Włączanie ^{32}P do kwasów nukleinowych i fosfolipidów w zarodkach spoczynkowego ziarna jęczmienia jarego

*Incorporation ^{32}P into nucleic acids and phospholipids in embryos of spring barley
grain during after-harvest dormancy*

K. KULKA i A. REJOWSKI

Przemiany związków fosforowych w nasionach i organach roślin znajdujących się w stanie spoczynku głębokiego poznane są dotychczas w bardzo małym stopniu. W wyniku badań pąków drzew i krzewów owocowych wykazano, że w czasie spoczynku zawartość w nich kwasów nukleinowych zmniejsza się, a przy wychodzeniu ze stanu spoczynku wyraźnie się zwiększa (Barskaja i Oknina 1959; Bobryszeva i Oknina 1962; Sergiejewa 1964; Czaban 1968).

Tuan i Bonner (1964) badając w pączkach spoczynkowych bulwy ziemniaka syntezę RNA zależną od DNA stwierdzili, że wyizolowana z nich chromatyna nie podtrzymywała syntezy RNA. Dopiero przerwanie stanu spoczynku pod wpływem etylenochlorhydryny przywracało genom aktywność i powodowało aktywację lub syntezę mRNA.

Poprzednie nasze badania wykazały, że zawartość kwasów nukleinowych w spoczynkowym ziarnie jęczmienia znajduje się w ujemnej korelacji z aktywnością inhibitora, będącego najprawdopodobniej głównym czynnikiem spoczynku (Rejowski, Kulka 1967). Ziarno jęczmienia przetrzymywane w stanie pełnego nasycenia wodą nie kiełkuje nawet przez okres kilku miesięcy. Zawartość RNA w takim ziarnie wyraźnie zmniejsza się, przy równoczesnym wzroście aktywności inhibitora. Natomiast w ziarnie powietrznie suchym, którego spoczynek w czasie przechowywania stopniowo ustępuje, aktywność inhibitora zanika, a dynamika KN nie ulega istotnym zmianom.

Stwierdzone obniżenie poziomu RNA w ziarnie pozostającym w stanie głębokiego spoczynku nie świadczy o wstrzymaniu syntezy tego związku przez występujący w dużej ilości inhibitor. Mogło ono również być wynikiem przewagi rozpadu RNA nad resyntezą, pod wpływem enzymów nukleolitycznych.

Celem wyjaśnienia tego zagadnienia przeprowadzono badania nad włączaniem radioaktywnego fosforu do kwasów nukleinowych i fosfolipidów w zarodkach ziarna jęczmienia jarego, w okresie jego spoczynku oraz ziarna wykazującego już zdolność do aktywnego wzrostu.

METODYKA

Badania przeprowadzono na ziarnie jęczmienia jarego ('Browarny PZHR') charakteryzującego się długim okresem spoczynku. Ziarno po sprzucie przechowywano w laboratorium w stanie powietrznie-suchym, w temperaturze pokojowej. Po upływie 10 dni od sprzutu ziarno poddawano pęcznieniu w wodnym roztworze $\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$. Z pęczniącego ziarna w określonych odstępach czasu wypreparowywano zarodki i oznaczano zawartość KN w całych zarodkach i mitochondriach oraz zawartość fosfolipidów. Radioaktywność oznaczanych związków mierzono przy pomocy licznika Geigera-Müllera.

Po 50 dniach suchego przechowywania, tj. po ustąpieniu spoczynku późniwego (Rejowski i Kulka 1967) poddawano pęcznieniu następną próbę ziarna i powtarzano w sposób identyczny wymienione wyżej analizy. Równolegle oznaczano suchą masę ziarna i zdolność kiełkowania.

Porównanie bezwzględnych zawartości oraz radioaktywności badanych związków fosforowych pozwalało sądzić o intensywności ich syntezy w spoczynkowym ziarnie jęczmienia i w ziarnie, które już wyszło ze stanu spoczynku.

Warunki pęcznienia ziarna oraz zastosowane metody analiz omówiono niżej.

1. Warunki pęcznienia ziarna oraz przygotowanie prób. Ziarno umieszczano w szalkach Petriego w roztworze wodnym $\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$, o radioaktywności właściwej $0,34 \mu\text{Ci/ml}$. Roztwór fosforanu sodu dawkowano w ilościach 50 ml/70 g pęczniącego ziarna. Szalki umieszczano w ciemności, w temperaturze 20°C . W określonych odstępach czasu pobierano próbki pęczniącego ziarna, dokładnie płukano je wodą, a następnie wyjmowano z ziarna zarodki wraz z tarczkami. Stanowiły one materiał wyjściowy do analiz.

2. Wydzielanie frakcji mitochondrialnej. Świeżo wyizolowane zarodki homogenizowano ręcznie w porcelanowym moździerzu o gładkiej powierzchni wewnętrznej, w 0,5 M sacharozie przygotowanej na 0,01 M tris buforze (pH 7,6). Homogenat wyciskano następnie przez 8 warstw gazy. Uzyskany przesącz pozbawiony całych komórek (kontrola mikroskopowa) poddawano wirowaniu różnicowemu. Pierwsze wirowanie wykonano przy 1500 g w ciągu 10 minut. Otrzymany osad (jądra, plastydy, fragmenty błon celulozowych itp.) odrzucano, supernatant zaś poddawano dalszemu wirowaniu przy 12000 g, w czasie 10 minut. Uzyskany osad mitochondriów zawieszano w takim samym środowisku, jakie używano do homogenizacji materiału wyjściowego. Zawiesinę również odwirowowywano przy 12000 g w ciągu 10 minut.

W uzyskanym w ten sposób osadzie mitochondriów oznaczano zawartość kwasów nukleinowych oraz ich radioaktywność.

Wszystkie czynności związane z wydzieleniem mitochondriów przeprowadzano w temperaturze $0-4^\circ\text{C}$.

3. Ekstrahowanie fosfolipidów. Fosfor kwasorozpuszczalny usuwano z całych zarodków, rozcierając je z 7% kwasem trójchlorooctowym (KTO) w ciągu 20 minut i wirując przy 6.000 g. Supernatant usuwano, osad zaś przemywano 1% KTO i następnie wodą destylowaną, do zaniku reakcji na kwas i fosfor. Po usunięciu

frakcji kwasorozpuszczalnej osad ekstrahowano mieszaniną etanolu i eteru (1:1), utrzymując ją w stanie wrzenia w ciągu 30 minut, po czym przemywano eterem i suszono w temperaturze 37°C . W uzyskanym ekstrakcie eterowo-alkoholowym oznaczano fosfor oraz radioaktywność fosfolipidów.

4. Analiza kwasów nukleinowych (RNA+DNA) w mitochondriach.

Osad mitochondriów (uzyskany wg metodyki opisanej w punkcie 2) rozcierano z 7% KTO w ciągu 20 minut. Usuwanie fosforu kwasorozpuszczalnego oraz odtłuszczanie przeprowadzono tak samo jak w punkcie 3. Odtłuszczony i wysuszony (w 37°C) osad mitochondriów zadawano 0,5 N HClO_4 i pozostawiano w temperaturze 70°C w ciągu 30 min. (Guin 1964). W kwaśnym ekstrakcie oznaczano fosfor kwasów nukleinowych oraz ich radioaktywność.

5. Analiza RNA i DNA w całych zarodkach. Zarodki bezpośrednio po ich wypreparowaniu rozcierano w moździerzu z 7% KTO w ciągu 20 minut, w temperaturze 0°C . Dalsze czynności związane z usunięciem frakcji kwasorozpuszczalnej i lipidowej przeprowadzano analogicznie jak w punkcie 3.

RNA ekstrahowano według metody Ogura i Rosen. Do osadu pozbawionego fosforu nukleinowego wprowadzano 1 N HClO_4 i po dokładnym wymieszaniu próbki pozostawiano w ciągu 15 godzin w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$. W ekstrakcie oznaczano fosfor RNA oraz jego radioaktywność.

Oznaczanie DNA. Pozostały w osadzie RNA oddzielono od DNA metodą Schmidta i Thannhausera w modyfikacji Wollgiehna i Parthiera (1964). Po ekstrakcji RNA osad przemywano zimną wodą do zaniku reakcji na kwas, a następnie — etanolem i eterem. Wysuszony osad inkubowano z 0,5 N KOH w ciągu 2 godzin w temperaturze 0°C . Następnie DNA z osadu ekstrahowano 1 N HClO_4 w ciągu 30 minut. W ekstrakcie tym oznaczano fosfor oraz radioaktywność.

Oznaczeń fosforu dokonano przy pomocy metody Fiske Subbarowa, radioaktywność zaś mierzono przy pomocy licznika Geigera-Müllera.

WYNIKI I DYKUSJA

Zależność między aktywnością lub syntezą RNA a początkiem syntezy białka w pierwszych etapach kiełkowania nasion w chwili obecnej jest jeszcze kontrowersyjna (Marcus & Feeley 1965; Marcus i wsp., 1966; Waters & Dure 1966; Loening 1968). Natomiast sam fakt zwiększania poziomu KN, szczególnie RNA, w zarodkach nasion pęczniących i kiełkujących nie nasuwa raczej wątpliwości (Ingle & Hageman, 1965; Hall & Hodges, 1966; Masłowski i wsp., 1967). Intensywny wzrost zawartości KN w zarodkach ziarna zbóż wykrywano po upływie kilkunastu godzin kiełkowania, chociaż zgodnie z danymi Marcusa i wsp. aktywność rybosomów wielokrotnie wzrasta już po 30 minutach pęcznienia.

Wszystkie te badania były jednak przeprowadzone na ziarnie dojrzałym fizjologicznie, kiełkującym po napęcznieniu. Inaczej kształtuje się dynamika kwasów nukleinowych w ziarnie jęczmienia znajdującego się w stanie głębokiego spoczynku (tab. 1). W zarodkach tego ziarna, pęczniącego w ciągu 4 dni, nie zaobserwowano

Tabela 1 — Table 1

Dynamika kwasów nukleinowych oraz ich radioaktywność w zarodkach pęczniącego ziarna, będącego w stanie spoczynku późniejszego
Dynamics of nucleic acids and their radioactivity in embryos of dormant spring barley grains during the imbibition

Czas pęcznienia w godz. Imbibition hr	Wilgotność w % Water content in %		Zawartość RNA i DNA RNA and DNA content				Włączanie ^{32}P w Incorporation of ^{32}P into						Ogólna radioaktywność kwasów nukleinowych w imp/min /100 zarodków
							RNA			DNA			
	całego ziarna whole grain	zarodków embryos	P $\mu\text{g/g}$ s. masy P $\mu\text{g/g}$ dry wt	P $\mu\text{g}/100$ zarodków P $\mu\text{g}/100$ embryos	RNA		DNA		RNA		DNA		
					RNA	DNA	imp/min/mg P	imp/min/g s. masy cpm/g dry wt	imp/min/100 zarodków cpm/100 embryos	imp/min/mg P	imp/min/g s. masy cpm/g dry wt	imp/min/100 zarodków cpm/100 embryos	
24	37,0	60,0	1294	284	198	46	857	1108	173	300	85	13	186
48	37,4	61,1	1169	246	177	37	1700	1987	309	1300	319	48	357
72	37,7	61,6	1140	304	171	45	2625	2992	448	2300	699	103	552
96	43,7	63,6	1126	344	171	51	1650	1857	282	2300	791	117	399

Tabela 2 — Table 2

Dynamika kwasów nukleinowych oraz ich radioaktywność w zarodkach pęczniącego ziarna jęczmienia jarego po ustapieniu spoczynku późniejszego
Dynamics of nucleic acids and their radioactivity in embryos of post-dormant spring barley grains during the imbibition

Czas pęcznienia w godz. Imbibition hr	Wilgotność w % Water content in %		Zawartość RNA i DNA RNA and DNA content				Włączenie ³² P w Incorporation of ³² P into				Ogólna radioaktywność kwasów nukleinowych w imp/min/100 zarodków Total radioactivity of nucleic acids expressed as in cpm/100 embryos		
	Całego ziarna whole grain	zarodków embryos	P μg/g s. masy P μg/g dry wt		P μg/100 zarodków P μg/100 embryos		RNA		DNA				
			RNA	DNA	RNA	DNA	imp/min/mg P cmp/mg P	imp/min/g s. masy cpm/g dry wt	imp/min/mg P cpm/mg P	imp/min/g s. masy cpm/g dry wt			
16	37,0	62,7	1300	296	212	48	1500	1950	318	738	218	35	352
24	38,2	64,7	1597	300	254	48	1500	2395	381	1095	328	52	433
36	39,9	67,8	1711	383	270	60	3330	5703	899	2309	844	138	1037
48	42,0	70,8	1986	438	290	64	2190	4353	635	2035	891	130	765

wyraźnych zmian w zawartości kwasów nukleinowych. Poziom RNA nawet nieco się obniżył. Potwierdza to wyniki uzyskane w pracy poprzedniej (Rejowski i Kulka 1967).

Zarodki jęczmienia, pozostające w stanie spoczynku, posiadały jednak zdolność do włączania znaczonego fosforu w RNA i DNA (tab. 1). W miarę pęcznienia ziarna rosła w zarodkach zarówno aktywność właściwa kwasów nukleinowych (na 1 mg P), jak i aktywność całkowita (na 100 zarodków), osiągając najwyższe wartości po 72 godzinach pęcznienia. Brak wzrostu absolutnej ilości RNA w zarodkach i tylko nieznaczne zwiększenie DNA wskazuje na istnienie stanu równowagi dynamicznej pomiędzy syntezą a rozkładem kwasów nukleinowych. Zjawisko to może być związane z potrzebą ciągłej odnowy cząstek RNA i DNA (Siemienienko 1964). Jeżeli przytoczony pogląd jest słuszny, wówczas enzymy nukleolityczne zarodków ziarna spoczynkowego winny cechować się znaczną aktywnością hydrolityczną.

Analiza otrzymanych wyników wykazuje ponadto, że wyraźne zmniejszenie szybkości biosyntezy kwasów nukleinowych w spoczynkowych tkankach zarodka nie wiąże się z brakiem jakiegoś składnika niezbędnego dla jej przebiegu, gdyż inkorporacja ^{32}P w RNA i DNA zachodzi, a nawet wykazuje tendencje wzrostowe (tab. 1).

Inaczej kształtowały się przemiany związków nukleinowych w ziarnie jęczmienia po upływie 50 dni przechowywania, tj. wtedy, kiedy ziarno już wyszło ze stanu spoczynku głębokiego. Zawartość RNA i DNA w zarodkach takiego ziarna systematycznie wzrastała (tab. 2). Znacznie bardziej intensywna była również inkorporacja ^{32}P w RNA i DNA, zwłaszcza w początkowym okresie pęcznienia.

Najwyższa aktywność właściwa i całkowita badanych związków miała miejsce już po 36 godzinach pęcznienia, czyli znacznie wcześniej, niż w próbach ziarna spoczynkowego. Świadczy to o dużo szybszym tempie przemian kwasów nukleinowych w ziarnie, które już wyszło ze stanu spoczynku.

Tabela 3 — Table 3

Włączanie ^{32}P do kwasów nukleinowych mitochondriów, wydzielonych z zarodków pęczniącego ziarna będącego w stanie spoczynku i po jego ustąpieniu

Incorporation ^{32}P into mitochondrial nucleic acids isolated from embryos of dormant and after-dormant spring barley grains during the imbibition

Liczba dni po sprzęcie Number of days after harvest	Czas pęcznienia ziarna, godz. Imbibition hr	Kielkowanie ziarna po 7 dniach w % Germination after 7 days (%)	Zawartość kwasów nukleinowych wyrażona w Nucleic acids content expressed as		Radioaktywność kwasów nukleinowych Radioactivity of nucleic acids	
			$\mu\text{g P/mg}$ suchego preparatu $\mu\text{g P/mg}$ dry preparation	$\mu\text{g P/100}$ zarodków $\mu\text{g P/100}$ embryos	imp/min/mg P cpm/mg P	imp/min 100 zarodków cpm/100 embryos
10	24	4	8,1	13,0	3850	50
50	16	99	7,0	14,0	3955	55

Powyższa prawidłowość dotyczy ogólnej zawartości RNA i DNA w komórkach zarodków. Biosynteza kwasów nukleinowych w mitochondriach przebiega inaczej, co wskazuje na biosyntetyczną autonomię tych organelli (Bonner, Varner, 1965). Analiza zawartości KN oraz włączanie w nie ^{32}P w zarodkach ziarna podczas spoczynku i po jego ustąpieniu nie wykazała prawie żadnych różnic (tab. 3). Włączanie ^{32}P do frakcji mitochondrialnej kwasów nukleinowych (głównie RNA) było bardzo intensywne. Potwierdza to nieliczne dotychczas dane o aktywnej syntezie tych związków, przede wszystkim RNA, w mitochondriach poszczególnych części nasion na początku ich kiełkowania (Cherry & Hageman, 1961; Breidenbach i wsp., 1967; Lado i Schwendiman, 1967).

Wyniki otrzymane w niniejszej pracy wskazują ponadto, że rosnący kiełek może wykorzystać do syntezy kwasów nukleinowych ortofosforan nieorganiczny, czyli jest on zdolny do syntezy tych związków *de novo*, stwierdzonej wcześniej przez Siemienienkę (1964), Ingle'a i Hagemana (1965), Maślowskiego i wsp. (1967) oraz innych autorów.

Synteza KN w ziarnie znajdującym się w stanie spoczynku, mimo znacznego jej osłabienia, nie była całkowicie przerwana (por. tab. 1). Natomiast analiza włączania ^{32}P do fosfolipidów w zarodkach spoczynkowego ziarna wykazała całkowity brak syntezy tych związków. Po ustąpieniu zaś spoczynku zarówno radioaktywność, jak i ogólna zawartość fosfolipidów w pęczniejącym ziarnie szybko się zwiększała (tab. 4).

Tabela 4 — Table 4

Radioaktywność fosfolipidów zawartych w zarodkach pęczniejącego ziarna jęczmienia po ustąpieniu spoczynku

Radioactivity of phospholipids of embryos of after-dormant spring barley grains during the imbibition

Czas pęcznienia w godz. Imbibition hr	Zawartość fosfolipidów w Content of phospholipids expressed as		Radioaktywność fosfolipidów Radioactivity of phospholipids	
	$\mu\text{g P/g s. masy}$ $\mu\text{g P/g dry wt}$	$\mu\text{g P/100 zarodków}$ $\mu\text{g P/100 embryos}$	imp./min/mg P cpm/mg P	imp/min/100 zarodków cpm/100 embryos
16	232	38	716	27
24	257	41	1320	54
36	296	46	2490	115
48	380	56	2690	150

Istnieje duże prawdopodobieństwo, że naruszenie metabolizmu związków fosforowych w spoczynkowym ziarnie jęczmienia odbija się ujemnie na przemianach związków białkowych, w rezultacie czego może być utrudnione formowanie polisomów, zasadniczych centrów syntezy białka w komórce. Przypuszczenie to znajduje częściowe potwierdzenie w pracy Karimowa i Kadyrowej (1966).

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Badano dynamikę kwasów nukleinowych w zarodkach pęczniącego ziarna jęczmienia jarego, znajdującego się w stanie spoczynku głębokiego oraz ziarna które już przeszło okres spoczynku. Oznaczano zawartość RNA i DNA w całych komórkach i mitochondriach, zawartość fosfolipidów oraz włączanie w te związki ^{32}P .

Przeprowadzone badania pozwalają na sformułowanie następujących stwierdzeń:

1. Zarodki pęczniącego ziarna jęczmienia pozostającego w stanie spoczynku głębokiego wykazują niewielką zdolność do włączania znaczonego fosforu ^{32}P w RNA i DNA. W miarę upływu czasu pęcznienia tempo biosyntezy RNA i DNA rośnie, natomiast absolutna ilość tych związków w zarodkach nie zwiększa się. Wskazuje to na istnienie stanu równowagi dynamicznej pomiędzy syntezą a rozkładem kwasów nukleinowych.

2. W zarodkach pęczniącego ziarna jęczmienia, które już przeszło okres posprzętnego dojrzewania, stwierdzono wyraźny wzrost zawartości KN i znacznie intensywniejszą inkorporację ^{32}P niż w ziarnie spoczynkowym. Wskazuje to na dużo szybsze tempo przemian kwasów nukleinowych w ziarnie, które już wyszło ze stanu spoczynku.

3. Najbardziej jednak intensywnie włącza się ^{32}P do KN frakcji mitochondrialnej. Stan spoczynku ziarna nie wywiera jednak większego wpływu na szybkość inkorporacji ^{32}P do kwasów nukleinowych mitochondriów.

4. Synteza fosfolipidów w zarodkach pęczniącego ziarna spoczynkowego jest całkowicie zablokowana.

Wyższa Szkoła Rolnicza, Olsztyn

Katedra Fizjologii Roślin

Kierownik: Prof. dr St. Grzesiuk

(Wpłynęło 10.5.1969r.)

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The dynamics of nucleic acids was studied in embryos isolated from swelling dormant and after-dormant spring barley grains. The content of RNA and DNA in isolated cells and mitochondria, the content of phospholipids and the ability of those compounds to incorporate ^{32}P were studied.

From this study the following conclusions can be drawn:

1. The ability of embryos isolated from swelling dormant barley grains to incorporate in their RNA and DNA labeled phosphorus ^{32}P is poor. As the time of swelling is going on the rate of biosynthesis of RNA and DNA increases but their absolute amounts in embryos are not increased. It indicates that there must have been a dynamic equilibrium between synthesis and the decay of nucleic acids.

2. The embryos from swelling barley grains that have passed their after-harvest dormancy contain much more nucleic acids and they are characterized by the greater ability to incorporate ^{32}P than those isolated from dormant grains. It indicates that there is a fast rate of changes in nucleic acids of a grain that has passed its dormancy.

3. Nucleic acids of the mitochondrial fraction show the highest ability to incorporate ^{32}P . However, the state of rest period does not exert any significant influence on the rate of ^{32}P incorporation in mitochondrial nucleic acids.

4. The synthesis of phospholipids in embryos of swelling dormant grains is completely blocked.

College of Agriculture, Olsztyn

Department of Plant Physiology

Head: Prof. dr St. Grzesiuk

LITERATURA

- Barskaja E. I., Oknina E. Z., 1959, Nukleinowyje kisloty w processach formirowanija i rosta siemian płodowych kultur, *Fizjol. rast.* 6(1): 98—99.
- Bobryszewa A. M., Oknina E. Z., 1962, Soderżanije nukleinowych kislót w cwiętocznych poczkach czarnej smorodiny, *Fizjol. rast.* 9(3): 342—46.
- Bonner J., Varner J. E., 1965, *Plant Biochemistry*, New York—London.
- Breidenbach R. W., Castelfranco P., Criddle R. S., 1967, Biogenesis of mitochondria in germinating plant cotyledons. II. Changes in cytochromes and mitochondrial DNA, *Plant Physiol.* 42(8): 1035—1041.
- Cherry J. H., Hageman R. H., 1961, Nucleotide ribonucleic acid metabolism of corn seedlings, *Plant Physiol.* 36(1): 163—168.
- Czeban A. I., 1968, Soderżanije i nakoplenije nukleinowych kislót w poczkach zimujuszczich glazkow winograda na raznych etapach ich godicznego rozwitija, *Fizjol. rast.* 15(2): 329—335.
- Guin G., 1966, Extraction of nucleic acids from lyophilized plant material, *Plant Physiol.* 41(4): 689—695.
- Hall J. R., Hodges T. K., 1966, Phosphorus metabolism of germinating oat seeds, *Plant Physiol.* 41(9): 1459—1464.
- Ingle J., Hageman R. H., 1965, Metabolic changes associated with the germination of corn. II. Nucleic acid metabolism, *Plant Physiol.* 40(1): 48—53.
- Lado P., Schwendimann M., 1967, Changes of mitochondrial RNA level during the transition from rest to growth in the endosperm of germinating castor beans, *Life Sci.* 6(16): 1681—90.
- Leoning U. E., 1968, RNA structure and metabolism, *Ann. Ber. Plant Physiol.* 19: 37—70.
- Marcus A., Feeley J., 1965, Protein synthesis in imbibed seeds. II. Polysome formation during imbibition, *J. Biol. Chem.* 240: 1675—80.
- Marcus A., Feeley J., Volcani T., 1966, Protein synthesis in imbibed seeds. III. Kinetics of amino acid incorporation, and polysome formation, *Plant Physiol.* 41(7): 1167—72.
- Masłowski P., Masłowska H., Wierzbicka M., 1967, Metabolizm kwasów nukleinowych i frakcji białkowych zarodków i bielma w kiełkujących ziarnach kukurydzy, *Acta Soc. Bot. Pol.* 36(3): 459—65.
- Rejowski A., Kulka K., 1967, Rola naturalnych inhibitorów wzrostu i kwasów nukleinowych w kształtowaniu spoczynku ziarna jęczmienia jarego, *Acta Soc. Bot. Pol.* 36(2): 221—234.
- Siemienienco G. I., 1964, K biochimii obmiena nukleinowych kislót u wysszych rastienij, *Charkow*.
- Siergiejewa K. A., 1964, Izmienienija nukleinowych kislót w godicznym cikle u razlicznych po zimostojkosti drowiesnych rastienijach, str. 145—151, Z książki: *Biologija nukleinowego obmiena u rastienij*, Moskwa.
- Tuan D. V. H., Bonner J., 1964, Dormancy associated with repression of genetic activity, *Plant Physiol.* 39(5): 768—72.
- Waters L. C., Dure L. S., 1966, Ribonucleic acid synthesis in germinating cotton seeds, *J. Molec. Biol.* 19(1): 1—27.
- Wollgiehn R., Parthier B., 1964, Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung von Ribonukleinsäure und Protein in Blättern, *Flora*, Bd. 154(2): 325—348.