

ANALIZA MIKROSKOPOWA ZIARNA PSZENICY DWU POKOLEŃ  
WYHODOWANYCH Z NASION  
PODDANYCH PROMIENIOWANIU GAMMA

*Jerzy Ryszard Warchalewski<sup>1</sup>, Romualda Dolińska<sup>1</sup>, Wioletta Błaszczak<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego  
ul. Mazowiecka, 48 60-623 Poznań

<sup>2</sup>Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn  
e-mail: kbiaz@au.poznan.pl

**Streszczenie.** Znaczne ograniczenie strat powodowanych przez owady w magazynowanym ziarnie zbóż można osiągnąć stosując napromienianie promieniami gamma. Praca zawiera wyniki badań wpływu wybranych dawek promieniowania gamma (0,05 kGy i 0,1 kGy) na zmiany mikrostruktury ziarniaków pszenicy odmiany Begra w dwu kolejnych pokoleniach. Nie stwierdzono pośredniego wpływu promieniowania gamma na mikrostrukturę bielma ziarniaków dwu pokoleń. Odnotowano natomiast mniejsze wymiary komórek epidermy zewnętrznej ziarna w dwu kolejnych pokoleniach.

Słowa kluczowe: ziarno pszenicy, promieniowanie gamma, analiza mikroskopowa, pokolenia następcze

WSTĘP

Zboża stanowią integralną część globalnej polityki rolnej obejmującej wyżywienie ludności świata. W skali światowej ponad 50% diety człowieka jest zaspakajane przez trzy gatunki zbóż tj. pszenicę, kukurydzę i ryż (Morris i in. 2000). Blisko połowa rocznych zbiorów zbóż wymaga przechowywania. Podczas przechowywania ziarno zbóż może zostać zasiedlone przez owadzie szkodniki magazynowe, powodując znaczne straty sięgające od ok. 9% w USA do nawet 50% w krajach tropikalnych. Zanieczyszczone ziarno owadziemi wydaliniami oraz martwymi szczątkami pogarsza jakość technologiczną surowca, a także sprzyja zarzewaniu i zawilgoceniu ziarna (Warchalewski i in. 2000). Wśród metod fizycznych zwalczania owadzi szkodników magazynowych wymienia się promieniowanie jonizujące gamma.

Stosowanie niskich dawek tego promieniowania do 1 kGy skutecznie zapobiega porażeniu ziarna przez szkodniki (Marathe i in. 2002). Natomiast jeśli przechowywane produkty zbożowe zaatakowane są przez różne gatunki szkodliwych owadów, to dawka 0,5 kGy jest wystarczająca do wyeliminowania najbardziej odpornych osobników przez ich sterylizację (Warchalewski i in. 2000).

W wyniku kontaktu żywej komórki z promieniowaniem jonizującym może nastąpić śmierć komórki lub utrata zdolności żywej komórki do reprodukcji, względnie uszkodzenie kodu DNA w ten sposób, że powstające kopie komórek będą się różnić od komórki pierwotnej (Janowicz 2006). Już niewielka ilość energii promieniotwórczej może spowodować zmiany mutagenne w jądrze komórkowym składającym się z substancji chromatynowej wypełnionej kwasami nukleinowymi zawierającymi kod genetyczny.

Informacje na temat pośredniego wpływu promieniowania gamma na niektóre fizyczne, technologiczne i żywieniowe właściwości ziarna pszenicy zostały opublikowane w pracach (Dolińska i Warchalewski 2002, Dolińska i in. 2004, Warchalewski i in. 2006).

W celu określenia pośredniego wpływu promieniowania gamma na mikrostrukturę ziarniaków pszenicy zebranych w dwu kolejnych pokoleniach przeprowadzono badania na ziarnie pszenicy odmiany Begra.

#### MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły dwa pokolenia pszenicy, wyhodowane z ziarna pszenicy ozimej odmiany Begra, poddanej promieniowaniu gamma. Proces przedsięwziętego napromienienia ziarna pszenicy promieniami gamma  $^{60}\text{Co}$  przeprowadzono w zakresie dawek 0,05 kGy i 0,1 kGy, tak jak opisano to wcześniej (Dolińska i in. 2004).

Wilgotność ziarna, którą oznaczono w trzech powtórzeniach wynosiła 13,2%, stosując naważkę 2 g ziarna i temperaturę suszenia 135°C przez 2 godz. wg AACC Method 44-19/1982. Po napromienieniu ziarno przechowywano w szczelnie zamkniętych pojemnikach do momentu wysiania.

Napromienione ziarno wysiano na specjalnie założonych poletkach doświadczalnych (30 m<sup>2</sup> każde) w Zakładzie Hodowli Roślin DANKO w Choryni. Następnie zebrano ziarno w dwu kolejnych pokoleniach i poddano badaniom mikroskopowym (SEM).

Obrazy mikrostruktury ziarniaków otrzymane przy pomocy skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) wykonano dokładnie, tak jak opisano to wcześniej (Błaszczak i in. 2002) przy zastosowaniu mikroskopu JEOL 5200 (Japan). Z ziar-

na zebranego w pierwszym i drugim pokoleniu wraz z ich próbami kontrolnymi pobrano po ok. 5 g ziarniaków, które przeznaczono do oceny wizualnej w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM). Wybrane ziarniaki (po 10 z każdej próby) pocięto żyłką i pokryto cienką warstwą węgla i złota w napyłarce próżniowej JEE 4x. Następnie oglądano je w mikroskopie przy napięciu 10 Kev.

Zdjęcia i wymiary komórek epidermy zewnętrznej ziarniaków wraz z analizą wizualną obrazów ziarna zebranego w pierwszym i drugim pokoleniu wykonano za pomocą mikroskopu Hitachi S-3000 N Scanning Electron Microscope (Japan) w Instytucie Ochrony Roślin w Poznaniu. Zastosowano dekodery elektronów wtórnych, napięcie przyspieszające 2 kV, powiększenie uzyskane spod mikroskopu wynosiło 500 x, odległość robocza 11 mm. Pojedyncze ziarniaki przyklejano na stoliku przy pomocy kleju na bazie srebra. Ziarno mocowano do stolika zawsze od strony bruzdy. Zdjęcia wykonano od strony grzbietowej, nie stosując żadnych preparatów barwiących. Pod mikroskopem SEM oceniano po dziesięć przypadkowo wybranych ziarniaków, których epidermę zewnętrzną oglądano zawsze w okolicy zarodka, a następnie wykonano pomiary komórek przy pomocy podziałki znajdującej się w mikroskopie.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Radiacyjna dezynsekcja ziarna w zakresie niskich dawek promieniowania jonizującego może w znacznym stopniu ograniczyć niekorzystne zmiany właściwości technologiczno-reologicznych oraz zdolność kiełkowania nasion zbóż (Błaszczak i in. 2002, Dolińska 2004, Dolińska i in. 2004, Warchalewski i in. 2006). Równocześnie dawki w zakresie 0,1 kGy do 0,75 kGy niszczą owady we wszystkich stadiach rozwojowych nie powodując niekorzystnych zmian chemicznych w ziarnie (Warchalewski i in. 2000). Zastosowane dawki promieniowania gamma 0,05 kGy i 0,1 kGy wpłynęły na zmniejszenie uzyskanego plonu ziarna odpowiednio o 4% i 22%, ale tylko w pierwszym pokoleniu. W drugim pokoleniu odnotowano wzrost zebranego plonu dla obu dawek o 18% w odniesieniu do prób ziarna nie napromieniowanego.

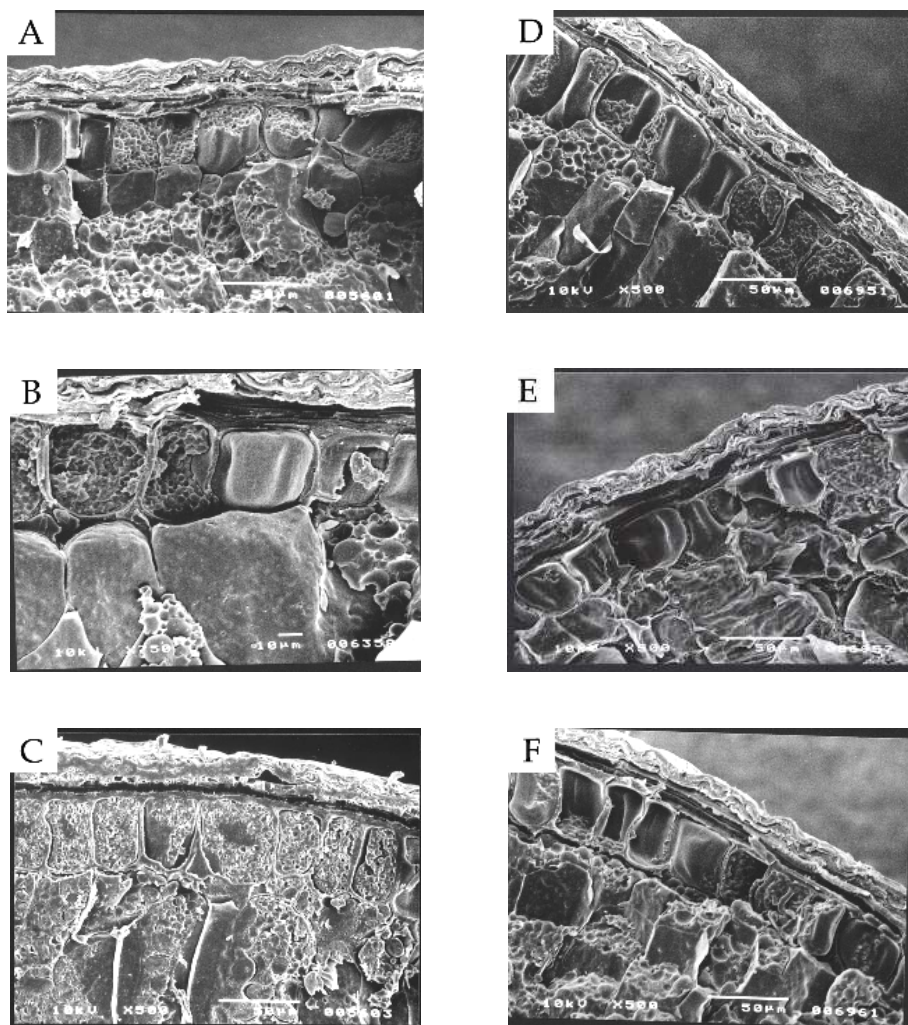
### **Mikrostruktura ziarniaków**

Struktura ziarniaka i budowa jego poszczególnych części decyduje o technologicznych i żywieniowych właściwościach (Pomeranz 1982, Al.-Saleh in. 1984, Yiu 1989, Freeman i Shelton 1991). Mikrostrukturę ziarniaków pszenicy pierwszego pokolenia wyhodowanych z ziarna poddanego napromienianiu promieniami gamma przedstawiono na mikrofotografiach fot. 1 A,B,C i fot. 2 A,B,C. Ziarno

kontrolne nie różniło się mikrostrukturą (fot. 1 A i 2 A) od typowych ziarniaków pszenicy, których zdjęcia mikroskopowe można znaleźć w wielu publikacjach (Moss i in. 1980, Pomeranz 1982, Al-Saleh i Gallant 1985). Okrywa owocowo-nasienna o grubości 30-50  $\mu\text{m}$  charakteryzuje się znaczną zwięzłością poszczególnych części składowych, to jest epidermy, hipodermy, komórek poprzecznych i rurkowych oraz testy. Pojedyncza warstwa komórek aleuronowych, których wysokość osiąga 50  $\mu\text{m}$ , przy szerokości wahającej się w granicach 20-45  $\mu\text{m}$ , wypełniona jest ziarnami aleuronowymi, w których szczególną rolę odgrywają globoidy fitynowe (fot. 1 B). Komórki subaleuronowe (fot. 1 A,B,C), zawierające wyrównanej wielkości ziarenka skrobi (10  $\mu\text{m}$ ) są również wypełnione znaczącą ilością białka. Komórki endospermy, w zależności od lokalizacji w ziarniaku, a także od struktury bielma – jego szklistości lub mączystości również wykazują zróżnicowanie. Przyjmuje się, że komórki w zewnętrznej części bielma mają kształt pryzmatyczny (fot. 2 B), w środkowej zaś wieloboczny (fot. 2 A). Oba rodzaje komórek wypełnione są ziarenkami skrobi o znacznie zróżnicowanej średnicy, z przewagą ilościową ziarenek małych <5  $\mu\text{m}$ . Analizując mikrofotografie struktury ziarniaków uzyskanych w pierwszym pokoleniu, można stwierdzić, że nie wystąpiły znaczne różnice pomiędzy ziarnem prób IG-0,05 i IG-0,1 (fot. 1 B,C i 2 B,C) a ich próbą kontrolną IG-0 (fot. 1 A i 2 A).

Wyniki obserwacji mikroskopowych ziarniaków pszenicy drugiego pokolenia przedstawiono na mikrofotografiach 1 D,E,F i 2 D,E,F. Mikrofotografie nie wykazały istotnych różnic pomiędzy próbami kontrolnymi obu pokoleń (fot. 1 A,D i 2 A,D). Wyhodowane ziarniaki pszenicy drugiego pokolenia IIG-0,05 i IIG-0,1 (fot. 1 E,F i 2 E,F) nie różniły się mikrostrukturą analizowanych części morfologicznych w porównaniu z ich próbą kontrolną (fot. 1 D i 2 D).

Okrywa owocowa ziarna zbóż (*pericarpium*) stanowi warstwę ochronną i składa się ze skórki (*epidermis*) zewnętrznej i wewnętrznej oraz skórki środkowej (*hypodermis*). Epiderma zewnętrzna utworzona jest z pojedynczej warstwy komórek otaczającej prawie całe ziarno, z wyjątkiem miejsca, przez które ziarniak był połączony z rośliną macierzystą. Na zewnętrznych ścianach komórek tej warstwy znajduje się cienka, prawie nie przepuszczająca wody błonka (*cuticula*), szczególnie delikatna przy zarodku (Gąsiorowski i Cierniewska 2004). Zdjęcia okrywy owocowych ziarniaków pszenicy pierwszego i drugiego pokolenia przedstawiono na mikrofotografiach 3 A,B,C,D,E,F. Komórki epidermy zewnętrznej mają kształt wydłużony i są ułożone wzdłuż długiej osi ziarna, tak jak typowe komórki tej tkanki (Gąsiorowski i Cierniewska 2004). Ściany komórek są zgrubiałe. Średnie wymiary komórek tworzących epidermę zewnętrzną ziarniaków pierwszego i drugiego pokolenia podano w tabeli 1.



**Fot. 1.** Mikrofotografie (SEM) struktury okrywy owocowo-nasiennej, warstwy aleuronowej i subaleuronowej ziarniaków pszenicy dwu pokoleń wyhodowanych z ziarna poddanego promieniowaniu gamma

**Photo. 1.** Microphotographs (SEM) of the structure of pericarp, aleurone layer and subaleurone endosperm of wheat kernels of two generations grown from gamma irradiated seeds

Pierwsze pokolenie ziarna

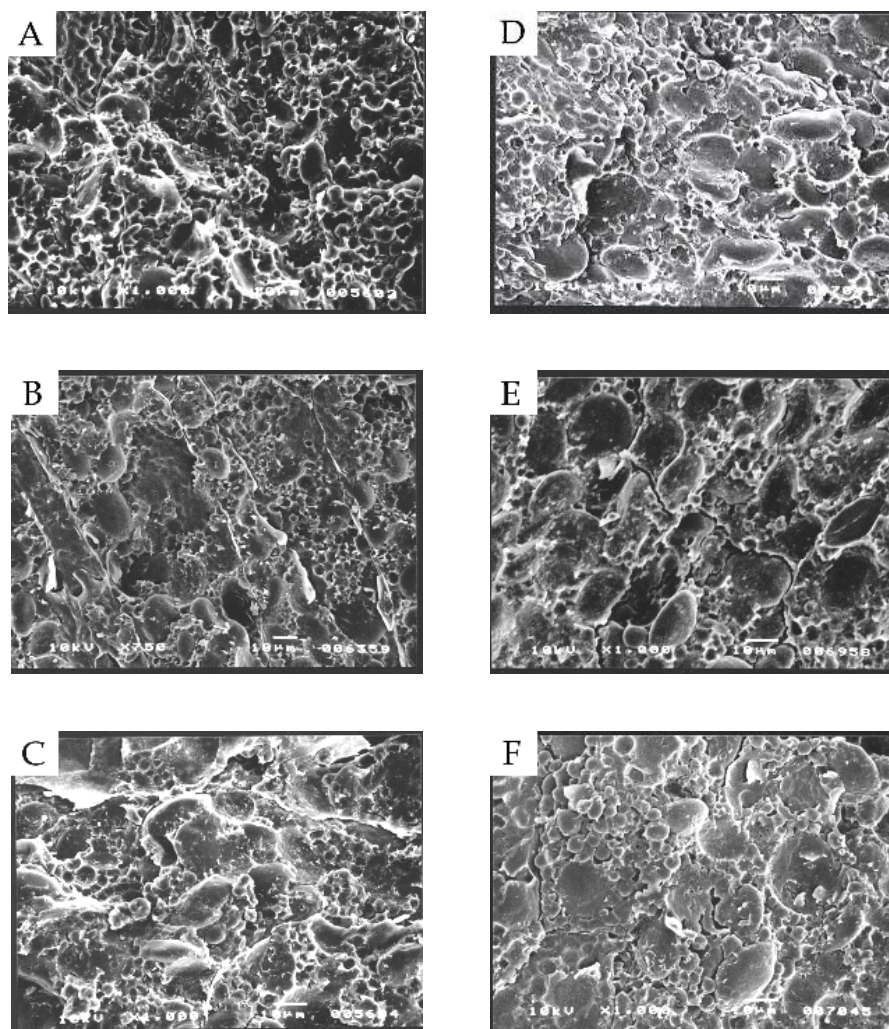
Drugie pokolenie ziarna

First generation crop

Second generation crop

A – IG-0, B – IG-005, C – IG-0,1

D – IIG-0, E – IIG-0,05, F – IIG-0,1



**Fot. 2.** Mikrofotografie (SEM) bielma ziarniaków dwu pokoleń wyhodowanych z ziarna poddanego promieniowaniu gamma

**Photo. 2.** Microphotographs (SEM) of starchy endosperm of wheat kernels of two generations grown from gamma irradiated seeds

Pierwsze pokolenie ziarna

First generation crop

A – IG-0, B – IG-0,05, C – IG-0,1

Drugie pokolenie ziarna

Second generation crop

D – IIG-0, E – IIG-0,05, F – IIG-0,1

**Tabela 1.** Średnie wymiary komórek epidermy zewnętrznej ziarniaków pszenicy dwu pokoleń wyhodowanych z ziarna poddanego promieniowaniu gamma\***Table 1.** Average dimensions of external epidermal cells of two generations of wheat grain grown from gamma irradiated seeds\*

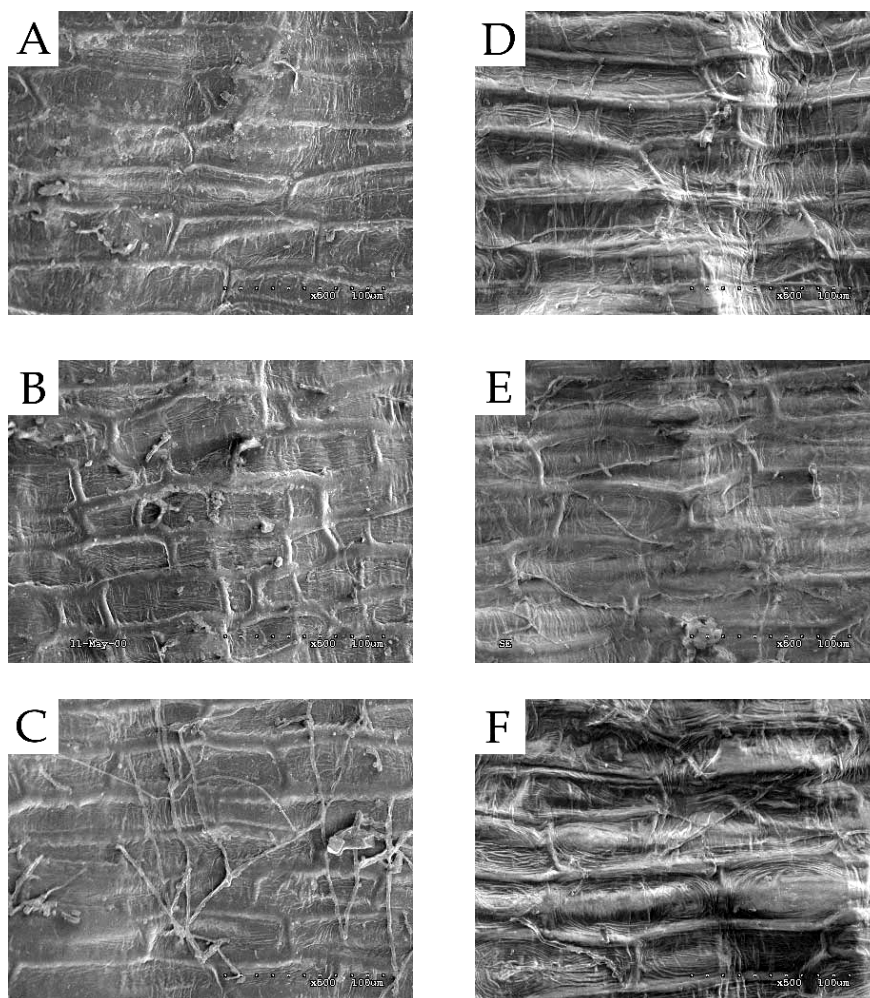
Próba ziarna Grain sample	Długość Length ( $\mu\text{m}$ )	Szerokość Width ( $\mu\text{m}$ )	Grubość ściany Wall thickness ( $\mu\text{m}$ )
IG-0	124 $\pm$ 25	30 $\pm$ 5	5,10 $\pm$ 0,29
IG-0,05	68 $\pm$ 33	25 $\pm$ 7	6,50 $\pm$ 1,71
IG-0,1	98 $\pm$ 25	25 $\pm$ 4	6,50 $\pm$ 2,80
IIG-0	149 $\pm$ 19	25 $\pm$ 4	6,10 $\pm$ 1,86
IIG-0,05	117 $\pm$ 27	26 $\pm$ 5	6,60 $\pm$ 1,96
IIG-0,1	111 $\pm$ 20	27 $\pm$ 8	5,90 $\pm$ 1,64

\*Średnie wartości z przypadkowo pobranych dziesięciu ziarniaków – Mean value of ten randomly picked kernels.

Porównując średnie wartości wymiarów komórek epidermy zewnętrznej ziarna pszenicy kolejnych pokoleń z wartościami podanymi przez Gąsiorowskiego i Cierniewską (2004), wynoszącymi 80-300  $\mu\text{m}$  dla długości, 25-48  $\mu\text{m}$  dla szerokości oraz 3-9,5  $\mu\text{m}$  dla grubości ścian, można stwierdzić, że tylko komórki epidermy zewnętrznej ziarna próby IG-0,05 (fot. 3B) nie zawierały się w tych granicach. Zewnętrzna warstwa ziarna próby kontrolnej pierwszego pokolenia IG-0 (fot. 3 A) charakteryzowała się dłuższymi i szerszymi komórkami epidermy zewnętrznej, z jednocześnie cieńszymi ścianami komórkowymi, w porównaniu z tymi samymi wymiarami ziarna prób IG-0,05 i IG-0,1 (fot. 3 B i C). Zwraca uwagę niższa średnia długość komórek epidermy zewnętrznej ziarniaków prób IG-0,05 oraz IG-0,1. Prawdopodobnie jest to wynik przedśiewnego zastosowania promieniowania gamma.

Można sądzić, że mniejsze komórki epidermy zewnętrznej ziarniaków pszenicy pierwszego pokolenia w wyniku działania promieniowania gamma mogą mieć wpływ na zwiększenie twardości ziarna, zwłaszcza w próbie IG – 0,05. Wcześniej Dolińska (2004) wykazała istotny statystycznie wzrost twardości ziarniaków pszenicy wyrażoną w jednostkach Brabendera, ale tylko dla ziarna poddanego promieniowaniu gamma w pierwszym pokoleniu, która wynosiła odpowiednio 600 j.Br i 567 j.Br dla zastosowanych dawek 0,05 kGy i 0,1 kGy w porównaniu do ziarna kontrolnego 527 j.Br. Natomiast stosując zestaw pomiarowy do oznaczania pojedynczych ziarniaków (SKCS), stwierdzono wzrost indeksu twardości tylko po bezpośrednim działaniu promieniowania, podczas gdy w następnych pokoleniach obserwowano spadek tej twardości jako efekt następczy w trzech kolejnych pokoleniach (Warchalewski i in.

2006). Znacznie wcześniej nie stwierdzono istotnie statystycznego, bezpośredniego wpływu promieniowania gamma na twardość ziarniaków pszenicy wyrażoną w jednostkach Brabendera (Warchalewski i in. 2000).



**Fot. 3.** Mikrofotografie (SEM) komórek epidermy zewnętrznej ziarniaków pszenicy dwu pokoleń wyhodowanych z ziarna poddanego promieniowaniu gamma

**Photo. 3.** Microphotographs (SEM) of external epidermal cells of two generations wheat kernels grown from gamma irradiated seeds

Pierwsze pokolenie ziarna

Drugie pokolenie ziarna

First generation crop

Second generation crop

A – IG-0, B – IG-0,05, C – IG-0

D – IIG-0, E – IIG-0,05, F – IIG-0,1



Uzyskane rozbieżne wyniki twardości ziarna pszenicy przy zastosowaniu różnych metod oznaczania nakazują ostrożność w ich interpretowaniu. W wyniku następczego promieniowania gamma ziarniki drugiego pokolenia charakteryzowały się krótszą średnią długością komórek epidermy zewnętrznej w porównaniu do ich ziarna kontrolnego (tab. 1). Aczkolwiek te różnice były już znacznie mniejsze przy podobnych pozostałych wymiarach komórek epidermy zewnętrznej ziarniaków drugiego pokolenia. Podobnie wcześniej nie stwierdzono różnic w twardości ziarniaków drugiego i trzeciego pokolenia w wyniku następczego wpływu promieniowania gamma (Dolińska 2004).

#### WNIOSKI

1. Nie stwierdzono efektu następczego promieniowania gamma zastosowanego przed siewem na nasiona pszenicy w zakresie zmian struktury okrywy owocowo-nasiennej, warstwy aleuronowej, subaleuronowej i bielma ziarniaków dwu kolejnych pokoleń.

2. Odnotowano mniejsze wymiary komórek epidermy zewnętrznej szczególnie widoczne w ziarniakach pierwszego pokolenia jako efekt następczy promieniowania gamma. Już w drugim pokoleniu te różnice uległy znacznemu zmniejszeniu.

#### Podziękowania

Pani mgr Zofii Banaszak, dyrektorowi Zakładu Hodowli Roślin DANKO Choryń składamy serdeczne podziękowanie za prowadzenie hodowli napromieniowanego ziarna pszenicy na specjalnie założonych poletkach doświadczalnych oraz dostarczenie zebranego ziarna do badań.

Panu prof.dr hab. Janowi Nawrotowi z Instytutu Ochrony Roślin w Poznaniu dziękujemy za udostępnienie SEM w celu oceny zmian w epidermie zewnętrznej ziarniaków.

#### PIŚMIENNICTWO

- Al.-Saleh A., Bouchet B., Gallant D.J., 1984. Mineral migration in the wheat kernel during mill conditioning. *Food Microstructure*, 3, 149-158.
- Al-Saleh A., Gallant D.J., 1985. Rheological and ultrastructural studies of wheat kernel behaviour under compression as function of water content. *Food Microstructure*, 4, 199-211.
- Błaszczak W., Gralik J., Klockiewicz-Kamińska E., Fornal J., Warchalewski J.R., 2002. Effect of  $\gamma$ -radiation and microwave heating on endosperm microstructure in relation to some technological properties of wheat grain. *Nahrung/Food* 46, (2), 122-129.
- Dolińska R., 2004. Ocena wpływu promieniowania gamma i mikrofal na zmiany właściwości ziarna pszenicy kolejnych pokoleń w odniesieniu do warunków glebowo-klimatycznych. Praca doktorska, Akademia Rolnicza Poznań, 1-223.
- Dolińska R., Warchalewski J.R., 2002. Wpływ promieniowania gamma i ogrzewania mikrofalowego na strawność *in vitro* białek albuminowych ziarna pszenicy I i II pokolenia. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 29, 102-116.

- Dolińska R., Warchalewski J.R., Gralik J., Jankowski T., 2004. Effect of  $\gamma$ -radiation and microwave heating of wheat grain on some starch properties in irradiated grain as well as in grain of the next generation crops. *Nahrung/Food* 48, (3), 195-200.
- Freeman T.P., Shelton D.R., 1991. Microstructure of wheat starch: from kernel to bread. *Food Technology*, 3, 164-168, 176.
- Gąsiorowski H., Cierniewska A., 2004. 8 Morfologia i anatomia. W: *Pszenica chemia i technologia* (pod red. H. Gąsiorowskiego) Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań, 138-150.
- Janowicz M., 2006. Wykorzystanie promieniowania jonizującego w technologii żywności. *Przemysł Spożywczy*, 60 (4), 30-35 i 37.
- Marathe S.A., Machaian J.P., Rao B.Y.K., Pedenkar M.D., Rao V.S., 2002. Extension of shelf-life of whole-wheat flour by gamma radiation. *Int.J.Food Sci.Technol.* 37, 163-168.
- Morris P.C., Palmer G.H., Bryce J.H., 2000. Summary and conclusions. In.: *Cereal biotechnology*. Chapter 11, 237-242, edited by Peter C.Morris and James H.Bryce. Woodhead Publishing Ltd. and CRC Press, Cambridge, England.
- Moss R., Stenvert N.L., Kingswood K., Pointing G., 1980. The relationship between wheat microstructure and flour milling. *Scanning Electron Microscopy*, 3, 613-620.
- Pomeranz Y., 1982. Grain structure and end-use Properties. *Food Microstructure*, 1, 107-124.
- Warchalewski J.R., Gralik J., Nawrot J., 2000. Możliwości zmniejszania powodowanych przez szkodniki owadzie strat magazynowanego ziarna zbóż. *Post. Nauk Roln.*, 6, 85-96.
- Warchalewski J.R., Grundas S.T., Dolińska R., Gralik J., 2006. Wpływ promieniowania gamma ( $\gamma$ ) na niektóre właściwości fizyczne ziarna pszenicy w kolejnych pokoleniach. *Materiały konferencji p.t. „Procesy fizyczne w kształtowaniu środowiska i jakości surowców żywnościowych”*. Komitet Agrofizyki PAN, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, Oddział Lubelski PAN, Lublin 11-12 maja, 69-70.
- Warchalewski J.R., Prądzyska A., Gralik J., Nawrot J., 2000. The effect of gamma and microwave irradiation of wheat grain on development parameters of some stored grain pests. *Nahrung/Food*, 44, (6), 411-414.
- Yiu S.H., 1989. Cereal structure and its relationship to nutritional quality. *Food Microstructure*, 8, 99-113.

## MICROSCOPE ANALYSIS OF TWO GENERATIONS OF WHEAT GRAIN GROWN FROM GAMMA IRRADIATED SEEDS

*Jerzy Ryszard Warchalewski<sup>1</sup>, Romualda Dolińska<sup>1</sup>, Wioletta Błaszczak<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Department of Biochemistry and Food Analysis, August Cieszkowski Agricultural University  
ul. Mazowiecka 48, 60-623 Poznań

<sup>2</sup>Institute of Animal Reproduction and Food Research, Division of Food Science,  
Polish Academy of Science, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn  
e-mail: kbiaz@au.poznan.pl

**Abstract.** Significant reduction of grain damage by insect pests can be achieved by application of gamma irradiation of cereal grain before storage. This paper presents the indirect effect of gamma irradiation of wheat grain Begra variety on grain microstructure caused by selected radiation doses (0.05 kG and 0.1 kGy). Grain endosperm microstructure tested indirectly in two generations of grain crop was not affected by gamma rays used. However, smaller dimensions of external epidermal cells of kernels in both generations of wheat grain crop were noted.

**Keywords:** wheat grain, gamma irradiation, microscope analysis, succession generations