

Aneta Koceva-Chyła

BADANIA POZIOMU RNA PODCZAS KIEŁKOWANIA I WZROSTU
KORZENIA KUKURYDZY (ZEA MAYS L.)

I. ZMIANY POZIOMU RNA W CAŁYM KORZENIU

Stwierdzono, że podczas 14-dniowego okresu kiełkowania i rozwoju kukurydzy zawartość RNA w całym korzeniu wzrasta prawie 4-krotnie w stosunku do korzenia kontrolnego (2-dniowego). Zmiany te są znamienne statystycznie. Największy przyrost zawartości RNA oraz suchej masy korzenia zaobserwowano podczas pierwszych 6 dni rozwoju. W podobny sposób zmieniał się poziom rRNA i tRNA. Tempo przyrostu ich zawartości było jednakowe w stosunku do korzenia kontrolnego, co pozwala sądzić, że w badanym okresie rozwoju syntetyzowane są one z jednakową szybkością.

WSTĘP

Jednym z najbardziej interesujących zagadnień biochemii rozwoju roślin w ostatnich latach jest problem regulacji procesów metabolicznych i morfogenetycznych zachodzących podczas kiełkowania i wczesnych faz wzrostu oraz rozwoju roślin. Szczególną uwagę zaś poświęca się badaniom zmierzającym do poznania molekularnych mechanizmów tej regulacji, w której dużą rolę odgrywa metabolizm kwasów nukleinowych.

Mimo licznych badań w tej dziedzinie współczesny stan wiedzy nie pozwala na pełne przedstawienie funkcjonalnej roli poszczególnych rodzajów kwasów nukleinowych, ich wzajemnych zależności oraz udziału w regulacji rozwoju i metabolizmu roślin. W piś-

miennictwie utrzymują się rozbieżne, a czasami wręcz sprzeczne, poglądy na takie podstawowe zagadnienia jak: 1) czas działania czynników zewnętrznych, po którym zostają wznowione procesy transkrypcji i translacji; 2) kolejność wznowienia tych procesów; 3) kolejność syntezy poszczególnych rodzajów RNA (mRNA, rRNA, tRNA). Część badaczy uważa, że w pierwszych godzinach kiełkowania nasion syntetyzowane są w nich jednocześnie wszystkie główne rodzaje RNA. Inni natomiast są zdania, że w tym okresie może zachodzić wybiórcza transkrypcja genomu i poszczególne rodzaje RNA syntetyzowane są w różnej kolejności i czasie [2, 7, 10, 11, 34, 35, 37, 41, 51]. Dotychczas jednak nie ustalono jednolitego wzorca syntezy RNA we wczesnym okresie kiełkowania nasion, a uzyskane dane eksperymentalne wskazują, że istnieje duża odrębność gatunkowa [6, 12, 22, 34, 36, 50, 53].

Liczni badacze przedstawili bezpośrednie dowody, że w pierwszych godzinach kiełkowania synteza żadnego z głównych rodzajów RNA nie ma decydującego wpływu na inicjację i przebieg kiełkowania, gdyż główną rolę w tym okresie rozwoju odgrywa stabilny mRNA [17, 18, 21, 30, 31, 43]. Jest on transkrybowany w końcowej fazie embriogenezy, magazynowany w nasionach i reaktywowany jako matryca do syntezy białka dopiero po hydratacji nasion [4, 5, 50, 52, 54]. Z tego względu bardziej ciekawe wydawało się prześledzenie zmian innych rodzajów RNA zachodzących po zainicjowaniu procesu kiełkowania podczas dłuższego okresu wzrostu i rozwoju rośliny.

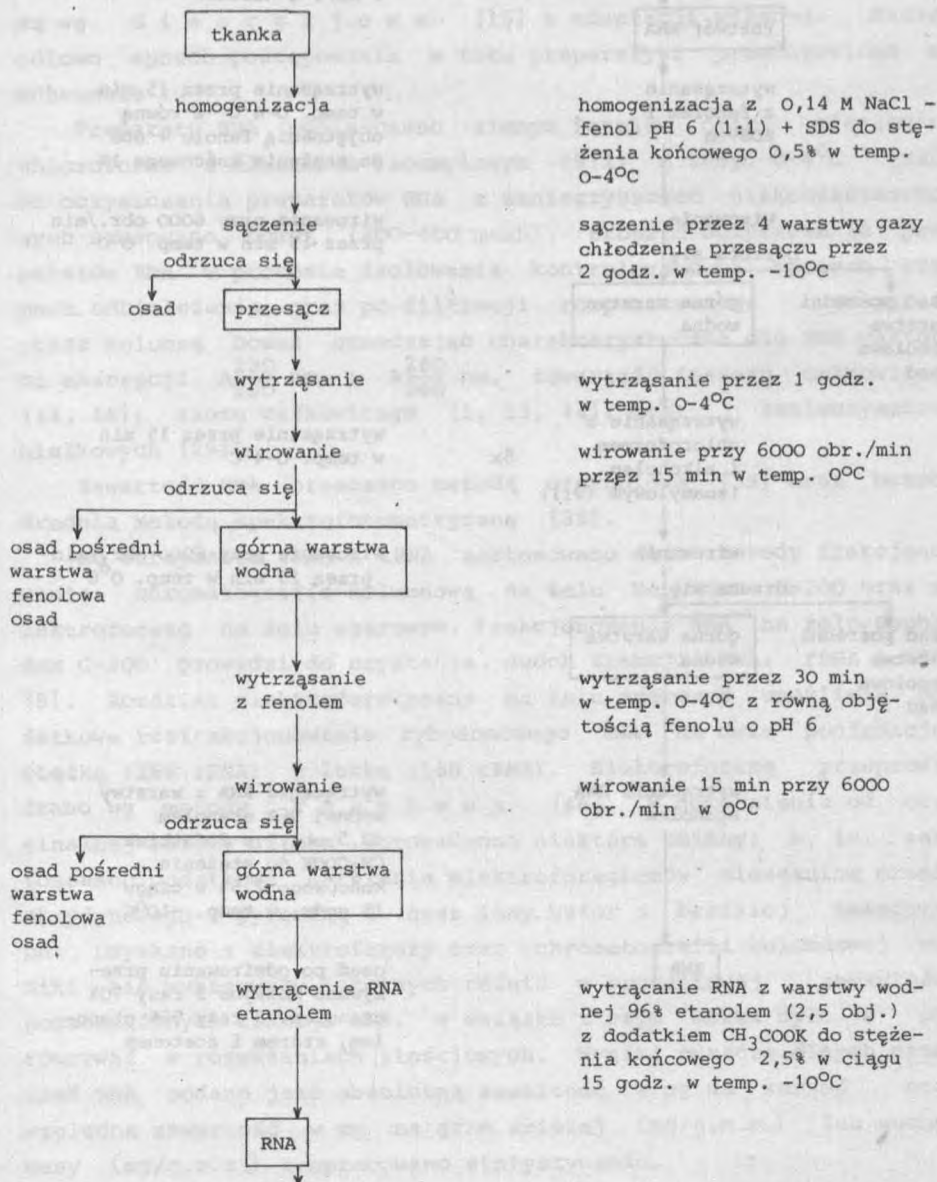
Zbadanie zmian poziomu rybosomowego (rRNA) i niskocząsteczkowego (tRNA) podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia kukurydzy (*Z. mays* L.) w powiązaniu ze zmianami poziomu całkowitego RNA oraz świeżej i suchej masy tkanki stanowiło przedmiot niniejszej pracy.

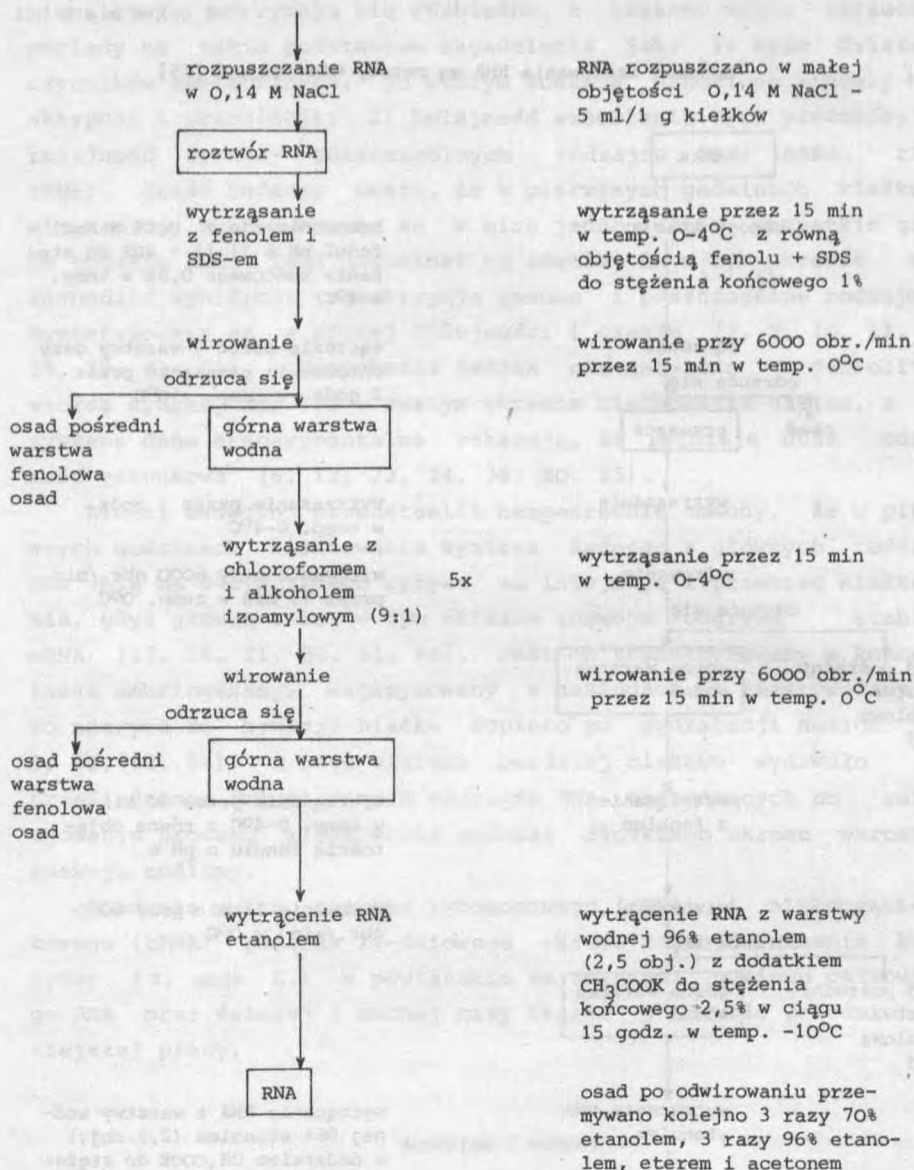
MATERIAŁ I METODY

Obiektem badań były korzenie siewek kukurydzy (*Z. mays* L.) odmiana VIR-42. Ziarna kukurydzy użyte do hodowli kiełków otrzymano ze Stacji Nasiennej w Łodzi. Ziarna pługano w zimnej bieżącej wodzie w ciągu godziny, przemywano kilkakrotnie wodą destylowaną i kiełkowano w kiuwetach porcelanowych na zwilżonej

Schemat 1

Schemat izolowania RNA wg metody Gieorgijewa [15]





wodą destylowaną bibule filtracyjnej w stałej temperaturze 27°C. Kiełki zbierano po upływie 2, 4, 6, 8, 10 i 14 dni rozwoju, licząc czas hodowli od chwili umieszczenia nasion w cieplarni.

RNA izolowano z całego korzenia metodą fenolowo-detergentową wg G i e o r g i j e w a [15] w adaptacji własnej. Szczegółowo sposób postępowania w toku preparatyki przedstawiono na schemacie 1.

Preparaty RNA odbiańczano zimnym fenolem oraz mieszaniną chloroformu z alkoholem izoamylowym (9:1) w temp. 0-4°C [42]. Do oczyszczenia preparatów RNA z zanieczyszczeń niskocząsteczkowych stosowano Dowex (200-400 mesh). Stopień oczyszczenia preparatów RNA w procesie izolowania kontrolowano na różnych etapach odbiańczenia oraz po filtracji rozpuszczonego preparatu przez kolumnę Dowex oznaczając charakterystyczne dla RNA wartości absorpcji A_{230}^{260} nm i A_{280}^{260} nm, zawartość fosforu całkowitego [14, 16], azotu całkowitego [1, 13, 44], oraz zanieczyszczeń białkowych [29].

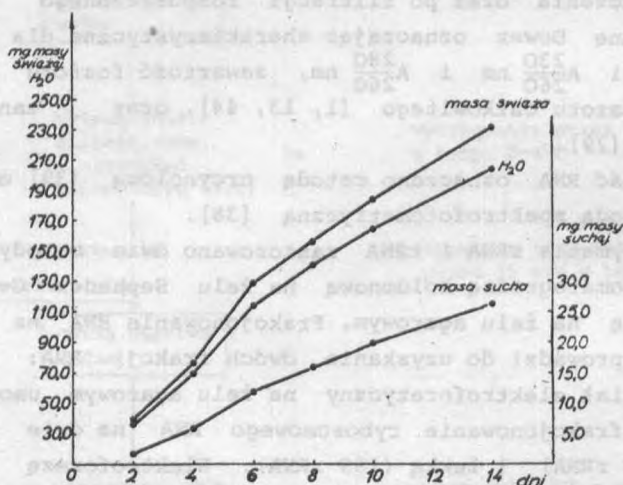
Zawartość RNA oznaczano metodą orcynolową [39] oraz bezpośrednią metodą spektrofotometryczną [38].

Do otrzymania rRNA i tRNA zastosowano dwie metody frakcjonowania: chromatografię kolumnową na żelu Sephadex G-200 oraz elektroforezę na żelu agarowym. Frakcjonowanie RNA na żelu Sephadex G-200 prowadzi do uzyskania dwóch frakcji RNA: rRNA i tRNA [9]. Rozdział elektroforetyczny na żelu agarowym umożliwia dodatkowe rozfrakcjonowanie rybosomowego RNA na dwie podfrakcje: ciężką (26S rRNA) i lekką (18S rRNA). Elektroforezę przeprowadzano wg metody T s a n i e w a [46]. W odróżnieniu od oryginalnej metody autora wprowadzono niektóre zmiany; m. in. zastosowano dodatkowe barwienie elektroforegramów mieszaniną oranżu akrydynowego i pyroniną B oraz inny bufor o bardziej zasadowym pH. Uzyskane z elektroforezy oraz chromatografii kolumnowej wyniki nie wykazywały istotnych różnic w procentowej zawartości poszczególnych frakcji RNA, w związku z czym można było je porównywać w rozważaniach ilościowych. Wyniki poszczególnych oznaczeń RNA podano jako absolutną zawartość w µg na korzeń oraz względną zawartość w mg na gram świeżej (mg/g.m.m.) lub suchej masy (mg/g.m.s.) i opracowano statystycznie.

WYNIKI I OMÓWIENIE WYNIKÓW

1. Zmiany masy suchej, masy świeżej oraz zawartości wody korzenia podczas jego rozwoju

A. Zmiany masy suchej. Podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia jego sucha masa wykazuje ciągły wzrost. Zwiększa się ona z 3,60 mg dla korzenia 2-dniowego do 27,23 mg dla korzenia 14-dniowego (tab. 1). Jak wynika z przebiegu krzywej na rys. 1, przyrost ten ma charakter liniowy, co świadczy o tym, że wzrost korzenia w badanym okresie jest raczej równomierny.



Rys. 1. Zmiany masy świeżej, masy suchej oraz zawartości wody korzenia kukurydzy podczas jego rozwoju

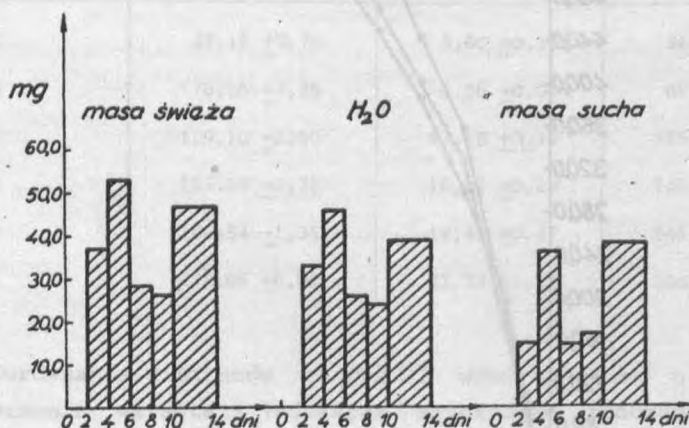
Changes of the fresh mass, dry mass and water content in the whole corn root during its development

Изменения свежего и сухого вещества и содержания воды в корне кукурузы во время его развития

Wyjątek stanowi jedynie okres między 4 a 6 dniem, kiedy średni przyrost suchej masy jest prawie dwukrotnie wyższy od przyrostu w pozostałych okresach 2-dniowych (rys. 2). Fakt ten jest niewątpliwie bardzo interesujący, choć trudny do wyjaśnienia. Na-

leży jednak zaznaczyć, że w tym czasie zaobserwowano również największy przyrost zawartości RNA (rys. 5).

W diagramie na rys. 2 zwraca uwagę jednakowa wysokość słupków przedstawiających przyrost masy suchej w dwóch różnych okresach czasu: od 4 do 6 oraz od 10 do 14 dnia. Należy jednak zaznaczyć, że aczkolwiek przyrost suchej masy korzenia w okresie od 10 do 14 dnia jest nawet nieco większy od zaobserwowanego w okresie między dniem 4 a 6, odnosi się on do dwukrotnie dłuższego okresu, co zostało zaznaczone podwójną szerokością słupka. Dlatego wydaje się, że średni 2-dniowy przyrost masy suchej w tym okresie nie odbiega od średnich wartości obliczonych dla pozostałych okresów 2-dniowych. Za taką interpretacją wyników przemawia również krzywa ilustrująca zmiany masy suchej na rys. 1. Począwszy od 6 dnia ma ona przebieg linii prostej o stałym kącie nachylenia względem osi odciętych.



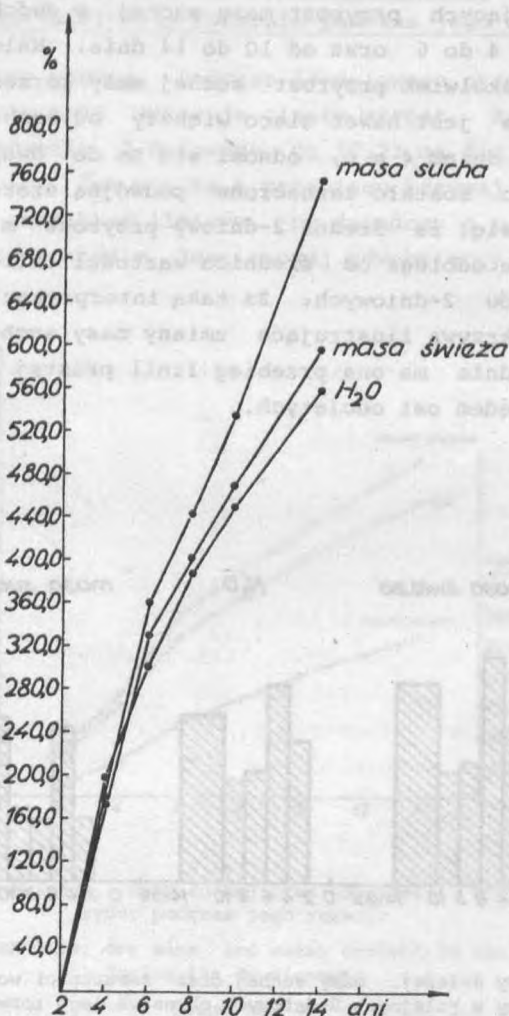
Rys. 2. Zmiany masy świeżej, masy suchej oraz zawartości wody korzenia kukurydzy w kolejnych 2-dniowych okresach jego rozwoju

Changes of the fresh mass, dry mass and water content in the whole corn root in several 2 days periods of its development

Изменения свежего и сухого вещества и содержания воды в корне кукурузы в последующих 2-дневных промежутках в процессе его развития

Identyczne wnioski można wyciągnąć odnośnie do charakteru krzywej na rys. 3, która przedstawia procentowe zmiany ma-

sy suchej korzenia w stosunku do kontroli (korzeń 2-dniowy).



Rys. 3. Procentowy przyrost masy świeżej, masy suchej oraz zawartości wody korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego w stosunku do kontroli

Percent increase of the fresh mass, dry mass and water content in the 4, 6, 8, 10 and 14 days roots in comparison with the control

Процентный прирост свежего вещества, сухого вещества и содержания воды в 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневном корне по отношению к контролю

B. Zmiany masy świeżej. Są to zmiany podobne do opisanych dla masy suchej. Masa świeża korzenia również wzrasta przez cały czas obserwowanego rozwoju. Zwiększa się ona z 39,16 mg dla korzenia 2-dniowego do 232,05 mg dla korzenia 14-dniowego (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość masy świeżej, masy suchej oraz wody
w całym korzeniu kukurydzy w poszczególnych dniach rozwoju
(w mg)

The content of the fresh mass, dry mass and water content
in the whole corn root during several days of its development
(in mg)

Содержание свежего вещества, сухого вещества и воды
во всем корне кукурузы в разные дни его развития
(в мг)

Wiek kiełków w dniach	Masa świeża	Masa sucha	Zawartość H ₂ O
2	39,16 $\pm$ 2,70	3,60 $\pm$ 0,15	36,55 $\pm$ 1,60
4	76,05 $\pm$ 3,35	6,56 $\pm$ 0,09	69,68 $\pm$ 3,38
6	129,10 $\pm$ 2,69	13,18 $\pm$ 0,33	115,91 $\pm$ 2,85
8	157,88 $\pm$ 2,73	16,03 $\pm$ 0,28	141,85 $\pm$ 2,90
10	184,54 $\pm$ 1,35	19,43 $\pm$ 0,42	165,04 $\pm$ 1,59
14	232,05 $\pm$ 6,98	27,23 $\pm$ 0,32	204,81 $\pm$ 6,95

Z porównania diagramów na rys. 2 wynika, że o ile sucha masa korzenia wzrasta z jednakową szybkością podczas całego badanego okresu rozwoju - z wyjątkiem omówionego już okresu między dniem 4 a 6 - to szybkość przyrostu masy świeżej jest większa w pierwszych dniach kiełkowania, a potem stopniowo spada. Jest to spowodowane intensywniejszym pobieraniem wody przez rosnący korzeń na początku badanego okresu.

Przyrost masy świeżej korzenia był również największy między 4 a 6 dniem, aczkolwiek zmiany nie są tak duże jak te, które zaobserwowano dla masy suchej. Zwiększony przyrost masy świeżej, który występuje między 10 a 14 dniem, nie może być brany pod uwagę z tych samych powodów, które omówiono już wcześniej dla masy suchej (rys. 2).

C. Zmiany ilości pobranej wody. Charakterystyczne dla pierwszych dni kiełkowania i wzrostu korzenia było intensywne pobieranie wody, które utrzymywało się do 6 dnia. Jeżeli porównamy krzywe na rys. 3 przedstawiające procentowe zmiany masy suchej i zawartości wody w tym okresie w stosunku do analogicznych wartości dla korzenia 2-dniowego (kontroli), to nie ulega wątpliwości, że podczas pierwszych 4 dni przyrost ilości pobranej przez korzeń wody jest szybszy niż przyrost zawartości masy suchej. Dane te są zgodne z wynikami innych autorów [19, 20] i potwierdzają wyrażony już wcześniej pogląd, że hydratacja nasienia i dalsze intensywne pobieranie wody przez rosnący kiełek stanowi jedną z najbardziej charakterystycznych zmian połączonych z początkową fazą procesu kiełkowania.

Tabela 2

Przyrost masy świeżej, masy suchej oraz ilości wody w korzeniu
4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowym w stosunku do kontroli
(korzeń 2-dniowy)

The increase of the fresh mass, dry mass nad water content in
4, 6, 8, 10 and 14 days roots in comparison with control
(2 days root)

Прирост свежего и сухого вещества и содержания воды
в 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневном корне по отношению к контролю
(2-дневный корень)

Wiek kiełków w dniach	Masa świeża		Masa sucha		Zawartość H ₂ O	
	mg	%	mg	%	mg	%
4	36,89	94,20	2,96	82,22	33,13	90,64
6	89,94	229,67	9,58	266,11	79,36	217,12
8	118,72	303,16	12,43	345,36	105,30	288,09
10	145,38	371,24	15,83	439,80	128,49	351,54
14	192,89	492,56	23,63	656,47	168,26	460,35

Począwszy od 6 dnia pobieranie wody zachodzi z mniejszą szybkością, podczas gdy w tym samym czasie sucha masa zaczyna wzrastać o wiele szybciej. Zawartość jej w stosunku do suchej masy korzeni 2-dniowych (kontrolnych) pod koniec badanego okresu zwiększa się o 656,47%. Analogiczna wartość dla pobranej przez

korzeń wody wynosi 460,35% (tab. 2). W 4 dniu wzrostu natomiast wartości te przedstawiają się odwrotnie, przyrost ilości pobranej wody w stosunku do kontroli jest większy niż jego masa sucha i wynosi 90,64%. Przyrost masy suchej natomiast - 82,22% (tab. 2, rys. 3).

2. Zmiany poziomu RNA podczas rozwoju korzenia

Podczas badanego okresu rozwoju zawartość całkowitego RNA w μg na 1 korzeń zwiększa się z 176,75 μg dla korzenia 2-dniowego do 745,59 μg dla korzenia 14-dniowego. Wyniki te dotyczą oznaczenia RNA metodą spektrofotometryczną. Analogiczne wartości dla RNA oznaczonego metodą orcynolową wynoszą odpowiednio 143,20 i 698,66 μg (tab. 3).

Pod koniec badanego okresu rozwoju korzenia przyrost absolutnej zawartości RNA oznaczonego metodą spektrofotometryczną w stosunku do analogicznej zawartości RNA w korzeniu 2-dniowym (kontrolnym) wynosi 321,83%, natomiast przyrost zawartości RNA oznaczonego metodą orcynolową 387,89% (tab. 4, rys. 6).

Daje się zauważyć duże podobieństwo między zmianami RNA a zmianami suchej masy. Tempo przyrostu zawartości RNA, podobnie jak suchej masy, jest większe w pierwszych dniach kiełkowania (od 2 do 6 dnia - rys. 2 i 5). Po tym okresie absolutna zawartość RNA wykazuje dalszy wzrost, ale tempo przyrostu jest wolniejsze. Analogicznie do zmian suchej masy zaobserwowano także największy przyrost zawartości RNA między 4 a 6 dniem wzrostu. Szczególnie wyraźnie widać to na diagramie (rys. 5). Przyrost absolutnej zawartości RNA w tym okresie jest prawie dwukrotnie wyższy od przyrostu w pozostałych okresach 2-dniowych.

Względna zawartość RNA w mg na gram suchej masy korzenia (tab. 3, rys. 7) w okresie od 2 do 6 dnia wykazuje niewielki spadek z 39,23 do 32,23 mg dla RNA oznaczonego metodą orcynolową i z 48,78 do 33,78 mg dla RNA oznaczonego metodą spektrofotometryczną. W okresie od 6 do 10 dnia względna zawartość RNA pozostaje prawie na tym samym poziomie, po czym zaczyna znowu powoli spadać.

Porównanie procentowych zmian całkowitego RNA w różnych okresach rozwoju korzenia w stosunku do kontroli (korzeń 2-dnio-

Tabela 3

Zawartość RNA w całym korzeniu kukurydzy w poszczególnych dniach rozwoju
 The content of RNA in the whole corn root in several days of its development
 Содержание РНК во всем корне кукурузы в разные дни его развития

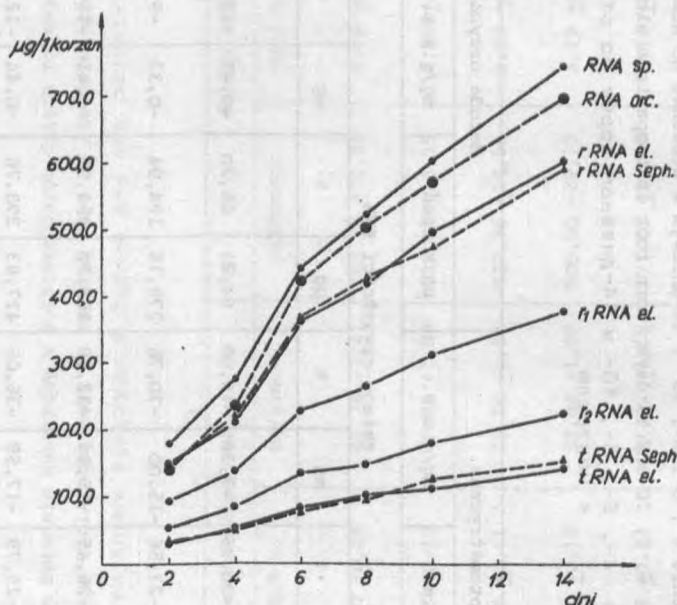
Wiek kiełków w dniach	Metoda spektrofotometryczna			Metoda orcynolowa		
	µg/korzeń	mg/g.m.m.	mg/g.m.s.	µg/korzeń	mg/g.m.m.	mg/g.m.s.
2	176,75 $\pm$ 16,52	4,50 $\pm$ 0,24	48,78 $\pm$ 3,41	143,20 $\pm$ 18,53	3,60 $\pm$ 0,29	39,23 $\pm$ 3,83
4	271,41 $\pm$ 11,17	3,58 $\pm$ 0,13	41,42 $\pm$ 1,98	238,01 $\pm$ 13,55	3,13 $\pm$ 0,13	36,28 $\pm$ 2,29
6	443,60 $\pm$ 15,14	3,44 $\pm$ 0,11	33,78 $\pm$ 1,53	422,36 $\pm$ 14,56	3,27 $\pm$ 0,10	32,23 $\pm$ 1,63
8	524,28 $\pm$ 24,57	3,31 $\pm$ 0,12	32,84 $\pm$ 1,87	506,90 $\pm$ 28,73	3,19 $\pm$ 0,14	31,77 $\pm$ 2,11
10	603,71 $\pm$ 23,74	3,34 $\pm$ 0,13	31,19 $\pm$ 1,58	571,03 $\pm$ 21,45	3,16 $\pm$ 0,14	29,50 $\pm$ 1,43
14	745,59 $\pm$ 30,34	3,22 $\pm$ 0,12	27,42 $\pm$ 1,29	698,66 $\pm$ 31,04	3,01 $\pm$ 0,13	25,70 $\pm$ 1,29

T a b e l a 4

Zmiany zawartości RNA w korzeniu 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowym w stosunku do kontroli
 Changes of the RNA content in 4, 6, 8, 10 and 14 days corn root in comparison with control
 Изменения содержания РНК в 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневном корне по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	Metoda spektrofotometryczna						Metoda orcynolowa					
	µg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		µg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości RNA											
	µg	%	mg	%	mg	%	µg	%	mg	%	mg	%
4	94,66	53,55	-0,92	-20,45	-7,36	-15,09	94,81	66,20	-0,47	-13,06	-2,95	-7,52
6	266,85	150,97	-1,06	-23,56	-15,00	-30,76	279,16	194,94	-0,33	-9,17	-7,00	-17,85
8	347,53	196,62	-1,19	-26,45	-15,94	-32,68	363,70	253,98	-0,41	-11,39	-7,46	-19,02
10	426,96	241,56	-1,16	-25,78	-17,59	-36,06	427,83	298,76	-0,44	-12,23	-9,73	-24,81
14	568,84	321,83	-1,28	-28,45	-21,39	-43,79	555,46	387,89	-0,59	-16,39	-13,53	-34,49

wy) (tab. 4) z analogicznymi wartościami otrzymanymi dla suchej masy (tab. 2) pozwala stwierdzić, że tempo przyrostu suchej masy w każdym z badanych okresów jest szybsze od przyrostu RNA. Wynikiem tego jest spadek względnej zawartości RNA wyrażonej w mg na gram suchej masy.

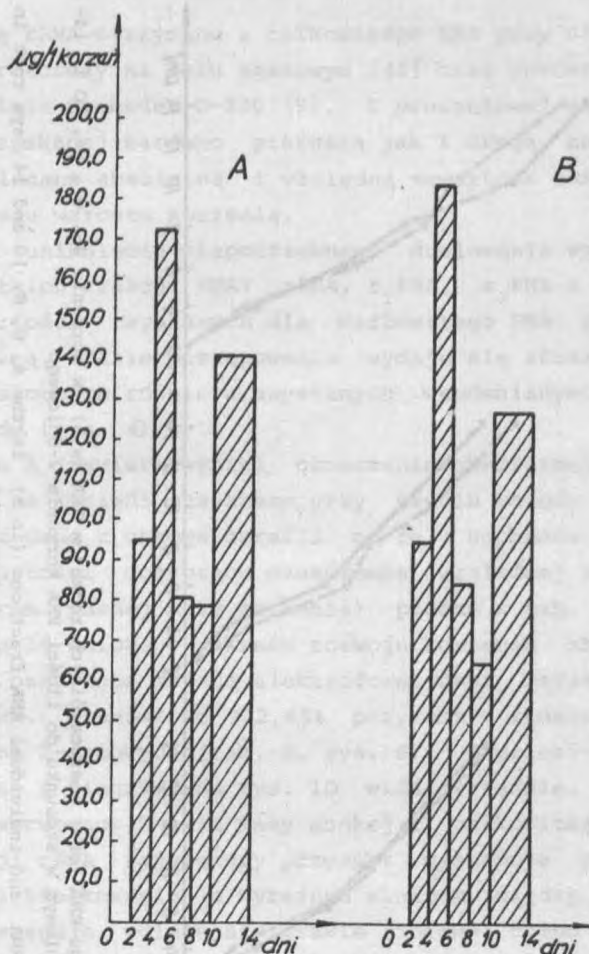


Rys. 4. Zmiany poziomu całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA podczas rozwoju korzenia kukurydzy

Changes of the total RNA and individual fractions of RNA level during development of the whole corn root

Изменения уровня общей РНК и отдельных типов РНК во время развития корня кукурузы

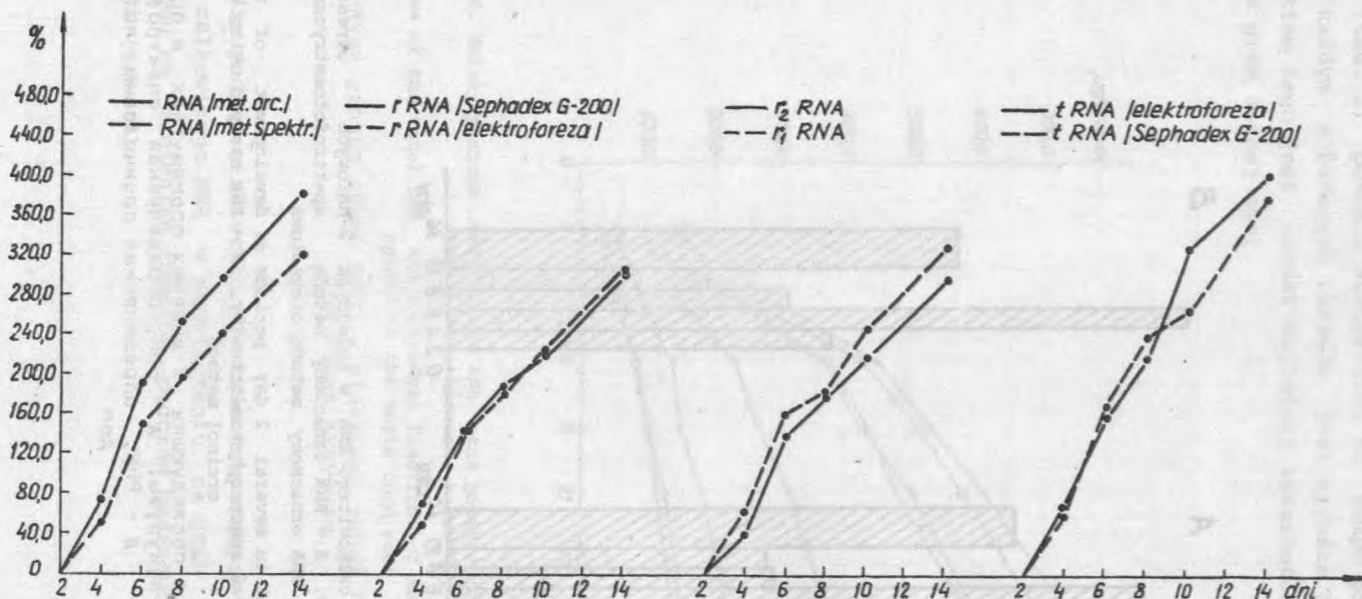
Nie podano graficznie wyników dotyczących względnej zawartości całkowitego RNA w przeliczeniu na gram świeżej masy ze względu na minimalne różnice podczas badanego okresu rozwoju korzenia (tab. 3).



Rys. 5. Zmiany zawartości całkowitego RNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju korzenia kukurydzy. A - RNA oznaczony metodą spektrofotometryczną, B - RNA oznaczony metodą orcynolową

Changes of the RNA content in several 2 day periods of development of the corn root. A - RNA assayed spectrophotometrically, B - RNA assayed using the orcinol method

Изменения уровня РНК в последующих 2-дневных промежутках в процессе развития корня кукурузы. А - РНК, определенная спектрофотометрическим методом, В - РНК, определенная орциноловым методом



Rys. 6. Przyrost ilości całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA (w %) w korzeniu 4-, 6-, 8-, 10 i 14-dniowym w stosunku do ilości RNA korzenia 2-dniowego

· Increase of the content of total RNA and individual RNA fractions (in %) in the 4, 6, 8, 10 and 14 days root in comparison with the 2 days root

Прирост содержания РНК (%) в 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневном корне по отношению к содержанию РНК в 2-дневном корне

3. Zmiany rybosomowego RNA (rRNA)

Frakcję rRNA otrzymano z całkowitego RNA przy użyciu dwóch metod: elektroforezy na żelu agarowym [46] oraz chromatografii kolumnowej na żelu Sephadex G-200 [9]. Z procentowej zawartości tej frakcji uzyskanej zarówno pierwszą jak i drugą, ze wspomnianych metod obliczano absolutną i względną zawartość rRNA podczas badanego okresu wzrostu korzenia.

W celu uniknięcia niepotrzebnego dublowania wyników zawartość wszystkich frakcji RNA: rRNA, r_1 RNA, r_2 RNA i tRNA przeliczano z wartości uzyskanych dla całkowitego RNA metodą spektrofotometryczną. Takie postępowanie wydaje się słuszne ze względu na brak istotnych różnic w uzyskanych wspomnianymi powyżej metodami wyników (rys. 4).

Tabela 5 zawiera wyniki oznaczenia absolutnej zawartości rRNA (w μ g na korzeń) uzyskane przy użyciu metody elektroforetycznej oraz dane z chromatografii na żelu Sephadex G-200. Analogiczne wartości dotyczące oznaczenia względnej zawartości rRNA (w mg na gram suchej masy korzenia) podano w tab. 6.

Podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia absolutna zawartość rRNA oznaczona metodą elektroforetyczną wzrasta z 146,01 do 602,23 μ g. Stanowi to 312,45% przyrost w stosunku do kontrolnych korzeni 2-dniowych (tab. 8, rys. 6). Z przebiegu krzywych na rys. 4 oraz z diagramu na rys. 10 widać wyraźnie, że podobnie do zmian zaobserwowanych dla masy suchej i całkowitego RNA również i we frakcji rRNA największy przyrost występuje podczas pierwszych 6 dni kiełkowania z wyraźnym skokiem między 4 a 6 dniem, po czym następuje wolniejsze prawie liniowe tempo wzrostu.

Podobnie wyglądają krzywe obrazujące zmiany obu podfrakcji rRNA: r_1 RNA reprezentująca frakcję rRNA o stałej sedymentacji 26S i r_2 RNA o stałej sedymentacji 18S.

Absolutna zawartość cięższej frakcji rybosomowego RNA (r_1 RNA) w μ g na korzeń wzrasta z 93,71 do 379,45 μ g, podczas 14-dniowego okresu wzrostu korzenia natomiast analogiczna zawartość frakcji lżejszej (r_2 RNA) zwiększa się z 50,96 do 222,73 μ g (tab. 5). Wartości te stanowią odpowiednio 304,91 i 337,06% przyrost w stosunku do kontroli (tab. 9, rys. 6).

Jak wynika z przebiegu krzywych dla r_1 RNA i r_2 RNA (rys. 4), obie frakcje rybosomowego RNA wzrastają w prawie jednakowym tem-

Tabela 5

Zawartość poszczególnych rodzajów RNA (w μg na korzeń) w całym korzeniu kukurydzy w różnych dniach rozwoju

The content of individual fractions of RNA (in μg per root) in the whole corn root in several days of its development

Содержание отдельных типов РНК (в мг на корень) во всем корне кукурузы в разные дни его развития

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	rRNA	r_1 RNA	r_2 RNA	tRNA	rRNA	tRNA
2	146,01 $\pm$ 15,67	93,71 $\pm$ 10,38	50,96 $\pm$ 4,54	30,22 $\pm$ 0,43	147,03 $\pm$ 14,00	29,61 $\pm$ 3,03
4	218,51 $\pm$ 10,12	135,30 $\pm$ 5,53	84,25 $\pm$ 3,50	50,70 $\pm$ 2,85	219,10 $\pm$ 10,80	52,21 $\pm$ 1,82
6	360,55 $\pm$ 17,65	226,48 $\pm$ 8,68	134,35 $\pm$ 9,90	82,90 $\pm$ 4,95	362,12 $\pm$ 12,69	77,80 $\pm$ 1,40
8	418,53 $\pm$ 20,92	263,98 $\pm$ 14,94	147,00 $\pm$ 4,34	105,65 $\pm$ 6,27	426,88 $\pm$ 20,96	97,30 $\pm$ 6,33
10	491,91 $\pm$ 17,90	310,83 $\pm$ 13,53	181,03 $\pm$ 4,57	111,71 $\pm$ 22,35	474,70 $\pm$ 23,31	128,91 $\pm$ 4,97
14	602,23 $\pm$ 22,56	379,45 $\pm$ 13,01	222,73 $\pm$ 12,34	143,26 $\pm$ 9,15	592,36 $\pm$ 27,63	153,13 $\pm$ 7,47

Zawartość poszczególnych rodzajów RNA (w mg na gram suchej masy korzenia) w całym korzeniu kukurydzy
w różnych dniach rozwoju

The content of the individual fractions of RNA (in mg per gram of the root dry mass) in the whole corn root
in several days of its development

Содержание отдельных типов РНК (в мг на грамм сухого веса) во всем корне кукурузы
в разные дни его развития

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
2	40,22 $\pm$ 3,31	25,82 $\pm$ 2,26	14,08 $\pm$ 0,89	8,72 $\pm$ 0,44	44,64 $\pm$ 3,04	8,12 $\pm$ 0,55
4	33,35 $\pm$ 1,74	20,74 $\pm$ 1,03	12,86 $\pm$ 0,47	7,76 $\pm$ 0,47	33,46 $\pm$ 1,89	7,95 $\pm$ 0,26
6	27,50 $\pm$ 1,66	17,23 $\pm$ 0,79	10,26 $\pm$ 0,91	6,27 $\pm$ 0,32	27,37 $\pm$ 1,22	5,95 $\pm$ 0,23
8	24,54 $\pm$ 1,56	16,54 $\pm$ 1,10	9,66 $\pm$ 0,54	6,62 $\pm$ 0,44	26,71 $\pm$ 1,51	6,11 $\pm$ 0,49
10	25,41 $\pm$ 1,22	16,06 $\pm$ 0,87	9,34 $\pm$ 0,35	5,77 $\pm$ 0,51	24,40 $\pm$ 1,48	6,65 $\pm$ 0,32
14	22,24 $\pm$ 1,00	13,94 $\pm$ 0,52	8,19 $\pm$ 0,51	5,27 $\pm$ 0,37	21,80 $\pm$ 1,19	5,36 $\pm$ 0,34

Zawartość poszczególnych rodzajów RNA (w mg na gram świeżej masy korzenia) w całym korzeniu kukurydzy w różnych dniach rozwoju

The content of individual fractions of RNA (in mg per gram of the root fresh mass) in the whole corn root in several days of its development

Содержание отдельных типов РНК (в мг на грамм свежего вещества) во всем корне кукурузы в разные дни его развития

Wiek kielków w dniach	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
2	3,69 $\pm$ 0,22	2,37 $\pm$ 0,15	1,29 $\pm$ 0,06	0,80 $\pm$ 0,04	3,69 $\pm$ 0,18	0,75 $\pm$ 0,07
4	2,87 $\pm$ 0,09	1,79 $\pm$ 0,06	1,10 $\pm$ 0,04	0,66 $\pm$ 0,04	2,89 $\pm$ 0,13	0,68 $\pm$ 0,01
6	2,79 $\pm$ 0,13	1,68 $\pm$ 0,03	1,03 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,04	2,78 $\pm$ 0,07	0,57 $\pm$ 0,00
8	2,64 $\pm$ 0,11	1,66 $\pm$ 0,08	0,97 $\pm$ 0,04	0,66 $\pm$ 0,03	2,58 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,03
10	2,72 $\pm$ 0,11	1,72 $\pm$ 0,08	1,00 $\pm$ 0,03	0,61 $\pm$ 0,04	2,62 $\pm$ 0,11	0,72 $\pm$ 0,03
14	2,59 $\pm$ 0,09	1,63 $\pm$ 0,04	0,95 $\pm$ 0,05	0,61 $\pm$ 0,03	2,55 $\pm$ 0,11	0,66 $\pm$ 0,03

Zmiany zawartości rRNA w korzeniu 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowym w stosunku do kontroli
 Changes of the ribosomal RNA content (rRNA) in the 4, 6, 8, 10 and 14 days root
 in comparison with control
 Изменения содержания рибосомальной РНК в 4-, 6-, 8-, 10 и 14-дневном корне кукурузы
 по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza						Sephadex G-200					
	µg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		µg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości rRNA											
	µg	%	µg	%	µg	%	µg	%	µg	%	µg	%
4	72,50	49,65	-0,82	-22,23	-6,87	17,09	72,07	74,04	-0,80	-21,69	-7,18	-17,18
6	214,54	146,93	-0,90	-24,40	-12,72	31,63	215,09	146,78	-0,91	-24,67	-13,27	-32,66
8	272,52	186,64	-1,05	-28,46	-15,68	38,99	279,85	190,33	-1,11	-30,09	-13,93	-34,28
10	375,90	236,90	-0,97	-26,29	-17,18	36,83	327,67	222,85	-1,07	-29,00	-16,24	-39,97
14	456,22	312,45	-1,10	-29,82	-17,98	44,71	445,33	302,88	-1,14	-30,90	-18,84	-45,63

pie. Na podstawie danych z tab. 8 oraz diagramu na rys. 10 wydaje się jednak, że zaobserwowany gwałtowny skok w absolutnej zawartości rRNA między 4 a 6 dniem wzrostu korzenia w większej mierze dotyczy r_1 RNA.

Względna zawartość rRNA wyrażona w mg na gram suchej masy ulega nieznacznemu obniżeniu podczas pierwszych 6 dni kiełkowania z 40,22 do 27,50 mg, po czym prawie nie wykazuje dalszych zmian (tab. 6, rys. 7). To samo można powiedzieć o względnej zawartości r_1 RNA i r_2 RNA (tab. 6). Podczas pierwszych 6 dni kiełkowania zawartość r_1 RNA w mg na gram suchej masy ulega obniżeniu z 25,82 do 17,23 mg, a r_2 RNA z 14,08 do 10,26 mg, po tym okresie r_2 RNA nie wykazuje dalszych zmian, a r_1 RNA nieznacznie spada między 10 a 14 dniem.

Z diagramu na rys. 11 wynika, że zaobserwowany początkowy spadek względnej zawartości r_1 RNA dotyczy w większej mierze jego cięższej frakcji - r_1 RNA. Zmiany r_2 RNA są nieznaczne. Krzywe na rys. 9 pokazujące procentowy spadek względnej zawartości r_1 RNA i r_2 RNA w stosunku do kontroli (korzeń 2-dniowy) przebiegają równolegle od 6 do 14 dnia, co sugeruje, że względna zawartość obu frakcji w tym czasie zmienia się w sposób jednakowy. Podczas pierwszych 4 dni natomiast spadek względnej zawartości r_1 RNA jest większy.

4. Zmiany niskocząsteczkowego RNA (tRNA)

Zawartość tRNA w całym korzeniu oznaczano również dwoma metodami: przy użyciu elektroforezy na żelu agarowym oraz chromatografii na żelu Sephadex G-200 w sposób identyczny z opisanym już poprzednio dla rRNA. Frakcja ta w porównaniu z frakcjami rybosomowego RNA wykazywała mniejsze zmiany. Absolutna zawartość tRNA w μ g na korzeń wykazywała powolny liniowy wzrost podczas całego badanego okresu rozwoju korzenia (rys. 4). Umieszczone w tab. 6 dane z poszczególnych oznaczeń poziomu tRNA wskazują, że absolutna zawartość tego rodzaju RNA w μ g na korzeń zwiększa się z 30,22 do 143,26 μ g w obliczeniach uzyskanych z metody elektroforetycznej i z 29,61 do 153,13 μ g w obliczeniach otrzymanych przy użyciu chromatografii kolumnowej.

Zmiany zawartości r_1 RNA i r_2 RNA w całym korzeniu kukurydzy w 4, 6, 8, 10 i 14 dniu rozwoju w stosunku do kontroli

Changes of the r_1 RNA and r_2 RNA content in the whole corn root in 4, 6, 8, 10 and 14 day of its development in comparison with control

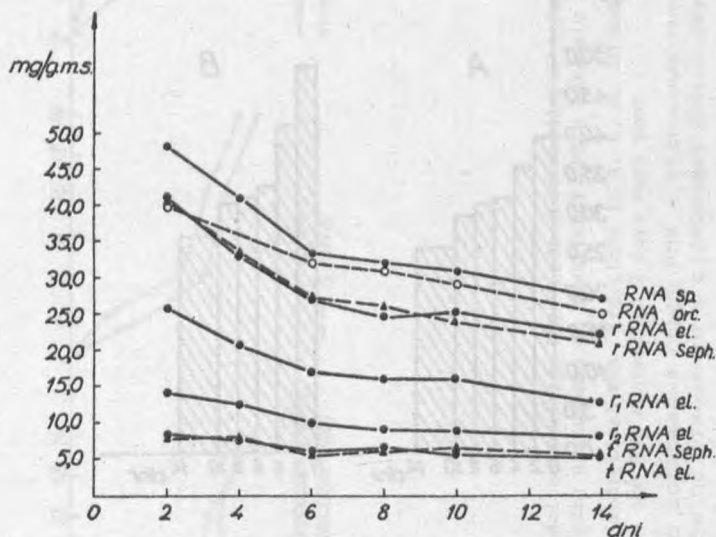
Изменения содержания r_1 РНК и r_2 РНК во всем корне кукурузы на 4, 6, 8, 10 и 14 день его развития по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	r_1 RNA						r_2 RNA					
	μg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		μg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości poszczególnych frakcji rRNA											
	μg	%	mg	%	mg	%	μg	%	mg	%	mg	%
4	41,59	44,38	-0,58	-24,48	-5,08	-19,68	33,29	65,32	-0,19	-14,73	-1,22	-8,67
6	132,77	141,68	-0,69	-29,12	-8,59	-33,27	83,39	163,63	-0,26	-20,16	-3,82	-27,14
8	170,27	181,69	-0,71	-29,96	-9,28	-35,95	96,04	188,46	-0,32	-24,81	-4,12	-31,40
10	217,12	231,69	-0,65	-27,75	-9,76	-37,81	130,07	255,23	-0,29	-22,49	-4,74	-33,67
14	285,74	304,91	-0,74	-31,23	-11,88	-46,02	171,77	337,06	-0,34	-26,36	-5,89	-41,84

Zmiany zawartości tRNA w korzeniu 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowym kukurydzy w stosunku do kontroli
 Changes of the tRNA content in the 4, 6, 8, 10 i 14 day corn root in comparison with control
 Изменение содержания тРНК в 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневного корня кукурузы по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza						Sephadex G-200					
	μg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		μg/korzeń		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości tRNA											
	μg	%	mg	%	mg	%	μg	%	mg	%	mg	%
4	20,48	67,76	-0,14	-17,50	-0,96	-11,01	22,60	76,32	-0,07	-9,34	-0,17	-2,10
6	52,68	174,32	-0,16	-20,00	-2,45	-28,10	48,19	162,74	-0,18	-14,00	-2,17	-26,73
8	75,43	249,60	-0,14	-17,50	-2,10	-24,09	67,69	228,60	-0,14	-18,67	-2,01	-24,76
10	81,49	269,65	-0,19	-23,75	-2,95	-33,84	99,30	335,35	-0,03	-14,00	-1,47	-18,11
14	113,04	374,05	-0,19	-23,75	-3,45	-39,57	123,52	417,15	-0,09	-12,00	-2,76	-34,00

Pod koniec badanego okresu wzrostu korzenia zawartość tRNA w μg na korzeń oznaczona metodą elektroforetyczną wzrasta o 374,05% w stosunku do kontroli (tab. 10), a analogiczny przyrost dla tRNA oznaczonego z frakcjonowania całkowitego RNA na żelu Sephadex G-200 wynosi 417,15%. W odróżnieniu od całkowitego RNA i rRNA, nie zaobserwowano większego przyrostu zawartości tRNA między 4 a 6 dniem, a z diagramu na rys. 10 wynika,



Rys. 7. Zmiany względnej zawartości całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA podczas rozwoju korzenia kukurydzy

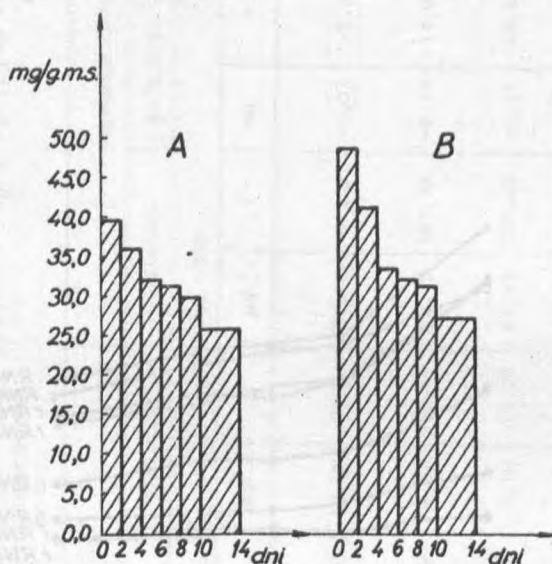
Changes of the relative content of total RNA and individual fractions of RNA during the root development

Изменения относительного содержания общей РНК и отдельных типов РНК во время развития корня кукурузы

że przyrost zawartości tej frakcji w poszczególnych okresach 2-dniowych jest prawie jednakowy.

Porównanie krzywych ilustrujących zmiany procentowe tRNA w stosunku do kontroli i obliczone z zawartości tRNA w μg na korzeń z analogicznymi wartościami dla całkowitego RNA i rRNA

wskazuje, że procentowy przyrost tRNA w stosunku do kontroli do 10 dnia jest podobny do zaobserwowanego dla całkowitego RNA i rRNA (rys. 6). W końcowej fazie badanego okresu rozwoju kiełka od 10 do 14 dnia przyrost tRNA wyprzedza przyrost całkowitego RNA i rRNA.*

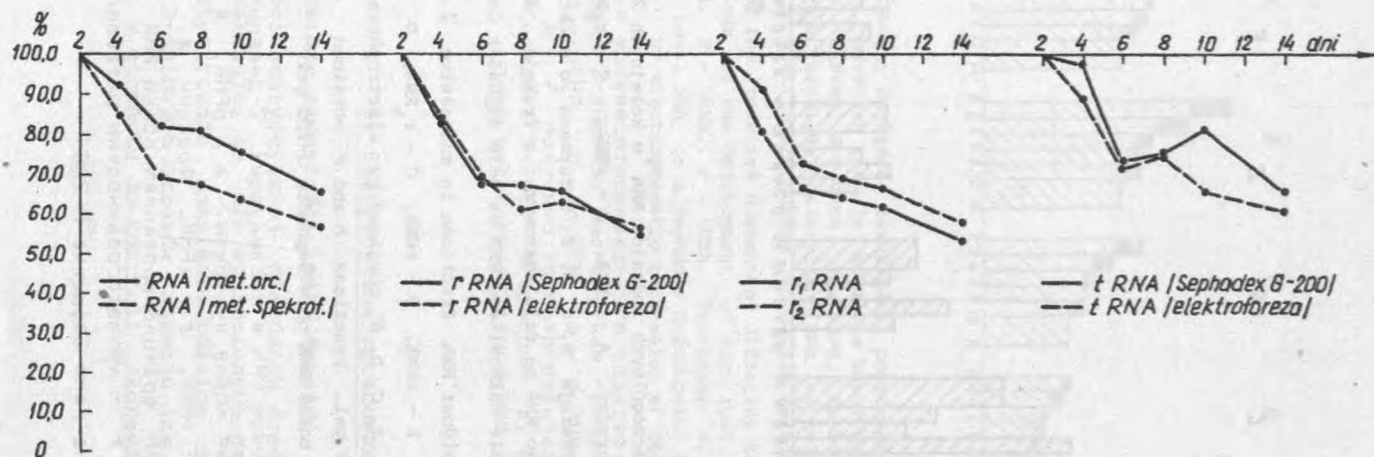


Rys. 8. Zmiany względnej zawartości całkowitego RNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju korzenia kukurydzy. A - RNA oznaczony metodą orcynolową, B - RNA oznaczony metodą spektrofotometryczną

Changes of the relative content of the total RNA and of individual RNA fraction in several 2 days periods of development of the corn root. A - RNA assayed using the orcynol method, B - RNA assayed spectrophotometrically

Изменения относительного содержания общей РНК в последующих 2-дневных промежутках в процессе развития корня кукурузы. А - РНК, определенная орциноловым методом, В - РНК, определенная спектрофотометрическим методом

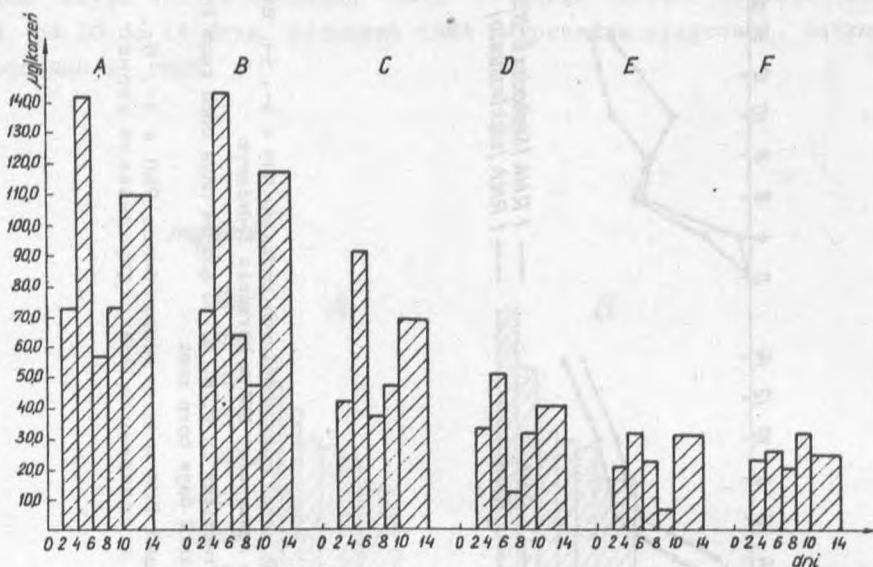
Względna zawartość tRNA wyrażona w mg na gram suchej masy wykazuje nieznaczny spadek podczas pierwszych 4 dni kiełkowania, po czym pozostaje prawie na tym samym poziomie (tab. 6, rys. 7).



Rys..9. Procentowy spadek względnej zawartości całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA w 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowym korzeniu kukurydzy w stosunku do zawartości RNA w korzeniu 2-dniowym

Percent decrease of the total RNA and of the individual RNA fractions in 4, 6, 8, 10 and 14 days corn root in comparison with the RNA content in 2 days corn root

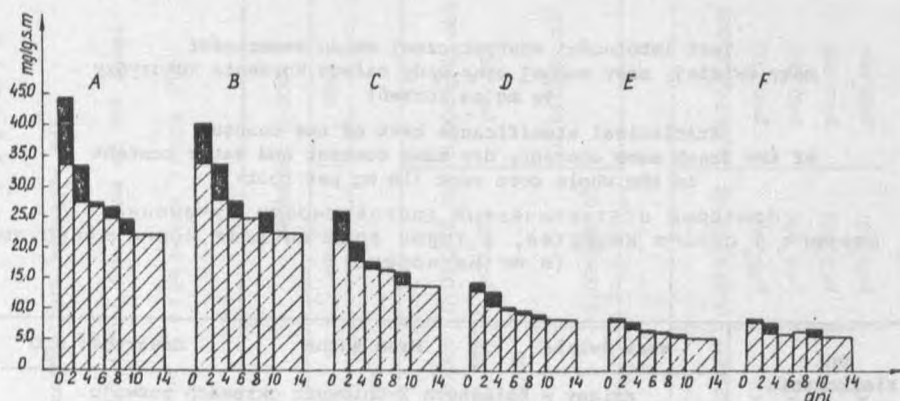
Процентное уменьшение относительного содержания общей РНК и отдельных типов РНК в 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневном корне кукурузы по отношению к содержанию РНК в двухдневном корне



Rys. 10. Zmiany zawartości poszczególnych rodzajów RNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju korzenia kukurydzy. A - rRNA, B - rRNA, C - r₁RNA, D - r₂RNA, E - tRNA, F - tRNA. Frakcje A, C, D, E otrzymano po elektroforetycznym frakcjonowaniu całkowitego RNA na żelu agarowym, a frakcje B, F po chromatograficznym rozdzieleniu całkowitego RNA na żelu Sephadex G-200

Changes of the content of individual RNA fractions in successive 2 days periods of corn root development. A - rRNA, B - rRNA, C - r₁RNA, D - r₂RNA, E - tRNA, F - tRNA. Fractions A, C, D, E obtained by electrophoretic separation of the total RNA on agar gel. Fractions B and F obtained by the chromatography of total RNA on a Sephadex G-200 gel

Изменения содержания отдельных типов РНК в последующих 2-дневных промежутках в процессе развития корня кукурузы. А - рРНК, В - рРНК, С - р₁РНК, D - р₂РНК, Е - тРНК, F - тРНК. Фракции А, С, D, Е получено электрофоретическим фракционированием общей РНК на агаровом геле, а фракции В, F - хроматографическим разделением общей РНК на геле Сепадекс Г-200



Rys. 11. Zmiany względnej zawartości poszczególnych rodzajów RNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju korzenia kukurydzy. A - rRNA, B - rRNA, C - r₁RNA, D - r₂RNA, E - tRNA, F - tRNA. Frakcje A, F otrzymano po chromatograficznym rozdzieleniu całkowitego RNA na żelu Sephadex G-200, a frakcje B, C, D, E po elektroforetycznym rozdzieleniu całkowitego RNA na żelu agarowym

Changes of the relative content of different kinds of RNA in successive 2 days periods of the development of corn root. A - rRNA, B - rRNA, C - r₁RNA, D - r₂RNA, E - tRNA, F - tRNA. Fractions A, F obtained by the chromatography of total RNA on a Sephadex G-200 gel. Fractions B, C, D, E obtained by electrophoretic separation of total RNA on agar gel

Изменения уровня относительного содержания отдельных типов РНК в последующих 2-дневных промежутках развития корня кукурузы. А - рРНК, В - рРНК, С - р₁РНК, D - р₂РНК, Е - тРНК, F - тРНК. Фракции А и F получено хроматографическим разделением общей РНК на геле Сепадекс Г-200, а фракции В, С, D, Е - электрофоретическим разделением общей РНК на агаровом геле

5. Statystyczne opracowanie wyników

A. Zmiany zawartości masy świeżej, masy suchej i wody. Test istotności statystycznej dla dwóch średnich t wg Studenta-Fischera wskazuje, że dla wymienionych parametrów można stwierdzić statystycznie znamienne różnice zarówno w obrębie porównywanych 2-dniowych okresów rozwoju jak i dla każdego z badanych okresów w stosunku do kontroli (korzeń 2-dniowy). Dane zawiera tab. 11.

Tabela 11

Test istotności statystycznej zmian zawartości
masy świeżej, masy suchej oraz wody całego korzenia kukurydzy
(w mg na korzeń)

Statistical significance test of the changes
of the fresh mass content, dry mass content and water content
in the whole corn root (in mg per root)

Критерий статистической достоверности изменений
свежего и сухого вещества, а также воды во всем корне кукурузы
(в мг на корень)

Dni kiełkowania	Masa świeża	Masa sucha	Zawartość H ₂ O
	zmiany w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju		
2-4	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
4-6	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
6-8	$0,01 < p < 0,002$	$p < 0,001$	$0,002 < p < 0,005$
8-10	$p < 0,001$	$0,001 < p < 0,002$	$0,001 < p < 0,002$
10-14	$0,002 < p < 0,005$	$p < 0,001$	$0,005 < p < 0,01$
zmiany w stosunku do kontroli			
4	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
6	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
8	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
10	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
14	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

B. Zmiany zawartości RNA, rRNA, r₁RNA, r₂RNA, tRNA. Zmiany absolutnej zawartości RNA w µg na korzeń są znamienne statystycznie w każdym z badanych okresów rozwoju w stosunku do kontroli (okres 2 dni), niezależnie od stosowanej metody oznaczenia zawartości RNA.

Analogiczne wnioski można wyciągnąć odnośnie do zmian poszczególnych rodzajów RNA: rRNA, r₁RNA, r₂RNA, tRNA (tab. 12).

Przyrost absolutnej zawartości całkowitego RNA (w µg na korzeń), rRNA, r₁RNA, r₂RNA oraz tRNA w poszczególnych okresach 2-dniowych jest znamieny statystycznie na początku badanego o-

Test istotności statystycznej zmian poziomu całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA
w całym korzeniu kukurydzy (w μg na korzeń)

Statistical significance test of the changes of the total RNA level and of individual fractions of RNA level
in the whole corn root (in μg per root)

Критерий статистической достоверности изменений уровня общей РНК и отдельных типов РНК
во всем корне кукурузы (в мг на корень)

Dni kieł- kowa- nia	Metoda spektrof.	Metoda orcynolowa	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	RNA		rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
	zmiany w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju							
2-4	$0,01 < p < 0,02$	$0,005 < p < 0,01$	$0,01 < p < 0,01$	$0,02 < p < 0,05$	$0,002 < p < 0,005$	$0,002 < p < 0,005$	$0,01 < p < 0,02$	$0,002 < p < 0,005$
4-6	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$0,005 < p < 0,01$	$0,002 < p < 0,005$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
6-8	$0,05 < p < 0,1$	-	-	-	-	$0,02 < p < 0,05$	-	-
8-10	-	-	-	-	$0,002 < p < 0,005$	-	-	$0,01 < p < 0,02$
10-14	$0,02 < p < 0,05$	$p = 0,02$	$0,01 < p < 0,02$	$0,02 < p < 0,05$	$0,02 < p < 0,05$	-	$0,02 < p < 0,05$	-
zmiany w stosunku do kontroli								
4	$0,01 < p < 0,02$	$0,05 < p < 0,01$	$0,01 < p < 0,02$	$0,02 < p < 0,05$	$0,002 < p < 0,005$	$0,002 < p < 0,005$	$0,01 < p < 0,02$	$0,002 < p < 0,005$
6	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
8	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
10	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
14	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

kresu między 2 a 4, 4 a 6 dniem oraz pod koniec - między 10 a 14 dniem rozwoju (tab. 12).

Istotność różnic we względnej zawartości całkowitego RNA w mg na gram świeżej lub suchej masy w poszczególnych dniach rozwoju w stosunku do kontroli wykazuje pewną zależność od stosowanej metody oznaczenia zawartości RNA. Począwszy od 6 dnia zmiany poziomu RNA w mg na gram suchej masy są znamienne statystycznie w oznaczeniach metodą spektrofotometryczną, natomiast w oznaczeniach metodą orcynolową istotny w stosunku do kontroli jest jedynie spadek RNA w 14 dniu rozwoju korzenia (tab. 14).

Zmiany poziomu całkowitego RNA w mg na gram świeżej masy są znamienne statystycznie w każdym z oznaczonych dni rozwoju w porównaniu z kontrolą dla wyników uzyskanych przy użyciu metody orcynolowej. W analogicznych oznaczeniach metodą spektrofotometryczną nie stwierdzono istotnych różnic (tab. 13).

Spadek względnej zawartości poszczególnych rodzajów RNA w mg na gram suchej masy jest znamienno statystycznie w każdym z badanych okresów rozwoju w stosunku do kontroli za wyjątkiem 4 dnia, oraz za wyjątkiem zmian tRNA w oznaczeniach uzyskanych z chromatografii kolumnowej, gdzie istotne są różnice tylko w 4 i 14 dniu rozwoju (tab. 14). Analogiczne zmiany zawartości rRNA w mg na gram świeżej masy są istotne we wszystkich badanych okresach rozwoju niezależnie od stosowanej metody frakcjonowania całkowitego RNA (tab. 13). Znamienne statystycznie są również zmiany r_1 RNA w mg na gram świeżej masy (tab. 13), natomiast różnice w poziomie r_2 RNA i tRNA w wynikach otrzymanych z metody elektroforetycznej są znamienne dla r_2 RNA w 8, 10 i 14 dniu, a dla tRNA - tylko w 10 i 14 dniu (tab. 13). Nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w poziomie tRNA w mg na gram świeżej masy korzenia w wynikach uzyskanych z chromatografii kolumnowej na żelu Sephadex G-200 (tab. 13).

Test istotności statystycznej zmian poziomu całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA
w całym korzeniu kukurydzy (w mg na gram świeżej masy)

Statistical significance test of the changes of the total RNA level and of individual fractions of RNA
level in the whole corn root (in mg per gram of fresh mass)

Критерий статистической достоверности изменений уровня общей РНК и отдельных типов РНК
во всем корне кукурузы (в мг на грамм свежего вещества)

Dni kieł- kowa- nia	Metoda spektrof.	Metoda orcyolowa	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	RNA		rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
	zmiany w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju							
2-4	-	0,02< ⁺ p<0,05	0,02< ⁺ p<0,05	0,02< ⁺ p<0,02	-	-	0,02< ⁺ p<0,05	-
4-6	-	-	-	-	-	-	-	0,02< ⁺ p<0,05
6-8	-	-	-	-	-	-	-	-
8-10	-	-	-	-	-	-	-	-
10-14	-	-	-	-	-	-	-	-
zmiany w stosunku do kontroli								
4	-	0,02< ⁺ p<0,05	0,02< ⁺ p<0,05	0,02< ⁺ p<0,05	-	-	0,02< ⁺ p<0,05	-
6	-	0,01< ⁺ p<0,02	0,02< ⁺ p<0,05	0,01< ⁺ p<0,02	-	-	0,05< ⁺ p<0,01	-
8	-	0,01< ⁺ p<0,02	0,01< ⁺ p<0,02	0,01< ⁺ p<0,02	0,01< ⁺ p<0,02	-	0,002< ⁺ p<0,005	-
10	-	0,01< ⁺ p<0,02	0,01< ⁺ p<0,02	0,01< ⁺ p<0,02	0,01< ⁺ p<0,02	0,02< ⁺ p<0,05	0,005< ⁺ p<0,01	-
14	-	0,005< ⁺ p<0,01	0,005< ⁺ p<0,01	0,005< ⁺ p<0,01	0,01< ⁺ p<0,02	0,02< ⁺ p<0,05	0,002< ⁺ p<0,005	-

Test istotności statystycznej zmian poziomu całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA
w całym korzeniu kukurydzy (w mg na gram suchej masy)

Statistical significance test of the changes of the total RNA level and of individual fractions of RNA
level in the whole corn root (in mg per gram of dry mass)

Критерий статистической достоверности изменений уровня общей РНК и отдельных типов РНК
во всем корне кукурузы (в мг на грамм сухого вещества)

Dni kieł- kowa- nia	Metoda spektrofot.	Metoda orcynolowa	Elektrofozera				Sephadex G-200	
	RNA		rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
	zmiany w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju							
2-4	-	-	-	-	-	-	-	-
4-6	0,02 < p < 0,05	-	-	-	-	-	-	0,002 < p < 0,005
6-8	-	-	-	-	-	-	-	-
8-10	-	-	-	-	-	-	-	-
10-14	-	-	-	-	-	-	-	-
zmiany w stosunku do kontroli								
4	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,01 < p < 0,02	-	0,02 < p < 0,05	0,02 < p < 0,05	0,02 < p < 0,05	0,005 < p < 0,01	0,01 < p < 0,02	0,02 < p < 0,05
8	0,01 < p < 0,02	-	0,01 < p < 0,02	0,02 < p < 0,05	0,01 < p < 0,02	0,02 < p < 0,05	0,01 < p < 0,02	-
10	0,005 < p < 0,01	-	0,01 < p < 0,02	0,01 < p < 0,02	0,005 < p < 0,01	0,01 < p < 0,02	0,005 < p < 0,01	-
14	0,002 < p < 0,005	0,02 < p < 0,05	0,002 < p < 0,005	0,005 < p < 0,01	0,002 < p < 0,005	0,002 < p < 0,005	0,002 < p < 0,005	0,02 < p < 0,05

DYSKUSJA

Przedstawione w pracy wyniki wskazują, że podczas 14-dniowego okresu kiełkowania i wzrostu kukurydzy zawartość RNA w korzeniu zwiększa się prawie 4-krotnie w stosunku do zawartości tego związku w korzeniu 2-dniowym. Zmiany te są znamienne statystycznie. Tempo przyrostu zawartości RNA jest największe w pierwszych dniach kiełkowania, a najwolniejsze pod koniec badanego okresu.

Otrzymany obraz zmian zawartości RNA zgodny jest z wynikami badań innych autorów, którzy stwierdzili, że zawartość RNA w osi zarodka zwiększa się znacznie podczas kiełkowania [19, 20, 26-28, 32, 49, 55]. Ciekawy jest zwiększony przyrost zawartości RNA między 4 a 6 dniem, kiedy zawartość RNA była prawie dwukrotnie wyższa niż w pozostałych okresach 2-dniowych. Podobny zwiększony przyrost zawartości RNA zaobserwował S o w i e r s z a i j e w [45] w hypokotylach modrzewia syberyjskiego między 5 a 7 dniem kiełkowania nasion.

W a r n e r [47] ustalił, że w kiełkach orzecha ziemnego zawartość RNA osiąga maksimum w 7 dniu kiełkowania, a V e d e l i w s p. [48] zaobserwowali największy przyrost zawartości RNA orzecha ziemnego również między 5 a 7 dniem kiełkowania. Na podstawie danych literaturowych można przypuszczać, że przyrost ten może być spowodowany zwiększoną syntezą RNA w okresie szybkiego wydłużania się korzenia drogą elongacji komórek.

W piśmiennictwie naukowym zebrano liczne dowody wskazujące na znaczenie kwasów nukleinowych dla wzrostu elongacyjnego komórek [3, 24, 25, 33, 56, 57]. Badania wykazały, że zawartość RNA w wielu gatunkach roślin zmienia się wraz z morfologicznym rozwojem ich komórek, np. zawartość RNA w komórkach inicjalnych merystemu wierzchołkowego korzenia fasoli lub cebuli wzrasta prawie 4-krotnie przed początkiem elongacji [23].

We wnioskach do niniejszego opracowania podkreślić należy, że w preparatach mikroskopowych rozwijających się korzeni kukurydzy zaobserwowano największą ilość podziałów komórkowych w korzeniach 2- i 4-dniowych, po czym ilość mitoz zmniejszała się. Podobne obserwacje robiono już w hypokotylach sosny i stwierdzono, że po 5 dniu kiełkowania ilość podziałów komórkowych znacz-

nie się zmniejsza, poza tym okresem wzrost hypokotyłu odbywa się głównie drogą elongacji [45]. Również podczas rozwoju pierwotnego liścia *P. aureus* faza podziałów komórkowych pokrywała się ze zwiększoną akumulacją RNA między 2 a 5 dniem kiełkowania nasion.

Zestawienie danych literaturowych z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy sugerowałoby, że okres pierwszych 4 dni wzrostu korzenia kukurydzy to okres wzrostu embrionalnego, który odbywa się głównie poprzez zwiększenie ilości komórek drogą licznych podziałów mitotycznych. Po tym okresie ilość mitoz stopniowo spada i jednocześnie większość komórek korzenia przechodzi do nowego etapu wzrostu - elongacji.

Być może, że stopniowe przejście coraz większej ilości komórek w fazę wzrostu elongacyjnego oraz związana z tym zmiana kierunku ich rozwoju znajdują pewne odbicie w zwiększonej syntezie RNA w tym okresie i w zwiększonym przyroście jego ilości w porównaniu do pozostałych okresów rozwoju.

Zmiany ilości rRNA i tRNA były bardzo podobne do zmian ilości całkowitego RNA. W analogiczny sposób zmieniał się również poziom obu podfrakcji rRNA: r_1 RNA i r_2 RNA. Absolutna zawartość wszystkich wspomnianych frakcji wykazywała ciągły wzrost, podczas gdy ich względna zawartość (w mg na gram świeżej lub suchej masy korzenia) obniżała się. Zaobserwowane równoległe zmiany w poziomie poszczególnych rodzajów RNA pozwalają sądzić, że w badanym okresie rozwoju korzenia kukurydzy (*Z. mays* L.) rRNA i tRNA syntetyzowane są z tą samą szybkością.

LITERATURA.

- [1] Ballentine R., Methods in Enzymology, ed. Colowick S. P., Kaplan N. O., t. III, 984 (1957).
- [2] Bhat S. P., Padayati J. D., "Nature" 256, 227 (1975).
- [3] Burström H. G., Z. Pflanzenphysiol. 74, 1 (1974).
- [4] Chen D., Osborne D. J., "Nature" 226, 1157 (1970).
- [5] Chen D., Sarid S., Katchalski E., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 60, 902 (1968).
- [6] Chen D., Schultz G., Katchalski E., Nature New Biol. 231, 69 (1971).

- [7] Clay W. F., Katterman F. R. H., Hammelt J. R., Plant Physiol. 55, 231 (1975).
- [8] Deltour R., "Planta" 92, 235 (1970).
- [9] Dirheimer G., Weil J. H., Ebel J. R., Compt. Rend. Acad. Sci. 225, 2312 (1962).
- [10] Dobrzańska M., Buchowicz J., Biochim. Biophys. Acta 432, 73 (1976).
- [11] Dobrzańska M., Tomaszewski M., Grzelczak Z., Rejman E., Buchowicz J., "Nature" 244, 507 (1973).
- [12] Dure L., Waters J., "Science" 147, 410 (1965).
- [13] Emerson P., Sholes G., Thomson D. M., Ward G. F., Weiss J., "Nature" 186, 319 (1960).
- [14] Filipowicz B., Gniazdowski M., Więckowski W., Biull. WAM 3, 145 (1960).
- [15] Gieorgijew G. P., "Biochimija" 24, 472 (1959).
- [16] Horecker B. L., Ma F. S., Biol. Chem. 136, 775 (1940).
- [17] Ihle J. N., Dure L. S., J. Biol. Chem. 247, 5048 (1972).
- [18] Ihle J. N., Dure L. S. III. Plant Growth Subst., 1970, Berlin e. a., 216 (1972).
- [19] Ingle J., Beevers L., Hageman R. H., Plant Physiol. 39, 735 (1964).
- [20] Ingle J., Hageman R. H., Plant Physiol. 39, 730 (1964).
- [21] Jachymczyk W. J., Sieliwanowicz B., Chlebowicz E., Acta Biochim. Pol. 12, 137 (1974).
- [22] Jacob K. M., Exp. Cell. Res. 72, 370 (1972).
- [23] Jensen W. A., Exp. Cell. Res. 14, 575 (1958).
- [24] Key J. L., Hanson J. B., Lund H. A., Valter A. E., Crop. Sci. 1, 5 (1961).
- [25] Key J. L., Ingle J., Proc. Nat. Acad. Sci USA 52, 1382 (1964).
- [26] Kliaszeva R. J., Fiziol. Räst. 15, 914 (1968).
- [27] Ledoux L., Galand P., Huart R., Exp. Cell. Res. 27, 132 (1962).
- [28] Ledoux L., Galand P., Huart R., Biochim. Biophys. Acta 55, 97 (1962).
- [29] Lowry H., Rosebrough N. J., Fawcett A. Z., Randall R. J., J. Biol. Chem. 193, 265 (1951).
- [30] Mori T., Ibuki R., Matsushita S., Hata I., Agr. Biol. Chem. 33, 1229 (1969).

- [31] Mori T., Matsushita S., Agr. Biol. Chem., 34, 1004 (1970).
- [32] Olson R., Boulter D., Physiol. plant. 21, 428 (1968).
- [33] Parijs V., Arch. Intern. Physiol. Biochim. 75, 125 (1967).
- [34] Pillay D. T. N., Cherry J. H., Canad. J. Bot. 52, 2499 (1974).
- [35] Raymond J., Grellet F., Guitton J., Physiol. plant. 23, 323 (1970).
- [36] Rejman E., Buchowicz J., "Phytochemistry" 10, 2951 (1971).
- [37] Rejman E., Buchowicz J., "Phytochemistry" 12, 271 (1973).
- [38] Ristow H., Köhler K., Biochim. Biophys. Acta 142, 65 (1967).
- [39] Schneider W. C., *Methods in Enzymology*, t. III, ed. S. P. Colowick i N. O. Kaplan, New York, 680 (1957).
- [40] Schultz G. A., Chen D., Katachalski E., J. Mol. Biol. 66, 379 (1972).
- [41] Sen S., Payne P. J., Osborne D. J., Biochem. J. 148, 381 (1975).
- [42] Sevag M. G., Lachman D. B., Smollens J., J. Biol. Chem. 124, 425 (1938).
- [43] Sieliwanowicz B., Chmielewska J., Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Biol. 21, 399 (1973).
- [44] Skarżyński J., Prace I Kongresu Biochemii, Łódź, 198 (1963).
- [45] Sovershaev P. F., Naucznyje dokłady wysszej szkoły biol. n. 15, 83 (1972).
- [46] Tsaniew R., "Biochimija" 30, 124 (1965).
- [47] Warnier D., *Biochimija rastenii*, Moskwa 1968.
- [48] Vedel T., D'Aoust M. J., Plant Physiol. 46, 81 (1970).
- [49] Walbot V., Develop. Biol. 26, 369 (1971).
- [50] Walbot V., "Planta" 108, 161 (1972).
- [51] Walle V. van de, FEBS Lett. 16, 219 (1971).
- [52] Walton D. C., Soofi G. S., Plant Cell Physiol. 10, 307 (1969).
- [53] Wasilewska L., Cherry J. H., Acta Biochim. Polon. 21, 339 (1974).
- [54] Weeks D. P., Marcus A., Biochim. Biophys. Acta, 232, 671 (1971).
- [55] West S. H., Plant Physiol. 37, 565 (1962).

- [56] Woodstock L. W., Skoog F., Amer. J. Bot. 47, 713 (1960).
[57] Woodstock L. W., Skoog F., Amer. J. Bot. 49, 623 (1962).

Maszynopis przyjęto do redakcji
6 XI 1978 r.

Zakład Biofizyki
Instytut Biochemii i Biofizyki UŻ

Aneta Koceva-Chyła

THE INVESTIGATION OF THE RNA LEVEL DURING GERMINATION AND GROWTH
OF THE CORN ROOT (*ZEAMAYS* L.)

I. CHANGES OF THE RNA LEVEL IN THE WHOLE ROOT

It has been found that during the 14 days period of germination and development of corn the RNA content in the whole root increased almost 4 times in comparison with the control root (2 days). These changes are statistically significant. The highest increase of the RNA content and the dry mass of the root has been observed during the first 6 days of development. The amount of rRNA and tRNA has changed in the same way. The rate of the increase of their content in comparison with the control root (2 days) was equal and it suggests that in the tested period of development the rRNA and tRNA are synthesised with equal speed.

Анета Коцева-Хыла

ИССЛЕДОВАНИЯ УРОВНЯ РНК ВО ВРЕМЯ ПРОРАСТАНИЯ И РОСТА
КОРНЯ КУКУРУЗЫ (*ZEAMAYS* L.)

I. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ РНК ВО ВСЕМ КОРНЕ

Обнаружено, что во время 14-дневного периода прорастания и развития кукурузы содержание РНК во всем корне возрастает почти в 4 раза по отношению к 2-дневному корню (контроль). Эти изменения статистически достоверны. Самое большое повышение содержания РНК, а также сухого вещества корня наблюдалось во время первых 6 дней развития. Подобным образом изменялся уровень ос-

новых типов РНК - рРНК и тРНК. Темп роста содержания обоих типов РНК был одинаковым по отношению к 2-дневному корню (контроль), что позволяет предполагать одинаковую скорость их синтеза в исследуемом периоде развития.