

EINFLUSS DER UNTERSCHIEDLICHEN
K-ERNÄHRUNG AUF DEN ^{32}P -EINBAU
IN EINZELNE NUKLEINSÄUREGRUPPEN
BEI JUNGEN MAISPFLANZEN

RUDOLF KASTORI, STOJAN GRUJIĆ, JULIJAN KANDRAČ und IVAN
ADAMOV

(Landwirtschaftliche Fakultät und Institut für Chemie, Novi Sad, Jugoslawien)

Eingegangen am 28. Oktober 1977

Einleitung

Es ist bekannt, dass Kalium für das normale Wachstum und die Entwicklung der Pflanzen unentbehrlich ist, da es als Cofaktor an zahlreichen enzymatischen Reaktionen teilnimmt (Evans und Sorger 1966, sowie Wildes 1971). In den Arbeiten von Kursanov und Vyskrebenseva (1967) und Hsiao et al. (1968) wurde festgestellt, dass Kalium auch an Prozessen der Biosynthese von Nucleinsäuren teilnimmt. Unsere früheren Untersuchungen (Kastori und Grujić 1975) bewiesen auch den K-Einfluss auf den DNA- und RNA-Gehalt in jungen Maispflanzen: bei K-Mangel wurde der NA- und besonders der RNA-Gehalt herabgesetzt.

Die Arbeit von Ennis und Lubin (1965) bewies, dass Kalium auch an Bildungsprozessen von Polysomen beteiligt ist, während Schaeffer et al. (1960) den K-Einfluss auch an Prozessen der Initiation und Elongation in der Proteinbiosynthese hervorgehoben haben.

Mit der Rolle einzelner NA-Gruppen in den oben erwähnten Prozessen vor Augen unternahmen wir die Prüfung der K-Rolle im Stoffwechsel einzelner NA-Gruppen.

Material und Methode

Der Versuch wurde mit dem Maishybrid NSSK-70 durchgeführt. Nach Aufkeimen auf destilliertem Wasser wurde die eine Hälfte der jungen Keimlinge in eine vollständige Nährlösung nach Reid und York übertragen. Diese Lösung enthielt neben unentbehrlichen Makro-

auch essentielle Mikroelemente. Die andere Hälfte der jungen Keimlinge wurde in derselben Lösung, aber ohne Kalium aufgezogen. Nach neun Tagen Aufzucht in Wasserkultur applizierten wir 4,5 mCi/l ^{32}P . Die Aufnahme des radioaktiven P dauerte 6 Stunden, wonach wir die Pflanzensprossen von der Wurzel trennten. Aus den Blättern derartig ernährter Pflanzen wurden native Nukleinsäuren nach der Phenoldetergent-Methode isoliert, deren Puffersystem 0,14 M NaCl, 0,05 M Phosphatpuffer pH 7,6 enthielt. Zwecks Deproteinisierung der NA haben wir zu dem Puffer 20%ige Na-Dodezylsulfat-Lösung hinzugegeben und zwar in der Menge, dass die Konzentration 0,5% betrug, sowie das gleiche wassergesättigte Phenolvolumen, das 0,001 M Äthylendiamintetraacetat und 1 g/8-Oxyhynolin enthielt. Die Einzelheiten dieser Methode wurden in der früheren Arbeit von Grujić et al. (1972) dargestellt mit dem Unterschied, dass wir zur Inaktivierung der Ribonuklease anstatt Betonit, je 100 ml Puffer 0,1 ml Diäthylpyrokarbonat (DEP) beigaben.

Die Trennung von nativen Präparaten der Nukleinsäuren auf einzelne Gruppen erfolgte chromatographisch auf der Methylalbumin-Kiesel-

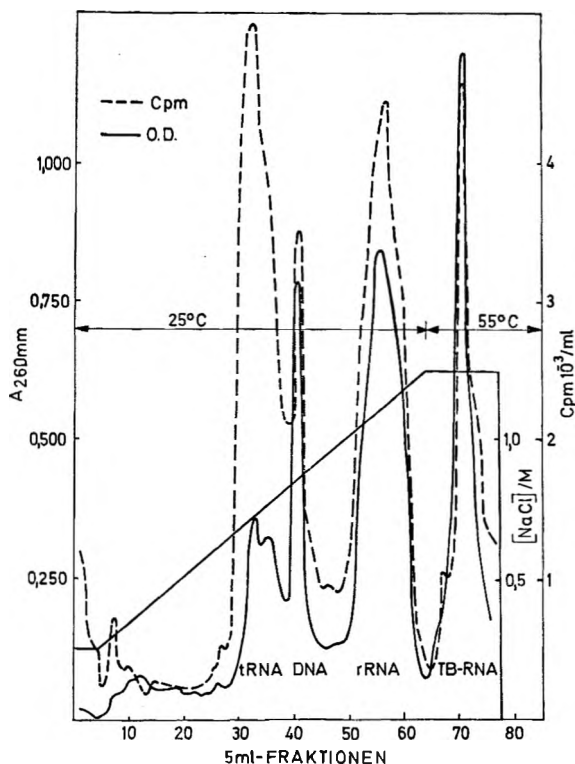


Abb. 1. Elutions-Diagramm der aus Blättern junger, auf vollkommener Nährlösung gezogener Maispflanzen extrahierten NA (Chromatographie auf der MAK-Säule)

gur-Säule (MAK-Säule) nach der Methode von Mendell und Hershey (1960), indem die fest gebundene RNA auf der MAK-Säule (TB-RNA tightly bound) auf 55 °C eluiert wurde. Die Intensität des ^{32}P -Einbaus in einzelne Gruppen der Nuklein-Säuren wurde durch Messen der Radioaktivität des Eluates von der MAK-Säule bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Der Einfluss des K-Mangels auf die Intensität des ^{32}P -Einbaus ist in Abb. 1 und 2 dargestellt. Die Diagramme zeigen, dass sich aus isolierten NA-Präparaten anlässlich der Fraktionierung bei Zimmertemperatur die üblichen Fraktionen NA (tRNA, DNA und rRNA) trennen, und dass auf 55 °C noch eine Gruppe der Nukleinsäuren ausscheidet, für welche aufgrund der Analyse des Hydrolysats und UV-Spektrums festgestellt wurde, dass sie zu der RNA-(TB-RNA) Gruppe gehört. Im Gegensatz zu unserem Verfahren wurde die an der MAK-Säule (TB-RNA) fest gebundene Fraktion in den Arbeiten von Key (1972) sowie Johri

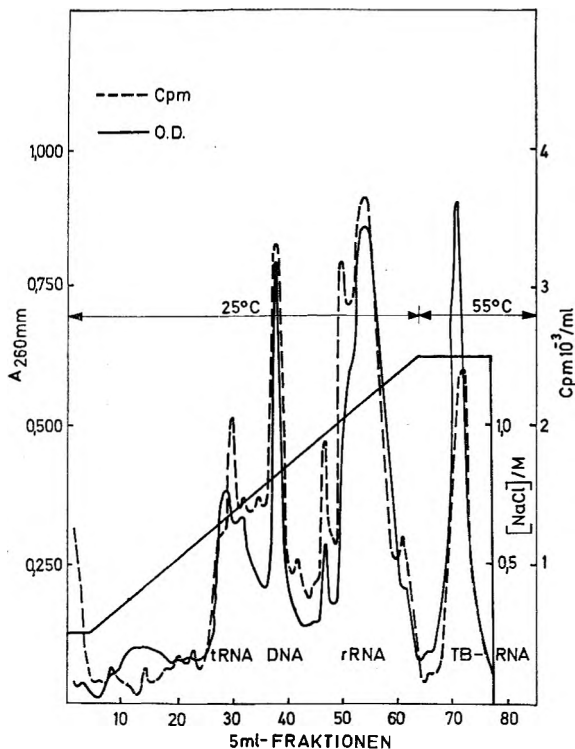


Abb. 2. Elutions-Diagramm der aus Blättern junger, auf Nährlösung ohne Kalium gezogener Maispflanzen extrahierten NA (Chromatographie auf der MAK-Säule)

und Varner (1970) durch Sodiumdodezylsulfat (SDS) eluiert. Nach Untersuchungen von Key (1972) zeichnet sich diese Fraktion durch grossen Adenylsäuregehalt aus.

Das Diagramm zeigt ausserdem, dass die Linie, die die Aktivität einzelner NA-Gruppen bezeichnet, das optische Diagramm begleitet. Die Intensität des ^{32}P -Einbaus in einzelne NA-Gruppen ist bei Pflanzen, die in der vollständigen Lösung ernährt wurden, etwas grösser, besonders bei tRNA, als bei Pflanzen, die ohne Kalium gezogen wurden. Diese Tatsache wird besonders auf der Abb. 3 deutlich, auf der die spezifische Aktivität einzelner NA-Gruppen dargestellt ist.

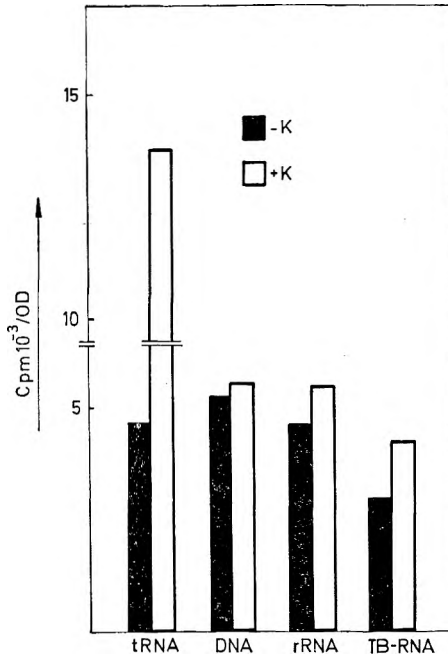


Abb. 3. Spezifische Aktivität einzelner NA-Gruppen in jungen Maispflanzen bei unterschiedlicher K-Ernährung.

Die grosse Intensität des Einbaus von ^{32}P in die tRNA-Fraktion ist möglicherweise die Folge der intensiven Erneuerung der terminalen 3'Nukleotide (pCpCpA), zu deren Entwicklung wahrscheinlich die Anwesenheit einer bestimmten Konzentration von Kalium notwendig ist.

Nach Versuchen von Knypl und Chylinska (1973) stimuliert die KNO_3 -Lösung in den Kotyledonen der Salatkeimlinge wesentlich den Einbau von ^{14}C -Uracil in die RNA, während sich die spezifische ^{32}P -Aktivität in der tRNA nur unbedeutend vergrössert.

Dieselben Autoren stellten den erhöhten ^{14}C -Leuzin-Einbau in Proteine in der Anwesenheit von KNO_3 fest und schlossen daraus dass Kalium wesentlich die Biosynthese des Proteins beeinflusst und sekundär den Turnover der Nucleinsäuren beschleunigt.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wurde der Einfluss verschiedener K-Ernährung auf die Intensität des ^{32}P -Einbaus in einzelne Nucleinsäuregruppen (tRNA, rRNA, TB-RNA und DNA) geprüft. Aufgrund der gewonnenen Ergebnisse lässt sich feststellen, dass sich nach 9 Tagen Aufzucht von jungen Maispflanzen in Nährlösung, die kein Kalium enthält, der Einbau von ^{32}P in RNA, rRNA, DNA und TB-RNA nicht wesentlich verringert hat. Dagegen war der Einbau von ^{32}P in die tRNA-Fraktion entschieden schwächer.

L i t e r a t u r a

- Ennis, H. L., M. Lubin, 1965: Pre-ribosomal particles formed in potassium depleted cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 95, 605—623.
- Evans, H. J., G. J. Sorger, 1966: Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. *Annual Review of Plant Physiology*, 17, 47—76.
- Evans, H. J., A. Wildes, 1971: Potassium in Biochemistry and Physiology of Plants. International Potash Institute. Berne.
- Grujić, S., J. Kandrač, S. Kevrešan, 1972: Izolovanje nukleinskih kiselina iz ponika kukuruza fenoldetergenskim metodom. *Letopis naučnih radova Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu* 16, 93—105.
- Hsihao, T. C., R. H. Hageman, E. H. Tyner, 1968: Effect of Potassium Nutrition on Ribonucleic Acid and Ribonuclease in *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 43, 1941—1946.
- Johri, M. M., J. E. Varner, 1970: Characterization of Rapidly Labeled Ribonucleic Acid from Dwarf Peas. *Plant. Physiol.* 45, 348—358.
- Kastori, R., S. Grujić, 1975: Einfluss der verschiedener K-Ernährung auf die Dynamik von RNS- und DNS-Gehalt in jungen Maispflanzen. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 167, 113—116.
- Key, J. L., 1972: Nucleic acid and proteins in higher plants. Edited by G. L. Farkas, p. 15—28, Akadémia Kiadó, Budapest.
- Knypl, J. S., Krystyna, M. Chylinska, 1973: Stimulation of Protein and Nucleic Acid Synthesis by KNO_3 and Benzylaminopurine in Lettuce Cotyledons. *Z. Pflanzenphysiol.* 70, 414—419.
- Kursanov, A. L., E. I. Vyskrebentseva, 1967: Metabolizm rastenija v uslovijah kalijnoj nedostatočnosti. *Agrohimija* 1, 65—77.
- Mandell, J. D., A. D. Hershey, 1960: A Fractionation Column for Analysis of Nucleic Acids. *Anal. Biochem.* 1, 66—70.
- Shaeffer, J., R. Arlinghaus, R. Schweet, 1968: Effect of varying the KCl and MgCl_2 concentration on the enzymic and nonenzymic binding of phenylalanyl-tRNA to reticulocyte ribosomes. *Arch. Biochem. Biophys.* 125, 614—622.

SADRŽAJ

UTJECAJ RAZLIČITE ISHRANE KALIJEJEM NA UGRAĐIVANJE ^{32}P U POJEDINE GRUPE NUKLEINSKIH KISELINA KOD MLADIH BILJAKA KUKURUZA

Rudolf Kastori, Stojan Grujić, Julijan Kandrač i Ivan Adamov

(Poljoprivredni fakultet i Institut za hemiju, Novi Sad)

Proučeno je djelovanje kalija na intenzitet ugrađivanja ^{32}P u pojedine grupe nukleinskih kiselina (tRNA, rRNA, TB-RNA i DNA) i ukazano je na djelovanje kalija na metabolizam nukleinskih kiselina.

Na osnovi dobivenih rezultata može se zaključiti da se nakon devet dana gajenja mladih biljaka kukuruza na hranjivoj otopini bez kalija ugrađivanje ^{32}P u RNA, rRNA, DNA i TB-RNA nije značajno smanjilo. Međutim, ugrađivanje ^{32}P u frakciju tRNA bilo je bitno slabije.

Prof. Dr Rudolf Kastori
Poljoprivredni fakultet
Yu-21000 Novi Sad (Jugoslavija)

Prof. Dr Stojan Grujić
Dipl. ing Julijan Kandrač
Dipl. ing Ivan Adamov
Institut za hemiju PMF
Yu-21000 Novi Sad (Jugoslavija)