекомендован ко включению в качестве этапа в процедуру государственного стандарта оценки качества семян сельскохозяйственных культур.

Приобретение в 2020 г. для создаваемой научно-исследовательской лаборатории инновационных методов изучения и сохранения биологического разнообразия Самарского университета в рамках федерального проекта "Развитие передовой инфраструктуры для проведения исследований и разработок в Российской Федерации" комплекса специализированного лабораторного оборудования открыло перед нами новые возможности исследования семян и плодов, в том числе древесных растений. Главной частью функционального комплекса оборудования лаборатории является уникальная рентгенодиагностическая установка отечественного производства модели ПРДУ-2 для неповреждающего контроля качества семян, разработанная отечественными специалистами из СПбГЭТУ «ЛЭТИ», что позволило нам начать исследование внутренней структуры семян методом цифровой микрофокусной рентгенографии. Данный метод включен в международные стандарты, в первую очередь для оценки заражения и повреждения зерна вредителями [1, 8]. Плодотворный опыт его применения при изучении качества плодов и семян, формируемых растениями-интродуцентами, получен специалистами ботанических садов, в том числе российских [5, 6].

Опыт использования нами данного метода пока ограничен и насчитывает немногим более года. Первоначальное тестирование установки мы проводили, оценивая возможности ее применения для рентгенографии семян и плодов различного размерного ряда. При этом оперативно определялись размеры поля облучения при различном удалении от источника рентгеновского излучения, которые соответствовали положению полок внутри камеры установки, от экспонирования непосредственно на поверхности детектора до самого верхнего положения, либо фиксации образцов вблизи рентгеновской трубки. Это также соответствовало различному увеличению сканируемых объектов. Экспериментальным путем подбирались режимы обработки образцов, различавшихся по плотности оболочек и содержимого семян. В данном сообщении мы хотели бы представить краткую информацию об уже проведенных нами работах.

Материал и методика исследования

Установка ПРДУ включает защитную камеру для проведения рентгенографии, моноблочный источник рентгеновского излучения РАП70М-0,1Н-1, приемник рентгеновского изображения на основе многофункционального портативного плоскопанельного детектора рентгеновского излучения ViVIX-S для цифровой рентгенографии. Управление осуществляется с компьютеризированного пульта с универсальным программным обеспечением MicroCT-PRDU для анализа цифровых рентгеновских изображений семян. На установке возможно получение изображений с геометрическим увеличением $\times 3,0$ [1] (табл. 1).

Таблица 1

Перечень дендрологических объектов, для которых проведено тестовое рентгенографическое изучение семян

	Таксон	Красная книга МСОП	Где собрано
1	<i>Catalpa ovata</i> G. Don	LC	1
2	<i>Catalpa bignonioides</i> Walter	DD	1
3	<i>Catalpa speciosa</i> (Warder ex Barney) Warder ex Engelm.	LC	1
4	<i>Catalpa hybrida</i> L. Späth		1
5	<i>Catalpa</i> $\times$ <i>erubescens</i> Carrière		1
6	<i>Pinus peuce</i> Griseb.	NT	1
7	<i>Pinus nigra</i> J.F. Arnold	LC	1
8	<i>Pinus nigra</i> J. F. Arnold subsp. <i>dalmatica</i> (Vis.) Franco	EN	1
9	<i>Platycladus orientalis</i> (L.) Franco	NT	1
10	<i>Thuja occidentalis</i> L.	LC	1
11	<i>Aristolochia manshuriensis</i> Kom.		1
12	<i>Sambucus nigra</i> L.	LC	1
13	<i>Rhus typhina</i> L.	LC	1
14	<i>Viburnum lentago</i> L.	LC	1
15	<i>Juglans regia</i> L.		1
16	<i>Juglans nigra</i> L.	LC	1
17	<i>Juglans ailanthifolia</i> Carrière		1
18	<i>Juglans ailantifolia</i> var. <i>cordiformis</i> Maxim		1
19	<i>Juglans microcarpa</i> Berland.	LC	1
20	<i>Juglans cinerea</i> L.	EN	1
21	<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	LC	1
22	<i>Quercus rubra</i> L.	LC	2

1- дендрарий Ботанического сада Самарского университета;

2- дендрарий Института экологии Волжского бассейна РАН (г. Тольятти)

В программном обеспечении MicroCT-PRDU перед исследованием регулируются следующие параметры: анодное напряжение, время экспозиции. Диапазон изменения анодного напряжения нашей модели составляет 30-50 кВ, анодный ток 0,1 мА. Процесс рентгеноскопического скрининга проводили в соответствии с описанным ранее алгоритмом [9], опытным путем подбирая экспозицию для различных объектов. В течение 2-10 с изображение выводилось на экран монитора, после чего выполнялись корректировка контраста и четкости изображения. Получая изображения в двух вариантах, позитивном и негативном, для конкретных объектов субъективно выбирали из них лучший для визуализации внутренней структуры различных семян. Изображения сохранялись jpg-файлах, что обеспечивало возможность дальнейшей работы с ними. Разработчики прибора осуществляют также создание объект-ориентированных программ для автоматизации оценки качества семян

по полученным рентгенограммам (в частности, для ряда сельскохозяйственных культур), но на данном этапе мы ограничились стандартным программным обеспечением и самостоятельной обработкой рентгенограмм с последующим формированием базы цифровых данных и соответствующей математической обработкой. В процессе отработки метода были спроектированы и изготовлены путем печати на 3D-принтере планшеты с размером ячеек, соответствующим размерной группе тестируемых семян.

Исследования проводились в 2021 г. в лаборатории Инновационных методов изучения и сохранения биологического разнообразия Самарского университета.

В таблице 1 представлен перечень дендрологических объектов, для которых нами было проведено тестовое рентгенографическое изучение семян. В большинстве своем семенной материал был сформирован деревьями из дендрария Ботанического сада Самарского университета, только для дуба красного *Quercus rubra* L. семена были собраны сотрудниками Института экологии Волжского бассейна РАН (г. Тольятти) в дендрарии института и предоставлены нам для изучения. Следует отметить, что подавляющее большинство объектов является раритетными видами, занесенными в Красную книгу МСОП, и их выращивание в культуре следует рассматривать как меру сохранения *ex situ*.

Результаты и обсуждение

Поскольку Ботанический сад Самарского университета формирует и ежегодно пополняет фонд семян для обмена, передачи специалистам-практикам и собственного использования, часть собираемых семян после соответствующей оценки качества была использована для закладки на хранение в создаваемый банк семян (семена видов *Aristolochia manshuriensis*, *Catalpa ovata*, рода *Pinus*, *Platycladus orientalis*, *Rhus typhina*, *Sambucus nigra*, *Thuja occidentalis*) (рис. 1).

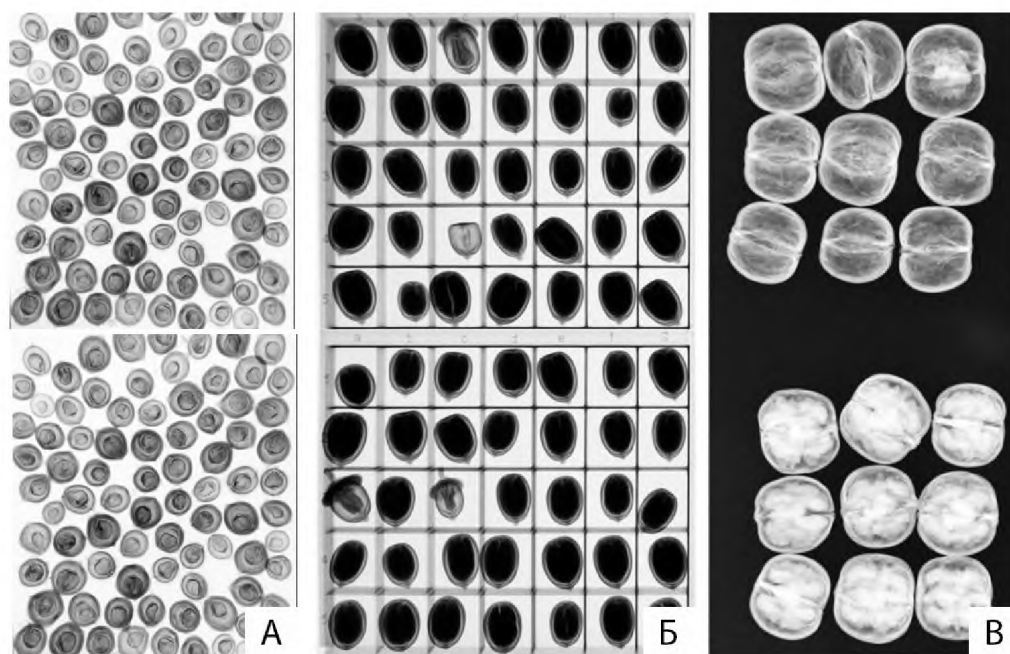


Рис. 1 Примеры рентгенографического изображения семян различных дендрологических объектов: А - *Tilia platyphyllos* Scop., Б - *Quercus rubra* L., В – *Juglans regia* L.

На рисунке 1 представлены примеры визуальных результатов рентгенографии семян, различавшихся по размерам и мощности развития семенных покровов.

Ограничением для использования нашей рентгенодиагностической установки, обнаруженным нами опытным путем, является размер семян менее 2...3 мм, при этом, как правило, семена древесных растений превосходят данный размерный уровень.

Обнаруженные признаки дефектности были как общими (степень выполненности), так и имели видоспецифичный характер. Так, у *Tilia platyphyllos* часть орешков содержала не одно, как обычно, а два зачатка семян. У *Quercus rubra* обнаружены повреждения единичных семян насекомыми. У *Juglans regia* выявленная дефектность, как правило, проявлялась в невыполненности семян.

Заключение

Таким образом, проведенное нами на начальном этапе рентгенографическое исследования качества семян древесных интродуцентов показало возможность для широкого круга объектов выполнять неповреждающий экспресс-скрининг их внутреннего содержимого, устанавливая признаки повреждения и дефекты развития. Определены «нижний предел» размера семян и базовые режимы для проведения рентгенографии с учетом необходимости корректировки режимов под конкретные объекты. Процедура рентгенографического скрининга качества семян используется нами в качестве обязательного этапа при работе с единицами хранения формируемого семенного банка и обменного фонда семян.

Список литературы

1. Архипов М.В., Потрахов Н.Н. Микрофокусная рентгенография растений. – СПб.: Технолит, 2008. – 194 с.
2. Архипов М.В., Великанов Л.П., Желудков А.Г., Гусакова Л.П., Алферова Д.В., Потрахов Н.Н., Прияткин Н.С. Возможности биофизических методов в агрофизике и растениеводстве // Биотехносфера. – 2013. – № 6 (30). – С. 40-43.
3. Архипов М.В., Демьянчук А.М., Гусакова Л.П., Великанов Л.П., Алферова Д.В. Рентгенография растений при решении задач семеноведения и семеноводства // Известия СПбГАУ. – 2010. – №19. – С. 36-40.
4. Никольский М.А., Грязнов А.Ю., Жамова К.К. Мировой опыт использования интроскопических методов исследования в сельскохозяйственной биологии // Наука. Техника. Технологии (Политехнический вестник). – 2015. – №2. – С. 137-153.
5. Староверов Н.Е., Грязнов А.Ю., Жамова К.К., Ткаченко К.Г., Фирсов Г.А. Применение метода микрофокусной рентгенографии для контроля качества плодов и семян репродуктивных диаспор // Биотехносфера. – 2015. – № 6 (42). – С. 16-19.
6. Ткаченко К.Г., Староверов Н.Е., Грязнов А.Ю. Рентгеноскопическое изучение качества плодов и семян // Hortus Botanicus. – 2018. – Т. 13. – С. 52-66.
7. Bewly J.D., Bradford K.J., Hilhorst H.W.M., Nonogaki H. Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy, 3rd Edition. Springer Science+Business Media, LLC. – 2013. – 399 p.
8. Hernandez-Sanchez N., Moreda G.P., Herrero-Langreo A., Melado-Herreros A. Assessment of internal and external quality of fruits and vegetables // Imaging Technologies and Data Processing for Food Engineers. – Springer, Cham. – 2016. – P. 269-309.
9. Kavelenova L., Roguleva N., Yankov N., Ruzaeva I., Pavlova E., Nakrainikova D., Potrachov N. Assessment of the quality of seeds formed in situ and ex situ as a mandatory element of maintaining seed banks of rare plants // E3S Web of Conference, Actual Problems of Ecology and Environmental Management (APEEM 2021). – 2021. – Vol. 265. DOI: 10.1051/e3sconf/202126505012.

Статья поступила в редакцию 01.05.2022 г.

Roguleva N.O., Yankov N.V., Zhavkina T.M., Rodionova P.V., Kavelenova L.M., X-ray rapid assessment of seed quality as a promising method in seed science of woody introducers // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2022. – № 144 – P. 51-56

The X-ray methods use for living organisms studies has opened up wide opportunities for seed science. To date, one of the most promising methods for latent defects detecting in seed material can be considered the microfocus radiography method, which provides visualization of the internal seed structures including their possible anomalies without additional damaging effects, which is associated with a short exposure and the vitally acceptable radiation intensity use. X-ray analysis is now considered as an effective method of seed quality control, which allows obtaining information about their internal properties in express mode. Together with morphophysiological, biochemical, luminescent and other methods, it provides a higher level of expert evaluation of seed quality. Our experience connected with this method is still limited and amounts to a little more than a year. We carried out the initial testing of the installation, evaluating the possibilities of its application for radiography of various sizes seeds and fruits. Also we experimentally selected treatment modes for samples differed in shells density and the seed contents quality. In this message, we would like to present a brief information about the work we have already carried out. The list of already studied dendrological objects for which a test X-ray seeds examination was carried out includes 22 taxa, among which the vast majority of objects are rare species listed in the IUCN Red List. X-ray study of the seeds quality for woody introducents showed for a wide range of objects the possibility to perform non-damaging express screening of their internal contents, establishing signs of damage and developmental defects. The "lower limit" of the size of seeds and the basic modes for conducting radiography are determined, taking into account the need to adjust the modes for specific objects.

Key words: *seed quality; woody plants; X-ray screening; PRDU; scanning modes; seed sizes; signs of defectiveness*