

Wolne aminokwasy w procesie jaryzacji ziarna żyta ozimego (*Secale cereale* L.)

Free amino acids in vernalization process of winter rye (Secale cereale L.)

ST. GRZESIUK, K. KULKA

WSTĘP

Próby wyjaśnienia mechanizmu jaryzacji liczą ponad trzydzieści lat (Napp-Zinn 1961; Purvis 1961). Pomimo różnorodnych i obszer-nych badań poświęconych temu zagadnieniu jego istota pozostaje nadal w sferze teoretycznych dyskusji i hipotez (Chouard 1960; Purvis 1961). Słuszną przeto wydaje się sugestia Razumowa i Olejnikowej (1959) podkreślająca, że najbardziej skuteczną drogą rozwiązania są żmudne badania biochemiczne tych procesów, które towarzyszą jaryzacji. W zakresie tym wykonano już wiele prac fragmentarycznych (por. Chouard 1960, Razumow 1961; Grzesiuk i Kulka 1962), których wyniki jednak są z sobą dość sprzeczne. Przyczyny rozbieżności tkwią najczęściej w stosowaniu różnej metodyki badań oraz w przyjmowaniu nieodpowiednich wzorców kontrolnych (np. nasion suchych). Dość często mechanizm jaryzacji związany jest z metabolizmem węglowodanowym. Dokładniejsze jednak analizy (Grzesiuk, Kulka 1962) wykazują, że rejestrowane przez wielu autorów przemiany cukrowcowe, zachodzące podczas jaryzacji ziarna, są wynikiem pęcznienia i kiełkowania, a nie samego procesu jaryzacji. Metabolizmu cukrowcowego nie można zatem uważać za specyficzny wskaźnik jaryzacji, lecz jedynie za czynnik umożliwiający ten proces.

Druga grupa autorów łączy proces jaryzacji z przemianami azotowymi (Kiryłowa 1955; Błagowieszczenski, Iwanowa, Kiryłowa 1957; Waluca, Brad 1960; Sparmann 1961; Chouard 1960; Razumow i Olejnikowa 1959). Według przytoczonych badaczy w ziarnie zachodzi podczas jaryzacji hydroliza związków białkowych, prowadząca do pojawiania się w zarodkach i bielmie dużej ilości wolnych aminokwasów. Trudno jednak te dane uznać za właściwy efekt jaryzacji, ponieważ podobne wyniki uzyskuje się przy analizie ziarna kiełkującego, a nie jaryzowanego (Linko, Milner 1959). Należy więc przypuszczać, że obserwowane (Kiryłowa 1955; Błagowieszczenski, Iwanowa, Kiryłowa 1957) w ziarnie podczas jaryzacji zwiększenie azotu aminowego jest jedynie efek-

tem względnym, stwierdzanym wówczas, gdy kontrolą jest ziarno suche. Pogląd ten potwierdza, jak się wydaje, ostatnie doniesienie Markowskiego i współpr. (1962).

Z drugiej jednak strony wiadomo, że metabolizm związków azotowych jest szczególnie wrażliwy i plastyczny na działanie różnorodnych czynników zewnętrznych i wewnętrznych (Steward, Pollard 1957; Grzesiuk, Kulka 1960; Grzesiuk 1961), toteż wnikliwe prześledzenie zmian podczas jaryzacji ziarna może w pewnej mierze przybliżyć nas do zrozumienia istoty tego procesu.

Praca niniejsza będąca dalszym ciągiem badań opublikowanych wcześniej (Grzesiuk, Kulka 1962) miała właśnie na celu wyjaśnienie, w jakiej mierze proces jaryzacji wpływa na dynamikę wolnych aminokwasów w ziarnie żyta jaryzowanego oraz nie jaryzowanego.

METODYKA

Jaryzacja. Ziarno żyta (odm. Ludowe) zadawano w szalkach Petriego wodą w ilości 33% jego powietrznie suchej masy i pozostawiano w temperaturze pokojowej (18—20°C) na przeciąg jednej doby. Następnie szalki przenoszono do szafy chłodniczej, gdzie w temperaturze 1—3°C powyżej 0°C, odbywała się jaryzacja w ciągu 45 dni. Systematycznie co dwa dni szalki przewietrzano oraz uzupełniano w nich zawartość wody do 33%. Równocześnie w odstępach trzydniowych pobierano próby ziarna przeznaczone do analiz.

W celu uzyskania odpowiedniego porównania wyników (kontroli), założono analogiczne doświadczenie w temperaturze pokojowej (18—20°C). Próby ziarna z tego doświadczenia pobierano jednak codziennie. Przeprowadzone wcześniej obserwacje wykazały bowiem, że wzrost kielków jaryzowanych w ciągu 45 dni odpowiada w przybliżeniu ich wzrostowi przy temperaturze 18—20°C w ciągu 15 dni (oczywiście przy tej samej wilgotności ziarna). Obydwa doświadczenia założono w dwukrotnym powtórzeniu; w taki też sposób przeprowadzono analizy.

Analizy. Próbkę ziarna przeznaczone do analiz utrwalano parą wodną w sterylizatorze Kocha, po czym igiełkami oddzielano od bielma zarodki z tarczkami. Następnie materiał suszono w temperaturze 40°C, mielono w młynku domowym i przechowywano w hermetycznych naczyniach.

Ekstrakcję wolnych aminokwasów oraz analizy chromatograficzne przeprowadzono według metodyki podanej w poprzednich pracach (Grzesiuk 1961; Grzesiuk i Kulka 1960). Roztwór наносzono za pomocą mikropipetki w ilości 20 μ l wyciągu z zarodków i 40 μ l wyciągu bielmowego. Roztwory standartowe (0,5%) наносzono w ilości 10 μ l. Ilościowe oznaczanie aminokwasów przeprowadzono na densytopetrze Jouana. Metodą tą nie udało się jednak oznaczyć wszystkich

siedemnastu wyodrębnionych aminokwasów. Przyczyną tego było bądź odmienne zabarwienie plamy (np. proliny), bądź też występowanie poszczególnych aminokwasów w ilościach śladowych. Względne wartości tych związków (cystyny, seryny z glicyną, tyrozyny, tryptofanu i kwasu γ -aminomasłowego) podano w tabelach według następującej skali: + ślady; ++ mało; +++ ilość dość znaczna; ++++ dużo; +++++ bardzo dużo.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Proces jaryzacji może przebiegać tylko przy odpowiednim natężeniu przemiany materii (Grzesiuk 1962). Sztucznie najczęściej przeprowadza się ten proces podczas pęcznienia i kiełkowania ziarna (Napp-Zinn 1961; Purvis 1961). Wiadomo, że kiełkowanie nasion czy ziarna jest dość ściśle powiązane z dysymilacją białkową (Kretowicz 1961). Powstające przy tym wolne aminokwasy oraz ich pochodne przemieszczają się do zarodka (kiełka) i tam zużywane są przede wszystkim do budowy tkanek roślinnych.

Otrzymane w niniejszym doświadczeniu wyniki zostały zebrane w tabelach 1, 2, 3 i 4. Wykazały one, że najwyższa liczba wolnych aminokwasów występowała w bielmie ziarna jaryzowanego (szesnaście), najniższa zaś w zarodkach (trzyście). W tych ostatnich brakowało seryny z glicyną, tryptofanu oraz kwasu γ -aminomasłowego, tj. tych związków, które w bielmie występowały jedynie w ilościach śladowych. Aminokwasy te zanikały zwykle pod koniec okresu jaryzacji i kiełkowania. Prawdopodobnie związane to było z włączeniem ich do intensywnych procesów syntezy, zachodzących w zarodkach i kiełkach. Mogły być one przy tym zużyte zarówno do budowy białek protoplazmy, jak i syntezy niektórych witamin (Owczarow 1958), czy też substancji wzrostowych (Nitsch 1957; Meister 1957; Kretowicz 1961).

Pojawienie się omawianych związków w bielmie było oczywistym rezultatem hydrolizy białek, głównie glutelin i gliadyn, w skład których te aminokwasy wchodziły w znacznych ilościach (Błagowieszczeńskij 1958). Występowanie natomiast kwasu γ -aminomasłowego, który w skład białek nie wchodzi, było prawdopodobnie wynikiem dekarboksylacji części kwasu glutaminowego.

Zasadniczych jednak różnic jakościowych pomiędzy składem aminokwasowym ziarna jaryzowanego (tabele 1 i 3) oraz ziarna kiełkującego w temperaturze pokojowej (tabele 2 i 4) nie stwierdzono. Zarejestrowane natomiast zostały dość wyraźnie różnice w ilości poszczególnych aminokwasów, co szczególnie zaznaczało się w zarodkach. Jest to oczywiste, jeśli uwzględnić fakt, że tam właśnie zlokalizowana jest reakcja ziarna na jaryzację (Purvis 1961). Różnice pomiędzy ilością aminokwasów

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

Zawartość wolnych aminokwasów (w mg./100g powietrzno-suchej masy) w zarodkach żyta jaryzowanego w temp. +1 -+3°C
 Contents of free acids (in mg /100g air-dry mass) in embryos of vernalized /in temp. +1 -+3°C/ winter rye.

Ip. No.	Nr próby No. of samples		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Dzień jaryzacji Day of vernaliz.																
	Aminokwasy Amino acids		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45
1	Cystine		+	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2	Lysine		42,5	39,5	66,2	66,2	106,2	112,5	100,0	100,0	120,0	75,0	97,0	118,0	75,0	125,0	112,5
3	Asparagine		++	+	+	+	+	+	++	++	++	++	+	+	++	++	++
4	Arginine		175,0	165,9	162,5	137,5	162,5	162,0	175,0	160,0	162,5	150,0	187,5	175,0	212,0	200,0	175,0
5	Glutamine																
6	Aspartic acid		97,5	75,6	81,2	75,0	67,5	87,5	65,0	65,0	83,7	62,2	93,7	75,0	87,5	91,2	97,5
7	Glutamic acid		77,9	61,6	80,7	76,0	80,7	88,3	74,1	88,0	86,4	72,2	95,0	76,0	77,9	95,0	85,5
8	Alanine		61,7	49,8	49,4	61,7	69,3	64,6	58,9	64,6	72,6	76,0	71,2	57,0	54,0	95,0	95,0
9	Proline		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Tyrosine		0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Valine		47,5	43,7	50,0	50,0	70,0	62,5	66,2	66,2	86,2	90,0	81,2	75,0	62,5	93,7	90,0
12	Phenylalanine		13,7	13,0	12,5	12,5	18,7	15,0	15,0	20,0	17,5	22,5	22,5	22,5	18,7	31,2	18,7
13	Leucine		30,0	26,2	30,0	30,0	37,5	43,7	43,7	43,7	43,7	55,0	55,0	43,7	30,0	67,5	55,0

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

Zawartość wolnych aminokwasów (w mg /100g powietrzno-suchej masy) w zarodkach żyta kiełkującego w temp. 18 - 20°C.
 Contents of free amino acids (in mg /100g air-dry mass) in embryos of germinated /in temp. 18 - 20°C/ winter rye.

Lp. No.	Nr próby No. samples		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Dzień jarzycacji Day of vernaliz.																
	Aminokwasy Amino acids		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45
1	Cystine	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++
2	Lysine	21,2	50,0	33,7	57,5	33,7	37,5	28,7	27,5	33,7	50,0	43,7	50,0	44,0	43,7	50,0	50,0
3	Asparagine	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	Arginine	187,5	200,0	175,0	200,0	225,0	250,0	225,0	237,5	237,0	262,5	212,0	200,0	250,0	275,0	250,0	250,0
5	Glutamine																
6	Aspartic acid	87,5	87,5	67,5	80,0	87,5	67,5	75,0	67,0	75,0	101,2	81,5	77,3	85,0	91,2	68,7	68,7
7	Glutamic acid	106,2	107,5	85,0	87,5	87,5	97,5	100,0	100,0	94,0	108,7	87,5	75,0	90,0	96,2	68,7	68,7
8	Alanine	53,2	50,3	47,5	47,5	51,3	61,7	40,8	41,8	49,4	52,2	47,5	39,9	38,9	69,7	53,2	53,2
9	Proline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Tyrosine	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
11	Valine	60,0	80,0	55,0	62,5	77,5	75,0	75,0	67,4	75,0	67,4	72,6	60,0	75,0	75,0	60,0	60,0
12	Phenylalanine	25,0	22,5	10,0	25,0	15,0	17,2	12,5	12,5	15,0	10,0	10,0	10,0	12,5	7,5	10,0	10,0
13	Leucine	36,2	50,0	30,0	25,0	32,5	35,0	30,0	17,2	25,0	30,0	22,5	15,0	15,0	15,0	15,0	10,0

T a b e l a 3 - T a b l e 3

Zawartość wolnych aminokwasów (w mg /100g powietrzno-suchej masy) w bielmie żyta jaryzowanego w temp.+1 --+3°C.
 Contents of free amino acids (in mg /100g air-dry mass) in endosperms of vernalized /in temp.+1 --+3°C/ winter rye.

Lp. No.	Nr próby No. samples		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Dzień jaryzacji Day of vernaliz.		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45
Aminokwasy Amino acids																	
1	Cystine	+	18,7	15,6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Lysine		18,7	18,0	18,7	18,0	18,0	18,0	19,2	25,0	15,0	15,0	20,2	14,3	18,7	25,1	16,0
3	Asparagine]	28,1	30,0	30,0	33,7	33,7	40,6	31,2	31,2	31,2	37,5	36,2	36,2	34,3	44,6	44,6
4	Arginine																
5	Glutamine		34,3	36,2	41,8	34,5	39,0	43,7	50,0	47,6	53,1	62,0	56,2	59,3	56,2	73,2	65,1
6	Aspartic acid		50,0	50,0	46,8	50,0	48,1	44,5	50,0	37,5	43,7	43,7	43,7	43,7	47,5	39,0	46,8
7	Serine + glycine		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0
8	Glutamic acid		29,0	29,9	28,3	29,0	30,8	31,4	31,4	27,4	24,5	29,9	31,4	31,4	30,3	34,4	29,0
9	Alanine		15,9	14,8	14,8	13,5	13,5	11,4	9,0	13,5	14,0	15,9	11,4	12,8	15,9	19,8	16,8
10	Proline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Tyrosine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0
12	Tryptophan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0
13	- aminobutric acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0
14	Valine		12,5	18,0	19,2	19,2	25,0	18,7	15,6	25,0	22,4	31,2	28,1	33,7	32,4	33,7	31,2
15	Phenylalanine		2,5	5,0	5,0	7,4	6,2	3,7	6,2	6,2	7,4	13,7	8,7	15,0	13,1	15,6	14,3
16	Leucine		8,7	13,7	15,0	15,0	15,6	12,5	12,5	15,6	18,7	25,0	23,1	25,6	26,0	30,6	23,0

T a b e l a 4 - T a b l e 4

Zawartość wolnych aminokwasów (w mg /100g powietrzno-suchej masy) w białmie żyta kiełkującego w temp. 18 - 20°C.
 Contents of free amino acids (in mg /100g air-dry mass) in endosperms of germinated /in temp. 18 - 20°C/ winter rye.

Lp. No.	Nr próby No. samples		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Dzień jarzycacji Day of wernaliz.																
	Aminokwasy Amino acids		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45
1	Cystine		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Lysine		15,6	12,5	15,0	15,6	19,2	18,7	18,7	15,0	18,7	18,7	25,6	18,7	18,7	20,5	25,0
3	Asparagine		41,8	47,2	37,5	34,9	41,9	36,2	36,2	34,9	34,3	37,5	42,5	41,8	42,5	48,1	43,7
4	Arginine																
5	Glutamine		34,9	40,6	36,2	31,2	46,2	47,2	39,0	38,7	41,8	44,5	50,0	50,0	50,6	50,0	48,1
6	Aspartic acid		39,3	37,5	38,1	38,1	40,6	41,2	39,3	39,0	37,5	41,2	42,5	41,8	39,0	43,7	41,2
7	Serine + Glycine		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
8	Glutamic acid		38,0	32,8	30,8	31,4	32,3	31,9	28,0	29,0	33,5	34,4	33,5	33,5	37,3	35,0	33,5
9	Alanine		13,5	10,8	9,0	12,3	10,8	13,5	11,3	9,0	15,3	11,9	12,8	18,0	12,3	16,4	17,3
10	Proline		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Tyrosine		0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++
12	Tryptophan		0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Valine		10,6	12,5	14,3	18,0	13,7	15,6	12,5	12,5	20,5	21,8	22,4	21,8	23,7	20,6	21,8
14	Phenylalanine		4,4	7,4	7,4	6,3	9,3	12,5	8,7	6,8	13,1	12,5	13,7	13,7	13,1	10,6	14,3
15	Leucine		12,5	12,5	16,0	18,0	16,8	18,1	13,1	11,8	18,0	19,2	20,5	19,2	19,2	15,6	16,0

ziarna jaryzowanego i nie jaryzowanego sprowadzić można było do trzech punktów.

1. W zarodkach ziarna kiełkującego zawartość niektórych aminokwasów jednokarboksylowych wyraźnie zmniejszała się w miarę upływu czasu kiełkowania (leucyna, fenylalanina), bądź też ulegała pewnym wahaniom w granicach mniej więcej stałego poziomu (walina i częściowo cystyna). Natomiast w zarodkach ziarna jaryzowanego (tabela 1) zawartość wymienionych wyżej aminokwasów wzrastała (oprócz cystyny) w miarę przebiegu samego procesu jaryzacji.

W bielmie ziarna zarówno jaryzowanego (tabela 3), jak i kiełkującego (tabela 4) obserwowano stały wzrost poziomu omawianych aminokwasów, przy czym w końcowym etapie poziom tych związków był, podobnie jak i w zarodku, wyższy w ziarnie jaryzowanym niż nie jaryzowanym.

Wyraźne zmniejszanie się (o 50%) ilości fenylalaniny i leucyny w zarodkach ziarna kiełkującego, przy równoczesnym wzroście ich zawartości (o około 100%) w zarodkach jaryzowanych sugeruje myśl o syntezie odmiennych w obu przypadkach białek. Wiadomo bowiem, że aminokwasy te w większych ilościach wchodziły zwykle w skład białek trudno rozpuszczalnych. Wynikałoby z tego m.in., że pod wpływem jaryzacji w zarodkach tworzą się w większym stopniu białka łatwo rozpuszczalne, w mniejszym zaś trudno rozpuszczalne. Wniosek taki potwierdzają dawne prace Kono i Wawelowa i Rogaliowa (1937) oraz Maksimowicza (1939). Badacze ci stwierdzili, że jaryzacja ziarna prowadzi do zwiększenia się w nim frakcji białek rozpuszczalnych w wodzie i zmniejszenia ilości prolamin, glutelin i globulin (Razumow 1961).

Szybsze zanikanie omawianych aminokwasów w zarodkach żyta nie jaryzowanego mogło też być związane z większym natężeniem w nim procesów dysymilacji beztlenowej (Kretowicz 1958).

2. Druga wyraźna różnica ilościowa pomiędzy ziarnem jaryzowanym i nie jaryzowanym dotyczyła aminokwasów zasadowych, tj. w niniejszej pracy lizyny i argininy. Wprawdzie ten ostatni związek został w tabelach podany łącznie z amidami, niemniej jednak na podstawie chromatogramów można było o ich dynamizmie sądzić oddzielnie. Świadczą o tym załączone dla porównania fragmenty chromatogramów (por. ryc. 1 i ryc. 2). Należy dodać, że w zarodkach arginina była oznaczana z glutaminą (tabele 1 i 2), w bielmie zaś z asparaginą (tabele 3 i 4).

Uzyskane wyniki wykazały, że zarodki żyta jaryzowanego zawierały przeciętnie 2—3-krotnie więcej lizyny niż zarodki ziarna kiełkującego w temperaturze pokojowej (tabele 1 i 2). Odwrotnie natomiast rzecz się miała z arginina. Dla pełnego jednak przedstawienia dynamiki tego ostatniego związku niezbędne są niżej przytoczone wyjaśnienia.

W zarodkach ziarna jaryzowanego arginina przeważała w ciągu

pierwszych sześciu dni nad glutaminą (ryc. 3). W następnych próbkach ilość jej szybko się zmniejszała i począwszy od 18 dnia jaryzacji, tj. od próbki VI, plama oznaczona w tabeli jako *arginina* + *glutamina* składała się niemal w 80—90% z glutaminy.

W zarodkach żyta kiełkującego w temperaturze pokojowej w pierwszych próbkach ilość argininy i glutaminy była mniej więcej równa. Począwszy jednak od próbki VI ilość jej powoli się zwiększała i pod koniec kiełkowania przeważała ona 2—3-krotnie nad glutaminą.

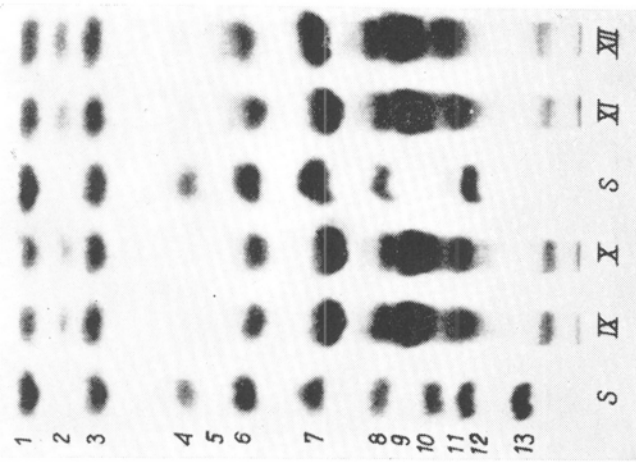
W bielmie, jak już wspomniano, argininę oznaczano łącznie z asparaginą. Ilość tej ostatniej zarówno w ziarnie jaryzowanym, jak i nie jaryzowanym była znikoma; około 90% plamy zajmowała arginina.

Tak więc charakterystyczną cechą zarodków żyta jaryzowanego była bardzo duża ilość lizyny oraz niewielka i malejąca w miarę upływu procesu jaryzacji ilość argininy. W zarodkach żyta nie jaryzowanego ilość argininy była duża i wzrastała w miarę upływu czasu kiełkowania, ilość zaś lizyny była niewielka.

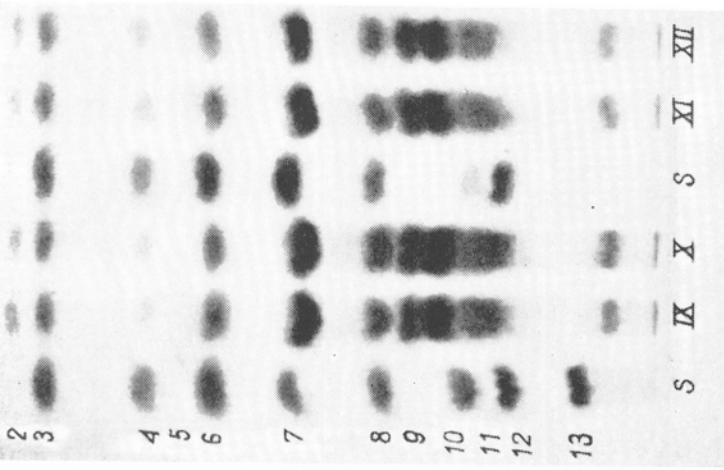
Jak wiadomo, lizyna nie wchodzi w skład prolamin żyta, a w składzie innych białek występuje w ilościach niewielkich (Bła g o w i e s z c z e n s k i j 1958), dlatego też duże nagromadzenie jej w białkach żyta jaryzowanego mogło być przede wszystkim wynikiem dezaminacji i transaminacji części kwasu glutaminowego i glutaminy (M e i s t e r 1957).

Jak już wspominaliśmy, wręcz odwrotnie do opisanego wyżej stanu kształtowała się zawartość argininy. Jej ilość w zarodkach ziarna nie jaryzowanego była szczególnie duża i wyraźnie górowała nad innymi aminokwasami. Tak duża ilość tego związku w kiełkującym ziarnie była rzeczą oczywistą, ponieważ w równie dużych ilościach występuje on w globulinach i prolaminach ziarna zbóż (Bła g o w i e s z c z e n s k i j 1958). Jednak tak zdecydowana przewaga poziomu argininy w ziarnie nie jaryzowanym nad jaryzowanym wskazywała na inny w obu przypadkach kierunek metabolizmu aminokwasowego. Odrębność ta mogła się sprowadzać: a) do mniejszej dezaminacji argininy, b) do mniejszego jej udziału w cyklu ornitynowym Krebsa. Obydwa przypuszczenia mają pośrednio potwierdzenie w literaturze. Pierwsze — dotyczy przesunięcia w wyniku jaryzacji punktu izoelektrycznego plazmy w stronę bardziej kwaśną (R a z u m o w 1961), co może być częściowo wynikiem intensywnej dezaminacji aminokwasów zasadowych. Drugie zaś spostrzeżenie wskazuje, że przy kiełkowaniu ziarna w temperaturze pokojowej pojawia się dużo proliny, czego nie obserwowano przy jaryzacji (M a r k o w s k i 1962).

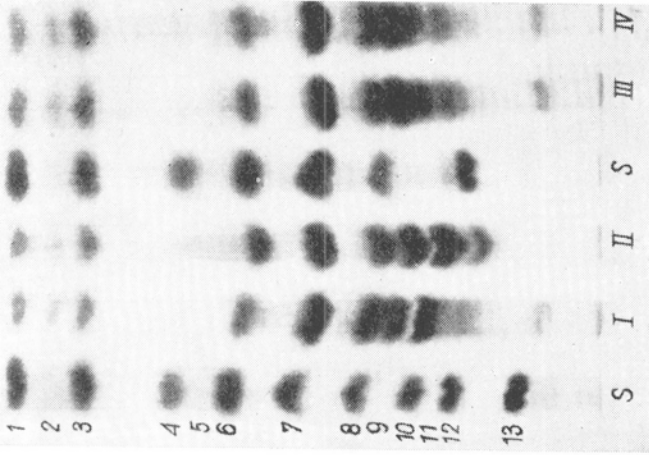
3. Centralną jednak pozycję w metabolizmie azotowym roślin zajmują aminokwasy dwukarboksyłowe (tj. glutaminowy i asparaginowy, oraz ich pochodne (M e i s t e r 1957; K r e t o w i c z 1958). Przede wszyst-



Ryc. 1



Ryc. 2



Ryc. 3

Ryc. 1. Chromatogram wolnych aminokwasów występujących w zarodkach żyta jaryzowanego w temp. 1–3°C
Cyfry rzymskie — próby ziarna; S — standardy; cyfry arabskie — aminokwasy (jak niżej)

Chromatogram of the amino acids of embryos of vernalized (in temp. 1–3°C) winter rye

Roman numerals — samples,

Ryc. 2. Chromatogram wolnych aminokwasów występujących w zarodkach żyta kielkującego w temperaturze 18–20°C
Chromatogram of the amino acids of embryos of germinated (in temp. 18–20°C) winter rye.

Ryc. 3. Chromatogram wolnych aminokwasów występujących w zarodkach żyta jaryzowanego w temperaturze 1–3°C.
Chromatogram of the amino acids of embryos of vernalized (in temp. 1–3°C) winter rye.

1 — leucine; 2 — phenylalanine; 3 — valine; 4 — tyrosine; 5 — proline; 6 — alanine; 7 — glutamic acid; 8 — aspartic acid; 9 — glutamine; 10 — arginine; 11 — asparagine; 12 — lysine; 13 — cystine

kim spośród wszystkich aminokwasów ulegają one najłatwiej oksydatywnej dezaminacji, a powstałe tą drogą związki bezazotowe mogą być zużyte do dalszej przeróbki na węglowodany i tłuszczone. Drugą, bardzo ważną funkcją tych związków jest wiązanie amoniaku powstającego w wyniku dezaminacji innych aminokwasów i tworzenie amidów. Trzecia ich rola sprowadza się do dużej łatwości transaminacyjnej, co ma kapitalne znaczenie dla syntezy i wzajemnych przemian aminokwasów w organizmie roślinnym. We wszystkich procesach mogą brać udział zarówno obydwa aminokwasy, jak i ich amidy. Dzięki wymienionym właściwościom omawiane związki stanowią centralne ogniwa w metabolizmie azotowym roślin.

Zawartość kwasu glutaminowego i asparaginowego oraz ich amidów w bielmie żyta jaryzowanego nie różniła się w sposób istotny od koncentracji tych związków w bielmie żyta nie jaryzowanego (por. tabele 3 i 4). W obu przypadkach wszystkie cztery związki występowały w dość dużych ilościach. Jest to zrozumiałe, bowiem zarówno aminokwasy, jak i amidy mogły powstawać w wyniku bezpośredniej hydrolizy białka (Steward i Pollard 1957).

Wyraźne natomiast różnice w poziomie aminokwasów dwukarboksydowych i ich amidów zarysowały się pomiędzy zarodkami żyta jaryzowanego i nie jaryzowanego. W pierwszym przypadku, tj. podczas jaryzacji, gromadziła się bardzo duża ilość glutaminy, a znikoma ilość asparaginy (tabela 1). W nie jaryzowanych natomiast zarodkach prawidłowość ta kształtowała się wręcz odwrotnie (tabela 2). Równolegle do wymienionych różnic amidowych w pierwszym przypadku było również nieco więcej kwasu glutaminowego, w drugim zaś — asparaginowego. Taki układ wskazywał również na pewną odmienność w metabolizmie aminokwasowym. Gromadzenie w zarodku pod wpływem niskiej temperatury bardzo dużej ilości glutaminy, a znikomej ilości asparaginy wskazywało na dominującą podczas jaryzacji rolę kwasu glutaminowego. Prawdopodobnie tego rodzaju przesunięcie pod wpływem niskiej temperatury ośrodka przemiany aminokwasowej na kwas glutaminowy uwarunkowane było jego zdolnością większą niż kwasu asparaginowego do trans- i dezaminacji (Kretowicz 1961).

Pojawienie się w zarodku żyta jaryzowanego dużej ilości alaniny, przy jednocześnie niskim poziomie asparaginy, wskazywało również na znaczne nasilenie dekarboksylacji kwasu asparaginowego i innych związków. Efektem tego procesu są aminy, które mogą wykazywać stymulujące działanie na tkanki roślinne (Kretowicz 1961).

W zarodkach nie poddanych działaniu niskiej temperatury (tabela 2) aminogrupy „magazynowane” były głównie przez asparaginę i w mniejszej mierze przez glutaminę. Równocześnie mniejsza ilość alaniny wskazywała też na niższe natężenie dekarboksylacji kwasu asparaginowego. W zarodkach nie jaryzowanych bowiem, kwas ten stanowił główne

ogniwo przemian azotowych. Potwierdzała to duża ilość argininy, będącej częściowo pochodną kwasu asparaginowego. Należy w tym miejscu przypomnieć, że spośród aminokwasów zasadowych w zarodkach jaryzowanych dominowała lizyna, tj. pochodna kwasu glutaminowego.

Niewątpliwie tego rodzaju zmiany w przemianie materii nie mogły pozostać bez wpływu na dalszy przebieg ontogenezy roślin.

Reasumując powyższe rozważania, należy jeszcze raz podkreślić, że w wyniku jaryzacji ziarna żyta w jego zarodkach dominującą rolę w metabolizmie azotowym spełnia kwas glutaminowy, w zarodkach zaś ziarna nie jaryzowanego kwas asparaginowy i — w mniejszej mierze — kwas glutaminowy. Tego rodzaju różnice wywierają niewątpliwie wpływ na przebieg ontogenezy roślin.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

W pracy niniejszej porównano za pomocą chromatografii bibułowej zmiany wolnych aminokwasów w ziarnie żyta jaryzowanego (w temp. 1—3°C) oraz kiełkującego w temperaturze pokojowej (18—20°C). Oddzielnie analizowano bielma i zarodki, pobierając próby ziarna jaryzowanego co trzy dni, nie jaryzowanego zaś codziennie. Aminokwasy oznaczano ilościowo za pomocą densytometru Jouana. Stwierdzono:

1. W składzie wolnych aminokwasów ziarna jaryzowanego i kiełkującego w temperaturze pokojowej nie ma istotnych różnic jakościowych.

2. Zarodki ziarna jaryzowanego wyraźnie różnią się od zarodków ziarna nie jaryzowanego ilością poszczególnych aminokwasów. W bielmach różnice te nie zaznaczają się.

3. W zarodkach ziarna jaryzowanego centralnym ogniwem w metabolizmie azotowym jest kwas glutaminowy, w zarodkach zaś ziarna nie jaryzowanego — kwas asparaginowy oraz w mniejszej mierze kwas glutaminowy.

4. Zarodki żyta jaryzowanego zawierają bardzo dużo lizyny oraz niewielką i malejącą w miarę upływu jaryzacji ilość argininy. W zarodkach nie jaryzowanych ilość argininy jest duża i wzrasta w miarę upływu okresu kiełkowania, ilość lizyny natomiast jest niewielka.

5. Trzecia różnica pomiędzy zarodkami jaryzowanymi i nie jaryzowanymi jest mniej wyraźna, a dotyczy występowania aminokwasów jednokarboksylowych. W zarodkach jaryzowanych zawartość leucyny i fenylalaniny wzrasta w miarę przebiegu procesu jaryzacji; odwrotnie rzecz się ma w zarodkach nie jaryzowanych.

6. Zaznaczające się w wyniku jaryzacji różnice w metabolizmie aminokwasowym zarodków wywierają niewątpliwie wpływ na dalszy przebieg ontogenezy roślin.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

In the present paper the changes of free amino acids in vernalized (at $+1 - +3^{\circ}\text{C}$) and germinating (at $+18 - +20^{\circ}\text{C}$) rye grain have been compared by means of paper chromatography. Endosperms and embryos were analysed separately and the samples of vernalized grain were taken every three days, while those of the unvernallized one every day. Amino acids were determined quantitatively by means of the Jouan's densitometer. It has been found:

1. There are no real qualitative differences in the composition of the amino acids of vernalized grain and that germinating at the room temperature.

2. The vernalized grain embryos differ considerably from the embryos of unvernallized grain in the quantity of particular free amino acids. This difference is not visible in endosperms.

3. In the embryos of vernalized grain glutamic acid is the central link in the metabolism of nitrogen, while asparaginic acid and to a less degree glutamic acid play the same part in the embryos of unvernallized grain.

4. The embryos of vernalized rye contain a considerable amount of lysine and a small quantity of arginine diminishing in the course of vernalization. Conversely, in unvernallized embryos the quantity of arginine is considerable and it increases in the course of germination, while there is only a small amount of lysine.

5. The third difference between vernalized and unvernallized embryos is less clear and it concerns the presence of monocarboxylic amino acids. The contents of leucine and phenylalanine increase in the course of vernalization; there is a reverse process in unvernallized embryos.

6. The changes of the amino acid metabolism of the embryos, appearing in the course of vernalization, undoubtedly influence the further process of plant ontogenesis.

LITERATURA

- Błagowieszczenski A. W., 1958, Biochimija obmiena azotsodierzaszczich wieszczestw u rastienij, Moskwa.
- Błagowieszczenski A. W., Iwanowa J. J., Kiriłowa G. A., 1957, Azotisty obmien w naczalnyje fazy razwitija siemjan w usłowjach ochłodzienia, Tezisy dokl. Wies. bot. obszcz., Moskwa.
- Chouard P., 1960, Vernalization and its relations to dormancy, Ann. Rev. Plant Physiol. (11):191—238.
- Grzesiuk St., 1961, Studia nad fizjologią dojrzewającego ziarna zbóż, Zeszyty Naukowe WSR w Olsztynie 11(104):3—127.
- Grzesiuk St., 1962, Dependence of the plants physiological features on the maturity of the seeding grain, Bull. Acad. Polon. Sci., ser. Sci. Biol. 10(2):73—78.
- Grzesiuk St., Kulka K., 1960, Wolne aminokwasy dojrzewającego ziarna zbóż, Roczn. Nauk Roln. 83 — A (2):243—261.
- Grzesiuk St., Kulka K., 1962, Mono- i oligosacharydy w procesie jaryzacji ziarna żyta ozimego (*Secale cereale* L.), Acta Soc. Bot. Polon. 31(1):83—93.
- Kiriłowa G. A., 1955, Azotisty obmien i proteolityczeskie fermenty u ozimój pszenicy pri jarowizacji, Awtoferat kand. dissertacji, Moskwa.
- Konowałow I. N., Rogaliow P. E., 1937, O powiedienii azotistych wieszczestw pri jarowizacji 16(1) (wg Razumowa W. J. 1961).
- Kretowicz W. L., 1958, Biochimija ziarna i chleba, Moskwa.
- Krełowicz W. L., 1961, Osnowy biochimii rastienij, Wyd. III, Moskwa.

- Linko P., Milner M., 1959, Free amino and ketoacids of wheat grains and embryos in relation to water content and germination, *Cereal Chem.* 36(3): 280—294.
- Maksimowicz N. A., 1939, Biochimizheskije izmienenije w swiokłowniczych siemienach w procesie predposiewnej obrabotki, Osn. wywody nauczno-issledowatelskich rabot WNJJJC, Moskwa.
- Markowski A., Myczkowski J., Lebek J., 1962, Preliminary investigations on changes in nitrogen compounds of wheat embryos in the course of germination under various temperature conditions, *Bull. Acad. Polon. Sci., ser. Sci Biol.*, 10(4):145—150.
- Meister A., 1957, Biochemistry of the amino acids, Acad. Press. New York.
- Napp-Zinn K., 1961, Vernalisation und verwandte Erscheinungen, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, red. W. Ruhland, 8:24—75.
- Nitsch J. P., 1955, Free auxin and free tryptofane in the strawberry, *Plant Physiol.*, 30(1):33—39.
- Owczarow K. O., 1958, Rol witaminow w zizni rastienij, Moskwa.
- Purvis O. N., 1961, The physiological analysis of vernalization, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, red. W. Ruhland, 8:76—122.
- Razumow W. J., 1961, Sreda i razwitiie rastienij, Wyd. II, Leningrad.
- Razumow W. J., Olejnikowa T. W., 1959, Sowremiennoje sostojanie issledowanij po jarowizacji, Nasledstwiennost' i izmieniizwost' rastienij, ziwotnych i mikroorganizmow 2:5—15.
- Sparmann G., 1961, Biochemische Untersuchungen über Vernalisation und Blütenbildung der Gerste, *Planta* 57:176—201.
- Steward F. C., Pollard J. K., 1957, Nitrogen metabolism in plants, *Ann. Rev Plant Physiol.* 8:65.
- Waluca G., Brad J., 1960, Biochimizheskije processy proischodiaszczije pri jarowizacji ozimój pszenicy w normalnych usłowjach i posle obrabotki jejo roztworami razlicznych wieszczstw. *Biochim. ziarna* 5:87—99.