

FRAKCJE KWASÓW RYBONUKLEINOWYCH ORAZ ICH SYNTEZA
W DOJRZEWAJĄCYCH ZIARNIAKACH PSZENICY^x

Stanisław Weidner, Krzysztof Kulka

Instytut Biologii Roślin AR-T, Olsztyn

WSTĘP

Proces rozwoju ziarniaków zbóż dzieli się na trzy wyraźnie zróżnicowane etapy [8, 10, 22]: etap formowania bielma i prazarodka /faza dojrzałości zielonej/, etap zasadniczego formowania zarodka i gromadzenia materiałów zapasowych /faza dojrzałości mleczonej/ oraz etap dojrzewania ziarna, w którym następuje utrata wody i przejście w stan spoczynku /faza dojrzałości woskowej i pełnej dojrzałości morfologicznej/.

Poszczególnym etapom morfogenezy ziarniaka towarzyszą odpowiednie zmiany biochemiczne i fizjologiczne. Zmiany te wiążą się z metabolizmem białek, węglowodanów, kwasów nukleinowych, regulatorów wzrostu i innych substancji. Stąd stan fizjologiczny formującego się ziarna podlega zmianom przejawiającym się m. in. w niejednakowej zdolności do kiełkowania. Najwyższą wartość biologiczną osiąga ziarno w pierwszej połowie trzeciego okresu embriogenezy, tj. na początku okresu dojrzałości woskowej. Biologiczne właściwości dojrzewających ziarniaków wpływają na wzrost, rozwój i plonowanie wyrosłych z nich roślin [8, 9, 14, 18, 19, 21, 22].

Ilość RNA w rozwijającym się ziarnie szybko wzrasta, osiągając maksimum najczęściej na początku fazy dojrzałości woskowej [10, 14, 16, 17]. Warto podkreślić, że wysokobiałkowe odmiany zbóż, np. pszenicy, syntetyzują większe ilości rRNA /w przeliczeniu na ziarniak/ w porównaniu z niskobiałkowymi [3]. Również w bielmie formujących się ziarniaków kukurydzy tempo syntezy rRNA jest o 30% większe niż u mutantu "opaque"-2 [15].

^x Pracę wykonano w ramach tematu badawczego nr 11/7; 3.1.3. koordynowanego przez Zakład Fizjologii Roślin PAN.

Badając oddzielnie bielmo i zarodki wykazano, że synteza RNA w zarodkach trwa prawie do końca dojrzewania ziarna [2, 5, 6, 17]. Odnosnie do bielma sugeruje się, że proces syntezy RNA przebiega równolegle do podziałów komórkowych i kończy się zazwyczaj w fazie dojrzałości mleczej [3, 13, 15].

Należy podkreślić, że badania nad kwasami rybonukleinowymi rozwijających się ziarniaków są mało zaawansowane i dotyczą w zasadzie dynamiki zmian ogólnej ilości RNA.

Celem pracy jest przesłedzenie syntezy i zmian ilościowych frakcji RNA podczas rozwoju i dojrzewania ziarna oraz bielma pszenicy ozimej. Badania te mogą rzucić nowe światło na kolejność syntezy i degradacji różnych rodzajów RNA podczas rozwoju i dojrzewania ziarna, co może mieć istotny wpływ na niejednakową żywotność ziarna o różnym stopniu dojrzałości.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w 1977-r. na ziarniakach pszenicy ozimej odmiany Grana, uprawianej na polstkach doświadczalnych Instytutu Biologii Roslin AR-I w Olsztynie. Pierwszą partię kłosów zebrano dziesiątego dnia po kwitnieniu /faza dojrzałości zielonej/, następne - 17, 24, 31, 38 dnia po kwitnieniu /faza dojrzałości mleczej/ oraz w 45 dniu po kwitnieniu /faza dojrzałości woskowej/ i w 55 dniu po kwitnieniu /faza dojrzałości pełnej/. Bezpośrednio po każdorazowym zbiorze ziarniaki dzielono na dwie partie. Z pierwszej partii usuwano zarodki /z ziarniaków zebranych w pierwszych fazach dojrzewania - za pomocą żyłki, w końcowych fazach dojrzewania - za pomocą igły preparacyjnej/, biorąc do analiz wyłącznie bielmo. Ziarniaki z drugiej partii brano do analiz w całości. Tak przygotowany materiał biologiczny wykorzystano do badania RNA.

Ziarna i bielma pszenicy /ok. 2-4 g/ przeznaczone do badań izotopowych izolowano w całości w sterylnym boksie, następnie liczone, wazono, przenoszono do małych krystalizatorów i zalewano roztworem radioaktywnego prekursora RNA. Inkubację z ^3H -urydyną o aktywności 0,005 mCi/1ml prowadzono w termostacie w temp. $+25^\circ\text{C}$ przez sześć godzin. Co pewien czas próby były mieszane w celu równomiernego pobierania prekursora przez ziarna lub bielma. Po inkubacji ziarno przepłukiwano dokładnie /3-4 razy/ redestylowaną i wyjąłowaną wodą oraz roztworem nieoznakowanej urydyny, a następnie osuszano bibułą i umieszczano w zamkniętych naczynkach wagowych w temp. -20°C . W dniu następnym izolowano z prób RNA. Wszystkie operacje od chwili wyjęcia ziaren z kłosów wykonywano w sterylnych warunkach.

Ekstrakcję RNA przeprowadzano wg metody Tanifuji i wsp. [23]. Próby bielma lub ziarna homogenizowano przez 10 min w móżdzierzu porcelanowym /w lodzie/ z 0,02 M buforem Tris-HCl /pH 7,4/, zawierającym 0,1 M NaCl, 1% bentonit, 2% SDS i 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ siarczanu poliwinyłu /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 przez 10 min na wytrząsarce "Universal Shaker" typ 327, po czym wirowano przy 5000 g przez 10 min. Po wirowaniu warstwę wodną zbierano, a pozostałość /warstwę pośrednią fenolową i osad/ ekstrahowano ponownie mieszaniną buforu "A" i chloroformu /1:1; 0/0/ w temp. 65°C w ciągu 3 min [24]. Po szybkim ochłodzeniu próbki odwirowano. Połączone warstwy wodne /otrzymane w wyniku ekstrakcji chłodnej i gorącej/ odbiańczano mieszaniną fenolu i chloroformu /1:1; 0/0/ oraz mieszaniną chloroformu i alkoholu izoamylowego /20:1; 0/0/. Do roztworu oczyszczonych kwasów rybonukleinowych dodawano następnie octan sodu do stężenia 0,2 M; RNA wytrącono 2,5 objętościami 96% etanolu. Cały proces ekstrakcji i oczyszczania RNA /z wyjątkiem ekstrakcji gorącej/ przeprowadzano w chłodni w temp. 0-4°C.

Oczyszczony preparat RNA /stosunek $\frac{E_{280}}{E_{260}} < 0,5$ / rozpuszczano w 2-4 ml 0,02 M buforze Tris-HCl /pH 7,4/, zawierającym 0,05 M NaCl o 0,005 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 0,5 mg RNA /w obj. 1 ml buforu/ наносzono ostrożnie na powierzchnię roztworu gradientu sacharozy. Próby wirowano przez osiem godzin w temp. 4°C przy 40 000 obr./min. /196 000 g/ w ultrawirówce firmy Beckman /model L-3-40/ z rotorem SW-41. Po zakończeniu wirowania zawartość próbek /13 ml/ dzielono na około 40 frakcji, uzupełniano wodą do 3 ml i mierzono / przy 260 nm/ ich ekstynkcję i radioaktywność. Pomiar radioaktywności wykonywano za pomocą licznika scyntylicyjnego /Intertechnique-Sd-49/, dodając do 1 ml próby 10 ml tritosolu, jako scyntyлятора o wydajności dla ^3H -47% [7].

Procentowe stężenie RNA w roztworze wyliczano 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 wysokopolimeryzowanego RNA z drożdży. Suchą masę oznaczano w ziarnie i bielmie pszenicy wg metodyki opisanej przez Dorywal-skiego i wsp. [4].

WYNIKI I DYSKUSJA

Zmiany ilości ogólnego RNA w całym ziarnie i bielmie pszenicy

Z danych przedstawionych w tabeli 1 wynika, że ilość RNA zarówno w całych ziarnach, jak i w bielmach /w przeliczeniu na 100 szt./ szybko wzrasta do 24 dnia po kwitnieniu. Następnie, w miarę dalszego rozwoju ziarna, spada, co najwyraźniej zaznacza się w bielmie.

Tabela 1

Zawartość ogólnego RNA w ziarnie i bielmie pszenicy podczas rozwoju i dojrzewania /w mg/

| Liczba dni po kwitnieniu | Ziarno | | | Bielmo | | |
|--------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | zawartość RNA w 100 ziarnach | zawartość RNA w 1 g świeżej masy | zawartość RNA w 1 g suchej masy | zawartość RNA w 100 bielmach | zawartość RNA w 1 g świeżej masy | zawartość RNA w 1 g suchej masy |
| 10 | 3,082 | 1,825 | 7,154 | 2,274 | 1,550 | 5,797 |
| 17 | 6,704 | 1,625 | 5,582 | 5,621 | 1,415 | 4,703 |
| 24 | 7,227 | 1,373 | 3,797 | 6,031 | 1,240 | 3,227 |
| 31 | 7,046 | 1,163 | 2,469 | 5,221 | 0,993 | 2,038 |
| 38 | 6,346 | 0,997 | 1,922 | 4,999 | 0,893 | 1,699 |
| 45 | 5,345 | 0,803 | 1,424 | 3,754 | 0,590 | 1,019 |
| 55 | 3,415 | 0,728 | 0,896 | 1,957 | 0,455 | 0,558 |

Rezultaty niniejszych badań /tab. 1/ dają podstawę do stwierdzenia, że przeważająca ilość RNA syntetyzuje się w ziarnie w początkowym okresie jego rozwoju, a miejscem gromadzenia RNA jest wówczas tkanka bielma. Według niektórych badaczy intensywność biosyntezy RNA w formującym się bielmie ziarniaków jest w przybliżeniu proporcjonalna do natężenia podziałów komórkowych [6, 13].

W bielmie, w końcowym okresie rozwoju ziarna, przebiega intensywna degradacja kwasów rybonukleinowych /rys. 1, 2/. W tym czasie rybonukleazy bielma przejawiały wysoką aktywność [3, 12, 14]. Na podstawie tych faktów można wysnuć przypuszczenie, że w komórkach bielma zachodzi wówczas pod wpływem RNaz rozkład RNA do oligonukleotydów i pojedynczych rybonukleotydów. Prawdopodobnie pewna ilość produktów degradacji RNA przemieszcza się do zarodka, gdzie podlega resyntezie na RNA. Do podobnego wniosku doszedł również Siemienienko [20]. Badając proces syntezy RNA w rozwijającym się ziarnie pszenicy badacz ten stwierdził, że synteza kwasów rybonukleinowych w zarodkach może odbywać się w pewnej mierze kosztem nukleotydów, znajdujących się w zamierającej tkance bielma.

Na podstawie przytoczonych danych można przypuszczać, że postępującemu starzeniu się bielma towarzyszy degradacja rybosomów. Istotnie, w skrobiowej części bielma dojrzałych ziarniaków zbóż nie udaje się wykryć rybosomów [1].

Zmiany ilościowe i biosynteza frakcji RNA

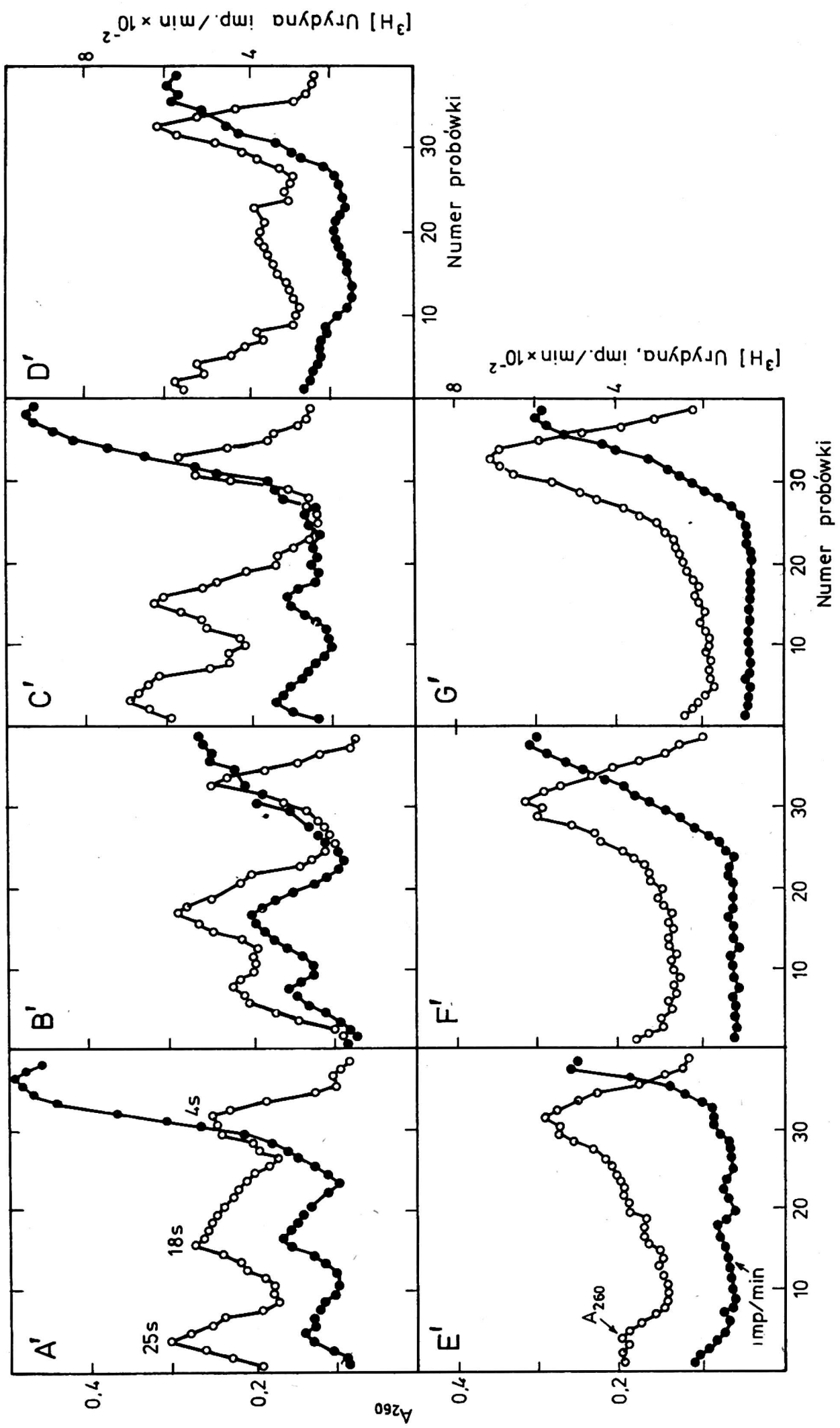
Badania zmian ilościowych poszczególnych frakcji RNA w dojrzewających ziarniakach zbóż zostały dopiero zapoczątkowane. Johari i wsp. [14] wykazali np., że procentowy udział rRNA w ogólnym RNA ziarna nie ulega istotnym zmianom podczas rozwoju ziarna.

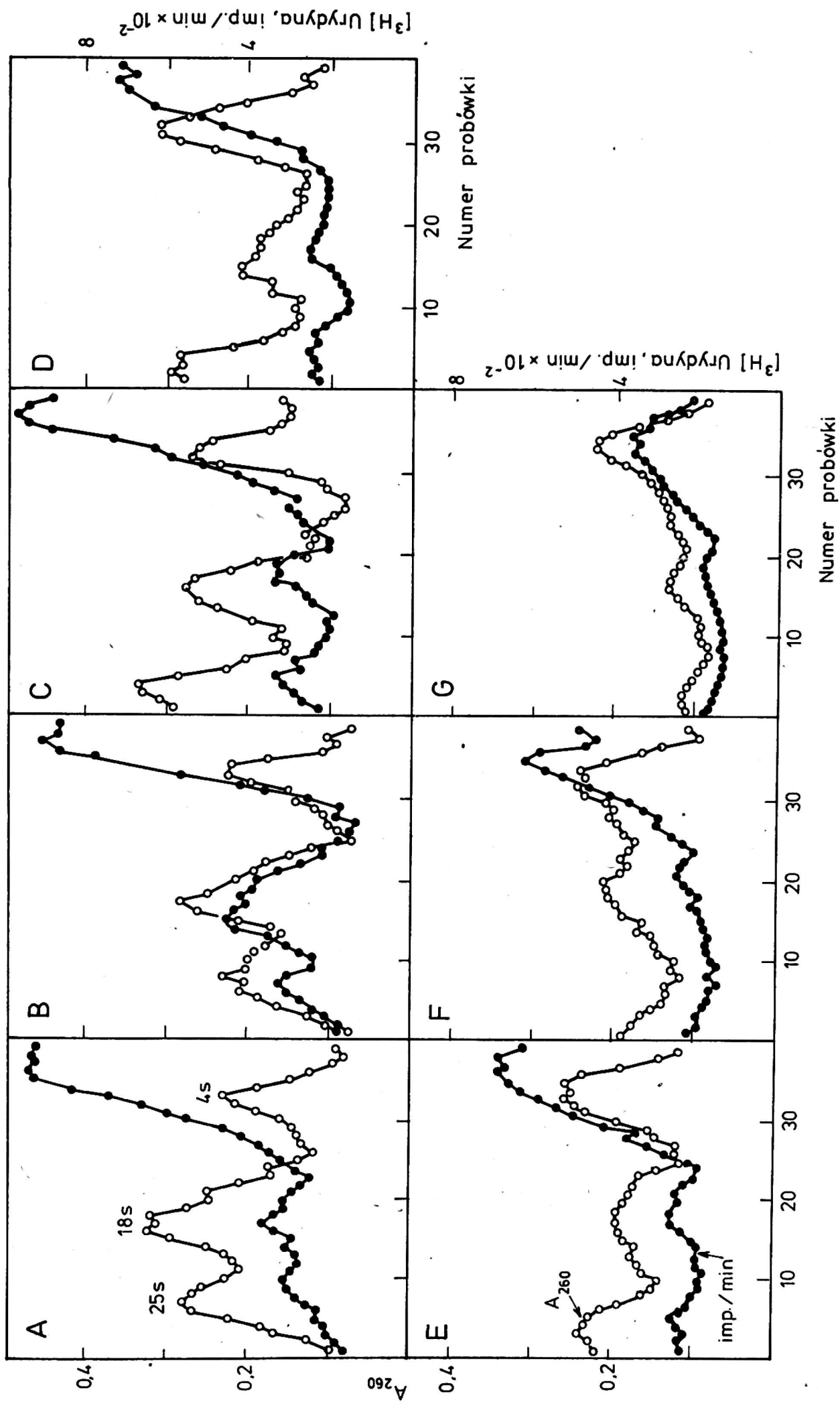
Preparaty RNA, wyizolowane z ziarniaków pszenicy, rozdzielano w toku ultrawierowania w gradiencie stężeń sacharozy na trzy frakcje różniące się współczynnikami sedymentacji: 25, 18 i 4 S RNA. Względna zawartość rRNA (18 + 25S) w ogólnym RNA /wyrażona w procentach RNA/ systematycznie malała w miarę rozwoju i dojrzewania zarówno ziarna, jak i bielma /rys. 2/. Do 31 dnia po kwitnieniu w bielmie oraz do 45 dnia w ziarnie procentowy udział rRNA spadał powoli. Dalszy spadek udziału rRNA odbywał się gwałtownie, zachodząc w ziarnie o dwa tygodnie później niż w bielmie. Główną przyczyną mniejszej degradacji rybosomalnego RNA w całym ziarnie była intensywna synteza RNA w formującym się zarodku. Wyniki naszych badań są więc sprzeczne z wyżej cytowaną pracą Johari i wsp. [14].

Inaczej kształtowała się dynamika absolutnej ilości rRNA w przeliczeniu na 100 ziaren lub bielm. W pierwszej połowie okresu formowania ziarna /do 24 dnia po kwitnieniu/ ilość obu rodzajów frakcji rRNA /18 i 25S/ wzrastała, po czym malała aż do dojrzałości pełnej /rys. 2/. Wskutek degradacji rybosomalnych RNA /dokonywanej się w bielmie/, przebiegającej z największym nasileniem w końcowym okresie rozwoju ziarna pszenicy w profilu sedymentacji preparatu RNA dominowały niskocząsteczkowe 4S RNA /rys. 1/. Warto dodać, że zmniejszeniu się ilości obu frakcji rRNA /na 100 ziaren lub bielm/ nie towarzyszył wzrost absolutnej ilości 4S RNA. Świadczy to przypuszczalnie o rozkładzie rybosomalnych RNA do rybonukleotydów bądź oligorybonukleotydów.

Na podstawie przytoczonych danych można sądzić, że w ziarnie pszenicy podczas jego dehydracji /której towarzyszy postępujące starzenie się bielma/ następowała degradacja przynajmniej części rybosomów. Istotnie, w skrobiowej części bielma dojrzałych ziarniaków zbóż nie udało się wykryć cząstek rybonukleoproteidowych, przypominających rybosomy [1]. Należy dodać, że komórki zarodka i warstwy aleuronowej bielma zachowują wówczas rybosomy w pełni aktywne o niezmienionej strukturze [1, 6, 11].

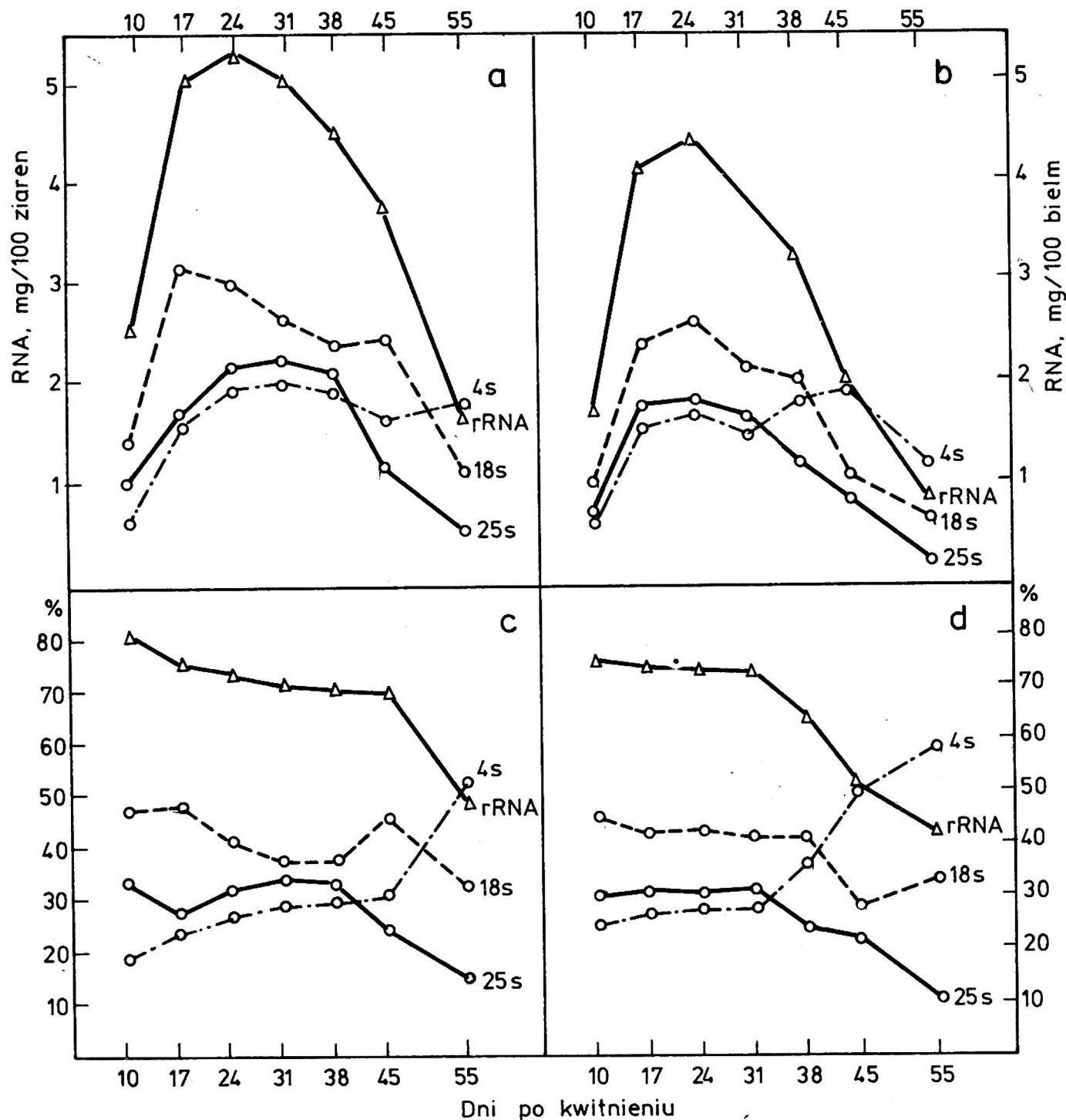
Wyniki wcielania ^3H urydyny /o aktywności 0,005 mCi/ml; czas inkubacji - 6 godz./ przedstawiono na rysunku 1. Najwyższą inkorporację radioaktywnego prekursora RNA zaobserwowano w preparatach rRNA /18 i 25 S/ na początku okresu formowania, tj. w czasie intensywnego





Rys. 1. Profile sedimentacji frakcji ogólnego RNA, otrzymane w wyniku ultrawierowania w gradiencie stężenia sacharozy oraz wcielania radioaktywnego prekursora RNA - ^3H urydyny podczas rozwoju i dojrzewania całych ziarniaków oraz bielm /zarodki odcinano żytejką/:

| | | | |
|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| 1 próba - 10 dni po kwitnieniu; | A - ziarno, A' - bielmo | 4 - próba - 31 dni po kwitnieniu; | D - ziarno, D' - bielmo |
| 2 próba - 17 " " | B - " B' - " | 5 - próba - 38 " " | E - " E' - " |
| 3 próba - 24 " " | C - " C' - " | 6 - próba - 45 " " | F - " F' - " |
| 7 próba - 55 dni po kwitnieniu. | G - ziarno, G' - bielmo | | |



Rys. 2. Zmiany wielkości frakcji ogólnego RNA podczas rozwoju i dojrzewania pszenicy:
 a - w mg RNA/100 ziaren,
 b - w mg RNA/100 bielm,
 c - procentowy udział frakcji RNA w ziarnie,
 d - procentowy udział frakcji RNA w bielmie

gromadzenia rRNA w ziarnie. W miarę rozwoju ziarniaków inkorporacja trytowanej urydyny do frakcji rRNA malała, osiągając najniższe wartości w fazie dojrzałości pełnej. Analizując otrzymane wyniki możemy stwierdzić, że synteza RNA przebiegała w ziarnie do końca okresu dojrzewania, natomiast w bielmie nie zaobserwowano znaczącego wcielania radioaktywnego prekursora już w fazie dojrzałości woskowej oraz w fazie dojrzałości pełnej. Przypuszcza się, że

wcielanie znakowanego prekursora do rybosomalnego RNA w drugiej połowie okresu rozwoju ziarniaków wiązało się głównie z syntezą omawianych związków w zarodkach. Stwierdzenie to jest zgodne z wynikami pracy Chang Changa [2], który, stosując metodę autoradiograficzną, wykazał, że inkorporacja ^{32}P do RNA zarodków jęczmienia zachodzi prawie do końca dojrzewania ziarna.

Nasze badania dotyczące tempa biosyntezy rRNA /określanej na podstawie wcielania ^3H -urydyny/, przebiegającej w ziarniakach pszenicy w początkowym okresie ich rozwoju, dały rezultaty w zarysie zbliżone do wyników podobnych badań przeprowadzonych na formującym się ziarnie sorga [14].

PODSUMOWANIE WYNIKÓW

W pracy przedstawiono zmiany ilościowe oraz syntezę frakcji RNA w ziarnie i bielmie pszenicy podczas rozwoju i dojrzewania. Stwierdzono, że zarówno w bielmie jak i w ziarnie procentowy udział rRNA w ogólnym RNA od początku rozwoju stopniowo maleje. Gwałtowny spadek zawartości rRNA w ogólnym RNA następuje w bielmie od 31 dnia po kwitnieniu, w ziarnie - od 45 dnia po kwitnieniu. Absolutna ilość rRNA, po przeliczeniu na 100 ziaren lub bielm, wzrasta w pierwszej połowie okresu formowania się ziarna, po czym maleje aż do końca dojrzewania. Wskutek degradacji rybosomalnych RNA bielma zdecydowanie wzrosła pod koniec dojrzewania niskocząsteczkowa frakcja 4S. Obniżeniu frakcji rRNA pod koniec dojrzewania nie towarzyszy wzrost absolutny ilości frakcji 4S RNA. Inkorporacja ^3H urydyny do RNA bielma i ziarna jest najwyższa na początku rozwoju i stopniowo maleje do końca dojrzewania. Synteza RNA w ziarnie przebiega do końca dojrzewania. W bielmie natomiast nie zaobserwowano wcielania prekursora do rRNA w okresie dojrzałości woskowej i pełnej ziarna pszenicy.

LITERATURA

1. Abdu-Baki A. A., Baker J. E.: Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seeds? *Seed Sci. Technol.* 1973, 1, 89-126.
2. Chang Chong W.: Incorporation of phosphorus-32 into nucleic acids during embryonic development of barley. *Nature* 1963, 198, 1167-1169.
3. Donovan G. R.: Compositional changes in the developing grain of high- and low-protein wheats. *Cereal Chem.* 1977, 54, 638-656.
4. Dorywalski J., Wojciechowicz M., Bertz J.: *Metodyka oceny nasion*. Wyd. 4. PWRiL. Warszawa 1964.

5. Duffus C. M., Rosie R.: Biochemical changes during embryogeny in *Hordeum distichum*. *Phytochemistry* 1975, 14, 319-323.
6. Durre L. S.: Seed formation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1975, 26, 259-278.
7. Fricke U.: Tritosol: a new scintillation cocktail based on Triton X - 100. *Anal. Biochem.* 1973, 63, 555-558.
8. Grzesiuk S.: Studia nad fizjologią dojrzewającego ziarna zbóż. *Zesz. Nauk. WSR Olsztyn* 1961, 11/104, 3-127.
9. Grzesiuk S.: *Fizjologia nasion*. PWRiL, Warszawa 1967.
10. Grzesiuk S.: Aktualne zagadnienia dojrzewania i spoczynku późniejszego ziarna zbóż. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 1972, 125, 401-425.
11. Gumilewskaja N. A.: W: *Rastielnyje biełki i ich biosintez*. Red. W. L. Kretowicz. Izd. Nauka, Moskwa 1975.
12. Ingle J., Beitz D., Hageman R. H.: Changes in composition during development and maturation of maize seeds. *Plant Physiol.* 1965, 40, /5/, 835-839.
13. Jennings A., Morton R.K.: Changes in nucleic acids and other phosphorus-containing compounds of developing wheat grain. *Austral. J. Biol. Sci.* 1963, 16, 332-341.
14. Johari R.P., Mehta S. L., Naik M. S.: Protein synthesis and changes in nucleic acids during grain development of sorghum. *Phytochemistry* 1977, 16, 19-24.
15. Jones R. A., Larkins B. A., Tsai C. Y.: Storage protein synthesis in maize. *Plant Physiol.* 1977, 59, 525-529, 733-737.
16. Kulka K.: Kwasy nukleinowe w rozwijającym się ziarnie żyta. Cz. 1. Ogólna zawartość kwasów nukleinowych w formującym się zarodku. *Acta Soc. Bot. Polon.* 1966, 35, 17-24.
17. Kulka K., Sójka E., Weidner S.: Kwasy rybonukleinowe w końcowym okresie dojrzewania ziarna żyta i jęczmienia. *Hod. Rośl. Aklim. Nas.* 1977, 21, 431-439.
18. Rejowski A.: Fizjologia i biochemia dojrzewającego ziarna pszenicy. Cz. 1. Morfologia rozwoju oraz fizjologiczne właściwości dojrzewającego ziarna. *Rocz. Nauk. Rol. Ser. A*, 85 /2/, 293-305.
19. Rejowski A.: Fizjologia i biochemia dojrzewającego ziarna pszenicy. Cz. 2. Cukrowce rozwijającego się ziarna pszenicy. *Rocz. Nauk Rol.* 1961, Ser. A, 85 /3/, 37-110.
20. Siemienienko G. I.: Obmien nukleinowych kislót i sintez biełka pri prorastanii i sozrewanii siemian. *Ucz. Zapiski Charkowsk. Un-ta*, t. 137. *Trudy N-iss. Inst. Bioł. Fak.* 1963, 35, 85-97.
21. Sójka E.: Badania nad fizjologią i biochemią rozwijającego się ziarna żyta. Cz. 1. Morfologia rozwoju oraz fizjologiczne właściwości dojrzewającego ziarna. *Hod. Rośl. Aklim. Nas.* 1961, 5, 689-703.

22. Sójka E.: Badańia nad fizjologią i biochemią rozwijającego się ziarna żyta. Cz. 2. Związki azotowe w dojrzewającym ziarnie. Hod. Rośl. Aklim. Nas. 1961, 5, 705-712.
23. Tanifuji S., Higo M., Shimada T., Higo S.: High molecular weight RNA synthesized in nucleoli of higher plants. Biochem. Biophys. Acta 1970 217, 418-425.
24. Wasilewska L. D., Kleczkowski K.: Phytohormone induced changes in the nuclear RNA population of plant protoplasts. FEBS Letters 1974, 44, 164-168.

С.Вайднер, К.Кулька

ФРАКЦИИ РНК И ИХ СИНТЕЗ В СОЗРЕВАЮЩИХ ЗЕРНОВКАХ ПШЕНИЦЫ

Р е з ю м е

В течение периода развития и созревания зерна пшеницы, продолжавшегося 55 дней, было взято 7 проб. Непосредственно после обмола целые зерновки и изолированный эндосперм инкубировали в меченом прекурсоре РНК /³Н-уридин/ и потом экстрагировали суммарную РНК. Очищенный препарат РНК зерновок или эндосперма пшеницы фракционировали путём ультрацентрифугирования в градиенте сахарозы. Радиоактивность измеряли при помощи сцинтилляционного счётчика. Количество общей РНК / в пересчёте на 100 штук/ повышалось как в зерновках, так и в эндосперме до 24 дня после цветения. По мере дальнейшего развития количество общей РНК снижалось, что было наиболее заметно в эндосперме. Относительное содержание р-РНК /выраженное в процентах общей РНК/ снижалось в течение всего периода развития и созревания как в целых зерновках, так и в эндосперме. Резкое снижение процентной доли р-РНК в общей РНК/ до 48% в зерновках и 42% в эндосперме/ наблюдалось в эндосперме по истечении 31 дня от момента цветения, а в зерновках - после 45 дней. Абсолютное количество р-РНК в пересчёте на 100 штук в первой половине формирования зерна повышалось, а потом снижалось до фазы полной зрелости. В результате деградации рибосомальной РНК /происходящей в эндосперме/, наибольшую интенсивность которой отметили в конце созревания зерна, значительно повысилась процентная доля низкомолекулярной фракции 4^S РНК. Абсолютное количество фракции 4^S РНК в конце созревания не увеличивалось, что, вероятно, свидетельствует о распаде рибосомальной РНК на рибонуклеотиды или олигерибонуклеотиды. На основании приведенных данных можно сделать вывод, что в зерне пшеницы во время его дегидратации/которой сопутствует прогрессирующее старение эндосперма/ наступает деградация по крайней части рибосом. Инкорпорация ³Н-уридина в РНК зерновок и эндосперма была наиболее интенсивной в начале развития зерна и потом постепенно уменьшалась. В целых зерновках синтез РНК происходил до конца созревания, в то время как в эндосперме уже не наблюдалось включения прекурсора в р-РНК во время восковой и полной зрелости.

S. Weidner, K. Kulka

FRACTIONS OF RNA AND THEIR SYNTHESIS
IN RIPENING WHEAT GRAINS

Summary

Seven samples of seeds were taken during the entire course of the development and ripening of wheat seeds /55 days/. Directly after separation from the ears the whole seeds and embryoless endosperms were treated with labelled RNA precursor, ^3H -uridine. After 6 h of incubation at 25°C the total RNA was extracted and fractionated by ultracentrifugation in a sucrose gradient.

Radioactivity was determined by scintillation counter. The amount of total RNA /per 100 seeds/ increased until 24 days after flowering, both in whole seed and endosperm. During the following periods of the seeds development the total RNA decreased, particularly in the endosperms. The relative amount of rRNA in total RNA /calculated in % of RNA/ decreased during the entire period of the seeds development and ripening. From 31st and from 45th day after flowering in the endosperms and the whole seeds respectively, dropped the percentage of rRNA in total RNA up to 48% in seeds and 42% in endosperms. The total amount of rRNA /per 100 seeds or endosperms/ increased during the first half of the development period of wheat seeds and then decreased until full ripeness. Due to degradation of the ribosomal RNA /which took place in endosperm/, mainly during the final period of grain development, the percentage participation of low-molecular fraction of 4 S RNA distinctly increased. At the end of the ripening stage a decrease of the amount of both rRNA fractions /per 100 seeds or endosperms/ was not accompanied by an increase of the total amount of 4S RNA fraction. It was probably due to the degradation of the ribosomal RNA to ribonucleotides and digoribonucleotides.

On the base of the presented results the suggestion that during dehydration of the wheat grains /which is accompanied by endosperm senescence/ the degradation, at least partially amount, of the ribosomes occurs.

The ^3H -uridine incorporation into RNA of the endosperms and whole grains was highest at the end of seeds development and then gradually decreased. The RNA synthesis took place until the end of the ripening stage. However, in the endosperms the incorporation of ^3H -uridine into rRNA was not observed in the wax and full ripeness.