

Uticaj ultrazvuka na klijanje semena pšenice

Ispitivan je uticaj ultrazvučnih talasa na klijanje semena pšenice. Određivana je klijavost semena, kao i aktivnost α -amilaze, enzima koji razgrađuje skrob i koji je aktivan u procesu klijanja. Semena su tretirana ultrazvučnim talasima frekvencije 43 kHz. Upoređivan je broj proklijalih semena iz tretiranih i broj proklijalih semena iz kontrolnih (netretiranih) grupa. U svim tretiranim grupama se javlja značajno veći broj proklijalih semena. Nije uočena statistički značajna razlika u aktivnosti α -amilaze između tretirane i netretirane grupe. Zaključeno je da ultrazvučni talasi nepoznatim mehanizmom ubrzavaju proces klijanja semena, ali da nemaju efekta na α -amilazu. Radi razjašnjenja ovog, potencijalno vrlo korisnog fenomena potrebno je sprovesti dalja ispitivanja

Uvod

Mehaničke talase sa frekvencijom većom od 20000 Hz nazivamo ultrazvuk. Ultrazvučni talasi imaju veoma malu talasnu dužinu (do 17 mm) i poseduju veliku energiju. Zbog toga su našli veliku primenu: koriste se za sitnjenje supstancije, za skidanje masnih naslaga i rđe sa površine metala, ubrzavaju procese oksidacije, polimerizacije, kristalizacije, itd. Posebno je važna njihova primena u medicini i farmaciji. Pomoću njih se mogu uništavati virusi, bakterije, gljive i sl. (Petrović *et al.* 2003). Dosta se raspravlja o tome da li ultrazvuk može da izazove denaturaciju proteina (Sala *et al.* 1995).

Cilj ovog eksperimenta bio je utvrditi da li ultrazvučni talasi utiču na klijanje semena. Jedno od

moćnih objašnjenja uticaja ultrazvučnih talasa na semena jeste da se pod njihovim dejstvom povećava aktivnost α -amilaze, enzima koji ima veliku ulogu u klijanju semena, jer razlaže rezervni polisaharid skrob. Povećanjem količine raspoloživih hranljivih materija bi se smanjilo vreme potrebno za klijanje semena. Zbog toga se postavlja još jedan cilj rada – da se na osnovu merenja aktivnosti α -amilaze u tretiranim i netretiranim semenima zaključi da li ultrazvuk deluje na povećanje koncentracije pomenutog enzima.

Materijali i metode

U prvoj celini eksperimenta praćena je promena klijavosti semena nakon tretiranja ultrazvukom, a u drugoj je merena koncentracija α -amilaze u semenima koja su bila izlagana ultrazvuku.

I u jednoj i u drugoj celini tretirane grupe semena su tokom 10 minuta izlagane ultrazvučnim talasima frekvencije 43 kHz, sa variranjem vremena imbibicije. Imbibicija predstavlja upijanje vode kroz semenjaču, i merena je od momenta kada su semena potopljena. Trenutak početka tretmana je menjan kako bi se mogla uočiti povezanost trajanja imbibicije sa efektom izlaganja ultrazvučnim talasima.

Grupe su bile postavljene na sledeći način:

- T0 – nulta grupa, semena su izlagana dejstvu ultrazvuka na početku imbibicije,
- T 1 – semena su izlagana dejstvu ultrazvuka 1h nakon početka imbibicije,
- T 2 – tretman 2h nakon početka imbibicije,
- T 3 – tretman 3h nakon početka imbibicije,
- T 4 – tretman 6h nakon početka imbibicije i
- T 5 – tretman 12h nakon početka imbibicije.

Eksperiment je ponavljan po grupama četiri puta. Rezultati su statistički obrađeni. Korišćen je t-test za nezavisne uzorke.

Za naklijavanje semena pšenice korišćen je metod naklijavanja na filter-papiru (Đinović 1998). Po

Vedrana Savić (1989), Leskovac, Norvežanska 22, učenica 3. razreda Gimnazije u Leskovcu

50 semena postavljeno je na sterilan filter papir u Petri-šolji i dnevno je dodavano 10 mL česmske vode. Nakon 72h od početka imbibicije brojano je koliko je semena proklijalo.

Procedura ekstrakcije α -amilaze i esej za određivanje njene aktivnosti

Za ekstrakciju α -amilaze razvijena je nova procedura. Dva grama semena su homogenizovana u pothlađenom avanu u 6 mL hladnog (4°C) 10 mM natrijum-citratnog pufera pH = 5.00, a potom je masa centrifugirana 5 min na 10000 obrtaja po minutu. Supernatant je razblažen 50 puta i zamrznut do daljeg korišćenja.

Aktivnost α -amilaze je određivana novim metodom sa Lugolovim rastvorom. Metod se zasniva na osobini joda da sa skrobom gradi komplekse koji su intenzivno plave boje. Pri razgradnji kompleksa boja se gubi. Promena intenziteta boje korelira sa aktivnošću enzima. Aktivnost enzima je izražavana kao promena apsorbance u minuti, usled nemogućnosti merenja tačne koncentracije skroba u rastvoru.

Postupak. U kivetu je sipano 1470 μ L 0.01% rastvora skroba i 5 μ L Lugolovog rastvora. Nakon toga je dodato 25 μ L ekstrakta enzima i merena je apsorbance tokom 2 minuta na 595 nm (spektrofotometar Cintra 10, GBC Spectral. Melbourne).

Rezultati i diskusija

Rezultati dobijeni praćenjem klijavosti kod grupa koje su tretirane ultrazvukom nalaze se u tabeli 1. U kontrolnoj grupi srednja vrednost proklijalih semena je 31.9, tj. od 50 prosečno je proklijalo 32 semena, odnosno $63\pm 6\%$. Tretirane grupe se razlikuju po vremenu kada su izlagane ultrazvuku. Uočava se da je u grupi T0 proklijalo 78%, u grupi T 1 72%, u grupi T 2 74%, u grupi T 3 78%, u grupi T 4 74% i u grupi T 5 78% semena. Na osnovu ovih rezultata ne postoji značajna razlika u stopi klijavosti između tretiranih grupa, tj. bez obzira na vreme izlaganja semena ultrazvuku, procenat klijanja je sličan. Prosek klijavosti za tretirane grupe je $76\pm 5\%$. Poređenjem sa kontrolnom grupom uočava se da je u njoj proklijao najmanji broj semena, odakle se može izvesti zaključak da su ultrazvučni talasi imali efekat na klijanje semena. Razlika u procentu klijavosti između tretiranih i netretiranih grupa je statistički značajna ($p < 0.05$)

vosti između tretiranih i netretiranih grupa je statistički značajna ($p < 0.05$)

Tabela 1. Broj proklijalih semena u tretiranim grupama.

Tretman	Proklijalo od 50 semena
T 0	39
T 1	36
T 2	37
T 3	39
T 4	37
T 5	39

Rezultati dobijeni pri merenju koncentracije α -amilaze u semenima kod grupa koje su tretirane ultrazvukom nalaze se u tabeli 2, a kod kontrolnih grupa u tabeli 3.

Tabela 2. aktivnost α -amilaze u grupama tretmana

Tretman	aktivnost α -amilaze($\Delta A/min$)
T 0	0.001931
T 1	0.003818
T 2	0.003243
T 3	0.002549
T 4	0.002729
T 5	0.002645

Tabela 3. Aktivnost α -amilaze u kontrolnim grupama

Kontrola	aktivnost α -amilaze($\Delta A/min$)
K 0	0.002215
K 1	0.004272
K 2	0.003738
K 3	0.002728
K 4	0.002855
K 5	0.003185

Očekivani rezultat bio je da će početne brzine opadanja koncentracije skroba u tretiranim grupama biti veće, tj. da će tretirane grupe imati veću ak-

tivnost α -amilaze. U dobijenim rezultatima se uočava da je početna brzina u svim tretiranim grupama manja od početne brzine u kontrolnim grupama. Postoje različite mogućnosti za tumačenje ovih rezultata. Moguće je da ultrazvučni talasi frekvencije 43 kHz ostvaruju negativan efekat na aktivnost α -amilazu iz semena pšenice. Osim toga, moguće je da su kontrolne grupe na indirektan način bile izlagane ultrazvučnim talasima jer su za vreme tretmana sve grupe bile u istoj prostoriji u kojoj se nalazio i ultrazvučni aparat, što je moglo da dovede do neočekivanih rezultata. Od značaja bi bilo ponoviti praćenje promene koncentracije α -amilaze, kako bi bili potvrđeni prethodno dobijeni rezultati.

Zaključak

Sprovedeno istraživanje pokazuje da je klijavost semena koja su bila tretirana 10 min ultrazvučnim talasima frekvencije 43 kHz značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu. Ovaj podatak govori u korist pretpostavki da ultrazvučni talasi imaju uticaj na klijanje semena. Mehanizam dejstva ultrazvuka još nije razjašnjen. Istraživanje je pokazalo da nema značajnije promene u aktivnosti α -amilaze između tretiranih i kontrolnih grupa. Da li do bržeg klijanja dolazi usled mehaničkog oštećenja semenjače, bržeg upijanja vode pod dejstvom ultrazvuka ili ultrazvučni talasi ubrzavaju neke fiziološke procese u semenu – treba utvrditi dodatnim istraživanjima.

Literatura

- Božin S., Raspopović M., Danilović E. 2003. *Fizika za III razred gimnazije prirodno-matematičkog smera*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva.
- Dinović I. 1998. *Svet povrća*. Velika Plana: Superior.
- Grbić M., Nikolić A., Skočajić D., Đukić M., Đunisijević D. 2005. Uticaj giberelinske kiseline na klijanje semena *Chionanthus virginicus* L. *Glasnik Šumarskog fakulteta* (Beograd), 91: 89.

Koračević D., Bjelaković G., Đorđević V.B., Nikolić J., Pavlović D. D., Kočić G. 1996. *Biohemija*. Beograd: Savremena administracija.

Petrović V., Pašić M., Čulafić Lj., Cvijić G. 2003. *Biologija za III razred gimnazije*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva.

Sala F. J., Burgos J., Condon S., Lopez P., Roso J. 1995. Effect of heat and ultrasound on enzymes, U *New methods of Food preservation* (ur. G. W. Gould). London: Blackie Academic and Professional, str. 178-294.

Shors D. J., Soll R. D., Daniels J. K., Gibson P. D. 1999. Method for enhancing germination. University of Iowa Research Foundation. US Patent 5950362.

Tatić B. 2000. *Biologija za I razred gimnazije i poljoprivredne škole*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva

Vedrana Savić

Effects of Ultrasound on the Germination of Wheat Seeds

The aim of this research was to find out whether ultrasound waves have an effect on the germination of wheat seeds, as well as on the activity of α -amylase. α -amylase is an enzyme that decomposes starch and it is very important in seed germination. A change in amylase activity could influence the rate of seed sprouting

Seeds have been treated for 10 minutes with ultrasound waves at a frequency of 43 kHz, and the number of sprouted seeds in the treated and control groups were compared. The activity of α -amylase was determined, using a novel assay with the Lugol reagent.

There was no significant change of enzyme activity. However, the ultrasound waves enhanced seed germination. The mechanism of this phenomenon is still unknown, but it probably does not include α -amylase.

