

УДК 632.4.01/.08:535.37

Т.А. ГУРОВА, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующая лабораторией,
О.С. ЛУГОВСКАЯ, младший научный сотрудник,
Е.А. СВЕЖИНЦЕВА, младший научный сотрудник

Сибирский физико-технический институт аграрных проблем СФНЦА РАН
630501, Россия, Новосибирская область, пос. Краснообск
e-mail: guro-tamara@yandex.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИРТУАЛЬНОГО ПРИБОРА «ЛИСТОМЕР» ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛОЩАДИ ПОРАЖЕНИЯ ЛИСТЬЕВ

Представлены результаты применения разработанного в Сибирском физико-техническом институте аграрных проблем СФНЦА РАН виртуального прибора «ЛИСТОМЕР», предназначенного для определения общей и поврежденной площади листьев растений и степени их поражения болезнями, вредителями и иными факторами окружающей среды. Всего проанализировано 38 образцов яровой мягкой пшеницы сорта Новосибирская 89 и дикорастущих злаков: пырея ползучего и костреца безостого с признаками поражения бурой листовой ржавчиной, септориозом и мучнистой росой. Методика измерений включала сканирование листа с последующей обработкой цифрового изображения на приборе «ЛИСТОМЕР». На полученной полихромной проекции листа с признаками болезни визуально выбирался характерный цвет пораженной части, отсортированный методами цветовой фильтрации из общей площади листа с последующим вычислением площади поражения как в абсолютных, так и в относительных единицах. Для определения развития болезни использовались также стандартные методики и шкалы оценки интенсивности поражения в процентах или баллах. Бурая листовая ржавчина оценивалась по шкале Т.Д. Страхова, септориоз – по шкале Джеймса, мучнистая роса – согласно методике Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. С помощью виртуального прибора «ЛИСТОМЕР» производится статистическая обработка информации, формируются базы экспериментальных данных. Прибор позволяет с достаточной точностью определять общую и поврежденную площадь листьев, учитывать степень поражения растений для стандартизации результатов количественного учета некоторых болезней.

Ключевые слова: виртуальный прибор «ЛИСТОМЕР», компьютерные технологии, яровая пшеница, дикорастущие злаки, площадь поражения листьев.

От площади листьев и динамики их формирования зависят коэффициенты поглощения растением фотосинтетически активной радиации (ФАР). При поражении болезнями на листовых пластинках появляются характерные пятна, некрозы, ведущие к сокращению ассимиляционной поверхности листа, в результате чего снижается фотосинтетическая продуктивность, прямо влияющая на урожайность [1–6]. Площадь пораженной поверхности может служить также и показателем устойчивости растений к болезням, в том числе к возбудителям ржавчины, септориоза, мучнистой росы и других заболеваний, симптомы которых проявляются в том числе на листьях [7–9]. В селекционных программах при изучении наследования признака устойчивости необходима точная оценка, сопряженная с продолжительным по времени анализом степени поражения листьев растений возбудителями болезней с целью определения динамики развития болезни и понимания механизма генетического контроля видовой и сортовой устойчивости к болезням [10, 11].

Существуют различные способы определения площади листьев растений: измерение длины и ширины листа с умножением на эмпирический коэффициент, весовой способ, метод шаблонов. Указанные приемы характеризуются низкой производительностью, существенными погрешно-

стями и субъективностью [12]. Для учета площади и степени поражения растений болезнями используется глазомерная балловая оценка или оценка по специальным шкалам [13, 14]. Результаты оценки при этом напрямую зависят от квалификации исследователя и варьируют в значительных пределах. Актуальна разработка высокопроизводительных и точных методов определения площади листьев, особенно пораженной их части. С этой целью создаются новые способы определения общей площади листьев с использованием компьютерных технологий [15, 16]. В Сибирском физико-техническом институте аграрных проблем (СибФТИ) разработаны методы приборной диагностики [17, 18], создана компьютерная программа для определения как общей, так и площади поражения листьев растений, обеспечивающая автоматизированный инструментальный контроль данных показателей – виртуальный прибор «ЛИСТОМЕР» [19, 20].

Цель работы – показать возможности использования виртуального прибора «ЛИСТОМЕР» в диагностике растений на примере оценки степени поражения дикорастущих и культурных злаков листовыми болезнями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили на образцах яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Новосибирская 89 (опытное поле Сибирского НИИ растениеводства – филиала ИЦиГ СО РАН, пос. Краснообск) и дикорастущих злаков – пырея ползучего (*Elytrigia repens* L.) Nevski (*Agropyron repens* L.) Beauv и костреца безостого (*Bromopsis inermis* Leys.), пораженных бурой листовой ржавчиной (spp. *Puccinia*), септориозом (spp. *Septoria*), мучнистой росой (spp. *Blumeria*).

Всего проанализировано 38 образцов, из которых у 34 имелись признаки поражения возбудителями одного вида, у 4 – признаки поражения комплексом возбудителей.

Входными данными для определения площади являлись изображения листьев растений, полученные при помощи сканера; для большего сходства с оригиналом изображения контрастно сканировались с разрешением не ниже 150 dpi при 8-битной цветности (от 0 до 256 цветов) и сохранялись в файлах формата bmp.

Выходными данными для определения площади являлись шаблон объекта (8-битная цветовая модель RGB), числовые значения общей площади листа и пораженной его части.

Для измерения площади листа на виртуальном приборе «ЛИСТОМЕР» создавалась при помощи планшетного сканера Epson Perfection V200 Photo полихромная проекция листа растения (шаблон объекта) и формировался на компьютере соответствующий bmp-файл. Далее отсканированное изображение (шаблон объекта) обрабатывалось на виртуальном приборе «ЛИСТОМЕР» с определением общей площади листа в абсолютных и относительных единицах. При определении площади поражения листа для полученного сканированием шаблона (полихромной проекции листа с признаками болезни) на приборе визуально выбирался характерный цвет пораженной части, который методами цветовой фильтрации (с помощью параметра чувствительности в диапазоне от 50 до 150 тонов цвета) на виртуальном приборе автоматически выделялся из общей

площади листа с последующим вычислением площади поражения как в абсолютных, так и в относительных единицах. Все результаты вычисления протоколировались и сохранялись в текстовом файле в виде таблицы, где указывались номер исследуемого листа, дата проводимых исследований, название эксперимента и т.д. Данную таблицу можно выводить на печать, а также использовать при статистической обработке. Приведенная погрешность результата составляла 1,16 %, при этом погрешность виртуального прибора «ЛИСТОМЕР» была незначительной (0,16 %). Время определения площади одного листа растения составляло от одной до полутора минут.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение площади и степени поражения листьев проводили как на виртуальном приборе «ЛИСТОМЕР», так и по стандартным, принятым в фитопатологии методикам и шкалам, характеризующим интенсивность поражения в процентах или баллах: бурой листовой ржавчиной – по шкале Т.Д. Страхова [21], септориозом – по шкале Джеймса [22], мучнистой росой – по шкале ВИР, согласно методике Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур [21].

При использовании стандартной шкалы различают действительный процент пораженной площади, который фиксируется визуально (например, процент площади листа, занятый пустулами бурой листовой ржавчины), и условный, который выше фактического и включает поражение, которое визуально определить невозможно [23, 24]. Так, если 38–40 % площади листовой пластинки покрыто пустулами бурой ржавчины, лист погибает, то есть условный процент в данном случае принят за 100. Оценку с помощью шкал проводят, сравнивая пораженный орган со шкалой и выбирая наиболее подходящую градацию.

Определение площади поражения бурой листовой ржавчиной листьев растений мягкой яровой пшеницы сорта Новосибирская 89 в период выхода в трубку – колошения, показало несовпадение визуальной оценки площади поражения образцов посредством шкалы Т.Д. Страхова и сделанной с помощью виртуального прибора «ЛИСТОМЕР». Различия отмечены в четырех случаях из 10 (рис. 1, табл. 1), что может быть связано как со значительными величинами зоны непрерывности шкалы при визуальной оценке, так и с недостаточной отработкой методики приборной оценки. Отметим, что варьирование характеристик при оценке может приводить к необоснованной выбраковке селекционного материала. Данный факт становится особенно важным в селекционных исследованиях.

Площадь пораженной листовой поверхности образцов мягкой яровой пшеницы сорта Новосибирская 89, взятых в период налива зерна (когда признаки поражения бурой листовой ржавчиной максимально выражены), определенная по шкале Т.Д. Страхова и при помощи прибора «ЛИСТОМЕР», у всех растений составляла 38–40 %, что соответствовало 100%-й степени поражения (рис. 2).

При оценке поражения бурой листовой ржавчиной образцов костреца безостого на виртуальном приборе «ЛИСТОМЕР» было получено большее значение площади (30 %) и соответственно степени поражения (65 %), чем при визуальной оценке (10–20%-я площадь поражения и 25–45%-я сте-

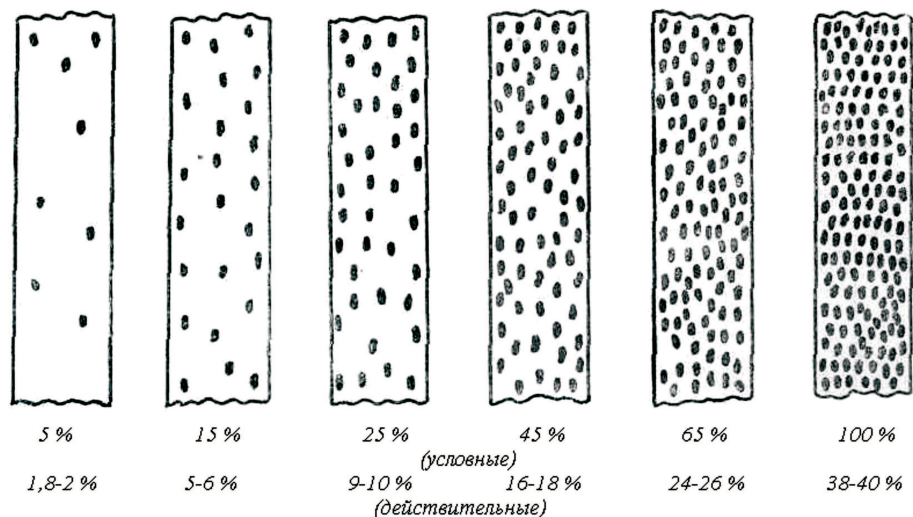


Рис. 1. Шкала Т.Д. Страхова для определения степени поражения листьев злаковых растений бурой листовой ржавчиной

Таблица 1
Результаты оценки степени поражения листьев растений яровой пшеницы сорта Новосибирская 89 бурой листовой ржавчиной

Номер образца	Площадь всего листа, см ²	Площадь пораженной части листа		Степень поражения листа	
		визуальная, оценка, %	автоматизированное определение, %	визуальная оценка, %	автоматизированное определение, %
1	21,042	0	0	0	0
2	18,720	9-10	15,7	25	45
3	18,657	1,8-2	2,5	5	5
4	17,793	1,8-2	0,9	5	0
5	17,610	5-6	8,4	15	25
6	18,268	5-6	5,8	15	15
7	20,182	16-18	25,7	45	65
8	19,548	9-10	13,3	25	25
9	20,646	1,8-2	2,8	5	5
10	19,848	16-18	17,5	45	45

пень поражения). Такое расхождение результатов обусловлено тем, что при глазомерной оценке используется стандартная шкала с большой степенью дискретности показателей, а измерения с использованием методов цветовой фильтрации на виртуальном приборе «ЛИСТОМЕР» позволяют получить более точные данные о степени поражения листа.

Степень поражения образцов костреца безостого септориозом, определенная по шкале Джеймса и на приборе «ЛИСТОМЕР», совпадала и составляла 25 % (рис. 3, 4).

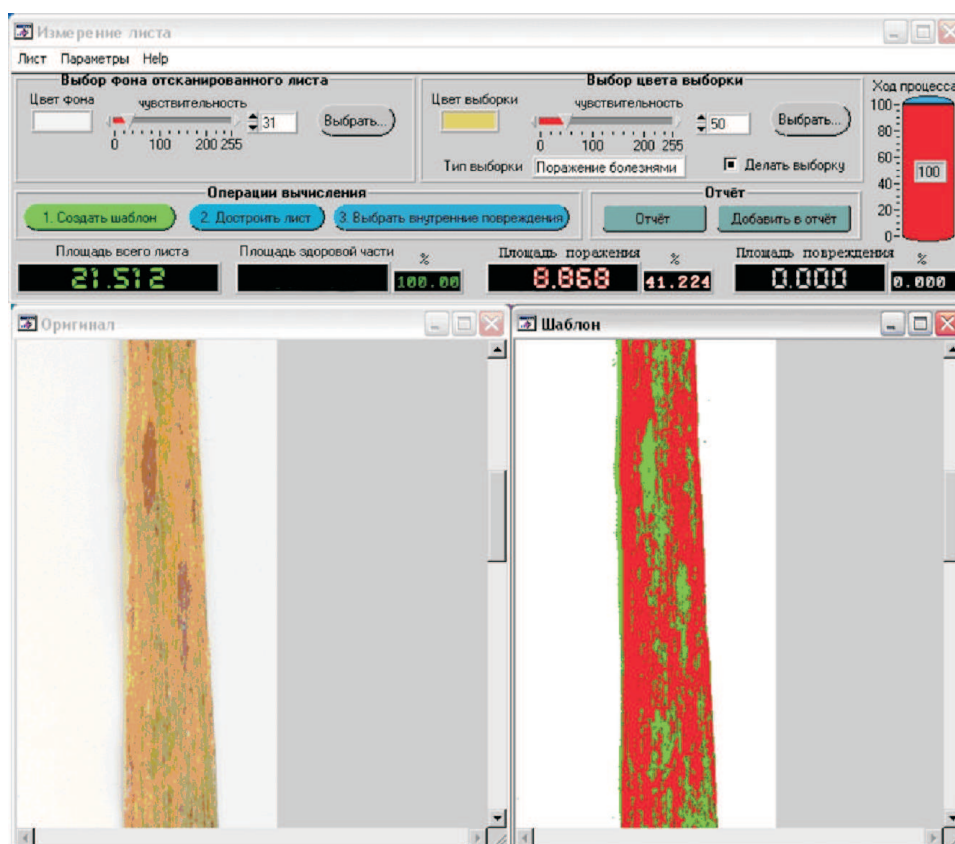


Рис. 2. Определение степени поражения листьев яровой пшеницы бурой листовой ржавчиной на виртуальном приборе «ЛИСТОМЕР»

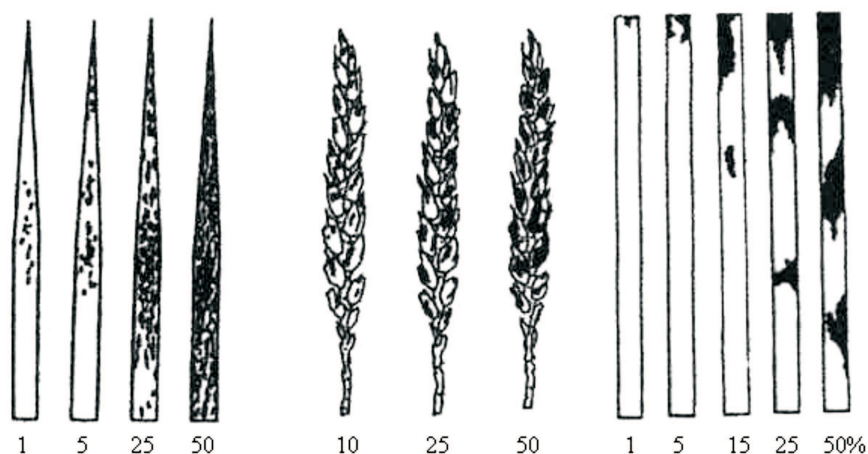


Рис. 3. Шкала Джеймса для определения степени поражения листьев злаковых растений септориозом

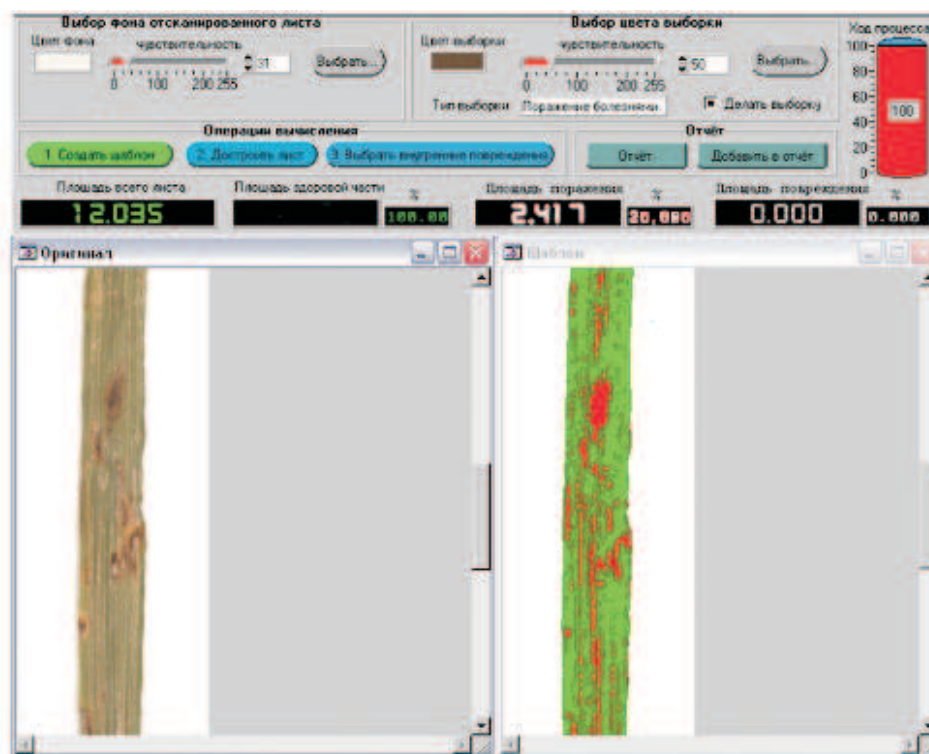


Рис. 4. Определение степени поражения образцов костреца безостого септориозом на виртуальном приборе «ЛИСТОМЕР»

Степень поражения всех образцов мягкой яровой пшеницы септориозом, определяемая по шкале Джеймса, превышала 50 %, тогда как результаты ее измерения на приборе варьировали от 74 до 96 %, что подтверждает более высокую точность приборной оценки по сравнению с визуальной шкалой.

Оценка поражения мучнистой росой по стандартной шкале образцов пырея ползучего (50–75 %) показывает большой разброс результатов, тогда как степень поражения, определенная на приборе «ЛИСТОМЕР», составляла для этого злака 62 %.

Следует отметить возможность использования виртуального прибора «ЛИСТОМЕР» для количественного определения не только общей площади поражения листовой поверхности при поражении комплексом возбудителей, но и каждым возбудителем отдельно по характерным симптомам проявления болезни.

ВЫВОДЫ

Полученные предварительные результаты апробации прибора показали возможность снижения субъективности в оценках при определении площади поражения растений болезнями, что подтверждает необходимость дальнейших углубленных исследований в данном направлении.

Виртуальный прибор «ЛИСТОМЕР» позволяет оперативно и с достаточной точностью оценивать общую и площадь поражения листьев возбудителями болезней растений, статистически обрабатывать получаемую информацию, формировать и накапливать базы экспериментальных данных, что может существенно повысить эффективность исследований в селекционном процессе.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Мокроносов А.Т. Фотосинтетическая функция и целостность растительного организма. – М.: Наука, 1983. – 64 с.
2. Коваль С.Ф., Шаманин В.П. Растение в опыте // ИЦИГ СО РАН, ОмГАУ. – Омск, 1999. – 204 с.
3. Самуилов Ф.Д., Мухитов Л.А. Особенности формирования листовой поверхности у сортов яровой пшеницы различного эколого-географического происхождения в лесостепи Оренбургского Предуралья // Докл. РАСХН. – 2008. – № 4. – С. 9–12.
4. Бесалиев И.Н. Площадь листьев яровой твердой пшеницы в Оренбургском Предуралье в связи с технологией возделывания // Бюл. Оренбургского научного центра Уро РАН. – 2016. – № 1. – С. 1–9. – [Электронный ресурс]: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/BIN-2016-1.pdf>.
5. Юсов В.С., Евдокимов М.Г. Влияние площади флагового листа и длины остей на формирование массы зерна главного колоса твердой пшеницы // Вестн. Алт. гос. ун-та. – 2011. – № 11(85). – С. 71–74.
6. Альт В.В., Ашмарина Л.Ф., Власенко А.Н., Гурова Т.А. и др. Болезни, сорняки и вредители зерновых культур в условиях Сибири: практическое руководство / СО РАСХН. – Красноярск, 1997. – 84 с.
7. Мохова Л.М. Селекционно-иммунологические аспекты устойчивости пшеницы и тритикале к возбудителю *Septoria tritici* Rob.et.Desm: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Краснодар, 2008. – 16 с.
8. Плотнокова Л.Я., Рутц Р.И., Жарков Н.А. и др. Устойчивость к бурой ржавчине селекционного материала мягкой пшеницы, полученного на основе межвидовых гибридов *Triticum aestivum* × *Triticum durum* // Омский научный вестник. – 2012. – № 1 (108). – С. 171–174.
9. Березина В.Ю., Гурова Т.А. Автоматизированный комплекс измерительной аппаратуры для оценки устойчивости растений к стрессовым факторам среды // Достижения науки и техники АПК. – 2006. – № 11. – С. 15–17.
10. Тырышкин Л.Г. Генетическое разнообразие пшеницы и ячменя по эффективной устойчивости к возбудителям и возможности его расширения: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – СПб., 2007. – 40 с.
11. Орлова Е.А., Сочалова Л.П., Христов Ю.А. и др. Результаты изучения зерновых культур на устойчивость к листовым и головным болезням в условиях лесостепи Приобья // Селекция сельскохозяйственных растений на высокую урожайность, стабильность и качество: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Омск: Вариант-Омск, 2012. – С. 39–44.
12. Соломко О.Б., Ключкова О.С., Цветков Г.В. Методика определения площади листьев. – [Электронный ресурс]: <http://agrosbornik.ru/innovaciil/106-2011-10-09>.
13. Танский В.И., Левитин М.М. и др. Экологический мониторинг и методы совершенствования защиты зерновых культур от вредителей, болезней и сорняков: метод. рекомендации. – СПб., 2001. – 58 с.
14. Койшыбаев Мурат., Муминджанов Хафиз. Методические указания по мониторингу болезней, вредителей и сорных растений на посевах зерновых культур. – Анкара, 2016. – 28 с.
15. Сероклинов Г.В., Хайдуков Д.С. Компьютерные технологии при оценке площади плоских фигур // Ползуновский вестник. – 2011. – № 2–2. – С. 290–293.
16. Курьянов С.А., Гордеев А.С. Методика массовых измерений площади листьев растений // Вестн. Мичуринского ГАУ. – 2015. – С. 193–201.
17. Алейников А.Ф. Методы построения приборов для измерения площади листьев растений // Технические средства и методы обеспечения биологических экспериментов в сельскохозяйственной науке. – Новосибирск, 1986. – С. 32–42.
18. Денисюк С.Г., Беребердин Н.А., Безменов В.В. Автоматизированная оценка степени поражения растений листовыми болезнями // Методы и технические средства исследований

- физических процессов в сельском хозяйстве: сб. науч. тр. РАСХН. Сиб. отд.-ние. Сиб-ФТИ. – Новосибирск, 1996. – Ч. 2. – С. 41.
19. **Альт В.В., Боброва Т.Н., Гурова Т.А. и др.** Компьютерные информационные системы в агропромышленном комплексе. – Новосибирск, 2008. – 220 с.
 20. **Карта ИКАП ЦИТИС № 50201350033.** Компьютерная программа «Определение площади и степени поражения листьев растений» (Виртуальный прибор «ЛИСТОМЕР») / В.В. Альт, Т.Н. Боброва, Л.А. Колпакова, А.Ю. Андреев – опубл. 11.01.2013.
 21. **Методика** государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. – М., 1985. – Вып. 2, ч. 2. – 230 с.
 22. **Ченкин А.Ф., Захаренко В.А., Белозерова Г.С.** Фитосанитарная диагностика / Под ред. А.Ф. Ченкина. – М.: Колос, 1994. – 323 с.
 23. **Гордеева Е.И., Крюкова А.В., Курбатова З.И.** Иммуитет растений: учеб. пособие. – Великие Луки, 2011. – 156 с.
 24. **Шамрай С.Н., Глушенко В.И.** Основы полевых исследований в фитопатологии и фитоиммунологии. – Харьков, 2006. – 64 с.

Поступила в редакцию 08.11.2016

**T.A. GUROVA, Candidate of Science in Agriculture, Laboratory Head,
O.S. LUGOVSKAYA, Junior Researcher,
E.A. SVEZHINTSEVA, Junior Researcher**

Siberian Physical-Technical Institute of Agrarian Problems, SFSCA RAS

Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia

e-mail: guro-tamara@yandex.ru

USE OF THE VIRTUAL TOOL LISTOMER FOR MEASURING LESION AREAS ON LEAVES

Results are given from studies on using a computer-based program, called the virtual tool LISTOMER, which has been developed at the Siberian Physical-Technical Institute of Agrarian Problems, and intended for measuring total and affected areas of the plant leaves and identifying degrees of plant affections with diseases, pests, and other environmental factors. Thirty eight plant samples of Novosibirskaya 89 cultivar of spring common wheat, creeping wheat and awnless bromegrass with signs of brown rust, Septoria disease and powdery mildew were analyzed. The measuring procedure included scanning of a leaf with signs of a disease, producing a multicolored projection, followed by digital image processing with LISTOMER. The affected leaf area was singled out from the total area, and marked with color. Then, the quantitative characteristics of the affected area were calculated in both absolute and relative units. The standard scales and methods for estimating the intensity of lesions in per cents or scores were used. Brown rust was estimated on the Strakhov's scale, Septoria disease on the James scale, and powdery mildew on the scale developed at the N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry. The virtual tool LISTOMER is used to process statistical data and create experimental data bases. It allows determining total and affected leaf areas with the necessary accuracy, and recording degrees of plant affections to standardize quantifiable findings as to certain diseases.

Keywords: virtual tool LISTOMER, computer-based technologies, spring wheat, wild grasses, leaf affection area.