Z badań nad mechanizmem działania ultradźwięków na rośliny

II. Wpływ ultradźwięków na oddychanie kielków lnu (*Linum usitatissimum* L.)

Research on the mechanism of action of the ultrasonic energy on plants

*II. The influence of ultrasounds on the respiration of *Linum usitatissimum* sprouts*

B. HALICZ, M. GUBANSKI

Działanie ultradźwięków na wielkocząsteczkowe kompleksy związane ze strukturami komórkowymi i tkankowymi było już wielokrotnie przedmiotem badań (Elpiner 1960, 1961, Elpiner, Gerasimowa 1952, Elpiner, Surowa 1954 i in.). Z danych tych można wnosić, że ultradźwięki działając na żywe organizmy uszkodzają wybiórczo pewne mechanizmy komórkowe. Tak np. pod działaniem ultradźwięków zmniejsza się wirulentność pewnych bakterii, komórki drożdży tracą zdolność reprodukcji, a bakterie świecące zdolność świecenia (Gregg cyt. Uber 1950). W doświadczeniach własnych stwierdziliśmy obok innych skutków fizjologicznych zahamowanie aktywności β -glicerofosfatazy (Halicz, Maciejewska-Potapczykowa, Zaleska, 1964).

Celem niniejszej pracy było zastosowanie ultradźwięków w aspekcie ich działania wybiórczego w stosunku do pewnych układów enzymatycznych z jednoczesnym użyciem niektórych inhibitorów zasadniczych cykli oddechowych.

Zgodnie z danymi literatury i własnymi spostrzeżeniami ultradźwięki zależnie od ich energii i czasu działania mogą pobudzać albo hamować oddychanie. Założeniem naszym było stosowanie takiej dawki energii ultraakustycznej, której wynikiem byłoby hamowanie procesu oddychania.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem doświadczeń były kielki lnu (*Linum usitatissimum* L.). Nasiona kielkowano w ciągu 48 godzin w termostacie przy temp. 25°C na bibule filtracyjnej rozłożonej w szalkach Petriego. Do doświadczeń brano

kielki o długości około 1 cm i nadźwiękawiano je w generatorze o częstotl. 800 kHz i maksymalnej średniej intensywności powierzchniowej około 8 W/cm². Czas nadźwiękowania wynosił 5 min. Kontrolą były analogiczne próbki kielków, przetrzymywane w wodzie przez ten sam okres czasu.

Pomiary zużycia tlenu przez kielki wykonywano w aparacie Warburga. Jako pochłaniacz CO₂ służył 10% roztwór KOH w ilości 0,1 ml w każdym naczynku. Zanurzony w ługu skrawek bibuły zwiększał powierzchnię chłonięcia.

Kielki (w ilości 5) przenoszono do naczynek zawierających po 1 ml wody. Temperatura łaźni wynosiła 30°C, ilość wstrząsów 100/min. Pomiar rozpoczynano po upływie 30 min.; podczas tego okresu następowało wyrównanie temperatur i ustalenie prężności pary wewnątrz naczynek. Wskazania manometru odczytywano co 15 minut. Całość pomiaru trwała od 1,5 do 2,5 godz.

Każde doświadczenie składało się z 5 równoległych prób przeprowadzanych w oddzielnych naczynkach aparatu. Całość doświadczenia powtarzano kilkakrotnie w tych samych warunkach. Podane wyniki stanowią średnie wartości ze wszystkich równoległych pomiarów.

OPIS DOŚWIADCZEŃ*

Po wielokrotnych próbach mających na celu ustalenie dawki energii ultraakustycznej, która hamowałaby proces pobierania tlenu przez kielki lnu, przyjęto nadźwiękawianie materiału przez okres 5 min., przy intensywności powierzchniowej 4 W/cm². W tych warunkach oddychanie kielków lnu mierzone na podstawie pobierania tlenu hamowane było w granicach 20—60% w stosunku do kontroli (tabela 1). Wartość tych danych zmieniała się zależnie od czasu dzielącego pomiar od momentu nadźwiękowania: różnice w pobieraniu tlenu były niewielkie, gdy wykonywano pomiary tuż po nadźwiękowieniu, rosły w miarę upływu czasu trwania doświadczenia (tab. 1).

W dalszych doświadczeniach starano się rozstrzygnąć alternatywę: czy stwierdzone obniżenie oddychania jest wynikiem wybiórczego uszkodzenia pewnego ogniwa cyklu oddechowego, czy też wynikiem ogólnego, niszczącego działania na komórkę. W tym celu użyliśmy znanych inhibitorów o wybiórczym działaniu na pewne ogniwa cyklu oddechowego, kierując się następującym rozumowaniem: jeżeli ultradźwięki hamują wybiórczo pewne ogniwa oddechowe, wrażliwość na odpowiednie inhibitory kielków nadźwiękowionych winna ulec zmianie; i dalej, jeżeli

* W części doświadczałnej uczestniczył asystent techn. przy katedrze Ewolucjonizmu, mgr Jan S z y m a ń s k i.

wrażliwość kielków kontrolnych i nadźwiękowionych jest jednakowa, nie ulega zmianie po nadźwiękowieniu, hamowanie oddychania przez ultradźwięki nie jest wyrazem inhibicji wybiórczej.

T a b e l a 1 - T a b l e 1

Wpływ ultradźwięków na pobieranie tlenu przez kielki lnu

The influence of ultrasonic energy on oxygen consumption of *Linum usitatissimum* sprouts

ml O ₂ /1 godz./5 kielków - ml/hr/5 sprouts			
Nr doświadczenia No. of experiment	Kielki kontrolne Control sprouts	Kielki nadźwiękowane Ultrasonicated sprouts	% hamowania oddychania Inhibition of respiration (%)
1	110,3	58,1	47,0
2	84,0	67,1	20,2
7	109,0	44,8	57,0

Z danych w tabeli 2 oraz wykresów widać, że wrażliwość cyklu oddechowego na inhibitory po nadźwiękowieniu jest obniżona, procent hamowania oddychania przez inhibitory jest znacznie mniejszy aniżeli w kontroli (ryc. 1).

Szczególnie interesujący jest wynik dotyczący azydku sodu. Trucizna ta przy stęż. 10^{-3} M hamuje oddychanie kielków kontrolnych w 25%, natomiast zupełnie nie wpływa na kielki doświadczalne.

T a b e l a 2 - T a b l e 2

Wpływ inhibitorów na oddychanie kielków lnu poddanych działaniu ultradźwięków

The influence of some inhibitors on oxygen consumption of *Linum usitatissimum* sprouts treated by ultrasons

Inhibitor	Stężenie inhibitora Concentration of inhibitor	Kielki Sprouts	% hamowania oddychania Inhibition of respiration (%)
Na ₃ N	$1 \cdot 10^{-3}$ M	kontrolne nadźwiękowane control ultrason.	25,0 0
NaF	1/15 M	kontrolne nadźwiękowane control ultrason.	51,0 18,0
Malonian sodu	1/15 M	kontrolne nadźwiękowane control ultrason.	41,0 32,0

Wyniki te zdaniem naszym w dużej mierze przemawiają za wybiórczym działaniem ultradźwięków (w przyjętych przez nas warunkach) na pewne ogniwa cyklu oddechowego kiełków lnu.

Ryc. 1. Wpływ inhibitorów na oddychanie kiełków lnu poddanych działaniu ultradźwięków

Poszczególne punkty odpowiadają ilości O_2 pobieranego przez 5 kiełków w czasie 15 minut. Strzałka oznacza moment przelania inhibitora ze zbiornika bocznego do naczynka. 1 — kontrola (control); 2 — kiełki nadźwiękowane (ultrasonicated sprouts).

The influence of some inhibitors on oxygen consumption of *Linum usitatissimum* sprouts treated by ultrasounds.

The points indicate the amount of O_2 uptake per 5 sprouts in 15 mins. The arrow indicates the moment of the addition of the inhibitor from the lateral container.

DYSKUSJA

Przedstawione wyżej doświadczenia wskazują, że pod wpływem ultradźwięków obniża się oddychanie w kielkach lnu, maleje wrażliwość na inhibitory (fluorek sodu malonian sodu) oraz znika zupełnie wrażliwość na azydek sodu. Tak więc doświadczenia te przemawiają za wybiórczą inaktywacją pewnych enzymów przez ultradźwięki. Wyłania się przeto pytanie, jakie ogniwo enzymatyczne ulega inaktywacji pod działaniem ultradźwięków. Najprawdopodobniej jest nim enzym (enzymy) wrażliwy na azydek sodu, bowiem kielki lnu po nadźwiękowieniu stają się niewrażliwe na ten inhibitor. Jeżeli enzymy te są sprzężone z cyklem glikolitycznym i Krebsa, zniszczenie ich spowoduje obniżenie sprawności glikolizy, jak i cyklu Krebsa. Obniżenie sprawności tych procesów w kielkach nadźwiękowionych stwierdzone podczas doświadczenia jest zjawiskiem wtórnym, następstwem zniszczenia enzymów niezbędnych do funkcjonowania glikolizy i cyklu Krebsa.

Doświadczenia nasze nie dają odpowiedzi na pytanie, jakie to są enzymy, pozwalają jedynie snuć domysły. Wiadomo, że azydek sodu hamuje fosforylację oksydacyjną oraz aktywność cytochromoksydazy i fosfatazy. Wydaje się, że inaktywacja chociażby jednego z tych ogniw jest wystarczająca dla wytłumaczenia wyników naszych doświadczeń.

Celem dalszych badań będzie sprawdzenie powyższej hipotezy.

STRESZCZENIE

W aparacie Warburga badano pobieranie tlenu przez kielki lnu (*Linum usitatissimum* L.) poddane działaniu ultradźwięków (5 min., 4 W/sm²) i kielki kontrolne w obecności lub nieobecności inhibitorów (azydek sodu, fluorek sodu, malonian sodu).

Na podstawie uzyskanych wyników wysunięto przypuszczenie, że w danych warunkach doświadczalnych nastąpiła inaktywacja enzymów wrażliwych na azydek sodu).

Katedra Ewolucjonizmu
i Katedra Fizjologii Roślin
Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 14.8.1963 r.)

SUMMARY

Oxygen consumption in *Linum usitatissimum* sprouts treated by ultrasounds in the presence or absence of inhibitors (sodium azide, sodium fluoride and sodium malonate) was examined by means of the Warburg technique.

From the results obtained it can be suggested that the inactivation of enzymes sensitive to sodium azide took place under given conditions of the experiment.

LITERATURA

- Elpiner J. E., 1960, Fizikochemičeskie i strukturnyje osnovy biologičeskich jawlenij, Izdat. AN SSSR.
- Elpiner J. E., 1961, Ultrazwukowyje wołny i niekotoryje woprosy sowremennoj biologiji, Izw. AN SSSR, ser. biol. 3, 412.
- Elpiner J. E., Gerasimowa A. W., 1952, Diejstwije ultrazwukowych wołn na depolimierazu dezoksiribonukleinowej kisłoty, D. AN SSSR 86:797.
- Elpiner J. E., Surowa M. D., 1954, Uskorieńije procesow raspada białka w pole ultrazwukowych wołn, D. AN SSSR 99:243.
- Halicz B., Maciejewska-Potapczykowa W., Zaleska K., 1964, Z badań nad mechanizmem działania ultradźwięków, Cz. I. Wpływ ultradźwięków na wczesne fazy kiełkowania, zawartość związków fosforu i aktywność β -glicerofosfatazy u niektórych roślin, Acta Soc. Bot. Pol. 33 (2): 285.
- Uber F., 1950 (red.), Biophysical Research Methods, rozdz. IX (przekład rosyjski).