

WPŁYW PRZEDSIEWNEGO TRAKTOWANIA NASION ŚWIATŁEM
LASEROWYM NA NIEKTÓRE PROCESY BIOCHEMICZNE
I FIZJOLOGICZNE W NASIONACH I ROŚLINACH ŁUBINU
BIAŁEGO I BOBIKU

Janusz Podleśny¹, Anna Stochmal²

¹Zakład Uprawy Roślin Pastewnych, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa

²Zakład Biochemii i Jakości Plonów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: jp@iung.pulawy.pl

Streszczenie. Badania prowadzono w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. Określenie koncentracji wolnych rodników w nasionach metodą EPR wykonywano w Uniwersytecie Marii Skłodowskiej-Curie w Lublinie. W badaniach uwzględniono bobik odmiany Tom oraz łubin biały odmiany Butan. Stosowano 3 dawki naświetlania nasion laserem helowo-neonowym: D₀ – brak naświetlania, D₃ – trzykrotne naświetlanie, D₅ – pięciokrotne naświetlanie. Dawka pojedynczej ekspozycji wynosiła $4 \cdot 10^{-3} \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Przedsiewne traktowanie materiału siewnego promieniami laserowymi zwiększało istotnie aktywność enzymów amylolitycznych w nasionach łubinu białego i bobiku. Największe różnicowanie aktywności enzymatycznej w nasionach naświetlanych i nie naświetlanych stwierdzono po upływie 96 godzin od wysiewu. Aktywność badanych enzymów w nasionach obydwu badanych gatunków roślin miała zbliżoną wartość i podobny przebieg w czasie. Napromieniowane nasiona łubinu białego i bobiku uzyskiwały większą masę w okresie pęcznienia niż nasiona nie napromieniowane. Konsekwencją tego było wcześniejsze i bardziej równomierne ich kiełkowanie. Stwierdzono istotne zwiększenie koncentracji wolnych rodników w nasionach traktowanych przedsiewnie promieniami laserowymi. Największy przyrost liczby wolnych rodników w nasionach obydwóch gatunków roślin stwierdzono po trzykrotnym ich naświetlaniu. Przedsiewna stymulacja laserowa nasion wpływała dodatnio na wzrost i rozwój siewek z nich wyrosłych. Siewki łubinu i bobiku wyrosłe z nasion napromieniowanych osiągały w kolejnych terminach pomiaru istotnie większą długość hipokotyli i korzeni w porównaniu do siewek wyrosłych z nasion nie naświetlanych.

Słowa kluczowe: aktywność enzymów, kiełkowanie, laser helowo-neonowy, stymulacja nasion, wolne rodniki

WSTĘP

W rolnictwie XXI wieku propagującym dobrą praktykę rolniczą i racjonalne wykorzystanie rolniczej przestrzeni produkcyjnej dużą uwagę zwraca się na umiejętnie i bezpieczne dla środowiska zwiększanie plonów roślin uprawnych. Bardzo ważnym czynnikiem plonotwórczym jest odpowiednie przygotowanie materiału siewnego, które ma na celu zwiększenie zdolności kiełkowania nasion i polepszenie wigoru wyrosłych z nich siewek [10]. Młode rośliny o większym wigorze lepiej się rozwijają i znoszą niekorzystne (stresowe) czynniki siedliska, są mniej porażane przez choroby i dlatego wymagają mniejszej ochrony chemicznej. Przebieg wschodów decyduje zatem w dużym stopniu o późniejszym rozwoju i plonowaniu roślin. Dlatego w ostatnich latach większą uwagę zaczęto zwracać na fizyczne czynniki mogące mieć zastosowanie w obróbce materiału siewnego [7,16,19,22,29]. Ze względu na swoją specyfikę szczególnie przydatne do tego celu jest światło laserowe [2,3,16,36]. Przeprowadzone dotychczas badania wykazały bowiem korzystny wpływ przedsewnego traktowania nasion promieniami laserowymi na stymulację kiełkowania, początkowy rozwój oraz plonowanie niektórych roślin zbożowych, okopowych i warzywnych [4,13,18,35,37]. Zjawisko oddziaływania promieni laserowych jest jeszcze słabo rozpoznane i wyjaśnione. Istnieją jedynie fragmentaryczne badania, bądź hipotezy z pomocą których próbuje się wyjaśnić mechanizm oddziaływania światła laserowego na nasiona [1,15,21,26,27]. Występuje więc potrzeba prowadzenia szczegółowych badań biochemicznych i fizjologicznych zachodzących w napromieniowanych nasionach i roślinach.

Celem badań było określenie niektórych zmian biochemicznych i fizjologicznych w nasionach i siewkach roślin łubinu białego oraz bobiku po przedsewnym traktowaniu ich promieniami laserowymi.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono w Zakładzie Uprawy Roślin Pastewnych Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. Określenie koncentracji wolnych rodników w nasionach metodą EPR wykonywano w Uniwersytecie Marii Skłodowskiej-Curie w Lublinie, a zawartości enzymów amylolitycznych w Zakładzie Biochemii i Jakości plonów IUNG w Puławach. Naświetlania nasion dokonano w Katedrze Fizyki AR w Lublinie, wykorzystując urządzenie do przedsewniej obróbki nasion promieniowaniem laserowym [17]. Czynnikiem I rzędu były badane gatunki roślin: bobik odmiany Tom i łubin biały odmiany Butan, natomiast czynnikiem II rzędu – trzy dawki promieniowania laserowego: D_0 – brak naświetlania, D_3 – trzykrotne naświetlanie, D_5 – pięciokrotne naświetlanie nasion. Dawka pojedynczej ekspozycji wynosiła $4 \cdot 10^{-3} \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

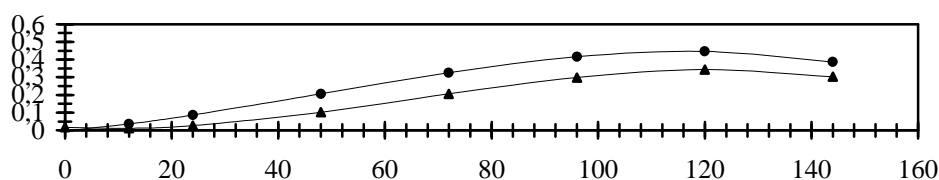
Nasiona przeznaczone do określenia aktywności enzymów amylolitycznych wykładano na płytki Petriego, a następnie analizowano w 8 terminach: bezpośrednio po naświetlaniu, po 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 h od wysiewu. Przed wykonaniem każdej analizy biochemicznej pęczniące nasiona, a później siewki roślin wazono i mierzono. Określono również dynamikę kiełkowania nasion wyrażoną w procentach liczby kiełkujących nasion. Wyniki porównywano z próbkami nasion nie naświetlanych. Za miarę aktywności enzymów przyjęto ilość glukozy uwolnionej ze skrobi (I) przez kompleks enzymów zawartych w supernatancie, który otrzymano przez dodanie do 0,5 g zmielonego suszu materiału roślinnego 5 ml buforu octanowego o pH 4,8 zawierającego 20 μmoli CaCl_2 i wirowanie w ciągu 10 min przy 3000 obr·min⁻¹. Następnie pobierano 0,5 ml supernatantu, dodawano 0,5 ml 0,5% skrobi i prowadzono w ciągu 10 minut hydrolizę w temperaturze 37°C. Zawartość glukozy oznaczano zmodyfikowaną metodą Somogy-Nelsona [31], stosowaną najczęściej w badaniach biochemicznych do oznaczania zawartości cukrów redukujących. Intensywność zabarwienia mierzono kolorymetrycznie przy długości fali $\lambda = 520$ nm. Zawartość cukrów redukujących określono w oparciu o krzywą wzorcową sporządzoną dla roztworów glukozy.

Liczbę wolnych rodników określano metodą EPR – Electron Paramagnetic Resonance [32,33]: w nasionach bezpośrednio po ich naświetlaniu oraz w roślinach wyrosłych z naświetlanego materiału siewnego. Dlatego część nasion po naświetlaniu analizowano, a pozostała część tej samej partii nasion wysiewano do wazonów Mitscherlicha w celu uzyskania materiału do dalszych analiz. Pomiar widm EPR zostały przeprowadzone na spektrometrze EPR typu SE/X – 2547 z wnęką rezonansową typu CX-101TE₁₀₂. Badany materiał siewny umieszczano w cienkościennej próbówce precyzyjnie wykonanej z kwarcu syntetycznego (733-5PQ-7 firmy WILMAD). Rejestrację widm EPR prowadzono przy następujących ustawieniach: częstość mikrofalowa 9,4-9,5 GHz, moc mikrofalowa ~ 15 mW, częstość modulacji 100 kHz o amplitudzie 0,5 mT, stała czasowa 1s i przemiatanie 20 mT/4 min. W pomiarach EPR stosowano mikrofałe o długości fali $\lambda = 3 \cdot 10^{-2}$ m w polu magnetycznym około 340 mT. Do wyznaczenia koncentracji wolnych rodników użyto jako wzorca *Weak pitch EPR sample (904450-02, $3.3 \cdot 10^{-4}\%$ pitch in KCl)*. Koncentrację wolnych rodników wyznaczano z porównania widma próbki wzorcowej z widmami nasion po naświetleniu daną dawką promieniowania laserowego, po czym przeliczano koncentrację na masę 1 g nasion. Badania przeprowadzono w temperaturze pokojowej.

Eksperymenty dotyczące określenia aktywności enzymów amylolitycznych i koncentracji wolnych rodników przeprowadzono w 3 seriach, każda w 4 powtórzeniach. W analizie statystycznej posługiwano się półprzedziałem ufności Tukeya, przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

WYNIKI

Aktywność enzymów amylolitycznych wzrastała w miarę upływu czasu od wysiewu i osiągnęła najwyższą wartość w nasionach bobiku po 120, a w nasionach łubinu białego po 96 godzinach od wysiewu. Maksymalna wartość aktywności tych enzymów dla łubinu białego i bobiku wynosiła odpowiednio: $521 \cdot 10^{-3}$ i $426 \cdot 10^{-3} \text{ I} \cdot \text{g}^{-1} \text{ s.m.}$ Przedświetlenie materiału siewnego przyczyniało się istotnie do wzrostu aktywności badanych enzymów szczególnie wyraźnie w okresie od 48 do 120 godzin od wysiewu nasion. Nie stwierdzono istotnej różnicy między aktywnością enzymów amylolitycznych w nasionach naświetlanych trzy- i pięciokrotnie, dlatego wartość ich aktywności przedstawiono jako średnią z obydwu dawek. Najmniejszy wpływ opisywanego zabiegu na poziom aktywności badanych enzymów obserwowano w początkowym okresie – od wysiewu do 12 godzin po wysiewie, czyli wówczas gdy nasiona zawierały małą ilość wody. Naświetlanie nasion łubinu spowodowało zwiększenie aktywności enzymów amylolitycznych średnio dla trzy- i pięciokrotnej dawki promieniowania po 12, 24, 48, 72, 96, 120 i 144 godzinach od wysiewu odpowiednio o: 10,0; 36,7; 64,4; 56,2; 33,3%, a bobiku odpowiednio o: 9,8; 46,3; 59,2; 68,8; 40,4%. Przebieg zmian aktywności enzymów amylolitycznych w nasionach bobiku i łubinu białego był podobny dlatego przedstawiono je w postaci krzywych regresji wspólnie dla obydwu gatunków (rys. 1).



- ▲— Nasiona nie naświetlane - Non irradiated seeds (y1)
- Nasiona naświetlane - Irradiated seeds (y2)

Rys 1. Przebieg zmian aktywności enzymów amylolitycznych w nasionach bobiku i łubinu traktowanych i nie traktowanych promieniami laserowymi

Fig 1. Changes of amylolytic enzyme activity in irradiated and non irradiated seeds of faba bean and lupine

Przedsewne napromieniowanie materiału siewnego wpływało na masę pęczniających nasion bobiku i łubinu białego. Nasiona naświetlane w porównaniu z nasionami nie naświetlanymi szybciej zwiększały masę podczas pęcznienia. Przyrost masy pęczniających nasion był wyraźnie większy w przypadku bobiku niż łubinu białego. Największą masę miały pęczniące nasiona w okresie od 24 do 48 godzin po wysiewie. Naświetlone nasiona łubinu zwiększyły swoją masę po 12, 24, 48 godzinach od wysiewu odpowiednio o: 24,3; 44,5; 36,3%, a nasiona bobiku odpowiednio o: 28,7; 54,4; 41,2%.

Stwierdzono istotne różnice w dynamice kiełkowania nasion traktowanych i nie traktowanych przedsewnie promieniami laserowymi (tab. 1). Szczególnie wyraźne zróżnicowanie dynamiki kiełkowania mierzone liczbą kiełkujących nasion w poszczególnych terminach obserwowano w okresie 12-24 h od wysiewu.

Tabela 1. Dynamika kiełkowania nasion traktowanych i nie traktowanych promieniami laserowymi (%)

Table 1. Germination dynamics of seeds treated and non-treated with laser beams (%)

Wyszczególnienie Description	Czas od wysiewu – Time from sowing (h)						
	12	24	48	72	96	120	144
Gatunek – Species							
Bobik – Faba bean	5,4a	22,6a	28,4a	62,1a	71,5a	97,6a	100a
Łubin biały – White lupine	7,7b	24,1b	39,6b	73,4a	96,2b	98,0a	100a
Dawki naświetlania Irradiation doses:							
D ₀	0,0a	16,2a	24,1a	54,9a	70,5a	88,6a	100a
D ₃	5,4b	28,2b	36,6b	68,8b	84,4b	94,3b	100a
D ₅	7,2c	29,1b	39,5b	75,6c	94,4c	99,2b	100a

* Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie
Numbers in columns denoted with the same letters do not differ significantly

Wyższa dawka promieniowania w większym stopniu wpływała na zwiększenie liczby kiełkujących nasion niż dawka niższa. Po 144 godzinach od wysiewu wszystkie wysiane nasiona bobiku i łubinu białego osiągnęły zdolność kiełkowania wynoszącą 100%.

Naświetlanie nasion wpływało również modyfikująco na początkowy wzrost i rozwój siewek łubinu białego i bobiku, w tym przede wszystkim na długość korzeni i hipokotyła (tab. 2). Dawka 5-krotnego naświetlania wpływała bardziej na zwiększenie długości korzeni łubinu i bobiku niż dawka 3-krotnego naświetlania. Średnio dla obydwu stosowanych dawek promieniowania przyrost długości korzeni siewek wyrosłych z nasion naświetlanych w stosunku do długości korzeni siewek wyrosłych z nasion nie naświetlanych wyniósł dla łubinu białego 24,5% i bobiku 18,6%. Przy czym siewki bobiku charakteryzowała większa długość korzeni niż siewki łubinu białego. Przyrost długości korzeni na skutek trzy-

i pięciokrotnego naświetlania nasion średnio dla dwóch badanych gatunków roślin wyniósł odpowiednio: 25,9 i 40,7%. W większym stopniu niż długość korzeni zmieniała się pod wpływem napromieniowania nasion, długość hipokotyła. Średnio dla bobiku i łubinu białego przyrost długości hipokotyła siewek wyrosłych z nasion trzy- i czterokrotnie naświetlanych wyniósł odpowiednio: 57,6 i 53,8%. Siewki bobiku charakteryzowała na ogół większa długość hipokotyła niż siewki łubinu.

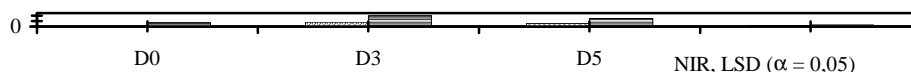
Tabela 2. Cechy biometryczne siewek wyrosłych z nasion naświetlanych i kontrolnych
Table 2. Biometric features of seedlings grown from irradiated and control seeds

Wyszczególnienie Description	Hipokotyl – Hypocotyl		Korzenie – Roots	
	Długość Length (mm)	Masa Weight (g)	Długość Length (mm)	Masa Weight (g)
Gatunek – Species				
Bobik – Faba bean	42a*	0,32a	66a	0,46a
Łubin biały – White lupine	36b	0,24b	59b	0,48b
Dawki promieniowania Irradiation doses:				
D ₀	26a	0,18a	54a	0,30a
D ₃	41b	0,21b	68b	0,44b
D ₅	40b	0,26c	76bc	0,57c

*Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie – Numbers in columns denoted with the same letters do not differ significantly.

W przeprowadzonych badaniach obserwowano zróżnicowaną koncentrację wolnych rodników w nasionach obydwu gatunków roślin. W nasionach łubinu białego stwierdzono ponad dwukrotnie większą liczbę wolnych rodników niż w nasionach bobiku (rys. 2). Wystąpiło współdziałanie dawki stosowanego napromieniowania z gatunkami roślin uwzględnionymi w badaniach w odniesieniu do liczby rodników w nasionach bezpośrednio po ich naświetlaniu.

W 1 g nasion łubinu było średnio $13,3 \cdot 10^{14}$, a bobiku $5,5 \cdot 10^{14}$ wolnych rodników. Stwierdzono również wyraźne różnice w koncentracji wolnych rodników w nasionach naświetlanych i nie naświetlanych światłem laserowym. Liczba wolnych rodników po napromieniowaniu nasion łubinu białego zwiększyła się ponad 2,5-krotnie, a w nasionach bobiku ponad 3-krotnie. Pomiar prowadzone w okresie dojrzewania roślin wykazały, że koncentracja wolnych rodników w poszczególnych ich organach jest zróżnicowana. Nie stwierdzono natomiast istotnej różnicy w liczbie wolnych rodników między roślinami wyrosłymi z nasion napromieniowanych i kontrolnych. Ich zawartość w korzeniach, łodygach, liściach i nasionach wynosiła dla bobiku odpowiednio: 2,2; 2,8; 2,9 i $3,2 \cdot 10^{14}$ spinów $\cdot g^{-1}$, a dla łubinu białego: 3,4; 4,3; 2,6 i $4,1 \cdot 10^{14}$ spinów $\cdot g^{-1}$.



Gatunek - Species (I):

☒ Bobik - Faba bean ☒ Łubin biały - White lupin

Rys. 2. Koncentracja wolnych rodników w nasionach bezpośrednio po naświetlaniu promieniami laserowymi

Fig. 2. Free radicals concentration in the seeds directly after irradiation with different doses of laser light

DYSKUSJA

W zamieszczonej pracy stwierdzono istotny wpływ przedsięwziętego napromieniowania nasion na aktywność enzymów amylolitycznych, do których zalicza się głównie α i β amylazy określane jako hydrolazy skrobiowe oraz fosforylasy skrobiowe. Enzymy te w procesie kiełkowania powodują rozkład wiązań α -1,4-glikozydowych znajdujących się wewnątrz łańcucha skrobi [11]. Szczególnie duże różnice w aktywności enzymów amylolitycznych w nasionach łubinu i bobiku obserwowano w późniejszym etapie kiełkowania. Można przypuszczać, że aktywność enzymów różnicuje się w nasionach naświetlonych i nie naświetlonych wówczas, kiedy zawierają one dostatecznie dużo wody. Nie stwierdzono wyraźnej różnicy w aktywności enzymów amylolitycznych w odniesieniu do badanych gatunków roślin. Przebieg zmian aktywności enzymów w odniesieniu do łubinu i bobiku był podobny. Natomiast Galova [8] badając aktywność α -amylazy w nasionach pszenicy ozimej poddanej przedsięwziętemu napromieniowaniu światłem laserowym stwierdziła wyraźną różnicę między badanymi odmianami w odniesieniu do aktywności enzymatycznej w nasionach naświetlonych i nie naświetlonych. Ponadto obserwowała występowanie zróżnicowanej aktywności α -amylazy w nasionach naświetlonych i nie naświetlonych również w późniejszym etapie kiełkowania.

W przeprowadzonych badaniach podobnie do zmiany aktywności amylazy zmieniała się również dynamika kiełkowania nasion. Stwierdzono istotne przyspieszenie kiełkowania nasion obydwu gatunków roślin. Wcześniejsze wschody roślin wskutek naświetlania materiału siewnego łubinu białego obserwował również

Podleśny [23] w badaniach prowadzonych w warunkach pola doświadczalnego. Także Drozd i in. [6], Galova [8] oraz Zhidong i Shuzhen [38] stwierdzili polepszenie kiełkowania nasion traktowanych przedsięwinnie światłem laserowym, ale w odniesieniu do innych gatunków roślin uprawnych.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono korzystny wpływ światła laserowego na przyrost długości hipokotyła i korzeni w badanych gatunkach roślin. Świadczy to o tym, że zmiany w nasionach napromieniowanych powodują również zmiany w dynamice rozwoju siewek z nich wyrosłych. Zdaniem wielu badaczy zajmujących się problematyką traktowania materiału siewnego promieniami laserowymi, największe zmiany zachodzą właśnie w napromieniowanych nasionach i w początkowym okresie rozwoju roślin z nich wyrosłych [28,34]; zmiany te prowadzą w późniejszym okresie rozwoju do szybszego wzrostu roślin. Potwierdzeniem takiego rozumowania są badania prowadzone w komorach klimatycznych, w których wykazano, że napromieniowanie nasion ma wpływ na przyspieszenie zakwitania i wcześniejsze dojrzewanie roślin [24]. Naświetlane nasiona łubinu i bobiku zwiększały szybciej masę w okresie pęcznienia w porównaniu do nasion nie naświetlanych, najprawdopodobniej na skutek szybszego pobierania wody, stąd też dynamika ich kiełkowania była większa. Badania Grzesiuka i Rejowskiego [12] wykazały, że nasiona kukurydzy traktowane przedsięwinnie falami ultradźwiękowymi pobierają zdecydowanie więcej wody niż nasiona kontrolne. Również promieniowanie jonizujące powoduje przyspieszenie oddychania nasion i zwiększone pobieranie wody. Wprawdzie zarówno ultradźwięki, jak i promieniowanie jonizujące mają inną naturę niż promieniowanie laserowe, ale są to czynniki fizyczne, których oddziaływanie na materiał siewny roślin uprawnych wydaje się być bardzo podobne.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały istotny przyrost liczby wolnych rodników w nasionach traktowanych przedsięwinnie promieniami laserowymi. Koncentracja wolnych rodników w nasionach zależała zarówno od dawki stosowanego naświetlania, jak też od gatunku rośliny. Obliczone wartości czynnika rozszczepienia spektroskopowego g dla obydwu badanych gatunków roślin zawierały się w przedziale od 2,0036 do 2,0042. Czynniki g dla wolnych elektronów wynosi 2,0023. Porównując wartości obydwu czynników można wnioskować, że wolne rodniki w nasionach są masywniejsze i zapewne mają bardziej ograniczoną swobodę poruszania się w porównaniu z wolnymi elektronami. W związku z tym, że wartość czynnika g w nasionach łubinu i bobiku nie zmieniała się przed i po napromieniowaniu, należy przypuszczać, że wolne rodniki zawarte w nasionach przed i po ich naświetlaniu mają podobną budowę. W literaturze można znaleźć stwierdzenia, że promieniowanie dużej mocy powoduje często powstawanie w nasionach zwiększonej liczby wolnych rodników – jonów

lub grup chemicznie związanych jonów z nieskompensowanymi spinami. Wolne rodniki, są bardzo aktywne chemicznie i łączą się w grupy, tworząc tzw. aktywne ogniska rodnikowe mające pośredni wpływ na przebieg zmian w metabolizmie nasion. Uważa się, że wolne rodniki jako silne utleniacze w reakcji łańcuchowej z tlenem mogą tworzyć nadtlarki. Reakcje utleniania zachodzące w lipoproteidach powodują zmiany w wewnętrznych warstwach protoplazmy. Pod wpływem tych zmian wzrasta aktywność enzymów hydrolitycznych, zwiększa się pobieranie wody i uruchamianie substancji zapasowych zgromadzonych w nasionach [11]. Przerwanie spoczynku nasion, wcześniejsze ich kiełkowanie, jak również szybszy wzrost i rozwój roślin wyrosłych z materiału siewnego poddanego oddziaływaniu czynników fizycznych wydaje się być, między innymi, konsekwencją tych właśnie zmian. Również Drozd i in. [5] wykazali, że promieniowanie laserowe zmienia znacząco koncentrację wolnych rodników także w nasionach pszenicy. Wielkość tych zmian uzależniona jest w dużej mierze od dawki stosowanego promieniowania i badanej odmiany pszenicy. Koncentracja wolnych rodników jest różna w nasionach badanych gatunków roślin, co wynika w dużym stopniu z różnej wilgotności badanych nasion. Bowiem obecność wody w organizmie może w dużym stopniu wpływać na aktywność i koncentrację wolnych rodników. Nasiona łubinu i bobiku stanowią od dawna wartościową paszę dla zwierząt [9,14], a w ostatnich latach również cenny składnik pożywienia dla ludzi [20]. Zwiększenie koncentracji wolnych rodników w materiale roślinnym i w nasionach mogłoby znacznie ograniczyć możliwości jego wykorzystania do celów żywieniowych [30]. Z dotychczas przeprowadzonych badań wynika jednak, że koncentracja wolnych rodników w nasionach zebranych z roślin wyrosłych z naświetlanego materiału siewnego jest podobna, jak w nasionach zebranych z roślin wyrosłych na obiekcie kontrolnym [25]. Przeprowadzone eksperymenty stanowią fragment badań zmierzających do wyjaśnienia zagadnienia wpływu światła laserowego na nasiona i rozwój roślin ale kompleksowe wyjaśnienie tego zjawiska wymaga dalszego prowadzenia badań.

WNIOSKI

1. Przedśiewne traktowanie materiału siewnego promieniami laserowymi zwiększało istotnie aktywność enzymów amylolitycznych w nasionach łubinu białego i bobiku. Największe zróżnicowanie aktywności enzymatycznej w nasionach naświetlanych i nie naświetlanych stwierdzono po upływie 96 godzin od wysiewu. Aktywność badanych enzymów w nasionach obydwu badanych gatunków roślin miała zbliżoną wartość i podobny przebieg w czasie.

2. Napromieniowane nasiona łubinu białego i bobiku uzyskiwały większą masę w okresie pęcznienia niż nasiona nie napromieniowane. Konsekwencją tego było wcześniejsze i bardziej równomierne ich kiełkowanie.

3. Naświetlanie nasion przed siewem promieniami laserowymi zwiększało w nich koncentrację wolnych rodników. Największy przyrost ich liczby w materiale siewnym obydwóch gatunków roślin stwierdzono po trzykrotnym naświetlaniu nasion. Nie stwierdzono natomiast wpływu napromieniowania nasion na koncentrację wolnych rodników w wyrosłych z nich roślinach.

4. Przewidywana stymulacja laserowa nasion wpływała dodatnio na wzrost i rozwój siewek z nich wyrosłych. Siewki łubinu i bobiku wyrosłe z nasion napromieniowanych osiągały w kolejnych terminach pomiaru istotnie większą długość hipokotyla i korzeni w porównaniu do siewek wyrosłych z nasion nie naświetlanych.

PIŚMIENNICTWO

1. **Anisimov A., Vorobev V., Zuikov A.:** The influence of laser radiation on the velocity of rotational motion of protoplasm in *Elodea cells*. *Laser Physics*, 7, 1132-1137, 1997.
2. **Cepero L., Martin G., Mesa A.R., Castro P.:** Effect of irradiation of seeds of *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham with a He-Ne laser. *Pastos y Forrajes*, 20, 125-131.
3. **Drozd D.:** The effect of laser radiation on spring wheat properties. *Int. Agrophysics*, 8, 209-219, 1994.
4. **Drozd D., Szajsner H., Jezierski A.:** Zastosowanie elektronowego rezonansu paramagnetycznego EPR do oceny wpływu promieniowania laserowego na ziarniaki pszenicy jarej. *Biul. IHAR*, 204, 181-186, 1997.
5. **Drozd D., Szajsner H., Jezierski A.:** Electron paramagnetic resonance (EPR) investigations of laser induced free radicals in spring wheat grains. *Int. Agrophysics*, 13, 343-346, 1998.
6. **Drozd D., Szajsner R., Koper R.:** Wpływ przedsewnego naświetlania laserem nasion pszenicy jarej na zdolność kiełkowania i długość koleoptyla. *Fragm. Agron.*, 1, 44-51, 1996.
7. **Dziamba Sz., Wielgo B., Maj L., Cebula M.:** Wpływ terminu przedsewnej biostymulacji nasion na plonowanie i elementy struktury plonu pszenicy jarej odmiany. *Omega. Pam. Puł.*, 118, 137-142, 1999.
8. **Galova Z.:** The effect of laser beams on the process of germinating power of winter wheat grains. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu, ser. Rol.*, 49, 39-43, 1996.
9. **Gladstones J.S., Atkins C., Hamblin J.:** *Lupins as Crop Plant. Biology, Production, Utilization.* Cab International, 1998.
10. **Górecki R.J., Grzesiuk S.:** Światowe tendencje i kierunki uszlachetniania materiałów nasiennych. W: *Uszlachetnianie materiałów nasiennych.* Olsztyn-Kortowo, 9-24, 1994.
11. **Grzesiuk S., Kulka K.:** *Fizjologia i biochemia nasion.* PWRiL Warszawa, 1986.
12. **Grzesiuk S., Rejowski A.:** Wpływ pola ultradźwiękowego na kiełkowanie oraz wzrost i rozwój kukurydzy (*Zea Mays* L.). *Post. Nauk Roln.*, 3, 4-13, 1957.
13. **Inyushin W. M., Ijasov G. U., Fedorova N. N.:** *Laser Light and Crop.* Kainar Publ. Alma-Ata, 1981.
14. **Jasińska Z., Kotecki A.:** *Rośliny strączkowe.* PWN Warszawa, 1993.
15. **Klima H., Hass O., Roscher P.:** Photon emission from blood cells and its possible role in immune system regulation. In: *Proceedings of the First International Symposium on Photon Emission from Biological Systems.* World Scientific, Hong-Kong, Singapore, 153-169, 1986.

16. **Koper R.:** Pre-sowing laser biostimulation of seeds of cultivated plants and its results in agrotechnics. *Int. Agrophysics*, 8, 593-596, 1994.
17. **Koper R.:** Urządzenie do przedsewnej obróbki nasion promieniowaniem laserowym. Patent RP162598, 1996.
18. **Koper R., Wójcik S., Kornas-Czuczwar B., Bojarska U.:** Effect of the laser exposure of seeds on the yield and chemical composition of sugar beet roots. *Int. Agrophysics*, 10, 103-108, 1996.
19. **Kurobaru I., Yamaguchi H., Sander C., Nilan R.A.:** The effects of gamma irradiation on the production and secretion of enzymes, and on enzyme activities on barley seeds. *Environmental and Experimental Botany*, 19, 75-84, 1979.
20. **Lampart-Szczapa E.:** Nasiona roślin strączkowych w żywieniu człowieka. Wartość biologiczna i technologiczna. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 446, 61-81, 1997.
21. **Padmakar A.S., Awasthi C.P.:** Stimulation of nucleic acid and protein synthesis in mung-bean (*Vigna radiate* L.) seeds by UV irradiation. *Biochemistry International*, 24, 291-297, 1991.
22. **Pittman U.J., Carefoot J.M., Ormrod D.P.:** Effect of magnetic seed treatment on amylolytic activity of Quiescent and germinating barley and wheat seeds. *Can. J. Plant Sci.*, 59, 1007-1011, 1979.
23. **Podleśny J.:** Oddziaływanie światła laserowego na rozwój i plonowanie łubinu białego (*Lupinus albus* L.). *Pam. Puł.*, 121, 127-146, 2000.
24. **Podleśny J.:** Effect of laser irradiation on biochemical changes in seeds and the accumulation of dry matter in the faba bean. *Int. Agrophysics*, 16, 209-213, 2002.
25. **Podleśny J., Misiak L., Koper R.:** Concentration of free radicals in faba bean seeds after the pre-sowing treatment of the seeds with laser light. *Int. Agrophysics*, 15, 185-189, 2001.
26. **Quickend T.L., Daniels L.L.:** Attempts biostimulation of division in *Saccharomyces cerevisiae* using red coherent light. *Photochem. Photobiol.*, 57, 272-278, 1993.
27. **Roscher P., Graniger W., Klima H.:** Low-level chemiluminescence from activated polymorphonuclear leukocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 123, 1646-1651, 1984.
28. **Sebanek J., Kralik J., Hudeova M., Kliciva S., Slaby K., Psota V., Vitkova H., Polisenka M., Kudova D., Sterba S., Vancura J.:** Growth and hormonal effects of laser on germination and rhizogenesis in plants. *Acta Sc. Nat. Brno. Praha*, 23, 1-49, 1989.
29. **Sheppard S.C., Chubey B.B.:** Radiation hormesis of field-seeded broccoli, parsnip and cauliflower. *Canadian Journal of Plant Science*, 70, 369 – 373, 1990.
30. **Slater T.F.:** Free radicals in medicine. *Free Rad. Res. Commun.*, 7, 119-390, 1989.
31. **Somogy M.:** Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 19, 195, 1952.
32. **Swartz H. M., Bolton J. R., Borg D. C., Wiley J.:** Biological Applications of Electron Spin Resonance. New York Press, 1972.
33. **Symons M.:** Chemical and biochemical Aspects of Electron-Spin Resonance Spectroscopy. Van Nostrand Reinhold Company, New York-Cincinnati-Toronto-London-Melbourne, 1978.
34. **Szyrmer J., Klimont K.:** Wpływ światła lasera na jakość nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biul. IHAR*, 210, 165-168, 1999.
35. **Wilde W. H. A., Parr W. H., Mc Peak D. W.:** Seeds Bask in Laser Light. *Laser Focus*, 5, 41-42, 1969.
36. **Vasilevski G., Bosev D., Jevtic S., Lazic B.:** Laser light as a biostimulator into the potato production. *Acta Horticulturae*, 462, 325-328, 1997.
37. **Wójcik S., Bojarska U.:** Wpływ przedsewnej obróbki nasion promieniami lasera na plon i jakość korzeni kilku odmian buraka cukrowego. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Sectio E*, 10, 87-96, 1998.
38. **Zhidong F., Shuzhen X.:** Effects of He-Ne laser upon the germinating ability of wheat seeds. *Acta Universitatis Agriculturae Boreali Occidentalis*, 18, 95-98, 1990.

THE EFFECT OF PRE-SOWING LASER LIGHT TREATMENT ON SOME
BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL PROCESSES IN THE SEEDS
AND PLANTS OF WHITE LUPIN AND FABA BEAN

Janusz Podleśny¹, Anna Stochmal²

¹Department of Forage Crop Production, ²Department of Biochemistry and Crop Quality
The Institute of Soil Science and Plant Cultivation
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: jp@iung.pulawy.pl

Abstract. The studies were conducted at the Department of Forage Crop Production of the Institute of Soil Science and Plant Cultivation (IUNG) in Puławy, and laboratory analyses of seeds and seedlings at the IUNG Department of Biochemistry and Crop Quality. Free radicals in seeds using the EPR method were determined at the Maria-Curie Skłodowska University in Lublin. The studies included faba bean of the Tom variety and white lupine of the Butan variety. The seeds were exposed to a helium-neon laser beam at 3 dosage levels: D₀ – no exposure, D₃ – 3 exposures, D₅ – five exposures. The dose during a single exposure was $4 \cdot 10^{-3} \text{ J cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Pre-sowing treatment of sowing material with laser beams increased considerably the activity of amylolytic enzymes in white lupine and faba bean seeds. The greatest diversification of the enzymatic activity in seeds which were exposed and not exposed to laser light treatment was noticed after 96 hours from the day of sowing. The activity of the examined enzymes in the seeds of both examined plant species was similar and they had a similar course in time. The exposed seeds of white lupine and faba beans had greater weight at the time of swelling than the seeds which were not exposed. It resulted in earlier and more even germination. It was noticed that the concentration of free radicals increased considerably in the seeds pre-treated with the laser beam. The largest increase of free radicals in sowing material of both plant species was noticed after three exposures of the seeds. Pre-sowing biostimulation with a laser had a positive influence on the growth and development of the seedlings which grew from them. Lupine and faba beans seedlings which grew from exposed seeds had in subsequent measuring periods longer hypocotyl and roots when compared to seedlings which grew from seeds not exposed.

Key words: biostimulation of seeds, enzymes activity, free radicals, germination, helium-neon laser