

УДК 635.654.3+633.37:57.082.5:57.088.52

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕНТГЕНОГРАФИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СЕМЯН ВИГНЫ И ЧИНЫ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Л.П. ГУСАКОВА¹, Л.П. ВЕЛИКАНОВ¹, М.О. БУРЛЯЕВА²

Изучали возможность использования рентгенографического метода для анализа жизнеспособности семян вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. и чины посевной *Lathyrus sativus* L. — в частности, обнаружения внутренних дефектов семян и причин их возникновения. Установлено влияние различных типов скрытых дефектов внутренней структуры семян на их посевные качества. Семена с нарушениями в семядолях и зародышевых органах очень быстро теряют всхожесть и не могут длительно сохраняться в генбанках. Поэтому при разработке систем долгосрочного хранения следует учитывать не только показатели всхожести и энергии прорастания семян, но и скрытые повреждения их структуры. Метод также позволяет выявлять в семенном материале грибные инфекции. Следовательно, его важно применять на стадии подготовки семян к закладке на хранение.

Ключевые слова: вигна, чина, коллекция генетических ресурсов растений, рентгенографический метод, жизнеспособность семян.

Keywords: cowpea, grasspea, collections of plant genetic resources, the method of X-rays, viability of seed.

В настоящее время в мире большое внимание уделяется сбору гермплазы и сохранению биоразнообразия, поскольку генетические ресурсы, необходимые для развития многих отраслей промышленности и сельского хозяйства, представляют огромную экономическую ценность. Во Всероссийском НИИ растениеводства (ВИР) находится богатейшая коллекция культурных растений и их дикорастущих родичей, неоценимый вклад в организацию и пополнение которой внес Н.И. Вавилов. Идеи, сформулированные им при работе с мировыми генетическими ресурсами, оказали значительное влияние на создание генбанков во многих странах и остаются актуальными. Наиболее важной проблемой Николай Иванович считал поддержание всего собранного семенного материала в жизнеспособном состоянии «для служения практическим целям народного хозяйства». О необходимости этого Н.И. Вавилов еще в 1923 году писал Д.Н. Бородину — руководителю нью-йоркского филиала Отдела прикладной ботаники и селекции ГИОА (Государственный институт опытной агрономии, ныне ВИР): «...долг чести — все что есть, иметь в живом виде и гербарное учреждение превратить в большое опытное учреждение...» (1).

Длительность хранения семян в значительной степени зависит от состояния заложенного материала. Наиболее распространенные причины низких посевных качеств — различные повреждения и дефекты семенной кожуры, семядолей и зародышевых органов, а также поражение их грибными и вирусными болезнями. Чаще это проявляется при нарушении технологии возделывания или в тех случаях, когда периоды налива, созревания и уборки семян совпадают с влажными условиями прорастания. Вигна и чина — теплолюбивые растения, и их размножение в системе ВИР проводится в южных регионах (в Краснодарском крае, на поливе в Астраханской области и др.). В местах выращивания часто наблюдаются повышенная температура воздуха и избыточная влажность.

Во многих странах вигна *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (коровий горох, спаржевая вигна) известна как культура многоцелевого использования — пищевая, кормовая, сидерационная, почвозакрепляющая, фиторемедиационная, декоративная, лекарственная, однако чаще всего ее выращивают для пищевых целей. Урожайность вигны в зависимости от условий произрастания

ния варьирует от 0,5 до 5,0 т/га. В зерне в среднем содержится 27,0 % белка, 62,0 % углеводов, 1,3 % жира, 2,8 % клетчатки. Семена хорошо развариваются. В белке вигны имеются все важнейшие аминокислоты. К основным преимуществам коровьего гороха относятся высокая засухо-, жаро-, кислото- и солеустойчивость. Культура не предъявляет повышенных требований к плодородию почв. Вигна хорошо растет как на песчаных (более 85 % песка при низком содержании фосфора и количестве органического вещества менее 0,2 %), так и на глинистых почвах, выносит повышенную кислотность (2-5).

Чина посевная *Lathyrus sativus* L. используется как кормовая, продовольственная, декоративная и техническая культура, но преимущественно ее выращивают на корм животным (зерно, сено, зеленый корм, для выпаса на пастбищах) и зеленое удобрение. Урожайность семян посевной чины достигает 3,0, зеленой массы — 30,0 т/га. В смеси с яровыми злаками чину высевают для ранних выпасов, в пожнивных и осенне-зимних посевах. Кроме того, чину применяют для технических (получение казеина) и лекарственных (выделение фитогемагглютининов, тормозящих рост опухолевых клеток и повышающих фагоцитарную активность клеток человека) целей. Чина посевная характеризуется устойчивостью к неблагоприятным условиям среды (засухе, переувлажнению) и вредителям, нетребовательностью к почве, солеустойчивостью. Поэтому наибольшее значение она имеет в засушливых и полузасушливых районах (6-9).

Достаточно часто при работе с коллекциями этих ценных культур возникают трудности, связанные с низкой всхожестью в репродукциях, присланных со станций после пересева, причем по внешним признакам такие семена не отличаются от семян, имеющих высокую жизнеспособность, что обуславливает актуальность более детального исследования их внутренней структуры. Наряду с традиционным способом оценки качества семян по показателям всхожести широко используются биофизические методы — инфракрасная микроскопия (10-12), магнитно-резонансная магнитомография (13) и рентгенография (14). Для выявления внутренних повреждений и аномалий наиболее пригодной оказалась микрофокусная рентгенография, разработанная в Агрофизическом институте (14) и успешно применявшаяся для оценки влияния скрытых дефектов на посевные и урожайные качества, а также технологические характеристики семян кормовых, зерновых и других сельскохозяйственных культур (15-17).

Целью настоящего исследования был сравнительный анализ внутренней структуры семян бобовых культур — чины и вигны, имеющих разные показатели энергии прорастания и всхожести. Кроме того, в задачи работы входило изучение возможности использования метода рентгенографии для выявления морфологических особенностей семян, взаимосвязанных с их низкой жизнеспособностью.

Методика. Семена вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. и чины посевной *Lathyrus sativus* L. были отобраны из коллекции ВИР. Изучали парные образцы урожая одного года с разной всхожестью. Для вигны этот показатель имел значения 90 и 30 %, для чины — 94 и 72 %. Анализировали семена вигны, размноженные на Астраханской опытной станции ВИР (Астраханская обл.) в 2007 году, и чины, полученные на Кубанской опытной станции ВИР (Краснодарский край) в 2009 году.

Сравнительный анализ образцов проводили с использованием метода рентгенографии, позволяющего исследовать внутреннюю структуру семян без их повреждения. Для этого семена предварительно наклеивали на трафареты с липкой лентой в определенном порядке и производили съемку с 3-кратным прямым рентгеновским увеличением на установке ПРДУ-2

(ЗАО «ЭЛТЕХ-Мед», Россия). Рентгеновская теневая проекция объекта формировалась в установке на специальной фосфорной пластине многоразового использования. Пластины после экспозиции переносили в сканер Дигора, в котором изображение оцифровывали для наблюдения на экране монитора или/и компьютерного анализа, осуществляя визуально.

Определения всхожести и энергии прорастания семян выполняли дважды: 1-е — сразу после получения новой репродукции (2007 год у вигны и 2009 — у чины), 2-е — в конце ноября—начале декабря 2011 года после рентгеносъемки. При 2-м определении измеряли длину ростка и корня у семян на дату проращивания, которое проводили в лабораторных условиях в рулонах из фильтровальной бумаги согласно ГОСТ 12038-84 (19). Ошибку средней для длины ростка и корня рассчитывали по Б.А. Доспехову (18).

Результаты. Метеорологические условия в течение вегетационных периодов были типичными для указанных регионов (табл. 1).

1. Климатические характеристики, зарегистрированные в течение вегетационного периода в районах размножения коллекционных образцов вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. и чины посевной *Lathyrus sativus* L.

Показатель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Сумма
Астраханская опытная станция ВИР (Астраханская обл., 2007 год)							
Температура воздуха, °C	592,0	709,2	801,0	846,5	572,6	371,5	3892,8
Осадки, мм	35,5	8,7	7,6	0,0	18,5	2,1	72,4
Кубанская опытная станция ВИР (Краснодарский край, 2009 год)							
Температура воздуха, °C	478,6	683,8	754,4	619,2	518,2	461,8	3516,0
Осадки, мм	47,2	64,5	66,5	47,3	68,3	15,3	309,1

П р и м е ч а н и е. ВИР — Всероссийский НИИ растениеводства.

Рентгенография выявила различные дефекты семян (рис. 1, табл. 2).

2. Результаты рентгенографического анализа семян у коллекционных образцов вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. и чины посевной *Lathyrus sativus* L., полученных при размножении

№ по каталогу ВИР (всхожесть, %)	Доля семян с дефектами, %				
	отслоение се- менной кожуры	трещины в семядолях	очаговые затемнения	дефект зачаточ- ного корешка	пустоты в облас- ти корешка
Вигна (Астраханская опытная станция ВИР, Астраханская обл., 2007 год)					
к-638 (90)	0	0	9	9	24
к-416 (30)	6	0	15	58	51
Чина (Кубанская опытная станция ВИР (Краснодарский край, 2009 год)					
к-410 (94)	89	13	15	—	—
к-412 (72)	82	8	17	—	—

П р и м е ч а н и е. ВИР — Всероссийский НИИ растениеводства. Прочерки означают, что дефекты не выявлены.

На рентгенограммах у дефектных семян (см. рис. 1) при отслоении семенной кожуры ее проекция отделялась от семени черной линией. Трещины в семядолях проявлялись как черные прямые или ломаные линии, пересекающие светлые округлые проекции семядолей. Очаговые (локальные) затемнения на семядолях имели сплошную окраску или были тонко-структурными; первое часто указывало на полости, выгрызенные личинками насекомых, второе — на потерю плотности материала семядолей вдоль гифов грибов (формирование многолучевых звездчатых структур). Кроме того, отмечался дефект зачаточного корешка. Семена вигны по сравнению с семенами чины обладали более правильной регулярной формой, вследствие чего на их снимках достаточно хорошо виден зачаточный корешок и его дефекты (невыполненность, искривленность, разрывы). Поскольку семена чины труднее снять в одной и той же проекции, этот признак в рассматриваемой серии снимков не учитывали. В области корешка отмечались пустоты, а также черные, достаточно широкие линии

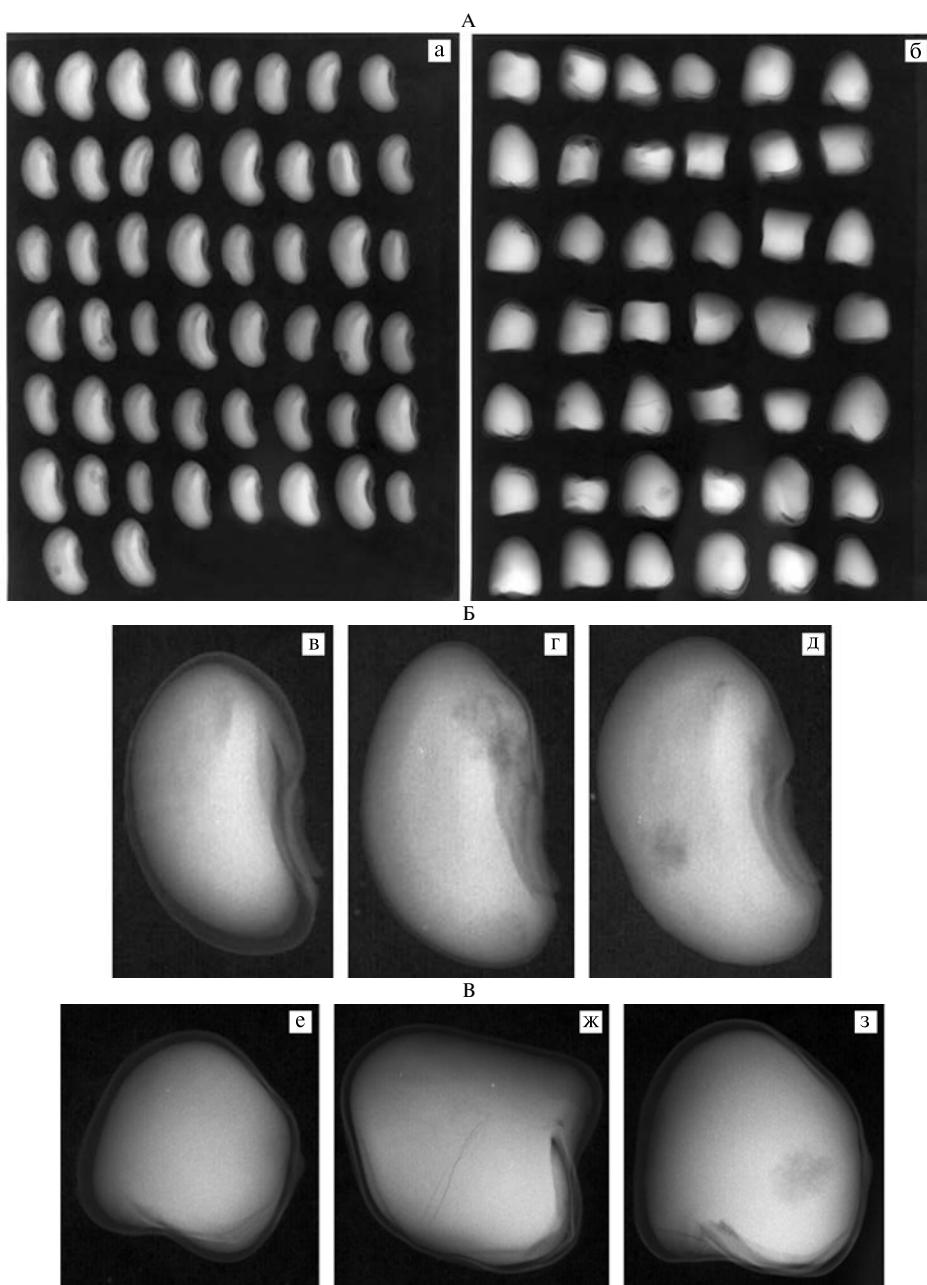


Рис. 1. Рентгенограммы семян, полученных при размножении (А), и наблюдаемые дефекты их структуры у коллекционных образцов вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Б) и чины посевной *Lathyrus sativus* L. (В): а — чина к-412 (всходесть 72 %), б — вигна к-416 (всходесть 30 %); в, г, д — соответственно отслоение семенной кожуры, дефект корешка, очаговые затемнения; е, ж, з — отслоение семенной кожуры, трещины, очаговые затемнения. Семена вигны и чины получены соответственно на Астраханской опытной станции Всероссийского НИИ растениеводства (ВИР) (Астраханская обл., 2007 год) и Кубанской опытной станции ВИР (Краснодарский край, 2009 год).

вдоль его проекции, свидетельствующие, по-видимому, о высыхании семени после избыточной влажности перед уборкой или при хранении.

Для образцов вигны процентное содержание семян с выявленными дефектами хорошо согласуется с показателем всхожести (см. табл. 2). Определяющим признаком оказалась дефектность корешка. У образца к-638 (всходесть 90 %) доля семян с дефектом корешка составила 9 %, у к-416

(всхожесть 30 %) — 58 %. Очаговые затемнения и пустоты в области корешка, по-видимому, увеличивают число невсхожих семян до 70 %. Для семян чины такую связь между всхожестью и зафиксированными рентгенографическими дефектами обнаружить не удалось. Вероятно она, как и у вигны, обусловлена нарушениями структуры корешка, которые, однако, не удается регистрировать из-за особенностей формы семян у чины. Отметим, что мы выявили признаки, доступные для прямой визуальной идентификации оператором-рентгенологом. Программа компьютеризированного морфометрического анализа, более точного и дающего практически мгновенный результат при рентгеновской сепарации семян, в настоящее время разрабатывается.

Так как при любых технологиях хранения всхожесть семян неизбежно снижается, для поддержания коллекций требуется воспроизведение семенного материала, особенно после длительного хранения. Чтобы определить, как влияют обнаруженные внутренние дефекты структуры семян на продолжительность периода их жизнеспособности, мы повторно оценили всхожесть в ноябре—декабре 2011 года.

Исследованные образцы вигны как с низкой (к-416), так и с более высокой всхожестью (к-638) в целом сохранили эти показатели (табл. 3). Некоторое увеличение всхожести у образца к-416 (см. табл. 3) можно объяснить, во-первых, малым объемом выборки, во-вторых, тем, что для более корректного сопоставления результатов проращивания с результатами рентгенографического анализа учитывали все появившиеся проростки.

3. Посевные качества семян у коллекционных образцов вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. и чины посевной *Lathyrus sativus* L., полученных при размножении, после хранения (ноябрь—декабрь 2011 года)

№ по каталогу ВИР	Энергия прорастания, %		Всхожесть, %		Средняя длина, см	
	1-е	2-е	1-е	2-е	ростка	корня
В и г н а (Астраханская опытная станция ВИР, Астраханская обл., 2007 год)						
к-416	22	32	30	50	5,5±0,7	6,0±0,8
к-638	70	94	90	90	15,5±1,1	13,5±0,8
Ч и н а (Кубанская опытная станция ВИР, Краснодарский край, 2009 год)						
к-410	90	63	94	53	13,6±0,6	7,7±0,9
к-412	66	63	72	47	14,8±1,7	7,8±1,2

П р и м е ч а н и е. 1-е и 2-е — определения до и после хранения (см. раздел «Методика»). Для длины ростка и корня приведены средние значения и их ошибка.

В то же время низкое качество семян у образца к-416 подтверждалось биометрическими показателями проростков. Так, в среднем длина ростка была в 3 раза, корня — в 2 раза меньше, чем у варианта к-638 (рис. 2). Кроме того, при определении всхожести в ноябре—декабре 2011 года на проростках вигны к-416 наблюдали коричневые некротические пятна, которые занимали более половины длины корешка, тогда как у образца к-638 они встречались только на кончиках некоторых корней. У чины при повторном определении всхожести отмечали резкое уменьшение показателей (см. табл. 3). Так, у образца к-410 она снизилась по сравнению с исходной в 1,8 раза (с 94 до 53 %), у образца к-412 — в 1,5 раза (с 72 до 43 %). На проростках имелись коричневые пятна, гниль и плесень. В то же время биометрические показатели ростков и корешков у анализируемых образцов были практически одинаковыми (см. рис. 2).

Учитывая, что сравнивались парные образцы с одинаковым годом и местом репродукции семян, полагаем, что отмеченное нами падение всхожести скорее всего связано с несоблюдением технологии уборки и режимов хранения (повышенная влажность либо у семян в период уборки и закладки на хранение, либо в хранилище и т.д.). Следствие подобных нарушений — поражение семенного материала грибными патогенами, что и наблюдалось при исследовании (коричневые некротические пятна на про-

ростках, наличие гнили, плесени, гибель проростков).

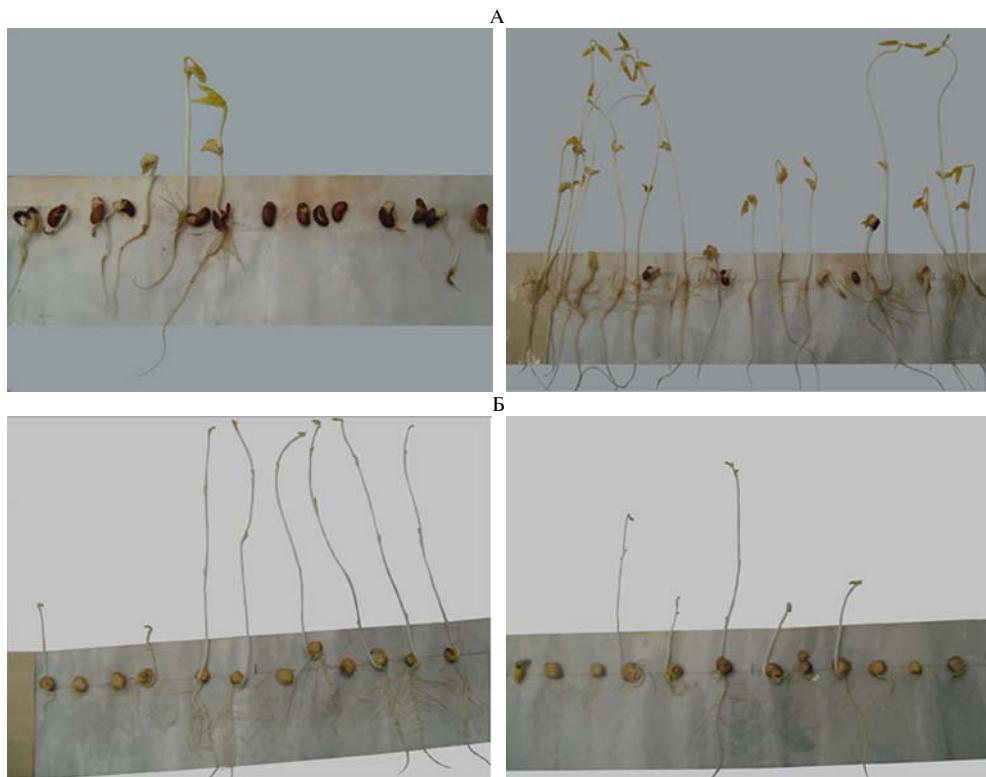


Рис. 2. Проростки у коллекционных образцов вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (А, к-416 и к-638 — соответственно слева и справа) и чины посевной *Lathyrus sativus* L. (Б, к-410 и к-412 — слева и справа) с разной жизнеспособностью семян, полученных при размножении (репродукция вигны и чины — соответственно в 2007 и 2009 году, повторная оценка всхожести — в ноябре—декабре 2011 года после хранения).

В целом полученные методом рентгенографии данные согласуются с показателями всхожести семян: в нашем опыте здоровые, не имеющие внутренних дефектов и повреждений семена характеризовались более высокой всхожестью, энергией прорастания и длительным периодом жизнеспособности (см. табл. 3).

Таким образом, с помощью рентгенографического анализа были выявлены три типа внутренних дефектов семядолей (с незначительным преобладанием очаговых затемнений у образца чины к-412). Для семян вигны определяющими в снижении всхожести оказались дефекты зародышевого корешка. Не исключено, что подобное справедливо и для семян чины, однако у этой культуры визуализировать корешок и, соответственно, выявить его дефекты затруднительно. Семена с нарушениями в семядолях и зародышевых органах очень быстро теряют всхожесть. Поэтому при разработке систем долгосрочного хранения следует учитывать не только показатели всхожести и энергии прорастания, но и скрытые повреждения структуры семян. Кроме того, рентгенография позволяет выявлять в семенном материале грибные инфекции. Поэтому важно применять этот метод на стадии подготовки семян к закладке на хранение для гарантированного сохранения генетического разнообразия в генбанках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов Н.И. Научное наследие в письмах: Международная переписка. Т. 1. Петро-
126

- градский период. 1921-1927. М., 1994.
2. Casini P. Leguminose da Granella degli Ambienti Tropicali. Firenze, 2003: 1-73.
 3. Maxter N., Mabuza-Diamanti P., Moss H., Padulozzi S., Jarvis A., Gugino L. An ecogeographic study. African Vigna. Rome, Italy, 2004.
 4. Павлова А.М. Вигна. М.-Л., 1937: 623-646.
 5. Чечулин В.И. Вигна (*Vigna sinensis* Endl.). В кн.: Однолетние кормовые культуры. М., 1954: 223-226.
 6. Залкинд Ф.Л. Чина. М.-Л., 1953.
 7. Samprębell C.G. Grasspea. *Lathyrus sativus* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Gatersleben, Germany—Rome, Italy, 1997.
 8. Киселевский М.В., Зайчикова С.Г. Иммуномодулирующее действие чины посевной (*Lathyrus sativus* L.). Химико-фармацевтический журнал, 2002, 36(6): 30-31.
 9. Зайчикова С.Г., Самылина И.А., Новожилова Т.И., Бурляева М.О. Выделение и характеристика лектинов из семян чины посевной (*Lathyrus sativus* L.). Химико-фармацевтический журнал, 2000, 34(11): 31-33.
 10. Морозов В.Г., Яковенко В.А., Наремский Н.К. Методы контроля повреждаемости зерна пшеницы. Изв. высших учебных заведений. Одесса, 1978, 6(127): 114-118.
 11. Вилкова Н.А., Шapiro И.Д., Боршова Т.А. Использование инфракрасной микроскопии для диагностики повреждения и устойчивости зерновок к клопам. В кн.: Методы исследований патологических изменений растений. М., 1976: 216-219.
 12. Капусткина А.В. Морфофизиологические особенности прорастания зерновок озимой пшеницы при их повреждении вредной черепашкой. Вестник защиты растений, 2009, 4: 39-47.
 13. Виноградова И.С., Фалалеев О.В. Применение метода магнитно-резонансной микротомографии при изучении внутренней структуры семян бобовых растений. Вестник РАСХН, 2010, 6:10-13.
 14. Савин В.Н., Архипов М.В., Баденко А.Л. Рентгенография для выявления внутренних повреждений и их влияние на урожайные качества семян. Вестник с.-х. науки, 1981, 10: 99-104.
 15. Архипов М.В., Алексеева Д.И., Батыгин Н.Ф., Великанов Л.П., Гусакова Л.П., Дерунов И.В., Желудков А.Г., Николенко В.Ф., Никитина Л.И., Савин В.Н., Пономаренко Е.Н., Якушев В.П. Методика рентгенографии в земледелии и растениеводстве /Под ред. М.В. Архипова. М., 2001.
 16. Архипов М.В., Гусакова Л.П., Великанов Л.П., Виличко А.К., Алексеева Д.И., Никитина Л.И. Оценка влияния внутренних дефектов семян зернобобовых и масличных культур на их посевные и урожайные качества. В сб.: Регулируемая агрокосистема в растениеводстве и экофизиологии. СПб, 2007: 355-366.
 17. Архипов М.В., Потраков Н.Н. Микрофокусная рентгенография растений. СПб, 2008.
 18. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М., 1979.
 19. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести, жизнеспособности, влажности. <http://www.gostbasa.ru/list.htm>

¹ГНУ Агрофизический НИИ Россельхозакадемии,
195220 г. Санкт-Петербург, Гражданский просп., 14,
e-mail: L-Gusakova@mail.ru, leonidvelicanov@yandex.ru;

Поступила в редакцию
15 мая 2012 года

²ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства
им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии,
190000 г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 44,
e-mail: m.burlyueva@vir.nw.ru, m.burlyueva@mail.ru

DETERMINATION OF TECHNOLOGICAL QUALITY OF SEEDS IN GRASSPEA AND COWPEA FROM THE VIR COLLECTION USING X-RAY METHOD

L.P. Gusakova¹, L.P. Velikanov¹, M.O. Burlyueva²

S u m m a r y

The possibility was studied of using X-ray diffraction method for analyzing a viability of seeds in grosspea *Lathyrus sativus* L. and cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp., and in particular, for detection of the internal defects of seeds and their causes. An influence of different types of latent internal defects of seeds on their sowing qualities has been shown. The seeds with damaged cotyledons and embryonic organs very quickly lose their viability and can not be long preserved in the genebanks. Therefore, in long-term storage programs not only germination and seed vigor indexes must be considered, but the hidden damages in seed structure. This method also allows to identify a fungal infection in seeds. So, its use is very important under preparing seeds for storage.