F. MAJEWSKI
(Zakład Fizjologji Roślin Szkoły Głównej Gosp. Wiejsk.)

SYNTEZA ORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW FOSFOROWYCH W ROŚLINIE.

(*wpłynęło 24.VIII. 1936*).

Wstęp i przegląd literatury.

Pobieranie kwasu fosforowego odbywa się, jak wiemy z wielu prac (9, 13, 18, 22, 26, 37, 40, 88, 89, 95), szczególnie intensywnie w pierwszym okresie rozwoju rośliny; w późniejszym okresie, poczynając od kwitnienia, pobieranie jest mniejsze, trwa ono jednak dalej i ustaje zupełnie dopiero na krótko przed dojrzeniem. Okres wytwarzania i dojrzewania nasion wyróżnia się nietylko zmniejszoną absorbcją fosforu z gleby, lecz i bardzo szybkim jego ubytkiem w częściach wegetatywnych przy równoczesnem nagromadzaniu dużych ilości tego składnika w nasionach. Przenoszenie fosforu z części wegetatywnych do nasion jest tak duże, że w dojrzałych nasionach znajduje się przeważająca część ogólnej ilości fosforu, pobranego przez roślinę.

Jednocześnie z procesem gromadzenia fosforu w nasionach występuje energiczne powstawanie związków fosforowych organicznych kosztem związków mineralnych. Zbadaniem tych przemian zajmowano się już oddawna. Dotychczasowe badania polegały jednak przeważnie na oznaczeniach poszczególnych związków fosforu w różnych stadjach rozwoju roślin. Balicka-Iwanowska (9), Staniszkis (89), Jegorow (13), Seidler (88), a w nowszym czasie Burgevin i Guyon (18), Knowles i Watkin (40), De Turk, Holbert i Howk

(23) stwierdzili na zasadzie wyników analiz różnych roślin, przeprowadzonych w kilku lub kilkunastu okresach ich rozwoju, zasadnicze zmiany w ilościach poszczególnych związków fosforowych: poczynając od pewnego okresu, następuje stopniowe zmniejszanie się ilości fosforu mineralnego w częściach wegetatywnych i szybki wzrost zawartości związków fosforowych organicznych, przedewszystkiem rozpuszczalnych, w tworzących się ziarnach.

W przeciwieństwie do procesów syntetycznych, zachodzących podczas dojrzewania, przemiana związków fosforowych w czasie kiełkowania i w okresie początkowym rozwoju, jak to wykazali Iwanow (34), Zaleski (101), Klein (39), De Turk, Holbert i Howk (23) charakteryzuje się rozpadem połączeń organicznych, uwalnianiem fosforu mineralnego, który może być łatwo przenoszony i zużytkowany w powstających nowych organach.

Badania powyższe miały tę zaletę, że pozwoliły ilościowo ocenić zawartość związków fosforowych każdej grupy w różnych okresach rozwoju w całej roślinie, bądź też w oddzielnych jej częściach; nie mogły one jednak wyjaśnić procesów, zachodzących podczas syntezy organicznych związków fosforowych, nieznana była również rola prostych związków organicznych w procesie syntezy związków bardziej złożonych. Ciekawą próbą wyjaśnienia kolejności powstawania związków fosforowych była pierwsza część pracy Balickiej-Iwanowskiej, gdzie przedstawione są wyniki doświadczeń nad żywieniem się roślin na pożywkach zmienianych, najpierw zawierających fosfór, a potem pozbawionych fosforu lub też odwrotnie. Doświadczenia nie dały odpowiedzi na pytanie, który ze związków fosforowych tworzy się najpierw, bo wszędzie, po dostarczeniu fosforu do pożywki, otrzymywano prawie równoczesne zwiększenie ilości wszystkich oznaczanych związków organicznych, t. j. fosforu białkowego, organicznego rozpuszczalnego i lecytynowego.

Aby uzyskać podstawy do zrozumienia przemian związków fosforowych, należy przedtem zapoznać się z danemi o własnościach, roli i metodach oznaczania odpowiednich grup fosforu. Zaznaczę odrazu, że będą tu podkreślone tylko niektóre własności omawianych związków; dane szczegółowe podają: Steudel i Peiser (91) — o nukleoproteidach, Kobel

i Neuberg (41) — o związkach heksozo-fosforowych i fitynie.

Związki fosforowe białkowe występują w roślinach jako nukleoproteidy. Są one nierozpuszczalne w kwasach. Obecności innych białek roślinnych, zawierających fosfór dotychczas nie stwierdzono (Osborne 72, Bergman i Zervas 12). Ilość fosforu białkowego w częściach wegetatywnych jest nieznaczna, w ziarnach natomiast jest większa i dochodzi do 1/5, a czasem i do 1/2 fosforu ogólnego.

Fosfór lipoidalny znajduje się w roślinach w ilościach drobnych, od jednego do kilku procent fosforu ogólnego. Procentowa zawartość jego w suchej masie roślin utrzymuje się w czasie wzrostu prawie na jednym poziomie.

Fosfór fitynowy. Pierwsze prace o organicznych związkach fosforowych rozpuszczalnych (86, 96) zapoznały nas z przybliżonym ich składem chemicznym. Winterstein (96) znalazł jako produkt rozpadu tych związków — inozyt. Niedługo potem Posternak (77, 78, 79, 80) i Schulze i Winterstein (87) podają dokładniejszy skład chemiczny. Dalszy szereg prac (65, 66, 97, 90, 3, 4, 5, 6, 19, 70, 81, 82) przyczynił się do wyjaśnienia budowy i własności związków organicznych fosforowych rozpuszczalnych, wreszcie Posternak (83) otrzymał syntetyczny związek, ściśle odpowiadający spotykanym związkom w nasionach. Są to związki inozyto-sześciofosforowe. Ich połączenia z wapniem i magnezem nazwano fityną. Według niektórych autorów (41) fityna nie jest jedynym związkiem inozyto-fosforowym; w nasionach wielu roślin znajdują się związki inozytu z niższą zawartością fosforu, a więc najczęściej, inozyto-pięcio- i czterofosforowe, bardzo rzadko związki inozytu o jeszcze mniejszej ilości fosforu, trój- czy dwufosforowe. Ze związków tych dokładniej zbadany został inozyto-czterofosforowy (84). Nie wiemy jednak napewno dotychczas, czy wymienione związki występują jako właściwy składnik nasion, czy też są produktami rozpadu fityny.

Z własności chemicznych należy zwrócić uwagę na zachowanie się związków inozyto-fosforowych wobec mieszaniny magnezjowej. Otóż związki fitynowe (inozyto-sześciofosforowe) są całkowicie strącane przez mieszaninę magnezjową (14, 90); związki czterofosforowe dają z solami magnezu tak samo połączenia nierozpuszczalne (84). O innych związkach można

sądzić, że zachowują się podobnie, gdyż wydobyte z różnych roślin, a więc jak to niektórzy przyjmują, posiadające różny skład chemiczny, są jednak zawsze strącane przez tę mieszaninę (78).

Związki fitynowe znajdują się w nasionach w dużych ilościach, głównie w warstwie zewnętrznej (27, 60), dochodząc często do 3/4 a nawet 4/5 fosforu ogólnego nasion. W częściach wegetatywnych według dawniejszych badań (88, 89) występuje fityna w ilościach drobnych; Knowles i Watkin natomiast znaleźli ilości bardzo duże, dochodzące aż do 95% fosforu ogólnego. Krańcowo przeciwne dane otrzymali: Fritsch (28), De Turk, Holbert i Howk i ostatnio McCance i Widdowson (60), którzy po zastosowaniu dokładniejszych metod analitycznych, stwierdzili zupełny brak fityny w tych częściach.

Związki heksozo-fosforowe. W nowszych czasach zwrócono uwagę jeszcze na jedną grupę związków fosforowych łatwo rozpuszczalnych, a mianowicie na związki heksozo-fosforowe. Grupa ta była dotąd bardzo mało uwzględniana w badaniach nad związkami fosforowemi wyższych roślin. Zostały one znalezione przez Harden'a i Young'a w płynie po fermentacji alkoholowej. W licznych pracach (29, 30, 31, 99, 100, 67, 68, 69, 43, 24, 45, 46, 59, 71) wyjaśniono ich rolę w procesie fermentacji alkoholowej i w procesie oddychania. Barrenscheen i Albers (10), później Barrenscheen i Pany (11) pierwsi stwierdzili obecność tych związków w zielonych częściach roślin i wyraźną ich zależność od przebiegu asymilacji: ilość ich wzrastała w zależności od długości naświetlania. Są to związki heksozo-jednofosforowe. Występowanie tych związków w roślinach zielonych potwierdzone zostało w pracy Cockefair'a (20), przyczem oprócz związków heksozo-jednofosforowych znaleziono również i heksozo-dwufosforowe. Związki heksozo-fosforowe są połączeniami nietrwałemi, dość łatwo ulegającemi hydrolizie. Neuberg i Pollak (67, 68, 69) po raz pierwszy otrzymali związki heksozo-fosforowe na drodze syntetycznej. Okazało się przytem, że przyłączenie fosforu do glukozy czy sacharozy następuje z wielką łatwością. Wspomnieć tu trzeba również o pracy Bodnàr'a (15) nad wiązaniem fosforu z dwuzasadowego fosforanu sodowego przęz mąkę z grochu. Przyłączenie fosforu odbyło się

na drodze enzymatycznej, a produktem reakcji okazał się związek, nie ulegający strąceniu przez mieszaninę magnezjową. Były to więc, jak możemy teraz sądzić, prawdopodobnie związki heksozo-fosforowe.

Związki mineralne fosforu, obecne w dużych ilościach w częściach wegetatywnych, w czasie dojrzewania ulegają bardzo silnemu zmniejszeniu, przechodząc w połączenia organiczne. Znaczenie fosforu mineralnego podkreślił już Wróblewski; późniejsze prace (16, 17, 35, 103, 104, 51, 73, 98, 52, 53) w całości potwierdziły rolę fosforanów, jako czynnika, wywierającego zasadniczy wpływ na procesy utlenienia, fermentacji i oddychania roślin.

Metody. Dużą trudność w ocenie znaczenia poszczególnych związków fosforu stanowi brak jednolitych metod analitycznych, wskutek czego ilościowe wyniki oznaczeń odpowiednich związków fosforowych, wykonanych na tej samej roślinie przez różnych autorów, często bardzo silnie odbiegały od siebie. Trudność oznaczenia dotyczy przedewszystkiem fosforu mineralnego i organicznego rozpuszczalnego. Już sam wybór rozpuszczalnika, używanego do przygotowania wyciągu z materjału roślinnego był trudny i dzisiaj jeszcze nie osiągnięto w tej sprawie całkowitej zgody. Dawniej stosowano przeważnie 1% kwas octowy, rzadziej 0,2% kwas solny. Wyniki pracy Koehlera (42) wyraźnie przemawiają za używaniem 1% kwasu solnego, gdyż przy mniejszych stężeniaah nie zostaje wyługowany cały fosfór związków organicznych. Późniejsze prace Lindenbaumówny (47), Pischingera (75), Wiązownickiej (94) i Mnicha (63) zwróciły uwagę na tworzenie się połączeń nierozpuszczalnych białek roślinnych z kwasem fitynowym, połączeń, które już Pasternak (76) w jednej ze swoich prac otrzymał. W obecności 1% kwasu solnego te połączenia już się nie tworzą. Jeżeli jeszcze uwzględnimy działalność enzymu rozszczepiającego organiczne związki fosforowe (1, 8), która jest największa, jak wiemy (1, 47, 63, 75), w reakcji słabo kwaśnej, musimy przyjąć, że przygotowanie wyciągów roślinnych dla oznaczenia fosforu mineralnego i organicznych związków rozpuszczalnych powinno się odbywać przy zastosowaniu przynajmniej 1% kwasu solnego.

W otrzymanym wyciągu, o ile nie oznaczano fosforu fitynowego bezpośrednio metodą miareczkową Heubner'a i Sta-

dler'a (33), ilość fosforu fitynowego obliczano z różnicy pomiędzy fosforem ogólnym rozpuszczalnym a mineralnym. I przy oznaczeniach fosforu mineralnego spotykamy znowu ogromną rozbieżność w wyborze odpowiednich metod analitycznych. Różnice wynikały z niejednakowego zapatrywania się na trwałość fityny wobec odczynników, stosowanych do oznaczenia fosforu mineralnego. Niektórzy (36, 38) uważają fitynę za związek łatwo ulegający rozkładowi pod wpływem kwasów, inni jednak, i tych jest znaczna większość (92, 32, 2, 85, 42, 14), nie stwierdzili tak wielkiej nietrwałości tego związku. Najczęściej stosowaną metodą dla oznaczenia fosforu mineralnego jest metoda podwójnego strącania: mieszaniną magnezjową i molibdenową. Fosfór fitynowy otrzymuje się z różnicy pomiędzy ogólnym rozpuszczalnym a mineralnym. Oznaczenia fosforu fitynowego Minkowskiej (62) i Lindenbaumówny, przeprowadzone według metody Koehlera i metodą Heubner'a i Stadler'a wykazały zgodność wyników obydwu tych metod. Kilka oznaczeń, zrobionych przez autora (54), dało również wyniki zgodne. Z drugiej znów strony, Adler (2) i Bleyer, Fischler i Schenck (14) dowiedli, że obecność fityny nie wpływa w najmniejszym stopniu na dokładność oznaczeń fosforu mineralnego. Niedawno zaproponowana przez Lityńskiego (49) metoda podwójnego strącania fosforu mineralnego przy użyciu odczynnika molibdenowego według przepisu Lindenfelda (48) dała wyniki zaledwie o kilka procent niższe niż metoda Koehlera. Wspomnieć tu wreszcie należy, że wielu badaczy stosuje za Collissonem (21) jako rozpuszczalnik tylko dla fosforu mineralnego 0,2% roztwór HCl w alkoholu. Jednak według danych Lityńskiego (50) fosfór mineralny nie zostaje całkowicie wyługowany zapomocą tego rozpuszczalnika; wobec tego otrzymane wartości wypadają za nisko.

Z danych powyższych okazuje się, że metoda Koehlera jest zupełnie odpowiednia do rozdzielania związków fosforowych w wyciągu roślinnym. Należy jednak zrobić tu jedno zastrzeżenie. We wszystkich metodach, w których fosfór fitynowy wyliczano z różnicy pomiędzy ogólnym rozpuszczalnym a mineralnym, przyjmowano, że fityna jest jedynym rozpuszczalnym związkiem organicznym. Słuszne to jest prawie całkowicie dla nasion dojrzałych, bo rzeczywiście tam obok du-

żej ilości fityny znajduje się tylko bardzo nieznaczna ilość związków heksozo-fosforowych; w nasionach zaś niedojrzałych, jak to zobaczymy niżej, takie przyjęcie byłoby niemożliwe. Pominięcie związków heksozo-fosforowych powodowało błędne oznaczenie albo fosforu mineralnego albo fitynowego. Jeżeli w wyciągu roślinnym (jak to dawniej przy użyciu kwasu octowego stosowano) strącano fosfór mineralny bezpośrednio mieszaniną molibdenową, to fosfór nietrwałych wobec kwasów związków heksozowych ulegał strąceniu razem z fosforem mineralnym i powiększał jego ilość; jeżeli zaś stosowano metodę podwójnego strącania fosforu mineralnego, najpierw mieszaniną magnezjową, to ponieważ związki heksozo-fosforowe nie ulegają strąceniu przez tę mieszaninę, otrzymywano wartości dla fosforu mineralnego prawdziwe, a fosfór „fitynowy" był sumą fosforu związków heksozo-fosforowych i fitynowego.

Kilka słów jeszcze należy poświęcić oznaczeniom fosforu białkowego. Najczęściej fosfór białkowy wyliczano z różnicy pomiędzy fosforem ogólnym i rozpuszczalnym (= fosfór nierozpuszczalny). Wniosek stąd jasny, że przy użyciu rozpuszczalników bardzo słabych, np. kwasu octowego lub też kwasu solnego o małych stężeniach, ilości fosforu nierozpuszczalnego wypadają zbyt wysokie.

Jak widzimy z powyższych danych, w metodach oznaczania różnych form fosforu istnieją dotychczas duże rozbieżności. Różnice w ilościach poszczególnych związków fosforowych, oznaczanych w tej samej roślinie przez różnych analityków, były nietylko spowodowane przez różne warunki zewnętrzne, w jakich się rośliny rozwijały, ale przedewszystkiem przez brak dobrych, jednolitych metod analitycznych. Jako przykład niech służą wyniki oznaczeń fosforu w pszenicy w czasie wzrostu, wykonanych przez Knowles'a i Watkin'a. Autorowie przytaczają dane dla fosforu fitynowego, lipoidalnego i mineralnego, pomijając zupełnie fosfór białkowy [1]).

---

[1]) W liście autorowie tłumaczyli, że fosforu białkowego w pszenicy jest tak mało, że może być pominięty (wliczony do fosforu mineralnego). W słomie fosforu białkowego jest rzeczywiście mało, w ziarnie natomiast ilości jego są już tak duże, że nieuwzględnienie tego związku daje zupełnie fałszywy bilans form fosforu. Według powyższych autorów w nasionach dojrzałej pszenicy znajdowałoby się blisko 50% fosforu ogólnego w postaci mineralnej!

Z przeglądu literatury o zachowaniu się związków fosforowych w roślinach można wyciągnąć wniosek, że we wczesnym okresie wegetacji przeważają związki mineralne, w późniejszym okresie, w czasie dojrzewania roślin następuje przemiana związków mineralnych u jednych roślin, np. u owsa przeważnie na fitynę, u innych zaś, np. u grochu, na związki białkowe. Jak już wspomniano na początku, przeróbka fosforu na związki organiczne połączona jest z równoczesnym odpływem znacznych jego ilości z części wegetatywnych i gromadzeniem w powstających nasionach.

Gromadzenie w nasionach innych składników zapasowych, skrobi i związków azotowych białkowych, zostało już dawniej zbadane. Skrobia i białko, znajdujące się w częściach wegetatywnych, z chwilą przenoszenia do nasion ulegają hydrolizie, są przenoszone przez łodygi w postaci związków prostych i w nasionach następuje z powrotem synteza tych związków na połączenia złożone, wysokomolekularne. Synteza skrobi i związków białkowych dokonywa się więc z materjałów, które przedtem już były w podobnej formie w roślinie wytworzone, a tylko zostały zhydrolizowane w czasie przechodzenia z części wegetatywnych do nasion.

Natomiast o syntezie organicznych związków fosforowych niema nigdzie dokładnych danych. Przebieg syntezy tych związków ujmowany jest przez Kostytschew'a (44, str. 270 i 271) w ten sposób: „Vielleicht ist als erstes Produkt der Phosphorassimilation durch die Pflanze Phytin oder Inositphosphorsäure anzusehen"... „Beim Samenreifen gelangt eine bedeutende Phosphormenge in Form von anorganischen Phosphaten und Phytin in die Samen, und es entstehen dort alle Phosphorverbindungen". Przyjmuje się więc, że fityna lub związki inozyto-fosforowe są pierwszemi związkami organicznemi fosforu i wobec tego są produktami pośredniemi pomiędzy związkami mineralnemi a białkowemi. Co do sposobu powstawania fityny, istnieje znowu pogląd, że wytwarzana jest ona w częściach wegetatywnych, w końcowem stadjum rozwoju wędruje do nasion i tam nagromadza się w większych ilościach. Ostatni pogląd, oparty na dawniejszych badaniach, trudno pogodzić z wynikami nowszych prac (28, 23, 60), w których stwierdzono zupełny brak fityny w częściach wegetatywnych. W jednej z tych prac (23) autorowie dochodzą do wnio-

sku, że fityna tworzy się wyłącznie w nasionach i to dopiero po pewnym czasie od chwili zapylenia.

Jak widzimy, mechanizm powstawania organicznych związków fosforowych, w szczególności miejsce tworzenia się tych związków i procesy zachodzące przy syntezie nie są dotąd wyjaśnione; nieznany jest również skład związków fosforowych, przenoszonych do nasion i służących tam do syntezy.

Przekonaliśmy się również, że ilościowe oznaczanie związków fosforowych w czasie wzrostu rośliny, dokonywane nawet w poszczególnych jej częściach, nie mogło doprowadzić do dokładnego wyjaśnienia przebiegu syntezy interesujących nas związków. Jednym ze sposobów rozwiązania tego zagadnienia może być założenie doświadczeń z pewnemi tylko organami rośliny, w których odbywające się procesy syntetyczne mogłyby być dokładniej prześledzone. W ten sposób przeprowadził swoje badania Zaleski (102) nad syntezą związków fosforowych, umieszczając połówki niedojrzałych nasion grochu w warunkach, wywołujących powolne wysychanie. Przemiana związków fosforowych odbywała się jedynie kosztem związków, znajdujących się w nasionach i polegała na znikaniu fosforu mineralnego a powstawaniu białkowego.

W podobny sposób zbadano w niniejszej pracy przebieg syntezy organicznych związków fosforu w oddzielonych od roślin wiechach owsa. Ziarna owsa odznaczają się dużą zawartością fityny, a więc i synteza tego związku odbywa się w czasie dojrzewania w intenywnym stopniu. Przemiany związków fosforowych badano w uciętych i zostawionych na przeciąg kilku dni niedojrzałych wiechach. Przeprowadzenie doświadczeń z samemi wiechami miało przedewszystkiem tę zaletę, że wyłączony został stały dopływ materjałów o nieznanym składzie i niewiadomej ilości z części wegetatywnych. Synteza zachodziła w zamkniętym systemie, w którym ilość składników była najzupełniej określona. Jeżeli jeszcze zwrócimy uwagę na to, że do dojrzewających wiech, t. j. do miejsca, gdzie się odbywają procesy syntetyczne, można doprowadzić z zewnątrz składniki, których wpływ na przebieg syntezy chcemy stwierdzić, dojdziemy do wniosku, że metoda ta szczególnie dobrze może się nadać do badania przemian, zachodzących podczas dojrzewania. W czasie doświadczenia w dojrzewających wiechach synteza odbywała się tylko kosztem

materjałów, znajdującycych się w danej chwili w nasionach w wypadku, gdy wiechy umieszczane były na czystej wodzie, lub też i z doprowadzonych, ale już znanych, związków w tym znowu wypadku, gdy wiechy umieszczane były na odpowiednich roztworach. Przez to otrzymuje się warunki bardziej proste, niż w wiechach połączonych z roślinami, i jeżeli synteza w takich uciętych wiechach zachodzi, można lepiej określić przebieg odbywających się procesów i dokładniej wyjaśnić, jakie czynniki mają wpływ na przemianę badanych związków.

Przeprowadzając zatem takie doświadczenia, spodziewano się uzyskać przedewszystkiem odpowiedź na pytanie, czy związki fitynowe wytwarzają się w samych nasionach, czy też muszą tam przejść w postaci produktu gotowego. Dalej chodziło o zbadanie wpływu doprowadzonych do wiech substancyj: fosforanów, glukozy, inozytu i organicznych związków azotowych na proces syntezy związków fosforowych, fitynowych i białkowych. Przypuszczano, że stąd można uzyskać podstawę do określenia roli fityny w syntezie związków fosforowych białkowych, a więc do stwierdzenia, czy fityna jest związkiem pośrednim pomiędzy fosforem mineralnym a białkowym. Sądzono również, że przez zbadanie wpływu tych substancyj, a przedewszystkiem składowych części fityny, inozytu i fosforanów, można będzie wyjaśnić, w jaki sposób odbywa się sam proces syntezy fityny w roślinach. Wreszcie ostatnim zadaniem było zwrócenie uwagi na zachowanie się związków heksozo-fosforowych i oznaczenie ich roli w przemianach fosforu podczas dojrzewania nasion.

BADANIA WŁASNE.

Doświadczenia były więc przeprowadzone z wiechami owsa, po ich oddzieleniu od całej rośliny. Ucięte wiechy łączono na równe co do wagi pęczki. Dwa z nich suszono natychmiast przy temperaturze 70—80° C, służyły one jako materjał wyjściowy, kontrolny, pozostałe wstawiano do kolbek z różnemi roztworami. Wiechy razem z źdźbłami ucinano na takiej długości, żeby w kolbkach były tylko końce źdźbeł, a same wiechy znajdowały się nazewnątrz kolbek. Wystarczyła więc długość 30 cm, licząc od wierzchołka. Przy końcu doświadczeń wiechy ważono i wysuszono tak samo jak i kontrolne przy temperaturze 70—80° C.

W zmielonym materjale oznaczano fosfór ogólny, ogólny rozpuszczalny i mineralny. Fosfór ogólny określano po spaleniu próbek w mieszaninie HNO_3 i H_2SO_4. Fosfór ogólny rozpuszczalny oznaczano w wyciągu, przygotowanym zapomocą 1% HCl. Stosunek masy do rozpuszczalnika wynosił 1 : 50; czas ekstrakcji — 3 godziny. Część wyciągu odparowywano i spalono w mieszaninie kwasów, w części drugiej strącano fosfór mineralny, według metody Koehlera, mieszaniną magnezjową, a po odsączeniu i rozpuszczeniu osadu w rozcieńczonym kwasie azotowym, mieszaniną molibdenową. Wszystkie oznaczenia przeprowadzono metodą Lorenza. Z różnicy pomiędzy fosforem ogólnym i ogólnym rozpuszczalnym otrzymywano fosfór związków nierozpuszczalnych, zaś z różnicy pomiędzy fosforem ogólnym rozpuszczalnym i mineralnym — fosfór związków organicznych rozpuszczalnych. Fosforu lecytynowego oddzielnie nie oznaczano, gdyż, jak wykazały próbne analizy, znajdowało się go w wiechach bardzo mało, od 0,01 do 0,02% w suchej masie, a więc były to takie ilości, które w bilansie interesujących nas związków odgrywać wielkiej roli nie mogły. Wszystkie wyniki analiz przeliczono na suchą masę i podane są jako średnie z dwóch równoległych próbek.

Aby ocenić zmiany, jakie zaszły w zawartości poszczególnych form fosforu w czasie doświadczenia, porównywano wyniki analiz wiech kontrolnych, t. j. wysuszonych w chwili zakładania doświadczenia, z wynikami analiz wiech, trzymanych przez kilka dni na odpowiednich płynach. Dlatego rzeczą bardzo ważną był dobór odpowiedniej ilości i wielkości próbek, żeby błędy, wynikające z różnic w ich składzie chemicznym, były możliwie małe. Okazało się, że powtórzenie dwukrotne przy wielkości próbek, wynoszącej 30—40 g świeżej masy wiech, najzupełniej wystarczyło, bo wahania pomiędzy próbkami równoległemi były rzeczywiście nieznaczne, mieszczące się najczęściej w granicach 1—2%. Jako przykład niech służą wyniki analiz pojedyńczych próbek z dośw. IV (str. 198).

A dla przekonania się znowu, że ilości fosforu w każdej serji były bardzo do siebie zbliżone i że te ilości pozostawały niezmienione w czasie doświadczenia, wystarczy przejrzeć wyniki oznaczeń fosforu ogólnego wiech kontrolnych i wiech

[1]) W dośw. IV — VI oznaczano również i P_2O_5 związków heksozofosforowych.

Procentowa zawartość P_2O_5 w suchej masie.

	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fitynowy	P_2O_5 nierozp.
W wiechach kontrolnych	0,648 0,629	0,479 0,456	0,396 0,376	0,079 0,077	0,004 0,003	0,169 0,173
średn.	0,638	0,468	0,387	0,078	0,003	0,170
Po 6 dniach w wiech. na wodzie	0,667 0,664	0,532 0,526	0,350 0,339	0,045 0,045	0,137 0,142	0,135 0,138
średn.	0,666	0,529	0,344	0,045	0,140	0,137
Po 6 dniach w wiech. na wodzie z 142 mg P_2O_5	1,830 1,860	1,685 1,730	1,493 1,537	0,077 0,076	0,115 0,117	0,145 0,130
średn.	1,845	1,708	1,515	0,077	0,116	0,137

tych seryj, do których nie doprowadzono fosforu. Oto niektóre liczby:

	P_2O_5 ogólny mg	Różnica	
		mg	%
Dośw. I. W wiechach kontrolnych	88,8	—	—
Po 7 dniach w wiechach: Na wodzie	88,2	— 0,6	— 0,7
„ „ + 2 g glukozy	88,0	— 0,8	— 0,9
„ „ + 4 g glukozy	90,8	+ 2,0	+ 2,3
Dośw. V. W wiechach kontrolnych	88,1	—	—
Po 6 dniach w wiechach: Na wodzie	88,0	— 0,1	— 0,1
„ „ + asparagina	87,6	— 0,5	— 0,6
„ „ + asparagina + 0,9 g glukozy	90,2	+ 2,1	+ 2,4
„ „ + asparagina + 3,6 g glukozy	90,8	+ 2,7	+ 3,1
„ „ + inozyt	88,0	— 0,1	— 0,1

Przykłady te są dostatecznym dowodem dokładności obranej metody. Wobec tego nawet nieznaczne różnice w ilości odpowiednich form fosforu należy przyjąć nie jako przypadkowe wahania, lecz jako skutek zaszłych zmian w czasie trwania doświadczenia.

Na początku założono trzy doświadczenia: jedno z wiechami owsa, wyhodowanego w ogrodzie obok hali wegetacyjnej Zakładu Fizjologji Roślin, dwa z wiechami owsa, wyhodowanego w wazonach na piasku. Szczegółowo omówione będą wyniki doświadczeń z owsem z ogrodu; z doświadczeń założonych w ten sam sposób z wiechami owsa z wazonów podane zostaną tylko wyniki ostateczne.

Doświadczenie I. Owies (Złoty deszcz) zasiano w ogrodzie 15.V.1931 r. Zapylanie nastąpiło w dn. 10.VII. — 12.VII. Dnia 23.VII zebrano kilkadziesiąt kg całych roślin, wiechy ucięto na długości 30 cm, rozdzielono na jednakowe próbki, wagi około 40 g i wstawiono do kolbek z 200 cm^3 płynów, przedtem wysterylizowanych w temperaturze 100° C. Końce źdźbeł przed włożeniem do kolbek zanurzano na 3 minuty do wody utlenionej. Otwory kolbek zamknięto watą. W doświadczeniu tem zbadano wpływ różnych dawek glukozy i fosforu. Rodzaj i stężenie płynów, na których trzymano wiechy w czasie doświadczenia, podany jest w tablicach. Fosfór dano w postaci mieszaniny fosforanu jedno- i dwuzasadowego (4/5 ilości P_2O_5 jako KH_2PO_4 + 1/5 jako K_2HPO_4). Ph płynów wynosiło około 6,1. Kolbki z wiechami ustawiono na stole blisko okna. Świeżo wstawione wiechy pobierały wodę i parowały bardzo silnie; wyparowaną wodę uzupełniano codziennie do pierwotnej objętości przegotowaną wodą destylowaną. Wiechy w chwili zakładania doświadczenia były jeszcze zupełnie zielone, ale już trzeciego dnia można było zauważyć wyraźne zmiany, mianowicie traciły one zieleń, zasychały i dojrzewały. Dodatek fosforanów przyśpieszył bardzo silnie dojrzewanie, wiechy najprędzej zżółkły na roztworze z 400 mg P_2O_5; na wodzie jeszcze w czasie zakończenia doświadczenia wiechy były trochę zielone. Po skończeniu doświadczenia, dnia 30.VII., wiechy zważono, wysuszono i pozostawiono do analizy.

Wyniki tego doświadczenia podane są w tabl. I — V.

TABL. I.

Dośw. I. Świeża masa wiech. (23.VII — 30.VII.31; 7 dni).
W kolbkach po 200 cm² roztworów.

Serje	Na początku dośw. g	Przy końcu dośw. g	Ubytek św. m. %
Kontrolna	40,50	—	—
Woda	40,90	31,50	23,0
2 g glukozy	40,60	34,90	14,0
4 g glukozy	40,40	34,30	15,1
100 mg P_2O_5	41,40	33,50	19,1
100 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	40,15	37,05	7,7
100 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	39,80	37,10	6,8
400 mg P_2O_5	40,60	31,15	23,3
400 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	40,80	32,75	19,7
400 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	40,85	38,00	7,0

W tablicy tej widać wyraźną zależność ubytku świeżej masy od obecności glukozy. W serjach z dodatkiem glukozy zmniejszyły się straty świeżej masy. Szczególnie dobitnie to widać na wiechach, trzymanych na roztworach fosforanów i glukozy.

TABL. II.

Dośw. I. Sucha masa wiech.

Serje	Na początku dośw. g	Przy końcu dośw. g	Zmiany suchej m. %
Kontrolna	15,20	—	—
Woda	15,34	14,42	— 6,00
2 g glukozy	15,24	14,96	— 1,84
4 g glukozy	15,16	15,83	+ 4,42
100 mg P_2O_5	15,54	14,55	— 6,37
100 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	15,07	15,36	+ 1,92
100 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	14,94	15,86	+ 6,16
400 mg P_2O_5	15,24	14,26	— 6,43
400 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	15,31	15,29	— 0,13
400 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	15,33	16,27	+ 6,13

Oznaczenia glukozy w próbkach płynów po skończeniu doświadczenia wykazały, że prawie cała dostarczona ilość glukozy została pobrana przez wiechy.

Na podstawie świeżej i suchej masy wiech kontrolnych wyliczono suchą masę wiech dla każdej serji na początku doświadczenia i porównano z oznaczoną suchą masą wiech przy końcu doświadczenia.

Ubytek suchej masy na wodzie był dość znaczny, wynosił bowiem 6,0% (Tabl. II); 2 g glukozy zmniejszały go, a 4 g glukozy spowodowały już nawet przyrost suchej masy wiech. Prawidłowość, jaka się zaznaczyła w zachowaniu się suchej masy wiech na dawkach samej glukozy, wystąpiła bardzo jasno i na fosforanach z dodatkiem glukozy. Fosforany bez glukozy wywoływały ubytek może większy nawet niż sama woda, przy dodatku 2 g glukozy zmiany suchej masy są małe, dawka 4 g glukozy powiększyła suchą masą o ca 6%.

Zobaczmy teraz, jaka była procentowa zawartość związków fosforowych (Tabl. III).

TABL. III.

Dośw. I. Procentowa zawartość P_2O_5 w suchej masie.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 org. rozp.	P_2O_5 nierozp.
Kontrolna	0,584	0,203	0,148	0,055	0,381
Woda	0,612	0,215	0,101	0,114	0,397
2 g glukozy	0,588	0,194	0,103	0,091	0,394
4 g glukozy	0,574	0,212	0,082	0,130	0,362
100 mg P_2O_5	1,241	0,552	0,396	0,156	0,689
100 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	1,189	0,503	0,335	0,168	0,686
100 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	1,108	0,480	0,323	0,157	0,628
400 mg P_2O_5	2,750	1,290	1,092	0,198	1,460
400 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	2,457	1,209	0,996	0,213	1,248
400 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	2,327	1,130	0,913	0,217	1,197

Wiechy kontrolne na ogólną ilość 0,584% P_2O_5 zawierały 0,381% P_2O_5 nierozpuszczalnego i 0,203% P_2O_5 ogólnego roz-

puszczalnego, w tem prawie 3/4 było w postaci mineralnej a tylko 1/4 w postaci organicznej. Procentowy skład wiech po 7 dniach doświadczenia różnił się wyraźnie od wiech kontrolnych; różnice dotyczą zarówno fosforu białkowego jak i organicznego rozpuszczalnego. Na wodzie i glukozie zmiany te odnoszą się w pierwszym rzędzie do fosforu mineralnego i organicznego rozpuszczalnego. Procentowa zawartość fosforu nierozpuszczalnego pozostała natomiast prawie jednakowa.

Dodatek fosforanów wywołał wielki wzrost procentowej zawartości fosforu ogólnego, zależny od dawki. Wraz ze wzrostem P_2O_5 ogólnego obserwujemy jednocześnie przyrosty zawartości fosforu organicznego rozpuszczalnego i nierozpuszczalnego.

Zmiany, jakie zaszły podczas doświadczenia, najlepiej zilustruje tablica IV, gdzie podane są dla wiech kontrolnych ilości różnych form fosforu w miligramach, a dla pozostałych seryj liczby, wyrażające przyrosty lub ubytki każdej z form fosforu w porównaniu z serją kontrolną. W tablicy V podane są te same zmiany obliczone w procentach.

TABL. IV.

Dośw. I. Zmiany ilości P_2O_5 w mg.

Serja	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 org. rozp.	P_2O_5 nierozp.
Wiechy kontrolne zawierały mg P_2O_5	88,8	30,9	22,5	8,4	57,9
W porównaniu z wiechami kontr. przybyło (+) lub ubyło (—) mg P_2O_5					
Woda	— 0,6	+ 0,1	— 7,9	+ 8,0	— 0,7
2 g glukozy	— 0,8	— 1,8	— 7,1	+ 5,3	+ 1,0
4 g glukozy	+ 2,0	+ 2,7	— 9,5	+ 12,2	— 0,7
100 mg P_2O_5	+ 91,7	+ 49,4	+ 35,1	+ 14,3	+ 42,3
100 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	+ 93,8	+ 46,4	+ 29,0	+ 17,4	+ 47,4
100 md P_2O_5 + 4 g glukozy	+ 86,9	+ 45,3	+ 28,7	+ 16,6	+ 41,6
400 mg P_2O_5	+ 303,4	+ 153,1	+ 133,3	+ 19,8	+ 150,3
400 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	+ 286,9	+ 154,0	+ 129,8	+ 24,2	+ 132,9
400 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	+ 289,8	+ 152,9	+ 126,0	+ 26,9	+ 136,9

TABL. V.

Dośw. I. Zmiany ilości P_2O_5 w procentach.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 org. rozp.	P_2O_5 nierozp.
Woda	— 1	0	— 35	+ 95	— 1
2 g glukozy	— 1	— 6	— 32	+ 63	+ 2
4 g glukozy	+ 2	+ 9	— 42	+ 145	— 1
100 mg P_2O_5	+ 103	+ 160	+ 156	+ 170	+ 73
100 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	+ 106	+ 150	+ 129	+ 207	+ 82
100 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	+ 98	+ 147	+ 128	+ 198	+ 72
400 mg P_2O_5	+ 342	+ 495	+ 592	+ 236	+ 260
400 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	+ 323	+ 498	+ 577	+ 288	+ 230
400 mg P_2O_5 + 4 g glukozy	+ 326	+ 495	+ 560	+ 320	+ 236

Ilość fosforu ogólnego wiech, trzymanych na wodzie i obydwu dawkach glukozy, nie różniła się prawie wcale od ilości fosforu wiech kontrolnych. Wahania okazały się nieznaczne, całkowicie mieszczące się w granicach błędu doświadczenia.

Z seryj z dodatkiem fosforanów okazuje się, że fosforany bardzo łatwo przenikały do wiech, bo przy dawce 100 mg P_2O_5 mamy przyrost, wynoszący około 90 mg, przy dawce 400 mg P_2O_5 — około 290 mg, czyli w pierwszym wypadku zostało pobrane 90%, w drugim przeszło 70% fosforu dostarczonego.

Na wodzie i glukozie ilość fosforu nierozpuszczalnego nie uległa żadnym istotnym zmianom. Zmiany ilościowe dotyczą jedynie fosforu organicznego rozpuszczalnego i mineralnego. Ubytek fosforu mineralnego jest kompensowany przyrostem organicznego rozpuszczalnego. Mamy więc w tych serjach wyraźną syntezę związków fosforowych organicznych rozpuszczalnych kosztem znajdującego się w nasionach fosforu mineralnego.

Dodatek fosforanów wywołał wzrost ilości wszystkich związków fosforowych. Fosfór mineralny nie ulegał już zmniejszeniu, przeciwnie jego ilość bardzo się powiększyła. Równolegle z tem powiększyła się także i ilość związków organicz-

nych rozpuszczalnych i jeszcze w większym stopniu — nierozpuszczalnych. W tablicach tych można dostrzec dość wyraźną zależność syntezy związków fosforowych rozpuszczalnych od obecności glukozy. Dodatek glukozy powodował naogół zwiększenie ilości tych związków.

Widzimy więc z tego doświadczenia, że synteza organicznych związków fosforowych przebiegała bardzo łatwo i była tem większa, im większa była koncentracja fosforu w roztworze. Dalej widzimy, że związki organiczne fosforowe mogą się tworzyć nawet w ilościach bardzo dużych w samych wiechach bez udziału części wegetatywnych. Podkreślić jeszcze należy zupełną niezależność w powstawaniu poszczególnych związków fosforowych. Związki fosforowe rozpuszczalne wytworzyły się w wiechach na wodzie i roztworach glukozy w dużych ilościach, gdy tymczasem fosforu nierozpuszczalnego nie przybyła nawet najmniejsza ilość. Do wywołania syntezy związków organicznych nierozpuszczalnych niezbędne było zwiększenie koncentracji fosforu w roztworze.

Doświadczenie II i III. W tych dwóch doświadczeniach chodziło o zbadanie wpływu różnego składu chemicznego wiech na przebieg syntezy związków fosforowych. Owies do doświadczeń wyhodowano w kulturach piaskowych na trzech dawkach fosforanu wapniowego, odpowiadających 0,3, 1,2 i 4,8 g P_2O_5 na wazon. Oprócz tego rośliny z każdej dawki fosforowej miały różną ilość azotu, 0,3 (grupa A) i 0,9 g N (grupa B).

Owies zasiano 9.V.31; okres zapylania około 4.VII. Dnia 11.VII. zebrano z każdej dawki fosforowej rośliny z połowy ilości wazonów, wiechy zmieszano i rozdzielono na 4 serje. Roztwory w kolbkach były następujące (po 200 cm^3): 1. woda dest., 2. mieszanina fosforanów odpowiadająca 100 mg P_2O_5 i 3. mieszanina fosforanów odpowiadająca 400 mg P_2O_5. Doświadczenie trwało 9 dni, do dnia 20.VII.

W ten sam sposób nastawiono i III doświadczenie z owsem z pozostałej połowy wazonów w okresie późniejszym; trwało ono od 25.VII. do 1.VIII. W III doświadczeniu zbadano oprócz fosforanów także wpływ dodatku 2 g glukozy.

Ilość wiech, przypadająca na jedną kolbkę, była w tych doświadczeniach mniejsza, niż w innych. Świeża masa wiech kontrolnych w doświadczeniu II wynosiła: w grupie A — 8,8 g,

TABL. VI.

Dośw. II. Wiechy owsa z wazonów. Zbiór I. Średnie dla trzech dawek P_2O_5. (11.VII — 20.VII 1931; 9 dni). W kolbkach po 200 cm³ roztworów.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 org. rozp.	P_2O_5 nierozp.	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 org. rozp.	P_2O_5 nierozp.
	0,3 g N na wazon (Grupa A)					0,9 g N na wazon (Grupa B)				
Wiechy kontrolne	Procentowa zawartość P_2O_5 w suchej masie									
	0,653	0,529	0,459	0,070	0,124	0,722	0,582	0,503	0,079	0,140
	Ilość P_2O_5 w mg									
	17,8	14,4	12,5	1,9	3,4	29,9	24,1	20,8	3,3	5,8
Zmiany ilości P_2O_5 w mg										
Woda	+ 0,1	+ 0,6	— 2,7	+ 3,3	— 0,5	+ 0,9	+ 2,2	— 5,4	+ 7,6	— 1,3
100 mg P_2O_5	+ 54,9	+ 52,7	+ 49,4	+ 3,3	+ 2,2	+ 73,4	+ 72,3	+ 65,7	+ 6,6	+ 1,1
400 mg P_2O_5	+ 99,5	+ 98,6	+ 94,8	+ 3,8	+ 0,9	+ 143,7	+ 142,9	+ 137,4	+ 5,5	+ 0,8
Zmiany ilości P_2O_5 w procentach										
Woda	+ 1	+ 4	— 22	+ 174	— 15	+ 3	+ 9	— 26	+ 230	— 22
100 mg P_2O_5	+ 309	+ 366	+ 395	+ 174	+ 65	+ 245	+ 300	+ 316	+ 200	+ 19
400 mg P_2O_5	+ 559	+ 685	+ 758	+ 200	+ 26	+ 481	+ 593	+ 661	+ 167	+ 14

w grupie B — 15,3 g, w doświadczeniu III: w grupie A — 10,4 g, w grupie B — 18,3 g.

W obydwóch tych doświadczeniach okazał się jedynie mały wpływ różnej zawartości fosforu w wiechach kontrolnych na przemiany związków fosforowych podczas właściwego doświadczenia. Wpływ nawożenia był nieznaczny i dlatego też podane są tylko średnie z trzech dawek fosforu, obliczone oddzielnie dla małej i dużej dawki azotu.

W tablicy VI podane są: procentowa zawartość P_2O_5, ilości absolutne P_2O_5 w miligramach w wiechach kontrolnych i przyrosty względnie ubytki w miligramach i w procentach, pozwalające ocenić wielkość zmian, jakie zaszły z związkach fosforowych podczas II doświadczenia.

Jak widać z zestawienia (Tabl. VI), w wiechach kontrolnych zbioru I, we wczesnem stadjum dojrzałości, znajdowało się w przybliżeniu na 100 części fosforu ogólnego: 70 części w postaci mineralnej, 20 części nierozpuszczalnego i tylko 10 cz. organicznego rozpuszczalnego.

W wiechach trzymanych na wodzie odbywało się jedynie zwiększenie ilości fosforu związków organicznych rozpuszczalnych. Fosfór związków nierozpuszczalnych nietylko się w tej serji nie powiększał, ale przeciwnie, część tych związków uległa rozkładowi. Doprowadzenie fosforanów nie wpłynęło dodatnio na syntezę fosforu organicznego rozpuszczalnego. Dodatni wpływ fosforanów zaznaczył się natomiast na fosforze związków nierozpuszczalnych, gdyż widzimy tu przyrost, wynoszący w wiechach grupy B kilkanaśeie, w wiechach grupy A — kilkadziesiąt procent.

Wyniki doświadczenia III (Tabl. VII) zestawione są w ten sam sposób, jak i w doświadczeniu II.

W wiechach kontrolnych późniejszego zbioru spotykamy już znacznie więcej wytworzonego fosforu związków organicznych rozpuszczalnych, dochodzącego w grupie A do 1/2, w grupie B — do 1/3 całej ilości fosforu. Dane tablicy wskazują na intensywną syntezę związków organicznych, przedewszystkiem rozpuszczalnych. Absolutne przyrosty fosforu organicznego rozpuszczalnego były większe niż w zbiorze I, przyrosty procentowe okazały się już mniejsze, wynosiły bowiem w grupie A tylko 20—40%, w wiechach bogatszych w azot, w grupie B, dochodziły do 60%. Fosfór nierozpuszczalny na wodzie

TABL. VII.

Dośw. III. Wiechy owsa z wazonów. Zbiór II. Średnie dla trzech dawek P_2O_5 (25.VII — 1.VIII 1931; 7 dni). W kolbkach po 200 cm³ roztworów.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 org. rozp.	P_2O_5 nierozp.	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 org. rozp.	P_2O_5 nierozp.
	0,3 g N na wazon (Grupa A)					0,9 g N na wazon (Grupa B)				
Wiechy kontrolne	Procentowa zawartość P_2O_5 w suchej masie									
	0,678	0,545	0,210	0,335	0,133	0,747	0,578	0,334	0,244	0,169
	Ilość P_2O_5 w mg									
	30,0	24,1	9,3	14,8	5,9	52,7	40,8	23,6	17,2	11,9
Zmiany ilości P_2O_5 w mg										
Woda	— 0,4	0,1	— 4,4	+ 4,5	— 0,5	+ 1,2	+ 0,3	— 11,1	+ 11,4	+ 0,9
2 g glukozy	+ 0,6	— 0,4	— 3,9	+ 3,5	+ 1,0	— 0,3	— 3,3	— 13,3	+ 10,0	+ 3,0
100 mg P_2O_5	+ 33,0	+ 30,7	+ 26,3	+ 4,4	+ 2,3	+ 45,0	+ 43,0	+ 34,9	+ 8,1	+ 2,0
400 mg P_2O_5	+ 89,3	+ 86,9	+ 84,4	+ 2,5	+ 2,4	+ 116,9	+ 112,4	+ 103,5	+ 8,9	+ 4,5
400 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	+ 99.8	+ 95,5	+ 89,9	+ 5,6	+ 4,3	+ 134,8	+ 124,6	+ 115,4	+ 9,2	+ 10,2
Zmiany ilości P_2O_5 w procentach										
Woda	— 1	0	— 47	+ 30	— 8	+ 2	+ 1	— 47	+ 66	+ 8
2 g glukozy	+ 2	— 2	— 42	+ 24	+ 17	— 1	— 8	— 56	+ 58	+ 25
100 mg P_2O_5	+ 110	+ 127	+ 283	+ 29	+ 39	+ 85	+ 105	+ 148	+ 47	+ 17
400 mg P_2O_5	+ 298	+ 361	+ 908	+ 17	+ 41	+ 222	+ 275	+ 439	+ 52	+ 38
400 mg P_2O_5 + 2 g glukozy	+ 333	+ 396	+ 967	+ 38	+ 73	+ 256	+ 305	+ 489	+ 53	+ 86

w grupie A znowu wykazał nieznaczny ubytek, w grupie B był już przyrost. Dodatek samej glukozy lub samych fosforanów powstrzymywał całkowicie rozpad związków białkowych i wywoływał nawet ich syntezę. Wyjątkowo korzystnie na syntezę związków fosforowych nierozpuszczalnych działała mieszanina glukozy i fosforanów.

Te dwa doświadczenia przekonały nas również o możliwości syntezy organicznych związków fosforowych w samych wiechach. Przemiany odbywały się przedewszystkiem w kierunku tworzenia związków organicznych rozpuszczalnych. Jeszcze wyraźniej, niż w doświadczeniu I, wystąpiła tu niezależność syntezy organicznych połączeń nierozpuszczalnych i rozpuszczalnych; przy wybitnym wzroście fosforu organicznego rozpuszczalnego, związków nierozpuszczalnych nietylko nie przybywało, ale nawet ulegały one rozpadowi.

Z powyższych trzech doświadczeń widzimy, że synteza organicznych związków fosforowych mogła się odbywać z wielką łatwością i że doprowadzone z zewnątrz proste związki miały bardzo duży wpływ na końcowy rezultat syntezy. Widzimy jednak pewną niezgodność wyników doświadczenia I z wynikami doświadczenia II i III. W doświadczeniu I można było przez doprowadzenie fosforanów wywołać bardzo intensywną syntezę organicznych związków fosforowych, w pierwszym rzędzie nierozpuszczalnych, w doświadczeniu II i III synteza również była, ale słabsza i z wyraźną przewagą tworzenia się związków fosforowych rozpuszczalnych.

Zadaniem następnych doświadczeń było dokładniejsze wyjaśnienie procesów, zachodzących podczas syntezy. Przedewszystkiem więc powtórzono i sprawdzono doświadczenia z glukozą i fosforanami. Oprócz tego zbadano wpływ organicznych związków azotowych, mianowicie glikokolu, mocznika i asparaginy. Wzięto również inozyt do doświadczeń, aby się przekonać, czy do syntezy fityny mogą być użyte bezpośrednio jej części składowe. Zwrócono wreszcie szczególną uwagę na organiczne związki fosforowe rozpuszczalne. W skład tych związków w późniejszem stadjum dojrzałości nasion wchodzi, jak widzieliśmy z przeglądu literatury, prawie wyłącznie fityna, względnie związki inozyto-fosforowe. W okresie wcześniej-

szym, według danych niżej przytoczonych, występują natomiast związki organiczne, nie ulegające strąceniu przez mieszaninę magnezjową. Własność powyższa tych związków, jak również zachowanie się ich podczas dojrzewania wiech i ich wybitna zależność od doprowadzonej do wiech glukozy wskazują zupełnie jasno, że są to związki heksozo-fosforowe. Te doświadczenia różnią się od poprzednio opisanych tem, że w grupie organicznych związków fosforowych rozpuszczalnych wyodrębniano oddzielnie fitynę i związki heksozo-fosforowe.

Metody analityczne były takie same, jak dawniej, z tą tylko różnicą, że oznaczano jeszcze związki heksozo-fosforowe. Oznaczenie tych związków polegało na tem, że w wyciągu z kwasem solnym po dodaniu mieszaniny magnezjowej, fosfór mineralny i fitynowy ulegał strąceniu, a do przesączu przechodziły związki heksozo-fosforowe. Przesącz ten odparowywano i spalano z kwasami H_2SO_4 i HNO_3. Dalej postępowano według metody Lorenza. Fosfór fitynowy otrzymywano zatem z różnicy pomiędzy fosforem ogólnym rozpuszczalnym a sumą fosforu mineralnego i heksozowego. Oznaczenie fityny tą metodą nie może być bardzo dokładne, bo obarczone będzie błędami trzech oznaczeń, jednak dało ono dostatecznie zgodne wyniki.

Doświadczenia przeprowadzono w trzech różnych stadjach, aby wybadać również wpływ stopnia dojrzałości wiech na przebieg syntezy. Zakładano je z wiechami owsa, wyhodowanego w ogrodzie. Owies zasiano 14.IV. 1934. Zapylanie nastąpiło około 22.VI. W przedstawionych niżej doświadczeniach brano do kolbek zawsze 30 g świeżej masy wiech; do kolbek dawano po 150 cm^3 roztworów. Pozatem sposób zakładania i prowadzenia doświadczeń był taki sam jak poprzednio. Rezultaty otrzymane z mocznikiem i z glikokolem były zbliżone do wyników, osiągniętych z asparaginą. W zestawieniach będą podane tylko wyniki z asparaginą.

Doświadczenie IV. Założono je z wiechami zbioru pierwszego, dnia 30.VI., zakończono 6.VII. (6 dni). Dla tego doświadczenia przygotowano roztwory następujące: 1. woda dest., 2. mieszanina fosforanów potasu = 142 mg P_2O_5, 3. fosforany (142 mg P_2O_5) + 0,90 g glukozy, 4. fosforany (142 mg P_2O_5) + 0,66 g asparaginy i 5. fosforany (142 mg P_2O_5) + 0,90 g glukozy + 0,66 g asparaginy.

W czasie zakładania doświadczenia w kłoskach środkowych wiech ziarno miało normalną długość; w kłoskach dolnych osiągnęło 2/3 długości. Na 30 g świeżej masy wypadało 12 do 14 wiech. Płyny z asparaginą i mieszaniną glukozy i asparaginy przy końcu doświadczenia były słabo mętne, pozostałe zupełnie czyste. W przeciągu pierwszych 3—4 dni nawet z asparaginą i glukozą były jeszcze czyste. Wyniki doświadczenia IV przedstawione są w tablicach VIII—XI.

TABL. VIII.

Dośw. IV. Świeża i sucha masa wiech. Zbiór I. (30.VI — 6.VII 1934; 6 dni). W kolbkach po 150 cm³ roztworów. Na jedną kolbkę po 12—14 wiech.

Serje	Świeża masa na początku dośw. g	Sucha masa		Zmiany suchej masy %
		na pocz. dośw. g	przy końcu dośw. g	
Kontrolna	30,0	11,25	—	—
Woda	30,0	11,25	10,61	— 5,7
Fosforany	30,1	11,29	10,81	— 4,3
„ + glukoza	30,0	11,25	11,14	— 1,0
„ + asparagina	30,0	11,25	10,70	— 4,9
„ + glukoza + asparag.	30,1	11,29	11,39	+ 0,9

TABL. IX.

Dośw. IV. Procentowa zawartość P_2O_5 w suchej masie.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 miner.	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fitynowy	P_2O_5 nierozp.
Kontrolna	0,638	0,468	0,387	0,078	0,003	0,170
Woda	0,666	0,529	0,344	0,045	0,140	0,137
Fosforany	1,845	1,708	1,515	0,077	0,116	0,137
„ + glukoza	1,803	1,623	1,413	0,089	0,121	0,180
„ + asparagina	1,704	1,552	1,369	0,069	0,114	0,152
„ + glukoza + asparag.	1,705	1,478	1,291	0,077	0,110	0,227

W pierwszym okresie dojrzałości wiechy zawierały jeszcze bardzo dużo wody: na 30 g świeżej masy w wiechach kontrolnych było tylko 11,25 g suchej masy (Tabl. VIII). Ubytek suchej masy w czasie doświadczenia największy był na wodzie, samych fosforanach i z dodatkiem asparaginy. Sucha

masa wiech na glukozie nie uległa prawie żadnym zmianom: na samej glukozie ubytek wynosił tylko 1%, na glukozie i asparaginie był przyrost równy 0,9%.

TABL. X.

Dośw. IV. Zmiany ilości P_2O_5 w mg.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz	P_2O_5 fitynowy	P_2O_5 nierozp.
Wiechy kontr. zawierały mg P_2O_5	71,8	52,6	43,5	8,8	0,3	19,2
W porównaniu z wiechami kontr. przybyło (+) lub ubyło (—) mg P_2O_5						
Woda	— 1,2	+ 3,5	— 7,0	— 4,0	+14,5	— 4,7
Fosforany	+ 127,7	+ 132,0	+ 120,3	— 0,5	+12,2	— 4,3
„ + glukoza	+ 129,1	+ 128,2	+ 113,9	+ 1,2	+13,1	+ 0,9
„ + asparagina	+ 110,5	+ 113,5	+ 103,0	— 1,4	+11,9	— 3,0
„ + glukoza + aspar.	+ 122,4	+ 115,7	+ 103,5	0	+12,2	+ 6,7

TABL. XI.

Dośw. IV. Zmiany ilości P_2O_5 w procentach.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fitynowy	P_2O_5 nierozp.
Woda	— 2	+ 7	— 16	— 45	+ 4833	— 24
Fosforany	+ 178	+ 251	+ 277	— 6	+ 4067	— 22
„ + glukoza	+ 180	+ 244	+ 262	+ 14	+ 4366	+ 5
„ + asparagina	+ 154	+ 216	+ 237	— 16	+ 3967	— 16
„ + glukoza + asparag.	+ 170	+ 220	+ 238	0	+ 4067	+ 35

Wiechy kontrolne zawierały (Tabl. IX) przedewszystkiem bardzo dużą ilość fosforu mineralnego, wynoszącą blisko 61% fosforu ogólnego; fosfór nierozpuszczalny stanowił 26,7%, a fosfór organiczny rozpuszczalny tylko około 13%, przyczem cały organiczny fosfór rozpuszczalny znajdował się w postaci niestrącalnej przez mieszaninę magnezjową, w postaci związków heksozofosforowych, a nie fitynowych. Wynik analizy okazał się bardzo ciekawy i niezbicie dowodzący, że związków fitynowych w początkowych stadjach dojrzewania w wiechach

owsa albo zupełny brak, albo też że występują one w ilościach niezwykle drobnych. Pojawienie się fosforu fitynowego nastąpiło dopiero w czasie doświadczenia; zawartość jego w suchej masie wzrosła już po kilku dniach aż do 0,14% na wodzie, w innych serjach do 0,11—0,12%.

W tablicach X i XI znajdujemy we wszystkich serjach duży absolutny i procentowy przyrost fosforu fitynowego. Związki heksozo-fosforowe przeciwnie, wykazują ubytek, bardzo silny na wodzie, w innych serjach — mniejszy. Wyjątek stanowi serja z fosforanami i glukozą; ilość tych związków okazała się tam nawet większą, niż w serji kontrolnej. Jeżeli chodzi o związki organiczne nierozpuszczalne, to podobnie jak i w doświadczeniach II i III, na wodzie występował ich rozpad. W odróżnieniu od wyników poprzednich, rozpad tych związków nie był powstrzymywany przez doprowadzenie samych fosforanów. Dodatek do fosforanów asparaginy zmniejszał proces rozkładu. Dopiero w obecności fosforanów z samą glukozą i jeszcze w większym stopniu fosforanów z glukozą i z asparaginą mogła zajść synteza tej formy fosforu.

Doświadczenie V. Doświadczenie z wiechami zbioru drugiego było założone w szerokim zakresie, obejmowało bowiem wszystkie kombinacje doświadczenia IV, pozatem zbadany był wpływ różnych dawek glukozy przy stałej dawce fosforanów, rożnych dawek fosforanów przy stałej dawce inozytu i różnych dawek fosforanów przy obecności asparaginy z małą i dużą dawką glukozy.

Doświadczenie założono 12.VII., trwało ono do 18.VII. (6 dni). Ilość wiech na jedną kolbkę wynosiła 8—10. W czasie zakładania ziarno było miękie (mleczko), ale już normalnej wielkości. Dnia 16.VII. płyny na asparaginie wykazały pierwsze słabe zmętnienie. Płyny w kolbkach zagotowano i ostudzono; źdźbła wymyto wodą utlenioną a następnie wstawiono do tych samych kolbek. Inne płyny okazały się przez cały czas doświadczenia zupełnie czyste. Tak jak i w poprzednich doświadczeniach większe dawki fosforanów przyśpieszały żółknięcie wiech. Szybkie dojrzewanie było zauważone również na glukozie i inozycie. Na asparaginie wiechy zasychały, nie tracąc całkowicie barwy zielonej. Wyniki doświadczenia V zebrane są w tablicach XII—XV.

TABL. XII

Dośw. V. Świeża i sucha masa wiech. Zbiór II (12.VII — 18.VII. 34; 6 dni). W kolbkach po 150 cm³ roztworów. Na jedną kolbkę po 8—10 wiech.

Serje		Świeża masa na początku dośw. g	Sucha masa na pocz. dośw. g	Sucha masa przy końcu dośw. g	Zmiany suchej masy %
Kontrolna		30,0	11,95	—	—
Woda		30,0	11,95	11,52	— 3,6
Fosforany (142 mg P_2O_5)		30,0	11,95	11,86	— 0,1
Fosforany (142 mg P_2O_5)	0,9 g glukozy	30,1	11,99	13,17	+ 9,8
	1,8 g glukozy	30,1	11,99	12,64	+ 5,4
	3,6 g glukozy	30,1	11,99	13,71	+ 14,3
Asparagina (0,66 g)		30,1	11,99	11,77	— 1,8
Fosforany (142 mg P_2O_5) + asparag. (0,66 g)		30,1	11,99	12,27	+ 2,3
Asparagina (0,66 g) + 0,9 g glukozy	0 mg P_2O_5	30,0	11,95	12,33	+ 3,2
	35,5 mg P_2O_5	30,2	12,03	12,56	+ 4,4
	71 mg P_2O_5	30,1	11,99	12,66	+ 5,6
	142 mg P_2O_5	30,0	11,95	13,28	+ 11,1
Asparagina (0,66 g) + 3,6 g glukozy	0 mg P_2O_5	30,1	11,99	13,74	+ 14,6
	35,5 mg P_2O_5	30,0	11,95	13,19	+ 10,4
	142 mg P_2O_5	30,1	11,99	13,16	+ 9,8
Inozyt (1,081 g)	0 mg P_2O_5	30,0	11,95	12,01	+ 0,1
	35,5 mg P_2O_5	30,2	12,03	12,57	+ 4,5
	142 mg P_2O_5	30,0	11,95	12,75	+ 6,7

Sucha masa (Tabl. XII) wiech kontrolnych w porównaniu ze zbiorem pierwszym wzrosła tylko o nieznaczny procent. Ubytek suchej masy po skończonem doświadczeniu okazał się znowu największy na wodzie; dodatek substancyj organicznych wywoływał przyrost suchej masy, przyczem najwięcej uwydatnił się wpływ glukozy.

Wiechy kontrolne zbioru drugiego (Tabl. XIII) w porównaniu ze zbiorem pierwszym zawierały już dość znaczną ilość fosforu fitynowego (22,9% fosforu ogólnego). Wzrosła rów-

TABL. XIII.

Dośw. V. Procentowa zawartość P_2O_5 w suchej masie.

Serje		P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 miner.	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fityn.	P_2O_5 nierozp.
Kontrolna		0,737	0,522	0,288	0,065	0,169	0,215
Woda		0,764	0,535	0,147	0,037	0,351	0,229
Fosforany (142 mg P_2O_5)		1,585	1,395	0,977	0,049	0,369	0,190
Fosforany (142 mg P_2O_5)	0,9 g glukozy	1,577	1,391	0,929	0,044	0,418	0,186
	1,8 g glukozy	1,577	1,393	0,952	0,048	0,393	0,184
	3,6 g glukozy	1,473	1,266	0,832	0,055	0,379	0,207
Asparagina (0,66 g)		0,744	0,493	0,131	0,051	0,311	0,251
Fosforany (142 mg P_2O_5) + asparagina (0,66 g)		1,443	1,222	0,787	0,047	0,388	0,221
Asparagina (0,66 g) + 0,9 g glukozy	0 mg P_2O_5	0,732	0,444	0,106	0,047	0,291	0,288
	35,5 mg P_2O_5	0,902	0,637	0,252	0,050	0,335	0,265
	71 mg P_2O_5	1,100	0,840	0,450	0,051	0,339	0,260
	142 mg P_2O_5	1,364	1,118	0,750	0,058	0,310	0,246
Asparagina (0,66 g) + 3,6 g glukozy	0 mg P_2O_5	0,661	0,362	0,062	0,044	0,256	0,299
	35,5 mg P_2O_5	0,825	0,547	0,195	0,045	0,307	0,278
	142 mg P_2O_5	1,295	1,050	0,641	0,045	0,364	0,245
Inozyt (1,081 g)	0 mg P_2O_5	0,733	0,480	0,157	0,042	0,281	0,253
	35,5 mg P_2O_5	0,908	0,670	0,300	0,058	0,312	0,238
	142 mg P_2O_5	1,411	1,232	0,822	0,058	0,352	0,179

nież, w mniejszym już stopniu, zawartość fosforu nierozpuszczalnego; ubyło natomiast związków mineralnych i heksozofosforowych.

Procentowa zawartość fosforu nierozpuszczalnego przy końcu doświadczenia okazała się w niektórych serjach znowu niższą, niż w wiechach kontrolnych. W zachowaniu się fosforu nierozpuszczalnego daje się pozatem zauważyć pewna prawidłowość: im większa dawka fosforanów, tem procentowa zawartość fosforu nierozpuszczalnego okazała się mniejsza. W zawartości fityny mamy prawidłowość odwrotną: ilość fityny wzrastała wraz ze zwiększaniem się dawki fosforanów.

TABL. XIV.

Dośw. V. Zmiany ilości P_2O_5 w mg.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fityn.	P_2O_5 nierozp.
Wiechy kontrolne zawierały mg P_2O_5	88,1	62,4	34,4	7,8	20,2	25,7
W porównaniu z wiechami kontr. przybyło (+) lub ubyło (−) mg P_2O_5						
Woda	− 0,1	− 0,7	− 17,4	− 3,5	+ 20,2	+ 0,6
Fosforany (142 mg P_2O_5)	+ 99,9	+ 103,0	+ 81,5	− 2,0	+ 23,5	− 3,1
Fosforany (142 mg P_2O_5) 0,9 g glukozy	+ 119,6	+ 120,8	+ 87,9	− 2,0	+ 34,9	− 1,2
Fosforany (142 mg P_2O_5) 1,8 g glukozy	+ 111,2	+ 113,7	+ 85,9	− 1,7	+ 29,5	− 2,5
Fosforany (142 mg P_2O_5) 3,6 g glukozy	+ 113,8	+ 111,2	+ 79,7	− 0,2	+ 31,7	+ 2,6
Asparagina (0,66 g)	− 0,5	− 4,4	− 19,0	− 1,8	+ 16,4	+ 3,9
Fosforany (142 mg P_2O_5) + asparagina (0,66 g)	+ 89,0	+ 87,6	+ 62,2	− 2,0	+ 27,4	+ 1,4
Asparagina (0,66 g) + 0,9 g glukozy, 0 mg P_2O_5	+ 2,1	− 7,7	− 21,4	− 2,0	+ 15,7	+ 9,8
Asparagina (0,66 g) + 0,9 g glukozy, 35,5 mg P_2O_5	+ 25,2	+ 17,6	− 2,8	− 1,5	+ 21,9	+ 7,6
Asparagina (0,66 g) + 0,9 g glukozy, 71 mg P_2O_5	+ 51,1	+ 43,9	+ 22,5	− 1,3	+ 22,7	+ 7,2
Asparagina (0,66 g) + 0,9 g glukozy, 142 mg P_2O_5	+ 93,0	+ 86,1	+ 65,2	− 0,1	+ 21,0	+ 6,9
Asparagina (0,66 g) + 3,6 g glukozy, 0 mg P_2O_5	+ 2,7	− 12,7	− 25,9	− 1,8	+ 15,0	+ 15,4
Asparagina (0,66 g) + 3,6 g glukozy, 35,5 mg P_2O_5	+ 20,8	+ 9,8	− 8,6	− 1,9	+ 20,3	+ 11,0
Asparagina (0,66 g) + 3,6 g glukozy, 142 mg P_2O_5	+ 82,3	+ 75,8	+ 50,0	− 1,9	+ 27,7	+ 6,5
Inozyt (1,081 g), 0 mg P_2O_5	− 0,1	− 4,8	− 15,6	− 2,8	+ 13,6	+ 4,7
Inozyt (1,081 g), 35,5 mg P_2O_5	+ 26,1	+ 21,8	+ 3,3	− 0,5	+ 19,0	+ 4,3
Inozyt (1,081 g), 142 mg P_2O_5	+ 91,8	+ 94,7	+ 70,4	− 0,4	+ 24,7	− 2,9

TABL. XV.

Dośw. V. Zmiany ilości P_2O_5 w procentach.

Serje		P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fityn.	P_2O_5 nierozp.
Woda		0	— 1	— 51	— 45	+ 100	+ 2
Fosforany (142 mg P_2O_5)		+ 113	+ 165	+ 237	— 26	+ 116	— 12
Fosforany (142 mg P_2O_5)	0,9 g glukozy	+ 136	+ 194	+ 256	— 26	+ 173	— 5
	1,8 g glukozy	+ 126	+ 182	+ 250	— 22	+ 146	— 10
	3,6 g glukozy	+ 129	+ 178	+ 232	— 3	+ 157	+ 10
Asparagina (0,66 g)		— 1	— 7	— 55	— 23	+ 81	+ 15
Fosforany (142 mg P_2O_5) + asparagina (0,66 g)		+ 101	+ 140	+ 181	— 26	+ 136	+ 5
Asparagina (0,66 g) + 0,9 g glukozy	0 mg P_2O_5	+ 2	— 12	— 62	— 26	+ 78	+ 38
	35,5 mg P_2O_5	+ 29	+ 28	— 8	— 19	+ 108	+ 30
	71 mg P_2O_5	+ 58	+ 70	+ 65	— 17	+ 112	+ 28
	142 mg P_2O_5	+ 106	+ 138	+ 190	— 1	+ 104	+ 27
Asparagina (0,66 g) + 3,9 g glukozy	0 mg P_2O_5	+ 3	— 20	— 75	— 23	+ 74	+ 60
	35,5 mg P_2O_5	+ 24	+ 16	— 25	— 24	+ 100	+ 43
	142 mg P_2O_5	+ 93	+ 121	+ 145	— 24	+ 137	+ 25
Inozyt (1,081 g)	0 mg P_2O_5	0	— 8	— 45	— 36	+ 67	+ 18
	35,5 mg P_2O_5	+ 30	+ 35	+ 10	— 6	+ 94	+ 17
	142 mg P_2O_5	+ 104	+ 152	+ 205	— 5	+ 122	— 11

Związki heksozo-fosforowe znikały we wszystkich serjach, osiągając najniższą zawartość w wiechach trzymanych na wodzie. Zawartość fosforu mineralnego w wiechach, które nie miały dostarczonych fosforanów, uległa również redukcji, największej na asparaginie z dużą dawką glukozy. Najwyższa zawartość fosforu mineralnego pozostała na inozycie i wodzie.

Przechodząc do szczegółowej oceny zmian ilości różnych związków fosforowych, widzimy w tablicy XIV i XV, że w tem doświadczeniu, podobnie jak i w doświadczeniu IV, odbywała się przedewszystkiem intensywna synteza fityny. Synteza tego związku była największa na fosforanach i glukozie. Zauważyć również można pewną trudność syntezy związków nierozpusz-

czalnych; te ostatnie tworzyły się dopiero wtedy łatwo, gdy do wiech została doprowadzona asparagina.

Jeżeli porównamy ze sobą serje bez dodatku fosforu, przekonamy się najlepiej, jaki wpływ miały doprowadzone związki na przeróbkę fosforu, znajdującego się w wiechach. Oto liczby wzięte z tablicy XIV:

W wiechach po 6 dniach:	Przyrost P_2O_5 w mg			Ubytek P_2O_5 w mg
	fitynowy	nierozp.	suma	miner. i heksoz.
Na wodzie	20,2	0,6	20,8	20,9
Na asparaginie	16,4	3,9	20,3	20,8
Na asparaginie i 0,9 g glukozy	15,7	9,8	25,5	23,4
Na asparaginie i 3,6 g glukozy	15,0	15,4	30,4	27,7
Na inozycie	13,6	4,7	18,3	18,4

Widać więc, że w wiechach na samej wodzie odbywała się wyłącznie synteza fosforu fitynowego. Dodatek asparaginy zmniejszał syntezę fityny ale wywoływał zato syntezę związków nierozpuszczalnych. Mieszanina asparaginy i glukozy wpływała jeszcze bardziej dodatnio na proces syntezy związków nierozpuszczalnych. Wreszcie z porównania kolumny trzeciej i czwartej w tem zestawieniu widzimy dużą zgodność odpowiednich liczb. Suma wytworzonego fosforu fitynowego i nierozpuszczalnego odpowiada ściśle ubytkowi związków mineralnych i heksozo-fosforowych.

Rozpatrując w dalszym ciągu dane tablicy XIV, należy zwrócić uwagę na zależność syntezy związków fosforowych od dawek fosforanów. Suma wytworzonego fosforu związków fitynowych i nierozpuszczalnych wynosiła

przy dawkach	0	35,5	71	142	mg P_2O_5
na asparaginie i 0,9 g glukozy	25,5	29,5	29,5	27,9	mg P_2O_5
na asparaginie i 3,6 g glukozy	30,4	31,3	—	34,2	mg P_2O_5

Zależność przebiegu syntezy związków fosforowych od dawek fosforanów nie jest w tem doświadczeniu wybitna, jednak zupełnie wyraźna. Liczby powyższe wskazują również, że dostarczenie wiechom większej ilości glukozy wywarło dodatni wpływ na przemiany związków fosforowych.

Intensywna synteza związków fosforowych w serjach z asparaginą i glukozą jest widoczna także i z zachowania się

fosforu mineralnego. W wiechach bez fosforu ubyło związków mineralnych bardzo dużo: na asparaginie i 0,9 glukozy — 21,4 mg (= 62% P_2O_5 mineralnego wiech kontrolnych), na asparaginie i 3,6 glukozy — 25,9 mg (= 75%). Doprowadzenie 35,5 mg P_2O_5 okazało się jeszcze niewystarązające, aby powstrzymać zmniejszenie się pierwotnej ilości fosforu mineralnego, dopiero większe dawki fosforanów wywoływały gromadzenie się nadmiaru pobranego fosforanu w postaci mineralnej.

Ciekawy i zupełnie nieoczekiwany wynik otrzymano z inozytem; synteza fityny przy dodatku inozytu okazała się stosunkowo słaba, mniejsza niż w innych serjach. Wskutek tego ubytek fosforu mineralnego był w serjach z dodatkiem inozytu również najmniejszy. Do kwestji tej powrócimy jeszcze później, po omówieniu wyników doświadczenia VI.

Jak widzieliśmy z wyników doświadczenia V, w uciętych wiechach owsa można było wywołać syntezę albo fityny albo związków nierozpuszczalnych. Charakter syntezy zależał od rodzaju doprowadzonych do wiech związków. Jeżeli synteza odbywała się tylko kosztem materjałów zawartych w wiechach lub też po doprowadzeniu fosforanów i glukozy, rezultatem jej była fityna; jeżeli zaś do wiech doprowadzone zostały azotowe związki organiczne, same lub razem z glukozą, tworzyły się wtedy intensywnie związki fosforowe nierozpuszczalne.

Doświadczenie VI. Ostatnie doświadczenie założone zostało według tego samego schematu, co i doświadczenie IV, z tą różnicą, że był tutaj wzięty także inozyt (1,08 na kolbkę). Doświadczenie założono dnia 21.VII., zakończono 27.VII (6 dni). Na 30 g świeżej masy brano 6—7 wiech. Wiechy wzięte do tego doświadczenia znajdowały się już w stadjum końcowego dojrzewania; ziarno było zupełnie wykształone, dość twarde. (Owies w ogrodzie dojrzał 27.VII). Płyny w kolbkach z asparaginą zaczęły mętnieć dopiero czwartego dnia. Płyny zagotowano i po ostudzeniu wstawiono do kolbek te same wiechy. Dane liczbowe zebrane są w tablicach XVI — XIX.

Sucha masa wiech kontrolnych była w tym końcowym okresie dojrzewania dość duża, wynosiła bowiem więcej niż 50% świeżej masy (Tabl. XVI). Tak jak i w poprzednich doświadczeniach, ubytek suchej masy na roztworach, zawierających glukozę, okazał się najmiejszy. Na inozycie widzimy mały przyrost suchej masy.

TABL. XVI.

Dośw. VI. Świeża i sucha masa wiech. Zbiór III. (21.VII—27.VII. 34; 6 dni). W kolbkach po 150 cm³ roztworów. Na jedną kolbkę po 6 — 7 wiech.

Serje	Świeża masa na początku dośw. g	Sucha masa		Zmiany suchej masy %
		na pocz. dośw. g	przy końcu dośw. g	
Kontrolna	30,1	15,25	—	—
Woda	30,1	15,25	14,65	— 3,9
Fosforany	30,0	15,20	14,40	— 5,3
„ + glukoza	30,1	15,25	15,15	— 0,1
„ + asparagina	30,1	15,25	14,26	— 6,5
„ + glukoza + asparag	30,0	15,20	15,08	— 0,1
„ + inozyt	30,0	15,20	15,51	+ 2,0

TABL. XVII.

Dośw. VI. Procentowa zawartość P_2O_5 w suchej masie.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fityn.	P_2O_5 nierozp.
Kontrolna	0,813	0,577	0,198	0,055	0.324	0,236
Woda	0,823	0,543	0,119	0,038	0,386	0,280
Fosforany	1,392	1,157	0,710	0,039	0,408	0,235
„ + glukoza	1,403	1,112	0,680	0,051	0,381	0,291
„ + asparagina	1,372	1,126	0,691	0,039	0,396	0,246
„ + glukoza + asparag,	1,373	1,096	0,645	0,040	0,411	0,277
„ + inozyt	1,261	0,957	0,527	0,044	0,386	0,304

Procentowa zawartość fosforu ogólnego w wiechach kontrolnych jest jeszcze większa, niż w zbiorze drugim, największa ze wszystkich zbiorów (Tabl. XVII). To samo dotyczy fosforu fitynowego i nierozpuszczalnego. Fosfór fitynowy wynosił już 40% fosforu ogólnego. Zmiejszyła się natomiast jeszcze bardziej ilość związków mineralnych i heksozo-fosforowych.

Przebieg syntezy związków organicznych był w tem stadjum mało intensywny (Tabl. XVIII i XIX). Procentowy i absolutny przyrost fityny i związków białkowych okazał się już nieznaczny; najwięcej fosforu nierozpuszczalnego wytworzyło

TABL. XVIII.

Dośw. VI. Zmiany ilości P_2O_5 w mg.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fityn.	P_2O_5 nierozp.
Wiechy kontrolne zawierały mg P_2O_5	124,0	88,0	30,2	8,4	49,4	36,0
W porównaniu z wiechami kontr. przybyło (+) lub ubyło (—) mg P_2O_5						
Woda	— 3,4	— 8,5	— 12,8	— 2,8	+ 7,1	+ 5,1
Fosforany	+ 76,4	+ 78,6	+ 72,0	— 2,8	+ 9,4	— 2,2
„ + glukoza	+ 88,6	+ 80,5	+ 72,8	— 0,7	+ 8,4	+ 8,1
„ + asparagina	+ 71,7	+ 72,6	+ 68,3	— 2,8	+ 7,1	— 0,9
„ + glukoza + asparag.	+ 83,1	+ 77,3	+ 67,0	— 2,3	+ 12,6	+ 5,8
„ + inozyt	+ 71,6	+ 60,5	+ 51,6	— 1,5	+ 10,4	+ 11,1

TABL. XIX.

Dośw. VI. Zmiany ilości P_2O_5 w procentach.

Serje	P_2O_5 ogólny	P_2O_5 og. rozp.	P_2O_5 mineralny	P_2O_5 heksoz.	P_2O_5 fityn.	P_2O_5 nierozp.
Woda	— 3	— 10	— 42	— 33	+ 14	+ 14
Fosforany	+ 62	+ 89	+ 238	— 33	+ 19	— 6
„ + glukoza	+ 71	+ 91	+ 241	— 8	+ 17	+ 22
„ + asparagina	+ 58	+ 83	+ 226	— 33	+ 14	— 3
„ + glukoza + asparag.	+ 67	+ 88	+ 222	— 27	+ 26	+ 16
„ + inozyt	+ 58	+ 69	+ 171	— 18	+ 21	+ 31

się na inozycie. Podkreślić tu również należy fakt, że w tem doświadczeniu po raz pierwszy wystąpiła większa synteza związków nierozpuszczalnych na wodzie i na fosforanach z glukozą.

Jeżeli porównać skład procentowy wiech kontrolnych, zebranych w kolejnych okresach dojrzałości, zauważyć można duże różnice w zawartości poszczególnych związków fosforowych (Tabl. IX, XIII i XVII). Wiechy okresu pierwszego, po upływie 8 dni od zapylenia, charakteryzują się przedewszystkiem wysoką zawartością związków mineralnych i już dość znaczną ilością fosforu nierozpuszczalnego. Ze związków or-

ganicznych rozpuszczalnych występują wyłącznie związki heksozo-fosforowe, a fosfór fitynowy wtedy się jeszcze nie wytwarza. W miarę postępu dojrzewania wiech przy wzroście procentowej zawartości fosforu ogólnego, wzrastał stopniowo i fosfór nierozpuszczalny, z 0,170 do 0,236% P_2O_5 w suchej masie. Przyrost fosforu nierozpuszczalnego był stały, ale niezbyt duży. W tym samym czasie odbywała się natomiast bardzo energiczna synteza fityny: P_2O_5 fitynowy z 0,003% w okresie pierwszym, wzrasta już do 0,169% w okresie drugim i dalej do 0,324% w okresie ostatnim. Ilość tej formy fosforu okazała się w okresie końcowym największa i wynosiła około 40% fosforu ogólnego. Równocześnie z przyrostem fosforu nierozpuszczalnego i fitynowego ubywa stale związków mineralnych i heksozo-fosforowych.

Z porównania tego widzimy, w jaki sposób odbywały się przemiany związków fosforowych w warunkach naturalnych, w wiechach, które otrzymywały bez przerwy materjał do syntezy z części wegetatywnych. Procesy zachodzące podczas dojrzewania w tych wiechach, jak również i w wiechach uciętych i zostawionych na pewien czas na różnych roztworach, nie różniły się pomiędzy zobą. W jednym i drugim wypadku odbywała się szczególnie energiczna synteza fityny.

W oddzielonych wiechach intensywność przemian związków fosforowych była zależna w wysokim stopniu od okresu dojrzałości. Wyraźnie to zobaczymy, zestawiając ilości wytworzonego fosforu fitynowego i białkowego w każdym z trzech doświadczeń w wiechach, do których nie doprowadzono żadnych związków, t. j. na wodzie:

	P_2O_5 fityn. mg	P_2O_5 nierozp. mg
Dośw. IV, zbiór I, 30.VI — 6.VII	+ 14,5	— 4,7
Dośw. V, zbiór II, 12.VII — 18.VII	+ 20,2	+ 0,6
Dośw. VI, zbiór III, 21.VII — 27.VII	+ 7,1	+ 5,1

Synteza fityny przebiegała najbardziej energicznie w pierwszym i drugim okresie, w trzecim osiągnęła wielkość już mniejszą. Z zestawienia ilości fosforu nierozpuszczalnego widać, że w pierwszym okresie część związków nierozpuszczalnych uległa rozkładowi, w okresie drugim, wtedy gdy synteza fityny była najintensywniejsza, fosfór związków nierozpusz-

czalnych nie wykazał żadnych istotnych zmian, wreszcie w okresie ostatnim wystąpiła synteza tych związków. Jakie są przyczyny, wywołujące rozpad związków nierozpuszczalnych, trudno powiedzieć; w każdym razie widzimy, że w okresie początkowym dojrzewania związki białkowe znajdowały się w równowadze najbardziej nietrwałej i jeżeli nie było dopływu materjałów z części wegetatywnych, następował ich rozpad. Równowaga staje się wraz z postępem dojrzewania bardziej trwała, tak że w okresie końcowym nawet na samej wodzie ilość związków nierozpuszczalnych powiększyła się o kilka miligramów. Jak widzieliśmy z wyników doświadczeń, doprowadzenie do wiech glukozy czy asparaginy, a jeszcze w większym stopniu asparaginy razem z glukozą, miało dla zachowania się i powstawania związków fosforowych nierozpuszczalnych pierwszorzędne znaczenie. W odróżnieniu od wyników doświadczeń I — III, zwiększenie koncentracji fosforu mineralnego w wiechach bez równoczesnego dostarczenia węglowodanu i azotowego związku organicznego, miało na przebieg syntezy fosforu nierozpuszczalnego raczej wpływ ujemny.

Zkolei należy omówić wyniki doświadczeń nad syntezą fityny w obecności inozytu. Zdawałoby się, że po dostarczeniu wiechom inozytu, jednej z części składowych fityny, synteza jej powinna się odbywać niezmieruie łatwo. Tymczasem doświadczenia dały wynik wprost przeciwny. Intensywniejszą syntezę fityny można było uzyskać przez zwiększenie koncentracji fosforu mineralnego lub, co miało większe znaczenie, przez doprowadzenie fosforu mineralnego razem z glukozą. Natomiast po dostarczeniu inozytu ilość wytworzonej fityny okazała się nietylko nie większą, ale przeciwnie mniejszą, niż w innych serjach.

Chcąc bliżej zbadać rolę inozytu w syntezie fityny, należało sprawdzić, czy inozyt znajduje się w wiechach i czy wiechy mają możność pobierania go z roztworu.

Dawniejsze oznaczenia inozytu w roślinach (55, 61, 7) dowiodły, że występuje on w częściach wegetatywnych, przedewszystkiem w częściach silnie rosnących. Danych, dotyczących zawartości inozytu w owsie nie znalazłem; dlatego też należało, chociaż w przybliżeniu stwierdzić, czy w tej roślinie inozyt występuje, czy nie. Próby przerobiłem na owsie, zebranym w większej ilości z ogrodu w 1935 r. Inozyt ozna-

czałem metodą Maquenne'a (55, 25, str. 240). Oznaczenia przeprowadzono oddzielnie w wiechach i łodygach w dwóch okresach, bezpośrednio po zapyleniu i 10 dni później. Pomimo stosowania dużych ilości płynów, co przy większej zawartości węglowodanów jest niezbędne, po zadaniu roztworów alkoholem i eterem otrzymywano z łodyg małe, z wiech większe osady, ale całkowicie bezpostaciowe. Osadów tych już nie przerabiałem. Mikroskopowo nie można było w nich stwierdzić obecności charakterystycznych kryształów inozytu. Z częścią tych osadów wykonano również próby na reakcję barwną na inozyt Scherer'a-Salkowskiego (25, str. 241). Reakcja wypadała ujemna. Tę samą reakcję przerobiono również z bezpośrednim wyciągiem z wiech i łydyg. Zawsze otrzymywano wyniki ujemne. Przerobiono wreszcie kilkadziesiąt reakcyj Scherer'a-Salkowskiego z wyciągami z materjałów doświadczeń IV, V i VI. Jedynie wiechy kontrolne doświadczenia IV dały reakcję dodatnią, ale słabą. Pozatem obecności inozytu nigdzie nie stwierdzono, z wyjątkiem tych wiech, które miały dostarczony inozyt w roztworach. W tych ostatnich wypadkach reakcje wypadały bardzo silne, co niezbicie dowiodło, że inozyt łatwo był przez wiechy pobierany. Jednak pomimo stwierdzonego gromadzenia dużych ilości inozytu, związek ten okazał się najzupełniej biernym, w najmniejszym stopniu nie zużytkowanym przez wiechy w procesie syntezy fityny.

UWAGI OGÓLNE I WNIOSKI.

W czasie dojrzewania nasion przebiegają procesy głównie w kierunku kondensacji i polimeryzacji związków prostych na bardziej złożone. Piettre (74) w niedawno ogłoszonej pracy wykazał, że procesy te mogą być wywołane nietylko przez reakcje biologiczne, ale także przez zmianę warunków fizyko-chemicznych, które powodują odwodnienie tkanek roślinnych. Umieszczenie niedojrzałej pszenicy, całych łodyg razem z kłosami, w temperaturze niskiej (— 5 do — 7°) lub poddanie roślin wysychaniu powodowało w ziarnach znikanie cukrów redukujących i białek prostych a tworzenie się związków złożonych.

W odniesieniu do związków fosforowych charakter przemian jest tego samego rodzaju; wspomniane wyżej doświad-

czenia Zaleskiego (102) potwierdzają to w całości. Można zatem w warunkach sztucznych wywoływać procesy syntetyczne podobne zupełnie do procesów, zachodzących normalnie w roślinie.

Metoda, która była zastosowana w niniejszej pracy, nadawała się szczególnie dobrze do badania przemian związków fosforowych; pozwoliła ona obserwować przebieg syntezy, odbywającej się jedynie kosztem wiadomych co do składu i ilości związków, znajdujących się w niedojrzałych wiechach lub też doprowadzonych do nich z zewnątrz. Jak wynika z doświadczeń, łatwo było oddzielić od siebie procesy tworzenia się poszczególnych związków fosforowych organicznych, co przy badaniu przemian w całej roślinie byłoby niemożliwe.

Przy wydatnej syntezie fityny można było zauważyć w zachowaniu się związków fosforowych nierozpuszczalnych trzy wypadki: 1. jednoczesne tworzenie się związków nierozpuszczalnych, 2. związki nierozpuszczalne pozostawały w ilości niezmiennej i 3. wyraźny rozpad tych związków. Widzieliśmy również ze szczegółowego opisu wyników, że na syntezę organicznych związków rozpuszczalnych (fitynę) i na syntezę związków białkowych miały doprowadzone substancje zupełnie różny wpływ. Narzuca się zatem wniosek, że synteza organicznych związków nierozpuszczalnych jest procesem, przebiegającym całkowicie niezależnie od powstawania fityny W jaki sposób odbywa się synteza związków fosforowych białkowych, nie można rozstrzygnąć na podstawie tych doświadczeń. Wiadomo tylko, że fityna nie jest związkiem pośrednim pomiędzy fosforem mineralnym a białkowym. Rola fityny w roślinie jest inna; jest ona jedynie materjałem zapasowym fosforu i to związkiem, wytwarzanym w samych nasionach, bez udziału części wegetatywnych.

Zbadanie zachowania się związków heksozo-fosforowych podczas dojrzewania pozwoliło w dużym stopniu określić ich rolę w procesach przemiany związków fosforowych. W wiechach kontrolnych, zbieranych w kolejnych stadjach dojrzałości, równocześnie z przyrostem fosforu nierozpuszczalnego i fitynowego, znajdowano w stosunku do suchej masy i ogólnej zawartości fosforu stały i równoległy ubytek związków mineralnych i heksozo-fosforowych.

W wiechach odciętych od łodyg zawartość tych związ-

ków również malała; odbywała się jednak i synteza, bo jak widzieliśmy w niektórych wypadkach ilość ich wzrosła. Zmiany jakie zachodziły w ilościach tych związków były małe, ale bardzo wyraźne i prawidłowe. Można więc sądzić, że związki heksozo-fosforowe są związkami przejściowemi w syntezie innych, bardziej złożonych połączeń fosforowych.

Do omówienia pozostał wreszcie sam proces powstawania fityny. W doświadczeniach stwierdzona została niemożliwość syntezy fityny bezpośrednio z inozytu i fosforu mineralnego. Gdyby w pierwszem stadjum syntezy fityny tworzyły się z części składowych związki inozyto-fosforowe o niższej zawartości fosforu, a następnie byłyby przyłączane do nich stopniowo drobiny kwasu fosforowego, to i w tym wypadku dodatek inozytu powinien wpłynąć korzystnie na końcowy rezultat syntezy. Tymczasem wyniki doświadczeń przeczą temu wyraźnie.

Podobną trudność syntezy organicznych związków fosforowych rozpuszczalnych stwierdzili Weiszflog i Mengdehl (93) w swych doświadczeniach nad żywieniem młodych roślin kukurydzy związkami organicznemi. Rośliny na pożywkach, zawierających obok kwasu fosforowego inozyt, wytworzyły niezwykle małe ilości organicznych związków fosforowych rozpuszczalnych; rośliny na pożywkach z glukozą czy fruktozą wytwarzały te związki łatwo i w dużych ilościach.

W naszych doświadczeniach synteza fityny przebiegała energicznie w tych wypadkach, jeżeli obok fosforanów do wiech doprowadzona była glukoza. Oprócz tego stwierdzone zostało stałe znikanie związków heksozo-fosforowych przy równoczesnym wzroście ilości fityny. Wobec tego należy wyciągnąć wniosek, że związki heksozo-fosforowe odgrywają zasadniczą rolę w syntezie fityny, że są związkami pośredniemi pomiędzy fosforem mineralnym a fitynowym. Syntezę fityny należałoby więc przedstawić w następujący sposób:

P mineralny → P zw. heksozo-fosf. → P fitynowy.

Synteza przebiegałaby zatem poprzez zmiany, zachodzące wewnątrz drobiny związków heksozo-fosforowych. Fakt, że związki heksozo-fosforowe występują w roślinach w ilościach małych, nie może stanowić przeszkody do przyjęcia takiego tłumaczenia przebiegu procesu, bo jak wiemy, związki te tworzą się

w roślinie stale i niezwykle łatwo. Jeżeli jeszcze uwzględnić dane, dotyczące własności inzytu (56, 57, 64, 58), a przedewszystkiem jego bliskie pokrewieństwo z cukrami (reakcja furfurolowa, zdolność do fermentacji mlekowej), wniosek powyższy zdaje się być zupełnie usprawiedliwiony.

WNIOSKI.

Z wyników badań przemian związków fosforowych w wiechach owsa, odciętych od części wegetatywnych i trzymanych przez kilka dni na różnych roztworach, można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Procesy powstawania organicznych związków fosforowych nierozpuszczalnych i rozpuszczalnych (fityny) przebiegają zupełnie niezależnie od siebie.

2. Fityna jest tylko produktem zapasowym fosforu i w syntezie związków fosforowych nierozpuszczalnych nie odgrywa żadnej roli.

3. Synteza fityny następuje w samych nasionach bez udziału części wegetatywnych.

4. Związki heksozo-fosforowe stanowią stadjum pośrednie w syntezie fityny z fosforu mineralnego.

ÜBER DIE SYNTHESE DER ORGANISCHEN PHOSPHORVERBINDUNGEN IN DEN PFLANZEN.

In dieser Arbeit wurden quantitativ die Veränderungen in den Phosphorverbindungen während des Reifens des Hafers untersucht. Ausser den Bestimmungen des anorganischen, Phytin- und unlöslichen-Phosphors wurden gleichfalls Hexosephosphate bestimmt. Auf Grund der analytischen Ergebnisse sind die Zusammenhänge, welche bei der Bildung der organischen Phosphorverbindungen in den Pflanzen auftreten, besprochen worden. Zuletzt wurde die Rolle der Hexosephosphate in den vorkommenden synthetischen Prozessen diskutiert.

LITERATURA.

1. Adler, L. 1915. Bioch. Ztschr. *70*, 1 — 36.
2. Adler, L. 1916. Ibid. *75*, 319 — 338.
3. Anderson, R. J. 1914. Journ. Biol. Chem. *17*, 141 — 150.
4. Anderson, R. J. 1914. Ibid, *17*, 151 — 163.
5. Anderson, R. J. 1914. Ibid. *17*, 165 — 170.
6. Anderson, R. J. 1914. Ibid. *17*, 171 — 190.
7. Anderson, R. J. and Kulp, W. L. 1922. Ibid. *50*, 433 — 453.
8. Averill, H. P. and King, C. G. 1926. Journ. Amer. Chem. Soc. *48*, 724 — 728,
9. Balicka — Iwanowska, G. 1906. Rozpr. Wydz. mat.-przyr. Ak. Um. w Krakowie, Ser. B. *46*, 1 — 25.
10. Barrenscheen H. K. und Albers, W. 1928. Bioch, Ztschr. *197*, 261 — 277.
11. Barrenscheen, H. K. und Pany, J. 1930, Ibid. *219*, 364 — 380.
12. Bergmann, M. und Zervas, L. 1933. Handbuch der Pflanzenananalyse. Herausg. von G. Klein. (Wien) *4*, 299 — 362.
13. Blanck, E. und Giesecke, F. 1934, Journ. f. Landw. *82*. 33—59.
14. Bleyer, B., Fischler, F. und Schenck, G. 1931. Bioch. Ztschr. *238*, 216 — 225.
15. Bodnár, J. 1925. Ibid. *165*, 1 — 15.
16. Buchner, E. und Antoni, W. 1905. Ztschr. f. physiol. Chemie. *46*, 136 — 154.
17. Buchner, E. und Klatte, F. 1908. Bioch. Ztschr. *8*, 520 — 557.
18. Burgevin, H. et Guyon, G. 1933. Ann. Agron. *3*, 663 — 674.
19. Clarke, G. 1914. Journ. Chem. Soc. *105*, 535 — 545.
20. Cockefair, E. A. 1931. Amer. Journ. Bot, *18*, 582 — 597.
21. Collison, R. C. 1912. Journ. Biol. Chem. *12*, 65 — 72.
22. Déléano, N. T. 1907, Genève Inst. de Bot. 7-me sér., IX Fasc., 1 — 48.
23. De Turk, E. E., Holbert, J. R. and Howk, B. W. 1933. Journ. Agr. Res, *46*, 121 — 141.
24. Euler, H. und Kullberg, S. 1911. Ztschr. f. physiol. Chemie. *74*, 15 — 28.
25. Falkenhausen, F. und Neuberg, C. 1933. Handbuch der Pflanzenanalyse. Herausg. von G. Klein. (Wien). *2*, 240 — 243.
26. Fest, F. 1907. Inaug. Dissertation. Merseburg. 1 — 47.
27. Feyte, A. 1933. Ann. Agron. *3*, 787 — 798.
28. Fritsch, R. 1919. Ztschr. f. physiol. Chemie. *107*, 166 — 175.
29. Harden, A. and Young, W. J. 1908, Proc. Roy. Soc. B. *80*, 299 — 311.
30. Harden, A. and Young. W. J. 1909. Ibid. B. *81*, 336 — 347.
31. Harden, A. und Young, W. J. 1911. Bioch. Ztschr. *32*, 173—176.
32. Heubner, W. 1914. Bioch. Ztschr, *64*, 409 — 421
33. Heubner, W. und Stadler, H. 1914. Ibid, *64*, 422 — 437.
34. Iwanow, L. 1902. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. *20*, 366 — 372.
35. Iwanow, L. 1910. Bioch. Ztschr. *25*, 171 — 186.

36. Jegorow, M. A. 1912. Ibid. *42*, 432 — 439.
37. Jegorow, M. A. 1913. Izw. Mosk. Sielskochoz. Inst. *19*, 1 — 94.
38. Jegorow, M. A. 1914. Bioch. Ztschr. *61*, 41 — 54.
39. Klein, G. 1926. Planta. *2*, 497 — 506.
40. Knowles, F. and Watkin, I. 1932. Journ. Agr. Science. *22*. 755 — 766.
41. Kobel, M. und Neuberg, C. 1933. Handbuch der Pflanzenanalyse, Herausg. von G. Klein. (Wien). *2*, 553 — 569.
42. Koehler, Z. 1926. Bull. de l'Acad. Pol. des Sciences et des Lettres, B. 709 — 848.
43. Kostytschew, S. 1909. Bioch. Ztschr. *23*. 137 — 142.
44. Kostytschew, S. 1926. Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Bd. I. (Berlin).
45. Lebedew, A. 1909. Bioch. Ztschr. *20*, 114 — 125.
46. Lebedew, A. 1910. Ibid. *28*, 213 — 229.
47. Lindenbaum, S. 1926. Bull. de l'Acad. Pol. des Sciences et des Lettres. B. 1041 — 1098.
48. Lindenfeld, K. 1933. Roczniki Chemji. *13*, 57 — 63.
49. Lityński, T. 1933. Ibid. *13*, 578 — 584.
50. Lityński, T. 1935. Ibid. *15*, 37 — 43.
51. Löb, W. 1911. Bioch. Ztschr. *32*, 43 — 58.
52. Lyon, C. J. 1924. Journ. Gen. Physiol. *6*, 299 — 306.
53. Lyon, C. J. 1927. Ibid. *10*, 599 — 615.
54. Majewski, F. 1930. Acta Soc. Bot. Pol. 7, 467 — 498.
55. Maquenne, M. 1887. Compt. rend. de l.Acad. d. Sc. *104*, 225—227.
56. Maquenne, M. 1887. Ibid. *104*, 297 — 299.
57. Maquenne, M. 1887, Ibid. *104*, 1719 — 1722.
58. Mayer, P. 1908. Bioch. Ztschr. *9*, 533 — 536.
59. Mayer, P. 1927. Ibid. *186*, 313 — 316.
60. Mc Cance, R. A. and Widdowson, E. M. 1935, Bioch. Journ. *29*, 2694 — 2699.
61. Meillère, G. 1907. Comp. rend. de la Soc. de Biol, *63*, 286 — 288.
62. Minkowska, S. 1926. Bull. de l'Acad. des Sciences et des Lettres. B. 1007 — 1039.
63. Mnich, E. 1931. Bull. de l'Acad. Pol. des Sciences et des Lettres, B. 123 — 147.
64. Neuberg, C. 1908. Bioch. Ztschr. *9*, 551 — 556.
65. Neuberg, C. 1908. Ibid. *9*, 557 — 560.
66. Neuberg, C. 1909. Ibid. *16*, 406 — 410.
67. Neuberg, C. und Pollak, H. 1909. Ibid. *23*, 515 — 517.
68. Neuberg, C. und Pollak, H. 1910. Ber. d. deutsch. Chem. Ges. *43*, 2060 — 2068.
69. Neuberg, C. und Pollak, H. 1910. Bioch. Ztschr. *26*, 514 — 528.
70. Neuberg, C. 1914. Ibid. *61*, 187 — 188.
71. Neuberg, C. und Leibowitz, J. 1927. Ibid. *184*, 489 — 507.
72. Osborne, T. B. 1924. The vegetable proteins. (London).
73. Palladin, W. und Iwanoff, N. 1912. Bioch. Ztschr. *42*, 325—346.
74. Piettre, M. 1934. Compt, rend. de l'Acad. d. Sc. *198*. 608 — 611.

75. Pischinger, E. 1932. Bull. de l'Acad. Pol des Sciences et des Lettres. B. 37 — 50.
76. Posternak, S. 1900. Rev. génér. de Botanique. *12*, 5 — 24, 65 — 73.
77. Posternak, S. 1903. Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. *137*, 202—204.
78. Posternak, S. 1903. Ibid. *137*, 337 — 339.
79. Posternak, S. 1903. Ibid, *137*, 439 — 441.
80. Posternak, S. 1903. Compt. rend. de la Soc. de Biol. *55*. 1190 — 1192.
81. Posternak, S. 1919. Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. *168*, 1216—1218.
82. Posternak, S. 1919. Ibid. *169*, 37 — 39.
83. Posternak, S. 1919. Ibid. *169*, 138 — 140.
84. Posternak, S. et Posternak, Th. 1928. Ibid. *186*, 261 — 263.
85. Rippel, A. 1920. Bioch. Ztschr. *103*, 163 — 171.
86. Schulze, E. und Winterstein, E. 1896. Ztschr. f. physiol. Chemie. *22*, 90 — 94.
87. Schulze, E. und Winterstein, E. 1903. Ibid. *40*, 120 — 122.
88. Seidler, L. 1913. Die Landw. Vers. Stat. 79/80, 563 — 610.
89. Staniszkis, W. 1909. Roczniki Nauk Roln. *4*, 319 — 354.
90. Starkenstein, E. 1910. Bioch. Ztschr, *30*, 56 — 98.
91. Steudel, H. und Peiser, E. 1933. Handbuch der Plfanzenanalyse. Herausg. von G. Klein. (Wien). *4*, 411 — 475.
92. Vorbrodt, W. 1910. Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie. B. 414 — 510.
93. Weiszflog, J. und Mengdehl, H. 1933. Planta, *19*, 182 — 241.
94. Wiązownicka, H. 1933. Bull. de l'Acad. des Sciences et des Lettres. B. 107 — 122.
95. Wilfarth, H., Römer, H. und Wimmer, G. 1906. Die Landw. Vers.-Stat. *63*, 1 — 70.
96. Winterstein, E. 1897. Ber. d. deutsch. Chem. Ges. *30*, 2299—2302.
97. Winterstein, E. 1908. Ztschr. f. physiol. Chemie. *58*, 118 — 121.
98. Witzemann, E. J. 1920. Journ, Biol, Chem. *45*, 1 — 22,
99. Young, W. J. 1909. Proc. Roy. Soc. B. *81*, 528 — 545.
100. Young, W. J. 1911. Bioch. Ztschr. *32*, 177 — 188.
101. Zaleski, W, 1902. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. *20*, 426 — 433.
102. Zaleski, W. 1907. Ibid. *25*, 58 — 66.
103. Zaleski, W. 1910. Ibid. *28*, 319 — 329.
104. Zaleski, W. und Reinhard, A. 1910. Bioch. Ztschr. *27*, 450—473.