

WPŁYW ŚWIATŁA LASERA NA WARTOŚĆ SIEWNĄ ORAZ POZIOM ANTYOKSYDANTÓW WYBRANYCH ODMIAN PSZENICY OZIMEJ

Ewa Makarska¹, Monika Michalak¹, Marta Wesołowska-Trojanowska²

¹Katedra Chemii, Akademia Rolnicza, ul. Akademicka 15, 20-934 Lublin

²Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa, Akademia Rolnicza
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
e-mail: ewa.makarska@wp.pl

Streszczenie. Dla pszenicy ozimej (Rysa, Mobela) poddanej przedśiewnej stymulacji laserem (1, 2 i 3-krotne naświetlanie) stwierdzono wzrost zdolności i energii kiełkowania oraz intensywności oddychania kiełkujących nasion zależny od właściwości genetycznych odmian i krotności naświetlań. Podczas 7-dniowego procesu kiełkowania nasion monitorowano poziom antyoksydantów, tj. karotenoidy, polifenoli i witaminy C. Po stymulacji laserowej, w 7 dniu kiełkowania stwierdzono spadek zawartości karotenoidów oraz witaminy C w ziarnie obu odmian. Poziom polifenoli ulegał obniżeniu w ziarnie odmiany Mobela po zastosowaniu naświetlania światłem laserem. W ziarnie odmiany Rysa 1 i 2-krotne naświetlanie stymulowało wzrost zawartości związków fenolowych.

Słowa kluczowe: Laser, pszenica ozima, wartość siewna, kiełkowanie, antyoksydanty

WSTĘP

Z danych literaturowych wynika, że przedśiewne oddziaływanie światła laserowego na nasiona wpływa korzystnie na wartość siewną oraz plonowanie roślin [5,6]. Światło lasera dostarczając nasionom energii drogą naświetlania oddziałuje na procesy metaboliczne i aktywność fotosyntezy. Podwyższony potencjał energetyczny komórek tkanek nasion może być pochłaniany, przekształcony i wykorzystany we wzroście roślin, stymulując energię i zdolność kiełkowania nasion [3,5].

Kiełkowanie nasion jest prostym i efektywnym sposobem zwiększenia wartości odżywczej zbóż i ich produktów. W podkiełkowanym ziarnie wzrasta poziom witamin, strawność białek i cukrów, spada zawartość fitynianów [8,9,10]. Badania naukowe obejmują w ostatnim czasie zagadnienia określenia optymalnego czasu i warunków kiełkowania dla zbóż z uwzględnieniem w nich zawartości

bioaktywnych składników, zwłaszcza witamin antyoksydacyjnych i związków fenolowych [8,10]. Liczni badacze wskazują na aktywną rolę tych substancji w ograniczeniu procesów nowotworowych i zapobieganiu chorobom układu krążenia [1,12]. Podkiełkowane ziarno zbóż jest bogatym źródłem antyoksydantów tj. witaminy C, karotenoidów, tokoferoli oraz związków fenolowych [8,11].

Jak wykazały badania Drozd [3] w wyniku działania światłem lasera na ziarno pszenicy jarej powstawały dodatkowo wolne rodniki. Naświetlanie nasion może więc wpływać pośrednio na reakcje wolnorodnikowe w komórkach roślin.

Celem pracy była ocena wpływu przedsewnej stymulacji światłem lasera (1,2,3-krotne naświetlanie) nasion pszenicy ozimej (odmiana-Rysa, Mobela) na zdolność kiełkowania, intensywność oddychania oraz zawartość polifenoli, karotenoidów i witaminy C – związków zaliczanych do antyoksydantów roślinnych.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badań było ziarno pszenicy ozimej odmiany Rysa i Mobela (zaliczanych do grupy jakościowej pszenic chlebowych B) uprawianej w RZD w Czesławicach należącym do AR w Lublinie. Doświadczenie prowadzone przez Katedrę Ogólnej Uprawy Roli i Roślin założono na glebie płowej wytworzonej z lessu, zaliczanej do drugiego kompleksu rolniczej przydatności. Schemat doświadczenia – układ bloków losowanych z trzema powtórzeniami. Przedplonem dla pszenicy był burak cukrowy. W celu chemicznej ochrony roślin zastosowano następujące pestycydy: zaprawa nasienna Vincit 050 FS (s.b.a. flutriafol + tiabendazol) w dawce $0,3 \text{ l} \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ ziarna; herbicyd Chwastoks Extra 300 SL (s.b.a. MCPA) – $3 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$; retardant Cycocel 460 SL (s.b.a. chlorek chloromekwatu) – $3 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$; fungicyd Alert 375 SC (s.b.a. flusilazol + karbendazym) – $1 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$; fungicyd Tilt Plus 400 EC (s.b.a. propikonazol + fenpropidyna) – $1 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$; insektycyd Karate 025 EC (s.b.a. lambda- cyhalotryna) – $0,2 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$. Stosowano nawożenie mineralne na 1 hektar: azotowe 100 kg N w dwóch dawkach: 30 kg przedsewnie i 70 kg pogłównie w formie saletry amonowej; fosforowe 90 kg P_2O_5 w całości przedsewnie w formie superfosfatu potrójnego granulowanego: potasowe – 130 kg w całości w formie soli potasowej. Zabieg przedsewnej stymulacji ziarna pszenicy światłem lasera (He-Ne) przeprowadzono w Katedrze Fizyki AR w Lublinie, technologią laserowej wiązki rozbieżnej ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$) o gęstości powierzchniowej mocy – $4 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$. Zastosowano 1, 2 i 3-krotne naświetlanie. Czas ekspozycji światła lasera wynosił 0,1 sekundy. Obiekt kontrolny stanowiło ziarno nie naświetlane.

Oznaczenie energii i zdolności kiełkowania (PN-79/R-65950) przeprowadzono na płytkach Petriego, na wilgotnej bibule o pH 6-7, na którą wysiewano

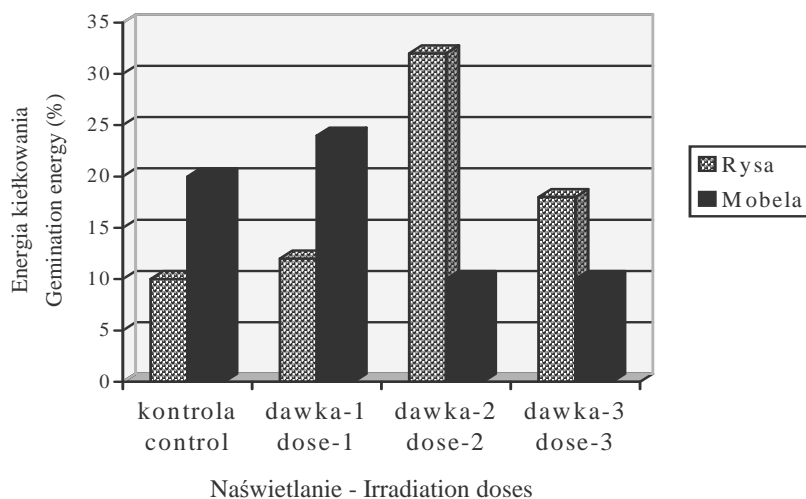
po 100 ziarniaków. Energię kiełkowania badano po 4 dniach, zdolność kiełkowania po 7 dniach dla nasion pszenicy.

W ziarnie zdrowym i poddanym procesowi kiełkowania przez 7 dni oznaczono zawartość antyoksydantów tj. polifenoli, karotenów i ksantofili oraz witaminy C. Zawartość polifenoli oznaczono w przeliczeniu na kwas chlorogenowy metodą Shahidi i Naczek [11]. Poziom karotenoidów oznaczono przy pomocy kolumnowej chromatografii adsorbcyjnej, wymywając barwniki z kolumny eterem naftowym a następnie eterem z acetonem w gradiencie stężenia do 40%. Poziom witaminy C oznaczono w wyniku redukcji roztworu 2,6-dichlorofenolindofenolu przez kwas askorbinowy w środowisku kwaśnym. Absorbancję ekstraktów polifenoli i karotenoidów mierzono na spektrofotometrze Shimadzu UV-160A przy długości fali odpowiednio 725 i 470 nm. Do analiz chemicznych kiełkujące ziarno wymyło i poddano liofilizacji. W analizowanych próbach ziarna określono zdolność i energię kiełkowania oraz zmierzono intensywność oddychania kiełkujących nasion, wyrażając ją w mg CO₂ /1 g/1 h.

Wyniki oznaczeń antyoksydantów poddano analizie statystycznej metodą analizy wariancji dla klasyfikacji wieloczynnikowej z zastosowaniem przedziałów ufności Tukeya ($p = 0,05$).

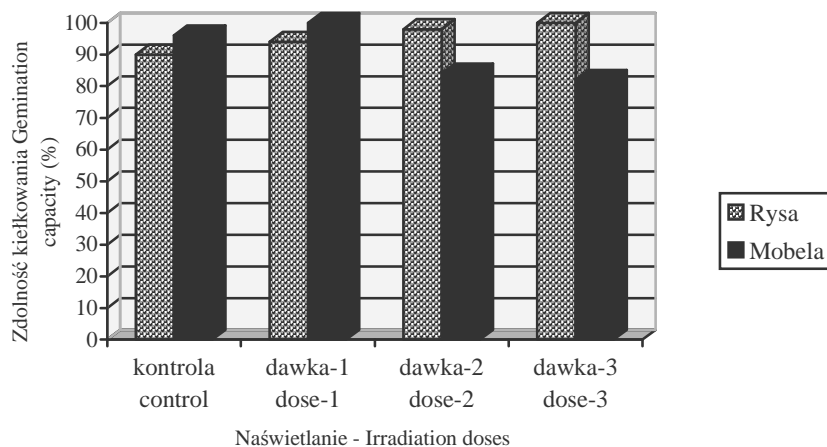
WYNIKI I DYSKUSJA

Podstawowym kryterium oceny nasion z rolniczego punktu widzenia jest ich żywotność, kiedy zarodek fizjologicznie dojrzały, po okresie spoczynku, jest zdolny do kiełkowania. Wartości energii kiełkowania nasion ma istotne znaczenie przy ocenie jakości materiału siewnego. W ziarniakach badanych odmian pszenicy ozimej określono energię i zdolność kiełkowania (rys. 1 i 2). Wyższą energią kiełkowania (ziarno kontrolne) charakteryzowała się odmiana Mobela w porównaniu z Rysą. Stwierdzono wyraźny wpływ naświetlania światłem lasera na energię i zdolność kiełkowania nasion obu odmian. Wzrost energii kiełkowania po stymulacji światłem lasera obserwowano w nasionach odmiany Rysa najwyższy, ponad trzykrotny po zastosowaniu dwukrotnego naświetlania. Zdolność kiełkowania tej odmiany rosła liniowo ze wzrostem krotności dawek lasera. Reakcja odmiany Mobela na stymulację była odmienna, wzrost energii i zdolności kiełkowania obserwowano tylko po jednokrotnym naświetlaniu laserem. Po 2 i 3-krotnym naświetlaniu wartość siewna nasion tej odmiany wyraźnie uległa obniżeniu w porównaniu z próbą kontrolną.



Rys. 1. Energia kiełkowania ziarna pszenicy ozimej odmian Rysa i Mobela dla różnych dawek naświetlania światłem lasera

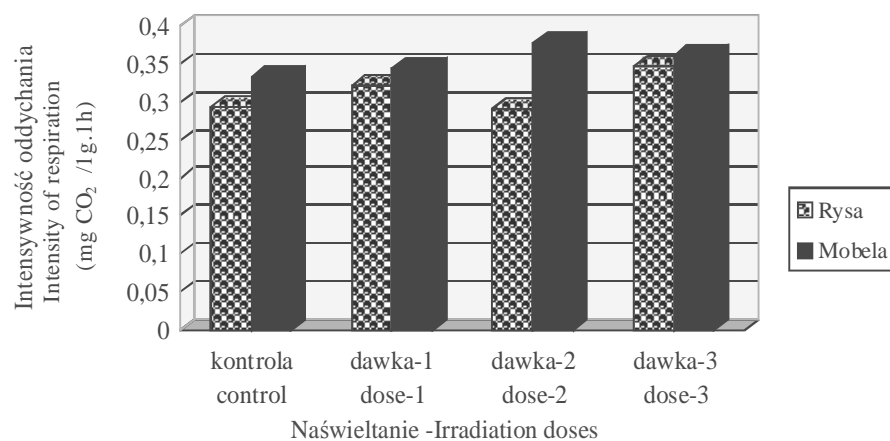
Fig.1. Germination energy of grain of winter wheat varieties Rysa and Mobela for different doses of irradiation with laser light



Rys. 2. Zdolność kiełkowania ziarna pszenicy ozimej odmian Rysa i Mobela dla różnych dawek naświetlania światłem lasera

Fig. 2. Germination capacity of grain of winter wheat varieties Rysa and Mobela for different doses of irradiation with laser light

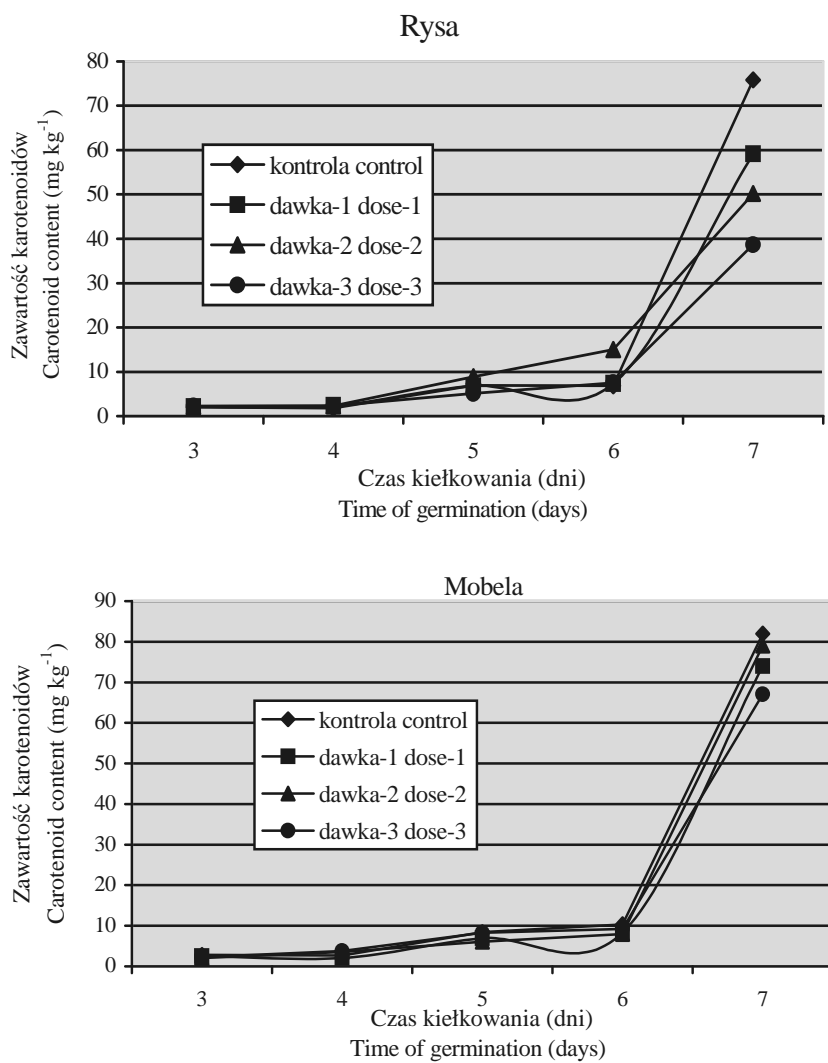
Badania intensywności oddychania kiełkujących nasion wykazały różnice wynikające z cech genetycznych pszenic oraz wpływ stymulacji światłem lasera na ten proces (rys. 3). Dla odmiany Mobela w porównaniu z Rysą zarówno wymiana gazowa pomiędzy kiełkującym nasieniem a otoczeniem oraz natężenie procesów przemiany materii były intensywniejsze we wszystkich kombinacjach doświadczenia. Obie odmiany natomiast reagowały w sposób zbliżony na krotkość naświetlań. Intensywność oddychania kiełkujących ziarniaków wzrastała u odmiany Mobela po zastosowaniu lasera, najwyraźniej po 2 i 3 dawkach. Wzrost intensywności oddychania ziarna odmiany Rysa stwierdzono po 1 i 3 dawkach lasera w porównaniu do obiektu kontrolnego.



Rys. 3. Intensywność oddychania ziarna pszenicy ozimej odmian Rysa i Mobela dla różnych dawek naświetlania światłem lasera

Fig. 3. Intensity of respiration of changes of winter wheat grain Rysa and Mobela for different doses of irradiation the light of laser

Analiza dynamiki zmian koncentracji karotenoidów wykazała nasilenie syntezy po 4 dniach kiełkowania nasion i gwałtowny wzrost poziomu tych związków po 6-tym dniu kiełkowania (rys. 4). Podobny kierunek zmian poziomu karotenów w kiełkującej pszenicy uzyskali Yang i in. [10]. Reakcja obu odmian na naświetlanie laserem w odniesieniu do biosyntezy karotenoidów była podobna. Po szóstym dniu kiełkowania nastąpił spadek dynamiki syntezy karotenoidów w ziarnie poddanym naświetlaniu, bardziej wyraźny u odmiany Rysa. Należy zauważyć, że w kiełkujących nasionach tej odmiany po zastosowaniu dwukrotnego naświetlania stwierdzono wzrost zawartości badanych antyoksydantów, po czwartym dniu kiełkowania, utrzymujący się przez 2 dni (rys. 4).



NIR_{0,05} dla: czasu kiełkowania; LSD_{0,05} – for: time of germination 4,56
 krotności naświetlań – doses of irradiation 3,87

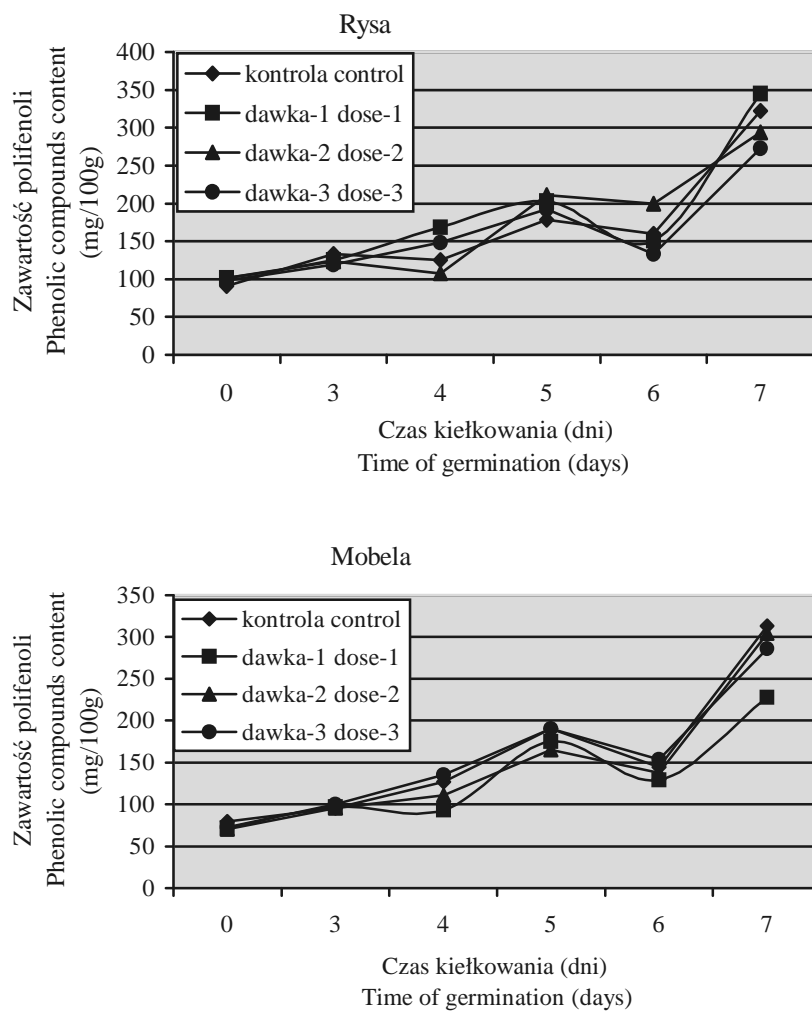
Rys. 4. Zawartość karotenoidów w kiełkującym ziarnie pszenicy ozimej – Rysa i Mobela dla różnych dawek naświetlania światłem lasera

Fig. 4. Carotenoid content in sprouted grain of winter wheat - Rysa and Mobela for different doses of irradiation with laser light

Polifenole, głównie kwasy fenolowe należące do inhibitorów kiełkowania, pełnią również naturalną ochronę antyoksydacyjną lipidów zawartych w ziarnie zbóż [2,11]. Poziom i skład chemiczny fenoli roślinnych może się zmieniać pod wpływem obróbki technologicznej, w tym także radiacji. Związki te charakteryzują się zdolnością do pochłaniania promieniowania UV, pełnią więc funkcję ochronną fotosyntezujących tkanek [7].

Analiza zawartości polifenoli w pszenicy ozimej wskazała na bogatszą akumulację tych związków w ziarnie odmiany Rysa w porównaniu z Mobilą (rys. 5). Po zastosowaniu lasera poziom polifenoli w tej odmianie wzrastał, najefektywniej po 1 i 2-krotnym naświetlaniu. W odmianie Mobilą po stymulacji laserowej stwierdzono obniżenie zawartości związków fenolowych w ziarnie, w największym stopniu po dwóch dawkach. Podczas kiełkowania nasion dynamika zmian poziomu polifenoli obu odmian była podobna. Zawartość tych związków rosła do 5 dnia kiełkowania po czym następował niewielki spadek stężenia, a następnie wyraźny wzrost w 7 dniu kiełkowania. Prawdopodobnie obniżenie zawartości związków fenolowych wiązało się z ich wypłukiwaniem podczas podlewania. Po 7 dniach kiełkowania poziom polifenoli był najwyższy u obu odmian i mieścił się w granicach od 227,8-345,6 mg·(100g)⁻¹ ziarna. Prezentowane rezultaty badań potwierdzają wyniki uzyskane przez Yanga i in. [10] w odniesieniu do dynamiki zmian stężenia kwasów fenolowych podczas przyspieszonego procesu kiełkowania pszenicy.

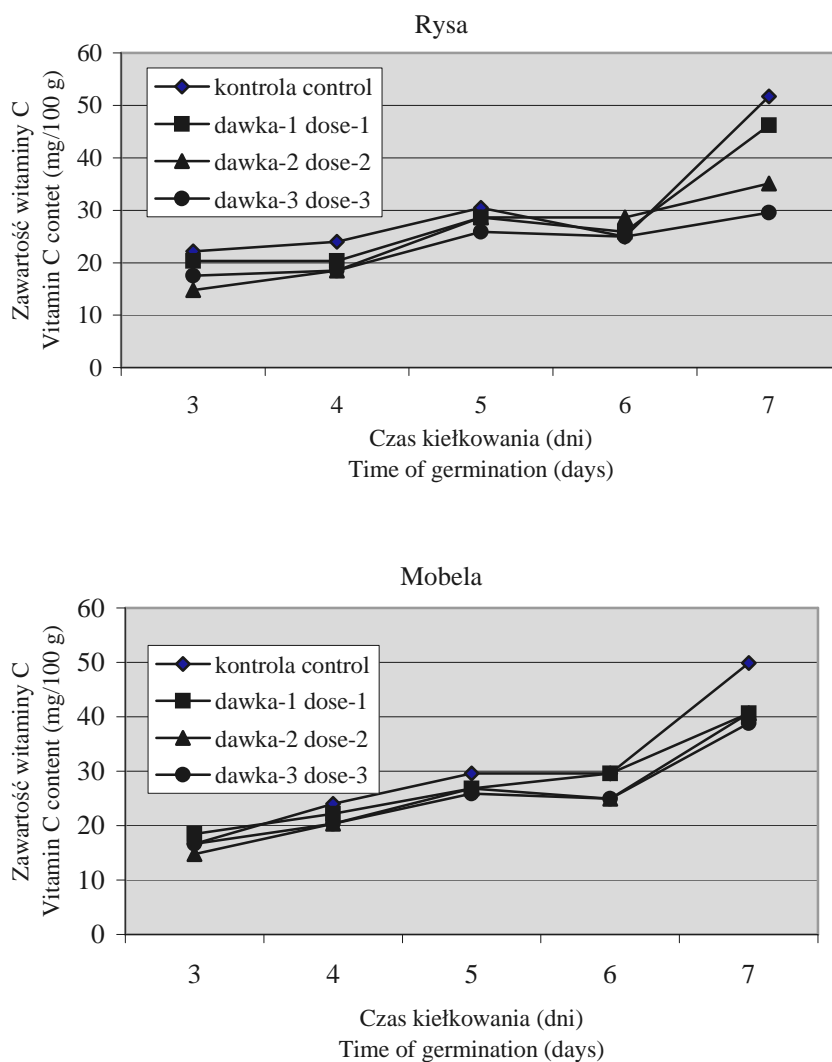
Zawartość witaminy C w ziarnie pszenicy badano podobnie jak i karotenoidów po 3 dniach kiełkowania, kiedy nasiliła się ich synteza i była możliwość oznaczenia tych składników (rys. 6). Wykazano istotny wpływ stymulacji laserowej na spadek zawartości witaminy C w ziarnie obu odmian pszenicy. Ze wzrostem krotności naświetlań poziom witaminy C w ziarnie odmiany Rysa ulegał obniżeniu do ponad 40% (po siedmiu dniach kiełkowania). Spadek zawartości witaminy C po stymulacji laserowej był łagodniejszy w ziarnie odmiany Mobilą, nie mniej stwierdzono obniżenie jej zawartości od 15% (po 4 dniach kiełkowania) do 22% (po 7 dniach kiełkowania) w porównaniu z nasionami kontrolnymi. Przebieg dynamiki syntezy witaminy C w ziarnie obu odmian pszenicy wykazywał podobieństwo do syntezy karotenoidów i polifenoli. Wzrost zawartości witaminy C został zahamowany po 6 dniu kiełkowania, a następnie obserwowano wyraźne nasilenie jej syntezy po 7 dniach kiełkowania.



NIR_{0,05} dla: czasu kiełkowania – LSD_{0,05} for: time of germination 16,34
 krotności naświetlań – doses of irradiation 11,99

Rys. 5. Zawartość polifenoli w kiełkującym ziarnie pszenicy ozimej – Rysa i Mobela dla różnych dawek naświetlania światłem lasera

Fig. 5. Phenolic compounds content in sprouted grain of winter wheat –Rysa and Mobela for different doses of irradiation with laser light



NIR_{0,05} dla: czasu kiełkowania; LSD_{0,05} – for: time of germination 3,02
krotności naświetlań – doses of irradiation 2,54

Rys. 6. Zawartość witaminy C w kiełkującym ziarnie pszenicy ozimej – Rysa i Mobela dla różnych dawek naświetlania światłem lasera

Fig. 6. Vitamin C content in sprouted grain of winter wheat – Rysa and Mobela for different doses of irradiation with laser light

WNIOSKI

1. Po przedświejnej stymulacji światłem lasera nasion pszenicy ozimej stwierdzono wzrost energii i zdolności kiełkowania, przy czym obie odmiany reago-wały z różną efektywnością na zastosowane dawki.
2. Stwierdzono wzrost intensywności oddychania kiełkujących nasion bada-nych odmian po naświetlaniu światłem lasera.
3. Po naświetlaniu laserem, w 7 dniu kiełkowania ziarniaków stwierdzono spadek zawartości karotenoidów u obu odmian, proporcjonalny do krotności naświetlań.
4. Światło lasera, po 1 i 2- krotnym naświetlaniu, stymulowało wzrost zawartości związków fenolowych w ziarnie odmiany Rysa, w porównaniu do obiektu kontrolnego. Natomiast w odmianie Mobela po stymulacji poziom tych związków uległ obniżeniu.
5. Stwierdzono obniżenie zawartości witaminy C w kiełkujących ziarniakach pszenic po zastosowaniu stymulacji laserowej.

PIŚMIENNICTWO

1. **Basu T.K.:** Possible role of antioxidant vitamins. In: Antioxidant in Human Health and Disease, (eds TK Basu, NJ Temple and ML Garg), 15-26, 1999.
2. **Berhow M.A., Vaughn S.F.:** Higher plant flavonoids: biosynthesis and chemical ecology. In: Principles and Practices of Plant Ecology. CRC Press LLC., 432-438, 1999.
3. **Drozd D.:** The effect of laser radiation on spring wheat properties. Int. Agrophysics, 8, 209-213, 1994.
4. **Drozd D., Szajsner A., Jezierski A.:** Zastosowanie elektronowego rezonansu paramagne-tycznego (EPR) do oceny wpływu promieniowania laserowego na ziarniaki pszenicy jarej. Biul. IHAR, 204, 181-186, 1997.
5. **Drozd D., Szajsner H., Koper R.:** Wpływ przedświejnego naświetlania laserem nasion pszenicy jarej na zdolność kiełkowania i długość koleoptyla. Fragm. Agronom., 1 (49), 44-52, 1996.
6. **Dziamba Sz., Koper R.:** Wpływ naświetlania laserem na plon ziarna pszenicy jarej. Fragm. Agronom., 1 (33), 88-93, 1992.
7. **Gitz III D.C., Liu L., McClure J. W.:** Phenolic metabolism, growth and UV-B tolerance in phenylalanineammonia-lyase-inhibited red cabbage seedlings. Phytochem., 49, (2), 377-386, 1998.
8. **Makarska E., Michalak M.:** Wpływ procesu kiełkowania i przedświejnej stymulacji laserowej na skład chemiczny ziarna pszenicy zwyczajnej. Mat. XXXV Sesji Nauk. KT i ChŻ PAN, „Żywność-aspekty technologiczne i prozdrowotne”, Łódź, 96, 2004.
9. **Makarska E., Michalak M., Wesołowska-Trojanowska M.:** Ocena wartości odżywczej pod-kielkowanego ziarna jęczmienia. Mat. XXXIII Sesji Nauk. KT i ChŻ PAN, „Nauka o Żyw-ności – Osiągnięcia i Perspektywy”, Lublin, 93, 2002.
10. **Yang F., Basu T.K., Ooraikul B.:** Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. Intern., J. of Food Sci. and Nutr., 52, 319-330, 2001.
11. **Shahidi F., Nacz M.:** Methods of analysis and quantification of phenolic compounds. Food Phenolic: Sources, Chemistry, Effect and Applications, Technomic Publishing Company, Lancaster PA, 1995.
12. **Slavin J., Marquart L., Jakobs D, Jr.:** Consumption of whole-grain food and decreased risk of cancer: proposed mechanisms. Cereal Foods World, 45, 2, 54-58, 2000.

INFLUENCE OF LASER IRRADIATION ON THE SEED QUALITY
AND ANTIOXIDANT CONTENTS ON CHOSEN VARIETIES
OF WINTER WHEAT

Ewa Makarska¹, Monika Michalak¹, Marta Wesółowska-Trojanowska²

¹Department of Chemistry, University of Agriculture, ul. Akademicka 15, 20-934 Lublin

²Department of Food Technology, University of Agriculture, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
e-mail: ewa.makarska@wp.pl

Abstract. In winter wheat (Rysa, Mobela) subjected to pre-sowing laser stimulation (1, 2 and 3 times) an increase was found in the strength and energy of germination, and in the intensity of respiration of germinating seeds, dependent on the genotype properties of the varieties and the number of laser irradiation doses. During a seven-day sprouting process of the seeds, the level of antioxidants, i.e. carotenoids, polyphenols and vitamin C, was monitored. In the seeds of both varieties, after the laser irradiation, on the seventh day of sprouting, a decrease of carotenoids and vitamin C content was found. The polyphenols content was decreased in the seeds of the Mobela variety after laser stimulation, whereas in the seed of the variety Rysa, subjecting it to radiation once or twice stimulated an increase in the content of these compounds.

Keywords: Laser, winter wheat, seed quality, germination, antioxidants