

WYKORZYSTANIE MIKROSKOPII SKANINGOWEJ W OCENIE WYTRZYMAŁOŚCI OKRYWY NASIENNEJ SOI, GROCHU I SOCZEWICY

B. Dobrzański, jr, B. Szot

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN

ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27

bdob@demeter.ipan.lublin.pl

Streszczenie. Celem pracy było wyznaczenie właściwości mechanicznych okrywy oraz opis jej struktury dla nasion soi (*Glicine hispida* Max.), grochu (*Pisum sativum* L.) i soczewicy (*Lens culinaris* Medic.). W celu wyjaśnienia mechanizmu pęknięcia okrywy nasion roślin strączkowych i wyznaczenia jej wytrzymałości na rozciąganie prowadzono szczegółowe badanie jej właściwości mechanicznych. Wytrzymałość na rozciąganie okrywy nasiennej wyznaczono w szerokim zakresie wilgotności. W celu określenia wpływu suszenia na powstawanie naprężeń w okrywie i wywołania jej skurczu stosowano ogrzane powietrze. Mikrostrukturę przekroju w miejscu rozerwania okrywy oraz powierzchnię powstałą podczas wycinania preparatu określano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego JEOL JSM 5200; przy napięciu przyspieszającym 10 keV. Wraz ze wzrostem wilgotności wytrzymałość okrywy nasion badanych gatunków malała. Grubość okrywy nasion poszczególnych odmian była zróżnicowana, co miało wpływ na wartość siły rejestrowanej podczas rozciągania, a wielkość ta była często odwrotna do naprężenia krytycznego, wyznaczonego w teście rozciągania.

Słowa kluczowe: Groch, soja, soczewica, okrywa, wytrzymałość, mikroskopia skaningowa.

WSTĘP

Wytrzymałość okrywy tak jak innych materiałów roślinnych w największym stopniu warunkowana jest wilgotnością [4-7,9,14,15,17]. Z jednej strony, zmiana wilgotności może pociągać za sobą zmianę wytrzymałości na rozciąganie okrywy nasion [5,7], a z drugiej strony zmianę jej wymiarów geometrycznych [4,11] i skurcz w trakcie suszenia [4-11,21-24], który może powodować powstawanie naprężeń w okrywie nasiennej. Dobrzański [5-8] oraz Liu i wsp. [18] zaobserwowali, że skurcz okrywy wywołany suszeniem jest jednym z głównych powodów jej pęknięć, rozszczepień oraz uszkodzeń. White i wsp. [28] zwracają uwagę, że nasiona uszkodzone, narażone są na choroby grzybowe w okresie ich przechowywania, co w konsekwencji obniża ich zdolność kiełkowania i wartość biologiczną. Mensah i wsp. [19] podkreślają, że szczególnie ważne staje się opracowanie optymalnych warunków suszenia, tak aby zabieg ten powodował jak najmniej uszkodzeń. Wymaga to jednak prowadzenia badań wytrzymałości okrywy nasiennej w szerokim zakresie wilgotności w celu znalezienia cech wytrzymałościowych charakteryzujących każdą z odmian w obrębie poszczególnych gatunków. Wielkości wytrzymałościowe wymagają przygotowania próbek o stałych parametrach, tak aby były one niezależne od ich wymiarów. Małe wymiary próbek [2,25-27], a w szczególności grubość okrywy nasion soczewicy [1,12,13,20] oraz ich niejednorodna budowa [2-4] wymagają prowadzenia nie tylko badań wytrzymałościowych, ale i badań strukturalnych [14-16], które umożliwiłyby również określenie cech geometrycznych próbki.

Stąd też, celem badań był opis budowy struktury okryw nasiennych i określenie jej wytrzymałości mechanicznej, a w szczególności wyznaczenie krytycznego naprężenia rozciągającego w szerokim zakresie wilgotności oraz przeprowadzenie analizy i weryfikacji mikroskopowej wpływu jej budowy strukturalnej na charakter powstawania uszkodzeń nasion roślin strączkowych.

MATERIAŁ I METODA

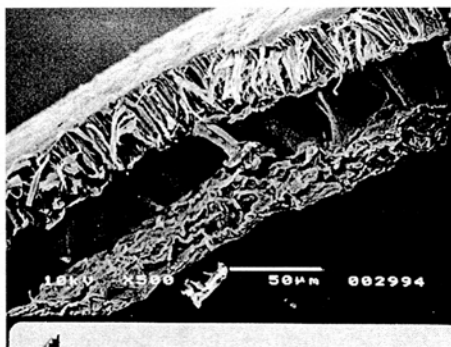
Badania prowadzono na okrywie nasion grochu (*Pisum sativum* L.) odmian: Agat, Fidelia, soi (*Glicine hispida* Max.) odmian: Nawiko i Polan oraz soczewicy (*Lens culinaris* Medic.) odmiany Tina. Określenie wytrzymałości mechanicznej okrywy nasion badanych odmian i gatunków wymagało przeprowadzenia testu w celu wyznaczenia naprężenia rozciągającego okrywy w szerokim zakresie wilgotności oraz określenia wymiarów geometrycznych próbek.

W teście tym zastosowano metodę pomiaru wytrzymałości na rozciąganie okrywy nasion roślin strączkowych oraz metodę preparacji wycinków opracowaną przez Dobrzańskiego [2,6]. Testy rozciągania przeprowadzono wykorzystując maszynę wytrzymałościową Instron wyposażoną w specjalne uchwyty umożliwiające założenie pasków okrywy. Pole przekroju próbki określano znając szerokość paska równą odległości pomiędzy ostrzami tnącymi oraz grubość okrywy dla badanych gatunków i odmian, którą wyznaczono w oparciu o analizę strukturalną mikroskopii skaningowej. Określenie powyższych wielkości pozwala na obliczenie wytrzymałości na rozciąganie oraz modułu sprężystości okrywy nasiennej.

Weryfikację mikroskopową struktury prowadzono na preparatach okrywy nasion roślin strączkowych pochodzących z testów rozciągania jak też z testów wytrzymałościowych odpowiadających mechanizmowi "połówkowania nasion", w których określano naprężenia ścinające powodujące uszkodzenie okrywy. Preparaty okrywy nasiennej utrwalano zgodnie z procedurą opisaną przez Fornalą i wsp. [11,12], a analizę mikroskopową wykonano po napyłaniu węglem i złotem (JEOL JEE 4X) w skaningowym mikroskopie elektronowym JEOL JSM 5200 przy napięciu przyspieszającym 10 keV.

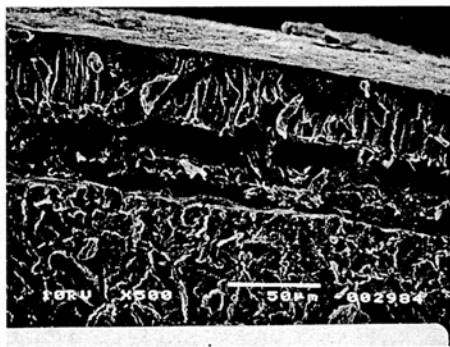
WYNIKI

Na podstawie szczegółowej analizy zdjęć mikroskopowych (Rys. 1 i 2) można stwierdzić, że grubość okrywy nasion soi odmiany Polan osiąga wartości $93 \div 114 \mu\text{m}$, gdzie w porównaniu dla odmiany Nawiko wartości te nie przekraczają $71 \div 75 \mu\text{m}$. Parenchyma gąbczasta prawie nie występuje w okrywie nasion tej odmiany, a jej grubość wynosi około $14 \mu\text{m}$ nie przekraczając $25 \mu\text{m}$.



Rys. 1. Okrywa nasion soi odmiany Polan.

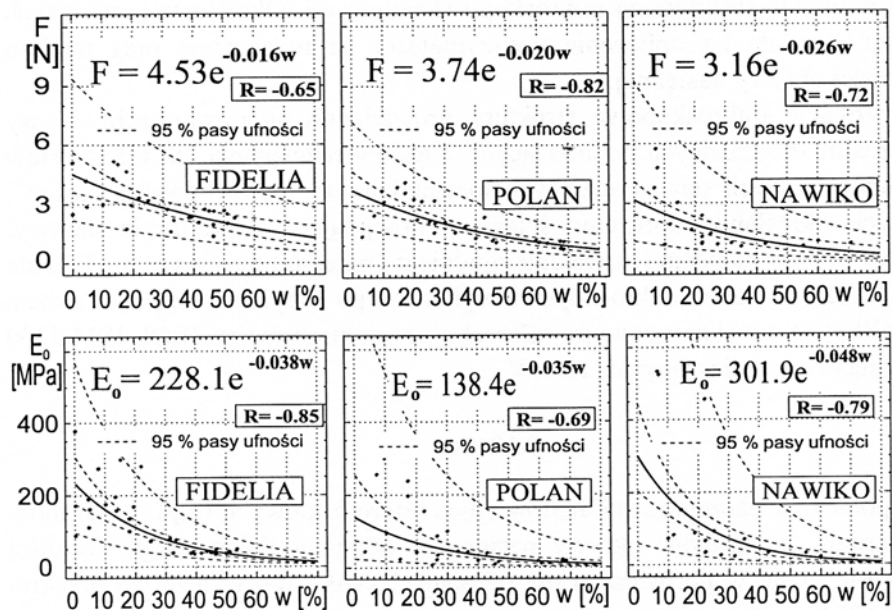
Fig. 1. The seed coat of Polan soybean.



Rys. 2. Okrywa nasion soi odmiany Nawiko.

Fig. 2. The seed coat of Nawiko soybean.

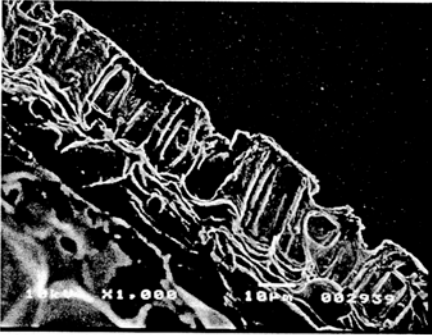
W porównaniu warstwa ta w okrywie nasion odmiany Polan osiąga wartości $32\div 35\ \mu\text{m}$. Warstwa komórek palisadowych obu odmian wynosi około $40\ \mu\text{m}$. Zdecydowanie bardziej regularna w swej budowie warstwa komórek klepsydrowych (podpórkowych) okrywy nasion odmiany Polan sugeruje jej wyższą wytrzymałość mechaniczną.



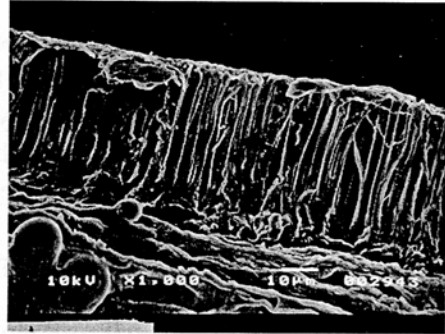
Rys. 3. Siła F zniszczenia podczas rozciągania okrywy nasion grochu odm. Fidelia i soi odm. Polan i Nawiko oraz moduł sprężystości E_0 wyznaczony w zakresie niewielkiej deformacji.

Fig. 3. The tension force F at breakage and modulus of elasticity E_0 of the seed coat of Fidelia pea seed and Polan and Nawiko soybean determined at small deformation.

Według badań własnych jest jednak odwrotnie. Dla suchej okrywy nasion soi odmiany Nawiko, wyznaczono większe naprężenia krytyczne rozciągające oraz moduł sprężystości (Rys. 3). Z powyższych fotografii (Rys. 1 i 2) można wnioskować, że większa grubość okrywy odmiany Polan związana jest z warstwą komórek klepsydrowych „pracujących” na ścinanie a nie rozciąganie. Test ścinania przeprowadzony przez Dobrzańskiego [8] udowodnił, że okrywa nasion odmiany Polan wykazuje wyższą wytrzymałość w testach połówkowania.

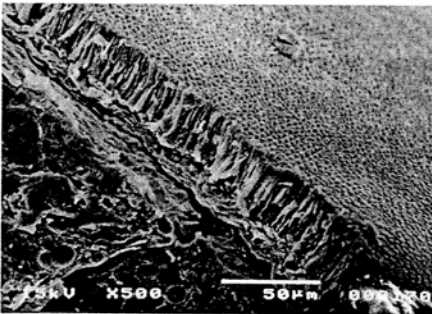


Rys. 4. Okrywa nasion grochu odm. Agat
Fig. 4. The seed coat of Agat pea seed.

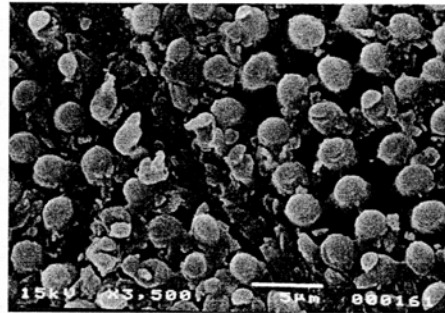


Rys. 5. Okrywa nasion grochu odm. Fidelia.
Fig. 5. The seed coat of Fidelia pea seed.

Okrywa nasienna odmiany jadalnej Agat charakteryzująca się jasną żółto-różową barwą jest znacznie cieńsza (Rys. 4), a warstwa komórek palisadowych w tym przypadku nie przekracza $20\ \mu\text{m}$. W porównaniu odmiana pastewna grochu Fidelia o ciemnobrązowej nieprzezroczystej okrywie posiada warstwę komórek palisadowych osiągającą $62\ \mu\text{m}$ (Rys. 5).



Rys. 6. Okrywa nasion soczewicy odm. Tina.
Fig. 6. The seed coat of Tina lentil seed.



Rys. 7. Okrywa nasion soczewicy odm. Tina.
Fig. 7. The seed coat of Tina lentil seed.

Dla porównania warstwa komórek palisadowych okrywy nasion soczewicy jest znacznie cieńsza niż u większości gatunków nasion roślin strączkowych i nie przekracza $25\ \mu\text{m}$ (Rys. 6). Komórki warstwy palisadowej oddziela od komórek miększu gąbczastego warstwa komórek podpórkowych, których wysokość nie przekracza $5\ \mu\text{m}$ (jedynie w rejonie osi zarodkowej do $12\ \mu\text{m}$) stąd warstwa ta nie może mieć istotnego wpływu na wytrzymałość okrywy nasion soczewicy.

Szczególną budową okrywy wyróżniają się nasiona soczewicy, której powierzchnia zewnętrzna posiada charakter brodawkowy (Rys. 7). Brodawki te

mają średnicę od 0,8 μm do 2,5 μm , a odległości pomiędzy nimi tworzą przestrzenie, które zawierają się w zakresie 1,5 μm do 4 μm . Ma to bardzo istotne znaczenie w łatwym wchłanianiu wody w przeciwieństwie do wielu innych gatunków roślin strączkowych, co określili Dobrzański i Rybczyński [10], a których okrywa nasienna często utrudnia migrację wody.

WNIOSKI

1. Prowadzona analiza mikroskopowa budowy okrywy nasion roślin strączkowych pozwala na określenie jej złożonej struktury oraz faktycznej grubości poszczególnych warstw. Warstwa komórek palisadowych grochu odmiany pastewnej i jadalnej, soi oraz soczewicy osiąga odpowiednio: 62, 20, 40 i 25 μm . Warstwa ta w największym stopniu odpowiada za wytrzymałość okrywy na rozciąganie. Wyznaczenie jej grubości umożliwia określenie naprężeń krytycznych oraz modułu sprężystości, co pozwala na zweryfikowanie jej wytrzymałości na rozciąganie.
2. Szczególna budowa okrywy i jej charakter brodawkowy uwidoczniły za pomocą mikroskopowej analizy strukturalnej wyjaśnia znaczenie brodawek w łatwym wchłanianiu wody nasion soczewicy w przeciwieństwie do nasion innych gatunków roślin strączkowych, jednak grubość warstwy palisadowej poniżej 25 μm oraz brak warstwy komórek klepsydrowych świadczy o jej najniższej wytrzymałości mechanicznej.

PIŚMIENNICTWO

1. **Bhatty R.S.:** Composition and quality of lentil (*Lens culinaris* Medic.). A Review, Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 21, 2, 144, 1988.
2. **Dobrzański, jr. B.:** Metodyczne aspekty oceny mechanicznych właściwości nasion grochu. Instytut Agrofizyki PAN, 1-103, 1990.
3. **Dobrzański, jr. B.:** Geometrical dependences of seed shell of compressed pea. Int. Agrophysics, 7(4):259-264, 1993.
4. **Dobrzański, jr. B.:** The influence of moisture content on the shape deformation of soybean. AgEng' 96, Madrid, 962-963, paper: 96F-082, 1-7, 1996.
5. **Dobrzański, jr. B., Szot B.:** Strength of pea seed cover. Int. Agrophysics, 11, 301-306, 1997.
6. **Dobrzański, jr. B.:** Mechanizmy powstawania uszkodzeń nasion roślin strączkowych. Acta Agrophysica, 13, 1-96, 1998.

7. **Dobrzański, jr. B.:** Właściwości mechaniczne powierzchniowej struktury roślinnej tkanki okrywającej. Wydawnictwa Naukowe FRNA, 2, 87-108, 1999.
8. **Dobrzański, jr. B.:** Ścinanie okrywy - mechanizm pękania nasion roślin strączkowych. Inżynieria Rolnicza, 6(17), 125-132, 2000.
9. **Dobrzański, jr. B.:** The cracking mechanisms of the legume seeds. CD-ROM of AgEng'2000 papers, Paper: 00-PH-050, 1-10, Warwick, 2, 2000., p.111-112.
10. **Dobrzański, jr. B., Rybczyński R.:** Znaczenie okrywy nasiennej w procesie suszenia nasion roślin strączkowych. Acta Agrophysica, 46, 23-30, 2001.
11. **Dorell D.G., Adams M.W.:** Effect of some seed characteristic on mechanically included seedcoat damage in navy beans. Agron. J., 61, 5, 672-673, 1969.
12. **Fornal J., Kaczyńska B., Sadowska J., Rutkowski A.:** Nasiona soczewicy. I. Mikrostruktura i jej związek z technologiczną przydatnością nasion. Acta Acad. Agricult. Tech. Olst., Technol Aliment, 25, 97-106, 1993.
13. **Fornal J., Kaczyńska B., Sadowska J.:** Nasiona soczewicy. II. Reologiczne właściwości nasion i ich zmiany w czasie gotowania. Acta Acad. Agricult. Tech. Olst., Technol Aliment, 25, 107-114, 1993.
14. **Grochowicz J., Nadulski R., Bilanski W.K.:** Testing of leguminous seed coat microhardness. Int. Agrophysics, 8, 235-237, 1994.
15. **Haman J., Konstankiewicz K., Zdunek A.:** Influence of water potential on the failure of potato tissue. Int. Agrophysics, 14, 2, 181-186, 2000.
16. **Konstankiewicz K.:** Uszkodzenia struktury roślinnych ośrodków rolniczych - na przykładzie tkanki miękkiszowej bulwy ziemniaka. Wydawnictwa Naukowe FRNA, 2, 31-40, 1999.
17. **Laskowski J., Skonecki S.:** The influence of moisture on the physical properties and parameters of the compression process of legumes' seeds. Int. Agrophysics, 11, 245-254, 1997.
18. **Liu M., Haghghi K., Stroshine R.L.:** Viscoelastic characterization of the soybean seedcoat. Trans. ASAE 32(3): 946-952, 1989.
19. **Mensah J.K., Nelson G.L., Herum F.L., Richard T.G.:** Mechanical properties related to soybean seedcoat cracking during drying. Trans. ASAE, 27(2):550-560, 1984.
20. **Milczak M.:** An integrating case spontaneous mutation in lentil (*Lens culinaris* Medic.). Genetica Polonica, 31, 213-216, 1990.
21. **Misra R., Young J.H., Haman D.D.:** Finite element procedures for estimating shrinkage stresses during soybean drying. Trans. ASAE 24(3):751-753, 1981.
22. **Otten L., Brown R., Reid W.S.:** Drying of white beans-effect of temperature and relative humidity on seed coat damage. Canad. Agric. Eng., 26, 101-104, 1984.
23. **Pabis S., Henderson S.M.:** Grain drying theory II: A critical analysis of the drying curve for shelled maize. J. Agric. Engng. Res., 7, 1961.
24. **Szot B., Dobrzański B., Stępniewski A.:** Changes of strain and stress of pea coat during drying. Proceedings of the 4ICPP Agricultural Materials, Rostock, Niemcy, 824-828, 1989.

25. Szot B., Stępniewski A.: Niektóre właściwości fizyczne nasion polskich odmian soczewicy. Acta Agrophysica, 46, 187-196, 2001.
26. Szot B., Stępniewski A.: Agrophysical approach to lentil seeds. PMA, Prague, 227-228, 2001.
27. Swanson B.G., Hughes J.E., Rasmussen H.P.: Seed coat microstructure: Review of water imbibition in legumes. Food Microstructure. 4, 1985.
28. White G.M., Bridges T.C., Loewer O.J., Ross I.J.: Seed coat damage in thin-layer drying of soybeans. Trans. ASAE 23(1):224-227, 1980.

SCANNING MICROSCOPY IN ESTIMATION OF THE SEED COAT STRENGTH OF SOYBEAN, PEA, AND LENTIL SEED

B. Dobrzański, jr, B. Szot

B. Dobrzański Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences
ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27
bdob@demeter.ipan.lublin.pl

Summary. The objectives of this study were to determine the mechanical and structural properties of the seed coat for soybean (*Glicine hispida* Max.), pea seed (*Pisum sativum* L.), and lentil seed (*Lens culinaris* Medic.). In order to clarify the cracking mechanisms of legume seed and determine the resistance to tensions the mechanical properties of the seed coat was carefully recognise separately. The seed coat ring samples were prepared according to the method elaborated previously. The resistance of seed coat to tension was studied for all seeds at wide range of moisture. The drying test was conducted to evaluate the effect of drying parameters on the stress and strain development of the seed coat. To evaluate the effect of drying conditions on the splitting of seed coat, the samples were dried with hot air. The microstructure of the cross-section at breakage as well as the cutting surface of the seed coat were determined with the JEOL JSM 5200 scanning electron microscope at accelerating voltage of 10 keV. The seed coat strength of all studied legume seeds decreases with the increase of moisture content. It has been found that thickness of the seed coat for various cultivar was differ, what influences the force at breakage, however, frequently opposite to tension strength.

Key words: Pea seed, lentil seeds, soybean, seed coat, strength, scanning microscopy.

Autorzy pragną wyrazić podziękowanie Zespołowi z Zakładu Fizycznych Właściwości Żywności Oddziału Nauki o Żywności IRZiBŻ PAN w Olsztynie za wykonanie dokumentacji fotograficznej okryw nasiennych oraz za pomoc przy analizie strukturalnej obrazów mikroskopii skaningowej.