

EDMUND NOWACKI

## ZASTOSOWANIE IZOTOPÓW W BOTANICE

Od kilkunastu lat w nauce światowej poczesne miejsce, jako instrument badawczy, zajmują izotopy. W chwili obecnej postęp w niektórych dziedzinach możliwy jest tylko przy ich zastosowaniu. Instytuty naukowe nie stosujące pierwiastków promieniotwórczych pozostają coraz bardziej w tyle. W ostatnich latach powstało w Polsce kilka instytucji przeprowadzających badania za pomocą izotopów; są to m. i. Instytut Badań Jądrowych i Komitet do Spraw Wykorzystania Energii Jądrowej; kilkanaście innych instytucji zaczęło stosować izotopy w badaniach, na ograniczoną wprawdzie skalę. Wysoka cena jednak, jak i brak krajowej produkcji, a przede wszystkim nieznanostwo zagadnienia spowodowały duże opóźnienie w tej dziedzinie.

Co to są izotopy?

Od chwili zastosowania po raz pierwszy izotopów do badań biologicznych upłynęło około 30 lat. W pierwszych latach stosowano przede wszystkim niepromieniotwórcze tzw. «ciężkie» izotopy, a więc deuter zamiast wodoru, tlen  $^{18}\text{O}$  zamiast zwykłego  $^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}$  zamiast  $^{14}\text{N}$  itp. Dopiero w latach czterdziestych i pięćdziesiątych zaczęto stosować izotopy promieniotwórcze, które wraz z rozwojem badań jądrowych stawały się coraz to tańsze i łatwiej dostępne. Jak już wspomniano, stosowane w badaniach izotopy są dwojakiego rodzaju. Pierwsze to izotopy trwałe — niepromieniotwórcze, atomy izotopu tego różnią się od pozostałych atomów danego pierwiastka tylko liczbą neutronów w jądrze i stąd ciężarem atomowym; izotopy te wykazują efekt izotopowy związany z ciężarem atomowym. Zastosowanie ich w badaniach naukowych ograniczone jest wysoką ceną substancji znaczonej niepromieniotwórczymi izotopami, jak i żmudnymi metodami izolacji bardzo czystych substancji oraz niezwykle wysoką ceną aparatury służącej do rozdzielania pospolitego i ciężkiego izotopu.

Drugą grupę stanowią izotopy promieniotwórcze. Izotopy te otrzymuje się bądź jako produkty rozpadu uranu w stosach atomowych, bądź przez napromieniowanie stałych izotopów. Węgiel 14 otrzymuje się napromieniowując azot 14 neutronami; w wyniku tak zwanej transmutacji otrzymuje się atom  $^{14}\text{C}$  i wolny proton. Atom węgla 14 jest niestabilny i wcześniej czy później przekształca się z powrotem w azot, emitując przy tym promieniowanie  $\beta$ . W praktyce  $^{14}\text{C}$  otrzymuje się na-

promieniowując  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  neutronami. Po dostatecznie długim czasie powstałą mieszaninę promieniotwórczego metanu, dwutlenku węgla i innych tego typu związków przekształca się na węglan baru, który jest następnie stosowany w syntezach chemicznych czy biologicznych dla otrzymania znaczonej substancji. Badania z zastosowaniem izotopów «gorących» są o wiele łatwiejsze do przeprowadzenia, gdyż do wykrycia znaczonej atomów wystarczy właściwie tylko licznik Geigera lub zwykła klisza fotograficzna. Jednak izotopy «gorące», w przeciwieństwie do «ciężkich» stanowią pewne niebezpieczeństwo dla zdrowia w przypadku awarii w pracowni.

### Dziedziny botaniki, w których izotopy znalazły zastosowanie

Zastosowanie izotopów w botanice eksperymentalnej jest tak powszechne, że spowodowało założenie specjalnego czasopisma poświęconego tej dziedzinie «Radiation Botany». Natomiast w innych czasopismach, takich jak «Phytochemistry» czy «Plant Physiology» około 50% publikacji dotyczy prac wykonanych przy zastosowaniu izotopów (tabl. 1). Izotopy znalazły najszersze zastosowanie w ba-

TABELA 1

Zastosowanie izotopów w badaniach z dziedziny fizjologii roślin

Czasopismo	Okres	Liczba publikacji bez stosowania izotopów	Liczba publikacji z zastosowaniem izotopów
Fizjologia rastjenij	koniec 1959	45	10
Physiologia Plantarum	I, II, III kw. 1961	54	15
Plant Physiology	I półrocze 1960	52	21
Plant Physiology	II półrocze 1961	33	32

daniach z dziedziny biochemii i fizjologii roślin. Zależnie od celu badań w obu dziedzinach stosuje się szeroki wachlarz pierwiastków. Spośród «ciężkich» izotopów w pracach biochemicznych dużą rolę odgrywają deuter, ciężki azot i ciężki tlen. Dzięki zastosowaniu tych trzech ciężkich izotopów, należących do najważniejszych pierwiastków wchodzących w skład rośliny, rozwiązano obecnie wiele problemów, między innymi pochodzenie tlenu w drobinach węglowodanów, tlenu w estrach itp. Ciężki azot posłużył do badań nad metabolizmem białek i kwasów nukleinowych, a ciężki wodór znalazł zastosowanie w pracach nad metabolizmem tłuszczu i węglowodanów. Jednak o wiele poważniejszą rolę, aniżeli ciężkie atomy, odgrywają izotopy promieniotwórcze. Niestety ani dla tlenu, ani dla azotu nie ma odpowiednio długotrwałych izotopów radioaktywnych. Stąd też badania nad metabolizmem tych dwu pierwiastków z konieczności muszą być nadal prowadzone przy zastosowaniu  $^{15}\text{N}$  i  $^{18}\text{O}$ , co jest oczywiście o wiele żmudniejsze. Spośród

izotopów promieniotwórczych najczęstsze zastosowanie znalazły:  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}(\text{T})$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{60}\text{Co}$  i  $^{131}\text{I}$ . Spośród tej szóstki radio-węgiel jest stosowany w około 80% badań, tryt w zaledwie 15%, pozostałe cztery w około 4% (tabl. 2).

Przyczyny rozpowszechniania się badań z zastosowaniem  $^{14}\text{C}$  są następujące: Długi półokres rozpadu, wynoszący 5570 lat, umożliwia przeprowadzenie badań bez pośpiechu. Stosunkowo mała różnica w ciężarze atomowym powoduje tylko

TABELA 2

Częściej stosowane izotopy

Nazwa	Symbol	Półokres rozpadu	Maksymalna energia promieniowania		Zastosowanie	Ilość dozwolona bez licencji w USA
			$\beta$	$\gamma$		
Węgiel	$^{14}\text{C}$	5570 L	0,155	—	Biochemia	50 $\mu\text{C}$
Węgiel	$^{13}\text{C}$	Trwały	—	—	Biochemia	Każda ilość
Chlor	$^{36}\text{Cl}$	$3 \times 10^5$ L	0,714	—	Ekologia	1 $\mu\text{C}$
Kobalt	$^{60}\text{Co}$	5,25 L	0,31	1,33	Genetyka	1 $\mu\text{C}$
Żelazo	$^{55}\text{Fe}$	2,9 L	—	0,006	Metabolizm B 12	
					Mikroelementy	10 $\mu\text{C}$
Tryt	$^3\text{H}$	12,5 L	0,018	—	Biochemia	250 $\mu\text{C}$
Deuter	$^2\text{H}$	Trwały	—	—	Fizjologia	Każda ilość
Jod	$^{131}\text{I}$	8,1 D	0,608	0,72	Metabolizm jodotyrozyny itp.	10 $\mu\text{C}$
Potas	$^{42}\text{K}$	0,52 D	3,54	1,53	Fizjologia	—
Azot	$^{15}\text{N}$	Trwały	—	—	Biochemia	Każda ilość
Sód	$^{22}\text{Na}$	2,6 L	0,54	1,28	Ekologia	10 $\mu\text{C}$
Tlen	$^{18}\text{O}$	Trwały	—	—	Biochemia	Każda ilość
Fosfor	$^{32}\text{P}$	14,3 D	1,70	—	Genetyka	
					Fizjologia	10 $\mu\text{C}$
Siarka	$^{35}\text{S}$	87 D	0,167	—	Metabolizm	
					Genetyka	50 $\mu\text{C}$
Stront	$^{90}\text{Sr}$	28 L	0,54	—	Genetyka	0,1 $\mu\text{C}$

L — lata, D — dni

nikły efekt izotopowy (tab. 3), a słabe promieniowanie  $\beta$  sprawia, że praca z tym pierwiastkiem jest względnie bezpieczna. Węgiel 14 znalazł więc zastosowanie w badaniach biochemicznych i fizjologicznych i do tego stopnia wyparł klasyczną metodę, że wielu badaczy nie wyobraża sobie w ogóle możliwości badań biochemicznych bez zastosowania tego pierwiastka (Battersbay 1961, Tyler 1960).

Drugie miejsce zajmuje tryt. W przeciwieństwie do radiowęgla,  $^3\text{H}$  posiada kilka właściwości, które ograniczają jego zastosowanie. Są to: bardzo duży efekt izotopowy, nietrwałość niektórych wiązań wodoru z innymi pierwiastkami (stąd łatwość wymiany) oraz bardzo niskoenergetyczne promieniowanie  $\beta$ . Niska energia

promieniowania uniemożliwia radioautografię i utrudnia inne metody pomiaru. Półokres rozpadu jest również o wiele krótszy i wynosi 12,5 lat, co jest jednak wystarczająco długim okresem w badaniach trwających zaledwie kilka dni. Tryt znajduje zastosowanie we wstępnych badaniach, gdyż stosunkowo łatwo można prawie każdą substancję organiczną zamienić na znaczoną trytem, przetrzymując próbkę przez pewien czas w atmosferze trytu; wtedy pewien procent  $^1\text{H}$  ulegnie wymianie na  $^3\text{H}$  i próbka staje się promieniotwórcza. Poza węglem i wodorem

TABELA 3

Efekt izotopowy węgla —14

(katalityczna polimeryzacja etylenu, propylenu i styrolu w obecności  $\text{TiCl}_3$ )

Substancja	Procent przekształcenia	Promieniotwórczość produktu w $\mu\text{C}/\text{mg}$ węgla
Etylen	3,95	1,023
	4,1	1,029
	6,7	1,031
	9,1	1,032
	98,0	1,065
	100,0	1,065
Propylen	3,75	3,046
	9,15	3,050
	97,0	3,153
	100,0	3,154
Styren	1,96	5,082
	2,49	5,088
	8,62	5,090
	98,0	5,235
	100,0	5,235

poważną rolę w metabolizmie roślin odgrywają fosfor i siarka; oba pierwiastki posiadają izotopy promieniotwórcze o krótkich półokresach trwania, jednak mimo tego znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach. Fosfor 32 znalazł zastosowanie szczególnie w badaniach nad metabolizmem kwasów nukleinowych, a radiosiarka w śledzeniu przemian aminokwasów zawierających ten pierwiastek. Pozostałe izotopy odgrywają o wiele mniejszą rolę; jednak  $^{131}\text{I}$  znalazł zastosowanie w badaniach nad metabolizmem jodotyrozyny, a  $^{60}\text{Co}$  w badaniach nad witaminą B-12.

Inną dziedziną botaniki, w której od dawna stosuje się pierwiastki promieniotwórcze, jest genetyka. Metody i cele są jednak zupełnie inne, o ile bowiem w badaniach biochemicznych chodzi o zredukowanie do minimum efektu izotopowego i spowodowanych promieniowaniem jonizującym, to w genetyce zależy właśnie na jak najsilniejszym promieniowaniu, ponieważ tylko wtedy można liczyć na

spowodowanie mutacji. Izotopy stosowane w tym celu można podzielić na dwie grupy, do pierwszej, charakteryzującej się silnym promieniowaniem  $\beta$ , zaliczyć należy radiofosfor i radiosiarkę. Oba pierwiastki wprowadza się w znacznych ilościach do roślin, w których chcemy wywołać mutację. Szczególnie aktywny pod tym względem jest fosfor 32, gdyż wchodząc w skład kwasów nukleinowych bardzo łatwo powoduje mutacje nie tylko na skutek promieniowania jonizującego, ale również na skutek przzerwania łańcucha drobiny DNA w czasie rozpadu atomu  $^{32}\text{P}$ .

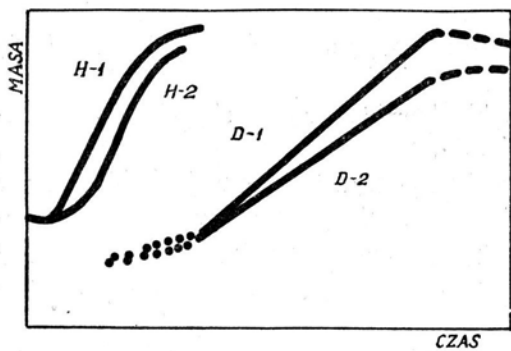
Mniejsze zastosowanie ma siarka, natomiast węgiel 14 prawie nie nadaje się do tego celu.

Do drugiej grupy zaliczamy pierwiastki charakteryzujące się silnym promieniowaniem; są to kobalt 60, sód 22 i potas 42. Izotopy te stosuje się na zewnątrz, to znaczy nasiona lub rośliny, w których chcemy wywołać mutację, umieszczamy w zasięgu silnego promieniowania  $\gamma$ . Efekt działania promieni  $\gamma$  jest w przybliżeniu taki sam jak twardych promieni X, z tego powodu mutacje otrzymane przy zastosowaniu promieni  $\gamma$  są tego samego typu, co mutacja zachodząca pod wpływem promieni Rentgena.

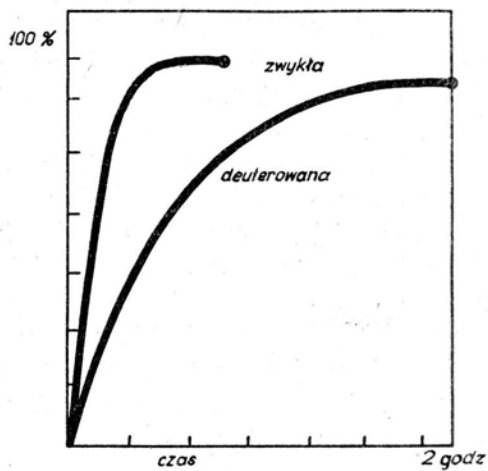
Dalszą dziedziną, w której znalazły zastosowanie izotopy promieniotwórcze jest ekologia roślin i pogranicze między tą dyscypliną a fizjologią. Stosuje się tutaj te same izotopy promieniotwórcze co w biochemii, z tą różnicą, że znaczy się całe rośliny, a następnie bada się, czy pyłek z radioaktywnej rośliny został przeniesiony na roślinę «zimną» lub czy kiełkowanie na znamionach pyłku pochodzącego z różnych roślin jest jednakowe. Na szerszą skalę zastosowano izotopy promieniotwórcze w badaniach nad zapłodnieniem roślin wiatropylnych.

W cytologii i anatomii roślin izotopy promieniotwórcze mają tylko ograniczone znaczenie; dotychczas jedyne zastosowanie to radioautografowanie niektórych elementów komórek. Natomiast na pograniczu cytologii i genetyki lub anatomii roślin i fizjologii wiele problemów można rozwiązać tylko za pomocą metody znaczonych substancji. Na przykład niezdolność do krzyżowania się dwu gatunków można łatwo stwierdzić używając do zapylenia pyłku znaczonego  $^{35}\text{S}$ . Po pewnym czasie bada się rozmieszczenie radioizotopu w słupku i na podstawie radioautogramów można bez błędu powiedzieć, czy dany pyłek kiełkuje na znamieniu, czy łagiewka rośnie i czy dochodzi do zapłodnienia i to wszystko może być wykonane przy obecności nieradioaktywnego pyłku własnego rośliny. Tak samo przewodzenie asymilatów w łodydze jest łatwiejsze do śledzenia przy stosowaniu izotopów.

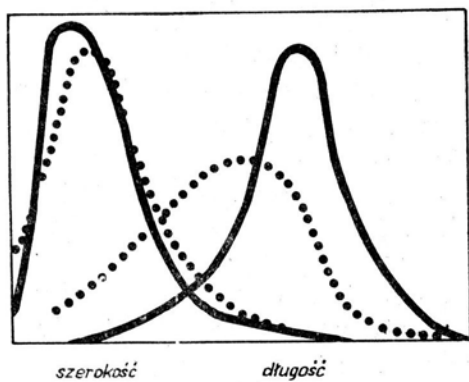
Dyscyplinami, które niespodzianie skorzystały ze znaczonych pierwiastków okazały się paleobotanika i archeologia. Na podstawie pomiaru natężenia można oznaczyć wiek szczątków roślinnych, zwłaszcza ze stosunkowo niedalekiej przeszłości. W tym celu oznacza się ubytek  $^{14}\text{C}$  w próbce. Zasada metody oparta jest na następujących stwierdzeniach: szybkość rozpadu izotopów promieniotwórczych jest niezależna od środowiska, na przykład węgiel 14 będzie się rozpadał w takim samym tempie w substancji organicznej zamrożonej czy też doprowadzony do bardzo wysokiej temperatury; nie można przyspieszyć ani opóźnić rozpadu ato-



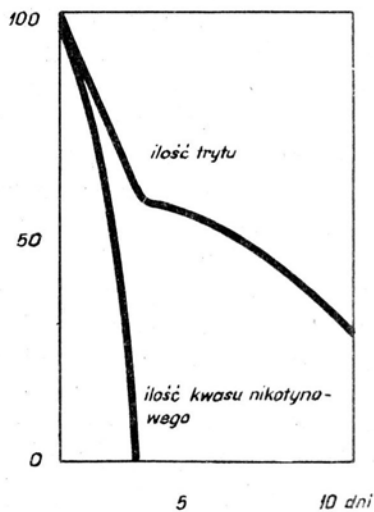
Wykres 1



Wykres 2



Wykres 3



Wykres 4

mów izotopu. Nawet przed nastaniem ery atomowej  $^{14}\text{C}$  powstawał w przyrodzie z  $^{14}\text{N}$  w wyniku bombardowania tego ostatniego promieniami kosmicznymi. Ponieważ nie ma podstaw do przypuszczenia, że natężenie promieniowania kosmicznego ulega zasadniczym zmianom, należy przyjąć, że procent atomów promieniotwórczych w naturalnej mieszaninie izotopów węgla jest stały. Ze stałości rozpadu i z faktu, że asymilacja węgla może odbywać się tylko w żywym organizmie wynika, iż w szczątkach roślinnych proporcja  $^{12}\text{C}$  i  $^{13}\text{C}$  do  $^{14}\text{C}$  będzie się zmieniała w miarę upływu czasu na korzyść obu zimnych izotopów. Jeżeli zatem 1 g węgla, wyizolowany z współcześnie żyjącego organizmu, będzie wykazywał promieniotwórczość równą 100, to 1 g węgla wyizolowany z organizmu zmarłego przed 5570 laty będzie wykazywał zaledwie połowę natężenia promieniotwórczości, a taka próba wyizolowana z organizmu żyjącego przed 11 tys. lat tylko jedną czwartą. Jednak zastosowanie węgla  $^{14}\text{C}$  ograniczone jest, jak można się łatwo domyśleć, do stosunkowo niedalekiej przeszłości.

Przy pomocy przedstawionej powyżej metody z trudem może być badany pleistocen. Dla badań nad wiekiem znalezisk starszych uciekać się musimy do innych izotopów i to zazwyczaj znajdujących się nie bezpośrednio w skamielinie, lecz w skale, w której ją znaleziono.

### Możliwość błędów w badaniach z zastosowaniem izotopów

O ile we współczesnych badaniach biochemicznych i fizjologicznych znaczone substancje w dużej mierze wyparły inne metody badań, to przyczyna leży przede wszystkim w tym, że wyniki otrzymane za pomocą izotopów są zazwyczaj nie-dwuznaczne. O ile zatem po podaniu niepromieniotwórczej substancji stwierdzimy przyrost innego związku, to wniosek może być dwojaki: podana substancja była prekursorem izolowanego związku lub też symulowała jego syntezę; natomiast jeżeli podano związek radioczynny i w izolowanej substancji znaleziono radioaktywne atomy, to wniosek jest jednoznaczny; podany związek jest prekursorem izolowanego. Bardzo wysoka promieniotwórczość izolowanego związku świadczy o bezpośrednim przekształceniu podanej substancji w izolowaną, natomiast niska radioaktywność może świadczyć bądź to o długiej drodze od związku podanego do izolowanego, albo o tym, że podany związek jest prekursorem wielu innych substancji.

Stosując izotopy można niemniej popełnić błędy. Przyczyny tych błędów są następujące: 1) efekt izotopowy; 2) promieniowanie jonizujące; 3) wymiana atomów.

Efekt izotopowy odgrywa szczególną rolę w badaniach nad metabolizmem wodoru i to zarówno w przypadku substancji znaczonej niepromieniotwórczym deuterem, jak i radioaktywnym trytem. Oba izotopy mają największy efekt izotopowy, gdyż ciężar atomowy D w stosunku do H wynosi aż 200%, a T nawet 300%; żaden inny izotop nie jest tyle razy cięższy od pospolitego (tab. 4).

Różnice w pewnych właściwościach ciężkiego izotopu sprawiają, że enzymy mogą katalizować nieco inaczej reakcje substancji niezaczonej, a inaczej zna-

zonych. Jak silny jest efekt izotopowy deuteru i trytu, najlepiej świadczą załączone wykresy. Drugą przyczyną błędnej interpretacji jest jonizujące promieniowanie izotopów promieniotwórczych. Pod jego wpływem niektóre właściwości protoplazmy zmieniają się do tego stopnia, że pewne reakcje przebiegają w nie-normalny sposób. Bardzo silne promieniowanie jonizujące uszkadza aparat produkujący enzymy i prowadzi do powstania mutacji. Rośliny wystawione na dzia-

TABELA 4

Właściwości fizyczne H<sub>2</sub>O i D<sub>2</sub>O

Właściwość	H <sub>2</sub> O	D <sub>2</sub> O
Temperatura topnienia	0	3,79
Temperatura wrzenia	100	101,41
Gęstość (g/cm <sup>3</sup> )	0,997074	1,10775
Temperatura maksymalnej gęstości	3,98	11,23

łanie bardzo silnego promieniowania jonizującego są często chimerami, to znaczy, że poszczególne tkanki czy komórki rośliny posiadają inne właściwości genetyczne; również metabolizm takich roślin może odbiegać od normy.

Z wyjątkiem doświadczeń, których celem badań jest efekt działania promieniowania jonizującego dawki znaczonych substancji powinny być jak najmniejsze, a czas doświadczenia stosunkowo krótki.

Ostatnią z podstawowych przyczyn błędnych interpretacji wyników jest wymiana atomów. Odnosi się to szczególnie do wodoru; niektóre wiązania atomu wodoru z innymi atomami są nietrwałe, w takich przypadkach wodór może odłączyć się od drobiny i przyłączyć na powrót do tej samej lub innej drobiny. O ile doświadczenie trwa długo, wymiana wodoru może sugerować inkorporację znaczonych substancji.

### Niebezpieczeństwo dla zdrowia

Dla większości osób, nie pracujących metodą izotopów radioczynnych, pojęcie «pierwiastki radioaktywne» kojarzy się z mutacjami wywołanymi wybuchami bomb atomowych nad Hiroszimą i Nagasaki. Ludzie ci rezygnują z fantastycznej wprost możliwości osiągnięcia wiarogodnych rezultatów, z obawy, że mogą nabawić się choroby nowotworowej lub spłodzić genetycznie upośledzone potomstwo. Jeżeli porównać rzadkie badania z wysokimi dawkami izotopów, to najczęściej operuje się ilościami nie większymi od tych, jakie bardzo wielu ludzi, nawet tych bojących się, ap'ikuje sobie bczwiednie nosząc zegarek z fosforyzującą tarczą lub siedząc godzinami przed ekranem telewizora. Pierwiastek najczęściej stosowany



w badaniach, mianowicie węgiel 14, ma tak niską energię promieniowania, że chroni nas przed nim kilkumilimetrowa warstwa powietrza, nie mówiąc już o szklanych ścianach naczyń laboratoryjnych. Główne niebezpieczeństwo węgla 14 polega na możliwości pobrania go do wnętrza organizmu. Jeżeli pobrany preparat znaczony węglem 14 był w takiej formie, która zostaje łatwo zasymilowana i podlega inkorporacji w tkankach organizmu ludzkiego, to niebezpieczeństwo jest rzeczywiście duże.

Mimo tej pewnej trudności ogólnie traktuje się substancje znaczony na równi z truciznami. Z jednej strony mała szkodliwość węgla 14, a z drugiej nieocenione wprost usługi, jakie oddaje on w badaniach spowodowały, że na Zachodzie wprowadzono ten pierwiastek nawet do planu ćwiczeń dla studentów I roku. Nie znaczy to jednak, żeby można lekceważyć przepisy bhp w tej dziedzinie. Większość krajów wprowadziła rygorystyczne przepisy normujące prace z izotopami; między innymi ograniczają one ustawowo czas pracy przy silnych źródłach promieniowania oraz nakazują one przeprowadzanie okresowych badań pracowników zarówno ich zdrowia, jak i znajomości zagadnienia ochrony. W wielu krajach, między innymi w Polsce, instytucja, która przystępuje do stosowania izotopów musi mieć zezwolenie specjalnego organu, który bada stan wyposażenia pracowni i znajomość przepisów w tej dziedzinie.

#### LITERATURA

- Batersbay A. R., 1961. Biosynthesis of Alkaloids. *Quarterly Review*. XV. 254—286.
- Bielikow I. F., 1958. Przemieszczanie asymilatów w blaszce liściowej soi. *Dokl. Akad. Nauk ZSRR*. 120. 904—906.
- Böttcher F., Samsonowa J., 1961. Förderung des Pollenschlauchwachstums bei Kreuzungsinkompatibilität durch Bestäubung mit Pollengemischen. *Naturwissenschaften* 48. 461.
- van Die J., 1961. Synthesis and Translocation of Glutamine and related substances in Tomato. *Proceedings Biol. a. Med. Sc. (Holand)* LXIV. 375.
- Gates M., 1962. *The Biogenesis of Natural Substances*. Interscience Press.
- Gross P. R., Hartwig C. V., 1961. Blokade of DNA-synthesis by D-oxide. *Science* 133. 1131.
- Katz J. J. 1960. Chemical and Biological Studies with Deuterium. *Americ. Scient.* 48, 546—580.
- Kosicki G. W., Srere P. A., 1961. Deuterium Isotope Effect with Citrate Condensing Enzyme *J. Biol. Chem.* 236, 2566—2570.
- Kursanow A. L., Browczenko M. I., Paryskaja A. N. 1959 Odplyw asymilatów do tkanek przewodzących liścia rabarbaru. *Rheum rhapsodicum*. *Fizjol. Rast.* 6. 527—536.
- Lee C. C., 1961. Effect of Plant Nutrients on Uptake of Radiostrontium. *Science* 133. 1921.
- Libby W. F., 1961. Radiokohlenstoffdatierung. *Angewandte Chemie*. 73. 225.
- Libby W. F., 1961. Radiocarbonium Dating. *Science* 133. 621.
- Nelson C. D., Krotkov G., 1962. Preparing Whole Leaf Radioautographs for Studying Translocations; *Plant Physiol.* 37. 27—30.
- Ordin L., Garion S., 1961. Difusion of Triticated Water into Roots. *Plant Physiol.* 36. 311—335.
- Pajarc G., Desio V., 1961. Effecti isotopici nella polimerazione di etilene, propilene e stirolo marcati con <sup>14</sup>C. *Gazzeta Chimica Italiana* 91, 880—888.
- Rudorf W., 1961. Über die Mutagene Wirkung von <sup>35</sup>S bei *Phaseolus vulgaris*. *Z-scht f. Pfl-züch.* 45, 69—90.

- Simon H., 1961. Tritium in der Organischen Chemie. *Angewandte Chemie*. **73**, s. 481—488.
- Schütte H. R., Nowacki E., 1959. Biosynthese der Lupinenalkaloide  $^{14}\text{C}$ . *Naturwissenschaften* **46**, 493.
- Tyler V. E. jr., 1960. The Non-Isotopic Precursor Feeding Technique in Study of Alkaloid Biosynthesis. *Lloydia* **23**, 51—62.
- Waller G. R., Henderson L. M., 1961. Biosynthesis of Pyridine Ring of Ricinine. *J. Biol. Chem.* **236**, 1186—1191.
- Wanner H., Bachoffen R., 1961. Transport und Verteilung von Markierten Assimilaten. *Planta* **57**, 531—543.
- Williams N. D., Scully N. J., 1961. Somatic Flower Color Variation and Morphological Changes induced by  $^{14}\text{C}$  in *Antherinium majus*. *Genetics*. **46**, 959—971.
- Radioisotope Experiments for the Chemistry Curriculum. 1960. Nuclear — Chicago Corporation. *Praca zbiorowa*.