



УДК 581.48, 58:615.4

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ СПЕРМОДЕРМЫ *VICIA FABAE*. (*FABA BONA MEDIK.*), *PISUM SATIVUM* L. И *PHASEOLUS VULGARIS* L.

Ю.Н. Куркина,
Д.А. Колесников,
О.Н. Марадудина

Белгородский государственный
национальный
исследовательский
университет,
Россия 308015, г. Белгород,
ул. Победы, 85,

E-mail: kurkina@bsu.edu.ru

Изучены: ультраскульптура поверхности, макро- и микроструктура спермодермы семян бобов кормовых, гороха посевного и фасоли обыкновенной. Выявлено, что максимальной толщиной спермодермы отличаются семена бобов, а основной вклад в формирование этого признака вносит толщина склеротесты. Эпидерма спермодермы и семядолей не содержит устьичных аппаратов. У фасоли эпидерма семенной кожуры двухрядная и отличается наибольшей толщиной. Наиболее простым диагностическим признаком может служить ультраскульптура поверхности семени.

Ключевые слова: диагностические признаки, спермодерма, гиподерма, гистология семян, *Vicia faba*, *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*.

Бобы, горох и фасоль без преувеличения можно назвать самыми распространенными из зернобобовых культур. Издавна их используют в пищу, как кормовые растения и в качестве ценного предшественника других культур в севообороте. В настоящее время доказана возможность использования этих растений в медицине, для приготовления препаратов обладающих противоопухолевой активностью и гипогликемическим действием [1-4]. Возрастающий интерес к этим культурам специалистов медико-биологического профиля требует выявления диагностических признаков растительного сырья. Известно, что признаки структуры поверхности семян константны и, следовательно, обладают большой ценностью в качестве определяющих [5-8]. Пока нет исчерпывающих сведений о гистологии семян видов *Vicia faba* L., *Pisum sativum* L., *Phaseolus vulgaris* L. [9-11]. В связи с этим целью наших исследований было выявление диагностических признаков семян бобов кормовых, гороха посевного и фасоли обыкновенной.

Материал и методика

Исследовали сорта бобов и фасоли с мелкими семенами, сопоставимыми с семенами гороха. Сухие семена бобов кормовых (сорт 'Севериновские'), гороха посевного (сорт 'Мадонна') и фасоли обыкновенной (сорт 'Нерина') тщательно очищали и разрушали их целостность в ступке. Взвешивание проводили в 30-кратной повторности на весах AR 5120 (Ohaus). Ультраскульптуру поверхности, микроструктуру спермодермы (с латеральной стороны семени) и семядолей (с адаксиальной стороны) изучали на сколах при помощи электронного растрового микроскопа Quanta 200 3D в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Диагностика структуры и свойств наноматериалов». Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с использованием пакета анализа данных программы Microsoft Excel. Ошибку средней рассчитывали при уровне надежности 99%.

Результаты и обсуждение

Как видно из данных, представленных на рисунке 1, наибольшая доля семенной кожуры в массе семени была отмечена у бобов (12.5 %), у фасоли и гороха доля семенной кожуры в массе семени составила 10.3 и 8.7% соответственно (при 1000 семян 290, 200 и 220 г соответственно).

На поверхности семян устьица отсутствуют. Элементы ксилемы – спиральные и кольчатые. Наружный слой – твердый, или палисадный, состоит из толстостенных плотносомкнутых клеток, вытянутых перпендикулярно к поверхности семени и формирующих экзотесту. Клетки этого слоя параллельно поверхности семени пересечены световой линией.

С поверхности семени видно, что эпидерма бобов состоит из многогранных клеток, по размеру превосходящих клетки эпидермы гороха и фасоли почти в 2 и 3 раза соответственно. Поверхность клеток имеет центральные складки – впадины, что придает матовость семенам. Эпидермальные клетки семян гороха звездчатой формы, сильно складчатые в радиальном на-

правлении, объясняющие «шершавость» семян на ощупь. Эпидерма фасоли представлена клетками почти округлой формы, без складок и углублений, что определяет глянцевую поверхность семян (рис. 2).

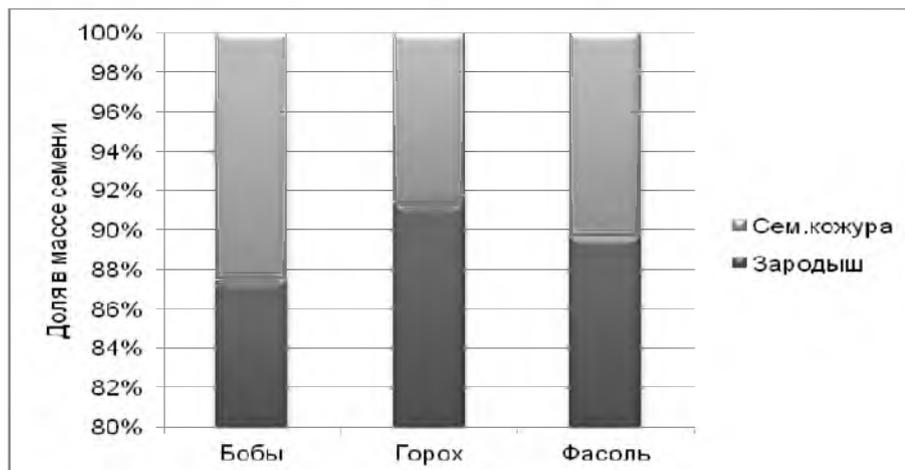


Рис. 1. Доля зародыша и семенной кожуры в массе семени

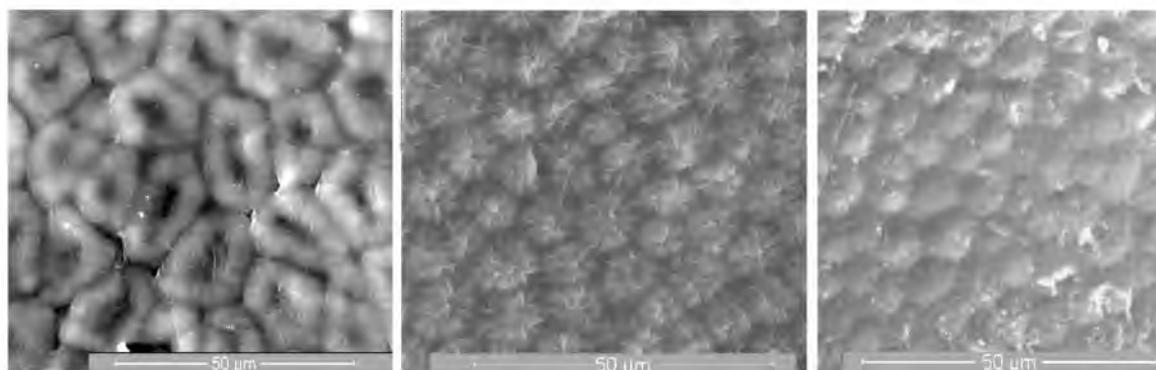


Рис. 2. Поверхность семян бобов, гороха и фасоли (слева направо) при увеличении в 2000 раз

Таким образом, клетки эпидермы бобов и гороха расположены настолько плотно, что не пропускают воду и на поверхности их образуются складки, которые постепенно исчезают при набухании семян.

Палисадные клетки эпидермы формируют экзотесту семенной кожуры. Эпидерма спермодермы фасоли двухрядная. Световая линия здесь проходит между двумя рядами одинаковых по высоте клеток эпидермы. Наименьшая толщина эпидермы отмечена у гороха (табл. 1). Так как по толщине экзотесты у бобов и фасоли достоверной разницы не выявлено, то диагностическим признаком является число рядов эпидермы. У бобов выражена и мезотеста толщиной 25.8 ± 4.3 мкм, состоящая из многогранных плотно сомкнутых клеток.

Таблица 1

Морфометрические признаки семян бобов, гороха и фасоли

| Признаки | Бобы | Горох | Фасоль |
|---|-----------------|----------------|-----------------|
| Размер клеток эпидермы спермодермы, мкм | 21.5 ± 2.7 | 12.1 ± 0.9 | 7.5 ± 1.1 |
| Толщина эпидермы спермодермы, мкм | 67.6 ± 4.5 | 39.8 ± 1.2 | 72.1 ± 2.3 |
| Толщина гиподермы, мкм | 10.1 ± 2.7 | 8.5 ± 0.8 | 7.2 ± 0.9 |
| Толщина склеротесты, мкм | 103.3 ± 8.1 | 48.3 ± 1.5 | 79.2 ± 2.5 |
| Толщина паренхотесты, мкм | 31.8 ± 2.8 | 25.6 ± 2.3 | 25.2 ± 3.3 |
| Размер клеток эпидермы семядолей, мкм | 74.8 ± 8.1 | 32.1 ± 4.6 | 42.9 ± 3.9 |
| Размер клеток запасяющей паренхимы, мкм | 81.1 ± 0.9 | 68.9 ± 3.7 | 97.1 ± 12.8 |
| Размер крахмальных зерен, мкм | 19.2 ± 3.2 | 27.6 ± 6.9 | 31.1 ± 2.2 |

Гиподерма представлена катушковидными, или колончатными, клетками – остеоскле-реидами, формирующими эндотесту спермодермы. По толщине гиподермы достоверных различий не выявлено (см. табл. 1). Этот слой спермодермы называют разбухающим из-за способ-

ности паренхимных клеток увеличиваться в размерах при поступлении в них воды и обеспечивать «набухание» семян при прорастании.

Таким образом, склеротесту бобов формируют экзо-, мезо- и эндотеста, а у гороха и фасоли склеротеста представлена сочетанием экзо- и эндотест. Средняя толщина склеротесты бобов превышает таковую у гороха в 2 раза (табл. 1, рис. 3).

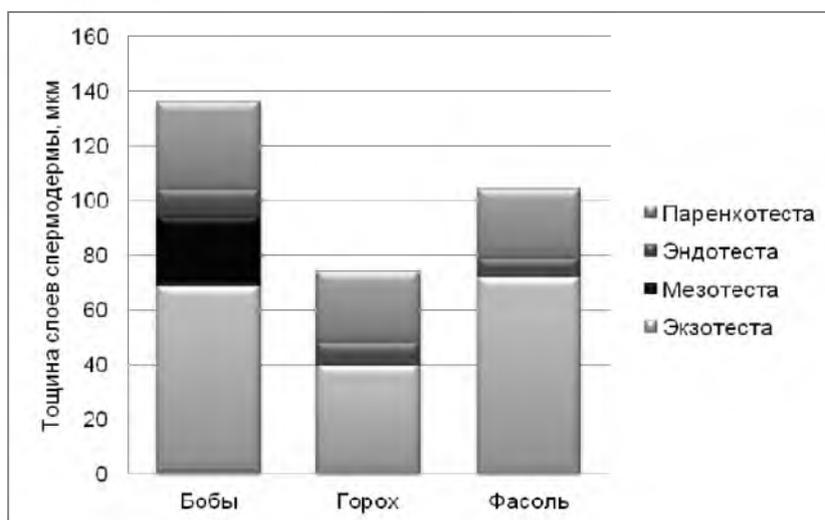


Рис. 3. Компоненты спермодермы бобов, гороха и фасоли и их средняя толщина

Ниже располагается паренхотеста. Это паренхима, клетки которой по направлению к зародышу постепенно спадаются. Толщина паренхотесты сопоставима у семян исследуемых культур (см. табл. 1).

Таким образом, средняя толщина спермодермы бобов составляет 135.1 мкм, фасоли – 104.4 и гороха – 73.9 мкм. Из приведенных данных видно, что основной вклад в толщину спермодермы вносит толщина склеротесты.

Эпидерма семядолей исследуемых культур без устьичных аппаратов. Клетки эпидермы семядолей бобов прозенхимные со слегка заостренными, а фасоли – с закругленными концами. Форма клеток эпидермы гороха почти прямоугольная. Из данных таблицы 1 видно, что длина клеток эпидермы семядолей бобов больше, чем фасоли в 1.7 и гороха – в 2.3 раза (рис. 4).

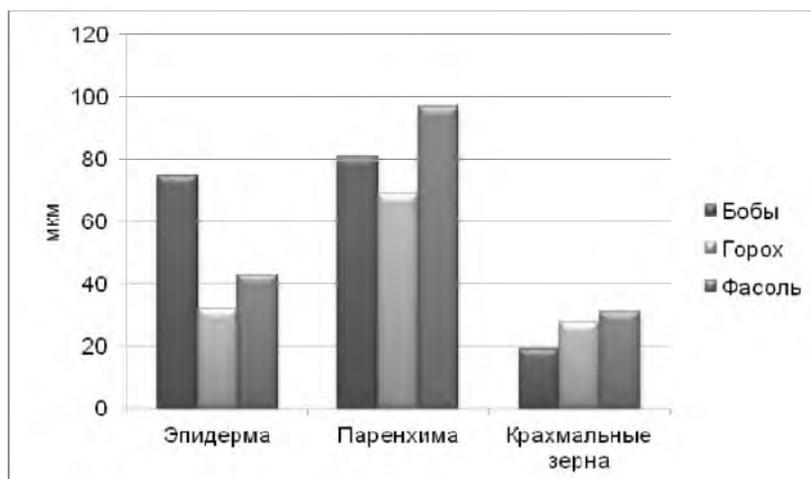


Рис. 4. Размер клеток семядолей

Клетки запасающей паренхимы почти изодиаметрические, тонкостенные, наименьшей длины у гороха и наибольшей – у фасоли. Клетки паренхимы семядолей заполнены зернами крахмала, которые соединены сплошной белковой матрицей. У фасоли и гороха крахмальные зерна крупнее (см. табл. 1), чем у бобов на 62 и 44% соответственно. Известно, что семена корневых бобов отличаются большим содержанием белка, тогда как селекция фасоли и гороха

(как пищевых культур) велась, большей частью, на вкусовые качества, зависящие и от содержания крахмала.

На рисунке 5 видны углубления в матрице от выпавших крахмальных зерен в паренхиме семян (на примере бобов). Алейроновые зерна (белковые гранулы, образовавшиеся при выпадении в осадок белка, находившегося в вакуолях) располагаются в основном вдоль клеточной стенки паренхимных клеток (на примере фасоли).

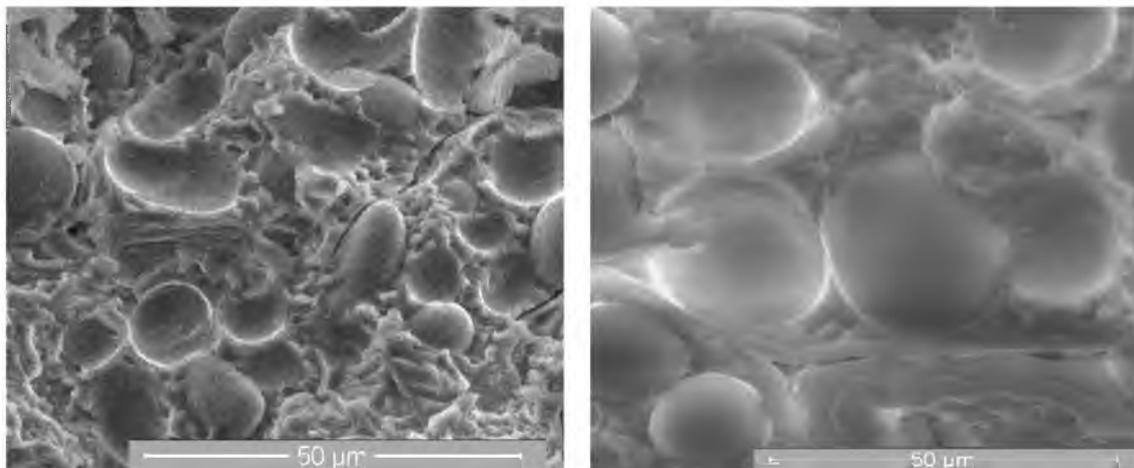


Рис. 5. Микрофотографии клеток запасющей паренхимы семядолей бобов (слева) и фасоли (справа), $\times 2000$

На рисунке 6 (на примере бобов) видно, что при прорастании семян сначала расходуется белок матрицы и алейроновых зерен. Семядоли при этом становятся рыхлыми, так как от белковой матрицы остаются лишь тяжи.

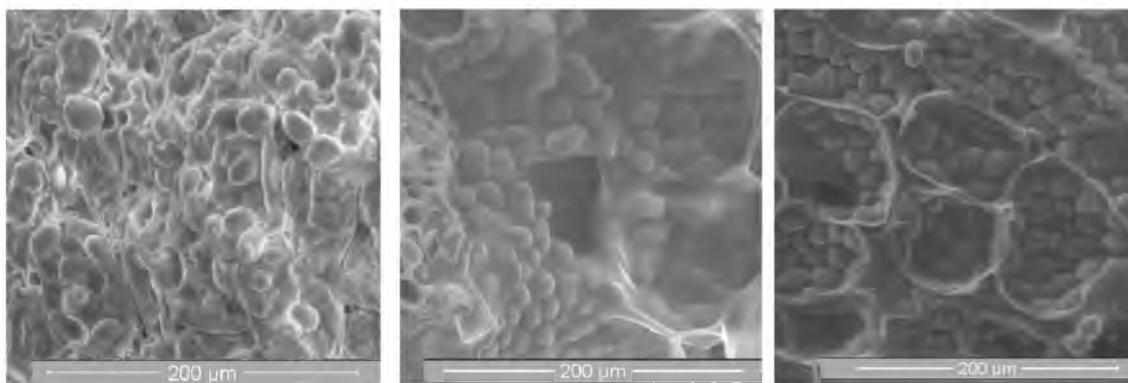


Рис. 6. Микрофотографии клеток паренхимы семядолей бобов, сделанные до проращивания, на 9-е и 13-е сутки от начала проращивания (слева направо)

Предлагая признаки семян, М.Е. Павлова [8] считает целесообразным отражать не абсолютные размеры семян и их частей, а их соотношения, выраженные в процентах. Так, традиционно используются, например, отношение ширины или толщины семени к длине; для рода *Bauhinia* предложено отношение толщины эпидермы спермодермы к толщине спермодермы [8].

Признаки семян, которые можно считать диагностическими для бобов кормовых, гороха посевного и фасоли обыкновенной приведены в таблице 2.

Таблица 2

Диагностические признаки семян

| № | Признак | Бобы | Горох | Фасоль |
|---|---|--------|-------|--------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | Отношение толщины спермодермы к толщине семени, % | 2 | 1.5 | 2.5 |
| 2 | Отношение размера клеток эпидермы спермодермы (с поверхности семени) к толщине спермодермы, % | 14–15 | 16 | 6–7 |
| 3 | Отношение размера клеток эпидермы семядоли (с поверхности семени) к размеру клеток запасющей паренхимы, % | 72–105 | 36–54 | 42–53 |
| 4 | Число рядов эпидермы | 1 | 1 | 2 |



Окончание табл. 2

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|--|--------------------------------------|------------|----------|
| 5 | Отношение размера крахмальных зерен к размеру клеток запасающей паренхимы, % | 20–30 | 40–50 | 30–40 |
| 6 | Отношение толщины эпидермы к толщине спермодермы, % | 47–52 | 50–57 | 66–74 |
| 7 | Размер клеток эпидермы (с поверхности семени), мкм | 17–25 | 11–13 | 5–8 |
| 8 | Форма клеток эпидермы спермодермы с поверхности семени | Многоугольная с центральной впадиной | Звездчатая | Округлая |

Таким образом, в зависимости от наличия тех или иных фрагментов семян при определении растительного сырья можно использовать признаки, приведенные в таблице. Видно, что первые два признака являются наиболее трудоемкими. Признак № 3 возможно использовать при необходимости идентификации дробленых семян бобов от фасоли и гороха, его сочетание с признаком № 4 становится информативным уже для трех культур. Признак № 5 станет единственно возможным для применения, если в анализируемой массе отсутствуют фрагменты семенной кожуры. Признак № 6 может использоваться при сличении фрагментов семян фасоли с семенами бобов и гороха. Наиболее простым из признаков микроструктуры семян является признак № 8, который может сочетаться с № 7 или применяться самостоятельно.

Выводы

1. Семена изученных культур достоверно отличаются по длине и массе 1000 семян, наибольшие значения этих признаков семян отмечены у бобов.
2. Максимальной толщиной спермодермы характеризуются также семена бобов. Основной вклад в формирование этого признака вносит толщина склеротесты.
3. Эпидерма спермодермы и семядолей изученных культур не содержит устьичных аппаратов. У фасоли эпидерма семенной кожуры двухрядная и световая линия проходит между двумя рядами клеток.
4. Ультраскульптура поверхности семени может служить простым диагностическим признаком.
5. При прорастании семян сначала расходуется белок матрицы и алейроновых зерен запасающей паренхимы. Ее клетки и размер крахмальных зерен крупнее у фасоли. А признак «отношение размера крахмальных зерен к размеру клеток запасающей паренхимы, %» позволяет идентифицировать фрагменты семян бобов, гороха и фасоли без семенной кожуры.

Список литературы

1. Key S., Marble M. Broad beans may protect against cancer // *Cancer Weekly Plus*. – 1999. – № 5 (3). – P. 12.
2. Sharaf F., Kamel S.H., El-Shabrawy O.A. Some pharmacological studies on *Vicia faba cotyledons* grown in Egypt // *Qual. Plant. Mater. Veg.* XXII. – 1972. – № 1. P. 99–105.
3. Wall J. R., Wall S. W. Isozyme polymorphisms in the study of evolution in the *Phaseolus vulgaris* – *P. coccineus* complex in Mexico. In *Isozymes // Genetics and evolution*. N. Y. 1975. – P. 287–305.
4. Сухарев Д.Н. Ботанико-фармакогностическое изучение различных сортов гороха посевного. Автореферат дис. ... канд. фарм. наук. – М., 2005. – 24 с.
5. Сурков В.А. Индекс спермодермы как критерий сравнительной филогенетической продвинуто-сти форм чечевицы пищевой - *Lens culinaris* Medik. // *Актуальные проблемы науки в с.х.пр-ве*. – М., 1997. – С. 49–50.
6. Ганжела Л.И., Гревцова Н.А., Лотова Л.И. Электронно-микроскопическое исследование поверхности спермодермы представителей рода *Lupinus* [В целях таксономии] // *Бюлл. Гл. ботан. сада*. – 1999. – № 178. – С. 118–124.
7. Попова С.С. Анатомо-морфологическое изучение семян некоторых представителей современных и ископаемых *Vitaceae*. // *Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века*. Петрозаводск, Карельский научный центр РАН. – 2008. – № 3. – С. 214–215.
8. Павлова М.Е. Сравнительная характеристика структуры семян видов рода *Bauhinia* L. (сем. *Fabaceae* Lindl., подсем. *Caesalpinioideae* Kurth.). Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2009. – 20 с.
9. Никитин А.А., Панкова И.А. *Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений*. – Л.: Наука, 1982. – 771 с.
10. Ворончихин В.В. Плоды, семена и ультраструктура спермодермы у представителей рода *Pisum* [В целях таксономической оценки] // *Бюлл. Гл. ботан. сада*. – 1999. – № 178. – С. 124–131.



11. Куркина Ю.Н. Некоторые особенности анатомического строения плодов и семян кормовых бобов // Ресурсосберегающие технологии земледелия. Курск, Изд-во ВНИИ Земледелия и защиты почв от эрозии РАСХН. – 2005. – С. 74–76.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF THE SPERMODERM OF *VICIA FABA* L. (*FABA BONA* MEDIK.), *PISUM SATIVUM* L. AND *PHASFOLUS VULGARIS* L.

**Yu.N. Kurkina, D.A. Kolesnikov,
O.N. Maradudina**

*Belgorod State National Research
University, Pobedy St. 85, Belgorod,
308015, Russia*

E-mail: kurkina@bsu.edu.ru

The surface ultrasculpture, macro- and microstructure of seeds of broad bean, field peas and kidney bean have been studied. It is revealed that seeds of broad bean show up the maximum thickness of spermoderm, and the basic contribution to the formation of this sign is brought about by the thickness of sclerotest. Epidermis of the testa and the cotyledon does not contain stomatal apparatuses. Kidney bean testa epidermis is distichous and is remarkable for maximum thickness. The ultrasculpture of the surface of a seed can serve as the most simple diagnostic sign.

Key words: diagnostic signs, testa, hypodermis, histology of seeds, *Vicia faba*, *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*.