Wpływ szczepienia na syntezę alkaloidów tropinowych

The Influence of Grafting on the Synthesis of Tropine Alkaloids

A. KUZDOWICZ

PRZEGLĄD LITERATURY

Zagadnienie syntezy alkaloidów i wpływu szczepienia na zachowanie potomstwa nasiennego szczepionych roślin ważne jest nie tylko z biologicznego, ale i z praktycznego punktu widzenia. Wysuwane ostatnio możliwości utrwalenia w potomstwie właściwości nabytych w roku szczepienia nasuwały szerokie możliwości zastosowania tej metody do otrzymywania roślin o nowych właściwościach. Łubiny bezalkaloidowe, zwiększenie względnie zmniejszenie zawartości nikotyny w tytoniach, wypróbowanie nowych roślin alkaloidowych, oto tylko niektóre możliwości wykorzystania szczepień w hodowli.

Badania nad zagadnieniem biogenezy charakterystycznych produktów przemiany materii psiankowatych — ich alkaloidów — przyniosły wiele ciekawych wyników, które jednak nie zawsze były z sobą zgodne. Ta niezgodność wynikała częściowo z tego, że wielu badaczy, przeprowadzając badania nad jakąś grupą alkaloidów, uogólniało uzyskane wyniki na wszystkie alkaloidy w ogóle.

Większość autorów decydującą rolę w tworzeniu alkaloidów przypisuje korzeniowi, nieliczni natomiast nadziemnym częściom rośliny. Najbliżsi prawdy byli jednak ci, którzy wypowiadali pogląd, że pewne alkaloidy bądź cząstki alkaloidów tworzą się w korzeniach, a inne w liściach. Jak zobaczymy z przeglądu literatury dotyczącej tworzenia się alkaloidów, badania ostatnich lat potwierdziły słuszność ich poglądu.

W rozwiązywaniu zagadnienia syntezy alkaloidów główną rolę odegrały szczepienia wzajemne roślin alkaloidowych i bezalkaloidowych. Ze względu na to, że w pracy niniejszej badany był wpływ szczepienia na syntezę alkaloidów tropinowych, przegląd prac ograniczymy tylko do tej grupy alkaloidów, a omówienie powstawania i przechodzenia innych grup alkaloidów z rodziny psiankowatych uwzględnimy tylko o tyle, o ile to będzie konieczne dla wyjaśnienia całości zagadnienia.

W 1910 roku ukazały się pierwsze prace Mayera i Schmidta oraz Javilliera, które starały się wyjaśnić w jakich częściach rośliny tworzą się alkaloidy. Mayer A. i Schmidt E. (1910) wykonali trzy kombinacje szczepień wzajemnych, przy czym w jednej z nich podkładką był ziemniak, a zrazem bielun. Wyciąg z kłąbów ziemniaka dał pozytywną reakcję na oku kota, jednak dopiero po dodaniu kwasu siarkowego, co przemawia przeciw atropinie i hyoscyaminie. Zawartość alkaloidów w kłąbach, jak podkreślają autorzy, była minimalna. Zraz nie był badany na zawartość alkaloidów. Inne kombinacje obejmowały podobne szczepienia tytoniu na ziemniakach i dwóch gatunków tytoni o różnej zawartości nikotyny. Kłęby ziemniaka wykazały minimalne ilości nikotyny, a w szczepieniach tytoni bogatych i ubogich w nikotynę nastąpiło wzajemne zrównanie zawartości nikotyny. Autorzy na podstawie tych niepewnych wyników wyciągnęli zbyt pochopnie wniosek o przejściu alkaloidów przez miejsce szczepienia.

W tym samym czasie Javillier (1910) opublikował wyniki badań nad podobnymi szczepieniami. Doświadczenia Javilliera obejmowały cztery grupy szczepień, w których podkładkami były ziemniak i pomidor, a zrazem pokrzyk i tytoń oraz pokrzyk jako podkładka, a pomidor jako zraz. Badania kłąbów ziemniaczanych na atropinę i na nikotynę dały wyniki ujemne, a więc wypadły odmiennie niż u poprzednich autorów. Owoce pomidora z roślin, na których zaszczepiony był pokrzyk, nie dały pozytywnej reakcji Vitali, jedynie próba żrenicowa wypadła dodatnio. W szczepieniach odwrotnych owoce pomidora dały pozytywną reakcję Vitali i dodatnią próbę żrenicową. Łodygi i liście odnośnych zrazów dały wyniki ujemne. Uzyskane w pewnych kombinacjach wyniki mają przemawiać za przejściem alkaloidów pokrzyku przez miejsce szczepienia. Autor zaznacza jednak, że ta wędrówka odbywa się w bardzo ograniczonych rozmiarach.

Z innej strony do zagadnienia tego podeszli Daniel L. i Ripert J. (1923). Poprzednich autorów interesowało głównie zagadnienie translokacji alkaloidów. Daniel i Ripert natomiast w braku lub obecności alkaloidów dopatrywali się chemicznych przemian, które zaszły u partnerów szczepieniowych. Autorzy ci wykonali szczepienia podwójne, w których podkładką był pomidor, zrazem pośrednim pokrzyk, a zrazem właściwym znów pomidor. Pokrzyk nie wykazał w tym wypadku alkaloidów. Ten brak alkaloidów tłumaczą autorzy zaburzeniami w przemianie materii, w wyniku których nie mogły wytworzyć się konieczne dla powstania alkaloidów związki.

Krajewoj I. M. (1941) szczepił pomidory w stadium liścieni na bieluniu. Dla pozbawienia zraza działalności fotosyntetycznej usuwano mu liście, a łodygę owijano ciemnym papierem. W owocach tak prowadzone-

go pomidora stwierdzono próbami biologicznymi (działanie atropiny na mięsień sercowy człowieka i reakcja żrenicowa) znaczne ilości atropiny. Ponieważ w wyniku obcinania liści i zaciemniania zrazów nie mogły one wykazać żadnej działalności fotosyntetycznej, autor uważa, że alkaloidy bielunia musiały przejść do zrazów z podkładki.

Hieke K. (1942) dla przebadania zagadnienia powstawania i wędrówki alkaloidów wykonał cały szereg szczepień tytoni i pomidorów, szczepienia wzajemne pokrzyku i pomidora oraz tytoniu z pokrzykiem i bieluniem. W pewnych kombinacjach podkładki pozbawione były własnego aparatu asymilacyjnego. Na podstawie wykonanych analiz ilościowych, jakościowych i biologicznych autor dochodzi do wniosku, że w tworzeniu alkaloidów badanych przez niego roślin decydującą rolę odgrywa system korzeniowy.

Mothes K. i Hieke K. (1943) badali sok otrzymany z miejsca ścięcia rośliny tytoniowej powyżej szyjki korzeniowej. Po ścięciu rośliny z rany wydobywa się sok, który zawiera nikotynę. Koncentracja nikotyny w takim soku może być wyższa niż w soku liściowym. Nie może więc być żadnych wątpliwości co do tego, że korzeń oddaje nikotynę do łodygi i że trzeba go uważać za główne miejsce tworzenia alkaloidów.

Tusznikowa M. M. (1944, 1946, 1948) wykonała różne szczepienia roślin alkaloidowych i bezalkaloidowych następujących gatunków: pokrzyk, psianka czarna, pomidor, ziemniak, tytoń, bielun. Analizy wykazały, że w przypadku szczepień roślin bezalkaloidowych na podkładkach alkaloidowych zrazy zawierają alkaloidy charakterystyczne dla podkładki, przy czym ilościowo jest ich tyle, co w roślinach kontrolnych. W przypadkach szczepień roślin alkaloidowych na podkładkach bezalkaloidowych alkaloidy charakterystyczne dla danej rośliny nie tworzą się, wględnie zawartość ich jest niewielka.

Tusznikowa nie ograniczyła się jak poprzedni badacze do zbadania samego zagadnienia syntezy alkaloidów w roku szczepienia, ale badała również potomstwo nasienne z tych szczepień. Analiza chemiczna roślin następnych pokoleń wykazała obecność alkaloidów u roślin bezalkaloidowych, które szczepione były na roślinach alkaloidowych. Np. w owocach pomidora w roku zaszczepienia go na tytoniu autorka stwierdziła 0,73% nikotyny, w pierwszym pokoleniu nasiennym zawartość ta wyniosła 0,30%, a w drugim spadła do 0,20%. W liściach, łodygach i bulwach ziemniaka wyrosłego z bulwy powietrznej, jaka wytworzyła się w roku szczepienia ziemniaka na bieluniu, stwierdzono 0,15% atropiny.

W potomstwie roślin alkaloidowych ze szczepień na podkładkach bezalkaloidowych obserwuje się stałe zwiększanie alkaloidów z pokolenia na pokolenie. I tak np. pierwsze pokolenie nasienne pokrzyku wykazało już 0,15% atropiny, kontrola 0,35%, a pierwsze pokolenie pokrzyku ze szcze-

pień na tytoniu wykazało 0,34% atropiny i 0,2% nikotyny (w roku szczepienia wykryto w zrazie 0,64% nikotyny i ślady atropiny). Liście pierwszego pokolenia bielunia ze szczepień na pomidorze wykazały 0,1% atropiny, podczas gdy kontrola miała 0,25%. Z badań tych Tuszniakowa wyciągnęła wniosek, że zmiany w zawartości alkaloidów uzyskane w roku szczepienia utrwalają się w potomstwie nasiennym.

Peacock S. M., Leyerle D. B. i Dawson R. F. (1944) w wyniku doświadczeń przeprowadzonych ze szczepieniami wzajemnymi bielunia z tytoniem i pomidorami dochodzą do wniosku, że synteza alkaloidów tropinowych związana jest ściśle z systemem korzeniowym. Liście bielunia są całkowicie niezdolne do wytworzenia tych alkaloidów w przypadku zaszczepienia go na pomidorze czy tytoniu. Natomiast bielun szczepiony na tytoniu wykazał niewłaściwy dla niego alkaloid, nikotynę. Również obecność alkaloidów tropinowych w soku, który wypływa z korzenia po ścięciu łodygi, przemawia za tym, że głównym miejscem tworzenia tych alkaloidów jest korzeń.

Hegnauer R. (1951) uważa, że rozmieszczenia alkaloidów w poszczególnych częściach bielunia nie można wytłumaczyć jedynie czysto biernym transportem i nagromadzeniem przez prąd transpiracyjny, który idzie z korzenia poprzez łodygę do liści. Ścięte nisko łodygi bielunia dają dużo soku roszeniowego, jednak ilość alkaloidów, jakie ten sok zawiera, nie tłumaczy zawartości alkaloidów w odciętych wierzchołkach. We wszystkich częściach roślin składających się z systemu korzeniowego pomidora i zrazu bielunia autor stwierdził małe ilości mydriatycznie działających alkaloidów. Pomidor zaszczepiony na bieluniu zawierał 0,3% hyoscyaminy i małe ilości skopolaminy. Nagromadzenie alkaloidów w kwiatach-owocach i liściach jest jednak inne niż w samym bieluniu. Hegnauer wykazał również, że w różnych okresach rozwojowych rośliny mogą występować różne alkaloidy. Gatunki psianek, które syntetyzują skopolaminę i hyoscyaminę, wykazują w pierwszym okresie rozwoju prawie samą skopolaminę, natomiast w okresie kwitnienia przeważa już hyoscyamina. Dwuletnie pędy pokrzyku zawierają również prawie wyłącznie hyoscyaminę.

Mothes K. i Romeike A. (1951 i 1952) przeprowadzili badania nad zagadnieniem syntezy alkaloidów w częściach nadziemnych rośliny. W tym celu wykonali szczepienia kilku odmian bielunia i pokrzyku na różnych odmianach pomidorów. Analizy wierzchołków pędów, młodych liści, a także owoców i nasion tych zrazów wykazały obecność alkaloidów tropinowych. Wniosek z tych doświadczeń, zdaniem autorów, jest prosty. Synteza odnośnych alkaloidów odbywać się może nie tylko w korzeniach, ale i w częściach nadziemnych rośliny. Jasne jest jednak, że synteza na obcym bezalkaloidowym korzeniu ilościowo musi być mniejsza niż

na własnym korzeniu. Dlatego też w takich wypadkach synteza nigdy nie uzyskuje normalnego stanu.

Autorzy ci zbadali również pokolenie nasienne pomidorów, które rosły na bieluniu i tytoniu. Rośliny wyrosłe z takich nasion ani w młodości, ani w późniejszym okresie rozwoju nie wykazały nawet śladów atropiny lub nikotyny.

Evans W. i Patridge M. (1952) na podstawie analiz szczepień wzajemnych *Datura tatula* var. *innermis* i *Datura ferox*, które produkują alkaloidy grupy tropinowej — jedna (*D. tatula*) hyoscynę i hyoscyaminę, druga hyoscynę i metyloidyne, dochodzą również do wniosków, że korzeń nie jest jedynym miejscem biogenezy całej cząsteczki alkaloidu i że co najmniej końcowe stadia tego procesu zachodzić mogą w nadziemnych częściach tych roślin.

M. Jordan (1952) wykonała szczepienia wzajemne lulka i pomidorów. Na podstawie wyników analiz tych szczepień autorka dochodzi do wniosku, że synteza hyoscyaminy odbywa się w liściach. W liściach lulka na korzeniach pomidora brak jest wprowadzie hyoscyaminy, natomiast alkaloid ten pojawia się w liściach podkładki, to jest pomidora. Fakt ten tłumaczy autorka w następujący sposób: Wskutek szczepienia lulka na obcorodzajowej podkładce synteza hyoscyaminy nie może dobiec do końca z powodu zaburzeń w metabolizmie jego liści. Synteza ta jednak może dokonać się w podkładce. Wprowadzie liście lulka zaszczonego na pomidorze nie zawierają alkaloidów, jednak są one niezbędne do zapoczątkowania syntezy.

Pomidor zaszczone na lulku nie wykazał alkaloidów. W szczepieniach wzajemnych pomidorów i lulka hyoscyamina występuje zawsze w normalnej ilości w obu podkładkach, a więc i lulka i pomidora, natomiast brak jej jest w zrazach i jednej i drugiej rośliny.

Warren Wilson P. M. (1952) w badaniach nad syntezą i transportem alkaloidów stosował różną metodykę szczepienia. Szczepione były pokrzyk na pomidorze i miechunce oraz bieluń na pomidorze. Zrazy i podkładki takich szczepień nie wykazały alkaloidów tropinowych. Liście tych szczepień wykazały jednak na nowo alkaloidy po zakorzenieniu ich. Podłodygowe organy pomidora, ziemniaka i miechunki zawierają alkaloidy, o ile rośliny te trzymane będą w „symbiozie“ (zszczone razem) z pokrzykiem. Przyszczepienie takie nie wywiera jednak żadnego wpływu na syntezę alkaloidów w korzeniu pokrzyku. Transport alkaloidów odbywa się więc w górę i w dół.

W. Endemann (1953) dla stwierdzenia, czy szczepienie wywiera wpływ na zawartość nikotyny w potomstwie nasiennym szczonego roślin, wykonał szczepienia wzajemne tytoni ubogich i bogatych w nikotynę. Szczepił również różne odmiany tytoni na pomidorach, przy czym

dla wzmocnienia wpływu w pewnych kombinacjach szczepienia były powtarzane przez trzy lata z rzędu, w innych obcinano liście zrazom. Wyniki tych prac wykazały, że szczepienie nie wywiera żadnego wpływu na potomstwo nasienne pomimo działania nawet przez trzy lata tej samej podkładki.

Streszczając powyższy przegląd literatury dotyczącej syntezy i transportu alkaloidów tropinowych możemy stwierdzić:

1. Głównym, ale nie jedynym ośrodkiem tworzenia się tych alkaloidów jest korzeń.

2. W liściach odbywa się również synteza alkaloidów tropinowych, jednak w znacznie mniejszych rozmiarach. Nagromadzenie alkaloidów, jakie spotykamy w liściach w normalnych warunkach, można wytłumaczyć tylko doprowadzeniem z części podziemnej rośliny.

3. Dotychczasowe prace nad przejściem alkaloidów z podkładki alkaloidowej do niealkaloidowego zrazu dały u różnych autorów niezgodne wyniki. Jedni (Krajewoj S., Peacock S. M., Tusznikowa M. M.) znajdowali w takich szczepieniach alkaloidy, inni stwierdzili tylko zmianę smaku owoców (Mothes K. i Romeike A.), u innych wreszcie owoce roślin niealkaloidowych szczepionych na alkaloidowych podkładkach wolne były od alkaloidów (James W. O., Jordan M., Vincent D. i Duducq - Mathou T.).

4. Badania potomstwa nasiennego roślin niealkaloidowych, które w roku szczepienia na alkaloidowych podkładkach zawierały alkaloidy, wykazały, że właściwości tej rośliny nie dziedziczą (Mothes K. i Romeike A. oraz Endemann W.). Jedynie Tusznikowa wykryła alkaloidy jeszcze w dwóch pokoleniach takich szczepień, przy czym ilość ich zmniejszała się z roku na rok.

W odwrotnych przypadkach, a więc zachowania się potomstwa roślin alkaloidowych, które w roku szczepienia na niealkaloidowych podkładkach nie wykazują właściwych im alkaloidów bądź wykazują ich minimalne ilości, to Tusznikowa w pierwszym i drugim pokoleniu z takich szczepień stwierdziła zmniejszone ilości alkaloidów, Endemann natomiast nie stwierdził różnicy w zawartości alkaloidów nawet w przypadkach, kiedy szczepienia powtarzano przez trzy lata z rzędu.

Wyników tych nie można uogólniać na wszystkie rośliny alkaloidowe. To, co powiedziano wyżej o alkaloidach tropinowych, odnosi się również do nikotyny (Dawson R. F. 1948, Hieke K. 1942, Iljin 1949, Maszkowcew M. F. i Szirotenko H. A. 1951). Jednak już na przebieg syntezy anabazyny (Iljin 1949), a także glikoalkaloidów (solanina, demisyne, tomatyna) system korzeniowy nie wywiera żadnego wpływu (Prokoszew S. M. i współprac. 1952).

BADANIA WŁASNE

Dla przebadania zagadnienia syntezy alkaloidów tropinowych i zachowania się potomstwa szczepionych roślin alkaloidowych i bezalkaloidowych wykonaliśmy szczepienia wzajemne bielunia i pomidorów. Do szczepień użyliśmy 5 odmian pomidorów (*Lycopersicum esculentum* Mill.). Z tych trzy należą do odmian handlowych, a mianowicie *Earliest of All*, *Immun* i *Złota królowa*, oraz dwie odmiany mieszańcowych o nie ustalonej jeszcze dziedziczności. Jedna z tych odmian posiada owoce malinowe, a druga żółte, cytrynowe. Sądziliśmy, że odmiany te jako bardziej skłonne do zmian łatwiej poddadzą się wpływowi partnera szczepieniowego. Odmiany handlowe *Earliest of All* i *Immun* mają owoce czerwone, a *Złota Królowa* żółtopomarańczowe. Z bieluni natomiast do szczepień wzięliśmy odmiany kolczastą i bezkolczastą *Datura stramonium* L. i *D. stramonium* var. *inermis*. Podkładkami we wszystkich szczepieniach były dobrze rozwinięte rośliny, na ogół w stadium na krótko przed kwitnieniem, a zrazami (w pewnej części szczepień) młode siewki w stadium liścieni bądź pierwszego lub drugiego listka. W innej grupie szczepień zrazami były roślinki starsze, w stadium kolejnego 5—7 listka lub w stadium pączków kwiatowych. Odnośne dane podane są przy omawianiu poszczególnych doświadczeń. Szczepienia młodych siewek wykonane były za skórkę, a starszych roślin w klin. Pomidor zrasta się bardzo dobrze z bielunem, a przyjęcie się szczepienia uzależnione jest jedynie od samej techniki szczepienia. Rozwój zrazów bielunia na pomidorze i pomidora na bieluniu przebiegał normalnie. Te wszystkie szczepienia, które zrosły się dobrze, w końcowym stadium rozwojowym nie różniły się prawie zupełnie od roślin kontrolnych. Pewne zahamowanie we wzroście części szczepień (ok. 10%) spowodowane było gorszym zrostem podkładki ze zrazem.

W pewnych grupach szczepień dla wywołania większego wpływu podkładki na zaszczepione na niej młode siewki po zrosnięciu pozbawiono je liści, zostawiając tylko nowo wyrosłe. Dopiero kiedy zaczęły formować się zawiązki pączków kwiatowych przestaliśmy obcinać liście. Ta grupa szczepień pozbawiona własnych liści rozwijała się również wolniej. Przebieg kwitnienia i owocowania poza opóźnieniem wywołanym złym zrostem i obcinaniem liści był na ogół normalny.

Liście i owoce przeznaczone do badań na zawartość alkaloidów suszone były według przepisów farmakopealnych. Alkaloidy oznaczano ilościowo przeprowadzając je w chlorowodorki, a resztę niezwiązanego kwasu odmiareczkowano mianowanym ługiem potasowym. Do oznaczeń zastosowano metodę Stolla (G. Klein, *Handbuch der Pflanzenanalyse* tom III, str. 532—533). Jakościowo analizy sprawdzane były za pomocą reakcji Vitali i analizami cytochemicznymi wg O. J a m e s a (1946).

Duża ilość zebranego materiału pozwoliła na wykonanie wszystkich analiz chemicznych w trzech powtórzeniach. Owoce i liście odmian pomidorów użytych do szczepień przebadane były uprzednio na zawartość alkaloidów tropinowych. Nie wykazały one śladów tych alkaloidów. Ponieważ zastosowana przez nas do oznaczenia alkaloidów analiza nie jest specyficzna dla alkaloidów tropinowych, gdyż i inne zasady tomatynowe, solaninowe i solanidynowe w tej metodzie przechodzą również do roztworu i razem zostają oznaczone, dlatego też każda analiza liści pomidorowych sprawdzana być musi jakościowo za pomocą próby Vitali. Wstępne próby oznaczania alkaloidów w liściach pomidorów kontrolnych i szczepionych dały takie same wyniki. Analizy jakościowe u jednych i drugich wypadły ujemnie.

Praca niniejsza obejmuje cykl doświadczeń czteroletnich, przeprowadzonych w latach 1950—1954.

WYNIKI DOŚWIADCZEŃ

I. Wpływ wzajemnych szczepień bielunia *Datura stramonium* L. i pomidorów *Lycopersicon esculentum* Mill na zawartość alkaloidów w roku szczepienia.

W pierwszym roku badań wykonane zostały szczepienia pomidorów na bieluniu i bielunia na pomidorach. Pięć odmian pomidorów zostało zaszczipionych na bieluniu, z tych cztery na odmianie bezkolczastej (tabela 1, komb. 5, 6, 8 i 9), a jedna na odmianie kolczastej (komb. 7). Dwie z tych odmian (komb. 8, 9) były odmianami mieszańcowymi. Jako odmiany wykazujące duże skłonności do zmian przedstawiały one ciekawe obiekty badań. Zaszczepione zostały również obydwie odmiany bieluni na pomidorach. Z każdej kombinacji szczepień było 20. Dla kontroli wysiane zostały również odmiany bielunia: bezkolczasta i kolczasta. Zrazy szczepione były w stadium liścieni lub 1—2 listka, przy czym do części szczepień zastosowano metodę wychowywania przez pozbawienie zrazu własnych liści. Ponieważ jednak końcowe analizy nie wykazały różnic między roślinami tak prowadzonymi

Ryc. 1. Szczepienie bielunia na pomidorze.

a tymi, których liści nie pozbawiono, dlatego w odnośnej tabeli wyniki zestawione są razem. Zebrane z tych szczepień liście i owoce poddano analizom jakościowym i ilościowym na obecność i zawartość alkaloidów tropinowych.

Wyniki analiz zebrane w tabeli 1 wykazały, że bielun pozbawiony własnego systemu korzeniowego nie jest zdolny wytworzyć charakterystycznych dla niego alkaloidów (komb. 3 i 4). Analizy jakościowe młodych liści i badania cytochemiczne merystemów wierzchołkowych tych szczepień dały w jednym i drugim wypadku dodatnie wyniki. Analizy jakościowe

T a b e l a 1

Wpływ wzajemnych szczepień bielunia i pomidorów na zawartość alkaloidów w roku szczepienia

Wyniki analiz ilościowych i jakościowych

Nr kol.	Kombinacja	Analiza	Zawartość alkaloidów %	Analizy jakościowe
1	Bielun odm. bezkolczasta kontrola	liście nasiona	0,36 0,34	
2	Bielun odm. kolczasta kontrola	„	0,40 0,42	
3	Bielun bezkolczasty Pomidor Immun	liście bielunia nasiona bielunia owoce podkładki	bez alkaloid. „ „ „ „	+ — —
4	Bielun kolczasty Pomidor Złota królowa	liście bielunia nasiona bielunia owoce podkładki	bez alkaloid. „ „ „ „	+ — —
5	Pomidor Earliest Bielun bezkolczasty	owoce pomidora liście bielunia nasiona bielunia	bez alkaloid. 0,32 0,36	— + +
6	Pomidor Immun Bielun bezkolczasty	owoce pomidora liście bielunia nasiona bielunia	bez alkaloid. 0,34 0,30	— + +
7	Pomidor Złota królowa Bielun kolczasty	owoce pomidora liście bielunia nasiona bielunia	bez alkaloid. 0,36 0,40	— + +
8	Pomidor Malinowy Bielun bezkolczasty	owoce pomidora liście bielunia nasiona bielunia	bez alkaloid. 0,28 0,30	— + +
9	Pomidor Żółty cytryn. Bielun bezkolczasty	owoce pomidora liście bielunia nasiona bielunia	bez alkaloid. 0,30 0,36	— + +

liści starszych oraz nasion wypadły natomiast ujemnie. Owoce pomidorów wszystkich pięciu odmian szczepionych na bieluniu wykazały brak alkaloidów w owocach pomidora (komb. 5, 6, 7, 8 i 9). Również owo-

Ryc. 2. Pomidor szczepiony na bieluniu.

ce pomidora, na którym zaszczerpiony był bielun (komb. 3, 4), nie zawierały alkaloidów. Liście i nasiona bielunia, na którym zaszczerpiony był pomidor, w porównaniu z kontrolami nie wykazały istotnych różnic w zawartości alkaloidów, pomimo zaszczerpienia na nich obcorodzajowych zrazów (komb. od 5—9). Ten brak różnic w porównaniu z kontrolą w podkładkach tego rodzaju wskazuje na to, że i glikoalkaloidy pomidora nie przeszły przez miejsce szczepienia, ponieważ analiza ilościowa ich nie wykazała. W przypadku przejścia ilościowo powinno być ich więcej w podkładce. Analizy liści pomidorów

ze szczepień $\frac{\text{pomidor}}{\text{bielun}}$ i $\frac{\text{bielun}}{\text{pomidor}}$ nie wy-

kazały zwyżki w ogólnej zawartości

alkaloidów w porównaniu z liśćmi pomidorów nieszczepionych. Również próby jakościowe dały wyniki ujemne.

II. Wpływ wieku zraza na zawartość alkaloidów przy szczepieniach bielunia na pomidorach

W poprzednich szczepieniach zrazem były młode roślinki w stadium liścieni bądź pierwszych listków kolejnych. Tak zaszczerpione roślinki, które rozwijały się na podkładkach pomidorowych, nie wykazały pod koniec wegetacji dających się ilościowo uchwycić zawartości alkaloidów. Jedynie próby jakościowe młodych liści dały reakcje dodatnie. Powstaje pytanie, jak jednak zachowują się takie rośliny, które zostaną zaszczerpione w starszym stadium rozwojowym, a więc w okresie kiedy zawierać już będą znaczne ilości alkaloidów? Czy w takich wypadkach ilość alkaloidów zwiększy się, a więc synteza przebiegać będzie dalej bez zahamowań, czy też zawartość alkaloidów zmniejszy się lub nie ulegnie zmianie? Dla przebadania tego zagadnienia wykonane zostały szczepie-

nia odmiany bezkolczastej bielunia na pomidorach. Jedna partia roślin szczepiona była w stadium 5—7 listka kolejnego, a druga w stadium zawiązywania pączków kwiatowych. Każda partia składała się z 30 roślin. Szczepienia wykonane były w klin. Po zaszczepieniu przenoszono rośliny natychmiast do kamery wilgotnościowej, w której powietrze było nasycone, dzięki czemu zrazy o stosunkowo dużej ilości liści nie więdły. Z obu kombinacji wykonano analizy na zawartość alkaloidów w chwili szczepienia. Następne analizy wykonane zostały w chwili dojrzałości tak zaszczepionych roślin. Zanalizowano również owoce pomidorów (podkładki), na których rozwijały się i dojrzewały takie zrazy bielunia. Liście pomidorów podkładki badano tylko za pomocą analiz jakościowych.

Przytoczone w tabeli 2 wyniki analiz wykazują, że szczepienia bielunia na pomidorach w starszym okresie rozwojowym nie dały również pozytywnych wyników w sensie zwiększenia zawartości alkaloidów. Co więcej, tak zaszczepione rośliny pod koniec okresu wegetacyjnego nie wykazały dających się ilościowo uchwycić alkaloidów. Jedna kombinacja w chwili szczepienia na pomidorach wykazywała już 0,25% alkaloidów (komb. 2), a druga 0,32% (komb. 3). W czasie rozwoju na obcorodzajowej podkładce rośliny te utraciły alkaloidy, jakie zawierały w chwili szczepienia (komb. 4 i 5). Jedynie analizy jakościowe młodych liści tych zrazów dały reakcje dodatnie. Analizy jakościowe nasion wypadły ujemnie.

Liście i owoce pomidora (podkładki w komb. 4 i 5), na których szczepiony był tak wyrosnięty bielun, nie wykazały również alkaloidów tropinowych, pomimo że zrazy w chwili szczepienia zawierały ich dość duże ilości.

III. Zachowanie się potomstwa nasiennego ze szczepień wzajemnych bielunia i pomidora

Nasiona bielunia zebrane w roku szczepień na pomidorach zostały w następnym roku wysiane. Jedna partia roślin wyrosłych z tych nasion była prowadzona w pierwszym roku na własnych korzeniach, a druga

Ryc. 3. Młode siewki bielunia szczepione na pomidorze.

T a b e l a 2

Wpływ wieku zraza na zawartość alkaloidów przy szczepieniu bielunia na pomidorach
Wyniki analiz ilościowych i jakościowych

Nr kol.	Kombinacja	Analiza	Zawartość alkaloidów %	Analizy jakościowe
1	Bieluń odm. bezkolcz. kontrola	liście nasiona	0,34 0,30	
2	Bieluń w stadium 5—7 liści	liście	0,25	
3	Bieluń w stad. zawiązków kwiatowych	liście	0,32	
4	Bieluń zaszczip. w stadium 5—7 liści	liście i nasiona	bez alkal.	+
	Pomidor Immun	owoce pomidora	„ „	—
5	Bieluń zaszczip. w stad. pączków kwiat.	liście nasiona	bez alkal.	+
	Pomidor Immun	owoce pomidora	„ „	—

w stadium liścieni czy pierwszych listków przeszczepiona została znów na pomidory. Dla wywarcia większego wpływu na pokolenie nasienne zrazy pozbawiono kolejnych listków. Dopiero w okresie zawiązywania pączków kwiatowych przestano usuwać liście. W następnych dwóch latach po wysiewie nasion zebranych z tych szczepień część roślin przeszczepiono znów na pomidory, a część rosła na własnych korzeniach. W ten sposób w jednej kombinacji szczepień rośliny przez trzy lata rosły na obcych korzeniach, a dopiero w czwartym roku przeniesione zostały na korzenie własne.

Rośliny wyrosłe z nasion pomidorów, szczepionych na bieluniu, które w roku szczepienia nie wykazały alkaloidów, zostały jeszcze raz przeszczepione na bieluń. Zastosowano w stosunku do nich również „wychowywanie” przez pozbawienie ich własnych liści. Przebadano poza tym pokolenie pierwsze pomidorów ze szczepień na bieluniu, a to w celu upewnienia się czy ewentualnie pomimo braku zmian w roku szczepień nie wystąpią one w pokoleniu następnym. Przez dwa lata badane było również pokolenie I i II bielunia na własnych korzeniach. Analizy tych kombinacji doświadczeń zestawione są w tabeli 3.

W kombinacji 1 tabeli 3 zestawione są wyniki analiz liści i nasion bieluni kontrolnych z trzech kolejnych lat. Wyniki te konieczne są dla porównania zachowania się pokoleń nasiennych bielunia po przeniesieniu go na własne korzenie. Pokolenie bielunia przeszczepiane przez trzy lata z rzędu na pomidory nie wykazało w żadnym roku dających się oznaczyć ilości alkaloidów. Jedynie analizy jakościowe wykazywały obecność alka-

T a b e l a 3

Zachowanie się potomstwa nasiennego ze szczepień wzajemnych bielunia i pomidora
Wyniki analiz ilościowych i jakościowych

Nr kol.	Kombinacja	Analiza	Zawartość alkaloidów %			Analizy jakościowe
			I rok	II rok	III rok	
1	Bieluń bezkolczasty kontrola	liście nasiona	0,38 0,34	0,28 0,30	0,34 0,30	
2	Pokolenie bielunia 3 razy przeszczepione na pomidorze	liście nasiona	bez alk. bez alk.	bez alk. bez alk.	bez alk. bez alk.	+ —
3	Pokolenie bielunia ze szczepień na pomidorach po przejściu na własne korzenie	liście nasiona	0,36 0,30	0,26 0,21	0,28 0,30	
4	Pokolenie I i II (F ₂) ze szczepień na pomidorach F ₁ i F ₂ na własnych korz.	liście nasiona	0,36 0,30	0,25 0,23	—	
5	Pokolenie I (F ₁) pomidorów powtórnie przeszczepionych na bieluń	owoce pomidora	bez alk.	bez alk.	—	—

loidów tropinowych (komb. 2). Jak zachowuje się potomstwo nasienne bielunia ze szczepień na pomidorach? W roku szczepienia bieluń nie tworzy właściwych mu alkaloidów. Po pierwszym roku szczepień rośliny wyrosłe na własnych korzeniach z takich nasion wykazują już alkaloidy i to w ilości takiej jak kontrola (komb. 3 — I rok). Kontrola 0,38% liście i 0,34% nasiona, pokolenie I — 0,36% liście i 0,30% nasiona. Po dwóch latach szczepień (komb. 3 — II rok) nie ma również różnic istotnych pomiędzy zawartością alkaloidów w liściach, a jedynie nasiona wykazały pewną ich obniżkę. Po trzech latach szczepień pokolenie nasienne bielunia, które w czwartym roku rośło na własnych korzeniach (komb. 3 — III rok), nie wykazało żadnych różnic w porównaniu z kontrolą. Nawet trzykrotne przeszczepienie nie było więc w stanie zmienić bielunia w tym kierunku, aby przestał tworzyć alkaloidy względnie produkował ich mniej.

W kombinacji 4 badane były pokolenia I i II bielunia na własnych korzeniach. W pierwszym roku po szczepieniu bieluń wykazał tyle samo alkaloidów, co kontrola. W pokoleniu II, prowadzonym również na własnych korzeniach, nie wystąpiły także zmiany w zawartości alkaloidów. Analizy owoców pomidorów dwukrotnie przeszczepianych na bieluń nie wykazały również alkaloidów (komb. 5).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone przez nas doświadczenia nad syntezą i przejściem alkaloidów wykazały, że bielun w stadium młodym (liścieniowym czy pierwszych listków) zaszczepiony na pomidorze, a więc bez własnego systemu korzeniowego, nie może wytworzyć właściwych dla niego alkaloidów. Próba Vitali i badania cytochemiczne merystemów wierzchołkowych i młodych liści takich szczepień wykazują wprawdzie słabą reakcję dodatnią, jednak zawartość alkaloidów jest tak minimalna, że nie daje się jej uchwycić ilościowo. Przy szczepieniu bielunia w starszym okresie rozwojowym, w stadium 5—7 listka, czy na krótko przed kwitnieniem, a więc kiedy rośliny zawierały już dość znaczne ilości alkaloidów (0,25—0,32%), analizy (tab. 3) wykazały, że liście i nasiona tak zaszczepionych roślin nie zawierały również alkaloidów w końcowym okresie wegetacji. W trakcie rozwoju na obcym systemie korzeniowym roślina traci więc i te alkaloidy, które posiadała w chwili szczepienia.

Mothes K. i Romeike A. wykazali, że synteza alkaloidów tej grupy odbywa się również w liściach. Potwierdziły to analizy wierzchołków pędów, a także owoców i nasion zrazów. Autorzy ci stwierdzili w tego typu szczepieniach obecność alkaloidu typu hyoscyamina i atropina w ilości 0,5 — 1,5 mg/100 g świeżej masy. Synteza tych alkaloidów odbywa się więc i w liściach, jednak tylko w liściach młodych. Starsze natomiast pozabawione są zupełnie alkaloidów. Ciekawy jest jeszcze ten fakt, że pewną rolę odgrywa tu również odmiana pomidorów, na których dokonuje się szczepień. Alkaloidy w zrazach stwierdzono mianowicie tylko w tych przypadkach, gdy podkładką była odmiana *Lukulus*, która, podobnie jak i inne użyte do doświadczeń odmiany, wolna jest od alkaloidów tropinowych.

Maszkowcew M. F. i Szirotenko H. A. na podstawie analiz pomiędzy zawartością pierwotną nikotyny w zrazach (młode siewki) a zawartością końcową w roślinach, które się z tych zrazów rozwinęły, wykazali, że i u tytoni w liściach ma miejsce synteza alkaloidów grupy nikotynowej.

W naszych doświadczeniach wyrosłe ze zrazów rośliny, które w chwili szczepienia zawierały 0,25 i 0,32% (tab. 3) alkaloidów, nie wykazały pod koniec wegetacji tych alkaloidów. Jedynie próby jakościowe wypadły dodatnio, co by wskazywało, że z tej ilości alkaloidów, które rośliny zawierały, pozostały już tylko ich ślady, bądź że zraz je na nowo wytworzył. O ile więc w zrazach bielunia zaszczepionego na pomidorze ma miejsce synteza alkaloidów, to odbywa się ona w minimalnych rozmiarach.

W odwrotnych szczepieniach rośliny bezalkaloidowej na systemie korzeniowym alkaloidowym doświadczenia nasze wykazały brak alkaloidów

w zrazach. Owoce pomidora szczepionego w stadium młodym i „wychowanego“ odpowiednio przez pozbawienie go własnego aparatu asymilacyjnego, a więc skazanego na żywienie się asymilatami podkładki, nie wykazały alkaloidów właściwych dla podkładki. Również w zrazach odmian mieszańcowych pomidorów odpowiednio „wychowanych“, które jako formy o „dziedziczności rozchwianej“ wrażliwsze są na wpływy środowiska, nie udało nam się wykryć alkaloidów podkładki. Alkaloidy bielunia nie przechodzą więc z podkładki do zraza. Wyniki te zgodne są z doświadczeniami Jemesa O., Jordana M. oraz Vincenta D. i Dulucq - Mathou T.

Jak przedstawia się z kolei sprawa zmiany ilości alkaloidów w podkładce bieluniowej przy zaszczepieniu na niej obco rodzajowego zraza? W przypadku gdy zrazem był pomidor, któremu obcinano liście („wychowywanie“), to jasne, że zmiany nie mogły wystąpić, bo tak niewielka ilość asymilatów, jaką wytworzył bardzo zredukowany system liściowy zraza, nie mogła wpłynąć na podkładkę (tabl. 1). Czy jednak w takich przypadkach, kiedy zrazem będzie silnie rozwinięta roślina pomidorowa, nie wystąpią zmiany w zawartości alkaloidów podkładki? Otóż o ile przyjrzymy się tabeli 2, to stwierdzimy, że zmiany żadne nie następują w podkładce, a więc zraz taki nie wywarł żadnego wpływu na przebieg syntezy alkaloidów podkładki. Jednocześnie wyniki te wykazują, że glikoalkaloidy pomidora nie przechodzą przez miejsce szczepienia, gdyż analiza ich nie uchwyciła. Zawartości alkaloidów w podkładce nie są nigdy wyższe niż w kontroli (tab. 1 i 2).

W kombinacji szczepień odwrotnych, a więc bieluń jako zraz i pomidor jako podkładka, nie stwierdziliśmy w żadnym wypadku alkaloidów tropinowych w podkładce. Zresztą w zrazach bielunia w tych kombinacjach szczepień nie stwierdzaliśmy ilościowo alkaloidów właściwych dla bielunia.

W podobnych szczepieniach lulka na pomidorze M. Jordan stwierdziła alkaloidy tropinowe w podkładce pomimo braku tych alkaloidów w zrazie. Liście zraza, zdaniem autorki, są niezbędne do zapoczątkowania w podkładce syntezy alkaloidu, który nie występuje w zrazie. Wydaje się jednak mało prawdopodobne, aby liście obcorodzajowego zraza mogły w ten sposób zmienić metabolizm podkładki, żeby zaczęła syntetyzować niewłaściwe dla niej alkaloidy. W naszych doświadczeniach takie kombinacje szczepień nigdy nie wykazały alkaloidów tropinowych w podkładce, a próby jakościowe na atropinę dawały zawsze wyniki ujemne. Przebadałmy dużą ilość materiału, a wśród różnych kombinacji szczepień znalazły się takie, w których szczepione były zrazy w stadium kilku listków czy też na krótko przed kwitnieniem. Zrazy takie zawierały już znaczne ilości alkaloidów, a więc łatwiej mogły wywrzeć wpływ na podkładkę.

Zagadnienie zachowania się potomstwa nasiennego bielunia, który szczepiony był na pomidorach i w roku szczepień nie wykazał alkaloidów, było badane przez cztery lata. Nasiona bielunia z pierwszego roku szczepień zostały wysiane w następnym roku. Część tych nasion prowadzona była na własnych korzeniach, a część przeszczepiona w stadium dwuliścieniowym czy pierwszego listka na pomidory. To przeszczepianie powtarzane było przez trzy lata, tak że praktycznie rośliny te w tym okresie nie mogły tworzyć właściwych im alkaloidów. O ile przyjrzymy się tabeli 3, stwierdzimy, że rośliny z takich szczepień po przeniesieniu ich na własne korzenie zaczynają od razu tworzyć właściwe im alkaloidy, przy czym ilościowo jest ich tyle, co w kontroli (tab. 3, komb. 3). W czwartym roku po trzyletnim przeszczepianiu bielunia pokolenie jego nie różniło się zawartością alkaloidów od kontroli.

Przebadaliśmy również pokolenie drugie bielunia, pochodzące ze szczepień na pomidorach, które w poprzednim roku rośło na własnych korzeniach, a to dla stwierdzenia, czy nie wystąpią jakieś zmiany w drugim roku po szczepieniu. Jednak i tutaj nie było różnic w zawartości alkaloidów (tab. 3, komb. 4). Wpływ szczepienia na zawartość alkaloidów u bielunia, który objawia się w roku szczepienia brakiem alkaloidów, nie utrwała się w potomstwie nasennym szczepionych roślin. Analogiczne wyniki uzyskali Mothes i Romeike dla bielunia i Endemann dla tytoni. Szczepienia nie utrwalają więc w potomstwie zmian w zawartości alkaloidów.

WNIOSKI

1) W syntezie alkaloidów tropinowych decydującą rolę odgrywa korzeń. Bielun pozbawiony własnego systemu korzeniowego nie jest zdolny do wytworzenia właściwych mu alkaloidów w ilościach, jakie wytwarza normalnie. W liściach bielunia zaszczerpionego na pomidorze odbywa się również synteza alkaloidów tropinowych, jednak w bardzo ograniczonych rozmiarach.

2) Brak alkaloidów tropinowych w owocach pomidora zaszczerpionego na bieluniu wskazuje na to, że alkaloidy nie przechodzą z podkładki do zraza. Podkładka alkaloidowa nie jest również w stanie zmienić systemu liściowego pomidora do tworzenia niewłaściwych dla niego związków.

3) W pomidorze, na którym zaszczerpiony był bielun, nie stwierdzono alkaloidów zraza. Również nie stwierdzono zmian w zawartości alkaloidów bielunia, na którym szczepiony był pomidor.

4) Zmiany w zawartości alkaloidów, które w roku szczepienia objawiają się u bielunia brakiem właściwych mu alkaloidów, nie utrwalają się w potomstwie nasennym nawet po trzyletnim kolejnym przeszczepieniu bielunia na pomidory.

5) Szczepienia wzajemne roślin alkaloidowych tworzących alkaloidy tropinowe i niealkaloidowych dla obniżenia bądź zwiększenia tych związków nie dają praktycznych rezultatów. Nie udaje się również na tej drodze zmusić rośliny do tworzenia niewłaściwych dla niej związków.

Zespół Cytologii i Genetyki I. H.A.R.
w Bydgoszczy

(Wpłynęło dn. 12.XII.1954 r.)

S U M M A R Y

A series of experiments has been carried out on mutual graftings between tomato and hebane plants and on the behaviour of the seed progeny from such grafts. The experiments have shown that the synthesis of the tropine alkaloids was governed primarily by the root. In hebane leaves grafted on a tomato plant the alkaloids were also synthesized though at a greatly reduced rate.

The fruit produced by a tomato grafted on a hebane plant contained no tropine alkaloids. Such was also the case with the fruit produced by tomato plants grafted with hebane, and in the so obtained fruit no alkaloids have been found. No change in the alkaloid level has been observed in hebane plants on which tomatoes had been grafted. The progeny raised from seeds collected on hebane plants which had shown no alkaloids during the year in which it had been grafted began to synthesize alkaloids once it produced its own roots. Thus the changes induced during the year of grafting have been not perpetuated in the following generations, even when the hebane was grafted for three years running on the same stock.

L I T E R A T U R A

- Daniel L. et Ripert J., 1923. Recherches sur les variations du chimisme chez les plantes greffés. C. r. Acad. Sc., Paris, 177.
- Dawson R., 1948. Alkaloid biogenesis. Adv. in Enzymology Vol. 8.
- Endemann W., 1953. Wird der Nikotingehalt der Samennachkommenschaften durch Pfropfungen beeinflusst? Züchter 23, 206.
- Evans W. C., Patridge M. W., 1952. Alkaloid biogenesis in *Datura*. Nature, Vol. 169, Nr 4295.
- Głuszczenko I., 1950. Wegetatywne krzyżowanie roślin. Warszawa, P.W.R. i L.
- Hegenauer R., 1951. Pharmac. Weekblad 86. 805.
- Hieke K., 1942. Pflanzenphysiologische Untersuchungen über Alkaloide. Planta 33, 185.
- Iljin G. S., 1949. Problemy biochemii w miczurinskoj biologii. Izv. Akad. Nauk. SSSR. T. 1, str. 169.
- James W. O., 1946. Demonstration of Alkaloids in Solanaceous Meristems. Nature, Vol. 158, 377.
- James W., 1950. The Alkaloid. Vol. I, wyd. R. H. F. Manske and H. L. Holmes, New York.
- Javillier M., 1910. Sur la migration des alcaloides dans les greffes de Solanées sur Solanées C. r. Acad. Sc. Paris, 150: 1360.

- Jordan M., 1952. Mieszaniec wegetatywny w rodzinie *Solanaceae*. Postępy Wiedzy Roln. 3: 51.
- Krajewoj I. M., 1941. O wlijanij podwoja na priwoj u paslenowych. Izw. Akad. Nauk SSSR. Ser. Biolog. Nr 3.
- Maszkowcew M. F., Szirotenko A. A., 1951. O sposobnosti kletok nadziemnoj czasti tabacznowo rastienija sintezirować nikotin. Dokłady A. N. SSSR. 79: 487.
- Mayer A., Schmidt E., 1910. Über die gegenseitige Beeinflussung von Sym-bionten heteroplastischer Transplantation unter besonderer Berücksichtigung der Wanderung der Alkaloide, Flora 100.
- Mothes K., Hicke K., 1943. Die Tabakwurzel als Bildungsstätte des Nikotins. Naturwissenschaften, 31: 17.
- Mothes K., Romeike A., 1951. Über die Anhäufung von Alkaloiden in Organen der Speicherung und Reproduktion. Biol. Zbl., 70: 97.
- Mothes K., Romeike A., 1952. Zur Frage der Alkaloidsynthese im Spross. Flora, 139: 181.
- Peacock S. M., Leyerle D. B., Dawson R. F., 1944. Alkaloid accumulation in reciprocal grafts of *Datura stramonium* with tobacco and tomato Amer. J. Bot., 31: 463.
- Prokoszew S. M., Petroczenko E. I., Iljin G. S., Baranowa W. Z., Lebiediewa N. A., 1952. Gliukoalkaloidy w listjach i klubniach wegetatiwno priwitych rastienij. Dokl. Akad. Nauk. SSSR. 83: 881.
- Schmidt J., Grafe W., 1920. Alkaloide. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Ab. I. T. 9. Wyd. Abderhalden E. Berlin-Wien.
- Seka R., 1933. Alkaloide. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse T. IV, 476, Wyd. 9, Wien.
- Tuszniakowa M. M., 1944. O priwivkach alkaloidnych rastienij. Dokl. WASChNiL. T. 10.
- Tuszniakowa M. M., 1946. Prjamije i obratnyje priwivki alkaloidnych i bez-alkaloidnych rastienij. Agrobiologia Nr 4.
- Tuszniakowa M. M., 1948. Znaczenije priwivok w razrieszenii niekotorych woprosow w biologii. Trudy Inst. Gienet., Nr 15.
- Vincent D., Dulucq - Mathou T., 1946. C. r. Soc. Biol. 140: 535.
- Warren Wilson P. M., 1952. Formation and Transport of Alkaloids in Solanaceous Grafts. New Phytolog. 51: 301.