تجزیه و تحلیل بذر مبتنی بر اشعه X (قسمت دوم)

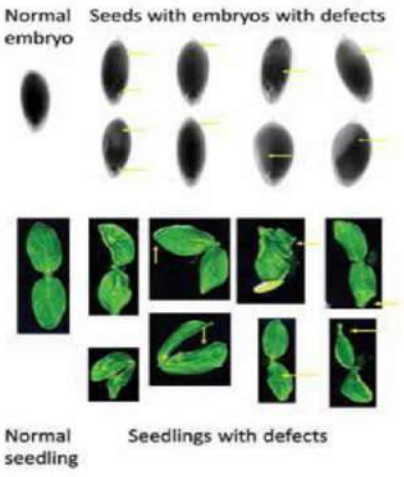
X-ray Based Seed Analysis (part two)

سعید شکیب منش

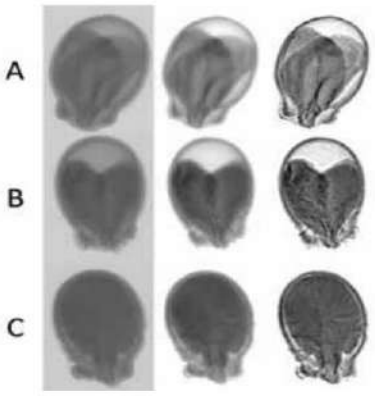
کارشناس ارشد علوم و تکنولوژی بذر، حوزه مدیریت بذر تحقیقات آموزش، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

بهبود تصاویر حاصله از اشعه ایکس

برای تولید تصاویر با وضوح بالا و داشتن کنتراست مناسب بین ساختارهای مختلف بذر، الزامات زیادی باید رعایت شود. کیفیت تصاویر "خام" را می‌توان با استفاده از فن‌آوری‌های پیشرفته دیجیتال بهبود بخشید. به عنوان مثال، تصاویر ۳ و ۴ بذور خیار و هندوانه که بسیار مناسب برای تصویربرداری اشعه ایکس هستند، را نشان می‌دهند. شکل تخت و تفاوت بالا در تراکم محتویات این بذور شرایطی را فراهم می‌کند که تولید تصاویر واضح از ساختارهای درونی بذر با استفاده از نرم افزارهای پردازش تصاویر در کنتراست و جزئیات می‌تواند بهبود یابد. تصویر ۳ به وضوح ناهنجاری‌های موجود در لپه‌های بذر خیار را نشان می‌دهد که دقیقا همان بذور هنگام جوانه‌زنی دارای نواقصی در گیاهچه‌ها هستند. در شکل ۴ می‌توان رشد جنین در بذر هندوانه را مشاهده کرد.



تصویر ۳. تصاویر اشعه ایکس بذر خیار با اشکال نامناسب مختلف لپه‌ها (نشان داده شده با فلش) و گیاهچه‌های حاصل از هر بذر. تصاویر، حاصل فعالیت Fytagoras Plant Science در کشور هلند می‌باشد.

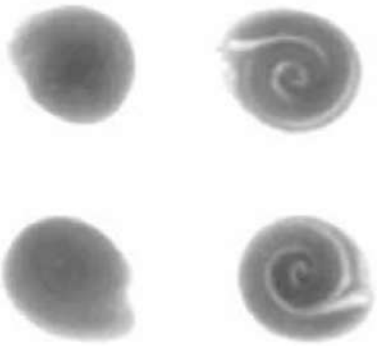


تصویر ۴. تصاویر اشعه ایکس حاصل از بذور جنین توسعه نیافته هندوانه (A,B) و جنین توسعه یافته یا نرمال (C). درجات مختلف تجزیه و تحلیل تصاویر خام (سمت چپ) می‌تواند تا حد زیادی کنتراست و توانایی دیدن ساختارهای داخلی بذر (وسط و راست) را فراهم نماید. تصاویر حاصل فعالیت Fytagoras Plant Science در کشور هلند می‌باشد.

تیمار بذور ممکن است به بهبود اختلاف تراکم درون بذر کمک کند و همچنین افزایش دهنده تفاوت در مورفولوژی انحرافی بین بذور شود. این مثال در مورد بذر گوجه فرنگی کاملا واضح است. تصویر اشعه ایکس از بذر گوجه فرنگی جزئیات بسیار کمی را نشان می‌دهد، مگر اینکه بذر از نظر فیزیولوژیکی آماده شده باشد (Argerich & Bradford, 1989).

برای افزایش کنتراست در ساختار داخلی بذر، می‌توان پرایمینگ (Priming) را اعمال کرد. پرایمینگ تکنولوژی است که بذور در سطوح کنترل شده و مشخصی رطوبت جذب می‌کنند و جذب آب و انجام فرآیندهای فیزیولوژیکی تا لحظه قبل از جوانه‌زنی (ظهور ریشه‌چه) ادامه پیدا می‌کند. در نتیجه، جوانه‌زنی مستقل بذور در یک توده بذری به حد زیادی هماهنگ خواهد شد. پس از پرایمینگ، تراکم پایین محتویات داخلی (ایجاد فضاهای خالی) در بذور گوجه فرنگی باعث می‌شود تصاویر حاصله

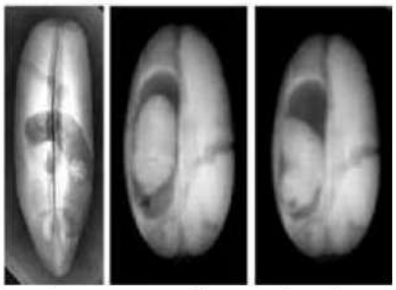
اشعه ایکس مورفولوژی داخلی بذر را بسیار خوب نشان دهد (تصویر ۵).



تصویر ۵. تصاویر اشعه ایکس از بذر گوجه فرنگی قبل (چپ) و بعد از پرایمینگ (راست). پرایمینگ در فضاهای کم تراکم اطراف جنین اتفاق می افتد که منجر به ایجاد تصویر واضح از ساختار جنین توسط اشعه ایکس می‌شود. تصاویر از Incotec Holding BV هلند.

روش‌های دیگری برای بهبود تصاویر حاصل از اشعه ایکس وجود دارد که شامل اضافه کردن محلول‌های بهبود دهنده‌ی کنتراست است. همانطور که در بذور Pinus و Picea نشان داده شده است برای این گونه‌ها، در روش کنتراست اشعه ایکس از عوامل متفاوتی از کنتراست یا رادیواکتیو مانند BaCl2 و NaI استفاده می‌کنند که نتایج موفقیت‌آمیز داشته است (Simak,1957; Kamra, 1963).

علاوه بر شرایط ساختارهای داخلی بذر (جنین، اندوسپرم، شکستگی، و غیره)، تصاویر اشعه ایکس نیز می‌تواند حضور حشرات و قارچ‌ها درون بذور را نیز آشکار کند. عکس ۶ و ۷ نشان دهنده مثال‌های در این مورد هستند.



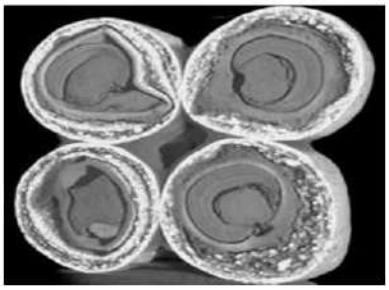
تصویر ۶. تصاویر اشعه ایکس هجوم سرخرطومی غلات (Sitophilus granarius) را به ترتیب در مرکز بذر چاودار و گندم نشان می‌دهد. تصاویر اقتباس شده از Demyanchuk و همکاران در ۲۰۱۳.

تصویر ۷. تصاویر اشعه ایکس گندم (چپ) و چاودار (راست) نشان می‌دهد که مرکز بذر به وسیله سن گندم (Eurygaster integriceps) خسارت دیده است. تصاویر اقتباس شده از Demyanchuk و همکاران در ۲۰۱۳.

از حالت دو بعدی (2D) به سه بعدی (3D)

همانطور که در بالا نشان داده شد، تصاویر اشعه ایکس معمولی از یک تصویر دو بعدی انتقال امواج اشعه ایکس از بذر سه بعدی تشکیل می‌شود. به همین دلیل این روش برای تشریح ساختارهای داخلی بذور که نحوه قرارگیری ثابت و یکسانی ندارند (مانند بذور تخت یا صاف در برابر بذور گرد و اشکال نامنظم) و بذور پوشش داده شده با تراکم بالا یا پلیت شده، زیاد مناسب نیست. توسعه نسبی اشعه ایکس سه بعدی (توموگرافی اشعه ایکس یا اشعه ایکس سه بعدی) این مشکلات را حل می‌کند. با کمک گسترده کامپیوتر در زمینه تجزیه و تحلیل و پردازش تصاویر، تصاویر اشعه ایکس از زوایایی مختلف به تکه‌های کوچک تصویر تبدیل می‌شود (مانند میکروسکوپ اسکن لیزر کانونیکال). نرم افزار رایانه می‌تواند این قسمت‌ها را به یک تصویر سه بعدی تبدیل کند. استفاده از این تکنولوژی نیازی به جهت‌گیری مشخصی از بذر ندارد و با ایزولاسیون تصاویر قادر به پردازش ساختارهای خاص (مثل جنین، پوشش دانه و غیره) می‌باشد. تصویر شماره ۸، تصویر اشعه ایکس سه بعدی از بذر پلیت شده (Pelleted) چغندرقند را نشان می دهد. اگر چه پیشرفت‌های مداوم در صنعت یارانه، سرعت تصویربرداری اشعه ایکس سه بعدی را در دهه گذشته

افزایش داد، ولی هنوز سرعت پردازش تصویربرداری با اشعه ایکس دو بعدی با امکانات موجود بیشتر است. پیش بینی می‌شود که در آینده نزدیک این عیب نیز مرتفع شود. در آینده ممکن است توصیف دقیق‌تر جزئیات خصوصیات اشعه ایکس، محدودیت‌ها و برنامه‌های کاربردی ارائه شود.



تصویر ۸. تصویر سه بعدی کامپیوتری اشعه ایکس از بذر پلیت شده چغندر قند را نشان می‌دهد. چهار بذر (به هم چسبیده) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌اند. تصاویر نمایی از داخل بذر را نشان می‌دهد به طوری که بذور به ظاهر به دو قسمت تقسیم شده‌اند. شکل نامنظم و همچنین جنین به طور واضح مشخص می‌باشد. ساختار ماده پلیت شده قابل مشاهده است. واضح است که بذور سمت چپ دو مرحله پلیت در مقابل بذور سمت راست تنها یک لایه پلیت را نشان می‌دهند. تصاویر، حاصل فعالیت Fytagoras Plant Science در کشور هلند می‌باشد.

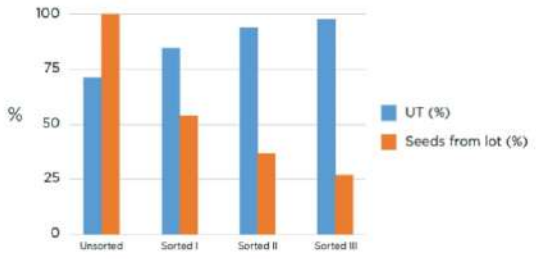
سورتینگ بذور بر اساس اشعه ایکس

با دیجیتالی کردن تصاویر اشعه ایکس و افزایش سرعت پردازش رایانه و همچنین ظرفیت ذخیره‌سازی دیجیتال، یک کاربرد جدید برای مثال استفاده از این تکنولوژی برای سورتینگ بذور مدنظر قرار می‌گیرد. در سال ۱۹۹۳ Liu و همکاران و در سال ۱۹۹۴ Van der Burg و همکاران نشان دادند که تجزیه و تحلیل مورفولوژی داخلی بذور گوجه فرنگی می‌توان امکان پیش‌بینی چگونگی ظهور گیاهچه را فراهم نماید. علاوه بر درصد جوانه‌زنی و میزان ویگور بذر، نشاهای قابل استفاده (Useable Transplants) که به تعداد گیاهچه‌های نرمال و یکنواخت گفته می‌شود و پارامتر اصلی مورد استفاده در کشت‌های گلخانه‌ای پیشرفته است می‌تواند به این شیوه برآورد گردد(شکل ۹ را مشاهده کنید).

تصویر ۹. نشاءهای گوجه‌فرنگی از یک توده بذری به دست آمده‌اند. گیاهچه‌ای که با دایره آبی نشان داده شده است می‌تواند در بسیاری از آزمون‌های مختلف طبیعی و نرمال باشد، اما به دلیل داشتن اندازه‌ای کوچکتر از حد معمول یک امتیاز منفی در نشاءهای قابل انتقال (Useable Transplant (UT)) به حساب می‌آید. تصاویر از Incotec Holding BV هلند.

یافته‌های Van den Burg باعث الهام بخشیدن به تکنولوژی بذر شد که زمینه‌ساز تولید سیستم‌های خودکار سورتینگ بذر گوجه‌فرنگی مبتنی بر اشعه ایکس را فراهم کرد. بذر گوجه فرنگی هیبرید گران است، اما با کیفیت استاندارد تنها ۷۵ درصد نشاء قابل دسترس(Useable Transplants) است، که هنوز امکان بهبود شرایط وجود دارد، چون همه توده‌های بذری قادر به دست‌یابی به این سطح کیفیت نیستند. در ابتدا در سال ۱۹۹۴، یک گروه بزرگ از شرکت‌های هلندی و شرکت‌های تکنولوژی بذر، کارگروهی تشکیل دادند که به دنبال همکاری‌های علمی و فنی بودند. در نهایت، این امر منجر به معرفی اولین دستگاه سورتینگ بذر اتوماتیک گوجه‌فرنگی در جهان با استفاده از تکنولوژی اشعه ایکس در سال ۲۰۰۷ توسط Incotec شد. به طور کلی، سیستم‌های سورتینگ بذر بر اساس این تکنولوژی به وسیله سینی‌های مشبک برای جدا کردن تک‌تک بذور استفاده می‌شود. از هر صفحه مشبک یک تصویر تولید می‌شود که پس از تجزیه و تحلیل به وسیله رایانه تصاویر با کیفیت از تک‌تک تمامی بذور ایجاد می‌شود. نرم‌افزار تجزیه و تحلیل برای هر بذر بر اساس کیفیت آن‌ها به قطعات کیفی مختلف طبقه‌بندی می‌شوند. با

توجه به تغییرات بالا در مورفولوژی داخلی، بین ارقام و بین توده‌های بذر، لازم است که برای هر توده‌ای بذری آزمون ورودی صورت گیرد. این تجزیه و تحلیل تصاویر اشعه ایکس و جوانه‌زنی تعداد محدودی از بذور است. از این‌رو، روشن می‌شود که رابطه دقیق بین کیفیت تصاویر اشعه ایکس و کیفیت نشاء تولیدی چیست و به همین ترتیب چه مقدار می‌توان آن را ارتقاء داد و چه میزان از بذور استحصال دارند. تصویر ۱۰ نشان می‌دهد چگونه با افزایش نهایت کیفیت، تعداد بذور باقی مانده، کاهش می‌یابد. در نتیجه، آزمون ورودی مورد نظر امکان انتخاب متعادل چگونگی ارتقاء توده بذری را فراهم می‌کند.



تصویر ۱۰. نمودار درصد گیاهچه قابل انتقال (Useable Transplant (UT)) در ارتباط با درصد توده انتخابی (خروجی) در دستگاه‌های سورتینگ ارتقاء دهنده اشعه ایکس توده بذری گوجه‌فرنگی را نشان می‌دهد. از نمودار می‌توان مشاهده کرد که سورتینگ اشعه ایکس درصد گیاهچه قابل انتقال (UT) را به میزان قابل توجهی در مقایسه با بذور پرایم سورت نشده، افزایش می‌دهد. گزینه‌های مختلف سورتینگ اشعه ایکس نشان می‌دهد با کاهش هزینه روی درصد بذور تولید شده افزایش درصد گیاهچه‌های قابل انتقال (UT) می‌تواند حاصل شود. تصاویر از Incotec Holding BV هلند.

در سال‌های اخیر، چندین تکنولوژی سورتینگ مبتنی بر پایه‌ی اشعه ایکس در دسترس قرار گرفت و تعداد محصولاتی که می‌توان آن‌ها را سورت کرد نیز افزایش یافته و در حال حاضر شامل بذور با ارزش خلوص بالا، مانند بذور فلفل، خیار و خربزه است. با وجود سیستم‌های سورتینگ در بازار، ارتقا بذور سبزی و صیفی با ارزش بالا به وسیله اشعه ایکس، ممکن است دیگر خارق‌العاده به نظر نرسد. با این حال، این فن‌آوری هنوز جوان و نوپا است و پیشرفت‌های بیشتری لازم دارد و انتظار می‌رود از لحاظ کارایی، بهروری و سرعت توسعه یابد.

اشعه ایکس در آزمون بذر

اگرچه استفاده از اشعه ایکس در آزمون بذر و تحقیقات بذر شایع شده است اما این تکنولوژی برای آزمون رسمی بذر، مانند آنچه توسط قوانین آزمون ISTA توصیف شده است، هنوز معمول نشده است. در حال حاضر روش‌های آزمون بذر به وسیله‌ای اشعه ایکس تنها در کتابچه راهنمای آزمون ISTA برای تست بذور درخت و درختچه ثبت شده است (Simak، 1991).

تجزیه و تحلیل بذر مبتنی بر اشعه ایکس ممکن است به طور خاص به آزمون‌هایی که در آن شرایط جنین مهم است، کمک کند. در این راستا، مرحله رشد جنین، آسیب (ترک، حشرات) و انحرافات مورفولوژیکی جنبه‌هایی است که می‌تواند با استفاده از تصویربرداری اشعه ایکس مورد ارزیابی قرار گیرد. با این حال، باید در نظر داشت که اشعه ایکس فقط مرفولوژی داخلی بذر را نشان می‌دهد و نمی‌تواند بگوید که جنین مرده است یا زنده است. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل خواص آزمایشات می‌تواند با استفاده از تصویربرداری اشعه ایکس انجام شود. بنابراین می‌توان به تجزیه و تحلیل جنین در شرایط بعداز پرایمینگ، ضخامت و همگن بودن پوشش بذور و مواد پلیت شده فکر کرد.

منبع

Bruggink, H. Duijn, B. (2017). X-ray Based Seed Analysis. International Seed Testing Association News Bulletin No. 153 April 2017.