

JANINA ŁUCZYŃSKA

## BIOCHEMICZNE ASPEKTY PROCESU STARZENIA SIĘ NASION

Współczesne poglądy na przyczyny starzenia się organizmów są jeszcze w dużej mierze hipotetyczne. Z niedostatecznej znajomości procesu wynika ciągły brak rozgraniczenia między przyczynami a skutkami obserwowanych objawów starzenia, zarówno w ramach całego organizmu, jak i jednej komórki [20].

Poszukiwania idą w kierunku określenia zmian metabolicznych, które towarzyszą starzeniu oraz sposobów zapobiegania tym zmianom i wynikają z licznych motywów.

Jednym z nich jest potrzeba zabezpieczenia środków żywności poprzez zachowanie żywotności przechowywanych nasion. Długość okresu życia nasion kształtują właściwości genetyczne gatunku i warunki zewnętrzne [21, 12]. Pierwszy z wymienionych czynników związany jest z budową nasion oraz właściwościami ich metabolizmu; drugi natomiast stanowi układ warunków, w jakich nasiona dojrzewają i w jakich są przechowywane. Kompleks wymienionych czynników będzie optymalny dla zachowania pełnej żywotności nasion większości gatunków, jeżeli zapewni stan ich abiozy, polegającej na maksymalnym ograniczeniu procesów dysymilacyjnych podczas przechowywania [12].

Jakkolwiek zaznaczają się różnice metaboliczne w nasionach o różnym stopniu degradacji, nie jest jeszcze znany mechanizm działania procesu degradacji żywotności nasion. Nie stwierdzono też, czy wszystkie typy degradacji — przyspieszone lub naturalne starzenie, uszkodzenie wywołane temperaturą i grzybami przechowalniczymi — wpływają na metabolizm w ten sam sposób.

### Oddychanie

Życie uwarunkowane jest intensywną przemianą materii, przy czym procesy syntezy protoplazmy powinny co najmniej wyrównywać straty kataboliczne. Stan taki wymaga stałego dopływu energii uzyskiwanej w procesach utleniania i redukcji, zachodzących podczas oddychania.

Związek między intensywnością oddychania, mierzoną we wczesnych godzinach kiełkowania a stopniem degradacji nasion jest trudny do ustalenia. W starzejących się nasionach obniżenie ilości pobieranego tlenu może wyprzedzać [27], towarzyszyć [1, 4, 19] lub występować później [1, 3] w stosunku do objawów zanikającej zdolności kiełkowania. Przyczyny różnic oddychania nasion starzejących się nie są zrozumiałe. Można by je tłumaczyć różnicami gatunkowymi, wpływem plewek czy okryw nasiennych, lub struktur (endosperm) nie związanych bezpośrednio ze zdolnością kiełkowania osi zarodka [5]. Wymienione przyczyny znajdują potwierdzenie w wynikach badań oddychania nasion o obniżonej żywotności. Dodatnią korelację stwierdzono między intensywnością oddychania we wczesnych fazach kiełkowania a siłą wzrostu siewek kukurydzy [27] i pszenicy [16]; nie obserwowano jej natomiast w przypadku świeżych i starych nasion jęczmienia [1, 3].

W przeciwieństwie do pobierania  $O_2$ , wydzielanie  $CO_2$  przez stare nasiona jęczmienia było wyraźnie wyższe niż przez nasiona świeże i przebiegało zależnie od żywotności nasion. Różnice te były największe podczas pierwszych godzin pęcznienia [3]. Wydzielanie większej objętości  $CO_2$  przez stare nasiona jęczmienia wpływa na wyższe wartości współczynnika oddechowego ( $RQ = CO_2/O_2$ ) przy niezmiennym poziomie pobierania  $O_2$ . Podobną zależność stwierdzono u kukurydzy [27].

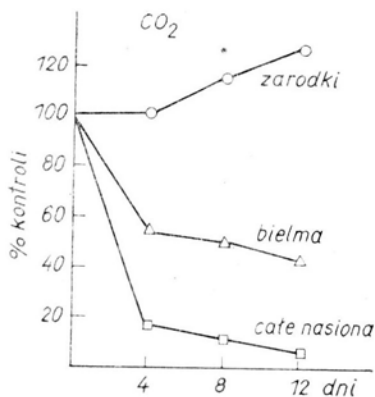
Wartości  $RQ$  zmieniały się dla pęczniejących nasion jęczmienia po usunięciu plewek, lub przez oddzielenie zarodka od bielma [3]. Usunięcie plewek obniżało współczynnik oddechowy bardziej przez zwiększenie pobierania  $O_2$  niż wydzielanie  $CO_2$ . Wyniki te sugerują, że plewki działają jako bariera, która obniża pobieranie  $O_2$ , ale nie wpływa na wydzielanie  $CO_2$ . Oddzielenie zarodków od bielma natomiast zwiększyło zarówno wydzielanie  $CO_2$  jak i pobieranie  $O_2$ , co można by tłumaczyć większą powierzchnią odsłoniętych tkanek, umożliwiającą szybką wymianę gazową. Różnice w wartościach  $RQ$  zarodków i bielma mogą więc nasuwać przypuszczenie występowania różnic w ich metabolizmie. W miarę degradacji żywotności nasion pobieranie  $O_2$  i wydzielanie  $CO_2$  obniża się stopniowo w zarodku, ale pozostaje niezmiennym w bielmie [6].

### Metabolizm węglowodanów

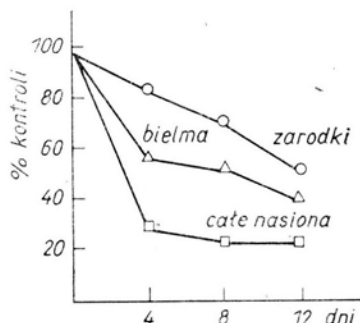
W badaniach nad przemianami węglowodanów nasion po okresie przyspieszonego starzenia się zwrócono uwagę na zdolność metabolizowania glukozy i maltozy do  $CO_2$  i związków nierozpuszczalnych w etanolu (polisacharydów i białek) podczas pierwszych godzin kiełkowania [1, 8, 4, 6]. U pszenicy i jęczmienia stwierdzono dodatnią korelację między obniżeniem zdolności wykorzystania węglowodanów do procesów syntezy a obniżoną zdolnością kiełkowania. Wykazano przy tym, że zmiany w bielmie różnią się i są niezależne od zmian w zarodku [6]. Stwierdzono bowiem, że włączanie  $C^{14}$  ze znakowanej glukozy do  $CO_2$ , wielocukrowców i białek obniża się w bielmie, natomiast w zarodku redukcją była tylko włączenie  $C^{14}$  do wielocukrowców i białek (ryc. 1, 2). Różnice te nasuwają przypusz-

czenie, że proces degradacji żywotności nie wpływa na wszystkie tkanki, czy metaboliczne szlaki w ten sam sposób.

W przebiegu krzywych włączania glukozy do wielocukrowców i białek całych nasion i bielm zwraca uwagę duże podobieństwo i bardzo szybkie obniżanie wymienionych wskaźników na początku obserwowanego procesu degradacji.



Rys. 1



Rys. 2

Ryc. 1. Wpływ warunków przyspieszających starzenie (45°C i 100% wilgotności powietrza) na metabolizm glukozy do CO<sub>2</sub> w całych nasionach, bielmach i zarodkach pszenicy (wg Andersona)

Ryc. 2. Wpływ warunków przyspieszających starzenie na metabolizm glukozy do wielocukrowców i białek w całych nasionach, bielmach i zarodkach pszenicy (wg Andersona)

W przytoczonych badaniach wskaźniki obniżonej zdolności wykorzystania węglowodanów wyprzedzały wskaźniki obniżonej zdolności kiełkowania, jako objawy procesu degradacji żywotności nasion.

### Metabolizm kwasów organicznych

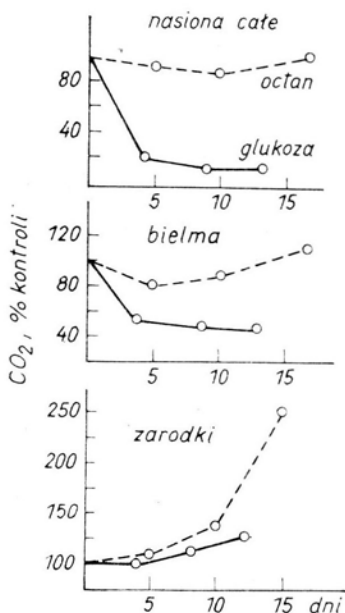
Pomimo dużych ograniczeń w metabolizmie cukrowców nasion zbóż po okresie przyspieszonego starzenia, małe są zmiany w możliwościach zużywania „aktywnego kwasu octowego” (acetylo-CoA), który powstaje w przemianie węglowodanów i kwasów tłuszczowych [6]. Acetylo-CoA jest formą, w jakiej produkty przemiany materii włączają się w cykl końcowych przemian, tzn. w cykl kwasu cytrynowego, który umożliwi rozkład cząsteczki kwasu octowego (pod postacią acetylo-CoA) do dwutlenku węgla i wodoru.

W miarę degradacji żywotności nasion pszenicy i jęczmienia ilość wytwarzanego przez całe nasiona i bielma <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> z octanu znakowanego <sup>2</sup><sup>14</sup>C utrzymywała się na stałym poziomie, natomiast zwiększała się w zarodkach [6] (ryc. 3).

Według autorów wymienionej pracy świadczyłoby to, że enzymy szlaku glikolitycznego i cyklu kwasów trójkarboksylowych bielm i zarodków nie zostały naruszone w badanych stadiach degradacji żywotności.

Aktywny kwas octowy (acetylo-CoA) jest związkiem wyjściowym do reakcji syntez poprzez udział w transaminacji  $\alpha$ -ketokwasów (z cyklu kwasu cytrynowego) i w syntezie kwasów tłuszczowych.

W omawianej pracy stwierdzono wysoki poziom włączenia (30–40%) acetylo-CoA do aminokwasów bez względu na żywotność nasion. W przeciwieństwie do tych danych, włączenie aktywnego kwasu octowego do tłuszczowców, polis-



Ryc. 3. Porównanie ilości CO<sub>2</sub> wytwarzanego z octanu i glukozy przez całe nasiona, bielma i zarodki po okresie przyspieszonego starzenia (wg Andersona)

charydów i białek bielma i zarodków obniżało się w miarę postępowania procesu degradacji, co wskazywałoby na zaburzenia w przebiegu syntezy związków wysokomolekularnych.

Wniosek ten jest jednocześnie podstawą do przypuszczenia, że niska szybkość syntezy polimerów jest jednym z powodów obniżenia zdolności kiełkowania nasion. Niemniej mechanizm w jaki proces degradacji żywotności wpływa na metabolizm nie jest znany. Nie wiadomo też jaka jest wzajemna zależność procesów przemiany materii w poszczególnych typach degradacji (naturalnej, przyspieszonej, spowodowanej grzybami przechowalniczymi) żywotności zależnie od warunków przechowywania.

### Kwasy nukleinowe

Próbie częściowego wyjaśnienia wpływu procesu starzenia się nasion na ich metabolizm podejmuje Kulka [19] badając dynamikę kwasów nukleinowych, zmiany aktywności niektórych enzymów oraz zmiany białek rozpuszczalnych,

wchodzących w skład ważnych układów enzymatycznych. Obiektem badań było ziarno owsa i jęczmienia jarego z różnych lat zbioru i naturalnych warunków starzenia.

Przeprowadzone w wymienionej pracy oznaczenia ilości DNA i RNA wskazują na obniżenie i zahamowanie biosyntezy tych związków w miarę zanikania żywotności ziarna. Wniosek ten potwierdzają wyniki włączania  $^{32}\text{P}$  w DNA zarodków starego ziarna, którego zdolność do inkorporacji była bardzo niska, a radioaktywność tego związku nie zwiększała się w ciągu 96 godzin kiełkowania. Autor tłumaczy to procesem degradacji kwasów nukleinowych w nasionach o niskiej żywotności i zahamowaniem replikacji DNA. Zaobserwowane różnice w ilości DNA i RNA między starym ziarnem a ziarnem o pełnej żywotności zaznaczyły się dopiero w procesie kiełkowania.

Do podobnych wniosków skłaniają wyniki oznaczeń ilości DNA i RNA w zarodkach i liścieniach soi poddanej procesowi przyspieszonego starzenia w warunkach wysokiej wilgotności powietrza w przechowywaniu [22].

Szersza i bardziej wnikliwa interpretacja przytoczonych zmian nie jest możliwa z uwagi na niedostateczną jeszcze znajomość funkcji NA w tkankach zapasowych nasion podczas procesu kiełkowania. Niektóre badania z zastosowaniem pierwiastków znaczonych wykazały, że zarodek w procesie kiełkowania wykorzystuje do syntezy cytoplazmatycznego RNA cztery podstawowe rybonukleotydy, pochodzące z kwasu nukleinowego bielma [27].

Nieliczne na ten temat dane w piśmiennictwie nie pozwalają jednak na uogólnienie przytoczonych wyników.

## Enzymy

Proces starzenia się nasion powoduje również zmiany w aktywności enzymów. Niektóre z nich jak dehydrogenazy, katalaza, dekarboksylaza kwasu glutaminowego, oksydaza cytochromowa, peroksydaza wykazują obniżoną aktywność, inne enzymy natomiast jak proteazy, fosfatazy, dezoksyrybonukleaza przejawiają aktywność zwiększoną w miarę zanikania żywotności nasion [24]. Wobec wymienionych prawidłowości słuszna wydaje się sugestia, aby w badaniach nad rolą enzymów w procesie starzenia nasion brać pod uwagę nie tylko nasiona suche, ale i pęczniące. Proces pęcznienia i kiełkowania bowiem powoduje uaktywnienie występujących w nasionach suchych, form latentnych niektórych enzymów, czy ich biosyntezę „de novo” [19].

## Enzymy proteolityczne

Jakkolwiek przeprowadzana przez proteazy dysymilacja białek zapasowych w nasionach wykazuje dużą dynamikę, nie zawsze odpowiada jej wysoka zawartość i aktywność tych enzymów. Należą one do enzymów niedostatecznie jeszcze pozna-

nych. Niewiele wiadomo o regulacji proteolitycznej aktywności podczas kiełkowania nasion. Pewne sugestie wysuwają Guardiola i Sutcliffe [15], przypisując pąkowi szczytowemu i osi zarodka rolę regulującą proces hydrolizy białek w liścieniach.

Bardziej szczegółowe badania aktywności proteaz w pęczniących i kiełkujących starych nasionach przeprowadzono na ziarnie owsa i jęczmienia [19]. Stwierdzono w nich, że naturalne starzenie zmieniało właściwości enzymów — zwiększała się bowiem energia aktywacji katalizowanych przez proteazy reakcji. Ponadto przesunięciu ulegały zakresy optymalnych pH dla działania tych enzymów. Obserwowano również pewne zmiany w aktywności proteolitycznej preparatów białkowych, uzyskanych po rozdziale chromatograficznym. W miarę zanikania żywotności ziarna badanych gatunków zmniejszyła się aktywność proteolityczna albumin nieadsorbowanych na anionicie a także heterogenność wszystkich frakcji proteaz. Ogólnie jednak zmiany te nie były tak duże, jak w przypadku innych enzymów (rybonukleaz, amylaz, ATPaz).

### Enzymy nukleolityczne

Równoległe ze zmianami w ilości i biosyntezie kwasów nukleinowych występuje zmniejszenie natężenia hydrolizy RNA do cyklicznych nukleozydofosforanów i nukleotydów. Wniosek ten nasuwają wyniki badań zarodków i liścieni zarówno ziarna jęczmienia i pszenicy różnego wieku, jak i soi po przyspieszonym procesie starzenia [13, 22]. W przypadku wymienionych gatunków zbóż badano aktywność rybonukleaz w całym homogenacie, we frakcji mitochondrialnej i frakcji cytoplazmatycznej [13]. We wszystkich frakcjach obserwowano obniżenie aktywności rybonukleazowej, przy czym było ono największe we frakcji cytoplazmatycznej, która odznaczała się również największą aktywnością rybonukleazową w nasionach świeżych.

Obserwowano ponadto zmianę właściwości fizykochemicznych tych enzymów, na co wskazywało przesunięcie optimum pH dla ich działania.

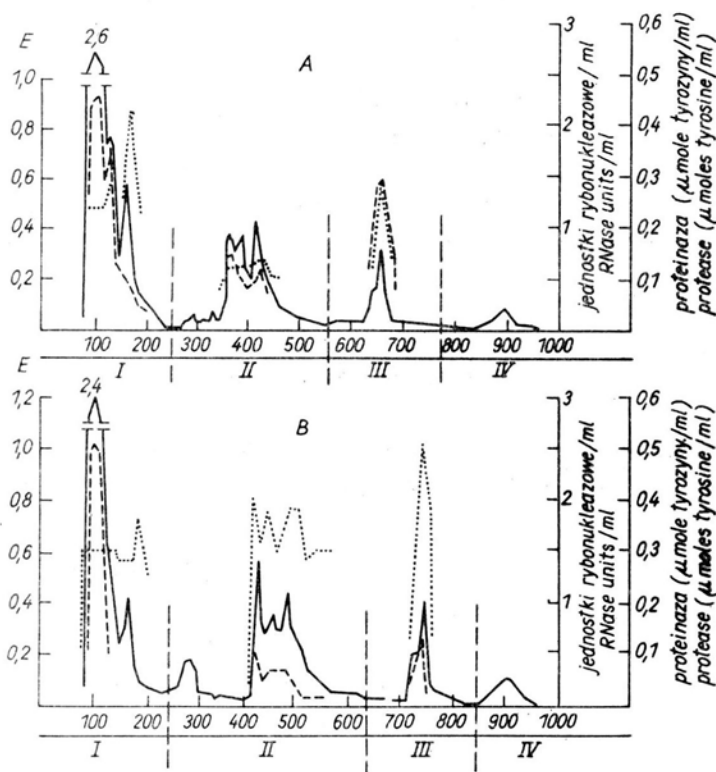
Kształtowanie się aktywności RNaz w albuminach badanych gatunków po chromatografii na anionicie DEAE celulozie (ryc. 4) wykazało istnienie wielorakich form tych enzymów, a liczba ich malała w miarę starzenia się ziarna. Stwierdzono również, że nierównomiernie zmniejszała się aktywność RN-azowa poszczególnych frakcji białka.

Analogiczne (do obserwowanych w naturalnych warunkach starzenia się ziarna jęczmienia i owsa) zmiany aktywności enzymów rybonukleolitycznych stwierdzono również podczas przyspieszonego procesu starzenia soi [22]. Wyraźne różnice w aktywności omawianych enzymów zaobserwowano dopiero podczas kiełkowania nasion o obniżonej żywotności. W ich liścieniach aktywność RNaz w zarodkach ulegała znacznemu zahamowaniu, wstrzymując tym samym degradację RNA. Jednocześnie, w wyniku między innymi niskiej aktywności RNaz w zarodkach, wstrzymana została przypuszczalnie resynteza RNA a następnie i procesy wzrostu.

Odmianą zależność stwierdzono między żywotnością zarodków i aktywnością DNaz u żyta [7]. Dezoksyrybonukleazy obecne w wyciągach z nieżywotnych zarodków powodowały większą degradację DNA niż dezoksyrybonukleazy z zarodków żywotnych. DNazy zachowały więc wysoką aktywność mimo niskiej żywotności ziarna.

### Adenozynotrójfosfataza (ATPaza).

Wśród autorów prac zajmujących się zagadnieniem związku między degradacją żywotności nasion a systemem energetycznym ich komórek istnieją podzielone



Ryc. 4. Aktywność enzymatyczna albumin kiełkującego (2 dni) ziarna owsa różnego wieku po chromatografii na DEAE-celulozie. I—IV roztwory eluujące. Ziarno zebrane w 1962 r (A) i 1964 r (B). Białko (—) proteinaza (---) i RNaza (....) (wg Kulki)

opinie. Jedni uważają, że ujemne zmiany wywołane procesem starzenia obejmują również układ energetyczny [19, 22], inni są zwolennikami przeciwnego poglądu [2, 9, 25].

We frakcji cytoplazmatycznej zarodków starego, niekiełkującego ziarna owsa i jęczmienia stwierdzono w pierwszych godzinach pęcznienia obniżoną aktywność

ATPazy, która zanikała po upływie 96 godz. [19]. W tym samym czasie występowało dopiero działanie tego enzymu we frakcji mitochondrialnej, lecz przyrost aktywności był mniejszy, niż w ziarnie świeżym.

Przytoczone wyniki wykazały współzależność między procesami wzrostowymi w zarodku a katalizą enzymatyczną ATP. Podobna prawidłowość była charakterystyczna dla zarodków i bielm nasion soi, poddanych przyspieszonemu procesowi starzenia.

Bardziej szczegółowe badania mitochondriów — głównego miejsca syntezy ATP w komórce — pozwoliły stwierdzić mniejszą ich wydajność w wytwarzaniu ATP oraz degradację membram mitochondrialnych i zaburzenia w transporcie elektronów w procesie fosforylacji oksydacyjnej [2].

Ustalono również na podstawie licznych oznaczeń istotną korelację między zawartością adenozynotrójfosforanu (ATP) w napęczniałych nasionach a siłą wzrostową siewek [9].

Do przeciwnych wniosków dochodzi Roberts i Osborne [25] na podstawie wyników wprowadzenia ATP do układu biosyntezy białka, wyekstrahowanego z zarodków starych nasion. Nasiona te nie reagowały na obecność ATP w mieszaninie inkubacyjnej, w przeciwieństwie do nasion świeżych, co według autorów sugeruje, że zaburzenia natury energetycznej nie wiążą się z utratą żywotności nasion.

### Organelle komórkowe

Zaburzeniom w metabolizmie nasion starzejących się towarzyszą degeneracyjne zmiany w organellach komórkowych. Przyjmuje się na podstawie wyników pośrednich badań, że spowodowane są między innymi degradacją lipoproteinowych cytomembran [2, 18]. Polega ona prawdopodobnie na powstawaniu w błonach większej ilości por, lub por o większej średnicy, w wyniku oksydacji polarnych lipidów, wchodzących w skład błon lipoproteinowych. Zmiany te mogłyby prowadzić do zaniku wybiórczej półprzepuszczalności cytomembran. Zakłóceniu mogą też ulegać funkcje biochemiczne z uwagi na obecność w błonach licznych enzymów.

Obserwacje cytologiczne zarodków w pierwszych godzinach kiełkowania nasion o obniżonej żywotności wykazały również destrukcyjne zmiany w wewnętrznej błonie mitochondriów, ich nieregularny kształt, słabo rozwinięte lub nadmiernie wydłużone grzebienie [7]. Nietypowy, wydłużony kształt retikulum endoplazmatycznego obserwowano w warstwie komórek różnicujących się i dojrzałych czapecki korzeniowej zarodka. W późniejszych stadiach degradacji żywotności nasion, retikulum endoplazmatyczne ulega degeneracji. Zanikają również polisomy, a rybosomy występują tylko w postaci monosomów [7, 25]. Naruszeniu ulega zatem układ biosyntezy białek.

Berjak i Villiers [7] wykazali przy pomocy znakowanej  $^3\text{H}$  tymidyny uszkodzenie jąder komórkowych w merystematycznej warstwie czapecki korzeniowej. Badania przeprowadzono po 48 godzinach kiełkowania, a więc w fazie, kiedy wystę-



puje już synteza białka i kwasów nukleinowych. Autorzy ci stwierdzili również włączanie  $^3\text{H}$  tymidyny do warstwy komórek niemerystatycznych, co tłumaczą uzupełnieniem (w procesie starzenia) komórek merystatycznych, jako bardziej wrażliwych, przez komórki występujące w stanie spoczynku, mniej wrażliwe na uszkodzenia. Mogło też nastąpić uszkodzenie w komórkach niemerystatycznych mechanizmu represji, który hamuje replikację DNA.

Z innych zmian stwierdzono ubytek plazmalemy w ścianach komórkowych, oraz pęknięcia w plazmalemmie.

### Układ biosyntezy białka

Nieliczne, jak dotąd badania kwasów nukleinowych w nasionach podczas procesu starzenia sugerują przypuszczenia o naruszeniu układu biosyntezy białka. W przytoczonych już wcześniej pracach autorzy wysuwają wnioski o zahamowaniu transkrypcji i replikacji RNA i DNA. Roberts i Osborne [25] przypuszczają, że w procesie naturalnego starzenia występuje również depolimeryzacja kwasów nukleinowych z wyjątkiem t-RNA, który jest bardzo stabilny. Stopniowy zanik RNA stwierdzono we frakcji rybosomalnej o stałej sedymentacji 18S [25] i niezmienny poziom 25S RNA. Spośród enzymów biorących udział w biosyntezie białka, w miarę degradacji żywotności nasion, obniża się aktywność transferazy I, która odgrywa rolę przy związkiwaniu aktywnego aminokwasu z kompleksem m-RNA rybosom. Można więc przypuszczać, że w procesie starzenia nasion ulega naruszeniu proces translacji informacji genetycznej, co uniemożliwia biosyntezę wielu układów enzymatycznych.

Wydaje się, że może ulegać również zmianie konfiguracja przestrzenna (rozfałdowanie) cząsteczki enzymu przypuszczalnie pod wpływem proteolizy [23]. Do takiego wniosku skłania brak aktywności esterazowej w kilku pasmach zymogramu nasion, w których degradacja żywotności nastąpiła pod wpływem wysokiej wilgotności w środowisku przechowywania.

Stwierdzone zaburzenia spowodowane są przypuszczalnie wpływem między innymi szkodliwych produktów reakcji oksydoredukcyjnych, zachodzących w nasionach przechowywanych. Utlenianiu ulegają głównie fosfolipidy a produkty reakcji występują w formie wolnych, reaktywnych rodników, niestabilnych nadtlenków i tlenków. Jedną z wielu możliwych dalszych dróg działania tych związków, które naruszają strukturę i funkcje komórki jest utlenianie grup SH w białkach, co prowadzi do ich unieczynnienia [1, 27]. Wolne rodniki mogą też uszkadzać własności genetyczne DNA. W wyniku utleniania fosfolipidów występujących w cytomembranach zmieniają się, jak już wspomniano wcześniej, właściwości półprzepuszczalne komórki. Wniosek ten sugerują Koostra i Harrington [18] na podstawie oznaczeń polarnych lipidów, uważanych za podstawowe składniki błon komórkowych. Ilość tych związków zmniejsza się bowiem proporcjonalnie do obniżenia zdolności kiełkowania nasion. Należy przy tym zaznaczyć, że są to wnioski wynikające z badań pośrednich.

Szersze możliwości badawcze stwarza technika znaczników spinowych, stosowana w ostatnich latach do badań biologicznych układów błon [26]. Jakkolwiek z techniką tą wiążą się jeszcze trudności w analizie wyników, można przypuszczać, że przy zastosowaniu maszyn cyfrowych uzupełni ona metody spektroskopowe. Zrozumienie i dokładne poznanie układów błon biologicznych oraz ich funkcji przyczyni się znacznie do zrozumienia mechanizmu starzenia się organizmów.

Zakład Biologii i Przechowalnictwa Nasion IHAR, Wrocław

#### LITERATURA

- [1] Abdul-Baki A. A., 1969b. *Relationship of glucose metabolism to germinability and vigor in barley and wheat seeds*. Crop. Sci. 9, 732—737.
- [2] Abu Shakra S. S., M. Ching, 1967. *Mitochondrial activity in germinating new and old soybean seeds*. Crop. Sci. 7, 115—118.
- [3] Anderson J. D., 1970. *Physiological and biochemical differences in deteriorating barley seed*. Crop. Sci. 10, 1970 a, 36—39.
- [4] Anderson J. D., 1970b. *Metabolic changes in partially dormant wheat seeds during storage*. Plant Physiol. 46, 605—608.
- [5] Anderson J. D., 1973. *Metabolic changes associated with senescence*. Seed Sci. and Technol. 1, 2, 1973, 401—416.
- [6] Anderson J. D., Abdul-Baki A. A., 1971. *Glucose metabolism of embryos and endosperms from deteriorating barley and wheat seeds*. Plant Physiol. 48, 270—272.
- [7] Berjak P., Villiers T. A., 1972. *Ageing in plant embryos*. New Phytol. 69, 1970, 929—938, za E. H. Roberts — Viability of seeds. London, 253—300.
- [8] Chen S. C. C., Varner J. E., 1970. *Respiration and protein synthesis in dormant and afterripened seeds of Avena fatua* — Plant Physiol. 46, 108—112.
- [9] Ching T. M. i Danielson R., 1972. *Seedling vigor and adenosine triphosphate level of lettuce seeds* — Proc. Assoc. Offic. Seed Anal. 62, 116—124.
- [10] Ching T. M., Seoolcraft J., 1968. *Physiological and chemical differences in aged seeds*, Crop. Sci., 8, 407—409.
- [11] Desai J. D., Tappel A. L., 1963. *J. Lipid Res.*, 4, 204.
- [12] Grzebiuk St., 1967. *Fizjologia nasion*, PWRiL, Warszawa, 1967.
- [13] Grzebiuk St., Kulka K., 1971. *Nucleic acid and nucleases in cereal seeds of various ages*, Bull. Acad. Pol. Sci., 19(5), 363—366.
- [14] Grzebiuk St., Łuczyńska J., 1972. *Nucleic acid and proteins in artificially ageing soya bean seeds (Glycine max Merr)*, Bull. Acad. Pol. Sci., XX(12), 891—896.
- [15] Guardiola J. L., Sutcliffe J. F., 1971. *Control of protein hydrolysis in the cotyledon of germinating pea (Pisum sativum L.) seeds*, Ann. Bot., 35, 791—807.
- [16] Kittock D. L., Law A. G., 1968. *Relationship of seedling vigor to respiration and tetrazolium chloride reduction by germinating wheat seeds*, Agron. J. 60, 286—288.
- [17] Koostra P. T., 1973. *Changes in seed ultrastructure during senescence*, Seed. Sci and Technol. 1, 417—425.
- [18] Koostra P. T., Harrington J. F., 1969. *Biochemical effects of age on membranal lipids of Cucumis sativus L. seeds*, Proc. Int. Seed. Test. Assoc. 34, 1—12.
- [19] Kulka K., 1971. *Biochemiczne aspekty starzenia się ziarna owsa i jęczmienia*, Zesz. Nauk. WSR Olsztyn, 6, 2—79.
- [20] Listowski A., 1970. *O rozwoju roślin*, PWRiL, Warszawa.
- [21] Lityński M. i inni, 1960. *Wytyczne do przechowywania nasion*, Biul. IHAR, 4, 3—29.

- [22] Łuczyńska J., 1972. *Activity of some enzymes from soya bean seeds ageing at various air humidities*, Bull. Acad. pol. Sci., Ser. Sci. Biol. 20, 891—896.
- [23] Ostromęcki K., 1975. *Wpływ warunków przechowywania na zdolność kiełkowania nasion kapusty-Brassica oleracea L. var. capitata i próba jego wyjaśnienia przy pomocy techniki zymogramowej wybranych enzymów*, Praca doktorska, IHAR — Radzików.
- [24] Roberts E. H., 1972. *Viability of seeds*, London.
- [25] Roberts B. E., Osborne D. J., 1973. *Protein synthesis and viability in rye grains*, Seed ecology, London.
- [26] Sawaryn A., 1975. *Znaczniki spinowe i ich zastosowanie w badaniach biochemicznych*, Post. Biochem. 21, 21—56.
- [27] Siemienienko G. J., 1964. *K biochemii obmienu nukleinowych kwasów u wyższych roślin*, Charkow.
- [28] Wilenczyk M. M., 1970. Usp. Sown. Biel. 69, 380—397.
- [29] Woodstock L. W., Grabe D. F., 1967. *Relationships between seed respiration during imbibition and subsequent seedling growth Zea mays*, Plant Physiol. 42, 1071—1076.