

*Aneta Koceva-Chyła*BADANIA POZIOMU RNA PODCZAS KIEŁKOWANIA
I WZROSTU KORZENIA KUKURYDZY (*ZEAMAYS L.*)

II. ZMIANY POZIOMU RNA W WIERZCHOŁKU KORZENIA

Podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia kukurydzy w 10-milimetrycznym wierzchołku korzenia zaobserwowano spadek masy suchej, całkowitego RNA, rRNA i tRNA. Zmiany te są znamienne statystycznie i największe podczas pierwszych 4 dni kiełkowania rośliny. Ciągły spadek zawartości masy suchej oraz RNA w wierzchołku korzenia sugeruje, że podczas badanego okresu rozwoju zmniejsza się w nim ilość komórek, najprawdopodobniej przez zmniejszenie się strefy merystematycznej.

WSTĘP

Wierzchołek korzenia jest jego najbardziej aktywną metabolicznie strefą, gdzie zachodzące podczas kiełkowania procesy fizjologiczne, biochemiczne i morfologiczne są najbardziej intensywne. W jej skład wchodzi m. in. również narastająca część korzenia, tzw. wierzchołek wzrostu. Podczas rozwoju rośliny wykazuje on kierunkową różnicującą aktywność polegającą na wytwarzaniu innych komórek, które różnią się od siebie strukturalnie i funkcjonalnie [1, 25]. W ten sposób aktywność merystemu wierzchołka wzrostu zabezpiecza rozwój korzenia. Procesy te znajdują szerokie odzwierciedlenie w przemianie kwasów nukleinowych w korzeniu, a szczególnie w metabolizmie kwasu rybonukleinowego. Merystemy wierzchołkowe stanowią miejsce szczególnie wzmożonej syntezy tego związku, którego zawartość, a nawet skład nukleotydowy

zmienia się wraz z morfologicznym rozwojem ich komórek [3-5, 10, 15, 23]. Celem niniejszej pracy było zbadanie zmian poziomu całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA wierzchołka korzenia kukurydzy w powiązaniu ze zmianami poziomu jego świeżej i suchej masy podczas pierwszych dwóch tygodni kiełkowania i rozwoju rośliny.

MATERIAŁ I METODY

Do badań używano korzenie siewek kukurydzy (*Zea mays* L. VIR-42). Ziarna kukurydzy kiełkowano w temp. 27°C. Kiełki zbierano w odstępach 2-dniowych w ciągu pierwszych 14 dni wzrostu rośliny, licząc czas hodowli od chwili umieszczenia nasion w ciepłarni. Po zamierzonym okresie kiełkowania obcinano 10-milimetrowy fragment wierzchołka korzenia. Obcięte fragmenty zamrażano natychmiast w temp. -78°C (w mieszaninie suchego lodu z acetonem) i przechowywano do dalszych badań w zamkniętych naczynkach wagowych w zamrażarce w temp. -20°C.

RNA izolowano wg metody G i e o r g i j e w a [9] w adaptacji własnej i oczyszczano z związków niskocząsteczkowych i białka. Do odbiałczania stosowano mieszaninę zimnego fenolu oraz chloroform z alkoholem izoamylowym (9:1) [28]. W celu oczyszczenia preparatów RNA od zanieczyszczeń niskocząsteczkowych rozpuszczony w 0,01 M NaCl i 0,001 M EDTA preparat RNA przepuszczano bez ciśnienia przez kolumnę wypełnioną DOWEX (200-400 mesh). Stopień oczyszczenia preparatów RNA kontrolowano przez:

- oznaczenie widma pochłaniania w zakresie 200-300 nm,
- wyliczenie charakterystycznych dla RNA stosunków absorpcji A_{230}^{230} i A_{260}^{280} ,

- oznaczenie zawartości fosforu całkowitego [8, 11],
- oznaczenie zawartości azotu całkowitego [2, 7, 22],
- oznaczenie zawartości białka [14].

Zawartość RNA oznaczano metodą orcynolową [19] oraz spektrofotometrycznie z wartości absorpcji jego roztworu mierzonej przy długości fali 260 nm. W tych warunkach 38 µg RNA w 1 ml roztworu daje pochłanianie równe 1 jednostce optycznej OD [18] ($1 \text{ OD} = 180 A_{260}^{1\%}$).

W celu otrzymania rybosomowego i niskocząsteczkowego RNA preparaty całkowitego RNA frakcjonowano elektroforetycznie na żelu agarowym wg metody T s a n e v a [24] z zastosowaniem dodatkowego barwienia elektroforegramów mieszaniną oranżu akrydynowego i pyroniny B oraz chromatograficznie na żelu Sephadex G-200 [6]. W wyniku frakcjonowania preparatu całkowitego RNA na żelu Sephadex G-200 otrzymuje się dwie frakcje RNA; pierwsza składająca się z wysokocząsteczkowego RNA (rRNA) i druga - z niskocząsteczkowego RNA (tRNA). Elektroforeza na żelu agarowym umożliwia dodatkowe rozfrakcjonowanie rRNA na dwie podfrakcje - cięższą o stałej sedymentacji 26S (r_1 RNA) i lekką o stałej sedymentacji 18S (r_2 RNA).

Wyniki oznaczenia zarówno ilości całkowitego RNA, jak i poszczególnych jego frakcji podano jako absolutną zawartość w μ g na wierzchołek korzenia oraz względną zawartość w mg na gram suchej masy (g.m.s.), na gram świeżej masy (g.m.m.) i opracowano statystycznie.

WYNIKI I OMÓWIENIE WYNIKÓW

1. Oznaczenie masy suchej, masy świeżej oraz zawartości wody wierzchołka korzenia w miarę jego rozwoju

A. Zmiany masy suchej. Podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia masa sucha jego wierzchołka ulega obniżeniu z 0,67 mg do 0,31 mg (tab. 1). Stanowi to 53,74% spadek w stosunku do ma-

T a b e l a 1

Zawartość masy świeżej, masy suchej oraz wody w wierzchołku korzenia kukurydzy w poszczególnych dniach jego rozwoju (w mg na wierzchołek korzenia)

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

Содержание свежего вещества, сухого вещества и воды в верхушке корня кукурузы в разные дни его развития (в мг на верхушку корня)

Wiek kielków w dniach	Masa świeża	Masa sucha	Zawartość H_2O
1	2	3	4
2	10,58 $\pm$ 0,15	0,67 $\pm$ 0,01	9,84 $\pm$ 0,18
4	7,81 $\pm$ 0,11	0,59 $\pm$ 0,01	7,21 $\pm$ 0,12
6	5,24 $\pm$ 0,09	0,53 $\pm$ 0,01	4,71 $\pm$ 0,07

Tabela 1 (cd.)

1	2	3	4
8	3,93 $\pm$ 0,13	0,44 $\pm$ 0,01	3,49 $\pm$ 0,12
10	2,81 $\pm$ 0,07	0,37 $\pm$ 0,01	2,50 $\pm$ 0,06
14	2,38 $\pm$ 0,07	0,31 $\pm$ 0,00	2,07 $\pm$ 0,07

Tabela 2

Zmiany zawartości masy świeżej, masy suchej oraz wody w wierzchołku korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego w stosunku do kontroli

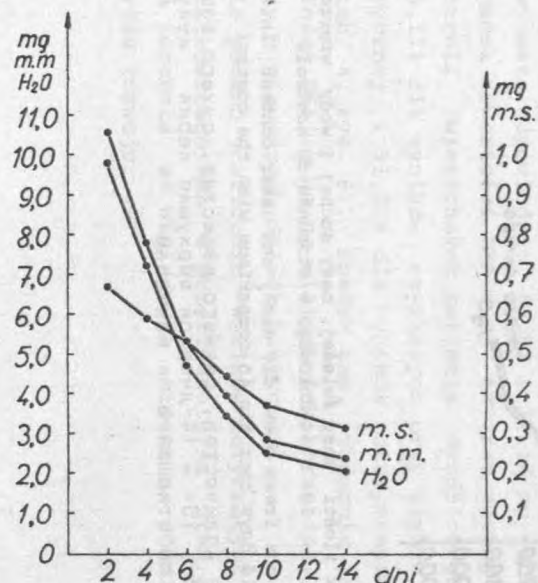
The changes of the fresh mass, dry mass and water content in the root tip 4, 6, 8, 10 and 14 days in comparison with control

Изменения содержания свежего вещества, сухого вещества и воды в верхушке 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневного корня по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	Masa świeża		Masa sucha		Zawartość H ₂ O	
	mg	%	mg	%	mg	%
4	-2,77	-26,19	-0,08	-11,95	-2,63	-26,73
6	-5,34	-50,48	-0,14	-20,90	-5,13	-52,14
8	-6,65	-62,86	-0,23	-34,33	-6,35	-64,54
10	-7,77	-73,45	-0,30	-44,78	-7,34	-74,60
14	-8,20	-77,51	-0,36	-53,74	-7,77	-78,97

sy suchej kontroli (wierzchołek korzenia dwudniowego) (tab. 2). Spadek ten, jak wynika z diagramu na rys. 2, w kolejnych dwudniowych okresach rozwoju jest równomierny i prawie jednakowy (zakreskowana na czarno część słupków). W tab. 2 podano średnie zmiany masy świeżej, masy suchej oraz zawartości wody wierzchołka korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego w stosunku do wierzchołka korzenia dwudniowego, który stanowi kontrolę. Te same wyniki przedstawiono graficznie na rys. 3.

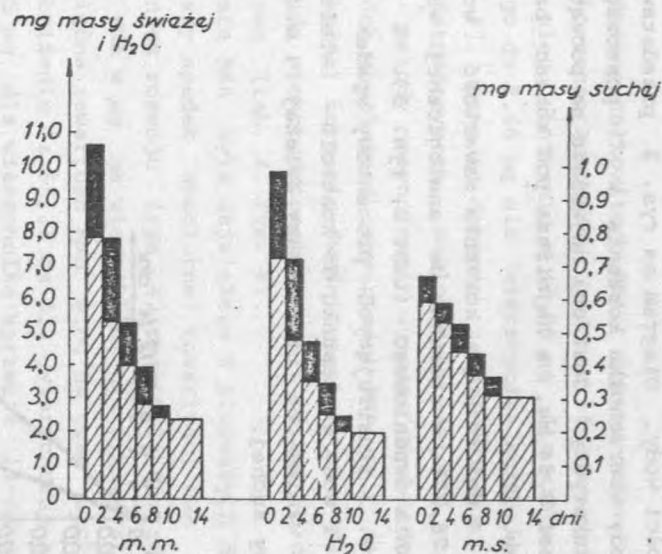
B. Zmiany masy świeżej. Masa świeża wierzchołka podobnie jak masa sucha ulega również obniżeniu podczas 14-dniowego okresu rozwoju. Spada ona w tym czasie z 10,58 mg do 2,38 mg (rys. 1, tab. 1), co w stosunku do kontrolnych wierzchołków korzeni 2-dniowych wynosi 77,51% (tab. 2, rys. 3).



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

The change of the fresh mass, dry mass and water content in the corn root tip during its development

Изменения свежего вещества, сухого вещества и содержания воды в верхушке корня кукурузы в течение его развития



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

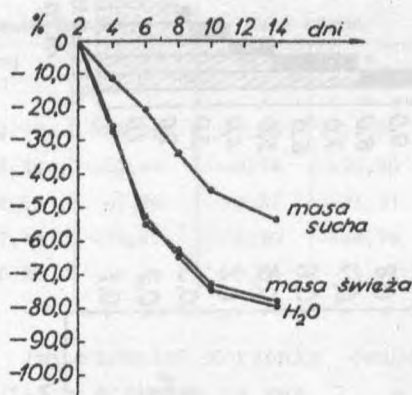
The changes of the fresh mass, dry mass and water content in the corn root tip in several 2 days periods of its development

Изменения количества свежего и сухого вещества, а также воды в верхушке корня кукурузы в последующих 2-дневных промежутках в процессе его развития

Utrata masy świeżej jest największa podczas pierwszych 4 dni kiełkowania (rys. 2).

C. Zmiany zawartości wody. Diagram na rys. 2 przedstawia graficznie zawartość wody wierzchołka korzenia w poszczególnych dniach kiełkowania kukurydzy. Jest ona najwyższa na początku badanego okresu i wynosi 9,84 mg, a najniższa pod koniec badanego okresu: 2,07 mg (tab. 1).

Ogólnie w ciągu 14 dni rozwoju korzenia zawartość wody w wierzchołku spada o 78,97% w stosunku do analogicznej wartości dla wierzchołka korzenia dwudniowego (tab. 2, rys. 3). Z porównania krzywych na rys. 3 ilustrujących procentowy spadek masy świeżej, masy suchej i wody w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia dwudniowego) wynika, że utrata masy świeżej i wody jest szybsza od utraty masy suchej.



Rys. 3. Procentowy spadek ilości masy świeżej, masy suchej i wody wierzchołka korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego w stosunku do kontroli

The percent decrease of the fresh mass, dry mass, and water content in the 4, 6, 8, 10 and 14 days root tip in comparison with the control

Процентное уменьшение количества свежего вещества, сухого вещества и воды в 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневной верхушке корня кукурузы по отношению к контролю

2. Zmiany poziomu RNA w wierzchołku korzenia podczas jego rozwoju

A. Zmiany całkowitego RNA. Poziom całkowitego RNA w wierzchołku korzenia kukurydzy podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia ulega obniżeniu z 45,98 μg dla wierzchołka korzenia 2-dniowego do 9,66 μg dla wierzchołka korzenia 14-dniowego (tab. 3, rys. 4). Dane te dotyczą zawartości RNA oznaczonej metodą spektrofotometryczną. Analogiczne wartości otrzymane przy zastosowaniu metody orcynolowej wynoszą odpowiednio 44,70 i 9,73 μg .

Spadek absolutnej zawartości RNA w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia dwudniowego) wynosi 79,00% w oznaczeniach RNA metodą spektrofotometryczną i 78,24% w oznaczeniach metodą orcynolową (tab. 4, rys. 6).

Utrata RNA była największa w pierwszych dniach kiełkowania. Największy spadek absolutnej zawartości RNA zaobserwowano między 2 a 4 dniem rozwoju (rys. 4, rys. 5). Począwszy od 10 dnia zawartość RNA w μg na wierzchołek nie wykazywała dalszych zmian.

Względna zawartość RNA w mg na gram suchej masy wierzchołka ulega obniżeniu z 65,23 mg dla wierzchołka korzenia 2-dniowego do 30,55 mg dla wierzchołka korzenia 14-dniowego. Wyniki te dotyczą zawartości RNA oznaczonej metodą spektrofotometryczną. Analogiczne wartości uzyskane przy zastosowaniu metody orcynolowej wynoszą odpowiednio 63,82 i 31,14 mg (tab. 3, rys. 4).

Spadek zawartości RNA w mg na gram suchej masy w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia dwudniowego) wynosi odpowiednio 53,17% dla wyników uzyskanych przy użyciu metody spektrofotometrycznej i 51,21% dla wyników otrzymanych z metody orcynolowej (tab. 4, rys. 6). Spadek ten, podobnie jak spadek absolutnej zawartości RNA (w μg na wierzchołek korzenia), jest również największy w pierwszych dniach kiełkowania.

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

Tabela 3

Zawartość RNA w wierzchołku korzenia kukurydzy w poszczególnych dniach
jego rozwoju

The RNA content in the corn root tip during several days
of its development

Содержание РНК в верхушке корня кукурузы в разные дни
его развития

Wiek kiełków w dniach	Metoda spektrofotometryczna			Metoda orcynolowa		
	µg/wierzch.	mg/g.m.m.	mg/g.m.s.	µg/wierzch.	mg/g.m.m.	mg/g.m.s.
2	45,98 $\pm$ 2,67	4,33 $\pm$ 0,20	65,23 $\pm$ 1,27	44,70 $\pm$ 2,67	4,20 $\pm$ 0,20	63,82 $\pm$ 1,37
4	31,16 $\pm$ 1,64	4,00 $\pm$ 0,25	52,03 $\pm$ 2,72	31,00 $\pm$ 1,66	3,98 $\pm$ 0,24	50,17 $\pm$ 3,70
6	21,06 $\pm$ 1,05	4,02 $\pm$ 0,19	39,68 $\pm$ 2,61	20,03 $\pm$ 1,30	3,81 $\pm$ 0,23	37,90 $\pm$ 2,89
8	16,21 $\pm$ 1,05	4,14 $\pm$ 0,27	36,55 $\pm$ 2,83	14,32 $\pm$ 0,54	3,90 $\pm$ 0,25	34,64 $\pm$ 2,81
10	10,61 $\pm$ 0,45	3,77 $\pm$ 0,14	28,50 $\pm$ 0,98	9,93 $\pm$ 0,68	3,53 $\pm$ 0,24	26,76 $\pm$ 1,63
14	9,66 $\pm$ 0,60	4,07 $\pm$ 0,27	30,55 $\pm$ 2,49	9,73 $\pm$ 0,70	4,11 $\pm$ 0,35	31,14 $\pm$ 2,99

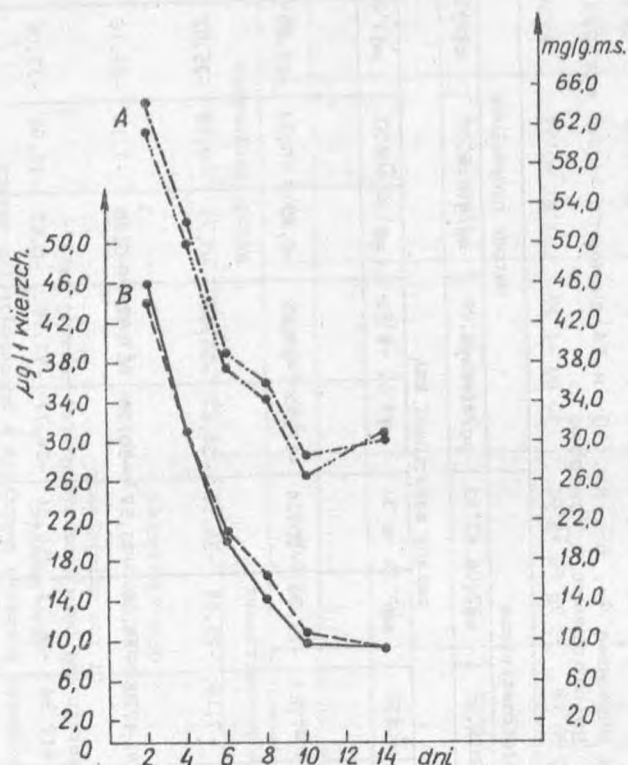
Zmiany zawartości RNA w wierzchołku korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego
w stosunku do kontroli

The changes of the RNA content in the corn root tip 4, 6, 8, 10 and 14 days
in comparison with control

Изменения содержания РНК в верхушке 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневного корня кукурузы
по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	Metoda spektrofotometryczna						Metoda orcynolowa					
	µg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		µg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości RNA											
	µg	%	mg	%	mg	%	µg	%	mg	%	mg	%
4	-14,82	-32,24	-0,33	-7,63	-13,20	-20,24	-13,70	-30,65	-0,22	-5,24	-13,65	-21,39
6	-24,92	-54,20	-0,31	-7,16	-25,55	-39,17	-24,67	-55,20	-0,39	-9,29	-25,92	-40,64
8	-29,77	-64,75	-0,19	-4,39	-28,68	-43,97	-30,38	-67,97	-0,30	-7,15	-29,18	-45,73
10	-35,37	-76,93	-0,56	-12,94	-36,73	-56,31	-34,77	-77,79	-0,67	-15,96	-37,06	-58,54
14	-36,32	-79,00	-0,26	-6,01	-34,68	-53,17	-34,97	-78,24	-0,09	-2,15	-32,68	-51,21

B. Zmiany rRNA. Rybosomowy RNA otrzymano po rozfrakcjonowaniu całkowitego RNA dwiema metodami: metodą elektroforezy na że-

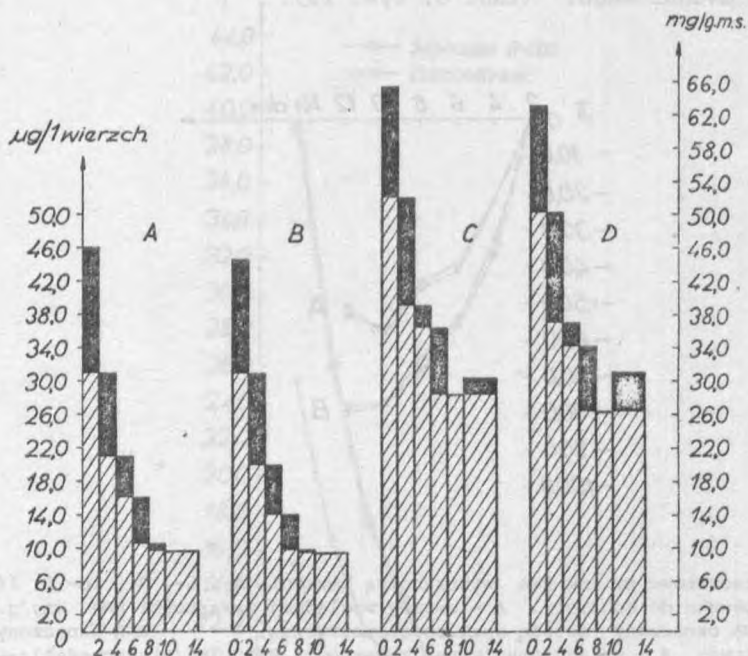


Rys. 4. Zmiany poziomu całkowitego RNA podczas rozwoju korzenia kukurydzy. A - zawartość RNA w wierzchołku korzenia w mg/g.m.s., --- RNA oznaczony metodą spektrofotometryczną, ---- RNA oznaczony metodą orcynolową; B - zawartość RNA w wierzchołku korzenia w µg/wierzchołek, ---- RNA oznaczony metodą spektrofotometryczną, — RNA oznaczony metodą orcynolową

The changes of the RNA level during the development of the corn root. A - the RNA content in the root tip/in mg per gram of the dry mass, --- RNA assayed spectrophotometrically, ---- RNA assayed using the orcinol method; B - the RNA content in the root tip/in µg per root tip, ---- RNA assayed using the orcinol method, — RNA assayed spectrophotometrically

Изменения уровня общей РНК в течение развития корня кукурузы. А - содержание РНК в верхушке корня в мг на грамм сухого вещества, --- РНК, определенная спектрофотометрическим методом, ---- РНК, определенная орциноловым методом; Б - содержание РНК в верхушке корня в мг на верхушку, ---- РНК, определенная спектрофотометрическим методом, — РНК, определенная орциноловым методом

lu agarowym oraz metodą chromatografii kolumnowej na żelu Sephadex G-200. Z procentowej zawartości tej frakcji uzyskanej zarówno pierwszą, jak i drugą ze wspomnianych metod obliczano absolutną i względną zawartość RNA. Analogicznie do obliczeń opisanych



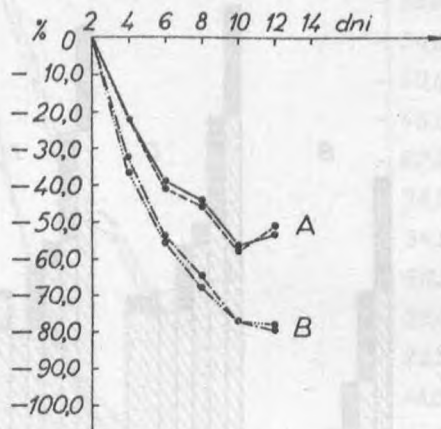
Rys. 5. Zmiany poziomu RNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju wierzchołka korzenia kukurydzy. A - RNA ($\mu\text{g}/\text{wierzchołek korzenia}$) oznaczony metodą spektrofotometryczną, B - RNA ($\mu\text{g}/\text{wierzchołek korzenia}$) oznaczony metodą orcynolową, C - RNA ($\text{mg}/\text{g.m.s.}$) oznaczony metodą spektrofotometryczną, D - RNA ($\text{mg}/\text{g.m.s.}$) oznaczony metodą orcynolową.

The changes of the RNA level in several 2 days periods of development of the corn root tip. A - RNA in $\mu\text{g}/\text{root tip}$ assayed spectrophotometrically, B - RNA in $\mu\text{g}/\text{root tip}$ assayed using the orcynol method, C - RNA in mg/g of the dry mass assayed spectrophotometrically, D - RNA in mg/g of the dry mass assayed using the orcynol method.

Изменения уровня РНК в последующих 2-дневных промежутках в течение развития верхушки корня кукурузы. А - РНК (в $\mu\text{г}$ на верхушку корня) определенная спектрофотометрическим методом, В - РНК (в $\mu\text{г}$ на верхушку корня) определенная орциноловым методом, С - РНК (в мг на грамм сухого вещества) определенная спектрофотометрическим методом, D - РНК (в мг на грамм сухого вещества) определенная орциноловым методом.

dalej dla tRNA zawartość rRNA przeliczano z zawartości całkowitego RNA oznaczonej metodą spektrofotometryczną.

Podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia poziom rRNA w μg na wierzchołek w oznaczeniach metodą elektroforetyczną ulega obniżeniu z 40,35 μg w 2 dniu do 7,63 μg w 14 dniu (tab. 5, rys. 7), co stanowi 81,10% spadek w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia dwudniowego) (tab. 8, rys. 13).



Rys. 6. Procentowe zmiany RNA wierzchołka korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego w stosunku do kontroli. A - zmiany względnej zawartości RNA (mg/g.m.s.): — RNA oznaczony metodą spektrofotometryczną, ---- RNA oznaczony metodą orcynolową; B - zmiany absolutnej zawartości RNA (μg /wierzchołek): — RNA oznaczony metodą spektrofotometryczną, ---- RNA oznaczony metodą orcynolową

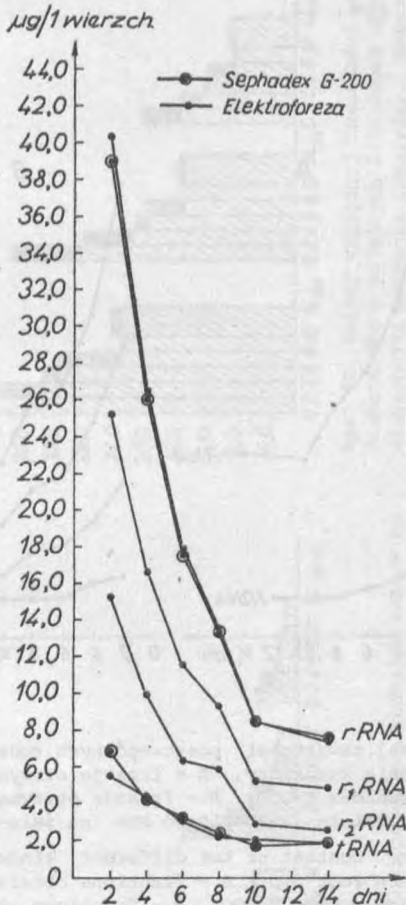
The percent changes of RNA in root tips 4, 6, 8, 10 and 14 days in comparison with control. A - changes of RNA content (in mg per gram of the dry mass): — RNA assayed spectrophotometrically, ---- RNA assayed using the orcinol method; B - changes of the RNA content (in μg per root tip): — RNA assayed spectrophotometrically, ---- RNA assayed using the orcinol method

Процентные изменения количества РНК в верхушке 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневного корня по отношению к контролю. А - изменения содержания РНК в мг на грамм сухого вещества: — РНК определенная спектрофотометрическим методом, ---- РНК определенная орциноловым методом; В - изменения содержания РНК в μg на верхушку корня: — РНК определенная спектрофотометрическим методом, ---- РНК определенная орциноловым методом

W tym samym czasie względna zawartość rRNA w mg na gram suchej masy wierzchołka obniża się z 59,54 do 24,20 mg (tab. 6,

rys. 8), co stanowi 59,36% spadek w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia dwudniowego) (tab. 8, rys. 12).

Spadek zawartości rRNA w mg na gram świeżej masy jest o wiele mniejszy (tab. 7).



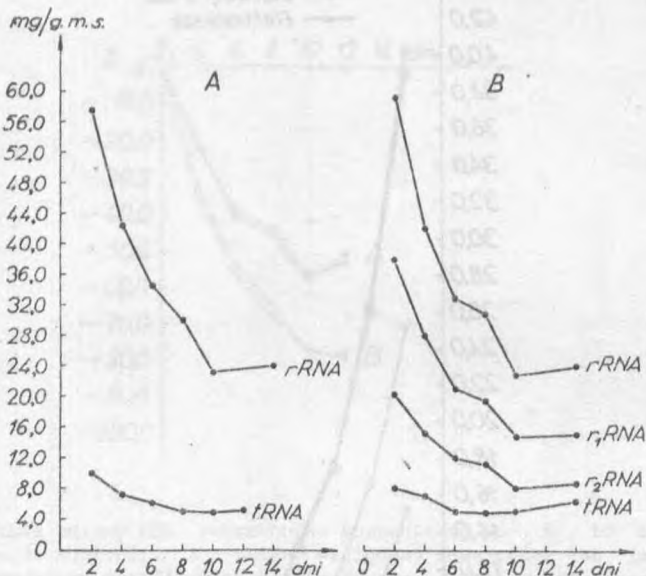
Rys. 7. Zmiany poszczególnych rodzajów RNA w wierzchołku korzenia kukurydzy (w µg/wierzchołek)

Changes of different kinds of RNA content in the corn root tip (in µg per root tip)

Изменения отдельных типов РНК в верхушке корня кукурузы (в µг на верхушку)

Analogiczne wyniki uzyskano po rozfrakcjonowaniu całkowitego RNA na żelu Sephadex G-200 (tab. 7).

Podczas 14-dniowego okresu rozwoju korzenia absolutna zawartość rRNA wierzchołka oznaczona tą metodą ulega obniżeniu z 39,18 do 7,66 μg , a zawartość rRNA w mg na gram suchej masy z 57,62 do 24,47 mg (tab. 5 i 6). Zmiany te stanowią odpowiednio 80,45 i 57,54% spadek w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia 2-dniowego) (tab. 8, rys. 14).



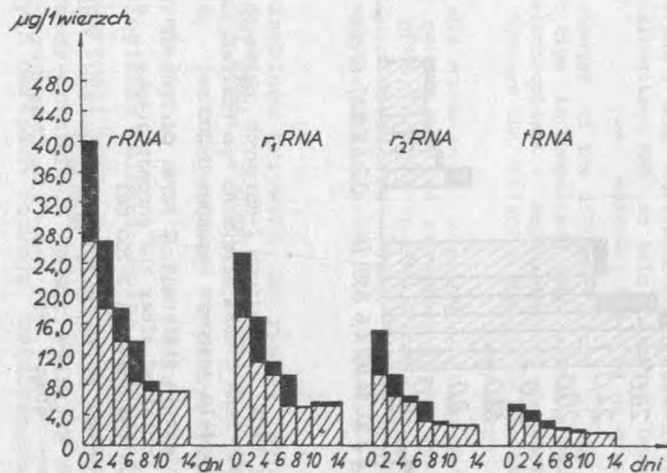
Rys. 8. Zmiany względnej zawartości poszczególnych rodzajów RNA podczas rozwoju wierzchołka korzenia kukurydzy. A - frakcje otrzymane z rozdzielania całkowitego RNA na żelu Sephadex G-200, B - frakcje otrzymane z elektroforetycznego rozdzielania całkowitego RNA na żelu agarowym

Changes of the relative content of the different kinds of RNA during the development of the corn root tip. A - fractions obtained from the whole RNA chromatography on the Sephadex G-200, B - fractions obtained by the electrophoretic separation of the whole RNA on the agar gel

Изменения относительного содержания отдельных типов РНК в течение развития верхушки корня кукурузы. А - фракции, полученные после хроматографического разделения общей РНК на геле Сепадекс Г-200, В - фракции, полученные после электрофоретического разделения РНК на агаровом геле

Obniżenie poziomu rRNA w mg na gram świeżej masy jest nieznaczne i stanowi tylko 11,60%.

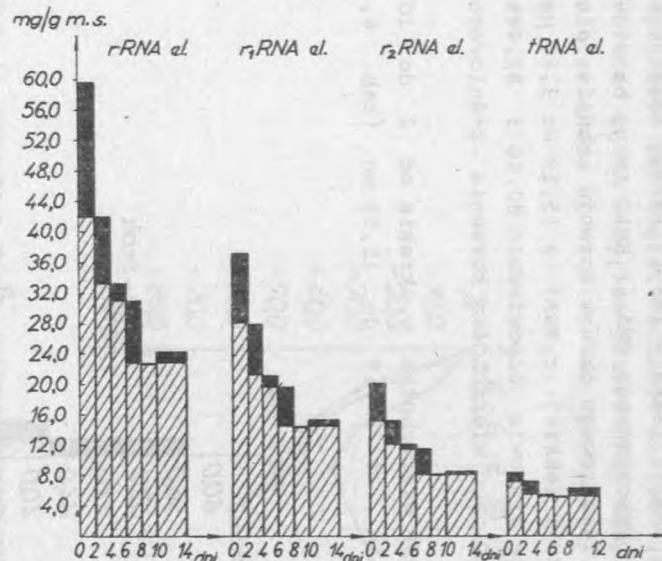
W podobny sposób zmieniają się obie frakcje rRNA: ciężka o



Rys. 9. Zmiany zawartości poszczególnych rodzajów RNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju wierzchołka korzenia kukurydzy. rRNA, rRNA, rRNA i tRNA otrzymano po elektroforetycznym rozdziale całkowitego RNA na żelu agarowym

Changes of the different kinds of RNA in 2 days periods of its development of the corn root tip. rRNA, r_1 RNA, r_2 RNA and tRNA were obtained by the electrophoretic separation on the agar gel

Изменения содержания отдельных типов РНК в последующих 2-дневных промежутках развития верхушки корня кукурузы. рРНК, р₁РНК, р₂РНК и тРНК получено после электрофоретического разделения общей РНК на агаровом геле



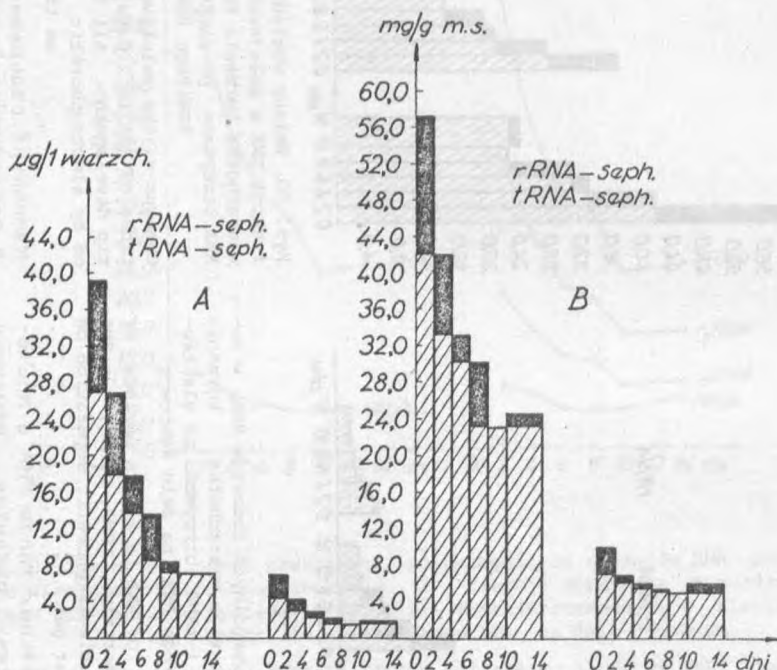
Rys. 10. Zmiany względnej zawartości poszczególnych frakcji RNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju wierzchołka korzenia kukurydzy. Wszystkie frakcje RNA otrzymano, po elektroforetycznym rozdziale całkowitego RNA na żelu agarowym

Changes of the relative content of different fractions of RNA in 2 days periods of the corn root tip development. All fractions of RNA were obtained by electrophoretic separation of the whole RNA on the agar gel.

Изменения содержания отдельных фракций РНК в последующих 2-дневных промежутках развития верхушки корня кукурузы. Отдельные типы РНК получено электрофоретическим разделением общей РНК на агаровом геле

stałej sedymentacji 26S (r_1 RNA) i lekka - 18S (r_2 RNA). Absolutna zawartość cięższej frakcji rybosomowego RNA (r_1 RNA) w μg na wierzchołek korzenia podczas 14-dniowego okresu rozwoju obniża się z 25,15 do 4,88 μg , a frakcji lekkiej (r_2 RNA) z 15,18 do 2,66 μg (tab. 5, rys. 7). Zmiany te stanowią odpowiednio 80,60 i 82,48% spadek w stosunku do kontrolnego wierzchołka korzenia 2-dniowego (rys. 13, tab. 9).

Względna zawartość r_1 RNA wierzchołka w okresie od 2 do 10 dnia rozwoju ulega obniżeniu z 37,19 do 15,55 mg (tab. 6,

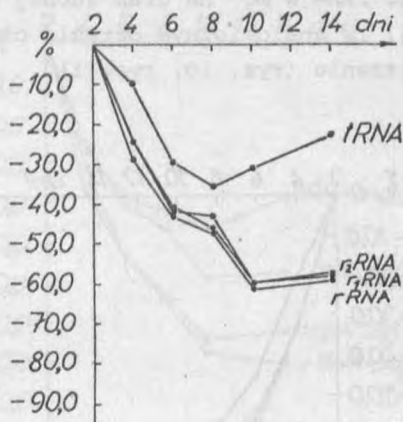


Rys. 11. Zmiany zawartości rRNA i tRNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju wierzchołka korzenia kukurydzy. rRNA i tRNA otrzymano po rozfrakcjonowaniu całkowitego RNA na żelu agarowym Sephadex G-200

Changes of the rRNA and tRNA content in different 2 days periods of the corn root development. rRNA and tRNA obtained after the chromatography of the whole RNA on the Sephadex G-200 gel

Изменения содержания рРНК и тРНК в последующих 2-дневных промежутках развития верхушки корня кукурузы. рРНК и тРНК получено хроматографическим разделением общей РНК на геле Сепадекс Г-200

rys. 8). Pod koniec badanego okresu (między 10 a 14 dniem) zawartość r_1 RNA w mg na gram suchej masy wierzchołka nieznacznie się zwiększa.



Rys. 12. Procentowe zmiany poszczególnych rodzajów RNA w 4, 6, 8, 10 i 14 dniu rozwoju wierzchołka korzenia kukurydzy w stosunku do kontroli. rRNA, r_1 RNA, r_2 RNA i tRNA otrzymano po elektroforetycznym rozfrakcjonowaniu preparatu całkowitego RNA na żelu agarowym. Dane dotyczą zmian względnej zawartości RNA w mg na gram suchej masy

Percent changes of the different kinds of RNA content in 4, 6, 8, 10 and 14 days root tips in comparison with control. rRNA, r_1 RNA, r_2 RNA and tRNA obtained by electrophoretic separation of the whole RNA sample on the agar gel. The data concern the relative changes of the RNA content in mg per gram of dry mass

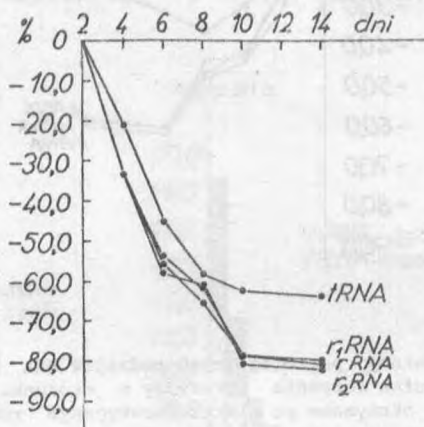
Процентные изменения содержания отдельных типов РНК на 4, 6, 8, 10 и 14 день развития верхушки корня кукурузы по отношению к контролю. рРНК, p_1 РНК, p_2 РНК и тРНК получено электрофоретическим разделением препарата общей РНК на агаровом геле. Данные относятся к содержанию РНК в мг на грамм сухого вещества

Z przebiegu krzywych na rys. 7 wynika, że spadek absolutnej zawartości rRNA, podobnie do zmian zaobserwowanych dla całkowitego RNA, jest największy w pierwszych dniach kiełkowania. W okresie między 10 a 14 dniem zmiany te są nieznaczne.

Analogiczne wnioski można wyciągnąć odnośnie do zmian względnej zawartości rRNA w mg na gram suchej masy (rys. 8).

Różnice w zmianach poszczególnych rodzajów rRNA w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju uwidocznione są na rys. 9, 10 i 11,

gdzie na diagramach część słupka przedstawiającą spadek poziomu rRNA zakreskowano na czarno. Wysokość tych słupków przy jednokowej szerokości maleje w miarę rozwoju. Między 10 a 14 dniem zawartość rRNA w μg na wierzchołek nie wykazuje zmian (rys. 9, rys. 10). Zawartość rRNA w mg na gram suchej masy, jak wspomniano już wcześniej, w analogicznym okresie czasu ulega nawet nieznaczniemu podwyższeniu (rys. 10, rys. 11).



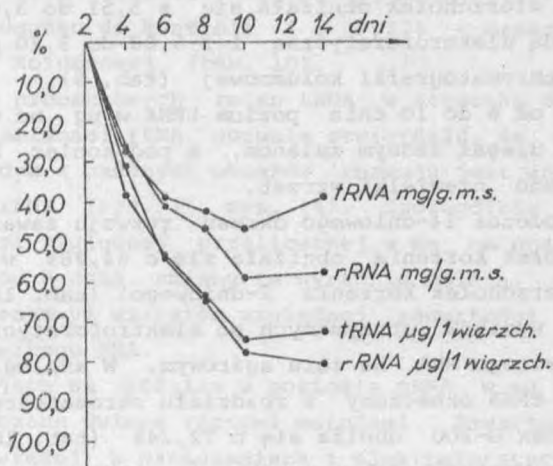
Rys. 13. Procentowe zmiany poszczególnych rodzajów RNA w 4, 6, 8, 10 i 14 dniu rozwoju wierzchołka korzenia w stosunku do kontroli. rRNA, r₁RNA, r₂RNA i tRNA otrzymano po elektroforetycznym rozfrakcjonowaniu preparatu całkowitego RNA na żelu agarowym. Dane dotyczą zmian absolutnej zawartości RNA w μg na wierzchołek korzenia

Percent changes of the different kinds of RNA content in 4, 6, 8, 10 and 14 days root tips in comparison with the control. rRNA, r₁RNA, r₂RNA and tRNA obtained from electroforetically separation of the whole RNA sample on the agarose gel. The data concern changes of the absolute RNA content in μg per root tip

Процентные изменения содержания отдельных типов РНК на 4, 6, 8, 10 и 14 день развития вершины корня по отношению к контролю. рРНК, р₁РНК, р₂РНК и тРНК получено электрофоретическим разделением препарата общей РНК на агаровом геле. Данные касаются изменения содержания РНК в мг на вершущу корня

Podczas badanego okresu rozwoju korzenia w wierzchołku nie stwierdzono zmian we względnych proporcjach r₁RNA i r₂RNA. Diagramy na rys. 9, 10 i 11 obrazujące m. in. zmiany obu frakcji, w

kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju korzenia wskazują, że ich zawartość zarówno w μg na wierzchołek, jak i w mg na gram suchej masy obniża się w jednakowym tempie.



Rys. 14. Zmiany zawartości rRNA i tRNA w wierzchołku korzenia kukurydzy w 4, 6, 8, 10 i 14 dniu rozwoju (w %) w stosunku do zawartości rRNA i tRNA w wierzchołku korzenia 2-dniowego. rRNA i tRNA otrzymano po rozfrakcjonowaniu całkowitego RNA na żelu Sephadex G-200

The changes of the rRNA i tRNA content in corn root tips during 4, 6, 8, 10 and 14 days of development (in %) in comparison with the rRNA and tRNA content in the 2 days root tip. rRNA and tRNA obtained after chromatography of the whole RNA on Sephadex G-200 gel

Изменения содержания рРНК и тРНК в верхушке корня кукурузы на 4, 6, 8, 10 и 14 день его развития (в %) по отношению к содержанию рРНК и тРНК в верхушке двух-дневного корня. рРНК и тРНК получено разделением общей РНК на геле Сепхадекс Г-200

Również spadek procentowy rRNA oraz jego frakcji: $r_1\text{RNA}$ i $r_2\text{RNA}$ w poszczególnych dniach rozwoju w stosunku do kontrolnego wierzchołka korzenia 2-dniowego jest prawie jednakowy niezależnie od sposobu przeliczania (rys. 12, rys. 13).

C. Zmiany tRNA. Niskocząsteczkowy RNA wierzchołka korzenia otrzymano, podobnie jak rRNA, dwoma metodami: przez elektroforetyczne frakcjonowanie całkowitego RNA na żelu agarowym oraz po chromatograficznym rozdzieleniu całkowitego RNA na kolumnie wypełnionej żelazem Sephadex G-200.

Podczas badanego okresu rozwoju korzenia poziom tRNA w wierzchołku w porównaniu z poziomem całkowitego RNA oraz rRNA ulegał nieznacznym zmianom. Dotyczą one w głównej mierze okresu pierwszych 6 dni kiełkowania, podczas których absolutna zawartość tRNA w μg na wierzchołek obniżała się z 5,51 do 3,00 μg w oznaczeniach metodą elektroforetyczną i z 6,88 do 3,20 μg w oznaczeniach metodą chromatografii kolumnowej (tab. 5).

W okresie od 6 do 10 dnia poziom tRNA w μg na wierzchołek w zasadzie nie ulegał żadnym zmianom, a pod koniec badanego okresu zaobserwowano niewielki wzrost.

Ogólnie podczas 14-dniowego okresu rozwoju zawartość tRNA w μg na wierzchołek korzenia obniżała się o 64,98% w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia 2-dniowego) (tab. 10). Spadek ten odnosi się do wyników otrzymanych po elektroforetycznym frakcjonowaniu całkowitego RNA na żelu agarowym. W analogicznym okresie czasu poziom tRNA oznaczony z rozdziłu chromatograficznego RNA na żelu Sephadex G-200 obniża się o 72,24% (tab. 10, rys. 13).

Porównanie wyników dotyczących zmian tRNA w μg na wierzchołek w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju z wynikami całkowitego RNA i rRNA pozwala stwierdzić pewną analogię między nimi, mianowicie: spadek tRNA również jest największy na początku badanego okresu - między 2 a 4 dniem, a najmniejszy między dniami 10 a 14 (rys. 9, rys. 11).

Podobnie wyglądają zmiany względnej zawartości tego rodzaju RNA w mg na gram suchej masy (rys. 8, rys. 10, rys. 11). Są one jednak mniejsze niż zmiany absolutnej zawartości w μg na wierzchołek (rys. 14).

Od 2 do 6 dnia zawartość tRNA w mg na gram suchej masy wierzchołka obniża się z 8,23 do 5,72 mg po czym do 10 dnia pozostaje na tym samym poziomie. Między 10 a 14 dniem zaobserwowano niewielki przyrost z 5,65 do 6,34 mg na gram suchej masy (tab. 6). Omówione wyniki dotyczą tRNA otrzymanego po elektroforetycznym frakcjonowaniu całkowitego RNA.

Analogiczne wyniki otrzymane z chromatografii kolumnowej podano w tab. 6. Od 2 do 10 dnia rozwoju zawartość tRNA w mg na gram suchej masy wierzchołka obniża się z 10,01 mg do 5,29 mg, a między 10 a 14 dniem nieznacznie się zwiększa (z 5,29 do 6,08 mg) (rys. 11).

Największy spadek zawartości tRNA w mg na gram suchej masy zaobserwowano między 2 a 4 dniem w wynikach uzyskanych z elektroforezy, a między 4 i 6 - w oznaczeniach uzyskanych z chromatografii kolumnowej (tab. 6). Podczas badanego okresu rozwoju korzenia poziom tRNA oznaczony metodą elektroforetyczną obniża się o 22,97% w stosunku do kontroli i o 39,27% w oznaczeniach z chromatografii kolumnowej (tab. 10).

Porównanie procentowych zmian tRNA w stosunku do kontroli z analogicznymi zmianami rRNA pozwala stwierdzić, że spadek poziomu tRNA w każdym z badanych okresów rozwoju jest znacznie mniejszy od spadku rRNA (rys. 13, rys. 14). Szczególnie odnosi się to do zawartości względnej przeliczonej w mg na gram suchej masy. Począwszy od 8 dnia zmiany te wyraźnie maleją, co jest spowodowane procentowym wzrostem względnej zawartości tRNA w preparatach całkowitego RNA.

Zastanawiające są różnice w poziomie tRNA w mg na gram świeżej masy oznaczane dwiema różnymi metodami. Zawartość tRNA w mg na gram masy świeżej w oznaczeniach z elektroforetycznego frakcjonowania całkowitego RNA wykazuje stopniowy wzrost wynoszący w dniu 14 61,53% (tab. 10). Analogiczne oznaczenia uzyskane z rozdziału chromatograficznego na żelu Sephadex G-200 wskazują na niewielki początkowy spadek zawartości tego rodzaju RNA (od 2 do 6 dnia rozwoju), po czym od 8 dnia poziom tRNA zaczyna stopniowo wzrastać i w 14 dniu przyrost ten wynosi 26,98% w stosunku do kontrolnego wierzchołka korzenia 2-dniowego (tab. 10).

Ta rozbieżność wyników jest nieco zaskakująca, tym bardziej, że inne oznaczenia poziomu tRNA (w μg na wierzchołek lub w mg na gram suchej masy) nie wykazują takich różnic. Być może spowodowana jest ona niejednakowym uwodnieniem poszczególnych wierzchołków i niedkładnością w oznaczeniach ilościowych ich świeżej masy, gdyż procentowa zawartość tRNA w preparatach całkowitego RNA oznaczona wspomnianymi dwiema metodami nie wykazywała takich różnic.

Zawartość poszczególnych rodzajów RNA w wierzchołku korzenia kukurydzy w różnych dniach jego rozwoju
(w μg na wierzchołek korzenia)

The content of different kinds of RNA in the corn root tips during several days of its development
(in μg per root tip)

Содержание отдельных типов РНК в верхушке корня кукурузы в разные дни его развития
(в мг на верхушку корня)

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
2	40,35 $\pm$ 2,55	25,15 $\pm$ 1,36	15,18 $\pm$ 1,34	5,51 $\pm$ 0,27	39,18 $\pm$ 2,62	6,88 $\pm$ 0,06
4	26,71 $\pm$ 1,51	16,76 $\pm$ 0,96	9,93 $\pm$ 0,58	4,35 $\pm$ 0,30	26,83 $\pm$ 1,56	4,23 $\pm$ 0,22
6	17,96 $\pm$ 0,99	11,50 $\pm$ 0,64	6,35 $\pm$ 0,42	3,00 $\pm$ 0,13	17,76 $\pm$ 0,93	3,20 $\pm$ 0,21
8	13,83 $\pm$ 0,96	9,40 $\pm$ 0,66	5,90 $\pm$ 0,26	2,28 $\pm$ 0,15	13,60 $\pm$ 0,92	2,51 $\pm$ 0,19
10	8,46 $\pm$ 0,29	5,13 $\pm$ 0,31	2,86 $\pm$ 0,04	2,05 $\pm$ 0,16	8,60 $\pm$ 0,35	1,76 $\pm$ 0,06
14	7,63 $\pm$ 0,53	4,88 $\pm$ 0,37	2,66 $\pm$ 0,14	1,93 $\pm$ 0,07	7,66 $\pm$ 0,55	1,91 $\pm$ 0,05

Zawartość poszczególnych rodzajów RNA w wierzchołku korzenia kukurydzy w różnych dniach jego rozwoju
(w mg na gram suchej masy wierzchołka)

The content of different kinds in the corn root tips during several days of its development
(in mg per gram of the dry mass)

Содержание отдельных типов РНК в верхушке корня кукурузы в разные дни его развития
(в мг на грамм сухого вещества верхушки)

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
2	59,54 $\pm$ 2,62	37,19 $\pm$ 1,47	20,80 $\pm$ 0,72	8,23 $\pm$ 0,28	57,62 $\pm$ 1,99	10,01 $\pm$ 0,31
4	42,21 $\pm$ 1,11	28,01 $\pm$ 1,53	15,67 $\pm$ 0,43	7,38 $\pm$ 0,58	42,36 $\pm$ 1,32	7,23 $\pm$ 0,49
6	33,93 $\pm$ 2,35	21,76 $\pm$ 1,62	12,03 $\pm$ 0,85	5,72 $\pm$ 0,36	33,54 $\pm$ 2,23	6,12 $\pm$ 0,49
8	31,26 $\pm$ 2,59	19,82 $\pm$ 1,54	11,83 $\pm$ 0,92	5,28 $\pm$ 0,36	30,77 $\pm$ 2,48	5,77 $\pm$ 0,46
10	22,84 $\pm$ 0,65	14,54 $\pm$ 0,44	8,29 $\pm$ 0,33	5,65 $\pm$ 0,36	23,20 $\pm$ 0,68	5,29 $\pm$ 0,40
14	24,20 $\pm$ 2,16	15,55 $\pm$ 1,43	8,56 $\pm$ 0,61	6,34 $\pm$ 0,33	24,47 $\pm$ 2,22	6,08 $\pm$ 0,29

Zawartość poszczególnych rodzajów RNA w wierzchołku korzenia kukurydzy
(w mg na gram świeżej masy wierzchołka)

The content of different kinds of RNA in the corn root tips
(in mg per gram of the root tip fresh mass)

Содержание отдельных типов РНК в верхушке корня кукурузы
(в мг на грамм свежего вещества верхушки)

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza				Sephadex G-200	
	rRNA	r ₁ RNA	r ₂ RNA	tRNA	rRNA	tRNA
2	3,80 $\pm$ 0,19	2,37 $\pm$ 0,10	1,42 $\pm$ 0,10	0,52 $\pm$ 0,02	3,69 $\pm$ 0,20	0,63 $\pm$ 0,01
4	3,43 $\pm$ 0,23	2,10 $\pm$ 0,16	1,27 $\pm$ 0,08	0,56 $\pm$ 0,03	3,45 $\pm$ 0,24	0,54 $\pm$ 0,02
6	3,43 $\pm$ 0,18	2,20 $\pm$ 0,13	1,21 $\pm$ 0,06	0,57 $\pm$ 0,03	3,39 $\pm$ 0,17	0,61 $\pm$ 0,03
8	3,54 $\pm$ 0,25	2,24 $\pm$ 0,15	1,29 $\pm$ 0,10	0,60 $\pm$ 0,05	3,48 $\pm$ 0,23	0,65 $\pm$ 0,05
10	3,01 $\pm$ 0,10	1,92 $\pm$ 0,07	1,09 $\pm$ 0,04	0,83 $\pm$ 0,06	3,07 $\pm$ 0,11	0,69 $\pm$ 0,04
14	3,22 $\pm$ 0,24	2,06 $\pm$ 0,16	1,12 $\pm$ 0,07	0,84 $\pm$ 0,03	3,26 $\pm$ 0,25	0,80 $\pm$ 0,02

Zmiany zawartości rRNA w wierzchołku korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego
w stosunku do kontroli

The changes in rRNA content in the root tip 4, 6, 8, 10 and 14 days in comparison
with control

Изменения содержания рРНК в верхушке 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневного корня
по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza						Sephadex G-200					
	µg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		µg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości rRNA											
	µg	%	mg	%	mg	%	µg	%	mg	%	mg	%
4	-13,64	-33,81	-0,37	-9,74	-17,33	-29,11	-12,35	-31,53	-0,24	-6,51	-15,26	-26,49
6	-22,39	-55,44	-0,37	-9,74	-25,61	-43,02	-21,42	-54,68	-0,30	-8,14	-24,08	-41,80
8	-26,52	-65,73	-0,26	-6,85	-28,28	-47,50	-25,58	-65,29	-0,21	-5,70	-26,85	-46,60
10	-31,89	-79,04	-0,79	-20,79	-36,70	-61,64	-30,58	-78,06	-0,62	-16,81	-34,42	-59,74
14	-32,72	-81,10	-0,58	-15,27	-35,34	-59,36	-31,52	-80,45	-0,43	-11,60	-33,15	-57,54

Zmiany zawartości r_1 RNA i r_2 RNA w wierzchołku korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego
w stosunku do kontroli

The changes in r_1 RNA and r_2 RNA content in the root tip 4, 6, 8, 10 and 14 days
in comparison with control

Изменения содержания r_1 РНК и r_2 РНК в верхушке 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневного корня
по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	r ₁ RNA						r ₂ RNA					
	μg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		μg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości poszczególnych frakcji rRNA											
	μg	%	mg	%	mg	%	μg	%	mg	%	mg	%
4	-8,39	-33,36	-0,27	-11,40	-9,18	-24,69	-5,25	-34,59	-0,15	-10,57	-5,15	-24,67
6	-13,65	-54,28	-0,17	-7,18	-15,43	-41,49	-8,83	-58,17	-0,21	-14,79	-8,17	-42,17
8	-15,75	-62,63	-0,13	-5,49	-17,37	-46,71	-9,28	-61,14	-0,13	-9,16	-8,97	-43,13
10	-20,02	-79,61	-0,45	-18,99	-22,65	-60,91	-12,32	-81,16	-0,33	-23,24	-12,51	-60,15
14	-20,27	-80,60	-0,31	-13,09	-21,64	-58,19	-12,52	-82,48	-0,30	-21,13	-12,24	-58,85

Zmiany zawartości tRNA w wierzchołku korzenia 4-, 6-, 8-, 10- i 14-dniowego
w stosunku do kontroli

Changes of the tRNA content in the root tip 4, 6, 8, 10 and 14 days
in comparison with control

Изменения содержания тРНК в верхушке 4-, 6-, 8-, 10- и 14-дневного корня
по отношению к контролю

Wiek kiełków w dniach	Elektroforeza						Sephadex G-200					
	µg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.		µg/wierzch.		mg/g.m.m.		mg/g.m.s.	
	zmiany zawartości tRNA											
	µg	%	mg	%	mg	%	µg	%	mg	%	mg	%
4	-1,16	-21,06	0,04	7,69	-0,85	-10,33	-2,65	-38,52	-0,09	-14,29	-2,78	-27,78
6	-2,51	-45,56	0,05	9,61	-2,51	-30,50	-3,68	-53,49	-0,02	-3,18	-3,89	-38,87
8	-3,23	-58,63	0,08	15,38	-2,95	-35,85	-4,37	-63,52	0,02	3,17	-4,24	-42,36
10	-3,46	-62,80	0,31	59,61	-2,58	-31,35	-5,12	-74,42	0,06	9,52	-4,72	-47,16
14	-3,58	-64,98	0,32	61,53	-1,89	-22,97	-4,97	-72,24	0,17	26,98	-3,93	-39,27

3. Statystyczne opracowanie wyników

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

Tabela 11

Test istotności statystycznej zmian masy świeżej,
masy suchej oraz zawartości wody wierzchołka korzenia
(w mg na wierzchołek)

The statistical significance test of the changes
of fresh mass, dry mass and water content in the root tip
(in mg per root tip)

Критерий статистической достоверности изменения
свежего и сухого вещества, а также воды в верхушке корня
(в мг на верхушку)

Dni kiełko- wania	Masa świeża	Masa sucha	Zawartość H ₂ O
	zmiany w kolejnych 2-dniowych okresach rozwoju		
2-4	+ $p < 0,001$	+ $0,02 < p < 0,05$	+ $p < 0,001$
4-6	+ $p < 0,001$	+ $0,02 < p < 0,05$	+ $p < 0,001$
6-8	+ $p < 0,001$	+ $0,01 < p < 0,02$	+ $p < 0,001$
8-10	+ $p < 0,001$	+ $0,01 < p < 0,02$	+ $0,002 < p < 0,005$
10-14	+ $p < 0,001$	+ $0,02 < p < 0,05$	+ $0,01 < p < 0,02$
	zmiany w stosunku do kontroli		
4	+ $p < 0,001$	+ $0,002 < p < 0,005$	+ $p < 0,001$
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, r_1 RNA, r_2 RNA, tRNA. Spadek absolutnej zawartości RNA w μg na wierzchołek korzenia jest wysoce znamiennej statystycznie w każdym z badanych okresów rozwoju w stosunku do kontroli, niezależnie od stosowanej metody oznaczenia zawartości RNA (tab. 12).

Znamienne statystycznie są również zmiany poszczególnych rodzajów RNA - rRNA, r_1 RNA, r_2 RNA i tRNA (tab. 12).

W obrębie porównywanych 2-dniowych okresów rozwoju spadek całkowitego RNA wierzchołka w μg na wierzchołek jest znamiennej statystycznie za wyjątkiem okresu między 10 a 14 dniem w oznaczeniach RNA metodą orcynolową. Spadek poszczególnych rodzajów RNA (r_1 RNA, r_2 RNA i tRNA) jest w zasadzie istotny tylko na początku badanego okresu (tab. 12). Poziom rRNA natomiast zmienia się równolegle z poziomem całkowitego RNA.

W wierzchołku korzenia nie stwierdzono istotnych różnic dla zmian względnej zawartości całkowitego RNA w mg na gram świeżej masy (tab. 13). Analogiczne zmiany dla poszczególnych rodzajów RNA istotne są dla:

a) r_1 RNA - w 10 dniu rozwoju w stosunku do kontroli (wierzchołek korzenia dwudniowego),

b) rRNA - w 10 dniu w stosunku do kontroli w wynikach uzyskanych z chromatografii kolumnowej,

c) tRNA - w 10 i 14 dniu w stosunku do kontroli w wynikach uzyskanych metodą elektroforetyczną i dodatkowo w 8 dniu w oznaczeniach otrzymanych z chromatografii kolumnowej (tab. 13).

Spadek względnej zawartości zarówno całkowitego RNA w mg na gram masy suchej jak i poszczególnych jego rodzajów jest znamiennej statystycznie we wszystkich badanych okresach rozwoju w stosunku do kontroli (tab. 14). Wyjątek stanowi jedynie spadek poziomu tRNA oznaczony metodą elektroforetyczną w 4 dniu. W obrębie porównywanych okresów 2-dniowych nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic we względnej zawartości (w mg na gram suchej masy) zarówno całkowitego RNA jak i rRNA, r_1 RNA, r_2 RNA i tRNA. Wyjątek stanowią jedynie zmiany w poziomie rRNA w okresie między 8 a 10 dniem rozwoju (dla metody elektroforetycznej) i różnice w poziomie tRNA między 6 a 8 dniem dla chromatografii kolumnowej (tab. 14).

Zmiany w poziomie poszczególnych rodzajów RNA w mg na gram suchej masy wierzchołka były istotne w zasadzie tylko w obrębie

Test istotności statystycznej zmian poziomu całkowitego RNA oraz poszczególnych rodzajów RNA
w wierzchołku korzenia kukurydzy (w μg na wierzchołek)

The statistical significance test of the changes of the RNA level and different kinds of RNA levels
in corn root (in μg per root tip)

Критерий статистической достоверности изменения уровня общей РНК и отдельных типов РНК
(в верхушке корня кукурузы в μg на верхушку)

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

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

The statistical significance test of the changes of the RNA level and different kinds of RNA levels
in corn root tip (in mg per gramm of fresh mass)

Критерий статистической достоверности изменения уровня общей РНК и отдельных типов РНК
в верхушке корня кукурузы (в мг на грамм свежего вещества)

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 dwudniowych okresach rozwoju							
2-4	-	-	-	-	-	-	-	-
4-6	-	-	-	-	-	-	-	-
6-8	-	-	-	-	-	-	-	+
8-10	-	-	0,02 < p < 0,05	-	-	-	-	0,02 < p < 0,05
10-14	-	-	-	-	-	-	-	-
	zmiany w stosunku do kontroli							
4	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	+
10	-	-	-	+	-	+	+	0,001 < p < 0,01
14	-	-	-	0,02 < p < 0,05	-	0,001 < p < 0,01	0,02 < p < 0,05	0,01 < p < 0,02
				-	-	p < 0,001	-	+
								p < 0,001

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

The statistical significance test of the changes of the RNA level and different kinds of RNA levels in corn root tip (in mg per gram of dry mass)

Критерий статистической достоверности изменения уровня общей РНК и отдельных типов РНК в верхушке корня кукурузы (в мг на грамм сухого вещества)

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

pierwszych 2 dni rozwoju oraz w okresie między 8 a 10 dniem za wyjątkiem tRNA (tab. 14).

DYSKUSJA

Podczas 14-dniowego rozwoju korzenia kukurydzy (*Z. mays* L.) w 10-milimetrowym wierzchołku korzenia zaobserwowano spadek masy suchej, całkowitego, rybosomowego i niskocząsteczkowego RNA. Zmiany te są znamienne statystycznie i największe podczas pierwszych 4 dni kiełkowania rośliny. Ciągły spadek zawartości masy suchej oraz RNA korzenia sugeruje, że podczas badanego okresu rozwoju zmniejsza się w nim ilość komórek najprawdopodobniej przez zmniejszenie się strefy merystematycznej.

W wielu gatunkach roślin udowodniono, że najbardziej wzmożona synteza RNA w okresie wzrostu zachodzi w pakach szczytowych oraz merystemach wierzchołkowych [12, 13]. Za pomocą metod biochemicznych i cytochemicznych przy równoczesnym zastosowaniu znakowanych pierwiastków wykazano, że synteza RNA jest istotnym czynnikiem dla wzrostu embrionalnego komórki roślinnej. W komórkach wierzchołka korzenia cebuli wiele substancji hamujących syntezę RNA (8-azaguanina, aktynomicyna D, 5-fluorouracyl) redukuje ilość dzielących się komórek i przeciwnie - kinetyna, substancja wzrostowa, która stymuluje syntezę RNA, powoduje skrócenie czasu potrzebnego komórce dla przejścia przez profazę [17].

M i t t e l m a y e r i wsp. [16] wykazali, że w komórkach *Physarum* przed wejściem jądra w profazę syntetyzowana jest specyficzna frakcja RNA, a zahamowanie jej syntezy za pomocą aktynomicyny D wstrzymuje podziały jądra.

W o o d s t o c k i S k o o g [26, 27] badając zawartość RNA w różnych strefach korzenia kukurydzy stwierdzili, że najwyższa jest zawartość tego związku w komórkach merystematycznych wierzchołka korzenia, a najniższa w komórkach dojrzałych, zróżnicowanych.

Badania cytologiczne oraz zdjęcia z mikroskopu elektronowego wykazały, że podczas dyferencjacji komórek stożka wzrostu niektórych roślin [10, 21] poszczególne struktury komórki przechodzą określone zmiany morfologiczne. Towarzyszą im odpowiednie zmiany w zawartości kwasów nukleinowych. Wydaje się więc, że za-

obserwowany w przedstawionej pracy spadek suchej masy i zawartości RNA stanowi również pewne odzwierciedlenie morfologicznych i fizjologicznych zmian komórek wierzchołka korzenia zachodzących podczas jego rozwoju. Stopniowe dojrzewanie i różnicowanie się komórek merystematycznych wierzchołka wzrostu korzenia powoduje obniżenie ogólnej ilości komórek, co wiąże się ze spadkiem zawartości jego suchej masy oraz RNA.

LITERATURA

- [1] Allsopp A., *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 15, 225 (1964).
- [2] Ballentine R., *Methods in Enzymology*, ed. Colowick S. P., Kaplan N. O., t. 3, New York, 984 (1957).
- [3] Bonner J., *The molecular biology of development*, Oxford (1965).
- [4] Borisowa N. N., Niezgorowa L. A., *Fiziol. rast.* 16, 452 (1969).
- [5] Czawkin E. J., *Inducyrowanyj sintez fermentow w procesach rosta i morfogenieza rastienii*, Moskwa (1969).
- [6] Dirheimer G., Weil J. M., Ebel J. R., *Compt. Rend. Acad. Sci* 225, 2312 (1962).
- [7] Emerson P., Sholes G., Thompson D. M., Ward G. F., Weiss J., "Nature" 186, 319 (1960).
- [8] Filipowicz B., Gniazdowski M., Więckowski W., *Biull. WAM* 3, 145 (1960).
- [9] Georgiew G. P., "Biochimija" 824, 472 (1959).
- [10] Hess D., "Planta" 57, 29 (1961).
- [11] Horecker B. L., Ma F. S., Haas E., *Biol. Chem.* 136, 775 (1940).
- [12] Konariw V. G., *Nukleinowyje kisloty, ich sostojanie i rol w obmienie wieszczestw u rastienii*, Moskwa (1964).
- [13] Kuramszyn G. S., Changildin V. Ch., Konariw V., *Nakoplenije i rozpredielenije nukleinowych kislot i drugih fosfornych sojedinienii po organam rastienii kukuruzy w ontogieniezje*, [w:] *Biołogija nukleinowego obmienu u rastienii*, Ufa (1959).
- [14] Lowry H., Rosebrough N. J., Fawcett A. Z., Randall E. J., *J. Biol. Chem.* 193, 265 (1951).

- [15] Millikan D. F., Ghosh B. N., *Physiol. plant.* 24, 10 (1971).
- [16] Mittelmayer C., Brown R., Rusch H. P., *Biochim. Biophys. Acta* 91, 399 (1964).
- [17] Oaks A., *Canad. J. Bot.* 45, 385 (1967).
- [18] Ristow H., Köhler K., *Biochim. Biophys. Acta* 142, 65 (1967).
- [19] Schneider W. C., *Methods in Enzymology*, t. 3, ed. Colowick S. P., i N. O. Kaplan, New York, 680 (1957).
- [20] Sevag M. C., Lachman D. B., Smollens J., J. *Biol. Chem.* 124, 425 (1938).
- [21] Shvedskaya L. A., *Exp. Gerontol.* 7, 251 (1972).
- [22] Skarżyński J., *Prace I Kongresu Biochemii*, Łódź, 198, (1963).
- [23] Sytnik K. M., Dudczenko L. C., *Fiziol. rast.* 19, 715 (1972).
- [24] Szaniew R., "Biochimija" 30, 124 (1965).
- [25] Wardlaw C. W., *Organization and evolution in plants.*, London.
- [26] Woodstock L. W., Skoog F., *Amer. J. Bot.* 47, 713 (1960).
- [27] Woodstock L. W., Skoog F., *Amer. J. Bot.* 49, 623 (1962).

Maszynopis przyjęto do redakcji
6 XI 1978 r.

Zakład Biofizyki UŁ
Instytut Biochemii i Biofizyki

Aneta Koceva-Chyża

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

II. CHANGES OF THE RNA LEVEL IN THE ROOT TIP

During the 14 days period of development of the corn root the decrease of dry mass, ribosomal and low molecular RNA content was observed in the 10-mm root tip. The changes are statistically significant and they are of higher values during the first 4 days of germination. The continuous decrease of the dry mass content and RNA suggests that during the tested period of time the number of cells decreases, probably because of the reduction of the meristemic zone.

Анета Коцева-Хыла

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

II. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ РНК В ВЕРХУШКЕ КОРНЯ

Обнаружено уменьшение сухого вещества, общей РНК, рибосомальной и низкомолекулярной РНК в 10-миллиметровой верхушке корня кукурузы в течение 14-дневного периода его развития. Эти изменения были достоверны статистически и являлись наибольшими в течение первых 4 дней прорастания растений. Постепенное уменьшение содержания сухого вещества и РНК в верхушке корня дает возможность предполагать, что во время исследуемого периода развития уменьшается в ней количество клеток, вероятно, благодаря уменьшению меристиматической области.