

EDMUND NOWACKI

SUBSTANCJE SWOISTE DZIEDZICZNOŚĆ I ŚRODOWISKO

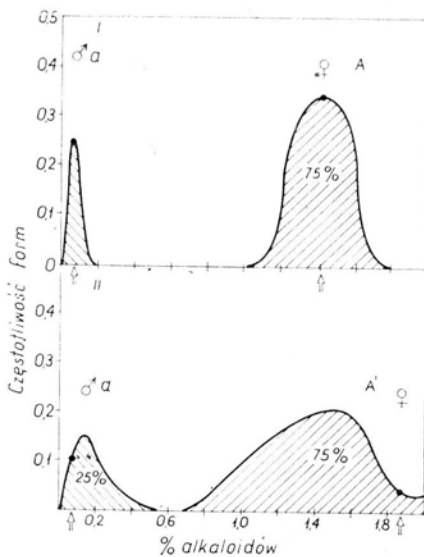
Wiele roślin zawiera w swoich tkankach, obok pospolicie występujących węglowodanów, aminokwasów i białek oraz wielu innych substancji charakterystycznych dla wszystkich istot żywych, również substancje im tylko właściwe. Do grupy substancji swoistych należą więc wszystkie związki chemiczne, które występują tylko w określonych gatunkach, rodzajach, czy też w większych jednostkach taksonomicznych. Z punktu widzenia chemii są to alkaloidy, nietypowe aminokwasy, aminy, antocyjany, betacyjany, fenole, flawony, glukozydy cyjanogenne, pterokarpany, saponiny, tioglukozydy i cała gama innych substancji. Wiele tych związków ma poważne znaczenie gospodarcze, powodują bowiem charakterystyczny smak i zapach takich przypraw, jak pieprz, papryka, gałka muszkatołowa, goździki, czy cynamon; inne z kolei nadają orzeźwiającyce właściwości takim napojom jak herbata, kawa, coca cola, czy nie znana u nas herwa. Wiele substancji swoistych, to potężne trucizny, lub lekarstwa. Nic więc dziwnego, że botanicy, biochemicy, farmaceuci i przemysł spożywczy zainteresowani są poznaniem przyczyn, dlaczego jeden surowiec jest dobry, a drugi zły.

Dwa decydujące czynniki wpływają na nagromadzenie substancji swoistych; pierwszym jest dziedziczność, drugim środowisko. Rozdzielenie ról jest, za wyjątkiem nielicznych przypadków, dość trudne.

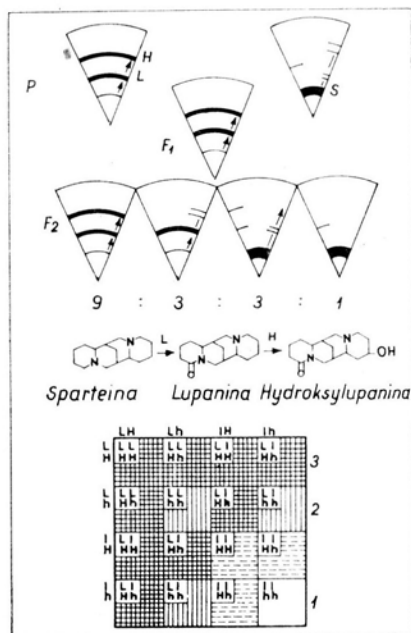
Dziedziczenie

Przykładów dziedziczenia określonej substancji jest już dość dużo. Najlepiej poznane jest dziedziczenie zawartości alkaloidów w łubinie i tytoniu [8—11, 13, 17, 30], nieco słabiej maku. Dość szczegółowo poznano dziedziczenie zawartości związków cyjanogennych w komonicy, koniczynie i sorgu [2, 4]. Wstępne badania przeprowadzono na saponinach rodzaju *Medicago* [6], (ryc. 1—7).

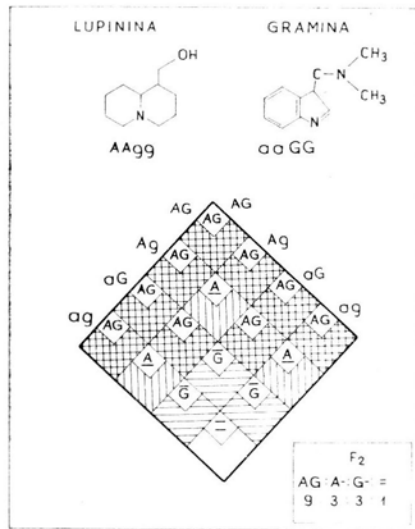
Aby można było rozpocząć badania dziedziczenia, najpierw należy stwierdzić zmienność określonej cechy, tj. znaleźć formy akumulujące jakąś substancję lub jej nie nagromadzające. Jeżeli nie można znaleźć form zupełnie pozbawionych charakterystycznego związku, wówczas trzeba się zadowolić formami o obniżonej zawartości. Założenie do podjęcia takich poszukiwań jest następujące — skoro substancje



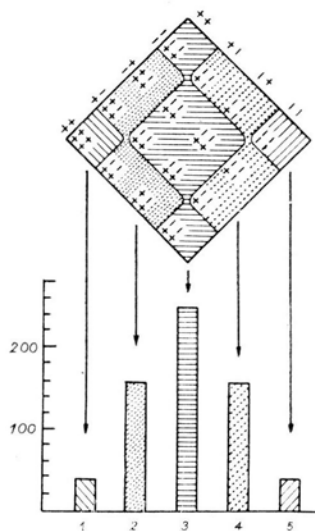
Rys. 1. Dziedziczenie zawartości alkaloidów w różnych krzyżówkach łubinu żółtego. I — krzyżówka gorzkiej — *A* i słodkiej — *a* odmiany z Przebódowa. II — forma słodka, ta sama co w I. Forma gorzka — *A'* *Lupinus jugoslavicus* — dzika ozima forma łubinu białego. Strzałki oznaczają zawartość alkaloidów w formach wziętych do krzyżówek



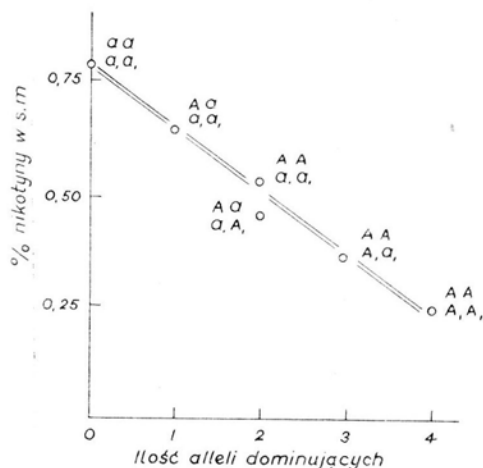
Ryc. 2. Dziedziczenie zdolności do przekształcania sparteiny w lupaninę i hydroksylupaninę w międzygatunkowej krzyżówce *Lupinus arboreus* × *L. polyphyllus*. *L* — zdolność przekształcania sparteiny do lupaniny, *H* — przekształcanie lupaniny w hydroksylupaninę. Nowacki, Nowacka 1966 [17]



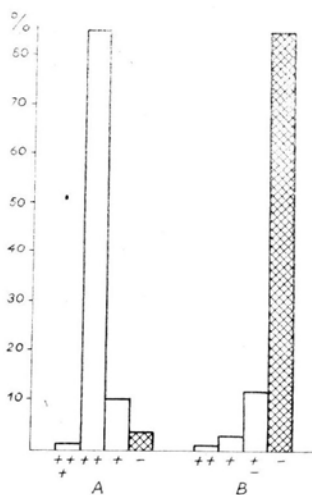
Ryc. 3. Dziedziczenie alkaloidów w krzyżówce łubinu żółtego. *AAgg* — łubin gorzki nagromadzający duże ilości alkaloidów chinolizydynowych, *aaGG* — łubin słodki nagromadzający graminę. Wg Nowacki i współpr. 1975 [21]



Ryc. 4. Tetrasomiczne dziedziczenie, każdy allel z dwóch par kumulatywnie zwiększa ilość substancji. Przykład obserwowany w krzyżówkach wysoko i niskoalkaloidowych, tytoniu (allele dominujące powodują spadek zawartości nikotyny), łubinu żółtego ze sparteiną i lupininą (allele dominujące powodują przekształcanie lupininy do sparteiny), lucerny siewnej × lucerna sierpowata (allele dominujące powodują nagromadzanie kwasu medikagenowego)

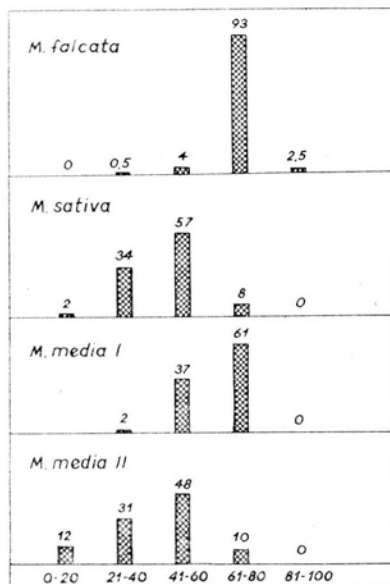


Ryc. 5. Wpływ ilości dominujących alleli A na rozkład nikotyny w tytoniu. Koelle 1965 [9]



Ryc. 6. Częstotliwość występowania form beczyjanogennych w: A — krajowych populacjach kononicy, B — kononicy białej. Zakratkowane słupki oznaczają procent roślin beczyjanogennych. Rośliny o różnym stopniu cyjanogenności zaznaczono +. H. Blaim i współpr. 1972 [2]

swoiste występują tylko w określonej jednostce taksonomicznej, reszta roślin zupełnie dobrze rozwija się bez nich, więc ich obecność nie jest warunkiem *sine qua non* dla funkcjonowania rośliny. Analizy setek i tysięcy osobników w populacjach wykazały, że istnieje poważny polimorfizm biochemiczny. Częstotliwość występowania osobników pozbawionych jakiejś charakterystycznej substancji może się wahać od kilkudziesięciu procent do jednego na milion. Różnice mogą występować nawet w sąsiadujących populacjach. Dla przykładu na Hali Chochołowskiej białe krokusy są tak nieliczne, że populację tę można uznać za wolną od form bezant-



Ryc. 7. Występowanie form o różnej zawartości saponin w czterech populacjach lucerny. Rośliny podzielono na klasy 0—20 — najniższa zawartość saponin, 81—100 — najwyższa. Media I — rośliny o cechach mieszańcowych, Media II — rośliny o cechach lucerny siewnej wyselekcjonowane z populacji mieszańcowej. Wg Jurzysty, Nowaczy 1973 [6]

cyjanowych, natomiast w Kirach procent białych, wolnych od antocyjanów kwiatów jest duży i w niektórych subpopulacjach dochodzi do 30. Analiza obecności lub braku antocyjanu jest prosta, trudniejsze są jednak badania obecności substancji niezauważalnych bez analiz chemicznych. Dla tego celu należy opracować prostą metodę, umożliwiającą odróżnienie formy zawierającej dany związek od osobnika bez niego [22].

Pionierskie badania, których celem było znalezienie łubinu bez alkaloidów przeprowadził przed 46 laty von Sengbusch [30].

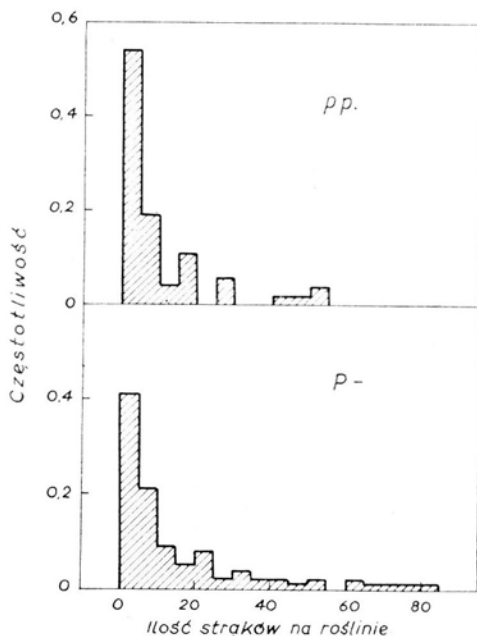
Wiele rolniczo ważnych roślin zawiera pewne ilości substancji szkodliwych, stąd bardzo istotne jest poszukiwanie prostych testów dla izolacji osobników bez takich substancji. Gdy już znaleziono roślinę pozbawioną określonego związku, należy w dalszej kolejności stwierdzić, czy jej potomstwo jest również wolne od niego. W przypadku pozytywnym wykonuje się krzyżówkę i analizuje potomstwo. Zazwyczaj dobrze przeprowadzona analiza F_1 i F_2 wystarcza do określenia sposobu dziedziczenia. Najpospolitszym rezultatem jest dziedziczenie 3 : 1, względnie 1 : 2 : 1 z dominującą obecnością substancji swoistej; w niektórych przypadkach wśród roślin zawierających analizowany związek, można odróżnić dominujące homozygoty od heterozygot.

Często, szczególnie gdy wzięte do badań formy pochodzą z różnych odległych populacji, nawet podgatunków, analiza dziedziczenia robi wrażenie bardziej skomplikowanej (rys. 1); spowodowane jest to znaczną ilością genów modyfikujących, np. u wielu roślin liście są bogatsze w alkaloidy aniżeli łodygi; gen zmienia-

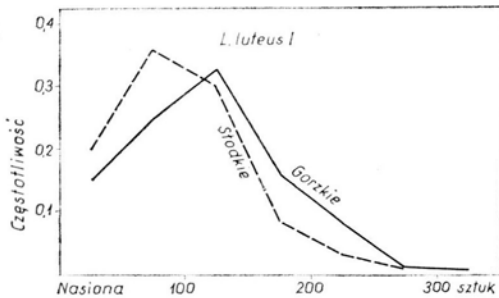
jący stosunek liści do łądy będzie wpływał na procent alkaloidów w suchej masie. Nieliczne są przypadki, że brak określonej substancji jest cechą dominującą. Szczegółowa analiza takich krzyżówek wykazuje, że formy dominujące, pozbawione danej substancji, w rzeczywistości ją syntezują i to często z dużą wydajnością, jednak następuje bardzo szybko degradacja. Przypadek taki został opisany dla tytoniu [9].

Proste testy analityczne zawodzą jednak z chwilą, gdy chcemy analizować syntezę jakiegoś wybranego związku, występującego w towarzystwie substancji dających podobną lub identyczną reakcję testową. W takim razie musimy uciec się do prostych, ale już bardziej pracochłonnych analiz chromatograficznych [22]. Analiza dziedziczenia takich indywidualów chemicznych, podobnie jak wymieniona już analiza zdolności do produkcji jakiejś grupy substancji z reguły daje podobne rezultaty, tzn. obserwuje się dziedziczenie zgodne z regułami Mendla (szczegóły w artykule: E. Nowacki, *Dziedziczenie cech biochemicznych*, Post. Nauk roln. 2/98/, 1966).

W świetle wyników dziedziczenia, które wykazują mendlowską segregację, zastanawiający jest niski udział form recesywnych w populacji. Mutacje powstają w każdym pokoleniu, powinny się więc nagromadzać, przy 50% genów recesywnych populacja roślin obcopylnych powinna, zgodnie z prawem Hardy-Weinberga zawierać około 25% recesywnych homozygot. Doświadczenia (Harding 1970[5], Nowacki, Kazimierski 1971 [7, 19]) wykazują, że prawie wszystkie formy pozbawione jakiegoś typowego dla gatunku związku, wydają mniej nasion (rys. 8, 9).



Ryc. 8. Zawiązywanie strąków przez rośliny *Lupinus nanus*. pp — recesywna różowa homozygota, P — dominujące niebieskie homo i heterozygoty, średnia dla trzech naturalnych populacji, (Spanish Flat A:B Lower Putah) w Kalifornii. Więcej strąków produkują rośliny niebieskie. Wg J. Harding 1970 [5]



Ryc. 9. Produkcja nasion przez słodkie i gorzkie segreganty łąbinu żółtego. Rośliny homozygotyczne niskoalkaloidowe produkują mniej nasion. Kazimierski, Nowacki 1971 [7]

Droga biosyntezy każdej prawie substancji swoistej jest wieloetapowa, przerwanie syntezy w różnych miejscach może dać fenotypowo identyczne wyniki — sytuacja taka znana jest zarówno w dziedziczeniu antocyjanu u pachnącego groszku, jak i alkaloidów w łąbinach. Gdy w populacji znajdują się dwa różne geny warunkujące przerwanie biosyntezy, wtedy w wyniku krzyżówek między tymi typami otrzymuje się formy dominujące. O ile heterozygota ma taką samą zdolność do reprodukcji, jak dominująca homozygota, zmutowane geny mogą się nagromadzać w populacji, ujawniając się sporadycznie.

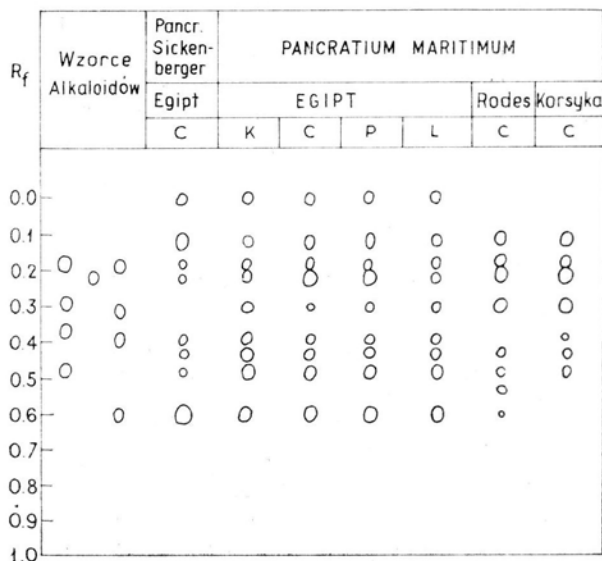
Obserwując populacje łąbinów w zachodnich stanach USA, widziałem wielohektarowe populacje, w których tylko kilka roślin miało kwiaty inne od niebieskich — różowe lub białe. Zebrane z naturalnych stanowisk, masowo rozmnożone w Polsce, wydawały dość duży procent roślin o recesywnym kolorze kwiatów. Likwidacja konkurencji w uprawie, samozapylenie i rozwój prawie wszystkich roślin umożliwił ujawnienie się osobników recesywnych. Podobny przypadek — to wymienione już populacje krokusów. Populacja na Hali Chochołowskiej jest stałą i istnieje od dawna; ilość roślin kwitnących jest co roku prawie taka sama. Populacja w Kirach jest nowa, krokusy rosną na łące, na której poprzednio zostały wyniszczone; z roku na rok zwiększa się ilość osobników, w tej sytuacji i formy recesywne mają szansę.

Środowisko

Nie trzeba być biochemikiem aby stwierdzić, że cynamon z Indii i Malajów ma inny zapach, ale czym to jest spowodowane? Przeprowadzono bardzo dużo prac, analizując skład chemiczny roślin rosnących w różnych warunkach i stwierdzono, że zależnie od klimatu, rodzaju gleby itp. czynników środowiskowych, rośliny mają inny skład chemiczny. Bardzo często jednak badano genetycznie niejednorodny materiał. Często były to formy, które nawet po przeniesieniu w identyczne warunki, miały różną zawartość interesujących badacza substancji [33]. Co więcej — zdarzały się przypadki, że rośliny wyrosłe z tej samej partii nasion, rozesełanej do kilku miejsc, w pierwszym roku miały skład chemiczny podobny, a po paru latach zaczęły

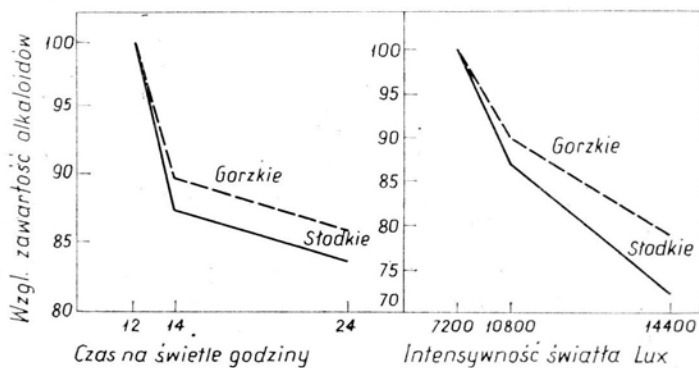
się różnić. Efekt ten obserwuje się, gdy populacja jest biochemicznie niejednorodna i kolejne pokolenia podlegają w każdym miejscu innej presji selekcyjnej (ryc. 10).

Wiele czynników środowiskowych zostało już poznanych; dla tego celu bardzo przydatne okazały się badania w pełni lub częściowo kontrolowanych warunkach, a więc w fitotronach i w wazonach. Dla wielu substancji znana jest rola światła



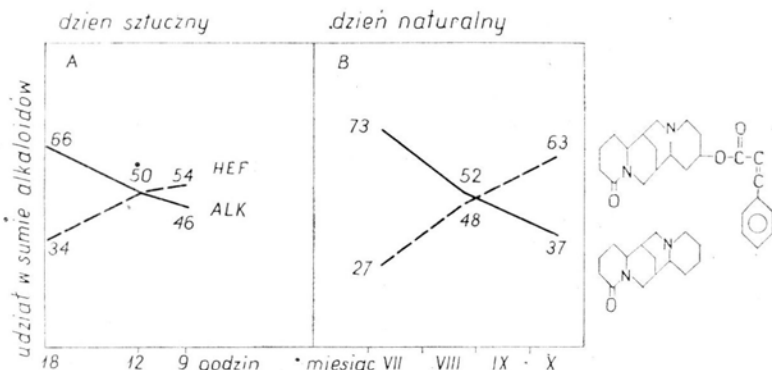
Ryc. 10. Obraz chromatograficzny *Pancreatium* z różnych stanowisk we wschodniej części Morza Śródziemnego. C — cebulki, K — korzenie, P — pędy, L — liście. Sandberg 1961 [33]

[3, 20], (ryc. 11, 12), zasobność gleby w azot, potas i inne pierwiastki nawozowe (ryc. 13). Bardzo znaczną rolę odgrywa nawożenie azotem. Skład chemiczny roślin ulega bardzo poważnym zmianom [16, 18]. W doświadczenia, nawet w warunkach hal wegetacyjnych, a zdarza się, że i do fitotronów wkradają się jednak czynniki niekontrolowane. Jednym z czynników niekontrolowanych, który łatwo może

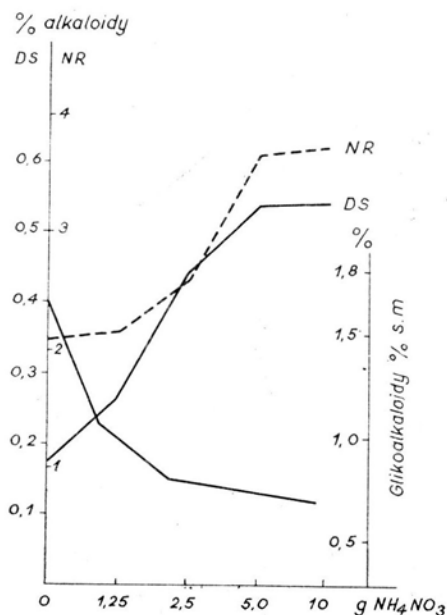


Ryc. 11. Wpływ czasu ekspozycji na światło (po lewej) i intensywności światła (po prawej) na zawartość alkaloidów w łubinie żółtym. Byszewski 1960 [3]

ujść uwadze przeprowadzającego badania, są porażenia przez choroby, ale w stopniu nie rzucającym się w oczy.



Ryc. 12. Wpływ długości ekspozycji na światło na zestaw alkaloidów w gorzkim łubinie wąskolistnym. Po lewej — długość dnia regulowana przez zasłanianie, po prawej — przez termin wysiewu. *Alk* — alkaloidy nie związane — lupanina, hydroksylupanina i angustifolina. *HeF* — frakcje estrów hydroksylupaniny, wzory estru cynamonyloksylupaniny i lupaniny. Wg Nowacki i współpr. 1973 [20]

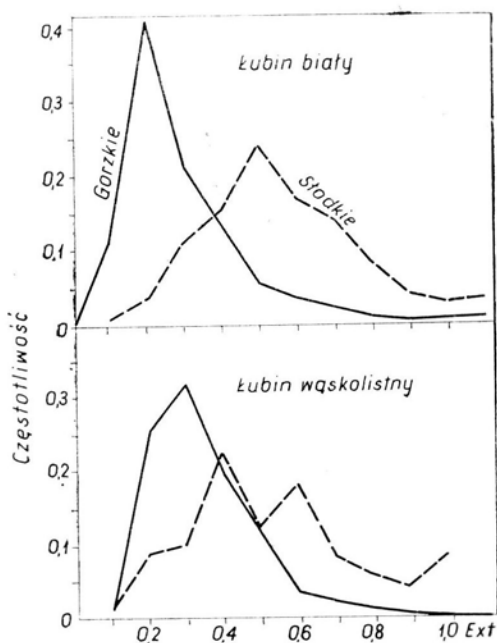


Ryc. 13. Wpływ nawożenia azotem na akumulację alkaloidów przez różne rośliny psiankowate. *NR* — *Nicotiana rustica*, *DS* — *Datura stramonium* oraz glikoalkaloidy w naci ziemniaczanej. Wg Nowacki i Jurzysta 1975 [16]

Alkaloidy — arginina. Przykład szczególny

Jednym z lepszych przykładów zadziałania niekontrolowanego czynnika, może być ujemna korelacja w zawartości alkaloidów i argininy w łubinie. W 1959 i 1960 r. Przybylska opublikowała kilka prac [25—28], z których wynikało, że zawartość

argininy w nasionach łubinu jest tym wyższa, im mniej zawierają one alkaloidów. Pierwszym odruchowym stwierdzeniem byłoby, że skoro w wyniku mutacji obniżającej syntezę alkaloidów, nagromadza się arginina, to jest ona prekursorem alkaloidów. Hipoteza ta była jednak nie do przyjęcia, gdyż w tym czasie udowodniono doświadczalnie hipotezy Schöpfa [31] i Robinsona [29], że alkaloidy łubinowe powstają z lizyny [32]. Przeprowadzono jednak doświadczenia z podawaniem roślinom znakowanej argininy [23]; jak było do przewidzenia — wyizolowane alkaloidy nie były radioaktywne. Analizy roślin przeprowadzone w innych laboratoriach, nie potwierdziły zaobserwowanej przez Przybylską zależności [1]. Powtórne przebadanie rezerw materiałów, które analizowała Przybylska, w dużej mierze potwierdziło jej wyniki, tzn., im jakaś próbka nasion miała mniej alkaloidów, tym zawierała więcej argininy [14, 15], (ryc. 14). Istniały więc dwie możliwości: 1) ponieważ zarówno alkaloidy, jak i arginina są silnymi zasadami i w soku komórko-



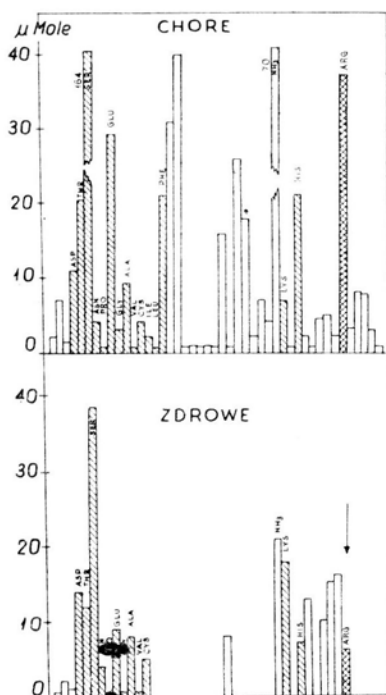
Ryc. 14. Częstotliwość występowania form o różnej zawartości wolnej argininy w nasionach w populacjach mieszańcowych łubinu białego i wąskolistnego. Ext 0—1,0 oznacza wzrastającą zawartość argininy. Nowacki 1969 [15]

wym są neutralizowane przez kwasy organiczne; synteza argininy mogłaby być syntezą substancji zastępczej, neutralizującej kwasy organiczne; 2) z biochemii kręgowców jest wiadome, że lizyna jest inhibitorem arginazy, a więc nadmiar lizyny hamuje rozkład argininy. Niewykorzystana do syntezy alkaloidów lizyna, powodowałaby nagromadzanie się argininy. Analiza pojedynczych roślin wykazała, że większość osobników gorzkich zawierała mniej argininy niż osobniki nieskoalkaloidowe (słodkie), zdarzały się jednak i takie, które miały zarówno dużo alkaloidów, jak i argininy, jak również takie, które były nieskoalkaloidowe i miały tak mało argi-

niny, jak formy gorzkie; możliwa stała się więc jeszcze jedna interpretacja: niskoalkaloidowy mutant był jednocześnie rośliną wysokoargininową. Obydwa geny znajdowały się na tym samym chromosomie, analizując rośliny F_2 i F_3 stwierdzono by u większości roślin rozszczepienie: wysokoargininowe i słodkie i niskoargininowe i gorzkie z pewną liczbą segregantów powstałych w wyniku „crossing over”. Analizy zdawały się potwierdzać trzecią hipotezę. Wtedy jednak pojawiły się dane, umożliwiające stworzenie jeszcze jednej hipotezy. Mianowicie — na polach Przebędowa w ciepłe lata na niskoalkaloidowych łubinach zaczęła pojawiać się mszyca grochowa. Jak wykazały to badania Krzymańskiej (12), mszyca ta — *Acyrtosiphon pisi* w przeciwieństwie do swej krewniaczki *A. sarothamii*, nie rozwija się na roślinach zawierających alkaloidy. *A. pisi*, podobnie jak wiele innych mszyc, przenosi wirusy. Rośliny słodkie były więc w dużym stopniu zawirusowane.

Doświadczenia przeprowadzone w fitotronie ze sztuczną inokulacją zarówno gorzkich, jak i słodkich łubinów wykazały, że zakażenie zwiększa zawartość wolnych aminokwasów w tkance, w tym bardzo silnie wzrasta zawartość argininy [24]. Rośliny późno zainfekowane wytwarzają dość dużo nasion, nasiona te są bardzo bogate w argininę (Ryc. 15).

Po czterem latach wyjaśniono więc, co było przyczyną nagromadzenia się znacznych ilości argininy w nasionach słodkiego łubinu. Wynik ten powinien być



Ryc. 15. Zawartość wolnych aminokwasów w ekstraktach ze zdrowego i porażonego przez wirusy łubinu żółtego. Słupki zakreskowane — znane aminokwasy, słupki puste — niezidentyfikowane substancje reagujące z ninhydryną, zakratkowane — arginina. Nowacki i Waller 1973 [24]

ostrzeżeniem dla biochemików i farmaceutów, wykazuje on bowiem, jak łatwo konstruuje się hipotezy i jak trudno wyeliminować niezaplanowany czynnik środowiskowy w badaniach.

I.U.N.G., Zakład Biochemii i Fizjologii Żywnienia Roślin, 24—100 Puławy

LITERATURA

- [1] Birecka H., Nalborczyk E., 1965. *Investigation on the Basic aminoacids as Possible Alkaloid Precursors in Lupinus angustifolius*. Abh. Deutsch. Akd. Wiss. Kl. Chem. **3**, 237—249.
- [2] Blaim H., Jurzysta M., Nowacki E., 1972. *Polimorfizm biochemiczny w populacjach roślin uprawnych*. Biul. Branż. Hod. Rośl. i Nas. **3(36)**, 7—12.
- [3] Byszewski W., 1960. *Wpływ wody i światła na wzrost roślin oraz alkaloidów w lubinie żółtym*. Cz. II. Wpływ światła. Hod. Rośl. i Aklim. i Nasien. **4**, 69—89.
- [4] Dady H., 1954. *Gene frequencies in wild populations of Trifolium repens*. Heredity **8**, 61—78.
- [5] Harding J., 1970. *The Selective disadvantage of the Pink Flower Color mutant in Lupinus nanus*. Evolution **24**, 120—127.
- [6] Jurzysta M., Nowacka D., Nowacki E., 1973. *Inheritance of the level of substances inhibiting Trichoderma viridis development in local populations of Alfalfa*. Genet. Polon. **14**, 365—373.
- [7] Kazimierski T., Nowacki R., 1971. *Selective value of Dulcis gene in hybrid and mixed population of yellow lupine*. Genet. Polon. **12**, 347—358.
- [8] Koelle G., 1961. *Die Vererbung des Nikotingehaltes beim Tabak*. Züchter **31**, 346—355.
- [9] Koelle G., 1965. *Der Genodosiseffekt beim Nikotinabbau des Tabaks*. Züchter **31**, 222—228.
- [10] Koelle G., 1966. *Genetische Analyse des Nikotingehaltes*. Abh. Deutsch. Akad. Wiss. Kl. Chem. **3**, 179—180.
- [11] Koelle G., 1972. *Versuch einer matematischen Formulierung der Beziehung zwischen dem Nikotinhalt in Tabakblättern und beeinflussenden Faktoren*. Abh. Deutsch. Akad. Wiss. Kl. Chem. **71**, 217—219.
- [12] Krzymańska J., 1967. *Rola alkaloidów w odporności niektórych odmian lubinu na mszycę grochową (Acyrtosiphon pisi)*. Biul. Inst. Ochr. Rośl. **36**, 237—247.
- [13] Mikołajczyk J., Nowacki E., 1961. *Inheritance of alkaloid content in White lupin (L. albus)*. Genet. Polon. **2**, 55—64.
- [14] Nowacki E., 1969. *Some negative correlations in biochemical characters inheritance*. Genet. Polon. **10**, 76—81.
- [15] Nowacki E., 1969. *Untersuchungen über die negative Alkaloid-Arginine, Korrelation und ihre Bedeutung für die Korn futterlupinenzüchtung*. Z. Pflanzenzüchtg. **61**, 232—243.
- [16] Nowacki E., Jurzysta M., Górski P., 1975. *Effect of Availability of Nitrogen on Alkaloid Synthesis in Solanaceae*. Bull. Polon. Acad. Sci. ser Sci. biol. **23**, 219—225.
- [17] Nowacki E., Nowacka D., 1966. *Über die Mitwirkung des Alkaloidarmen Sprosses bei der Ausbildung des Alkaloidspektrum in Lupinen. Metabolische Ähnlichkeit nach Propfung und Kreuzung*. Flora A. **156**, 457—463.
- [18] Nowacki E., Jurzysta M., Górski P., Nowacka D., Waller G. R., 1976. *Effect of nitrogen nutrition on alkaloid metabolism in plant*. Bioch. u. Phys. Pfl. **169**, 231—240.
- [19] Nowacki E., Kazimierski T., 1971. *Selective Disadvantage of some Biochemical Mutations in the Genus Lupinus*. Z. Pflanzenzüchtg. **66**, 249—259.
- [20] Nowacki E., Kazimierski T., Golankiewicz K., Dezor-Mazur M., Boczoń W., 1973. *Wpływ światła na syntezę alkaloidów w lubinie wąskolistnym. I. Akumulacja alkaloidów*. Acta Agrobot. **26**, 123—138.
- [21] Nowacki E., Nowacka D., Rudnicka A., 1975. *Gramina w lubinie żółtym*. Biul. Branż. Hod. Rośl. i Nas. **5(75)**.

- [22] Nowacki E., Nowacka D., Weznikas Th., 1972. *Metody ilościowego i jakościowego oznaczania alkaloidów lubinowych przystosowane do badań genetycznych*. Hod. Rośl. Aklim. i Nasion. **16**, 59—76.
- [23] Nowacki E., Przybylska J., 1962. *The Inutility of Arginine ¹⁴C in Biosynthesis of Lupine Alkaloids*. Bull. Acad. Polon. Sci. ser. sci. biol. **10**, 1—2.
- [24] Nowacki E., Waller G. R., 1973. *Free arginine content of healthy and virus infected Leguminous plants*. Bull. Acad. Polon. Sci. ser. sci. biol. **20**, 459—463.
- [25] Przybylska J., 1959. *Free Arginine in bitter and non bitter seeds of blue and white lupine*. Bull. Acad. Polon. Sci. ser. sci. biol. **7**, 359—362.
- [26] Przybylska J., 1960. *Form of organic Nitrogen and their changeability in certain species and varieties of Lupin*. Genet. Polon. **1**, 145—173.
- [27] Przybylska J., Hurich J., 1960. *Free amino acids in seeds of some Leguminous plants*. Bull. Akad. Polon. Sci. ser. sci. biol. **8**, 505—508.
- [28] Przybylska J., Hurich J., 1962. *Free amino acids in bitter and non bitter varieties of Lupinus angustifolius during the growing season*. Genet. Polon. **3**, 87—109.
- [29] Robinson R., 1955. *The structural relations of natural products*. Oxford.
- [30] Sengbusch v. R., 1934. *Geschichte der Süßlupine*. Naturwiss. **22**, 17—18.
- [31] Schöpt C., 1937. *Die Synthese von Naturstoffen in besonderen von Alkaloiden unter physiologischen Bedingungen*. Angew. Chem. **50**, 779—797.
- [32] Schütte H. R., Nowacki E., 1959. *Biosynthese der Lupinenalkaloid*. Naturwiss. **46**, 493.
- [33] Sandberg F., 1961. *Phytochemical and Pharmacological Studies on Some Alkaloidal Plants of Egypt*. Intern. Symp. Plant Res. **4**, 280—293.