

KWASY RYBONUKLEINOWE W ZARODKACH PSZENICY I ZYTA PODCZAS  
PRZYSPIESZONEGO STARZENIA SIĘ ZIARNA

Krzysztof Kulka, Kazimierz Wiśniewski, Stanisław Weidner

Instytut Biologii Roślin AR-T w Olsztynie

Niska zawartość wody w ziarnie zbóż jest jednym z głównych czynników decydujących o długości ich życia [10, 14]. Przechowywanie ziarna, w którym zawartość wody przekracza tzw. wilgotność kondycjonalną, prowadzi do stopniowego narastania zmian destrukcyjnych w tkankach merystematycznych zarodka i do jego zamierania [8, 9, 25].

Proces starzenia się ziarna (nasion) objawia się często zamieraniem niektórych tkanek zarodka i pojawieniem się nekroz. Maleje wówczas energia kiełkowania i siła wzrostowa kiełkującego ziarna, a później zmniejsza się także zdolność kiełkowania.

Przyjmuje się, że rozpoczęcie kiełkowania przez ziarno jest głównie wynikiem elongacji komórek zarodka. Zdaniem Villiersa i Edgcumbe'a [23], niezdolność komórek korzenia zarodkowego do wydłużania podczas pęcznienia martwych nasion jest następstwem uszkodzenia systemu cytomembran. W miarę starzenia się nasion coraz większa liczba komórek embrionalnych zarodka traci stopniowo swój potencjał mitotyczny [16]. Wydaje się, że bezpośrednią przyczyną utraty zdolności komórek zarodka do podziałów są zmiany degeneracyjne zachodzące głównie w obrębie jądra komórkowego [23].

Wysunięto więc pogląd, zgodnie z którym proces starzenia się nasion jest spowodowany dwiema różnymi, lecz wiążącymi się z sobą funkcjonalnie przyczynami: destrukcją układu cytomembran oraz inaktywacją enzymów i uszkodzeniem genomu [8-10, 17-19, 23].

W nasionach (i ziarnie) przechowywanych w niesprzyjających warunkach środowiska (np. duża wilgotność powietrza) zachodzą proce-

---

\* Praca wykonana w ramach problemu PAN Nr II/7 - 3.1.2, koordynowanego przez Zakład Fizjologii Roślin PAN w Krakowie.

sy dysymilacyjne, prowadzące prawdopodobnie do nagromadzenia się w nich szkodliwych substancji: mykotoksyn, inhibitorów, wolnych rodników itp. [10, 11, 13, 17]. Wymienione substancje mogą nieodwracalnie uszkadzać właściwości genetyczne DNA, funkcje biochemiczne niektórych elementów układu biosyntezy białka oraz powodować inaktywację wielu enzymów.

Obraz procesów degeneracyjnych zachodzących w starzejących się ziarniakach (oraz nasionach) przejawia się najwyraźniej podczas ich pęcznienia i kiełkowania [1, 2, 9, 12, 13, 17-19, 25].

Do chwili obecnej dość dobrze poznano biologię starzenia się nasion i ziarna, natomiast biochemiczny aspekt tego zjawiska został zbadany w niewielkim stopniu. W piśmiennictwie naukowym brak jest dokładniejszych danych dotyczących zmian w obrębie kwasów rybonukleinowych, zachodzących podczas starzenia się ziarniaków zbóż.

Praca niniejsza ma na celu zbadanie biosyntezy oraz zmian ilościowych frakcji kwasów rybonukleinowych w zarodkach ziarna pszenicy i żyta, przechowywanych w warunkach przyspieszonego starzenia się.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badania obejmowały ziarno pszenicy (odmiany Grana) i żyta (odmiany Pancerne). Ziarno otrzymano z Rolniczego Zakładu Doświadczalnego AR-T w Olsztynie, a jego zbiór przeprowadzono w 1975 r.

Ziarno obu gatunków zawierające 13,7% (pszenica) i 14% (żyto) wody o stosunkowo wysokich wskaźnikach żywotności (wyjściowa zdolność kiełkowania: 93-95%) podzielono na trzy partie.

Pierwszą partię stanowiło ziarno przeznaczone do analizy RNA bezpośrednio po zbiorze. Dwie pozostałe partie ziarna umieszczono na okres 24 miesięcy (w temp. ok. 20°C) w pojemnikach hermetycznie zamkniętych (tzw. higrostatach) o wilgotności względnej powietrza wynoszącej 25-30% i 80-85%. Ziarno przechowywane w higrostatach o dużej wilgotności powietrza szybko traciło zdolność kiełkowania. Frakcjonowanie RNA wykonano na pęczniejących i kiełkujących ziarniakach o zróżnicowanej żywotności.

#### WARUNKI PĘCZNIENIA I KIEŁKOWANIA ZIARNA

Nasiona przed kiełkowaniem przemywano zimną wodą wodociągową i umieszczano w 2% roztworze podchlorynu sodu na okres trzech mi-

nut. Następnie próby ziarna przemywano dokładnie zimną (redystylowaną), sterylną wodą.

Zdolność kiełkowania ziarna oraz zawartość w nim wody określano według metodyki opisanej przez Dorywalskiego i in. [5]. Pęcznienie (preimbibicja; 6 godz. 2°C) i kiełkowanie (48 godz. 21°C) ziarna przeznaczonego do izolacji i frakcjonowania ogólnego RNA przeprowadzono w szalkach Petriego, na wilgotnej bibule filtracyjnej, w ciemności, w stałych warunkach temperatury i wilgotności. Po wymienionym okresie preimbibicji lub kiełkowania ziarna od białka oddzielano zarodki, w których określano poziom poszczególnych frakcji RNA.

Równocześnie przeprowadzono kiełkowanie ziarna o różnej żywotności w obecności znakowanej urydyny. W tym celu wyjałowione ziarno (po 200 sztuk) umieszczano w sterylnych szalkach Petriego, dodając 10 ml zimnego roztworu [5 - <sup>3</sup>H] urydyny o aktywności właściwej 0,005 mCi/ml.

Po sześciogodzinnej preimbibicji w temp. 2°C ziarno przemywano roztworem 0,05 M nieznakowanej urydyny w celu usunięcia nadmiaru izotopu. Następnie ziarno umieszczano w sterylnych szalkach Petriego i kiełkowano w ciągu 24 godzin w temperaturze 21°C w stałych warunkach wilgotności, w ciemności. Omawiane doświadczenia przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

#### ANALIZA KWASÓW RYBONUKLEINOWYCH

Izolowanie RNA. Ekstrakcję RNA przeprowadzono według metody Tanifuji i in. [20]. Zarodki homogenizowano przez 10 min w miedzianym dzierzu porcelanowym w lodzie z 0,02 M buforem tris-HCl (pH-7,4) zawierającym: 0,1 M NaCl, 1% bentonit, 2% SDS i 10 µg/ml siarczanu poliwinylu (tzw. bufor A). Do otrzymanego homogenatu dodawano następnie równą objętość mieszaniny: m-krezol-fenol-woda (10:70:20, 0/0/0) oraz 8-hydroksychinolinę do końcowego stężenia 0,1%. Zawiesinę wytrząsano w ciągu 10 min na wytrząsarce Universal Shaker typ 327, po czym wirowano przy 5000 g w ciągu 10 min. Po wirowaniu warstwę wodną zbierano, a pozostałość (warstwę pośrednią, fenolową i osad) ekstrahowano ponownie mieszaniną składającą się z buforu A i chloroformu (1:1; 0/0) w temp. 65°C w ciągu 3 min [24]. Po szybkim ochłodzeniu zawartość probówek wirowano. Następnie połączone warstwy wodne (otrzymane w wyniku ekstrakcji chłod-

nej i gorącej) odbiałczano mieszaniną fenolu i chloroformu (1:1, 0/0) oraz chloroformu i alkoholu izoamylowego (20:1, 0/0). Do roztworu oczyszczonych kwasów rybonukleinowych dodawano następnie octanu sodu do stężenia 0,2 M, które wytrącano 2,5 objętościami 96% etanolu. Cały proces ekstrakcji i oczyszczania RNA przeprowadzano w chłodni w temp. 0-4°C.

Fracjonowanie RNA. Oczyszczony preparat RNA (stosunek  $\frac{E_{280}}{E_{260}} < 0,5$ ) rozpuszczano w 2-3 ml 0,025 M buforu Tris-HCl (pH 7,4) zawierającego 0,05 M NaCl oraz 0,005 M EDTA. Następnie roztwór RNA wirowano w 5-20% gradiencie stężeń sacharozy. Liniowy gradient gęstości sacharozy przyrządzano na wyżej wymienionym buforze Tris-HCl za pomocą automatycznego urządzenia (Gradient Former, model-570, firmy ISCO-USA). W celu przeprowadzenia sedymentacji 1 mg RNA (w obj. 1 ml buforu) nanoszono ostrożnie na powierzchnię gradientu roztworu sacharozy. Próby wirowano w ciągu 6 godz. w temp. 4°C przy 196 000 g w ultrawirówce firmy Beckman (model  $\alpha$ -3-40) z rotorem SW - 41. Po zakończeniu wirowania zawartość probówek (13 ml) dzielono na około 40 frakcji i mierzono ich ekstynkcję (przy 260 nm) oraz radioaktywność. Pomiar radioaktywności wykonywano za pomocą licznika (Intertechnique - S $\alpha$ -40) scyntylicyjnego, dodając do 1 ml próby 10 ml trititolu jako scyntylatora o wydajności dla  $^3\text{H}$ -47% [21].

Procentowe stężenie RNA w roztworze obliczono z pomiarów ekstynkcji, stosując współczynnik ustalony doświadczalnie dla niezdegradowanego RNA:

$$E \frac{1 \text{ cm, } 1 \text{ mg/1 ml}}{260 \text{ nm}} = 22$$

Do wyznaczenia wspomnianego współczynnika używano wysokospolimeryzowanego RNA z drożdży.

## WYNIKI I DYSKUSJA

### Kiełkowanie ziarna o różnej żywotności

Po upływie trzech miesięcy przechowywania w pojemnikach hermetycznie zamkniętych ziarniaki obu gatunków zbóż osiągnęły stan wilgotności równoważnej (tab. 1). W pojemniku o niskiej wilgotności powietrza (25-30%) zawartość wody w ziarnie pszenicy obniżyła się

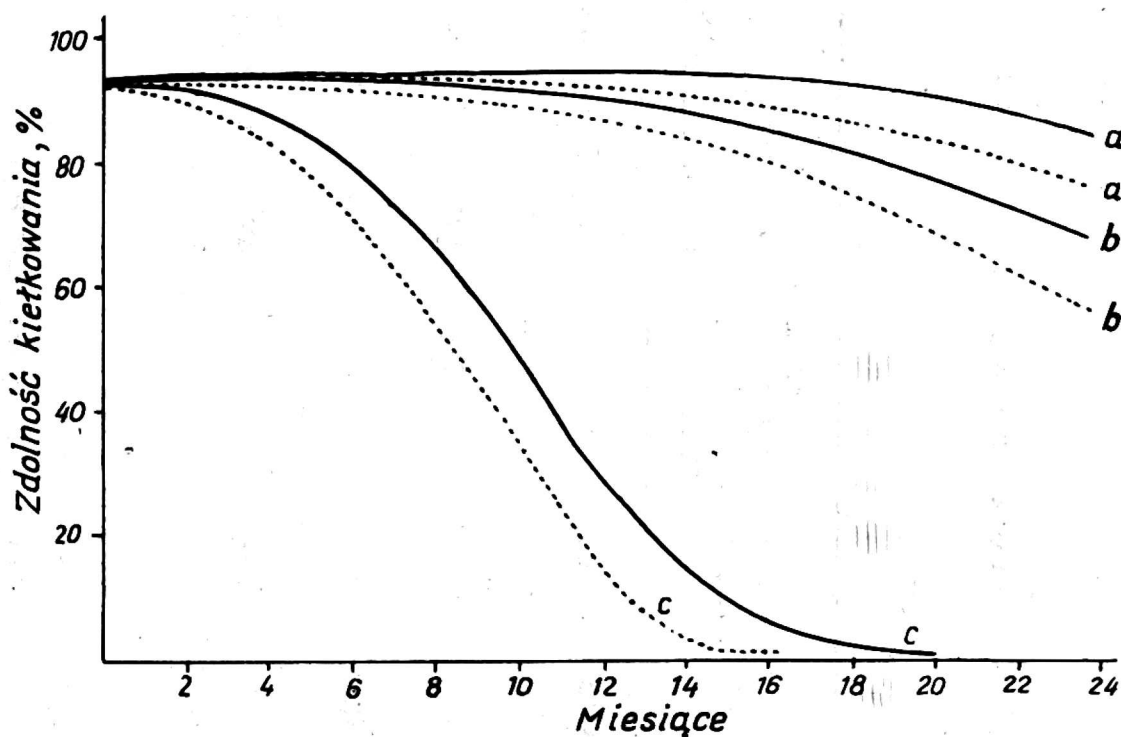


T a b e l a 1

Wilgotność równoważna ziarna podczas przechowywania  
(temp. ok. 20°C)

Sposób przechowywania ziarna	Zawartość wody w ziarnie w %	
	pszenica	żyto
W laboratorium w stanie „odkrytym” przy wilgotności pow. 55-65%	13,7	14,1
W pojemniku o wilgotności pow. 80-85%	16,3	17,4
W pojemniku o wilgotności pow. 25-30%	8,6	8,9

z 13,7 do 8,6%, a w ziarnie żyta z 14 do 8,9%. Natomiast zawartość wody w ziarnie przechowywanym w higrostatach w wilgotnym środowisku (80-85%) zwiększyła się do 16,3% (pszenica) i 17,4% (żyto).



Rys. 1. Wpływ warunków przechowywania na zdolność kiełkowania ziarna. Ziarno przechowywano w laboratorium (temp. 20°C) w stanie „odkrytym” przy wilgotności powietrza 55-65% (b) oraz w pojemnikach o wilgotności powietrza 25-30% (a) i 80-85% (c): pszenica (—), żyto (....)

Zmiany ilościowe suchej masy zarodków i bielma ziarniaków pszenicy i żyta (o różnej żywotności) podczas kiełkowania (w mg/100 ziaren)

Zdolność kiełkowania ziarna w %	Pszenica		Żyto		Straty suchej masy bielma po 48 godz. kiełkowania w %	Przyrost suchej masy zarodków po 48 godz. kiełkowania w %							
	czas kiełkowania ziarna		czas kiełkowania ziarna										
	6 godz., 20°C	48 godz., 21°C	6 godz., 20°C	48 godz., 21°C									
pszenica	żyto	bielmo zarodki	bielmo zarodki	bielmo zarodki	pszenica	żyto							
95 <sup>a</sup>	93 <sup>a</sup>	4370	122	3920	248	3860	148	3400	365	10,3	11,8	102,6	153,6
95 <sup>b</sup>	90 <sup>b</sup>	4360	120	4070	210	3840	147	3520	270	6,6	8,3	74,6	83,8
15 <sup>c</sup>	5 <sup>c</sup>	4350	121	4247	138	3820	146	3810	146	2,5	0,5	14,2	0,0

<sup>a</sup> Świeżo zebrane ziarno.

<sup>b</sup> po 14 miesiącach przechowywania (temp. 20°C) przy wilgotn. pow. 25-30%.

<sup>c</sup> po 14 miesiącach przechowywania (temp. 20°C) przy wilgotności 80-95%.

Podczas przechowywania obserwowano stopniowe obniżanie się zdolności kiełkowania ziarna. Proces degradacji żywotności najszybciej przebiegał w środowisku o dużej wilgotności powietrza (rys. 1). W tym przypadku ziarno żyta utraciło zdolność kiełkowania po 16 miesiącach przechowywania, a ziarno pszenicy po 20 miesiącach. O wiele wolniej przebiegał proces degradacji żywotności ziarna składowanego w pojemniku zawierającym osuszone powietrze (20-30%). Po dwóch latach przechowywania w suchym środowisku zdolność kiełkowania ziarna żyta wynosiła 78%, zaś pszenicy 85% (rys. 1).

Kształtowanie się suchej masy zarodków i bielma podczas pęcznienia (6 godz., 2°C) i kiełkowania (48 godz., 21°C) ziarna różnej żywotności przedstawia tabela 2. Wynika z niej, że podczas kiełkowania ziarna o normalnej żywotności sucha masa zarodków wyraźnie zwiększa się, zaś bielma maleje. Przytoczone dane są zgodne z istniejącym na ten temat piśmiennictwem [3].

W miarę utraty żywotności przez ziarno hydroliza związków zapasowych jest wyraźnie hamowana, a przyrost suchej masy zarodków coraz mniej intensywny (tab. 2). W ziarnie żyta charakteryzującym się prawie całkowitym zanikiem żywotności (zdolność kiełkowania - 5%) podczas pęcznienia (48 godz., 21°C) nie obserwowano praktycznie wzrostu suchej masy zarodków, zaś intensywność rozpadu substancji zapasowych bielma była znikoma (tab. 2). Brak większych zmian masy bielma w nieżywotnym ziarnie świadczy o małej aktywności enzymów hydrolitycznych i innych. Na przykład starzejące się ziarniaki tracą stopniowo zdolność do syntezy  $\alpha$ -amylazy [12, 15, 22]. Stare ziarniaki zbóż, które utraciły zdolność kiełkowania cechuje również minimalne natężenie oddychania [4, 13] podczas kilkudniowego pęcznienia.

Zmiany destrukcyjne zachodzące w tkankach zarodków starzejącego się ziarna [8, 9] wywierają również ujemny wpływ na przebieg reakcji anabolicznych. Innymi słowy, starzejący się zarodek traci szybciej lub wolniej zdolność do syntezy węglowodanów, białek, kwasów nukleinowych i innych związków organicznych podczas kiełkowania [1, 2].

#### Kwasy rybonukleinowe

W miarę utraty żywotności przez ziarno pszenicy i żyta nie obserwowano większych zmian ilości ogólnego RNA w zarodkach (tab. 3; po 6 godz. pęcznienia w 2°C; stan wyjściowy). Inni autorzy rów-

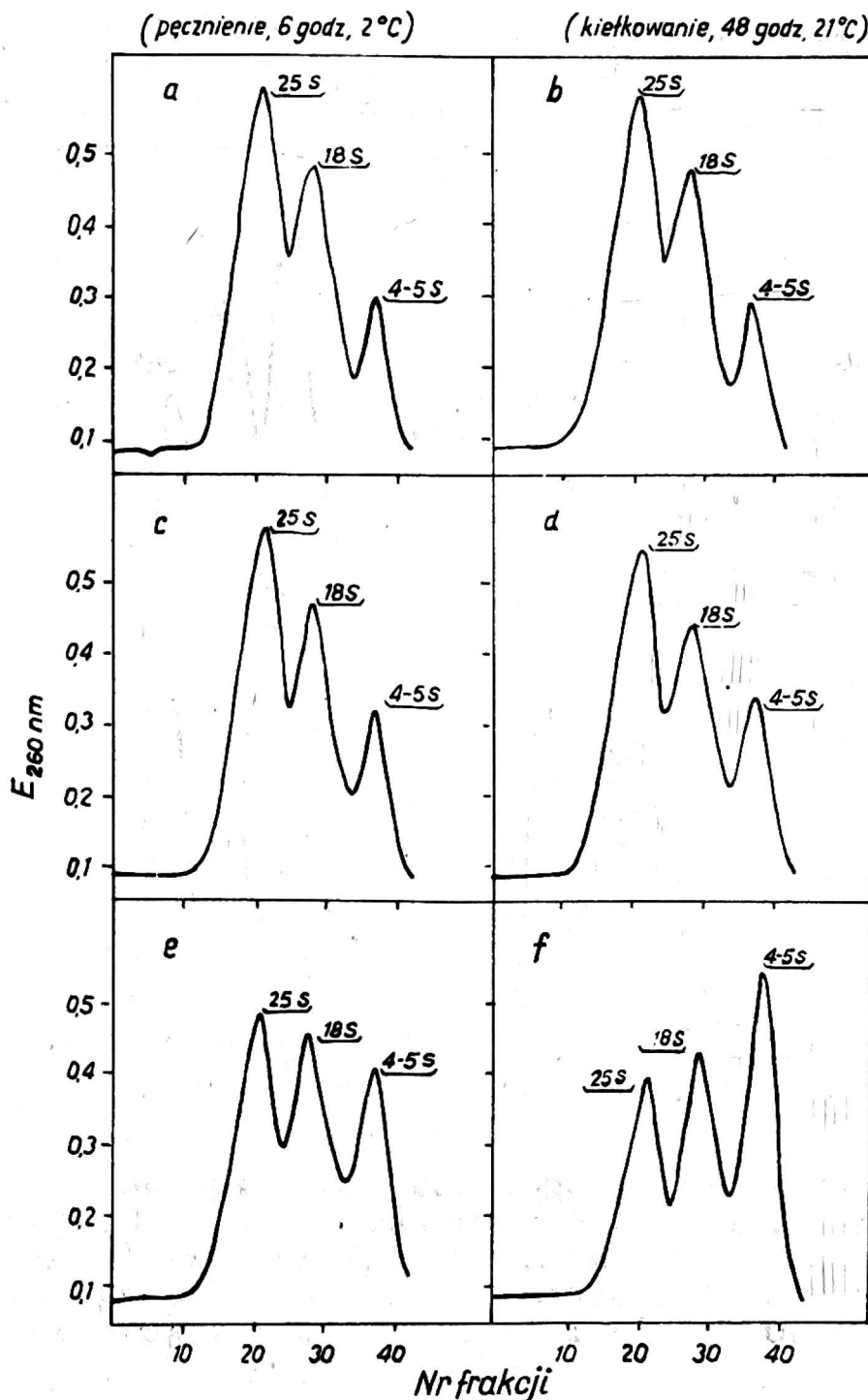
Zmiany zawartości frakcji RNA w zarodkach ziarna pszenicy i żyta o różnej żywotności podczas kiełkowania \*

Zdolność kiełkowania ziarna w %	Pęcznienie (6 godz., 2°C)				Kiełkowanie (48 godz., 21°C)				ogółem RNA w µg/100 zarodków
	skład frakcji RNA w %		ogółem RNA w µg/100 zarodków		skład frakcji RNA w %		ogółem RNA w µg/100 zarodków		
	25S	18S	4-5S		25S	18S	4-5S		
95 <sup>a</sup>	50,2	35,6	14,2	960	49,7	33,3	17,0	1520	
95 <sup>b</sup>	48,7	33,7	17,6	950	46,2	33,1	20,7	1430	
15 <sup>c</sup>	39,7	33,7	26,6	940	32,2	30,7	37,0	1060	
	pszenica								
93 <sup>a</sup>	49,5	33,1	17,4	1170	46,6	33,7	19,7	2460	
90 <sup>b</sup>	48,1	32,2	19,7	1160	45,4	32,4	22,2	1990	
5 <sup>c</sup>	29,4	29,5	41,1	1150	23,5	27,6	48,9	1140	
	żyto								

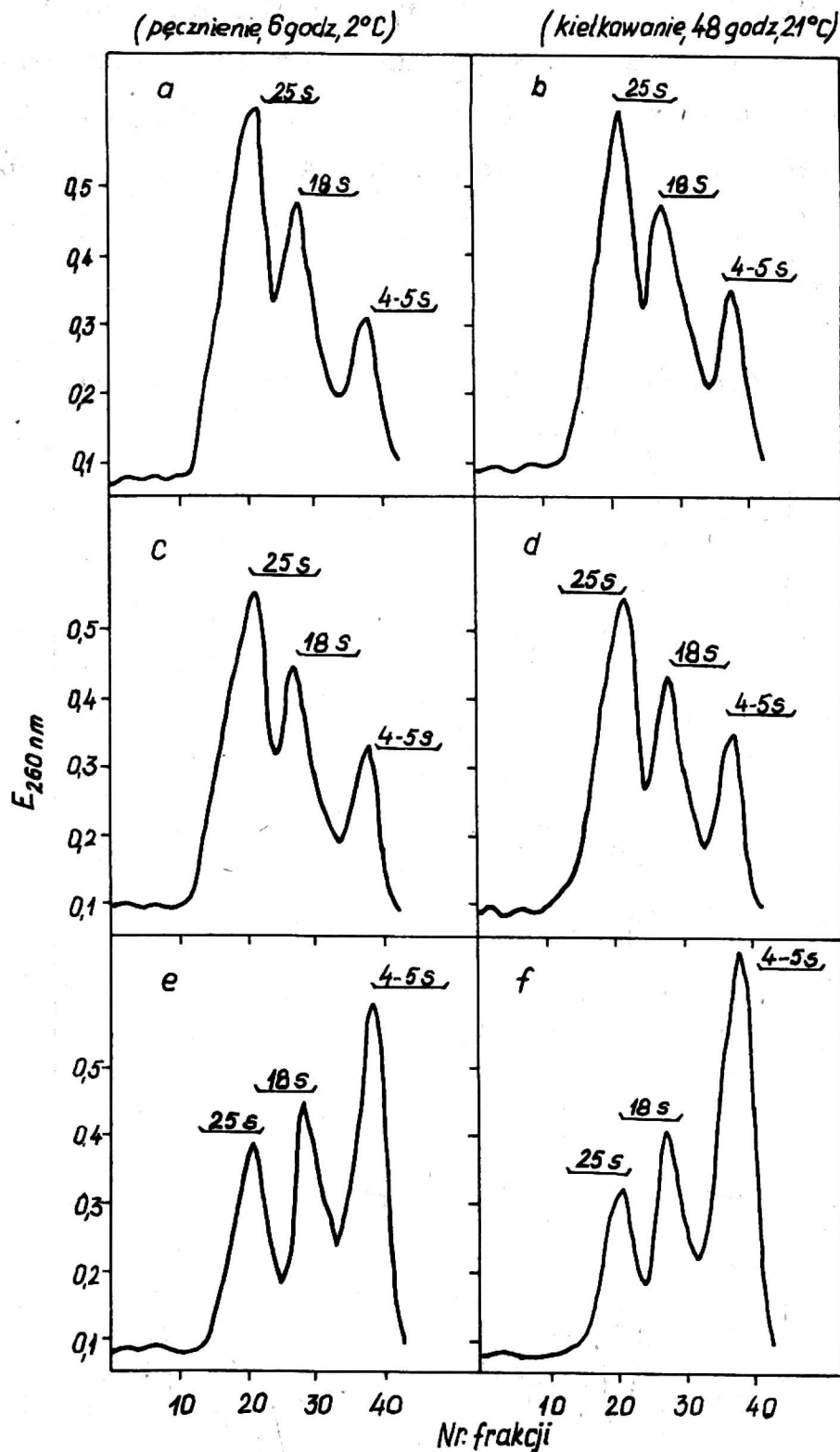
\* Analizy RNA wykonano: bezpośrednio po zbiorze ziarna (a) oraz po 14 miesiącach przechowywania (temp. 20°C) w pojemniku o wilgotności powietrza 25-30% (b) i 80-85% (c).



niez nie stwierdzili istotnych zmian ilości ogólnego RNA w zarodkach starzejących się nasion różnych gatunków roślin [6, 7, 12, 13]. Przytoczone dane sugerują, że starzenie się komórek zarodka jest raczej związane z jakościowymi zmianami RNA. Sugestię tę potwierdzają w pewnej mierze wyniki badań, które przedstawiono poniżej.



Rys. 2. Profil sedimentacji ogólnego RNA z zarodków ziarna pszenicy o różnej żywotności. Ziarno świeżo zebrane (a i b; zdolność kiełkowania - 95%); po 14 miesiącach przechowywania (temp. 20°C) w pojemniku o wilgotności powietrza 25-30% (c i d; zdolność kiełkowania - 95%) i 80-85% (e i f; zdolność kiełkowania - 15%)



Rys. 3. Profil sedymentacji ogólnego RNA z zarodków ziarna żyta o różnej żywotności. Ziarno świeżo zebrane (a i b; zdolność kiełkowania - 93%); po 14 miesiącach przechowywania (temp. 20°C) w pojemniku o wilgotności powietrza 25-30% (c i d; zdolność kiełkowania - 90%) i 80-85% (e i f; zdolność kiełkowania - 5%)

Preparaty ogólnego RNA wyizolowanego z zarodków pszenicy i żyta rozdzielono w toku ultrawierowania w gradiencie gęstości sacharozy na trzy frakcje różniące się współczynnikami sedymentacji: 25S, 18S i 4-5S RNA (rys. 2 i 3). W zarodkach ziarna analizowanego bezpośrednio po zbiorze oraz ziarna przechowywanego 14 i 18 miesięcy w pojemniku o niskiej wilgotności środowiska (tab. 3, 4) domino-

T a b e l a 4

Włączanie  $^3\text{H}$ -urydyny do RNA zarodków ziarna pszenicy (o różnej żywotności) podczas pęcznienia i kiełkowania (24 godz.,  $21^\circ\text{C}$ )

Zdolność kiełkowania ziarna w %	Fracje RNA			Ogółem RNA		
	stałe sedymentacji	$\mu\text{g}/100$ zarodków	%	radioaktywność w imp/min/100 zarodków	$\mu\text{g}/100$ zarodków	imp/min/RNA $\times 10^2$
95 <sup>a</sup>	25S	559	47,0	235	1190	519
	18S	415	34,9	220		
	4-5S	215	18,1	163		
93 <sup>b</sup>	25S	477	42,2	161	1130	392
	18S	379	33,5	153		
	4-5S	275	24,3	129		
5 <sup>c</sup>	25S	228	23,2	32	990	91
	18S	236	23,8	27		
	4-5S	525	53,0	31		

<sup>a</sup>Ziarno świeżo zebrane,

<sup>b</sup>po 18 miesiącach przechowywania w temp.  $20^\circ\text{C}$  przy wilgotności powietrza 25-30%,

<sup>c</sup>po 18 miesiącach przechowywania w temp.  $20^\circ\text{C}$  przy wilgotności powietrza 80-85%.

wały pod względem ilościowym rybosomalne RNA: 18 i 25S. Natomiast w zarodkach ziarna pszenicy (zdolność kiełkowania ok. 15%), przechowywanego w środowisku o dużej wilgotności, następowała częściowa degradacja (z 50 do 40%) 25S RNA do fragmentów polinukleotydowych o współczynniku sedymentacji 4-5S (tab. 3, rys. 2e). Podczas kiełkowania ziarna (48 godz.,  $21^\circ\text{C}$ ) proces degradacji 25S RNA zaznaczył się wyraźniej (rys. 2f).

Zdolność kiełkowania ziarna żyta przechowywanego przez okres 14 miesięcy przy wilgotności równoważnej wynoszącej 17,4% obniżyła się z 93 do ok. 5%. W tym czasie rybosomalny RNA (25S) uległ rozkładowi do fragmentów niskocząsteczkowych prawie w 50% (tab. 3, rys. 3e). Proces kiełkowania (pęcznienia) ziarna (48 godz.,  $21^\circ\text{C}$ ) spowodował dalszą degradację 25S RNA (tab. 3, rys. 3f). W profi-

lu sedymentacji RNA zdecydowanie wówczas przeważały pod względem ilościowym niskocząsteczkowe (4-5S) RNA (rys. 3f) stanowiące zapewne mieszaninę składającą się z: 4S tRNA, 5S rRNA i fragmentów polinukleotydowych. Proces fragmentacji rybosomalnych RNA w tracących żywotność ziarniakach żyta i pszenicy jest najprawdopodobniej katalizowany przez rybonukleazy. Znaczną aktywność RNAz wykryto bowiem w ziarniakach żyta, jęczmienia i owsa cechujących się niską zdolnością kiełkowania [6, 12, 15, 18].

T a b e l a 5

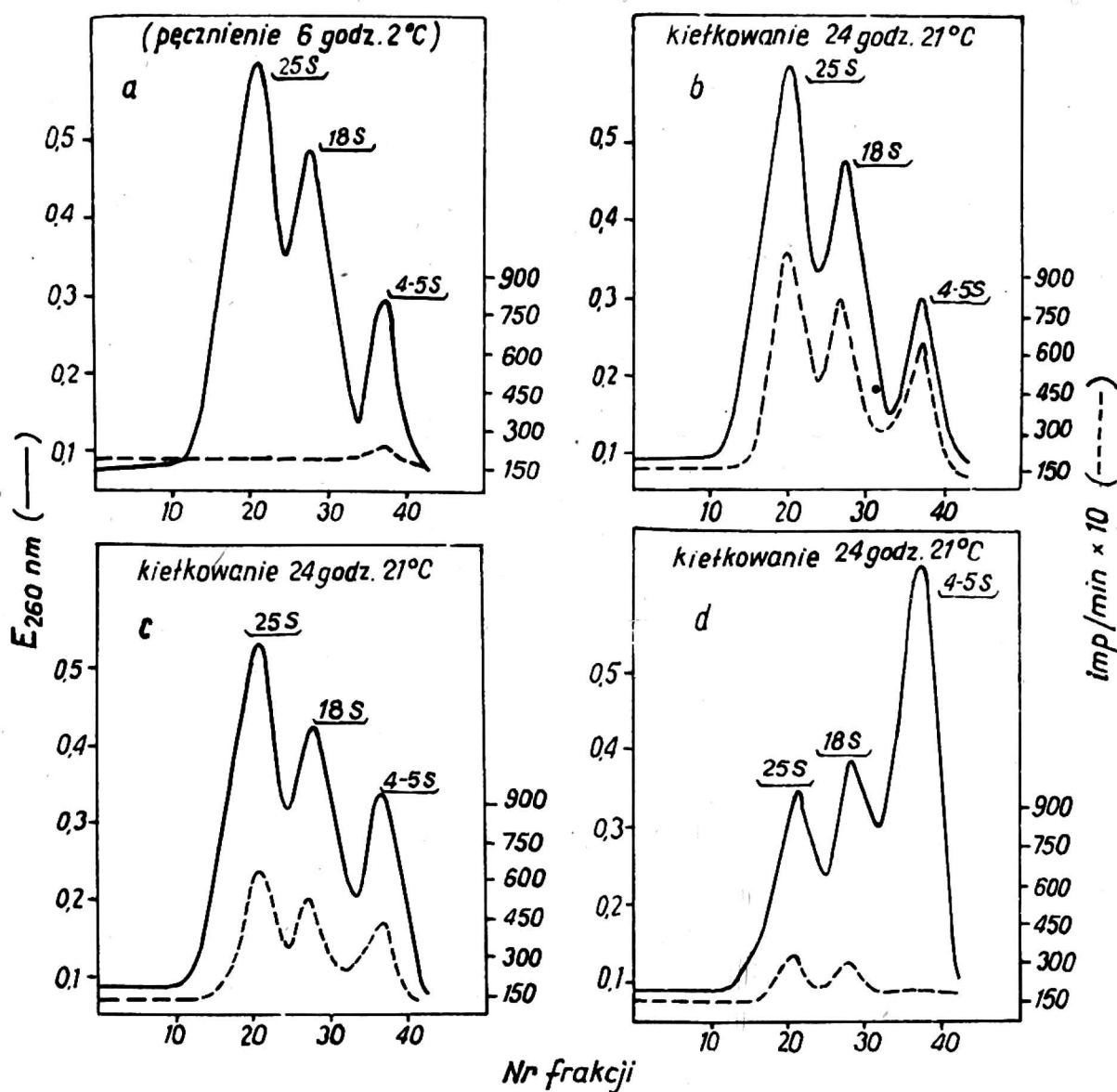
Włączanie  $^3\text{H}$ -urydyny do kwasów rybonukleinowych zarodków ziarna żyta (o różnej żywotności) podczas pęcznienia i kiełkowania (24 godz.,  $21^\circ\text{C}$ )

Zdolność kiełkowania ziarna w %	stałe sedymentacji	Fracje RNA			Ogółem RNA	
		$\mu\text{g}/100$ zarodków	%	radioaktywność w imp/min/100 zarodków $\times 10^2$	$\mu\text{g}/100$ zarodków	imp/min/mg RNA $\times 10^2$
93 <sup>a</sup>	25S	634	47,0	371	1350	758
	18S	447	33,1	410		
	4-5S	268	19,9	242		
86 <sup>b</sup>	25S	589	46,0	221	1280	483
	18S	412	32,2	210		
	4-5S	292	22,8	187		
0 <sup>c</sup>	25S	155	13,5	45	1150	145
	18S	186	16,4	35		
	4-5S	806	70,1	42		

Objaśnienia jak w tabeli 4.

Podobne zjawisko, tj. zanikanie 25 i 18S RNA w zarodkach i warstwie aleuronowej jęczmienia starzejącego się sztucznie pod wpływem podwyższonej temperatury ( $43^\circ\text{C}$ ) przy dużej wilgotności powietrza (85%) obserwowali Van Onckelen i in. [22]. Roberts i Osborne [18] stwierdzili natomiast, że podczas wieloletniego starzenia się ziarna żyta przechowywanego w granicach wilgotności krytycznej zanikała w rybosomach zarodków tylko lżejsza frakcja RNA (18S).





Rys. 4. Profil sedymentacji ogólnego RNA z zarodków ziarna pszenicy o różnej żywotności. Ziarno świeżo zebrane (a i b; zdolność kiełkowania 95%); po 18 miesiącach przechowywania (temp. 20°C) w pojemniku o wilgotności powietrza 25-30% (c; zdolność kiełkowania - 93%) i 80-85% (d; zdolność kiełkowania - 5%)

Podczas kiełkowania (24 i 48 godz., 21°C) ziarna obu badanych gatunków zbóż cechującego się wysoką żywotnością ilość ogólnego RNA oraz jego frakcji wyraźnie zwiększała się w zarodkach (tab. 3-5). Wzrost absolutnej ilości (na 100 zarodków) poszczególnych typów kwasów rybonukleinowych w rosnącym zarodku był wynikiem ich syntezy de novo, o czym świadczy duże natężenie włączania  $^3\text{H}$ -urydyny do wszystkich analizowanych frakcji RNA (tab. 4, 5; rys. 4b). Należy jednak dodać, że włączanie trytowanej urydyny do frakcji RNA było mniej intensywne, gdy do badań użyto ziarna przechowywanego 18 miesięcy w suchym pojemniku (rys. 4c).

W zarodkach ziarniaków obu gatunków zbóż, które praktycznie utraciły żywotność w wyniku 18 miesięcznego ich przechowywania w

środowisku o dużej wilgotności, poddanych pęcznieniu w ciągu 24 godz. w temp. 21°C, proces fragmentacji wysokocząsteczkowych rRNA (18 i 25S), zwłaszcza u żyta, przebiegał z dużą intensywnością. Włączanie <sup>3</sup>H-urydyny do frakcji RNA było wówczas znikome (rys. 4d; tab. 5). Ogólna ilość RNA w zarodkach pęczniejącego (24 godz., 21°C), martwego ziarna nie ulegała istotnym zmianom (tab. 5).

Wydaje się, że prawie całkowite zahamowanie transkrypcji RNA w zarodkach pęczniejących (24 godz., 21°C), lecz martwych ziarniaków żyta mogło być spowodowane jedną z następujących przyczyn: a) fragmentacja DNA do oligo- lub polinukleotydów [9, 18], b) inaktywacją odpowiednich polimeraz RNA lub c) utratą zdolności martwych komórek zarodka do biosyntezy ATP [2].

Porównanie z sobą obu gatunków ziarna zbóż przechowywanego w środowisku o dużej wilgotności powietrza (ok. 80%), prowadzi do wniosku, że proces degradacji RNA przebiega intensywniej w zarodkach żyta niż w zarodkach pszenicy. Warto dodać, że ziarno żyta jest bardziej wrażliwe od ziarna pszenicy, na niesprzyjające warunki przechowywania, dzięki czemu szybciej traci ono wówczas żywotność [19].

Na podstawie przeprowadzonych badań można przypuszczać, że degradacja rRNA przebiegająca w zarodkach podczas przechowywania ziarna w niekorzystnych warunkach środowiska odbija się ujemnie na funkcji biochemicznej przynajmniej części rybosomów. Zahamowanie z kolei transkrypcji rRNA w zarodkach martwego ziarna poddanego pęcznieniu (24 godz., 21°C) uniemożliwia równocześnie biogenezę rybosomów.

#### LITERATURA

1. Abdul-Baki A. A., Anderson J. S.: W "Seeds Biology", red. Kozłowski T. T., t. II, Acad. Press, New York 1972, 283-309.
2. Anderson J. D.: Plant Physiol. 1977, 59, 610-614.
3. Ching T. M.: W "Seed Biology", red. Kozłowski T. T., t. II, Academic Press, New York 1972, 103-205.
4. Ching T. M.: Plant Physiol. 1973, 51, 400-402.
5. Dorywalski J., Wojciechowicz M., Bartz J.: Metodyka oceny nasion, wyd. IV, PWRiL, Warszawa 1964.
6. Grzesiuk S., Kulka K.: Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Biol. 1971, 19, 363-366.
7. Grzesiuk S., Łuczyńska J.: Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Biol. 1972, 20, 891-896.
8. Hallam N. D.: W "Seed Ecology", red. Heydecker W., Butterworths, London 1973, 115-144.

9. Hallam N. D., Roberts B. E., Osborne D. J.: *Planta* (Berl.) 1973, 110, 279-290.
10. Harrington J. F.: *Seed Sci. Technol.* 1973, 1, 453-404.
11. Koźmina N. P.: *Biochimija ziarna i produktow jego piererabotki*, Izd. „Kołos”, Moskwa 1976.
12. Kulka K.: *Zesz. Nauk. WSR Olsztyn* 1971, 6, 2-89.
13. Kulka K.: *Biul. IHAR* 1973, 5-6, 37-44.
14. Lityński M.: *Biologiczne podstawy nasiennictwa*, PWN, Warszawa 1977.
15. Mierzwińska T.: *Acta Soc. Bot. Polon.* 1977, 46, 69-78.
16. Orłowa N. N., Rogatych N. P., Chartina G. A.: *Fizjoł Rast.* 1975, 22, 734-740.
17. Roberts B. E.: *Seed Sci. Technol.* 1973, 1, 515-545.
18. Roberts B. E., Osborne D. J.: W „*Seed Ecology*”, red. Heydecker W., Butterworths, London 1973, 99-114.
19. Roberts B. E., Payne P. J., Osborne D. J.: *Biochem. J.* 1973, 131, 275-286.
20. Tanifuji S., Higo M., Shimada T., Higo S.: *Biochim. Biophys. Acta* 1970, 217, 418-425.
21. Uwa Fricke: *Anal. Biochem.*, 1973, 63, 555-558.
22. Van Onckelen H. A., Verbeek R., Khan A. A.: *Plant Physiol.* 1974, 53, 562-568.
23. Villiers T. A., Edgcumbe D. J.: *Seed Sci. Technol.* 1975, 3, 761-774.
24. Wasilewska R., Kleczkowski K.: *FEBS Letters* 1974, 44, 164-168.
25. Wisznijakowa I. A., Krasnook N. P., Powarowa R. J., Morgunowa C. A., Buchtojarowa Z. T.: *Fizjoł Rast.* 1976, 23, 361-365.

Кшиштоф Кулька, Казимеж Висневски, Станислав Вейднер

РЫБОНУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ В ЗАРОДЫШАХ ПШЕНИЦЫ И РЖИ  
ВО ВРЕМЯ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ ЗЕРНА

Р е з ю м е

Целью настоящего труда было исследование биосинтеза и количественных изменений фракции рибонуклеиновых кислот в зародышах зерна пшеницы и ржи хранимого в среде содействующей ускоренному старению.

Зерно обоих видов (с начальной всхожестью 93-95%) было разделено на три партии. Первую партию составляло зерно предназначенное для анализ RNA непосредственно после уборки. Две остальные партии зерна хранили в течение 14-18 месяцев (в комнатной температуре) в герметически закрываемых контейнерах с влажностью воздуха составляющей 25-30% и 80-85%. Определения RNA проводились на зародышах набухающего (6 час., 2°C, предварительная мочка) и прорастающего зерна (24, 48 час., 21°C).

В зародышах зерна анализируемого непосредственно после уборки и зерна хранимого в период 14-18 месяцев в контейнерах с низкой влаж-

ностью воздуха преобладали рибосомальные RNA, в зародышах же зерна обоих исследуемых видов хранимого в среде с высшей влажностью воздуха происходила частичная деградация RNA (особенно 25 и 18S) и полинуклеотидных фрагментов (4-5S). Процесс прорастания зерна со слабой жизнеспособностью вызывал дальнейшую деградацию 25 S и 18 S RNA. В таком случае в профиле седиментации RNA из зародышей мертвого зерна ржи преобладали решительно низкомолекулярные RNA (4-5S), составленные преимущественно из полинуклеотидных фрагментов.

В зародышах зерна обоих видов не показывающей практической всхожести, подвергнутого набуханию в течение 24 часов в температуре 2°C, процесс включения <sup>3</sup>H-уридина во все три исследуемые фракции RNA был незначительным.

Krzysztof Kulka, Kazimierz Wiśniewski,  
Stanisław Weidner

#### RIBONUCLEIC ACIDS IN WHEAT AND RYE GRAIN DURING ITS ACCELERATED AGEING

##### S u m m a r y

The aim of the work was to investigate the biosynthesis and qualitative changes of fractions of ribonucleic acids in germs of the wheat grain stored in a medium stimulating its accelerated ageing.

Grain of both cereal species (at initial germination ability of 93-95%) was divided into two parts. One part consisted of grain designated for the RNA analysis immediately after harvest. Two other parts of grain were stored in the period of 14-18 months (at the room temperature) in hermetically closed containers with the air humidity of 25-30% and/or 80-85%. The RNA tests were carried out on germs of swollen (6 hours, 2°C, preimbibition) and germinating grain (24, 48 hours, 21°C).

In germs of grain analyzed immediately after harvest as well as grain stored for 14-18 months in a container with low air humidity ribosomal RNA predominated. On the other hand, in germs of the grain of either species stored in a medium with high air humidity a partial degradation of rRNA (particularly of 25 SRNA)



occurred to polynucleotide fragments (4-5S). The germination process of grain with weak vitality resulted in further degradation of 25 and 18S RNA. In this case in the profile of the RNA sedimentation from germs of dead rye grain low-molecular RNA (4-5S) prevailed, consisting mainly of polynucleotide fragments.

In germs of grain of either species showing practically no germination ability and subjected to swelling for 24 hours at the temperature of 21°C, the process of <sup>3</sup>H-uridine incorporated into all three RNA fractions investigated was quite weak one.