

Maciej Sarnek  
Przemysław Szopa  
Jacek Czerniak  
Andrzej Gajewski

# Wpływ promieniowania gamma na kondycję roślin zimozielonych na przykładzie żywotnika zachodniego (*Thuja occidentalis*)

## Streszczenie

W artykule poruszono kwestię przydatności żywotnika zachodniego (*Thuja occidentalis*) jako biowskaźnika w przypadku skażenia spowodowanego izotopami promieniotwórczymi, w szczególności izotopami gamma promieniotwórczymi. W tym celu rośliny poddano ekspozycji na promieniowanie emitowane przez izotop sodu  $^{22}\text{Na}$ , a po ekspozycji przeprowadzono analizę emisji fluorescencji pochodzącej od wzbudzenia chlorofilu całkowitego w zależności od czasu narażenia roślin na to promieniowanie. Analizę przeprowadzono metodą spektrofluorymetryczną. Stwierdzono, że w wyniku narażenia badanej rośliny na promieniowanie gamma następuje zmniejszenie chlorofilu całkowitego,

Maciej Sarnek, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Katedra Metrologii i Analizy Instrumentalnej, e-mail: sarnekm@uek.krakow.pl

Przemysław Szopa, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Katedra Metrologii i Analizy Instrumentalnej, e-mail: szopap@uek.krakow.pl

Jacek Czerniak, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Katedra Metrologii i Analizy Instrumentalnej, e-mail: czerniaj@uek.krakow.pl

Andrzej Gajewski, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Katedra Metrologii i Analizy Instrumentalnej, e-mail: gajewski@uek.krakow.pl

a co za tym idzie, żywotnik zachodni może być traktowany jako biowskaźnik w przypadku skażenia środowiska izotopami gamma promieniotwórczymi.

**Słowa kluczowe:** promieniowanie gamma, chlorofil, fluorescencja, rośliny zimozielone.

**Klasyfikacja JEL:** Q53.

## 1. Wprowadzenie

Promieniowanie elektromagnetyczne to rozchodzące się w przestrzeni zaburzenie pola elektromagnetycznego. Składowe pochodzące od pola elektrycznego i magnetycznego wzajemnie się indukują. Nośnikiem oddziaływania elektromagnetycznego z punktu widzenia mechaniki kwantowej i teorii modelu standardowego jest kwant energii nieposiadający ładunku elektrycznego oraz momentu magnetycznego o masie spoczynkowej równej zero wykazujący dualizm korpuskularno-falowy. W zależności od energii tych kwantów promieniowanie, na które się składają, zmienia swoje własności. Im wyższa energia, tym promieniowanie z biologicznego punktu widzenia jest bardziej szkodliwe.

Biologicznymi skutkami takiego promieniowania jest jonizacja i wzbudzenie atomów w żywych komórkach [Siemiński 1994]. Powstają wówczas bardzo aktywne chemicznie rodniki, jony lub zjonizowane grupy atomów, które istotnie wpływają na przebieg procesów chemicznych zachodzących w żywej komórce. Pewne składniki komórek są zmieniane lub uszkodzane, a uszkodzone produkty działają toksycznie.

Celem przeprowadzonych badań było wykazanie, w jakim stopniu wysokoenergetyczne promieniowanie gamma może wpływać niekorzystnie na żywe komórki w roślinach zimozielonych, oraz sprawdzenie, czy *Thuja occidentalis* może służyć jako biowskaźnik w przypadku skażenia środowiska izotopami gamma promieniotwórczymi.

## 2. Przedmiot i metodyka badań

Badaniom poddano gałązki żywotnika zachodniego (fot. 1), rośliny należącej do rodziny cyprysowatych. Jest to gatunek rosnący na terenach nizinnych w klimacie chłodnym i wilgotnym. Ze względu na niewysokie wymagania i dużą żywotność krzew ten jest bardzo popularny w Polsce i należy do najczęściej sadzonych roślin w ogrodach.

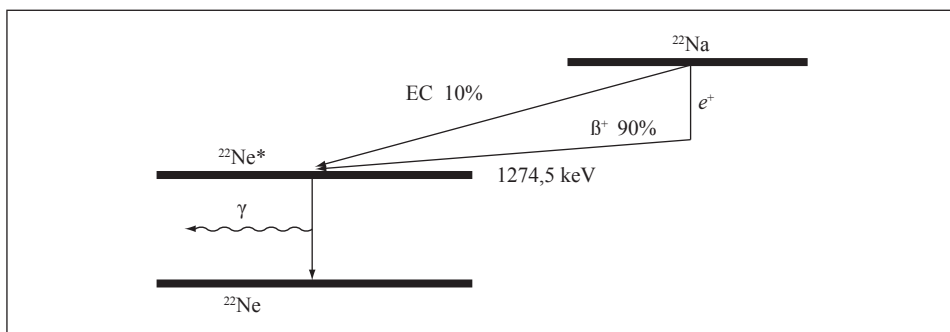
Próbki *Thuja occidentalis* przeznaczone do badań pobrano w okresie letnim z terenów oddalonych od zabudowań w okolicy Jeziora Dobczyckiego. Badanie przeprowadzono w dwóch etapach. Pierwszy etap eksperymentu polegał na ekspozycji gałązek żywotnika zachodniego w polu promieniowania gamma,

w drugim etapie zmierzono widmo emisji fluorescencji całkowitego chlorofilu zawartego w gałązkach.



Fot. 1. Gałązki żywotnika zachodniego (*Thuja occidentalis*)  
(fot. J. Czerniak)

W badaniu wykorzystano radioaktywny izotop sodu  $^{22}\text{Na}$  o czasie połowicznego rozpadu 2,62 roku, w którym na skutek oddziaływań słabych w niestabilnym jądrze następuje przemiana protonu w neutron i w konsekwencji emisja pozytonu (rozpad  $\beta^+$ ). W wyniku oddziaływań pozytonów z elektronami w powietrzu ulegają one anihilacji. Oznacza to, że para pozyton–elektron zostaje zamieniona na wysokoenergetyczną parę kwantów gamma unoszącą energię 1022 keV. Schemat rozpadu izotopu sodu  $^{22}\text{Na}$  został przedstawiony na rys. 1. Maksymalna energia pozytonów emitowanych z jądra w głównym kanale rozpadu wynosi 545 keV [MacKenzie 1983]. Dodatkowo izotop ten, emitując pozyton, przekształca się w wzbudzone jądro neonu  $^{22}\text{Ne}^*$ , które emituje jeszcze jeden kwant gamma o energii 1274,5 keV w procesie deekscytacji [National Nuclear Data Center 2015].

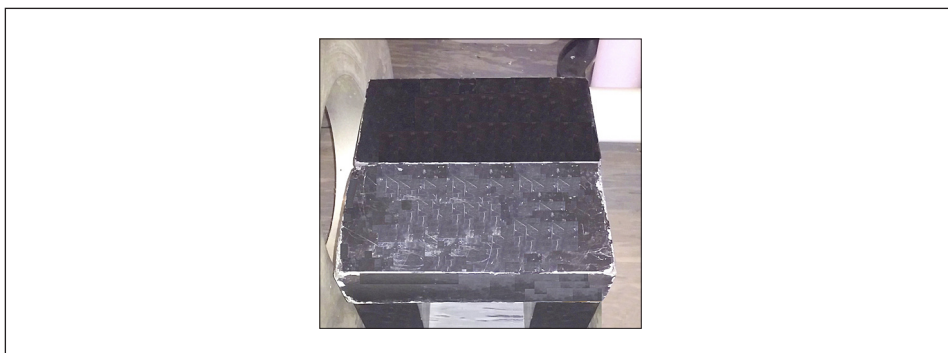


Rys. 1. Schemat rozpadu izotopu  $^{22}\text{Na}$

Źródło: opracowanie własne.

Pozyton emitowany w rozpadzie  $\beta^+$  ma ciągłe widmo energii. Anihilacja pary pozyton–elektron zachodzi prawie wyłącznie z emisją dwóch kwantów gamma. Nieparzysta liczba fotonów pojawia się, gdy spiny anihilujących ze sobą cząstek są do siebie równoległe, ale anihilacje trój- i więcej kwantowe występują bardzo rzadko ze względu na niewielkie przekroje czynne względem anihilacji dwukwantowej.

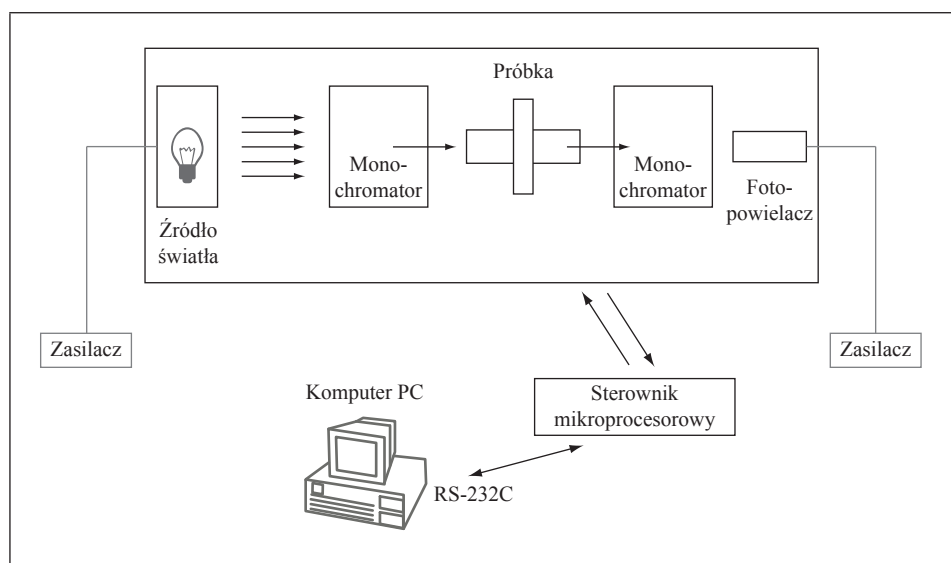
W celu przeprowadzenia eksperymentu zbudowano komorę ołowianą (fot. 2) o wymiarach  $25 \times 25 \times 15 \text{ cm}^3$  i grubości ścian 5 cm, aby zapewnić osłonę przed promieniowaniem gamma. Wewnątrz komory umieszczono radioaktywne źródło  $^{22}\text{Na}$ , które było zamknięte w folii kaptonowej w postaci kryształków  $^{22}\text{NaCl}$  o aktywności  $115 \mu\text{Ci}$  (aktywność zmierzona podczas pomiarów), co jest równoważne aktywności  $4,255 \text{ MBq}$  w układzie SI. Oznacza to, że rozpad jąder promieniotwórczych, które są źródłem pozytonów, a w konsekwencji kwantów gamma, następuje z szybkością ponad 4 mln wypromieniowań na sekundę. Poprzez rozsuwającą się górną część do komory wprowadzono 9 gałązek żywotnika zachodniego. Zostały one poddane ekspozycji na promieniowanie gamma od 10 do 90 min.



Fot. 2. Rozsuwana komora ołowiana z umieszczonym wewnątrz emitерem promieniowania  $\beta^+$   
(fot. M. Sarnek)

Po ekspozycji próbek żywotnika zachodniego na promieniowanie gamma inkubowano je przez 48 godzin w ciemności, co umożliwiło otwarcie pułapek energetycznych absorbujących promieniowanie powodujące zjawisko fluorescencji [Moran i Porath 1980]. Przygotowano po 3 g suchej masy roślinnej z każdej próbki, a następnie zalano roztworem acetonu, który jest dobrym rozpuszczalnikiem dla związków niepolarnych, jakimi są barwniki fotosyntetyczne, np. chlorofil [Bruinsma 1961]. Po dokładnym rozdrobieniu roślin otrzymane ekstrakty przesączono przez sączek do zlewek i tak przygotowane próbki rozcieńczono 5-krotnie w celu eliminacji efektu wygaszania fluorescencji. Po rozcieńczeniu

zmierzono odczyn próbek, który kształtował się w granicach 5,5–6,0 pH. Następnie próbki wkładano kolejno do spektrofluorymetru, którego schemat przedstawiono na rys. 2, i dokonano pomiarów widma emisji fluorescencji chlorofilu w zakresie 500–750 nm przy fali wzbudzenia 420–430 nm. Pomiarów przeprowadzono w tym samym zakresie dla wszystkich otrzymanych próbek. Taką samą preparatykę zastosowano dla gałązek, które leżakowały 3 tygodnie. Analiza parametrów fluorescencji chlorofilu całkowitego pozwoliła na ocenę zawartości chlorofilu, a tym samym określenie faktycznego stanu roślin.



Rys. 2. Schemat budowy spektrofluorymetru modułowego

Źródło: opracowanie własne.

Natężenie fluorescencji związane jest z ilością molekuł chlorofilu będących aktualnie w stanie wzbudzonym o tzw. zamkniętych pułapkach energetycznych, niezdolnych do przyjmowania elektronów. Im większa ich liczba, tym silniejsza fluorescencja. Zjawisko to odzwierciedla ilość chlorofilu zawartego w tkance liścia.

Fotosynteza, jako biochemiczny proces wytwarzania związków organicznych z materii nieorganicznej zachodzący w komórkach zawierających chlorofil, należy do procesów najbardziej czułych na zmienność środowiska. W badanym przypadku czynnikiem zewnętrznym było promieniowanie gamma dla próbek badanych zaraz po ekspozycji, a także dodatkowo brak dostępu światła i wody w przypadku próbek, których badanie wykonano po 3 tygodniach.

Niektórzy autorzy poruszają w swoich pracach tematykę dotyczącą mechanizmów tzw. szkód utajonych, które skutkują obniżeniem intensywności

fotosyntezy, trudnych do wykrycia ze względu na brak widocznych gołym okiem objawów na roślinach [Oleksyn 1989]. Hamowanie procesu fotosyntezy powodowane uszkodzeniami związane jest z utrudnieniem procesu karboksylacji w roślinach [Karolewski 1989].

### 3. Dyskusja wyników

Po przeprowadzeniu badań wyznaczono zawartość chlorofilu całkowitego w próbkach poddanych długotrwałej ekspozycji na promieniowanie gamma względem próbki nieekspozowanej w polu promieniowania. Analiza otrzymanych wyników wykazała, że zawartość całkowitego chlorofilu w napromieniowanych próbkach roślin znacznie się zmniejszyła w stosunku do próbki referencyjnej. Obniżenie natężenia fluorescencji pochodzącej od chlorofilu można wiązać z destrukcyjnym działaniem promieniowania gamma na pigmenty roślinne, co bezpośrednio wpłynęło na możliwości fotosyntetyczne badanych roślin. Wysoka energia promieniowania gamma zaburzyła proces fotosyntezy roślin w fotoukładach PSII i PSI, prowadząc do obniżonej zdolności absorbowania energii bezpośrednio odpowiedzialnych za efektywne przeprowadzanie fotosyntezy. Otrzymane wyniki znajdują potwierdzenie w innych pracach, m.in. [Ling i in. 2008, El-Mouhty i in. 2014], w których wskazuje się na silny spadek zawartości chlorofilu całkowitego w innych roślinach poddanych działaniu promieniowania gamma.

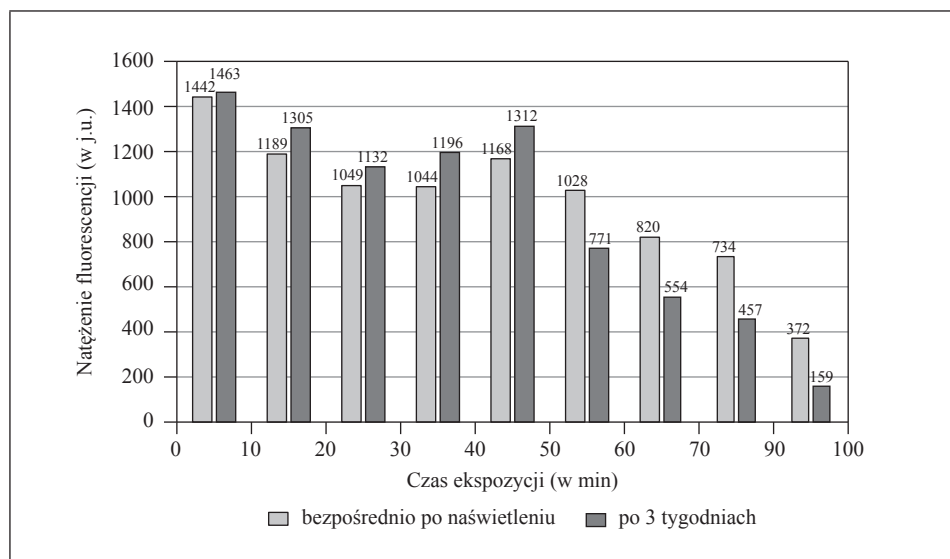
Tabela 1. Wartości natężenia fluorescencji w jednostkach umownych dla różnych czasów ekspozycji próbek na promieniowanie gamma bezpośrednio po ekspozycji oraz po 3 tygodniach

Natężenie fluorescencji chlorofilu całkowitego	Czas ekspozycji (w min)								
	0	10	20	30	40	50	60	70	90
Bezpośrednio po ekspozycji (w j.u.)	1442 ±14	1189 ±4,5	1049 ±2	1044 ±17	1168 ±4,5	1028 ±2	820 ±2	734 ±2,5	372 ±2
Po 3 tygodniach (w j.u.)	1463 ±23	1305 ±24	1132 ±27	1196 ±25	1312 ±6	771 ±22	554 ±11	457 ±15	159 ±6

Źródło: opracowania własne.

Jak zaznaczono wcześniej, próbki były badane dwukrotnie – zaraz po ekspozycji na promieniowanie jonizujące oraz po 3 tygodniach. Wartości natężenia fluorescencji zarejestrowanych podczas pomiarów spektrofлуorymetrem zestawiono

w tabeli 1. Próbkę ekspozycyjną przez 80 min została usunięta ze względu na jej uszkodzenie podczas przygotowywania do pomiarów fluorymetrycznych.



Rys. 3. Graficzna prezentacja wyników badań zależności natężenia fluorescencji od czasu ekspozycji na promieniowanie gamma bezpośrednio po ekspozycji i po 3 tygodniach leżakowania próbek

Źródło: opracowanie własne.

Na rys. 3 przedstawiono wyniki badań zależności natężenia fluorescencji od czasu ekspozycji na promieniowanie gamma bezpośrednio po ekspozycji i po 3 tygodniach leżakowania próbek. Zaobserwowano zmniejszenie się wartości natężenia fluorescencji chlorofilu całkowitego w przypadku narażenia roślin na promieniowanie gamma trwające więcej niż 40 min niezależnie od tego, czy próbki zostały poddane badaniu bezpośrednio po ekspozycji, czy po 3 tygodniach. Można zatem przypuszczać, że promieniowanie gamma wpływa destruktywnie na cząsteczki chlorofilu. W przedziale od 10 do 40 min można zauważyć, że wartość natężenia fluorescencji nie zmienia się znacząco, obserwowany jest jednak nieznaczny wzrost natężenia w szczególności w przypadku próbek, które leżakowały przez 3 tygodnie, w porównaniu z próbkami, których natężenie zmierzono bezpośrednio po ekspozycji.

## 4. Podsumowanie

Zaprezentowane w niniejszym artykule badania miały na celu sprawdzenie, czy żywotnik zachodni może służyć jako biowskaźnik w przypadku skażenia środowiska izotopami emitującymi promieniowanie gamma.

W wyniku przeprowadzonych badań przedstawiono zależność pomiędzy natężeniem fluorescencji a czasem ekspozycji próbek żywotnika zachodniego na promieniowanie gamma. Zauważono, że promieniowanie to w zależności od czasu naświetlania może mieć zarówno neutralny wpływ na rośliny, jak i poprawić ich wydajność fotosyntetyczną. Zwiększenie wydajności fotosyntetycznej jest zauważalne, gdy czas ekspozycji wynosi od 10 do 40 min, na co wskazują w swoich badaniach także inni autorzy [Fan i in. 2014, Marcu i in. 2013]. Przymuszczenie dochodzi wówczas do skracania odległości w łańcuchach tworzących cząsteczki chlorofilu na poziomie czwartorzędowym, w konsekwencji czego elektronom łatwiej jest pokonywać przerwę energetyczną. W przypadku próbek badanych po 3 tygodniach możemy również stwierdzić, że pomimo narażenia gałązek na stres w postaci braku światła czy wody, wykazują one dla tych czasów ekspozycji zwiększoną wartość natężenia fluorescencji, co może być związane ze zmianą ekspresji genu odpowiedzialnego za produkcję chlorofilu. Z kolei dłuższy czas ekspozycji gałązek żywotnika zachodniego na promieniowanie gamma, tj. powyżej 40 min, powoduje, że pomimo braku widocznych gołym okiem zmian w wyglądzie rośliny, w wyniku promieniowania następuje zmniejszenie się udziału nieuszkodzonych molekuł chlorofilu.

Przeprowadzone badania wskazują, że żywotnik zachodni może stanowić biowskaźnik w przypadku zanieczyszczeń izotopami radioaktywnymi, w szczególności izotopami gamma promieniotwórczymi.

Obrazowanie fluorescencyjne chlorofilu pokazuje, że wydajność fotosyntezy w liściach łuskowatych jest bardzo zróżnicowana. Technika ta ma wiele zalet, dzięki którym może stanowić cenne narzędzie do wykrywania zmian strukturalnych, zanim pojawią się ich objawy widoczne dla ludzkiego oka. Chlorofile są związkami nietrwałymi. Charakterystyczną zieloną barwę zachowują tylko w żywych nieuszkodzonych tkankach.

## Literatura

- Bruinsma J. [1961], *A Comment on the Spectrophotometric Determination of Chlorophyll*, „Biochemica et Biophysica Acta”, vol. 52, nr 3, [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(61\)90418-8](https://doi.org/10.1016/0006-3002(61)90418-8).
- El-Mouhty N.R.A., Gad H.M.N., El-Naggar A.Y., Hassan R.F., Abdel Latif N.A. [2014], *Effect of Gamma Radiation on the Structure and Concentration Analysis of Chloro-*



- phyll and Carotene of Coriander Seeds*, „International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology”, vol. 3, nr 1.
- Fan J., Shi M., Jian-Zhong H., Xu J., Zhi-Dan W., De-Ping G. [2014], *Regulation of Photosynthetic Performance and Antioxidant Capacity by  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -irradiation in *Zizania Latifolia* Plants*, „Journal of Environmental Radioactivity”, vol. 129, <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2013.11.013>.
- Karolewski P. [1989], *Oddziaływanie zanieczyszczeń przemysłowych na procesy fizjologiczne i metabolizm roślin* [w:] *Życie drzew w skażonym środowisku*, red. S. Białobok, Instytut Dendrologii PAN, PWN, Warszawa–Poznań.
- Ling A.P.K., Chia J.Y., Hussein S., Harun A.R. [2008], *Physiological Responses of Citrus Sinesis to Gamma Irradiation*, „World Applied Sciences Journal”, vol. 5, nr 1.
- MacKenzie I.K. [1983], *Experimental Methods of Annihilation Time and Energy Spectroscopy*, Positron Solid-State Physics, Amsterdam–New York–Oxford.
- Marcu D., Cristea V., Daraban L. [2013], *Dose-dependent Effect of Gamma Radiation on Lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata*) Seedlings*, „International Journal of Radiation Biology”, vol. 89, nr 3, <https://doi.org/10.3109/09553002.2013.734946>.
- Moran R., Porath D. [1980], *Chlorophyll Determination in Intact Tissues Using N,N-Dimethylformamide*, „Plant Physiology”, vol. 65, nr 3, <https://doi.org/10.1104/pp.65.3.478>.
- National Nuclear Data Center [2015], Brookhaven National Laboratory, Chart of Nuclides, <http://www.nndc.bnl.gov/> (data dostępu: 11.11.2015).
- Oleksyn J. [1989], *Wymiana gazowa i gospodarka wodna* [w:] *Klony. Nasze drzewa leśne*, Monografie Popularnonaukowe, red. W. Bugała, Instytut Dendrologii PAN, Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań–Kórnik.
- Siemiński M. [1994], *Fizyka zagrożeń środowiska*, PWN, Warszawa.

## The Influence of Gamma Radiation on the Condition of Evergreen Plants in the Case of *Thuja occidentalis*

(Abstract)

The article examines the suitability of the American Arborvitae (*Thuja occidentalis*) as a biomarker in cases of chlorophyll contamination caused by gamma radiation. Prior to the analysis, the samples were irradiated by isotope  $^{22}\text{Na}$ . Following exposure, the samples were analysed with spectrofluorescence, during which fluorescence emission comes from the excitation of chlorophyll. Our results showed that gamma irradiation leads to a reduction in the chlorophyll content. Therefore *Thuja occidentalis* can be treated as a biomarker for gamma radiation.

**Keywords:** gamma radiation, chlorophyll, fluorescence, evergreen plants.