

## Kwasy nukleinowe w rozwijającym się ziarnie żyta

Cz. I. Ogólna zawartość kwasów nukleinowych w formującym się ziarniaku

*The nucleic acids in the developing grain of rye*  
*Part I. Total content of nucleic acids in the forming grain*

K. KULKA

### WSTĘP

Proces rozwoju ziarniaka żyta dzieli się na trzy dość wyraźnie zaznaczone etapy morfologiczne (Grzesiuk 1961 b; Sójka 1961 a):

- a) etap zasadniczego formowania bielma (od zapylenia do 9—12 dnia)
- b) etap zasadniczego formowania zarodka (od 9—27 dnia)
- c) etap zasadniczego gromadzenia materiałów zapasowych (od 24—27 dnia do pełnej dojrzałości).

Etapowemu charakterowi morfogenezy ziarniaka towarzyszą odpowiednie zmiany biochemiczne i fizjologiczne (Grzesiuk 1961 b; Sójka 1961 b, 1962; Rejowski 1962 a i b). Zaznaczają się one w metabolizmie azotowym i węglowodanowym, w dynamice witamin i aktywności enzymatycznej, w natężeniu oddychania i zdolności kiełkowania ziarna. Ziarno różnej dojrzałości posiada dzięki temu zróżnicowaną aktywność fizjologiczną, która z kolei wywiera wpływ na fizjologię roślin z niego wyrosłych.

Określony przebieg procesu formowania ziarna oraz kształtowanie jego cech anatomicznych i fizjologicznych uwarunkowane jest przede wszystkim czynnikami natury genetycznej; te zaś wiążą się ze strukturą i przemianami kwasów nukleinowych (KN).

Obecnie przyjmuje się, że KN biorą udział w procesach wzrostu i rozmnażania się komórek, w biosyntezie białek oraz w całości procesów morfo- i ontogenezy roślin (Konariew 1959).

Celem niniejszej pracy było wyjaśnienie związku pomiędzy kształtowaniem się fizjologicznych i biochemicznych właściwości dojrzewającego ziarna a dynamiką w nim KN.

### METODYKA BADAŃ

Obiektem badań było żyto jare (ekotyp mazurski) i żyto ozime (Ludowe). Próby ziarna przeznaczone do analiz KN pobierano w odstępach trzydniowych, począwszy od trzeciego dnia po zapyleniu do pełnej dojrzałości. Ziarno wyjmowano

jedynie ze środkowej części kłosa. Każdą próbę dzielono na dwie części. Jedną z nich utrwalono we wrzącym alkoholu w ciągu 10 minut, drugą w sterylizatorze Kocha w temperaturze 100°C. Utrwalony materiał suszono następnie w suszarce przy temperaturze 70°C do stałego ciężaru. Począwszy od próby 7, w wypadku żyta ozimego, i próby 8 żyta jarego, oddzielono od bielma zarodki przy pomocy igły preparacyjnej. Zarodki utrwalono tylko w parze wodnej ze względu na ich małą ilość. Wysuszone próbki ziarna i zarodków dokładnie mielono na mączkę i przechowywano w hermetycznie zamkniętych naczyniach szklanych, w ciemnym i chłodnym miejscu.

W przygotowanych próbach całego ziarna, bielma i zarodków oznaczono ogólną zawartość KN przy pomocy metody spektrofotometrycznej na podstawie zasad purynowych (Nietupskaja i in. 1959).

Adaptacja każdej metody do oznaczeń omawianych związków w zróżnicowanych tkankach i organach roślin wyższych sprawia duże trudności. Związane to jest z niską zawartością KN w starszych tkankach roślin wyższych oraz z obecnością w nich różnych związków utrudniających analizę (skrobia, białka zapasowe, związki typu ligniny, barwniki i inne) i absorbujących światło ultrafioletowe w zakresie 240–300 m $\mu$ . Metoda opracowana przez Nietupską i wsp. (1959) umożliwia oznaczenie KN w materiale roślinnym, zawierającym nawet dużą ilość wyżej wspomnianych substancji utrudniających analizę. Metodę tę cechuje ponadto duża czułość i dokładność.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Ogólną zawartość KN w rozwijającym się ziarnie, bielmie i zarodku przedstawia tabela 1 i 2 oraz ryc. 1. Przytoczone wyniki wskazują, że stosowane sposoby utrwalenia materiału w parze i alkoholu nie wywołują istotnych rozbieżności w wynikach. Jedynie ziarno żyta jarego (tab. 2) zawiera więcej KN w wypadku utrwalania go alkoholem.

Porównanie zawartości kwasów nukleinowych w rozwijającym się ziarnie żyta ozimego i jarego wskazuje wyraźnie na jednakowy charakter dynamiki tych związków u obydwu form roślin. W miarę rozwoju ziarna (zarodka, bielma) względna ilość KN (w przeliczeniu na suchą masę) systematycznie maleje. Najwyraźniej zaznacza się to w bielmie, mniej widoczne jest natomiast w zarodku. Całe ziarno daje wartości pośrednie. Najwyższa koncentracja KN cechuje zarodki. Przeciętnie zawierają one od 10–20 razy więcej KN niż bielma. Stosunek ilości KN w zarodkach do ilości tych związków w bielmie wzrasta w miarę upływu rozwoju i dojrzewania ziarna. Powyższe stwierdzenie świadczy o tym, że tkanki bielma starzeją się szybciej niż tkanki zarodka (Cinger 1958). Jest to zrozumiałe, jeśli uwzględnić fakt zamierania wewnętrznych komórek bielma w okresie intensywnego gromadzenia się w nich materiałów zapasowych.

W całej dynamice KN podczas rozwoju i dojrzewania ziarna żyta dają się wyróżnić jakby trzy etapy (por. ryc. 1). Odpowiadają one w zarysie trzem etapom formowania się ziarna (Grzesiuk 1961 a i b; Sójka 1961 a).

Tabela 1 — Table 1

Zawartość kwasów nukleinowych (w mg/100 g suchej masy) w dojrzewającym ziarnie żyta ozimego

Content of nucleic acids (in mg/100 g of dry mass) in the ripening grain of winter rye

Próby Samples	Liczba dni po zapyleniu Number of days after pollination	Ziarno utrwalone w parze Grain killed by steam			Ziarno utrwalone w alkoholu Grain killed by alcohol	
		ziarno grain	bielma endosperms	zarodki embryos	ziarno grain	bielma endosperms
1	3	1168	—	—	1180	—
2	6	998	—	—	960	—
3	9	882	—	—	890	—
4	12	792	—	—	788	—
5	15	666	—	—	656	—
6	18	562	—	—	569	—
7	21	518	435	—	509	444
8	24	452	370	3775	426	370
9	27	369	300	3322	357	302
10	30	357	247	2948	344	238
11	33	310	201	2716	312	189
12	36	300	174	2518	310	198
13	39	260	150	2433	270	149
14	42	220	130	2136	217	123
15	45	220	114	2099	210	113
16	48	210	110	2179	203	108

W pierwszym okresie trwającym około 24 dni (próby 1—8) zachodzi w ziarnie szybki wzrost ilości omawianych związków (w przeliczeniu na 100 ziaren). Jak wiadomo (Grzesiuk 1961 b; Sójka 1961 a) w tym czasie wykształca się w formującym się ziarnie całe bielmo oraz zasadnicze organy zarodka. W ziarnie zachodzą

Tabela 2 — Table 2

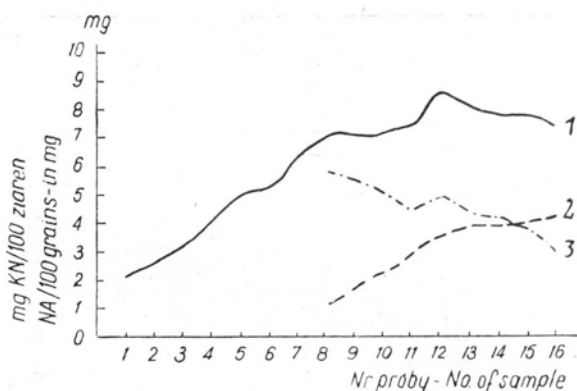
Zawartość kwasów nukleinowych w dojrzewającym ziarnie żyta jarego (w mg/100 g suchej masy)

Content of nucleic acids in the ripening grain of vernal rye (in mg/100 g of dry mass)

Próby Samples	Liczba dni po zapyleniu Number of days after pollination	Ziarno utrwalone w parze Grain killed by steam			Ziarno utrwalone w alkoholu Grain killed by alcohol	
		ziarno grain	bielma endosperms	zarodki embryos	ziarno grain	bielma endosperms
1	5	1390	—	—	—	—
2	6	1013	—	—	1140	—
3	9	908	—	—	958	—
4	12	811	—	—	831	—
5	15	777	—	—	792	—
6	18	703	—	—	694	—
7	21	590	—	—	599	—
8	24	515	466	3800	558	469
9	27	445	474	3450	457	385
10	30	418	305	3140	448	312
11	33	407	311	3140	434	328
12	36	331	245	2775	348	247
13	39	319	218	2575	316	212
14	42	262	170	2447	290	175
15	45	246	133	2476	242	157
16	48	239	130	2311	237	135

wówczas intensywne procesy syntezy żywej materii (synteza białka), którym towarzyszy szybki wzrost ilości KN.

W drugim etapie rozwoju ziarniaka trwającym około 10–12 dni (od próby 8 do 12), a obejmującym drugą połowę dojrzałości młeczej i początek dojrzałości woskowej, bezwzględna zawartość KN w całym ziarnie utrzymuje się prawie na stałym poziomie, zwiększając się raptownie dopiero pod koniec tego etapu



Ryc. 1. Zawartość kwasów nukleinowych w mg na 100 ziaren, 100 zarodków i 100 bielm dojrzewającego ziarna żyta. 1 — całe ziarno, 2 — zarodki, 3 — bielma

Content of nucleic acids (in mg per 100 grains, 100 embryos and 100 endosperms) of the ripening grain of rye. 1 — all grain, 2 — embryos, 3 — endosperms

(ryc. 1), tj. na początku dojrzałości woskowej. Fakt ten jest bardzo ciekawy, lecz jednocześnie trudny do wyjaśnienia. Należy jednak zaznaczyć, że ziarno zebrane w tym momencie posiada największą aktywność fizjologiczną.

W trzecim etapie rozwoju ziarniaka, który odpowiada dojrzałości woskowej i pełnej (próby 12–16), zachodzi w nim powolne zmniejszanie się ilości kwasów nukleinowych (ryc. 1). Jest to zrozumiałe, jeśli wziąć pod uwagę fakt, że w ziarnie wówczas ustają zasadnicze procesy wzrostowe oraz procesy syntezy białek, a trwa jedynie gromadzenie węglowodanów zapasowych.

Zawartość KN w całym ziarnie jest wypadkową ich ilości w częściach składowych ziarna. W bielmie, podczas drugiego etapu rozwoju ziarna, poziom KN w zasadzie maleje, natomiast w zarodku systematycznie zwiększa się. Z danych tych wynika, że procesy wzrostowe bielma zostają zakończone w ziarniaku już po 24 dniach jego rozwoju.

W połowie dojrzałości młeczej zarodek stanowi jeszcze niewielką część całego ziarna. Dopiero w drugim etapie formowania się ziarniaka następuje szybkie zwiększanie się jego rozmiarów. Tym intensywnym procesom syntezy protoplazmy w zarodku towarzyszy wówczas systematyczne zwiększanie się zawartości KN.

Jak już zaznaczono uprzednio bezwzględna zawartość KN w zarodkach żyta wzrasta do pełnej dojrzałości, natomiast w bielmie, począwszy od dojrzałości

mlecznej, obserwuje się niemal stałe zmniejszanie się ilości omawianych związków. Na podstawie tych faktów można wysunąć przypuszczenie, że w endospermie po jej sformowaniu zachodzi pod wpływem nukleaz rozkład kwasów nukleinowych do nukleotydów, które prawdopodobnie przemieszczają się do zarodka i tam z kolei podlegają resyntezie do RNA. Do podobnego wniosku doszedł również Siemienienko (1964) w badaniach nad syntezą RNA w nasionach grochu i ziarnie pszenicy. Wspomniany autor przypuszcza, że synteza RNA w zarodku odbywa się w dużej mierze kosztem nukleotydów powstających w zamierających tkankach zapasowych. To ciekawe przypuszczenie wymaga jednak eksperymentalnego potwierdzenia.

Prawdopodobnie głównym czynnikiem określającym zasadniczy kierunek metabolizmu ziarna są kwasy nukleinowe. Jednak konkretna rola tych związków w różnorodnej przemianie materii ziarna jest jeszcze bardzo mało poznana. Pewne światło na funkcję KN może rzucić porównanie ich dynamiki z zachodzącymi w dojrzewającym ziarnie przemianami biochemicznymi i fizjologicznymi.

W tym celu uzyskane wyniki w niniejszej pracy zestawiono z rezultatami badań nad biochemią dojrzewającego ziarna zbóż oraz właściwościami fizjologicznymi roślin wyrosłych z tego ziarna otrzymanymi przez Grzesiuka (1961 b); Sójkę (1961 a i b, 1962) i Rejowskiego (1962 a i b).

Wolne aminokwasy, azot aminowy oraz mono- i oligosacharydy w największej koncentracji występują w pierwszym etapie formowania się ziarniaka, później ilość tych związków wyraźnie się obniża. Podobnie kształtuje się dynamika KN (tab. 1, 2).

Stwierdzono również, że natężenie oddychania całego ziarna (a także bielma i zarodka) w trakcie jego rozwoju (Krenke 1961; Sójka 1961 a) jest proporcjonalne do tempa biosyntezy KN (tab 1, 2). Wyjaśnić to można równoczesnym udziałem KN i procesu oddychania w syntezie podstawowej masy protoplazmy intensywnie dzielących się komórek ziarniaka. Ponadto proces oddychania dostarcza energii oraz prawdopodobnie niektórych metabolitów do biosyntezy samych KN. Nie wyklucza się również możliwości wpływu pośrednich produktów przemiany nukleinowej na pewne ogniwa procesów oksyredukcyjnych zachodzących w komórce (Siemienienko 1964).

Obecność KN w ziarniaku związana jest nie tylko z jego formowaniem się. Część tych związków nagromadza się w ziarnie w postaci zapasu, który następnie zostaje zużywany w procesie kiełkowania. Wykazano bowiem, że KN przemieszczają się z bielma i liścieni do rosnącego kielka (Lechman i Garz 1962; Siemienienko 1964).

Prawdopodobnie jedną z ważnych przyczyn największej zdolności kiełkowania ziarna żyta o dojrzałości woskowej i pełnej jest wysoka zawartość w nim KN (ryc. 1). Częściowym potwierdzeniem tego przypuszczenia są badania Siemienienki (1964) nad kiełkującymi nasionami grochu i ziarnem żyta. Autor ten wykazał, że szybkość wzrostu kielka oraz jego suchej masy zależy od ilości KN zawartych w ziarnie i nasionach. Dodane do pożywki przez wymienionego autora rybonukleotydy, wyraźnie stymulowały syntezę RNA i białka w kielkach grochu. W rezulta-

cie prowadziło to do szybszego wzrostu kielków (w porównaniu z kontrolą) i zwiększenia ich suchej masy.

Ziarno zbóż zebrane na początku dojrzałości woskowej najłatwiej się jaryzuje. Wydaje się, że przebieg tego procesu zależy między innymi od ilości KN zawartych w rozwijającym się ziarnie (ryc. 1). Przy pomocy metod biochemicznych i cytochemicznych wykazano, że proces jaryzacji cechuje się wysoką intensywnością przemian związków nukleinowych (por. Konariew 1959; Chouard 1960; Sechet 1962). Należy sądzić, że zbadanie pośrednich metabolitów przemian KN oraz wolnych nukleotydów mogłoby się w znacznej mierze przyczynić do rozwiązania istoty mechanizmu jaryzacji.

Najwyższą zimotrwałość i mrozoodporność wykazują rośliny wyrosłe z ziarna zebranego na początku dojrzałości woskowej. Prawdopodobnie rola KN w kształtowaniu zimotrwałości i mrozoodporności jest raczej pośrednia i sprowadza się do wpływu tych związków zawartych w ziarnie na ogólną vitalność roślin z niego wyrosłych.

### Streszczenie

Celem niniejszej pracy było wyjaśnienie związku pomiędzy fizjologicznymi właściwościami rozwijającego się ziarna żyta (ozimego i jarego) a dynamiką jego kwasów nukleinowych.

Badania własne oraz analiza piśmiennictwa pozwalają na sformułowanie niżej podanych stwierdzeń:

1. Zawartość kwasów nukleinowych w rozwijającym się ziarnie żyta ozimego i jarego jest bardzo zbliżona. W miarę rozwoju ziarna względna ilość kwasów nukleinowych w przeliczeniu na jednostkę suchej masy maleje. Najwyraźniej to się zaznacza w bielmie, mniej zaś w zarodku. Całe ziarno daje wartości pośrednie. W obrębie ziarna największą zawartością tych związków cechują się zarodki. Przeciętnie zawierają one około 10—20 razy więcej kwasów nukleinowych, niż bielma. Stosunek poziomu kwasów nukleinowych w zarodkach do ich ilości w bielmach w miarę upływu rozwoju wzrasta, co świadczy, że tkanki bielma starzeją się szybciej, niż tkanki zarodka.

2. W całej dynamice kwasów nukleinowych w trakcie rozwoju i dojrzewania ziarna żyta można wydzielić w zasadzie trzy etapy, które w przybliżeniu odpowiadają trzem etapom formowania się ziarniaka:

a) w pierwszym etapie, kiedy szybko rozwija się bielmo oraz tworzą się zasadnicze organy zarodka, zachodzi intensywna biosynteza kwasów nukleinowych;

b) w drugiej połowie dojrzałości młecznej tempo biosyntezy tych związków wyraźnie zmniejsza się, natomiast raptownie ponownie wzrasta na początku dojrzałości woskowej, tj. wówczas, gdy ziarno osiąga największą aktywność fizjologiczną;

c) w trzecim etapie rozwoju ziarna (próby 12—16) następuje powolne zmniejszanie się ilości kwasów nukleinowych;

3. Absolutna ilość kwasów nukleinowych w zarodku zwiększa się do końca dojrzałości ziarna, natomiast w bielmie, począwszy od dojrzałości młecznej, systematycznie maleje. Prawdopodobnie biosynteza części kwasów nukleinowych w zarodku odbywa się kosztem rozpadu tych związków w bielmie.

4. W procesie rozwoju i dojrzewania ziarna żyta daje się zaobserwować wyraźną zależność pomiędzy biosyntezą kwasów nukleinowych a właściwościami fizjologicznymi roślin wyrosłych z tego ziarna. Zależność ta dotyczy: kiełkowania, jaryzacji, plonowania i mrozoodporności.

*Katedra Fizjologii Roślin*

*Wyższej Szkoły Rolniczej w Olsztynie*

*Kierownik: doc. dr S. Grzesiuk*

(Wpłynęło dn. 23. IV, 1965 r.)

## SUMMARY

1. The content of nucleic acids in developing grains of winter and spring rye is approximately the same. Following the grain maturity, the relative amount of nucleic acids, calculated on dry weight basis decreases steadily, more distinctly in the endosperm, less so in the embryo. The embryos contain most of the nucleic acids, on average 10—20 times more than the endosperm. Relative quantities of nucleic acids in the embryos compared with the endosperm increase with maturity, suggesting that endosperm tissue ages faster than embryo tissue.

2. Three separate stages of nucleic acid levels, corresponding to the three stages of grain formation, may be distinguished.

a. intensive nucleic acid biosynthesis, corresponding to fast endosperm formation and the development of the basic embryo organs.

b. decrease of nucleic acid synthesis in the second part of milky maturity, followed by a sudden rise at the beginning of waxy maturity.

c. gradual decline of nucleic acids in the third stage of grain development.

3. The absolute amount of nucleic acids in the embryo increases till the end of grain maturity, but in the endosperm, beginning with milk maturity, it decreases systematically. Probably the biosynthesis of the part of nucleic acids in embryo occurs at breakdown expense of these compounds in the endosperm.

4. In the process of development and maturing of the grain, a relation between nucleic acid biosynthesis and some physiological properties of plants that grow from these various seeds, has been observed. These relations concern the yields, germination, vernalization and frost resistance.

## LITERATURA

- Cinger N. W., 1958, Siemja jego rozwitije i fizjologiczeskije swojstwa, Moskwa.
- Chouard P., 1960, Vernalization and its relations to dormancy, *Ann. Rev. Plant Physiol.* (11): 191—238.
- Grzesiuk St., 1961 a, O fizjologicznych właściwościach rozwoju nasion, *Wiadomości Bot.* 5(1): 3—18.
- Grzesiuk St., 1961 b, Studia nad fizjologią dojrzewającego ziarna zbóż, *Zeszyty Naukowe WSR w Olsztynie* 11(104):3—127.
- Konariw W. G., 1959, Nukleinowyje kisloty i morfogenezy rastienij, Moskwa.
- Krenke A. H., 1961, Izmienienie intensiwnosti dychanija i sodierżanija fosfornych sojedinenij pri sozriewanii siemjan rastienij, *Trudy Gł. Bot. Sada*, 7:97—112.
- Lehmann K., Garz J., 1962, Untersuchungen über den Umsatz der phosphathaltigen Substanzen und Eiweisses in den Kotyledonen kleimender Erbsensamen, *Flora*, 152(3):516—522.
- Nietupskaja S. W., Piernanskij Ju. W., Konariw W. G., 1959, Spiektrofotometriczeskoje opriedieljenje nukleinowych kislot u wysszich rastienij po purynowym osnovanijam, *Biologija nukleinowego obmiena u rastienij*, Ufa.
- Rejowski A., 1962 a, Fizjologia i biochemia dojrzewającego ziarna pszenicy. Cz. II. Cukrowce rozwijającego się ziarna pszenicy. *RNR*, 85-A (3):447—460.
- Rejowski A., 1962 b, Fizjologia i biochemia dojrzewającego ziarna pszenicy. Cz. III. Właściwości fizjologiczne pszenicy wyrosłej z ziarna różnej dojrzałości, *RNR*, 85-A (4):555—572.
- Sechet J., 1962, Les acides nucleiques au cours du traitement de Vernalization. *C. r. Acad. sci.*, 254(18):3238—3240.
- Siemienienko G. J., 1964, K biochimii obmiena nukleinowych kislot u wysszich rastienij, *Charkow*.

- Sójka E., 1961 a, Badania nad fizjologią i biochemią rozwijającego się ziarna żyta (*Secale cereale* L.). Cz. I. Morfologia rozwoju oraz fizjologiczne właściwości dojrzewającego ziarna, H.R.A. i N. 5(6):599—703.
- Sójka E., 1961 b, Badania nad fizjologią i biochemią rozwijającego się ziarna żyta (*Secale cereale* L.). Cz. II. Związki azotowe w dojrzewającym ziarnie, H.R.A. i N. 5(6):705—720.
- Sójka E., 1962, Badania nad fizjologią i biochemią rozwijającego się ziarna żyta (*Secale cereale* L.). Cz. III. Wpływ dojrzałości ziarna siewnego na plonowanie roślin oraz ich odporność na suszę i niskie temperatury, H.R.A. i N. 6(1):1—19.