

Методы морфологической идентификации плодов череды волосистой (*Bidens pilosa* L., Asteraceae): разработка и проверка применимости

* КУЛАКОВ В.Г.¹, ПОТАНИНА С.О.², КУЛАКОВА Ю.Ю.³

^{1,2,3} ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

¹ ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru

² e-mail: enkoletta@yandex.ru

³ ORCID 0000-0002-9973-7584, e-mail: thymus73@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Черда волосистая (*Bidens pilosa* L., Asteraceae) является сорным растением и карантинным объектом, отсутствующим на территории Евразийского экономического союза. Проникновение инвазионных растений часто происходит с импортируемым грузом на стадии покоящихся диаспор, для данного растения представленных плодами. Для противодействия проникновению используется лабораторное исследование партий груза на выявление плодов карантинного объекта. Идентификация плодов череды волосистой при лабораторных исследованиях затруднена наличием близких и сходных некарантинных сорных видов с широким ареалом, таких как *B. subalternans* DC. и *B. parviflora* Willd., а также возможна неверная идентификация близкого карантинного вида *B. bipinnata* L. Дополнительную сложность создает отсутствие международных, региональных или национальных методик идентификации. ФГБУ «ВНИИКР» разработало методику идентификации плодов череды волосистой в 2015 г., но до настоящего времени не проводилась ее проверка на репрезентативном материале, накопленном в результате экспедиционных исследований. В рамках данного исследования проведена оценка применимости существующей методики и рассмотрена возможность идентификации плодов череды волосистой по иным признакам на выборке из 431 плода из местообитаний широкой географической представленности, включая плоды близких и сходных видов. Определена правильность существующего метода идентификации на исследуемой выборке в 69,4%. Изучены иные методы идентификации, основанные на 12 морфологических признаках плодов и их комбинациях. Метода, обеспечивающего идентификацию плодов череды волосистой с достаточной лабораторной правильностью (не менее 95%), не выявлено. Даны рекомендации по выражению неопределенности существующего метода в испытательных лабораториях.

Morphological identification methods of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) fruits: development and applicability testing

* VITALY G. KULAKOV¹, SOFYA O. POTANINA², YULIANA YU. KULAKOVA³

^{1,2,3} FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIICR"), Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia, 140150

¹ ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru

² e-mail: enkoletta@yandex.ru

³ ORCID 0000-0002-9973-7584, e-mail: thymus73@mail.ru

ABSTRACT

Bidens pilosa L. (Asteraceae) is a weed and a quarantine object absent in the territory of the Eurasian Economic Union. The entry of invasive plants often occurs with imported cargo at the stage of dormant diaspores, represented by fruits for this plant. To prevent the entry, laboratory research is used to identify the fruits of the quarantine object in cargo batches. Identification of *Bidens pilosa* fruits during laboratory research is handicapped by the presence of similar non-quarantine weed species with a wide range, such as *B. subalternans* DC. and *B. parviflora* Willd., as well as the possibility of incorrect identification of the close quarantine species *B. bipinnata* L. Additional complexity is created by the lack of international, regional or national identification methods. In 2015, FGBU "VNIICR" developed a methodic document for identifying *Bidens pilosa* fruits, but it has not yet been tested on a representative sample accumulated as a result of expeditionary research. Within this study, the applicability of the existing methodology was evaluated, and the possibility of identifying *Bidens pilosa* fruits by other characteristics was considered in a sample of 431 fruits from habitats with a wide geographical representation, including fruits of similar species. The accuracy of the existing identification method on the examined sample was determined to be 69.4%. Other identification methods based on 12 morphological fruit characteristics and their combinations were studied. A method providing identification of *Bidens pilosa* fruits with sufficient laboratory accuracy (not less than 95%) was not identified. Recommendations are given for expressing uncertainty in the existing method in testing laboratories.

Ключевые слова. Карантин растений, испытательные лаборатории, неопределенность морфологических методов идентификации, морфометрия, сорные растения.

ВВЕДЕНИЕ



Череда волосистая *Bidens pilosa* L. – растение, внесенное в единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза в статусе отсутствующего карантинного вредного организма (Решение Совета ЕЭК..., 2016).

Как и для иных подобных карантинных объектов, для данного растения основной из применяемых фитосанитарных мер, предотвращающих проникновение и акклиматизацию, является контроль отсутствия в импортируемой заражаемой (засоряемой) продукции. Факт наличия или отсутствия заражения (засорения) устанавливается в процессе проведения лабораторного исследования (испытания) образцов (проб) продукции испытательными лабораториями, аккредитованными национальным органом по аккредитации в соответствии с законодательством Российской Федерации. Практически сложилась система аккредитации испытательных лабораторий на соответствие требованиям ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий», устанавливающим в том числе необходимость применения лабораторией соответствующих методов и методик для всех видов лабораторной деятельности. Череда волосистая, как и иные сорные растения, в перемещаемой продукции встречается в виде покоящихся диаспор – плодов. Проблема заключается в том, что на уровне международных, региональных или национальных стандартов, а также других широко признанных технических требований не существует документов, устанавливающих методы и методики идентификации именно плодов череды волосистой, пригодные для внедрения и использования в лабораториях. Большинство имеющихся определителей, монографических и флористических сводок содержат только методы идентификации растений в целом, с привлечением признаков вегетативной части. Практически единственной работой, непосредственно касающейся систематического значения признаков плодов сорных черед и содержащей специализированный определительный ключ, является публикация с результатами исследований, проведенных в Республике Корея (Kim, Hong, 2008). К сожалению, из-за того, что в указанном исследовании дано крайне узкое географическое и таксономическое представление образцов черед, невозможно использовать его выводы для всего мирового объема сорных черед.

Для решения этой проблемы в 2015 г. ФГБУ «ВНИИР» разработан и выпущен документ,

Key words. Plant quarantine, testing laboratories, uncertainty of morphological identification methods, morphometry, weed plants.

INTRODUCTION



Bidens pilosa L. is a plant that included in the Common List of Quarantine Objects of the Eurasian Economic Union as a non-present quarantine pest (Decision of the EAEU Council..., 2016). As with other similar quarantine objects, the main phytosanitary measure applied to this plant to prevent its introduction and adaptation is the controlling contamination absence in imported potentially contaminated (infested) products. The presence or absence of infestation (contamination) is established through laboratory testing of product samples by testing laboratories accredited by the national accreditation body in accordance with Russian Federation legislation. A system of laboratory accreditation has been established based on compliance with the requirements of GOST ISO/IEC 17025-2019 “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”, which includes the need for laboratories to use appropriate methods and techniques for all types of laboratory activities. *B. pilosa*, like other weed plants, occurs in transported products in the form of dormant dispersal units – fruits. The problem is that there are no internationally, regionally, or nationally recognized documents that establish methods and techniques for identifying specifically *B. pilosa* fruits suitable for implementation and use in laboratories. Most existing identification keys, monographs, and floristic compilations only contain methods for identifying plants as a whole, using vegetative characteristics. The only work directly related to the systematic significance of *B. pilosa* fruit characteristics and containing a specialized identification key is a publication reporting research conducted in the Republic of Korea (Kim, Hong, 2008). Unfortunately, due to the extremely narrow geographic and taxonomic representation of the *B. pilosa* samples used in that study, its conclusions cannot be applied to the full range of *B. pilosa* worldwide.

To address this issue, in 2015, FGBU “VNIIR” developed and released a document that includes an original method for identifying *B. pilosa* fruits using morphological characters (Methodic recommendations..., 2015). Since the publication of this work, the study of *B. pilosa* and related species has continued. New information has been accumulated, significant volumes of collection material have been formed, and the practice of work in testing laboratories is being analyzed. The presence of new data requires periodic verification of the effectiveness of the developed identification methods.

включающий оригинальный метод идентификации плодов череды волосистой с использованием морфологических признаков (Методические рекомендации..., 2015). С момента выхода данной работы изучение череды волосистой и близких видов черед продолжалось. Накоплена новая информация, сформированы значительные объемы коллекционного материала, анализируется практика работ в испытательных лабораториях. Наличие новых данных предполагает периодическую проверку работоспособности разработанных методов идентификации.

Сложность идентификации плодов череды волосистой определяется наличием ряда иных видов рода со схожим строением плодов, более того, основной объединяющий признак плодов сходных видов – удлиненный плод – используется ботаниками для выделения секции узкоплодных черед *Bidens* sect. *Psilocarpa* DC. Выделение сорного компонента секции несколько затруднено, так как в большинстве флористических списков экология видов не указана или указана очень кратко, а специальные списки сорных растений часто отсутствуют. Но опираясь на основные работы (Flora of North America; Composite List of Weeds; Flora of China; CABI) и учитывая непосредственные наблюдения авторов во время экспедиций, можно составить список узкоплодных черед, являющихся сорными растениями и имеющих сходную с чередой волосистой биологию. К таким сорным узкоплодным чередам относятся виды: *B. alba* (L.) DC., *B. bigelovii* A. Gray, *B. bipinnata* L., *B. biterinata* (Lour.) Merr. & Sherff., *B. odorata* Cav., *B. parviflora* Willd., *B. subalternans* DC. Некоторые авторы не признают видовой самостоятельности *B. alba* и *B. odorata*, относя их к *B. pilosa* (Flora of North America). Мы поддерживаем данную точку зрения, так как в нашем исследовании не обнаружено значимых морфологических и генетических признаков, позволяющих однозначно выделить 2 этих вида. Также нами ставится под сомнение видовой самостоятельности *B. bigelovii* из-за крайне узкого ареала (Центральная Америка), что нехарактерно для сорных черед, и весьма сомнительных признаков, описанных в работах, содержащих указание данного вида (Sherff, 1937; Flora of North America). Таким образом, мы включаем *B. bigelovii* в состав *B. pilosa*.

Дополнительную сложность идентификации плодов узкоплодных черед придает наличие диморфизма плодов – присутствия на одном растении и часто в одном соплотии плодов различной морфологии. Одна форма плодов («длинные») располагается чаще в центральной части соплотия, другая («короткие») – в периферии соплотия. Данные формы отличаются размерами, окраской, структурой плодовой оболочки и стратегией прорастания (Sherff, 1937; Dakshini, Aggarwal, 1974; Brown, Mitchell, 1984; Rocha, 1996; Amaral, Takaki, 1998; Bhagirath et al., 2019; Keliang et al., 2019; Souza et al., 2019; Yeo et al., 2022). Плоды двух типов приведены на рис. 1.

Мерой сравнения качества методов идентификации может служить правильность данных методов, определяемая как степень близости среднего значения, полученного на основании большой серии результатов испытаний,

The difficulty of identifying *B. pilosa* fruits is due to the presence of several other species within the genus that have similar fruit structures. Furthermore, the main character that unites the fruits of these similar species – elongated fruits – is used by botanists to distinguish the narrow-fruited section *Bidens* sect. *Psilocarpa* DC. The identification of weed components within this section is somewhat challenging, as the ecology of these species is often not well-documented in floristic lists, and specific lists of weed plants are often absent. However, based on key works (Flora of North America, Composite List of Weeds, Flora of China, CABI) and direct observations made by the authors during expeditions, a list of narrow-fruited *Bidens* that are weeds and have similar biology to *B. pilosa* can be compiled. These weed narrow-fruited *Bidens* include *B. alba* (L.) DC., *B. bigelovii* A. Gray, *B. bipinnata* L., *B. biterinata* (Lour.) Merr. & Sherff., *B. odorata* Cav., *B. parviflora* Willd., and *B. subalternans* DC. Some authors do not recognize the species status of *B. alba* and *B. odorata*, instead considering them to be part of *B. pilosa* (Flora of North America). We support this viewpoint, as our research has not revealed significant morphological or genetic features that allow these two species to be clearly distinguished. Additionally, we question the species status of *B. bigelovii* due to its extremely narrow area (Central America), which is atypical for *Bidens*, and the highly questionable characteristics described in works that mention this species (Sherff, 1937; Flora of North America). Therefore, we include *B. bigelovii* within the scope of *B. pilosa*.

An additional difficulty in identifying fruits of narrow-fruited *Bidens* is given by the presence of fruit dimorphism – the presence of fruits of different morphologies on the same plant and often in the same infructescence. One form of fruit (“long”) is most often located in the central part of the infructescence, the other (“short”) – in the periphery of the infructescence. These forms differ in size, color, structure of the fruit shell and germination strategy (Sherff, 1937; Dakshini, Aggarwal, 1974; Brown, Mitchell, 1984; Rocha, 1996; Amaral, Takaki, 1998; Bhagirath et al., 2019; Keliang et al., 2019; Souza et al., 2019; Yeo et al., 2022). Fruits of these two types are shown in Fig. 1.

A measure of comparison of the identification methods quality can be the correctness of these methods, defined as the degree of closeness of the average value obtained on the basis of a large series of test results to the accepted reference value (GOST R ISO 5725-1-2002). Accuracy for a qualitative (not quantitative) result can be expressed as the probability of obtaining a correct sample identification. Additional value for determining the correctness of a method in this interpretation is given by the possibility of using the specified probability to express the uncertainty of the method, which can be used by testing laboratories for the purpose of compliance with GOST ISO/IEC 17025-2019.

Accordingly, the purpose of this study is to determine the correctness of existing methods for identifying fruits of narrow-fruited *Bidens* and to study other morphological characters of fruits that are not involved

к принятому опорному значению (ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002). Правильность для качественного (не количественного) результата может выражаться в виде вероятности получения верной идентификации образца. Дополнительную ценность определению правильности метода в данной трактовке придает возможность использования указанной вероятности для выражения неопределенности метода, что может быть применено испытательными лабораториями для целей соответствия ГОСТ ISO/IEC 17025-2019.

Соответственно, целью данного исследования является определение правильности существующих методов идентификации плодов сорных узкоплодных черед и изучение иных, не применяемых в существующих методах, морфологических признаков плодов с оценкой их применимости для идентификации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основой для исследования стали плоды сорных узкоплодных черед карпологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР». В настоящей статье рассматриваются ненарушенные плоды, обладающие всеми морфологическими признаками. Перечень использованных образцов приведен в табл. 1.

Видовая идентификация проводилась по гербарным экземплярам, собранным совместно с образцами плодов или выращенным из соответствующих плодов в условиях культуры. Культура растений содержалась в теплице ФГБУ «ВНИИКР» (при естественном световом режиме, поселок Быково Московской области) или в камере роста растений PHCbi MLR-352H при световом режиме 12/12 ч. В дальнейшем из каждой позиции было отобрано 5–10 плодов, которые были сфотографированы на стереомикроскопе Zeiss SteReo Discovery V20 с использованием фотоаппарата Canon EOS 5D MkIII или Canon EOS R5, а также на макроскопе Olympus MVX10 с камерой Olympus DP28. Во всех случаях применялась послойная съемка с дальнейшим комбинированием в одно изображение программой Zerene Stacker. Сравнения и измерения плодов проводились на базе программы CorelDRAW 2017. Для оценки в баллах применялась шкала: 0 – признак отсутствует, 1 – признак в пограничном состоянии, 2 – признак выражен, 3 – признак значительно выражен. Полученные измерения и балльные оценки обрабатывались в программе MS Excel с пакетом Real Statistics. Для определения нормального распределения выборки использовался критерий Шапиро – Уилка. Так как при исследовании было установлено, что нельзя принять гипотезу о нормальном распределении значений, то для оценки сходства выборок использовался



Рис. 1. Примеры трех пар «длинных» и «коротких» плодов, каждая из которых принадлежит одному образцу (S-0074 и S-0226 – *Bidens pilosa*, S-0162 – *B. bipinnata*) (фото С.О. Потаниной)

Fig. 1. Examples of three pairs of “long” and “short” fruits, each belonging to one specimen (S-0074 and S-0226 – *Bidens pilosa*, S-0162 – *B. bipinnata*) (photo by S.O. Potanina)

in existing methods with an assessment of their applicability for identification.

MATERIALS AND METHODS

The study was based on the *Bidens* fruits from the carpolological collection of FGBU “VNIICR”. This article examines undamaged fruits that have all morphological characters. The list of samples used is given in Table 1.

Species identification was carried out using herbarium samples collected together with fruit samples or grown from corresponding fruits under cultural conditions. The plant culture was kept in the greenhouse of FGBU “VNIICR” (under natural light conditions, Bykovo, Moscow Oblast) or in a plant growth chamber PHCbi MLR-352H under a light of 12/12 hours. Subsequently, 5–10 fruits were selected from each position, which were photographed on a Zeiss SteReo Discovery V20 stereomicroscope using a Canon EOS 5D MkIII or Canon EOS R5 camera, as well as on an Olympus MVX10 macroscope with an Olympus DP28 camera. In all cases, layer-by-layer shooting was used with further combining into one image using the Zerene Stacker program. Comparisons and measurements of fruits were carried out using the CorelDRAW 2017 program. The following scale was used for scoring: 0 – the sign is absent, 1 – the sign is in a borderline state, 2 – the sign is expressed, 3 – the sign is significantly expressed. The resulting measurements and scores were processed in MS Excel with the Real Statistics package. To determine the normal distribution of the sample, the Shapiro – Wilk test was used. Since

Табл. 1. Перечень исследованных образцов карпологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР»
Table 1. List of studied samples from the carpological collection of FGBU “VNIICR”

№ п/п	Коллекционный номер Collection number	Вид Species	Происхождение	Origin
1	S-0074	<i>B. pilosa</i>	Вьетнам, г. Ханой	Vietnam, Hanoi
2	S-0083	<i>B. pilosa</i>	Перу, г. Сан-Антонио	Peru, San Antonio
3	S-0085	<i>B. pilosa</i>	Перу, г. Лима	Peru, Lima
4	S-0086	<i>B. pilosa</i>	Перу, г. Кока-чакра	Peru, Coca Chakra
5	S-0087	<i>B. subalternans</i>	Перу, г. Тарма	Peru, Tarma
6	S-0088	<i>B. pilosa</i>	Перу, г. Кока-чакра	Peru, Coca Chakra
7	S-0107	<i>B. pilosa</i>	Вьетнам, Халонг	Vietnam, Halong
8	S-0152	<i>B. bipinnata</i>	Грузия	Georgia
9	S-0161	<i>B. pilosa</i>	Аргентина, пров. Мисьонес	Argentina, Prov. Misiones
10	S-0162	<i>B. bipinnata</i>	Грузия	Georgia
11	S-0163	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Корриентес	Argentina, Prov. Corrientes
12	S-0164	<i>B. pilosa</i>	Аргентина, пров. Мисьонес	Argentina, Prov. Misiones
13	S-0174	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Буэнос-Айрес	Argentina, Prov. Buenos Aires
14	S-0243	<i>B. pilosa</i>	Индонезия	Indonesia
15	S-0245	<i>B. bipinnata</i>	Абхазия	Abkhazia
16	S-0246	<i>B. subalternans</i>	Аргентина	Argentina
17	S-0247	<i>B. pilosa</i>	Аргентина, пров. Мисьонес	Argentina, Prov. Misiones
18	S-0248	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Жужуй	Argentina, Prov. Jujuy
19	S-0250	<i>B. pilosa</i>	Аргентина, пров. Мисьонес	Argentina, Prov. Misiones
20	S-0252	<i>B. subalternans</i>	Аргентина	Argentina
21	S-0255	<i>B. bipinnata</i>	Грузия	Georgia
22	S-0256	<i>B. subalternans</i>	Аргентина	Argentina
23	S-0258	<i>B. pilosa</i>	Импортный груз (шрот)	Import cargo (meal)
24	S-0260	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Энтре-Риос	Argentina, Prov. Entre Rios
25	S-0263	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Корриентес	Argentina, Prov. Corrientes
26	S-0264	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Буэнос-Айрес	Argentina, Prov. Buenos Aires
27	S-0266	<i>B. bipinnata</i>	Абхазия	Abkhazia
28	S-0270	<i>B. pilosa</i>	Импортный груз (шрот)	Import cargo (meal)
29	S-0271	<i>B. subalternans</i>	Импортный груз (шрот, Парагвай)	Import cargo (meal, Paraguay)
30	S-0273	<i>B. bipinnata</i>	Абхазия	Abkhazia
31	S-0298	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Колима	Mexico, pcs. Colima
32	S-0322	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Пуэбла	Mexico, pcs. Puebla
33	S-0347	<i>B. pilosa</i>	Кения	Kenya
34	S-0380	<i>B. pilosa</i>	Индонезия, о. Ява	Indonesia, o. Java
35	S-0385	<i>B. parviflora</i>	Россия, Приморский край	Russia, Primorsky Krai
36	S-0540	<i>B. pilosa</i>	Таиланд	Thailand
37	S-1094	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Дуранго	Mexico, pcs. Durango
38	S-1102	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Синалоа	Mexico, pcs. Sinaloa
39	S-1104	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Колима	Mexico, pcs. Colima
40	S-1113	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Колима	Mexico, pcs. Colima
41	S-1129	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Нуэво-Леон	Mexico, pcs. Nuevo Leon
42	S-1374	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Дуранго	Mexico, pcs. Durango
43	S-1436	<i>B. subalternans</i>	Импортный груз (шрот, Парагвай)	Import cargo (meal, Paraguay)
44	S-1438	<i>B. subalternans</i>	Испания, Каталония	Spain, Catalonia
45	S-1439	<i>B. subalternans</i>	Черногория	Montenegro
46	S-1448	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Жужуй	Argentina, Prov. Jujuy
47	S-1453	<i>B. parviflora</i>	Торговая сеть (ООО «Фирма «Агбина», Россия)	Trading network (Agbina, Russia)
48	S-1458	<i>B. bipinnata</i>	Грузия	Georgia
49	S-1459	<i>B. subalternans</i>	Аргентина	Argentina
50	S-1584	<i>B. parviflora</i>	Россия, Приморский край	Russia, Primorsky Krai
51	S-1596	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Жужуй	Argentina, Prov. Jujuy
52	S-1598	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Энтре-Риос	Argentina, Prov. Entre Rios
53	S-1600	<i>B. pilosa</i>	Вьетнам, Ниньтхуан	Vietnam, Ninh Thuan
54	S-1602	<i>B. subalternans</i>	Парагвай	Paraguay
55	S-1604	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Буэнос-Айрес	Argentina, Prov. Buenos Aires
56	S-1605	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Энтре-Риос	Argentina, Prov. Entre Rios
57	S-1728	<i>B. subalternans</i>	Аргентина, пров. Жужуй	Argentina, Prov. Jujuy
58	S-1732	<i>B. pilosa</i>	Мексика, шт. Нуэво-Леон	Mexico, pcs. Nuevo Leon

непараметрический критерий Манна – Уитни, приведенный к р-значениям. Статистически значимой для заключения о возможности принадлежности к разным выборкам принималась величина вероятности случайного сходства, меньшая 0,05.

Для каждого плода фиксировались следующие параметры: длина семянки без остей (мм), максимальная длина ости (мм), максимальная ширина семянки (мм), минимальная ширина семянки у ости (мм), ширина основания семянки (мм), угол между максимально отстоящими (противоположными) остями (градусы), ширина основания ости (мм), длина участка с различной окраской ребра и межреберной части у ости (мм), развитие бородавок (балл), искривление ости в нижней части (балл), утолщение ости в основании (балл), выраженность ребер у ости (балл). Оценивание признаков проводилось в соответствии с иллюстрациями и описаниями в методических рекомендациях (Методические рекомендации..., 2015). Измерения проводились с дискретностью 0,01 мм. Схема исследованных признаков приведена на рис. 2.

Иные признаки признаны нами не подходящими для лабораторного исследования, так как различимы только в стереомикроскопе исследовательского класса или электронном микроскопе, отсутствующих в испытательных лабораториях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные далее результаты исследования 431 плода разделены на 4 группы: «длинные» (внутренние) плоды *B. pilosa* (обозначены «*B. pilosa* l», 107 шт.), «короткие» (внешние) плоды *B. pilosa* (обозначены «*B. pilosa* s», 103 шт.), «длинные» (внутренние) плоды иных сорных узкоплодных черед – *B. bipinnata*, *B. subalternans* и *B. parviflora* (обозначены «иные виды l», 117 шт.), «короткие» (внешние) плоды иных сорных узкоплодных черед тех же трех видов (обозначены «иные виды s», 104 шт.). Логика данного деления обуславливается диапазоном значения показателя методических рекомендаций (Методические рекомендации..., 2015) как «*B. pilosa* выявлена» – «*B. pilosa* не выявлена», а также фактом, что в указанные методические рекомендации не включена возможность идентификации «коротких» плодов.

В результате измерений и оценок получены значения признаков, статистика которых приведена в табл. 2.

Как первый шаг идентификации в методических рекомендациях 2015 г. (Методические рекомендации..., 2015) производится определение принадлежности плодов к узкоплодным чередам по признаку «длина плодов более чем пятикратно превышает ширину». На следующем шаге указанных методических рекомендаций проводится идентификация плодов *B. pilosa*, к которым относят все плоды с выраженными бородавками («явно приподнятые, с более-менее выраженной частью, окрашенной в оранжево-бурый цвет»), а также плоды, имеющие комплекс трех признаков: «ребра на вершине основного тела плода плохо выражены. Их окраска практически совпадает с окраской межреберного пространства на одном и том же уровне», «основание зацепок (вершина плода) формирует более-менее ясно выраженный утолщенный

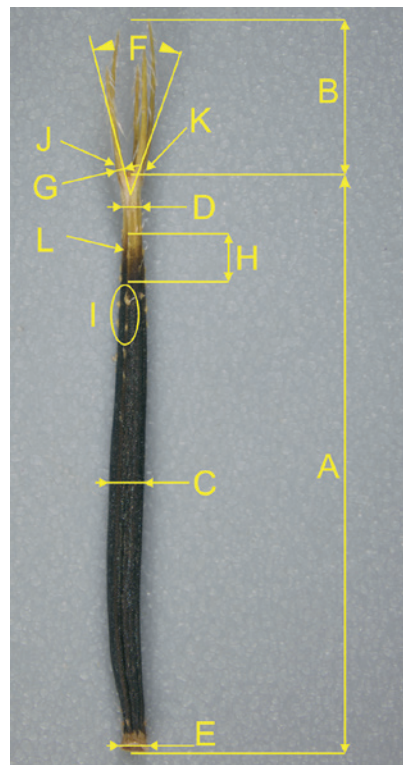


Рис. 2. Схема исследованных признаков плода черед (А – длина семянки без остей, В – максимальная длина ости, С – максимальная ширина семянки, D – минимальная ширина семянки у ости, Е – ширина основания семянки, F – угол между максимально отстоящими (противоположными) остями, G – ширина основания ости (мм), H – длина участка с различной окраской ребра и межреберной части у ости, I – развитие бородавок (оценка), J – искривление ости в нижней части (оценка), K – утолщение ости в основании (оценка), L – выраженность ребер у ости (оценка) (фото С.О. Потаниной)

Fig. 2. Scheme of the studied *Bidens* fruit characters (A – length of achene without awns, B – maximum awn length, C – maximum achene width, D – minimum achene width at the awn, E – achene base width, F – angle between the most distant (opposite) awns, G – awn base width (mm), H – length of the area with different colors of the rib and interrib part at the awn, I – blotch development (assessment), J – awn curvature in the lower part (assessment), K – awn thickening at the base (assessment), L – degree of rib hardness at the awn (assessment) (photo by S.O. Potanina)

the study established that it was impossible to accept the hypothesis of a normal distribution of values, the nonparametric Mann – Whitney test reduced to p-values was used to assess the similarity of the samples. The value of the probability of random similarity less than 0.05 was accepted as statistically significant for the conclusion about the possibility of belonging to different samples.

For each fruit, the following parameters were recorded: the length of the achene without awns (mm), the maximum awn length (mm), the maximum achene width (mm), the minimum achene width at the awn (mm), the achene base width (mm), the angle between the maximum distances (opposite) awns (degrees), the

диск из сросших ребер» и «зацепки в своем основании явно утолщенные (чуть толще нижележащего ребра). Отходят от тела плода чуть в сторону, формируя затем небольшой изгиб вверх». При этом признаки «утолщение диска» и «утолщение оснований остей (зацепок)» взаимосвязаны. Таким образом, общий алгоритм исследования выглядит так: «принадлежность к *B. pilosa*» = ((«длина плодов» / «ширина плодов») > 5) И («развиты бородавки» ИЛИ («ребра не выражены», И «утолщение оснований зацепок», И «зацепки изогнутые»)).

Результаты применения данного алгоритма на представленной выборке отражены в табл. 3.

Все «длинные» плоды узкоплодных черед (sect. *Psilocarphaea*) правильно идентифицируются как относящиеся к данной секции, в то же время «короткие» плоды *B. pilosa* неверно идентифицируются в 19,4% случаев, а «короткие» плоды иных видов узкоплодных черед неверно идентифицируются в 1,0% случаев.

Наличие выраженных бородавок (балл свыше 1 – «признак выражен») наблюдается у всех изученных групп. При этом среди «длинных» плодов *B. pilosa* и иных видов признак встречается с близкой частотой, 5,1% и 7,5% соответственно. У «коротких» плодов данный признак встречается чаще: у *B. pilosa* он представлен для большинства плодов (56,3%), но довольно характерен и для иных видов (10,6%). На рис. 3 представлены плоды *B. subalternans* с достаточным для неверной идентификации по существующей методике развитием признака.

Отсутствие комплекса признаков, указанных в методике для *B. pilosa*, наблюдается у всех плодов иных видов. В то же время присутствие комплекса признаков (с любой степенью выраженности) отмечается только у 18,7% «длинных» плодов *B. pilosa* и 8,7% «коротких» плодов *B. pilosa*.

Общие результаты идентификации плодов в соответствии с действующими методическими указаниями приведены в табл. 4.

Общая правильность методики зависит от соотношения видов, а также «длинных» и «коротких» плодов в исследуемых образцах, но при распределении, сходном с таковым в исследуемой выборке, составляет 69,4%. При этом обращает на себя внимание вероятность ложноотрицательной идентификации целевого вида *B. pilosa*, составляющая 54,8%. Такая низкая общая правильность, а также вероятность ложноотрицательной идентификации целевого вида, отмеченная более чем в половине случаев, характеризует действующие методические указания как не соответствующие требованиям качества лабораторных исследований, для которых рекомендована правильность не ниже 95%. В то же время показана возможность применения методических рекомендаций для идентификации «коротких» плодов с правильностью даже выше, чем «длинных» (77,3% и 62,1% соответственно), несмотря на то, что данная идентификация не предусматривалась при разработке методических рекомендаций.

Для изучения вопроса применимости в идентификации плодов *B. pilosa* иных морфологических признаков был проведен их анализ при сопоставлении «длинных» плодов *B. pilosa* с «длинными»

awn base width (mm), length of the area with different colors of the rib and interrib part at the awn (mm), blotch development (point), awn curvature in the lower part (point), awn thickening at the base (point), the degree of rib hardness at the awn (point). The character assessment was carried out in accordance with the illustrations and descriptions in the guidelines (Methodic recommendations..., 2015). The measurements were carried out with a resolution of 0.01 mm. The diagram of the studied characteristics is shown in Fig. 2.

We found other characters not suitable for laboratory research, since they are visible only in a research-grade stereo microscope or an electron microscope, which are not available in testing laboratories.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study of 431 fruits presented below are divided into 4 groups: “long” (internal) *B. pilosa* fruits (designated “*B. pilosa* l”, 107 pcs.), “short” (external) *B. pilosa* fruits of (designated “*B. pilosa* s”, 103 pcs.), “long” (internal) fruits of other narrow-fruited *Bidens* – *B. bipinnata*, *B. subalternans* and *B. parviflora* (designated “other species l”, 117 pcs.), “short” (external) fruits of other narrow-fruited *Bidens* of the same three species (designated “other species s”, 104 pcs.). The logic of this division is determined by the range of values of the guideline indicator (Methodic recommendations..., 2015) as “*B. pilosa* identified” – “*B. pilosa* was not identified,” as well as the fact that the specified guidelines do not include the possibility of identifying “short” fruits.

As a result of measurements and assessments, the characters values were obtained, the statistics of which are given in Table 2.

As the first step of identification, the 2015 guidelines (Methodic recommendations..., 2015) determine whether fruits belong to narrow-fruited *Bidens* based on the criterion “the fruit length is more than five times the width”. At the next step, *B. pilosa* fruit identification is carried out, which includes all fruits with pronounced blotches (“obviously raised, with a more or less pronounced part, colored orange-brown”), as well as fruits with a complex of three characters: “The ribs at the top of the main body of the fruit are poorly developed. Their color practically coincides with the color of the interrib space at the same level”, “the base of the hooks (the top of the fruit) forms a more or less clearly defined thickened disk of fused ribs” and “the hooks at their base are clearly thickened (slightly thicker than the underlying rib). They move away from the fruit body slightly to the side, then forming a slight upward bend.” In this case, the signs of “thickening of the disc” and “thickening of the awn base (hooks)” are interrelated. Thus, the general research algorithm looks like this: “belonging to *B. pilosa*” = ((“fruit length” / “fruit width”) > 5) AND (“blotches developed” OR (“ribs are not expressed” AND “thickening of the bases hooks”, and “curved hooks”)).

The results of applying this algorithm on the presented sample are reflected in Table 3.

All “long” fruits of narrow-fruited *Bidens* (sect. *Psilocarphaea*) are correctly identified as belonging to this

Табл. 2. Результаты измерений/оценивания признаков плодов
Table 2. Results of measurements/evaluation of fruit characters

Признак/ статистика	Character/ statistic	« <i>B. pilosa</i> l»	« <i>B. pilosa</i> s»	«иные виды l» other species l	«иные виды s» other species s
Объем выборки, шт.	Sample size. pcs.	107	103	117	104
длина семянки без остей (мм) length of achene without awns (mm)					
Минимум	Minimum	7,09	3,53	8,97	4,11
1-й квартиль	1 st quartile	9,17	4,83	11,75	6,41
Медиана	Median	10,13	5,42	13,85	8,20
3-й квартиль	3 rd quartile	11,65	6,16	16,24	9,75
Максимум	Maximum	17,21	7,82	18,30	14,96
максимальная длина ости (мм) maximum awn length (mm)					
Минимум	Minimum	1,04	0,74	1,49	0,77
1-й квартиль	1 st quartile	2,23	1,73	2,48	1,72
Медиана	Median	2,61	2,07	3,14	2,21
3-й квартиль	3 rd quartile	2,99	2,49	3,68	2,57
Максимум	Maximum	3,77	3,69	5,27	4,38
максимальная ширина семянки (мм) maximum awn length (mm)					
Минимум	Minimum	0,48	0,47	0,53	0,65
1-й квартиль	1 st quartile	0,65	0,78	0,70	0,84
Медиана	Median	0,70	0,92	0,81	0,92
3-й квартиль	3 rd quartile	0,79	0,99	0,90	1,03
Максимум	Maximum	1,00	1,25	1,36	1,29
минимальная ширина семянки у ости (мм) minimum achene width at the awn (mm)					
Минимум	Minimum	0,19	0,27	0,20	0,32
1-й квартиль	1 st quartile	0,34	0,56	0,36	0,54
Медиана	Median	0,39	0,64	0,41	0,62
3-й квартиль	3 rd quartile	0,48	0,72	0,47	0,67
Максимум	Maximum	0,74	1,03	0,72	0,90
ширина основания семянки (мм) achene base width (mm)					
Минимум	Minimum	0,38	0,38	0,37	0,38
1-й квартиль	1 st quartile	0,50	0,57	0,59	0,54
Медиана	Median	0,55	0,64	0,68	0,65
3-й квартиль	3 rd quartile	0,63	0,70	0,76	0,76
Максимум	Maximum	0,80	0,88	1,04	0,98
угол между максимально отстоящими (противоположными) остями (градусы) angle between the maximum distances (opposite) awns (degrees)					
Минимум	Minimum	14,89	30,09	3,88	5,68
1-й квартиль	1 st quartile	45,08	64,13	24,70	33,86

Признак/ статистика	Character/ statistic	« <i>B. pilosa</i> l»	« <i>B. pilosa</i> s»	«иные виды l» other species l	«иные виды s» other species s
Медиана	Median	62,26	74,83	32,46	47,75
3-й квартиль	3 rd quartile	77,66	93,15	42,30	59,60
Максимум	Maximum	130,55	172,96	94,03	136,78
ширина основания ости (мм) awn base width (mm)					
Минимум	Minimum	0,09	0,09	0,09	0,09
1-й квартиль	1 st quartile	0,14	0,15	0,15	0,16
Медиана	Median	0,15	0,17	0,18	0,19
3-й квартиль	3 rd quartile	0,18	0,20	0,20	0,21
Максимум	Maximum	0,25	0,32	0,29	0,28
длина участка с различной окраской ребра и межреберной части у ости (мм) length of the area with different colors of the rib and interrib part at the awn (mm)					
Минимум	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00
1-й квартиль	1 st quartile	0,00	0,00	0,44	0,00
Медиана	Median	0,00	0,00	0,70	0,00
3-й квартиль	3 rd quartile	0,60	0,00	1,11	0,00
Максимум	Maximum	1,60	0,00	2,78	0,77
развитие бородавок (% экземпляров) blotch development (% samples)					
0 баллов	0 point	22,4%	4,9%	65,0%	15,4%
1 балл	1 point	70,1%	24,3%	29,9%	74,0%
2 балла	2 points	7,5%	47,6%	5,1%	9,6%
3 балла	3 points	0,0%	23,3%	0,0%	1,0%
искривление ости в нижней части (% экземпляров) awn curvature in the lower part (% samples)					
0 баллов	0 point	33,6%	38,8%	88,0%	83,7%
1 балл	1 point	55,1%	55,3%	12,0%	15,4%
2 балла	2 points	11,2%	5,8%	0,0%	1,0%
3 балла	3 points	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
утолщение ости в основании (% экземпляров) awn thickening at the base (% samples)					
0 баллов	0 point	61,7%	71,8%	79,5%	90,4%
1 балл	1 point	37,4%	28,2%	20,5%	7,7%
2 балла	2 points	0,9%	0,0%	0,0%	1,9%
3 балла	3 points	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
выраженность ребер у ости (% экземпляров) degree of rib hardness at the awn (% samples)					
0 баллов	0 point	77,6%	100,0%	21,4%	98,1%
1 балл	1 point	22,4%	0,0%	64,1%	1,9%
2 балла	2 points	0,0%	0,0%	14,5%	0,0%
3 балла	3 points	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

Табл. 3. Результаты исследования плодов на принадлежность к *B. pilosa*
Table 3. The results of the fruit study for belonging to *B. pilosa*

Группа Group	Объем выборки, шт. Sample size, pcs.	Количество плодов с длиной, более чем пятикратно превышающей ширину, шт. (% от объема выборки) Number of fruits with a length more than five times the width, pcs. (% of sample size)	Из них: From them:		
			количество плодов с выраженными бородавками (> 1 балла), шт. (% от объема выборки) number of fruits with pronounced blotches (> 1 point), pcs. (% of sample size)	количество плодов с комплексом признаков (> 0, > 0, = 0 баллов), шт. (% от объема выборки) number of fruits with a complex of characters (> 0, > 0, = 0 points), pcs. (% of sample size)	итого, отнесенных к <i>B. pilosa</i> , шт. (% от объема выборки) total classified as <i>B. pilosa</i> , pcs. (% of sample size)
<i>B. pilosa</i> l	107	107 (100,0%)	8 (7,5%)	20 (18,7%)	28 (26,2%)
<i>B. pilosa</i> s	103	83 (80,6%)	58 (56,3%)	9 (8,7%)	67 (65,0%)
иные виды l other species l	117	117 (100,0%)	6 (5,1%)	0 (0,0%)	6 (5,1%)
иные виды s other species s	104	103 (99,0%)	11 (10,6%)	0 (0,0%)	11 (10,6%)



Рис. 3. Развитие бородавок на некоторых плодах *B. subalternans* (фото С.О. Потаниной)
Fig. 3. Development of blotches on some *B. subalternans* fruits (photo by S.O. Potanina)

плодами иных видов и, соответственно, «коротких» плодов *B. pilosa* с «короткими» плодами иных видов. В табл. 5 показаны результаты статистического анализа принадлежности к различным выборкам, обозначенные как «стат.» и выраженные р-уровнем значимости, и оценки доли плодов *B. pilosa* с совпадением признаков с иными видами, обозначенные как «совп.».

Обращает на себя внимание тот факт, что при значительной доле статистически достоверно различающихся признаков (11 из 12 у «длинных» плодов и 6 из 12 у «коротких» плодов) ни по одному из них невозможно точно отличить плоды *B. pilosa* от плодов иных видов из-за значительного перекрытия диапазона возможных значений. Данная ситуация говорит о высокой доле совпадения диапазонов абсолютных значений признаков при их разном распределении, что позволяет идентифицировать плоды путем сравнения значительных выборок при отсутствии возможности идентификации единичных плодов с приемлемой лабораторной правильностью (выше или равно 95%).

Как вариант решения проблемы, могут быть использованы комплексы признаков, выражаемые

section, while “short” fruits of *B. pilosa* are incorrectly identified in 19.4% of cases, and “short” fruits of other narrow-fruited *Bidens* species are incorrectly identified in 1.0% of cases.

The presence of pronounced blotches (score over 1 – “pronounced character”) is observed in all studied groups. Moreover, among the “long” fruits of *B. pilosa* and other species, the character occurs with a similar frequency, 5.1% and 7.5%, respectively. In “short” fruits, this sign is more common: in *B. pilosa* it is present in the majority of fruits (56.3%), but is also quite characteristic of other species (10.6%). Fig. 3 shows *B. subalternans* fruits with development of this character sufficient for incorrect identification using the existing method.

The absence of the characters complex specified in the method for *B. pilosa* is observed in all fruits of other species. At the same time, the presence of the characters complex (with any degree of severity) is noted only in 18.7% of “long” *B. pilosa* fruits and 8.7% of “short” *B. pilosa* fruits.

The general results of fruit identification in accordance with current Methodic recommendations (2015) are given in Table 4.

The overall accuracy of the technique depends on the species ratio, as well as “long” and “short” fruits in the studied samples, but with a distribution similar to that in the studied sample, it is 69.4%. At the same time, the probability of false negative identification of the target species *B. pilosa* is 54.8%. Such a low overall accuracy, as well as the probability of false negative identification of the target species, noted in more than half of the cases, characterizes the current guidelines as not meeting the quality requirements of laboratory tests, for which a correctness of at least 95% is recommended. At the same time, the possibility of using Methodic recommendations (2015) for identifying “short” fruits with accuracy even higher than “long” ones (77.3% and 62.1%, respectively) is shown, despite the fact that this identification was not included in the development of the guidelines.

Табл. 4. Результаты идентификации плодов исследуемой выборки как *B. pilosa*
Table 4. Results of identification of fruits of the studied sample as *B. pilosa*

Группа Group	Объем выборки, шт. Sample size, pcs.	Ложноположительных результатов, шт. (% от объема выборки) False positive results, pcs. (% of sample size)	Ложноотрицательных результатов, шт. (% от объема выборки) False negative results, pcs. (% of sample size)	Правильных результатов, шт. (% от объема выборки) Correct results, pcs. (% of sample size)
<i>B. pilosa</i> l	107	–	79 (73,2%)	28 (26,2%)
<i>B. pilosa</i> s	103	–	36 (35,0%)	67 (65,0%)
иные виды l other species l	117	6 (5,1%)	–	111 (94,9%)
иные виды s other species s	104	11 (10,6%)	–	93 (89,4%)
Всего по видам: Total by species:				
<i>B. pilosa</i>	210	–	115 (54,8%)	95 (45,2%)
иные виды other species	221	17 (7,7%)	–	204 (92,3%)
Всего по типам: Total by species:				
l «длинные» l long	224	6 (2,7%)	79 (35,3%)	139 (62,1%)
s «короткие» s short	207	11 (5,3%)	36 (17,4%)	160 (77,3%)
Всего: Total:	431	17 (3,9%)	115 (26,7%)	299 (69,4%)

как индексы или логические выражения. В табл. 6 приведены общие итоги анализа отдельных комплексных индексов при сопоставлении, аналогичном представленному в табл. 5. При этом индексы «Удлинение плода (длина / макс. ширина)», «Сужение у ости (макс. ширина / мин. ширина)»,

To study the issue of applicability of other morphological characters in the identification of *B. pilosa* fruits, their analysis was carried out by comparing the “long” *B. pilosa* fruits with the “long” fruits of other species and, accordingly, the “short” *B. pilosa* fruits with the “short” fruits of other species. Table 5 shows the

Табл. 5. Совпадение плодов *B. pilosa* по значениям признаков с иными видами
Table 5. Matching of *B. pilosa* fruits in character values with other species

Группа/признак Group/character	Длина семянки без остей Length of achene without awns	Максимальная длина остей Maximum awn length	Максимальная ширина семянки Maximum achene width	Минимальная ширина семянки у остей Minimum achene width at the awn	Ширина основания семянки Achene base width	Угол между максимально отстоящими (противоположными) остями Angle between maximum distances (opposite) awns	Ширина основания остей Awn base width	Длина участка с различной окраской ребра и межреберной части у остей Length of the area with different colors of the rib and interrib part at the awn	Развитие бородавок (оценка) Blotches development (assessment)	Искривление остей в нижней части (оценка) Awn curvature in the lower part (assessment)	Утолщение остей в основании (оценка) Awn thickening at the base (assessment)	Выраженность ребер у остей (оценка) degree of rib hardness at the awn (assessment)
l, стат. l, stat.	0,00	0,00	0,00	0,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
l, совп. l, match.	77%	98%	99%	98%	100%	95%	100%	100%	100%	89%	99%	100%
s, стат. s, stat.	0,00	0,41	0,15	0,09	0,71	0,00	0,01	0,32	0,00	0,00	0,00	0,16
s, совп. s, match.	96%	99%	95%	96%	100%	98%	97%	100%	100%	100%	100%	100%

Табл. 6. Совпадение плодов *B. pilosa* по комплексным индексам с иными видами
Table 6. Matching of *B. pilosa* fruits with other species according to complex indices

Группа/признак Group/character	Удлинение плода (длина / макс. ширина) Fruit elongation (length / max. width)	Сужение у ости (макс. ширина / мин. ширина) Narrowing at the awn (max. width / min. width)	Удлинение плода * сужение у ости Fruit elongation * narrowing at the awn	Интегральный балл Integral score	Интегральная морфометрия Integral morphometry	Полный индекс Full index
l, стат. l, stat.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
l, совп. l, match.	88%	86%	85%	72%	84%	41%
s, стат. s, stat.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
s, совп. s, match.	86%	96%	82%	82%	100%	75%

«Удлинение плода * сужение у ости» вычислены с использованием первичных величин, а индексы «Интегральный балл», «Интегральная морфометрия» и «Полный индекс» – с использованием нормализованных величин с приведением к диапазону от 1 до 2. Индекс «Интегральный балл» вычислен, включая только оцениваемые в баллах признаки, «Интегральная морфометрия» – только измеряемые признаки и «Полный индекс» – комбинацию всех признаков.

Все комплексные индексы статистически достоверно различаются для *B. pilosa* и иных видов, но при этом они также недостаточны для идентификации единичных плодов с приемлемой лабораторной правильностью (выше или равно 95%). В то же время комплексные индексы дают большую правильность при идентификации по сравнению с единичными признаками, соответственно (в единицах, обратных сходству): 59% против 23% для «длинных» плодов *B. pilosa* и 25% против 5% для «коротких» плодов *B. pilosa*. Применение данных методов идентификации на тестовой выборке обеспечит правильность, равную сумме верных идентификаций каждой группы плодов, деленной на общее количество плодов: $(117 + 104 + 107 * 59\% + 103 * 25\%) / 431 = 71,9\%$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании на значительном объеме материала широкого географического охвата (Северная и Южная Америка, Европа, Азия, Африка) изучены морфологические признаки плодов сорных узкоплодных черед (*Bidens* sect. *Psilocarpea*). Показана низкая правильность используемой в настоящее время методики идентификации череды волохистой *B. pilosa* 74-2015 МР ВНИИКР, составляющая на тестовой выборке 69,4%, что значительно ниже приемлемой лабораторной правильности в 95%.

results of statistical analysis of membership in various samples, designated as “stat.” and expressed by the p-level of significance, and estimates of the proportion of *B. pilosa* fruits with the same characteristics as other species, designated as “match.”

Noteworthy is the fact that with a significant proportion of statistically significantly different characters (11 out of 12 in “long” fruits and 6 out of 12 in “short” fruits), none of them can accurately distinguish the fruits of *B. pilosa* from the fruits of other species due to a significant overlap in the range of possible values. This situation indicates a high degree of coincidence in the ranges of absolute values of characters with their different distributions, which makes it possible to identify fruits by comparing large samples in the absence of the possibility of identifying single fruits with acceptable laboratory accuracy (greater than or equal to 95%).

As a solution to the problem, characters complexly expressed as indices or logical expressions can be used. Table 6 shows the general results of the analysis of individual complex indices with a comparison similar to that presented in Table 5. In this case, the indices “Fruit elongation (length / max. width)”, “Narrowing at the awn (max. width / min. width)”, “Fruit elongation * narrowing at the awn” are calculated using primary values, and the indices “Integral assessment”, “Integral morphometry” and “Full index” – using normalized values with reduction to the range from 1 to 2. The “Integral assessment” index is calculated, including only the signs assessed in points, “Integral morphometry” – only the measured characters and “Full index” – a combination of all characters.

All complex indices are statistically significantly different for *B. pilosa* and other species, but they are also insufficient to identify single fruits with acceptable laboratory accuracy (greater than or equal to 95%). At the same time, complex indices provide greater accuracy in identification compared to single characters, respectively (in units inverse to similarity): 59% versus 23% for “long” *B. pilosa* fruits and 25% versus 5% for “short” *B. pilosa* fruits. Application of these identification methods on a test sample will provide a correctness equal to the sum of correct identifications of each group of fruits divided by the total number of fruits: $(117 + 104 + 107 * 59\% + 103 * 25\%) / 431 = 71,9\%$.

CONCLUSION

In this study, using a significant amount of material over a wide geographical scope (North and South America, Europe, Asia, Africa), the morphological characteristics of the narrow-fruited *Bidens* were studied (*Bidens* sect. *Psilocarpea*). The accuracy of the currently used identification method for *B. pilosa* 74-2015 MR VNIICR has been shown to be 69.4% on the test sample, which is significantly lower than the acceptable laboratory accuracy of 95%. Identification methods for *B. pilosa* fruits based on the use of other measured or assessed characters and their combinations have been studied. The best accuracy was shown when using complex indices with a combination of all studied fruit characteristics,

Изучены варианты идентификации плодов *B. pilosa* на основании использования иных измеряемых или оцениваемых признаков и их комбинаций. Показана лучшая правильность при использовании комплексных индексов с комбинацией всех изученных признаков плодов, позволяющая достигнуть 71,9% верных идентификаций на тестовой выборке. В то же время в результате исследования не выявлено признаков или комбинаций признаков, позволяющих идентифицировать плоды *B. pilosa* с приемлемой лабораторной правильностью (95%), что позволяет сделать выводы о необходимости разработки метода идентификации, основанного на иных признаках, например на генетических особенностях.

Результаты исследования могут быть внедрены в испытательных лабораториях для выражения неопределенности используемого метода (Инв. № 74-2015 МР ВНИИКР) для целей соответствия ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 как вероятности 69,4% (0,694) получения правильного результата.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 123042500048-5 «Разработка молекулярно-генетических и морфологических методов идентификации сорных видов растений, включенных в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС»).

Благодарность. Авторы выражают признательность коллегам, внесшим свой вклад в пополнение ботанических коллекций ФГБУ «ВНИИКР», а именно: С.Ю. Муханову, Н.В. Цинкевичу, Е.М. Волковой, В.Д. Бочкину (ГБС), М.О. Кондратьеву, И.А. Шанцеру (ГБС), Е.В. Комарову (ВНИИОЗ), Д.Г. Касаткину, Д.Л. Белкину, Ю.А. Ловцовой, Я.Н. Коваленко, М.Г. Коваленко, Ю.Р. Кочневу, Л.Е. Демусхиной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий».
2. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения».
3. Методические рекомендации по выявлению и идентификации череды волосистой *Bidens pilosa* L. Москва, 2015. Депонированы в ФГБУ «ВНИИКР», Инв. № 74-2015 МР ВНИИКР. 38 с.
4. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 30 ноября 2016 г. № 158 «Об утверждении единого перечня карантинных объектов Евразийского экономического союза» (с изменениями на 25 января 2023 г.).
5. Amaral A., Takaki M. Achene dimorphism in *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) as determined by germination test // Brazilian Archives of Biology and Technology. 1998. 41 (1). P. 10–15. URL: <https://doi.org/10.1590/S1516-89131998000100002>.
6. Bhagirath C., Hafiz Haider A., Singarayer F. Seed germination ecology of *Bidens pilosa* and its implications for weed management // Scientific Reports. 2019. 9 (1): 16004. P. 1–9. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52620-9>.
7. Brown N.A.C., Mitchell J.J. Germination of the polymorphic fruits of *Bidens bipinnata* // South African

allowing to achieve 71.9% of correct identifications on the test sample. At the same time, the study did not reveal any characters or character combinations that would allow identifying *B. pilosa* fruits with acceptable laboratory accuracy (95%), which allows us to draw conclusions about the need to develop an identification method based on other characteristics, for example, genetic characteristics.

The results of the study can be implemented in testing laboratories to express the uncertainty of the method used (Inv. No. 74-2015 MR VNIKR) for the purpose of compliance with GOST ISO/IEC 17025-2019 as a probability of 69.4% (0.694) of obtaining the correct result.

The study was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (No. 123042500048-5 “Development of molecular genetic and morphological methods for identifying weed species included in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU”).

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the colleagues who contributed to the replenishment of the botanical collections of FGBU “VNIKR”, namely: S.Yu. Mukhanov, N.V. Tsinkovich, E.M. Volkova, V.D. Bochkin (Main Botanical Garden), M.O. Kondratyev, I.A. Shantser (Main Botanical Garden), E.V. Komarov (VNIIOZ), D.G. Kasatkin, D.L. Belkin, Yu.A. Lovtsova, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, Yu.R. Kochnev, L.E. Demushkina.

REFERENCES

1. GOST ISO/IEC 17025-2019 “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”.
2. GOST R ISO 5725-1-2002 “Accuracy (correctness and precision) of measurement methods and results. Part 1. Basic provisions and definitions.”
3. Methodic recommendations for detecting and identifying *Bidens pilosa* L. Moscow, 2015. Deposited in at FGBU “VNIKR”, Inv. No. 74-2015 MR VNIKR. 38 p.
4. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 30, 2016 No. 158 “On approval of a unified list of quarantine objects of the Eurasian Economic Union” (as amended on January 25, 2023).
5. Amaral A., Takaki M. Achene dimorphism in *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) as determined by germination test // Brazilian Archives of Biology and Technology. 1998. 41 (1). P. 10–15. URL: <https://doi.org/10.1590/S1516-89131998000100002>.
6. Bhagirath C., Hafiz Haider A., Singarayer F. Seed germination ecology of *Bidens pilosa* and its implications for weed management // Scientific Reports. 2019. 9 (1): 16004. P. 1–9. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52620-9>.
7. Brown N.A.C., Mitchell J.J. Germination of the polymorphic fruits of *Bidens bipinnata* // South African Journal of Botany. February 1984. V. 3, Issue 1. P. 55–58. URL: [https://doi.org/10.1016/S0022-4618\(16\)30081-X](https://doi.org/10.1016/S0022-4618(16)30081-X).

Journal of Botany. February 1984. V. 3, Issue 1. P. 55–58. URL: [https://doi.org/10.1016/S0022-4618\(16\)30081-X](https://doi.org/10.1016/S0022-4618(16)30081-X).

8. Dakshini K.M.M., Aggarwal S.K. Intracarpal cypsel dimorphism and dormancy in *Bidens bipinnata* // *Biologia plantarum*, 1974. 6 (6). P. 469–471. URL: <https://doi.org/10.1007/BF02922239>.

9. Keliang Z., Linjun Y., Yin Z., Jun T. Achene heteromorphism in *Bidens pilosa* (Asteraceae): differences in germination and possible adaptive significance // *AoB PLANTS*. 2019. V. 11, Issue 3, plz026. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1093/aobpla/plz026>.

10. Kim S.Y., Hong S.P. The taxonomic consideration of achene morphology in *Bidens* L. (Asteraceae) in Korea // *Korean Journal of Plant Taxonomy*. 2008. 38 (4). P. 509–522. URL: <https://doi.org/10.11110/kjpt.2008.38.4.509>.

11. Rocha O.J. The Effects of Achene Heteromorphism on the Dispersal Capacity of *Bidens pilosa* L. // *International Journal of Plant Sciences*. 1996. Vol. 157, No. 3. P. 316–22. URL: <https://doi.org/10.1086/297351>.

12. Sherff E. The genus *Bidens* // Publication of Field Museum of Natural History. Botanical series. 1937. Vol. 16. In 2 Parts. 709 p.

13. Souza F.P., Bianchessi S., Yamaguchi L., Kato M., Coan A., Takaki M. The role of pericarp in *Bidens* L. heterocarp (Asteraceae) // *Flora*. 2019. V. 257. 151426. P. 1–10. URL: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151426>.

14. Yeo H., Tan M.K., Ong B., Chung O.Y.X., Tan H. Heteromorphic characteristics of *Bidens pilosa* (Asteraceae) achenes influence adherence stability and dispersal capacity // *Nature in Singapore*. 2022. 15: e2022015. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.26107/NIS-2022-0015>.

15. CABI: Invasive Species Compendium [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cabi.org/isc> (дата обращения: 18.10.2023).

16. Composite List of Weeds. The Weed Science Society of America (WSSA) [Электронный ресурс]. URL: <https://wssa.net/wssa/weed/composite-list-of-weeds> (дата обращения: 16.10.2023).

17. Flora of China / eFloras [Электронный ресурс]. URL: http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=2 (дата обращения: 16.10.2023).

18. Flora of North America / eFloras [Электронный ресурс]. URL: http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=1 (дата обращения: 16.10.2023).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кулаков Виталий Геннадьевич, старший научный сотрудник – начальник отдела организации МСИ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru.

Потанина Софья Олеговна, младший научный сотрудник научно-методического отдела инвазивных видов растений ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; e-mail: enkoletta@yandex.ru.

Кулакова Юлиана Юрьевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник – начальник научно-методического отдела инвазивных видов растений ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-9973-7584; e-mail: thymus73@mail.ru.

8. Dakshini K.M.M., Aggarwal S.K. Intracarpal cypsel dimorphism and dormancy in *Bidens bipinnata* // *Biologia plantarum*, 1974. 6 (6). P. 469–471. URL: <https://doi.org/10.1007/BF02922239>.

9. Keliang Z., Linjun Y., Yin Z., Jun T. Achene heteromorphism in *Bidens pilosa* (Asteraceae): differences in germination and possible adaptive significance // *AoB PLANTS*. 2019. V. 11, Issue 3, plz026. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1093/aobpla/plz026>.

10. Kim S.Y., Hong S.P. The taxonomic consideration of achene morphology in *Bidens* L. (Asteraceae) in Korea // *Korean Journal of Plant Taxonomy*. 2008. 38 (4). P. 509–522. URL: <https://doi.org/10.11110/kjpt.2008.38.4.509>.

11. Rocha O.J. The Effects of Achene Heteromorphism on the Dispersal Capacity of *Bidens pilosa* L. // *International Journal of Plant Sciences*. 1996. Vol. 157, No. 3. P. 316–22. URL: <https://doi.org/10.1086/297351>.

12. Sherff E. The genus *Bidens* // Publication of Field Museum of Natural History. Botanical series. 1937. Vol. 16. In 2 Parts. 709 p.

13. Souza F.P., Bianchessi S., Yamaguchi L., Kato M., Coan A., Takaki M. The role of pericarp in *Bidens* L. heterocarp (Asteraceae) // *Flora*. 2019. V. 257. 151426. P. 1–10. URL: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151426>.

14. Yeo H., Tan M.K., Ong B., Chung O.Y.X., Tan H. Heteromorphic characteristics of *Bidens pilosa* (Asteraceae) achenes influence adherence stability and dispersal capacity // *Nature in Singapore*. 2022. 15: e2022015. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.26107/NIS-2022-0015>.

15. CABI: Invasive Species Compendium [Electronic resource]. URL: <https://www.cabi.org/isc> (last accessed: 18.10.2023).

16. Composite List of Weeds. The Weed Science Society of America (WSSA) [Electronic resource]. URL: <https://wssa.net/wssa/weed/composite-list-of-weeds> (last accessed: 16.10.2023).

17. Flora of China / eFloras [Electronic resource]. URL: http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=2 (last accessed: 16.10.2023).

18. Flora of North America / eFloras [Electronic resource]. URL: http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=1 (last accessed: 16.10.2023).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vitaly Kulakov, Senior Researcher – Head of Interlaboratory Comparisons Department, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru.

Sofya Potanina, Junior Researcher, Research and Methodology Department of Invasive Plant Species, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; e-mail: enkoletta@yandex.ru.

Yuliana Kulakova, PhD in Biology, Leading Researcher – Head of Research and Methodology Department of Invasive Plant Species, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-9973-7584; e-mail: thymus73@mail.ru.