



УДК 630*232.318: 57.087.3

Применение методов микрофокусной рентгенографии и газоразрядной визуализации для оценки полнозернистости семян ели европейской

© М. В. Архипов¹⁾, Л. П. Гусакова¹⁾, Н. С. Прияткин¹⁾,
А. С. Бондаренко²⁾

Application of X-Ray and gas discharge visualization methods for *Picea abies* empty and normal seeds evaluation

M.V. Arkhipov, L.P. Gusakov, N.S. Priyatkin (Agrophysical Research Institute RAAS)

A.S. Bondarenko (St-Petersburg Forestry Research Institute)

The comparative study of *Picea abies* empty and normal seeds carried out using microfocused X-Ray and gas discharge visualization methods. The obtained data indicate that the empty seeds investigated by gas discharge visualization method do not show gas discharge glow in contrast to the plump seeds. The empty seeds investigated by microfocused X-Ray method show lower level of brightness compared to plump ones.

The results indicate that both microfocused X-Ray and gas discharge visualization methods can be applied as reliable tool for non-destructive testing of forest tree seeds quality.

Key words: microfocused X-Ray, gas discharge visualization, seeds, *Picea abies* L.

Применение методов микрофокусной рентгенографии и газоразрядной визуализации для оценки полнозернистости семян ели европейской

М.В. Архипов, Л.П. Гусакова, Н.С. Прияткин, А.С. Бондаренко

Выполнено сравнительное исследование пустых и полнозернистых семян ели европейской (*Picea abies* L.) методами микрофокусной рентгенографии и газоразрядной визуализации. Установлено, что при газоразрядной визуализации пустые семена не обнаружили свечения, в отличие от полнозернистых семян. Исследованные методом микрофокусной рентгенографии пустые семена характеризовались меньшим уровнем яркости, по сравнению с полнозернистыми. Полученные результаты свидетельствуют о том, что оба этих метода могут служить достоверным инструментом неразрушающего контроля состояния семян древесных лесных пород.

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

Архипов Михаил Вадимович, зав. лаб. биофизики семян, д-р биол. наук
E-mail: arhipov@spb.lanck.net

Гусакова Людмила Петровна, зав. сектором агрофизических основ жизнеспособности семян,
канд. биол. наук
E-mail: L-Gusakova@mail.ru

Прияткин Николай Сергеевич, ст. науч. сотр. сектора физ. методов исследования семян,
растений и среды их обитания, канд. технич. наук
E-mail: prini@mail.ru

Бондаренко Александр Сергеевич, начальник научно-исследовательского отдела лесной
селекции и биотехнологии, канд. с.-х. наук
E-mail: asbond@mail.ru

¹⁾ГНУ Агрофизический НИИ Россельхозакадемии
195220, Россия, Санкт-Петербург, Гражданский просп., д. 14
Тел. (812) 534-45-65, факс: (812) 534-19-00

²⁾ФБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства»
194021, Россия, Санкт-Петербург, Институтский пр., д. 21
Тел. (812) 552-80-26, факс: (812) 552-80-42

Современное состояние вопроса

В процессе переработки сырья семена лесных пород подвергаются воздействию различных факторов природного и техногенного характера. В результате конечный продукт (семенной материал) может содержать различные дефекты и аномалии. 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 [3]. При этом большое значение приобретают широко используемые в медицине интроскопические методы неразрушающего контроля биообъектов.

Одним из наиболее перспективных методов регистрации скрытых дефектов в семенном материале является микрофокусная рентгенография, позволяющая, 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 о его внутренних свойствах и являясь неразрушающим, обеспечивает в совокупности с другими методами (морфофизиологическим, биохимическим, люминесцентным и др.) более высокий уровень экспертной оценки качества семян.

Признание метода рентгенографии нашло отражение в производстве путем создания и аккредитации Министерством сельского хозяйства РФ в Агрофизическом институте независимой экспертной Лаборатории по рентгенографии, аттестованной в системе сертификации семян [2]. Метод реализован на практике в службах семенного и карантинного контроля и включен в соответствующие международные и отечественные стандарты [3].

В дополнение к существующим интроскопическим методам неразрушающего контроля биообъектов, газоразрядная визуализация семян растений — одно из интереснейших направлений применения этого метода.

Первые эксперименты были проведены в 70-х годах в Алма-Ате в лаборатории профессора В.М. Инюшина [6]. Результаты исследований 6-дневной динамики свечения зерен пшеницы выявили, что свечение зерна в фазе его прорастания резко увеличивалось по сравнению со свечением сухого, а в последующие дни уровень свечения снижался. На шестой день уровень свечения вновь возрастал, хотя и не достигал значения, зафиксированного в 1-й день [7].

Результаты сравнительного анализа газоразрядного свечения зерен 2-х сортов твердой пшеницы (Актюбинская 75 и Гордейформе 728) и двух сортов мягкой пшеницы (Корьянка и Сузорье) показали, что площадь свечения зерен внутри одного сорта в некоторых случаях отличалась более чем в 2 раза [8].

О.А. Буадзе с соавторами изучено 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 [5].

Группой исследователей изучалось влияние микроволновой обработки на семена рапса, ячменя и пшеницы с использованием метода газоразрядной визуализации. Качество посевного материала оценивалось традиционными методами исследований согласно общепринятым методам, применяемым в семеноводстве и растениеводстве, и по основным статическим характеристикам газоразрядного свечения (интенсивности и площади свечения). Наблюдалась более высокая интенсивность свечения семян озимого рапса сорта Прогресс, прошедших микроволновую обработку, что свидетельствует об их более высоком энергетическом потенциале [4].

Прияткиным с соавторами изучались характеристики ГРИ зерен пшеницы, в разной степени зараженных грибами, вызывающими фузариоз колосьев (*Fusarium spp.*). Исследованию подлежали семена, не имеющие видимых признаков поражения — «внешне здоровые» (группа 1), имеющие слабую (группа 2) и сильную (группа 3) степень пораженности возбудителем фузариоза колоса. Установлено, что внешне здоровые зерна характеризуются максимальными значениями параметров ГРИ — распределением яркости, коэффициентом формы и трехмерной фрактальностью — по сравнению инфицированными зерновками. ГРИ внешне здоровых зерновок отличаются большей изрезанностью контура и разнообразием спектра яркости, чем ГРИ инфицированных зерновок [9].

Целью наших исследований являлось изучение возможности определения качества семян лесных древесных пород с помощью методов неразрушающего контроля.

Задача исследований состояла в выполнении сравнительного анализа невсхожих и всхожих семян методами микрофокусной рентгенографии и газоразрядной визуализации.

Методика исследования

Для исследования были отобраны две стандартные пробы (№ 3 и № 35) из партий семян ели европейской *Picea abies* L. Место сбора семян — спелые насаждения ели европейской Ленинградской области естественного происхождения. Каждая проба содержала 96 семян. Для идентификации каждое семя — с индивидуальным номером — помещалось в отдельную лунку планшета.

Анализ состояния семян осуществляли в следующей последовательности:

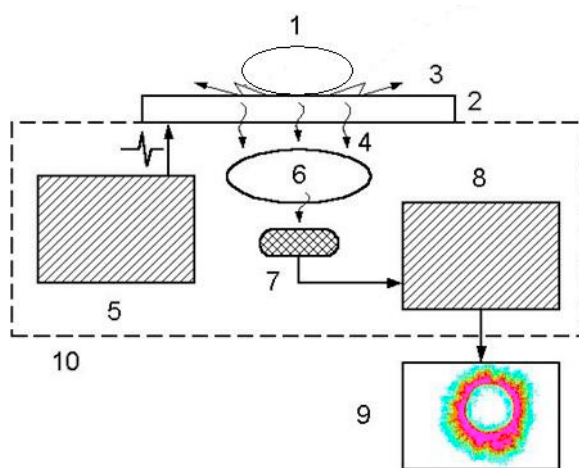
1. Определение состояния сухих семян методом газоразрядной визуализации.

2. Определение состояния сухих семян методом микрофокусной рентгенографии.

3. Определение всхожести семян (по ГОСТ 13056.6-97. Семена деревьев и кустарников. Метод определения всхожести). После выполнения анализа методами газоразрядной визуализации и микрофокусной рентгенографии

семена проращивались в течение 15 суток, при этом ежедневно проводились оценка всхожести и измерение 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. 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 (рис. 1).



- 1 — объект исследования;
- 2 — прозрачный электрод;
- 3 — газовый разряд;
- 4 — оптическое излучение;
- 5 — генератор;
- 6 — оптическая система;
- 7, 8 — видеопреобразователь;
- 9 — компьютер;
- 10 — корпус

Рис. 1. Схематическое изображение прибора для исследования характеристик газоразрядного свечения

При высокой напряженности поля в газовой среде пространства контакта объекта 1 и пластины 2 развивается лавинный и/или скользящий разряд, параметры которого определяются свойствами объекта. Свечение разряда с помощью оптической системы 6-8 преоб-

разуется в видеосигналы, которые записываются в виде одиночных кадров (ВМР-файлов), каждый из которых представляет собой пространственно распределенную группу участков свечения различной яркости (рис. 2) в компьютере 9.

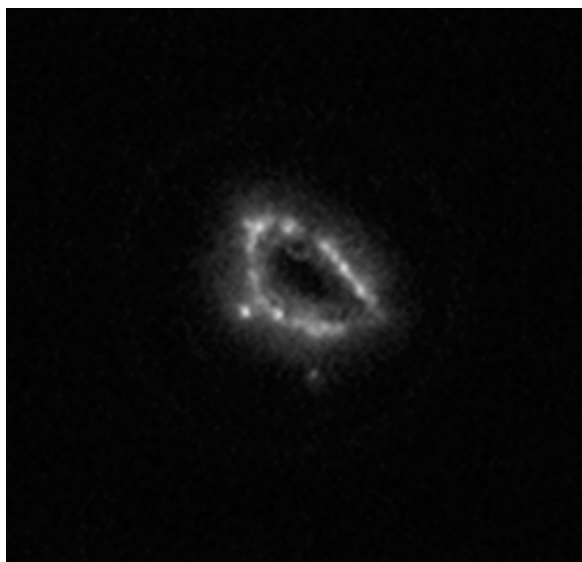
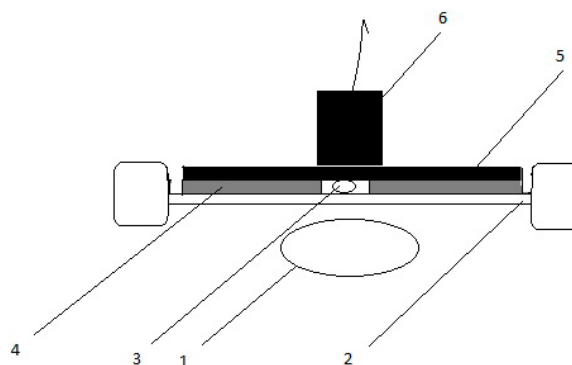


Рис. 2. Газоразрядное свечение семени ели европейской

Аппаратное обеспечение метода газоразрядной визуализации представлено серийным аппаратом «ГРВ Камера» (организация-разработчик и предприятие-производитель – ООО «Биотехпрогресс», Санкт-Петербург).

Процедуру съемки осуществляли в программе GDV Capture. Размер кадра 370 x 285 пикселей. Режим импульсного напряжения прибора 158 В.

Анализ изменений газоразрядных изображений (ГРИ) включал вычисление характеристик амплитудных, геометрических, яркостных, фрактальных и вероятностных параметров. Программную обработку осуществляли в программе GDV Scientific Laboratory. Уровень фильтрации шума – абсолютный, 30 относительных единиц. В программе выполнили расчет такого параметра газоразрядных изображений, как площадь свечения (пиксели). Схема устройства для съемки газоразрядного свечения семян представлена на рисунке 3.



- 1 – оптическая система (аналоговая камера);
- 2 – токопроводящий прозрачный электрод;
- 3 – семя;
- 4 – непрозрачная диэлектрическая пластина;
- 5 – заземляющий плоский электрод;
- 6 – металлический тест-объект

Рис. 3. Схема установки для измерения газоразрядного свечения семени

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

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

В экспериментальном блоке осуществляются: подготовка семян для рентгенографии, рентген-съемка семян и вывод рентгеновских снимков на экран монитора с предварительным визуальным просмотром, проращивание семян, анализ показателей энергии прорастания, всхожести, морфометрических параметров у проросших семян и зараженности фитопатогенами.

В программном блоке выполняются: разработка компьютерной программы анализа качества семян по их рентгенограммам, подготовка 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 микрофокусной рентгенографии, оценивались по яркости в баллах: 1 – рентгенограммы более темного цвета и 2 – рентгенограммы более светлого цвета.

Рентгенографическое исследование выполнено на рентгеновском комплексе «ПРДУ-2» (организация-разработчик и предприятие-производитель – ЗАО «Элтех-Мед», Санкт-Петербург).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием методов непараметрической статистики путем сравнения двух выборок с помощью критерия Манна-Уитни в программе Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Для проведения анализа семена были разделены на группы. Из всей выборки были отобраны пустые семена («группа 0») и семена, проросшие в течение 5-9 суток («группа 1»). Время прорастания фиксировалось для каждого семени в отдельности. Полученные результаты приведены в таблице.

Таблица

Результаты анализов семян ели европейской различными методами

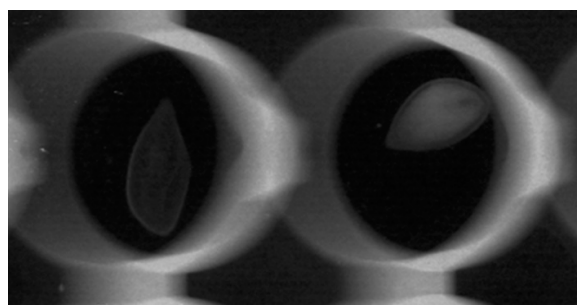
Номер пробы	Показатели по группам семян					
	Медиана длины корня семян, см		Медиана площади свечения – пиксели, шт.		Яркость рентгенограммы, балл	
	Группа «0»	Группа «1»	Группа «0»	Группа «1»	Группа «0»	Группа «1»
№ 3	0	4,3	0	882	1	2
№ 35	0	5,0	0	842	1	2

Сравнение групп 0 и 1 по длине корня на основе критерия Манна Уитни показало, что различия между указанными группами достоверны в обоих пробах ($U=0,00$; $p<0,05$).

Пустые семена не обнаружили газорядного свечения, в отличие от семян, впоследствии проросших (см. табл.). Сравнение групп 0 и 1 по площади свечения на основе критерия Манна Уитни показало, что различия между указанными группами достоверны: для пробы № 3 $U=0,00$; $p<0,05$; для пробы № 35 $U=24,00$; $p<0,05$.

Исследование методом микрофокусной рентгенографии выявило, что в обоих пробах рентгенограммы пустых семян характеризовались меньшей яркостью, в отличие от семян, впоследствии проросших (табл., рис. 4), что подтверждается данными статистического анализа. Сравнение групп 0 и 1 по баллу яркости на основе критерия Манна Уитни по-

казало, что различия между указанными группами достоверны: для пробы № 3 $U=0,00$; $p<0,05$, для пробы № 35 $U=40,50$; $p<0,05$.



Слева – пустое семя, справа – нормальное семя

Рис. 4. Фотографии семян, полученные с использованием метода микрофокусной рентгенографии

Отсутствие газоразрядного свечения пустых зерен может быть объяснено тем, что метод ГРВ чувствителен к влажности и электропроводности объекта. У пустых семян обе эти характеристики 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 пол-

нозерными) меньше ослабляют рентгеновское излучение и, соответственно, дают на рентгенограмме более темное изображение.

В заключение следует сказать, что полученные результаты свидетельствуют о возможности применения методов микрофокусной рентгенографии и газоразрядной визуализации в качестве достоверных инструментов неразрушающего контроля качества семян древесных лесных пород.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Архипов, М.В. Вопросы обеспечения биобезопасности агросырья в рамках доктрины продовольственной безопасности РФ / М.В. Архипов, И.В. Дерунов, Л.П. Гусакова, Л.П. Великанов, А.Г. Желудков, Н.Н. Потрахов // Аграрный эксперт. – 2009. – № 2 – С. 60-63.
2. Архипов, М.В. Проблемы хранения и эффективность оценивания качества зерна и семян / М.В. Архипов, И.М. Михайленко, Л.П. Гусакова, Л.П. Великанов, А.Г. Желудков, А.Н. Рогова, К.Б. Гурьева // IV Междунар. конгресс «Зерно и хлеб России» 11-13 ноября 2008 г. – СПб., 2008. – С. 36-38.
3. Архипов, М.В. Микрофокусная рентгенография растений / М.В. Архипов, Н.Н. Потрахов. – СПб.: Технолит, 2008. – 192 с.
4. Борисова, М.В. Газоразрядная визуализация – прогрессивный метод контроля физических методов воздействия на посевные качества семян / М.В. Борисова, Г.М. Войнов, А.А. Головач, Е.Е. Яновская // Тезисы XIII конгресса по биофотонике. Санкт-Петербург, 2009. – С. 29-30.
5. Буадзе, О.А. Изучение влияния гербицида 2.4Д на растительный организм с последующим защитным эффектом витамина В2 методом поверхностной газоразрядной визуализации (эффект Кирлиан) / О.А. Буадзе, К.Г. Коротков, П.А. Ратман // Сообщения АН ГССР. – 1989. – Т. 135. – № 1. – С. 193-196.
6. Инюшин, В.М. О биологической сущности эффекта Кирлиан (Концепция биологической плазмы) / В.М. Инюшин, В.С. Гриценко, Н.А. Воробьев. Алма-Ата: Изд-во КазГУ, 1968. – 45 с.
7. Коротков, К.Г. Эффект Кирлиан / К.Г. Коротков. – СПб.: Изд-во Ольга, 1995. – 215 с.
8. Мельничук, А.Д. Применение метода газоразрядной визуализации в селекции растений / А.Д. Мельничук, С.С. Лазаревич, А.З. Латыпов // Тезисы докл. междунар. науч. конгресса по медицинской и прикладной биоэлектрографии «Наука, Информация, Сознание». – Санкт-Петербург, 1999. – С. 32-33.
9. Прияткин, Н.С. Исследование влияния внешней среды на состояние растений на основе метода ГРВ биоэлектрографии / Н.С. Прияткин К.Г. Коротков, В.А. Куземкин, Т.Б. Дорофеева // Изв. вузов. Приборостроение. – 2006. – Т. 49. – № 2. – С. 67-72.