

Uticaj zračenja He-Ne lasera na klijanje semena pšenice

Ispitivan je uticaj zračenja helijum-neonskog lasera na klijanje semena pšenice. Određivana je klijavost semena, kao i aktivnost α -amilaze, enzima koji razgrađuje skrob i koji je aktivan u procesu klijanja. Upoređivan je broj proklijalih semena u tretiranim grupama sa brojem proklijalih semena u kontrolnoj grupi. Zaključeno je da je klijavost zračenih semena, 84 sata nakon zračenja, povećana u odnosu na kontrolnu grupu, kao i da nema statistički značajne razlike u aktivnosti α -amilaze između tretiranih i kontrolne grupe. Razlika u dužini klica između zračenih grupa i kontrolne nije statistički značajna.

Uvod

Klijanje je proces izbijanja klice iz semena. Uslovi koji su potrebni za klijanje su voda, vazduh i toplota (Petrović *et al.* 2003). Seme prvo upija vodu, nabubri, puca semenjača, a zatim izbija klica. Proces klijanja završava se kada se na klici pojave prvi listovi i biljka može samostalno da živi. Do tada koristi hranljive materije iz semena (Konjević *et al.* 2006).

Prema uticaju na članove agrobiocenoze, deo spektra od 300 do 400 nm deluje na smanjenje habitusa biljke i debljanje listova. Zona od 500 do 700 nm važna je za fotosintetsku asimilaciju ugljenika, ali najjača je apsorpcija sunčevog svetla u hlorofilu u zoni od 600 do 700 nm (crvena zona spektra). Zona od 700 do 800 nm utiče na produženje rasta biljaka, a više od 800 nm ima toplotni efekat. To je glavni izvor toplotne energije za transpiraciju biljaka (Todorović *et al.* 2003). Sa He-Ne laserom je moguće postići zračenje na više talasnih dužina, koje odgovaraju crvenoj svetlosti: 632.8,

635.2, 640.1 i 730.5 nm. Zbog toga se došlo do pretpostavke da zračenje lasera utiče na klijanje semena pšenice.

Cilj rada je da se ispita dejstvo zračenja He-Ne lasera na klijanje semena pšenice.

Materijal i metode

Eksperiment se sastoji od dva dela. U prvom delu eksperimenta praćena je klijavost semena nakon zračenja – praćen je broj i dužina klica iskljicalih semena 48 i 84 časa nakon zračenja. U drugom delu je merena koncentracija α -amilaze u semenima koja su bila izložena zračenju He-Ne lasera. Eksperiment je ponavljan četiri puta.

U oba dela eksperimenta, 2 h nakon imbibicije, semena su izlagana zracima He-Ne lasera, sa različitim vremenima zračenja (imbibicija predstavlja upijanje vode kroz semenjaču i merena je od trenutka potapanja semena u vodu). Prema dužini zračenja postavljene su sledeće grupe:

- K – grupa u kojoj semena nisu bila izlagana zračenju
- A – grupa zračena 5 s
- B – grupa zračena 10 s
- C – grupa zračena 20 s
- D – grupa zračena 40 s.

U svakoj grupi bilo je po 50 semena. Za zračenje je korišćen He-Ne (helijum-neonski) laser snage 10 mW. To je tip gasnog lasera, koji kao izvor zračenja koristi smešu molekula helijuma i neona.

Za naklijavanje semena pšenice korišćen je metod naklijavanja na filter-papiru (Đinović 1998). Po 50 semena postavljeno je na sterilan filter-papir u Petri-šolji i dnevno je dodavano 10 mL česemske vode. Nakon 84 h od početka imbibicije brojano je koliko je semena proklijalo.

Marija Jeremić (1992), Priboj, Moše Pijade 2/4, učenica 2. razreda Gimnazije u Priboju

MENTOR: Vedrana Savić, student Farmaceutskog fakulteta u Beogradu

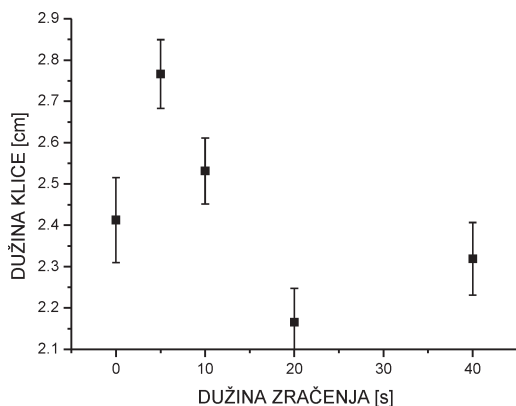
Rezultati su obrađeni u programskom paketu Statistica. Korišćeni su analiza varijanse (ANOVA) sa LSD naknadnim testom, hi-kvadrat test i neparametarski testovi korelacije. Prikaz vremenskih zavisnosti urađen je u programu Origin.

Procedura ekstrakcije α -amilaze i esej za određivanje njene aktivnosti

Za ekstrakciju α -amilaze korišćena je sledeća procedura: 3 g semena su homogenizovana u pothladenom avanu u 6 mL hladnog (4°C) 10 mM natrijum-citratnog pufera pH=5.00, a potom je masa centrifugirana 10 min na 10 000 obrtaja u minutu; supernatant je zamrznut do daljeg korišćenja, odnosno merenja na spektrofotometru (Koračević *et al.* 1996).

Aktivnost α -amilaze je određena 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 (Ćirković Veličković i Prodanović 2005).

Postupak. U kivetu je sipano 2 mL 0.1% rastvora skroba i 30 μ L Lugolovog rastvora. Nakon toga je dodato 200 μ L ekstrakta enzima i merena je



Slika 1. Dužina klica u zavisnosti od vremena zračenja, 48 h nakon zračenja

Figure 1. Stub length depending on the time of irradiation, 48 h after irradiation

apsorbanca tokom 3 min na 595 nm (spektrofotometar Cintra 10. GBC Spectral. Melbourne) (Savić 2007).

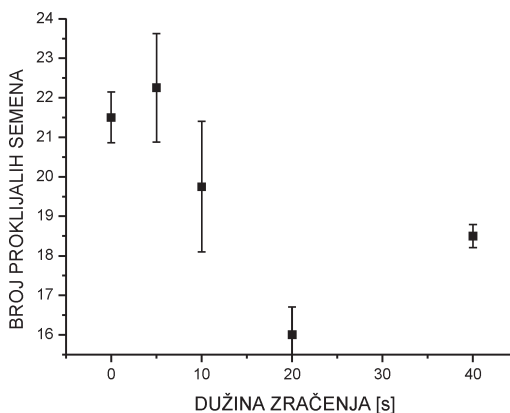
Rezultati i diskusija

Broj iskljajalih semena u zavisnosti od dužine zračenja po imbibicijama nakon 48 i 84 sata nakon zračenja dat je u tabelama 1A i 1B, a srednje dužine klica nakon 84 sata u tabeli 2. Zavisnost dužina klica od vremena zračenja za sve imbibicije nakon 84 sata prikazane su grafikonom na slici 1, a srednji broj iskljajalih semena nakon 48, odnosno 84 sata na slikama 2 i 3.

Ne postoji statistički značajna razlika u dužini klice između kontrolne i grupa koje su zračene. Jedino je značajna razlika konstatovana između grupe koja je zračena 5 s i grupe koja je zračena 20 s.

Tabela 1A. Broj iskljajalih semena nakon 48 h

	K	A	B	C	D
i	21	19	16	15	18
II	20	25	24	15	19
III	22	24	19	16	18
IV	23	21	20	18	19
M	21.5	22.25	19.5	16	18.5



Slika 2. Broj prokljajalih semena u zavisnosti od vremena zračenja, 48 h nakon zračenja

Figure 2. The number of germs depending on the time of irradiation, 48 h after irradiation

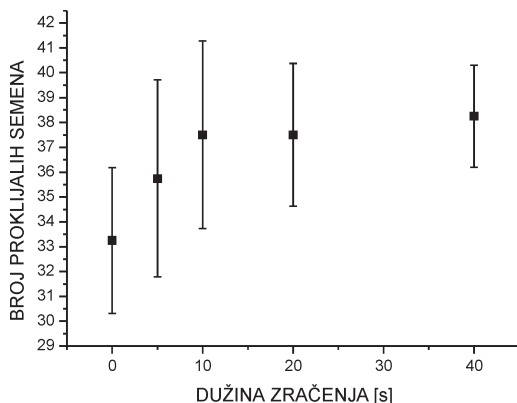
Tabela 1B. Broj iskljajalih semena nakon 84 h

	K	A	B	C	D
i	30	29	32	34	37
II	27	30	32	34	33
III	40	38	38	36	42
IV	36	48	48	46	41
M	33.25	37.5	37.5	37.5	38.25

Tabela 2. Srednja dužina klica nakon 84 h u zavisnosti od dužine zračenja

Dužina zračenja [s]	Srednja dužina [cm]	N	SD	SE
0	2.59	102	1.15	0.11
5	2.73	106	1.00	0.01
10	2.56	122	0.98	0.09
20	2.32	118	0.99	0.09
40	2.49	122	1.03	0.09
sve	2.53	570	1.03	0.04

N – broj klica, SD – standardna devijacija, SE – standardna greška



Slika 3. Broj prokljajalih semena u zavisnosti od vremena zračenja, 84 h nakon zračenja

Figure 3. The number of germs depending on the time of irradiation, 84 h after irradiation

Iako hi-kvadrat testom nije konstatovana statistički značajna razlika između tretmana u pogledu broja prokljajalih semena, uzimajući u obzir i broj prokljajalih klica i njihovu dužinu, uočavaju se dve bitne činjenice:

1. Poredeći grafike na slikama 1 i 2, tj. dužinu klica i broj prokljajalih semena 48 sati nakon zračenja uočava se korelacija između ova dva parametra, što se potvrđuje i neparametarskim korelacionim testovima (Spirmanov test daje $p = 0.03$, Kendalov i gama test daju $p = 0.05$).

2. Iz grafika 3, uočava se eksponencijalni rast broja prokljajalih semena u zavisnosti od vremena zračenja, koji dostiže svoju asimptotu oko desete sekunde. Može se pretpostaviti da bi optimalna dužina zračenja koja rezultira najvećom klijavošću bila postignuta između 5 i 20 sekundi.

Takođe, iz grafika na slici 1 vidi se da je maksimalna dužina klica za ceo uzorak pri zračenju od 5 s. Kada se pogledaju situacije po različitim ponavljanjima, isto proizilazi da bi optimalna dužina zračenja bila između 5 i 10, eventualno 20 s.

Imalo bi smisla eksperiment ponoviti sa zračenjima u intervalu do 20 s ali sa većom vremenskom rezolucijom, npr. sa korakom od dve sekunde.

Merenja aktivnosti α -amilaze nisu pokazala statistički značajne razlike vezane za brzinu aktivnosti ovog enzima. Rezultati dobijeni pri merenju aktivnosti α -amilaze u semenima, kod kontrolne i tretiranih grupa, prikazani su u tabeli 3.

Tabela 3. Aktivnost α -amilaze u kontrolnoj grupi i tretiranim grupama

Grupe	Aktivnost α -amilaze ($\Delta A/min$)
K	0.0027
A	–
B	–
C	0.0027
D	0.0029

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata zaključeno je da je klijavost semena, koja su bila tretirana zracima He-Ne lasera snage 10 mW, 84 časa nakon zračenja, veća u odnosu na kontrolnu grupu. Maksimalna klijavost je postignuta kod grupe koja je zračena 10

s, a pretpostavlja se da bi ona bila postignuta dužinom zračenja između 5 i 20 s. Razlika u dužini klica između zračenih grupa i kontrolne nije statistički značajna. Nema značajne promene u aktivnosti α -amilaze između tretiranih grupa i kontrole. Eksperiment bi se trebao ponoviti sa zračenjima u intervalu do 20 s, ali sa većom vremenskom rezolucijom.

Literatura

- Dinović I. 1998. *Svet povrća*. Velika Plana: Superior
- Ćirković Veličković T., Prodanović R. 2005. *Enzimologija – laboratorijski priručnik*. Beograd: Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu
- Koračević D., Bjelaković G., Đorđević V. B., Nikolić J., Pavlović D. D., Kocić G. 1996. *Biohemija*. Beograd: Savremena administracija
- Konjević R., Cvijić G., Đorđević J., Nedeljković N. 2006. *Biologija za III razred gimnazije prirodno-matematičkog smera*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva
- Petrović V., Pašić M., Čulafić Lj., Cvijić G. 2003. *Biologija za III razred gimnazije*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva
- Savić V. 2007. Uticaj ultrazvuka na klijanje semena pšenice. *Petničke sveske*, 63: 281
- Todorović J., Lazić B., Komljenović I. 2003. *Ratarsko-povrtarski priručnik*. Laktaši: Grafomark

Marija Jeremić

Effects of Irradiation with He-Ne Laser on the Germination of Wheat Seeds

The influence of the He-Ne (helium-neon) laser radiation on the sprouting of the wheat seed is examined in this work. The sprouting of the seeds were determined, as well as the activity of the α -amylases, an enzyme which decomposes the starch, which is active during the sprouting process. The number of sprouted seeds in treated groups were contrasted with the number of sprouted seeds of the controlled group. Based on the research there were several conclusions. It was determined that the sprouting of the radiated seeds was increased compared to the control group, but there was no statistically significant difference in the activity of the α -amylases between the treated and the control group. The difference in the length of the sprouts of the irradiated group and the control is statistically insignificant.

