Badania nad alkaloidami łubinu białego (*Lupinus albus*) w czasie jego wegetacji

Część I. Łubin pastewny

Researches on alkaloid content of lupine (Lupinus albus)
Part I. White sweet lupine

H. BIRECKA, A. MAZAN, D. SZKLAREK

Alkaloidy należą do związków dotychczas znacznie mniej zbadanych w porównaniu z szeregiem innych organicznych substancji azotowych, szczególnie z punktu widzenia fizjologicznego. Zarówno zagadnienie miejsca ich biosyntezy, jak i roli w roślinie oraz udziału w przemianie materii wywołuje wśród badaczy szereg sporów (Evans, Partridge 1953, Mothes 1955, Mothes 1955, Romeike 1954, Mothes 1956, Romeike 1956, Tso, Jeffrey 1956) i należy uważać, iż do chwili obecnej nie zostało w dostatecznej mierze wyjaśnione. Główną uwagę w badaniach nad alkaloidami przyciągały i nadal przyciągają rośliny lekarskie zasobne w te związki. Natomiast rośliny, o mniejszym lub żadnym znaczeniu z punktu widzenia farmaceutycznego, są stosunkowo w znacznie słabszym stopniu przebadane. Do takich właśnie należą łubiny. Jednakże rośliny te mają istotne znaczenie praktyczne m. in. i w naszym kraju, wprawdzie nie w medycynie, ale w rolnictwie, szczególnie od chwili znalezienia form pastewnych, o niskiej zawartości alkaloidów.

Dotychczasowe prace nad alkaloidami różnych gatunków łubinu dotyczyły głównie form gorzkich, niewiele natomiast jest prac nad populacjami pastewnymi (Barbacki 1952, Byszewski 1950, 1957, Marszewska-Ziemięcka, Gołębiowska 1948, Peters, Schwanitz, Sengbusch 1956, Schwarze, Hackbarth 1957, Wiewiórowski, Bratek 1956), co najprawdopodobniej jest wynikiem braku odpowiednio czułych metod ilościowych do lat 50-tych. Na podstawie szeregu badań, w których stosowano metodę szczepień lub metodę kultur izolowanych organów, należałoby przypuszczać, że biosynteza alkaloidów w łubinach zachodzi przede wszystkim w części nadziemnej (Van der Kuy 1956, Mothes, Engelbrecht 1956, Peters, Schwanitz, Sengbusch 1956, Reifer, Kleczkowska 1957, Smirnowa, Moszkow 1940). Biorąc jednak pod uwagę słuszne

zastrzeżenia Mothesa (1956) wysuwane odnośnie do tych metod, nie można uważać, że sprawa miejsca syntezy została całkowicie rozstrzygnięta. W ramach prowadzonych przez nas prac nad biosyntezą, przemianami i rolą fizjologiczną alkaloidów w łubinach uważaliśmy za konieczne przebadanie zmian jakościowych i ilościowych w zawartości tych związków w różnych organach roślin w czasie ich wzrostu i rozwoju, tym bardziej że szczegółowych danych pod tym względem w dostępnej nam literaturze nie znaleźliśmy. Dotyczy to szczególnie form pastewnych. Zwróciliśmy przy tym dużą uwagę na sparteinę, z której — według pewnych hipotez (Hegnauer 1955, Van der Kuy 1956, Woker 1956) — powstaje szereg innych alkaloidów występujących w łubinach. Przedmiotem naszych badań był m. in. łubin biały. W niniejszej pracy podajemy wyniki dotyczące jednej z jego form pastewnych.

METODYKA DOŚWIADCZENIA

Przedmiotem badań był łubin biały (*Lupinus albus* L.) pastewny, średniowieczny, hodowli Barbackiego. Doświadczenie prowadzono w wazonach wagnerowskich w warunkach hali vegetacyjnej. Wazony napełniano mieszaniną 7,5 kg piasku wiślanego i 1,5 kg gleby o pH 6. Zastosowana przedsiewna pożywka była następująca: 0,05 g N (NH_4NO_3), 0,3 g P_2O_5 (NaH_2PO_4), 0,5 g K_2O (K_2SO_4), 0,615 $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,444 g CaCl_2 , cytrynian żelaza 100 mg, H_3BO_3 i MnSO_4 po 5 mg oraz CuSO_4 , ZnSO_4 i $(\text{NH}_4)_2 \text{MoO}_4$ po 2 mg.

W czasie vegetacji — 4.VI.56 r. dokarmiono wszystkie rośliny pożywką o następującym składzie (na wazon): 0,3 g P_2O_5 , 0,5 g K_2O i 0,615 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. Siewu dokonano 5.V.56 r. po 12 nasion na wazon, zakażając je odpowiednim szczepem bakterii*.

Pełne wschody nastąpiły 10. V. i były dość równomierne. W 10 dni później dokonano przerywki pozostawiając po 8 roślin. Początkowo podlewano rośliny wodą wodociągową do 50% pojemności wodnej, po szesnastu dniach zaś zaczęto używać wody destylowanej, utrzymując do końca vegetacji wilgotność około 60% pojemności wodnej. Przewidziano dwie podstawowe kombinacje: seria I — rośliny, które nie otrzymywały sparteiny, seria II — rośliny, pod które stosowano siarczan sparteiny ($\text{BH}_2\text{SO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ — CEFARM Warszawa) — począwszy od 26. V. do 11. VII. co drugi dzień powierzchniowo, w ilości 20 mg sparteiny w 20 ml H_2O na wazon (bezpośrednio przed podlewaniem roślin). W czasie vegetacji dokonano sześciu zbiorów sprząając po 3 wazony z każdej serii. Podczas sprzętu końcowego (siódmego) zebrano po 5 powtórzeń.

W tabeli 1 podano sumaryczne dawki sparteiny, które zastosowano pod rośliny poszczególnych zbiorów.

* Składamy serdeczne podziękowanie prof. J. Ziemięckiej za łaskawe zaopatrzenie nas w szczepy bakterii brodawkowych.

Tabela 1

Ilość sparteiny (w mg na wazon) zastosowanej pod rośliny poszczególnych zbiorów

Daty zbiorów	26.V	11.VI	26.VI	6.VII	18.VII	3.VII	19.IX
Dawki sparteiny	0	160	300	400	460	460	460

W czasie każdego sprzętu (poza ostatnim), bezpośrednio po ścięciu roślin, zbierano sok płaczu możliwie jak najbardziej sterylnie. Odpowiednie aparaciki (wysterylizowane) nakładano na szyjki korzeniowe około godziny 12, które zdejmowano po upływie 1 doby (łodygi przed ścięciem części nadziemnej obmywano alkoholem). Sok płaczu natychmiast alkalizowano, osuszano ziemią okrzemkową oraz ekstrahowano chloroformem alkaloidy, które następnie w stanie suchym w postaci chlorowodorków przechowywano w małych ampulkach, aż do chwili naniesienia na bibułę chromatograficzną (bezpośrednio przed nanoszeniem rozpuszczano chlorowodorki w 2 kroplach 0,1 n HCl). Chromatogramy wykonano na bibule Whatman 1 (krążki średnicy 11 cm) stosując jako fazę rozwijającą butanol nasycony wodą i wywołując je zmodyfikowanym odczynnikiem Dragendorffa (Wiewiórowski, Bratek 1957). Części nadziemne, jak i korzenie roślin, zabijano w suszarce w 105°C przez 15 minut, a potem suszono w 60°C. Suchy materiał roślinny zmielono na młynku typu „Huragan”. Analizy na alkaloidy wykonano zmodyfikowaną tylko częściowo metodą Reifera i Niziołka (1957), a mianowicie przy pomocy destylacji z parą wodną oddzielono sparteinę od pozostałych zasad. Rozdział natomiast alkaloidów nielotnych wykonano ściśle wg wyżej cytowanej metody*.

W przypadku gdy pozostawała dostateczna ilość materiału, wyniki uzyskane metodą Reifera i Niziołka sprawdzano również ilościową metodą chromatograficzną (Birecka, Rybicka, Ścibor-Marchocka 1959). Analizy wykonywano przeciętnie w trzech powtórzeniach (w wypadku niezgodności wyników przekraczającej 10–12% analizę powtarzano).

PRZEBIEG WEGETACJI

Wzrost i rozwój roślin przebiegał normalnie. Nie zauważono żadnych różnic między roślinami kontrolnymi a roślinami, pod które zastosowano siarczan sparteiny. Już w pierwszym terminie sprzętu, tj. 26.V, stwierdzono na korzeniach brodawki.

* W czasie analizowania materiału prace metodyczne nad chromatograficznym rozdziałem alkaloidów, przed ich ilościowym oznaczeniem, nie były jeszcze zakończone.

W tym dniu zaczęto też stosować siarczany sparteiny. Rośliny w tym okresie były jeszcze bardzo małe i dlatego podczas sprzętu nie oddzielono poszczególnych organów części nadziemnej.

Drugi sprzęt nastąpił po upływie dwu tygodni, tj. 9.VI (początek zakładania pączków na pędzie głównym). W kombinacji ze sparteiną dokonano zbioru w dwa dni później (ze względu na trudności z zabijaniem i suszeniem większej ilości roślin). Rośliny dzielono na następujące części: 1. 6 liści dolnych, 2. liście górne, 3. łodygi, 4. korzenie.

Trzeci sprzęt wykonano — 22.VI (seria II — 26.VI). Rośliny były w pełni kwitnienia pędu głównego; zauważano również początek tworzenia się pędów bocznych I rzędu. Podzielono je na następujące części: 1. 6 liści dolnych, 2. 6 liści środkowych, 3. liście górne, 4. łodygi, 5. kwiatostany, 6. korzenie.

Czwarty zbiór — 5—6. VII przypadł na okres, gdy wykształciły się już pędy boczne I rzędu i zakładały się na nich pączki kwiatowe. Na pędach głównych obserwowano początek tworzenia się strąków. Przy podziale części nadziemnych roślin wyodrębniono więc dodatkowo jeszcze pędy boczne (oddzielnie liście i łodygi).

Piąty sprzęt nastąpił 18.VII. W tym okresie liście dolne już zasychają. Zmniejsza się też ilość liści środkowych, gdyż żółkną i opadają. Liście opadłe zbierano.

Szósty zbiór wykonano 2—3.VIII. Liści dolnych i środkowych już nie było (zebrane razem liście opadłe zanalizowano). Oddzielono też łupiny od nasion.

Sprzęt ostatni nastąpił 19.IX, gdy wszystkie liście już opadły.

BADANIA CHROMATOGRAFICZNE SOKU PŁACZU

W tabeli 2 podano przeciętne ilości soku otrzymane w poszczególnych terminach sprzętu. Jak z uzyskanych danych wynika, płacz roślin był najintensywniejszy w okresie zakładania pączków kwiatowych na pędach bocznych i silnie malał w miarę starzenia się łubinu. Kroplówka wykonana z poszczególnych powtórzeń we wszystkich przypadkach wykazywała obecność alkaloidów, jednakże intensywność zabarwienia plamy (nakraplano po 20—40 oczek) z odczynnikiem Dragendorffa świadczyła o niedostatecznej ich ilości dla chromatograficznego rozdzielu. Niestety, mimo połączenia odpowiednich powtórzeń przed nanoszeniem na bibułę, nie udało się nam wywołać odczynnikami Dragendorffa alkaloidów soku płaczu z pierwszych trzech zbiorów jak i dwóch ostatnich. Natomiast w soku płaczu czwartego zbioru, gdy nakropiono tylko czterdzieści oczek, stwierdzono wyraźnie dwa prążki odpowiadające lupaninie i hydroksylupaninie. Z intensywności zabarwienia prążków można było orientacyjnie sądzić, iż zawartość lupaniny była dwu-, trzykrotnie większa niż hydroksylupaniny. Innych alkaloidów w soku płaczu, a szczególnie sparteiny, zastosowaną metodą chromatograficzną nie udało się wykryć nawet.

T a b e l a 2

Ilość soku płaczu w ml z jednego wazonu (8 roślin)

Lp.	Terminy sprzętów	Wiek roślin w dniach	Fazy rozwoju roślin	Sok płaczu w ml	
				seria I	seria II
1	26.V.	16		ok. 0,5	ok. 0,5
2	9—11.VI.	29—31	tworzenie się pączków na pędzie głównym	3,8	5,6
3	22—26.VI.	44—48	kwitnienie pędu głównego	1,4*	6,5
4	5—6.VII.	58—59	pączki kwiataw	9,0	8,4
5	18.VII.	71	na pędach bocznych wykształcone strąki	3,3	—**
6	2—3.VIII.	85—86	„ „	1,6	1,5

* W tym przypadku stwierdzono nieszczelność gumek nasadzonych na szyjki korzeniowe.

** Próbką przypadkowo uległa zniszczeniu.

u roślin, u których zastosowano ten alkaloid*. Licząc się z tym, że w warunkach wazonowych korzenie łubinu mogą wykazać słabe — w porównaniu z roślinami hodowanymi w polu — parcie korzeniowe, pobierano jednocześnie z doświadczeniem w hali wegetacyjnej sok płaczu z roślin (nasiona tego samego pochodzenia) wysianych na poletkach o pow. 60 m², znajdujących się koło szklarni Zakładu Fizjologii Roślin (siew — 26.IV.56 r., odległość między rzędami 30 cm, wschody równomierne 5—7 V.). W doświadczeniu tym dokonano 4 sprzętów po 10 roślin, w trzech powtórzeniach, zbierając sok płaczu (tabela 3). W czasie sprzętu 2 z tych samych

T a b e l a 3

Ilość soku płaczu w ml z 10 roślin

Lp.	Terminy sprzętów	Fazy rozwoju roślin	Sok płaczu w ml
1	28.VI.	kwitnienie pędu głównego	ok. 11,5
2		koniec kwitnienia pędów bocznych	15,5
	12.VII.	„ „ „	17,5
	13.VII.	„ „ „	10,5
	14.VII.	„ „ „	9,5
	15.VII.	„ „ „	11,5
3	8.VIII.	tworzenie się strąków	3,0
4	21.VIII.	dojrzewanie strąków	

korzeni zbierano sok przez 4 dni zmieniając codziennie aparaciki. Wykonane ze wszystkich próbek kroplówki wykazały obecność alkaloidów, ale nie zawsze

* Należy jednak zaznaczyć, że na prążkach o średnicy 11 cm nawet po dwukrotnym rozwijaniu nie udaje się rozdzielić hydroksylupaniny od zasady a_x, o której dalej będzie mowa. Możliwe jest więc, że prążek oznaczony przez nas jako hydroksylupanina zawierał również i ten związek.

dostateczną ich ilość dla rozdziału chromatograficznego. Tylko w dwóch wypadkach zdołano wywołać rozdzielone alkaloidy na chromatogramach (krążki $\varnothing$ 11 cm), a mianowicie: a. w soku płaczu zebranym 28.VII stwierdzono ślady lupaniny i hydroksylupaniny, b. w zbiorze z 12.VII. W soku płaczu 1 i 2 dnia stwierdzono intensywnie zabarwione dwa prążki, odpowiadające tym alkaloidom i to w tych samych stosunkach, co w doświadczeniu wazonowym. Nie udało się jednak wykryć sparteiny.

WYNIKI BADAŃ MATERIAŁU ROŚLINNEGO

Plony roślin z poszczególnych terminów sprzętu podano w tabeli 4. Brak przyrostu masy organicznej między 6 i 7 zbiorem jest częściowo wynikiem silnego zasychania i opadania liści w tym okresie* (trudno było zidentyfikować, z którego piętra pochodzą te liście, dlatego zbierano je razem, w tym bowiem okresie panowały silne wiatry, nastąpiły więc pewne ich straty).

Rośliny, pod które stosowano sparteinę (seria II), wykazują prawie we wszystkich terminach sprzętu plony nieco wyższe niż rośliny serii I. W niektórych przypadkach seria II roślin była nieco później zbierana, czym można częściowo wytłumaczyć te różnice, leżące na ogół raczej w granicach błędu doświadczenia. W warunkach wazonowych (w przeciwieństwie do polowych) pędy boczne najczęściej nie wykształcają strąków. Stąd też plony nasion pochodzą przeważnie z pędów głównych. Są one w obu seriach jednakowe. To samo można na ogół powiedzieć o systemie korzeniowym z wyjątkiem zbioru V łubinu serii II. Daje on wyjątkowo wysoki plon. Faktu tego nie potrafimy wytłumaczyć.

W tabeli 5 podano zawartość alkaloidów w poszczególnych częściach roślin serii I. Sumaryczna bezwzględna zawartość alkaloidów w części nadziemnej roślin na ogół wzrasta wraz z ich rozwojem. Największy przyrost tych związków (około 50% końcowej zawartości) obserwuje się między 29 a 59 dniem wegetacji, a więc w okresie butonizacji, kwitnienia i początku zawiązywania strąków na pędzie głównym oraz butonizacji pędów bocznych. Pod koniec wegetacji (por. 6 i 7 sprzęt) ilość alkaloidów w części nadziemnej pozostaje bez zmian, a w liściach nawet maleje. To ostatnie zjawisko jest najprawdopodobniej wynikiem strat liści, które nie zostały uwzględnione w plonach i analizach. Do 29 dnia wegetacji względna zawartość alkaloidów w części nadziemnej nie wzrasta, bezwzględna zaś zwiększa się prawie trzykrotnie. Fakt ten wskazuje, iż na ogół szybkość gromadzenia badanych zasad w tej fazie rozwoju jest skorelowana ze wzrostem roślin. W następnym okresie wegetacji, tj. butonizacji i kwitnienia pędu głównego względna zawartość

* W ostatnim zbiorze dołączono przypadkowo do liści opadłych również łodygi pędów bocznych. Ciężar tych ostatnich w stosunku do liści był jednak niewielki, stąd wpływ ich na przeciętną zawartość alkaloidów w liściach opadłych był nieduży.

Tabela 4

Plony w gramach powietrznie suchej masy łubinu białego pastewnego (8 roślin)

Lp. serii	Terminy sprzętów i wiek roślin	Liście						Łodygi			Strąki			Część nadziemna sumarycznie		Korzenie		Cała roślina
		suma-rycznie	w t y m				opadłe	suma-rycznie	w t y m		łupiny	nasiona	μ	g	μ	g	μ	
S e r i a I	1 26.V. — 16 dni	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,81	0,20	1,45	0,02	5,26
	2 9.VI. — 29 dni, pączki na pędzie głównym	8,23	4,09	4,14	—	—	—	4,27	4,27	—	—	—	—	12,50	0,14	3,34	0,03	15,84
	3 22.VI. — 44 dni, kwitnienie p. gl.	10,05	2,88	3,18	3,99 ¹⁾	—	—	7,79	7,79	—	—	—	—	17,84	0,76	4,45	0,04	22,29
	4 5.VII. — 58 dni, pąki na p. bocznych	11,99	2,28	3,49	2,05	4,17	—	14,61	13,05	1,56	—	3,53 ²⁾	0,01	30,13	1,18	8,83	1,45	38,96
	5 18.VII. — 71 dni, wykształt. strąki na p. głównym	11,55	1,07	2,17	2,32	5,99	—	15,53	13,49	2,04	—	15,16 ³⁾	0,27	42,24	2,90	9,45	0,09	51,69
	6 2.VIII. — 85 dni	12,08	—	1,38	1,59	3,99	5,12 ⁴⁾	18,42	16,78	1,64	13,84	8,70	0,04	53,04	1,04	8,51	0,01	64,29
	7 19.IX. — 102 dni	10,84	—	—	—	—	10,84 ⁵⁾	17,49	17,49	—	9,55	17,61	0,29	55,49	4,10	—	—	—
S e r i a II	1 26.V. — 16 dni	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,81	0,20	1,45	0,02	5,26
	2 11.VI. — 31 dni	8,99	4,41	4,58	—	—	—	4,95	4,95	—	—	—	—	13,94	0,02	4,04	0,03	17,98
	3 26.VI. — 48 dni kwitn. p. głównego	10,24	3,11	3,76	3,37 ¹⁾	—	—	10,55	10,55	—	—	—	—	20,79	1,05	4,59	0,03	25,38
	4 6.VII. — 59 dni pączki na p. bocz.	14,40	2,70	3,89	2,71	5,10	—	16,07	14,65	1,42	—	4,61 ²⁾	0,01	35,08	0,96	7,42	0,01	42,50
	5 18.VII. — 71 dni wykształt. strąki na p. głównym	14,00	1,30	3,04	3,01	6,65	—	19,27	17,07	2,20	—	17,10 ³⁾	0,32	50,37	2,45	13,02	0,04	63,39
	6 3.VIII. — 86 dni	10,97	—	—	—	3,37	7,60 ⁴⁾	18,77	16,72	2,05	15,46	11,43	0,03	56,63	1,88	8,60	0,16	68,85
	7 19.IX. — 102 dni	10,76	—	—	—	—	10,76 ⁵⁾	18,48	18,48	—	10,33	15,50	0,02	55,01	1,50	—	—	—

1) Kwiatostany połączono z liśćmi górnymi, gdyż ich ciężar wynosił tylko 0,89 g, a więc był niewystarczający dla analizy.

2 i 3) Strąki w całości, gdyż nasion od łupin, które były jeszcze słabo wykształcone, nie udało się oddzielić.

4) Opadłe liście dolne i środkowe zebrane między 5 i 7 sprzętem. W serii II do tych liści dołączono liście górne, których masa wynosiła 0,53 g.

5) Do opadłych liści dołączono przypadkowo łodygi pędów bocznych.

alkaloidów wzrasta i w dalszych fazach rozwoju utrzymuje się na tym samym poziomie*.

W korzeniach, w pierwszych 16 dniach wzrostu, stwierdza się stosunkowo bardzo wysoką względną zawartość alkaloidów. W późniejszym okresie prawie trzykrotnie ona maleje i jest znacznie niższa niż w części nadziemnej. Dopiero pod koniec wegetacji silnie wzrasta dorównując pod tym względem części nadziemnej. Na ogół względna zawartość alkaloidów w łodygach jest niższa niż w liściach (z wyjątkiem roślin sprzętu II), przy czym łodygi pędów bocznych są w te związki bardziej zasobne niż łodygi pędu głównego. W czasie wegetacji nie obserwuje się wahań we względnej zawartości alkaloidów w tych organach w zależności od ich wieku.

Przy pierwszym sprzeczcie, jak już wspomniano, nie oddzielono liści od łodyg. Dlatego też brak analiz tych bardzo młodych organów asymilacyjnych. Aby porównywać liście będące mniej więcej w jednakowym wieku, trzeba by brać pod uwagę np. liście środkowe roślin 44-dniowych i liście dolne roślin 29-dniowych. W liściach dolnych zawartość alkaloidów w miarę ich starzenia wzrasta ze 128 do 425 µg na 1 g masy, jednakże w początkowym okresie wytwarzania się strąków przejściowo maleje. U liści środkowych w miarę ich starzenia obserwuje się również znaczny wzrost ilości tych zasad. W liściach górnych, najmłodszych względna zawartość alkaloidów jest wyższa niż w liściach dolnych i środkowych w okresie ich kształtowania, ale do końca wegetacji utrzymuje się na jednym poziomie. Analogiczne zjawisko obserwujemy u liści pędów bocznych, z tą tylko różnicą, iż wykazują one wyższą zawartość alkaloidów niż liście górne w tym samym wieku. W nasionach względna zawartość zasad wzrasta, a jednocześnie w łupinach maleje.

We względnej zawartości alkaloidów w łubinach w czasie ich wegetacji istotnych różnic między serią I i II nie ma (tabela 5 i 6). Odnosi się to zarówno do części nadziemnej, jak i korzeni. Bezwzględna zawartość alkaloidów w większości przypadków w serii ze sparteiną jest wyższa niż w łubinie kontrolnym. Jednakże różnice te są stosunkowo niewielkie biorąc pod uwagę ilości sparteiny stosowane do podłoża. Dynamika gromadzenia alkaloidów w różnych organach w zależności od wieku jest również podobna do dynamiki zaobserwowanej w serii I, z tą tylko różnicą, że w łupinach strąków, w miarę ich starzenia, nie obserwuje się tak silnego spadku względnej zawartości tych zasad.

W badanym materiale roślinnym, po oddzieleniu i oznaczeniu sparteiny (destylaty badane były dla kontroli również chromatograficznie), rozdział lupaniny od hydroksylupaniny, jak już wyżej wspomniano, wykonano metodą Reifera i Niziołka. Jednak jak się okazało w trakcie analiz, pełnego oddzielenia lupaniny w przypadku łubinu białego tą metodą nie udało nam się uzyskać. Ponadto badania chromatograficzne przeprowadzone na trzech fazach rozwijających (Birecka

* Pewne obniżenie względnej zawartości alkaloidów w części nadziemnej pod koniec wegetacji jest spowodowane prawdopodobnie również stratami starych liści, najbardziej zasobnych w te związki.

Tabela 5

Zawartość sumy alkaloidów w łubinie białym pastewnym serii I

Lp.	Terminy sprzetów i wiek roślin	L i s c i e						Ł o d y g i				S t r ą k i		Część nadziem- na suma- rycznie	Ko- rzenie
		suma- rycznie	dolne	środ- kowe	w t y m		opadłe	suma- rycznie	w t y m		łupiny	nasiona			
					górne	p. bocz.			p. gł.	p. bocz.					
µg na 1 g p o w i e t r z n i e s u c h e j m a s y															
1	26.V.	16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	137	233
2	9.VI.	29	105	128	80	—	—	—	172	172	—	—	—	127	86
3	22.VI.	44	278	322	278	246 ¹⁾	—	—	158	158	—	—	—	226	80
4	5.VII.	58	270	139	286	279	322	—	180	175	219	—	219 ²⁾	220	72
5	18.VII.	71	302	425	342	210	302	—	171	156	268	—	133 ³⁾	193	93
6	2.VIII.	85	316	—	425	216	344	294	165	155	272	130	158	189	212
7	19.IX.	102	264	—	—	—	—	264	179	179	—	65	199	182	—
µg w powietrznie suchej masie plonu (8 roślin)															
1	26.V.	16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	522	335
2	9.VI.	29	858	527	331	—	—	—	735	735	—	—	—	1593	287
3	26.VI.	44	2793	927	884	982 ¹⁾	—	—	1231	1231	—	—	—	4028	356
4	5.VII.	58	3230	317	998	572	1343	—	2626	2284	342	—	773 ²⁾	6629	636
5	18.VII.	71	3493	455	742	487	1809	—	2651	2104	547	—	2016 ³⁾	8160	879
6	2.VIII.	85	3808	—	587	343	1373	1505 ⁴⁾	3047	2601	446	1799	1375	10029	1804
7	19.IX.	102	2862	—	—	—	—	2862 ⁵⁾	3131	3131	—	621	3504	10118	—

Odnośniki: 1,2,3,4,5 przy tablicy 4.

T a b e l a 6

Zawartość sumy alkaloidów w łubinie białym pastewnym serii II

Lp.	Terminy sprzętów ⁵	Wiek roślin w dniach	L i ś c i e				Ł o d y g i			S t r a k i		Część nadziem- na suma- rycznie	Korze- nie	Cała roślina
			suma- rycznie dolne	w t y m		opadłe	suma- rycznie	p. gł.	p. bocz.	łupiny	nasiona			
				śro- d- kowe	gór- ne									
μg na 1 g powietrznie suchej masy														
1	26.V.	16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	137	233	—
2	11.VI.	31	148	81	—	—	161	161	—	—	—	153	51	—
3	26.VI.	48	233	249	162 ¹⁾	—	112	112	—	—	—	172	75	—
4	6.VII.	59	288	173	311	356	255	249	269	—	143 ²⁾	252	96	—
5	18.VII.	71	307	384	383	223	208	197	287	—	187 ³⁾	228	73	—
6	3.VIII.	86	366	—	—	357	156	140	284	125	161	189	144	—
7	19.IX.	102	319	—	—	—	219	219	—	159	184	217	—	—
μg w powietrznie suchej masie plonu (8 roślin)														
1	26.V.	16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	522	335	857
2	11.VI.	31	1333	357	—	—	797	797	—	—	—	2130	206	2336
3	26.VI.	28	2402	774	549 ¹⁾	—	1181	1181	—	—	—	3586	344	3921
4	6.VII.	59	4146	467	1210	1821	4046	3662	384	—	656 ²⁾	8851	712	9539
5	18.VII.	91	4296	499	1164	671	3997	3363	634	—	3198 ³⁾	11480	950	12438
6	3.VIII.	96	4039	—	—	1204	2835 ⁴⁾	2340	582	1947	1841	10719	1238	11957
7	19.IX.	102	3432	—	—	—	4048	4048	—	1643	2853	11976	—	—

Odnosniki: 1,2,3,4,5 podano w tabeli 4.

i wsp. 1959) wykazały też w różnych organach obecność zasady, którą nazwano a_x , łatwo rozpuszczalnej w chloroformie, a trudno w eterze naftowym oraz związku nazwanego a_y o R_f bliskim n_g (Wiewiórowski, Bratek 1957), ale w odróżnieniu od tego ostatniego rozpuszczalnego w chloroformie. Oba te związki są nielotne z parą wodną. Mianowicie a_x stwierdzono w niewielkich ilościach w liściach zarówno młodych, jak i starych, w łodygach oraz strąkach. Chromatogramy liści młodych i liści pędów bocznych wykazywały sporadyczną obecność związku, którego R_f na badanych fazach odpowiada angustifolinie. W żadnym organie nie stwierdzono lupininy. Z części wykonanych chromatogramów eluowano poszczególne związki i oznaczano kolorymetrycznie (Birecka, Rybicka, Ścibor-Marchocka 1959) w celu oznaczenia ilościowego stosunku między nimi.

We wszystkich organach roślin lupanina występowała w największych ilościach. W liściach pędu głównego stosunek jej do hydroksylupaniny wahał się od 16:1 do 10:1. W liściach pędów bocznych zmieniał się bardziej na korzyść hydroksylupaniny i wynosił około 3—4:1, w łodygach 5:1. W dojrzałych zaś nasionach stosunek ten był najkorzystniejszy dla hydroksylupaniny, gdyż wynosił 2,5:1. Ilości a_x w wyżej wymienionych organach były podobne do hydroksylupaniny (przyjmując prowizorycznie ekstynkcję — 0,10), zawartość a_y jak i angustifoliny, była niewielka i orientacyjnie w sumie wahała się w granicach 5—10% zawartości lupaniny.

Ze względu na niemożność powtórzenia wszystkich analiz ilościowych metodą chromatograficzną (brak materiału) podano w odpowiednich tabelach tylko zawartość sparteiny i sumy pozostałych alkaloidów oznaczonych metodą Reifera i Niziołka. Ponieważ współczynniki ekstynkcji dla lupaniny (0,11) i hydroksylupaniny 0,10 niewiele się różnią, a ilość innych zasad nielotnych była niewielka, dlatego też błąd popełniony z przeliczenia i obciążający uzyskane wyniki jest stosunkowo nieduży*.

Względna zawartość sparteiny wzrasta w całej części nadziemnej do okresu odpowiadającego początkom zawiązywania strąków (tabela 7). Do tego okresu suma pozostałych alkaloidów również zwiększa się. W późniejszych fazach wegetacji w odróżnieniu od sparteiny, której ilość maleje, nie obserwuje się obniżenia względnej zawartości tych zasad. Stąd też stosunek sparteiny do pozostałych alkaloidów we wczesnym okresie wzrostu wynosi około 1:7, później stopniowo zawęża się i na początku zawiązywania strąków wynosi około 1:3, aby w następnych fazach znów zmienić się na niekorzyść sparteiny.

W korzeniach ze wszystkich terminów sprzętu podobnie jak w części nadziemnej stwierdzono obecność sparteiny. Jej względna zawartość, poza pierwszym i szóstym sprzętem, była zawsze niższa niż w części nadziemnej. Jednak układ jej stosunku do pozostałych zasad w czasie ontogenezy niewiele różni się od układu w części nadziemnej.

* Odnosi się to również do wyżej omówionych wyników analitycznych.

Tabela 7

Względna zawartość sparteiny i sumy pozostałych alkaloidów w łubinie białym pastewnym

	Lp.	Terminy sprzętów	L i ś c i e												Ł o d y g i						Strąki				Część nadziemna sumarycznie		Korzenie	
			sumarycznie		dolne		środkowe		górne		pędów bocznych		opadłe		sumarycznie		pędu głównego		pędu bocznego		łupiny		nasiona		Część nadziemna sumarycznie		Korzenie	
			sparte- ina	alkalo- idy po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.	spar- teina	alkal. po- zost.
Seria I	1	26.V.																						17	120	22	211	
	2	9.VI.	15	90	25	104	4	76	—	—	—	—	—	—	44	128	44	128	—	—	—	—	—	—	25	103	11	75
	3	22.VI.	53	225	100	222	50	228	22	225					20	138	20	138	—	—	—	—	—	—	39	187	24	56
	4	5.VII.	64	206	29	110	82	204	53	226	73	249			62	118	66	109	28	192	—	—	21	199	58	162	15	57
	5	18.VII.	62	240	85	340	76	266	21	189	69	233			32	139	27	129	70	199	—	—	7	126	32	161	12	81
	6	2.VIII.	69	247	—	—	113	314	23	193	76	267	65	228	23	142	20	134	60	212	10	119	22	136	30	158	43	169
	7	19.IX.	41	222	—	—	—	—	—	—	—	—	41	223	31	148	31	148	—	—	—	64	—	195	19	165	—	—
Seria II	1	26.V.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	17	120	22	211	
	2	11.VI.	32	116	7	74	56	157	—	—	—	—	—	—	34	127	34	127	—	—	—	—	—	—	33	120	14	37
	3	26.VI.	43	190	55	195	63	224	12	151	—	—	—	—	17	95	17	95	—	—	—	—	—	—	30	142	14	61
	4	6.VII.	49	239	37	157	25	286	30	209	84	273	—	—	73	182	69	180	75	195	—	—	14	128	53	198	16	80
	5	18.VII.	44	263	76	308	73	309	37	186	27	268	—	—	41	167	39	158	55	233	—	—	17	170	34	194	29	45
	6	3.VIII.	73	293	—	—	—	—	—	—	69	288	76	297	24	132	20	120	67	214	16	110	4	157	28	161	50	94
	7	19.IX.	66	253	—	—	—	—	—	—	—	—	66	253	43	176	43	176	—	—	17	142	14	170	34	183	—	—

Tabela 8

Bezwzględna zawartość sparteiny (sp.) i pozostałych alkaloidów (poz.) w liściach, łodygach, strąkach i korzeniach łubinu białego pastewnego

Nr	Terminy sprzętów i wiek roślin	Liście		Łodygi		Strąki				Część nadziemna sumarycz- nie		Korzenie	
		sp.	poz.	sp.	poz.	łupy		nasiona		sp.	poz.	sp.	poz.
						sp.	poz.	sp.	poz.				
S e r i a I													
I	26.V — 16 dni	—	—	—	—	—	—	—	—	65	457	32	303
II	9.VI — 29 dni	119	739	188	547	—	—	—	—	307	1286	37	251
III	22.VI — 44 dni	535	2262	156	1075	—	—	—	—	691	3337	107	249
IV	5.VII — 58 dni	765	2464	905	1722	—	—	74	703	1744	4889	132	503
V	18.VII — 71 dni	718	2775	507	2146	—	—	106	1910	1331	6831	113	765
VI	2.VIII— 85 dni	829	2980	434	2597	138	1687	191	1187	1592	8447	366	1438
VII	19.IX —102 dni	444	2418	542	2588	—	611	—	3504	986	9121	—	—
S e r i a II													
I	26.V — 16 dni	—	—	—	—	—	—	—	—	65	457	32	303
II	11.VI — 31 dni	287	1046	168	629	—	—	—	—	455	1675	57	150
III	26.VI — 48 dni	448	1957	179	1002	—	—	—	—	627	2959	64	280
IV	6.VII — 59 dni	706	3443	118	2928	—	—	65	591	1889	6962	119	594
V	18.VI — 71 dni	612	3683	787	3210	—	—	291	2907	1690	9800	368	585
VI	3.VIII— 86 dni	810	3219	471	2430	247	1700	46	1795	1575	9144	430	806
VII	19.IV —102 dni	710	2722	795	3253	176	1467	217	2636	1898	10079	—	—

Wszystkie badane liście, niezależnie od wieku, zawierają sparteinę. Jej względna zawartość w liściach pędu głównego ulega dość dużym wahaniom, podczas gdy w liściach pędu bocznego jest raczej stała. Przeciętnie dla wszystkich liści jej stosunek do pozostałych alkaloidów waha się od 1:6 do 1:3 (4 sprzęd).

Względna zawartość sparteiny w łodygach ulega również stosunkowo dużym wahaniom i jest najwyższa — podobnie jak w liściach — w okresie zawiązywania strąków. Zawartość zaś sumy pozostałych alkaloidów nie ulega istotnym zmianom. W zawiązujących się strąkach wykryto niewielkie ilości sparteiny, które w czasie dojrzewania nasion całkowicie zanikają. Natomiast zaobserwowano wzrost pozostałych alkaloidów.

Względna zawartość sparteiny w części nadziemnej i korzeniach, jak również i jej stosunek do pozostałych zasad u roślin serii II, niczym istotnie nie różni się od wyników serii I. Podobnie jak w tej ostatniej, również i w danym przypadku

w liściach i łodygach obserwuje się dość znaczne, raczej nieprawidłowe wahania w zawartości tego alkaloidu zależnie od wieku. Jest może godny uwagi fakt, że w nasionach nawet dojrzałych znaleziono pewną, niewielką w porównaniu z pozostałymi zasadami, ilość sparteiny.

Biorąc pod uwagę bezwzględne ilości alkaloidów w plonach roślin (tabela 8) należy stwierdzić, iż między badanymi seriami brak istotnych różnic w sumarycznej zawartości sparteiny zarówno w organach części nadziemnej, jak i korzeniach (poza ostatnim sprzętem).

O ile więc u roślin, pod które stosowano sparteinę, stwierdzono więcej zasad, to różnica ta przypada głównie na alkaloidy nielotne. Jest rzeczą charakterystyczną, że w drugiej połowie wegetacji, kiedy ilość alkaloidów nielotnych w części nadziemnej w obu seriach wyraźnie wzrasta, to ilość sparteiny na ogół nie ulega większym zmianom.

DYSKUSJA

Przebadane obie serie łubinów wskazują na to, iż zastosowana do podłoża sparteina, jeśli w ogóle została pobrana, to w zupełnie minimalnym stopniu, nie pozwalającym na wyciąganie jakichkolwiek wniosków o jej ewentualnych przemianach w roślinach. Trudno bowiem przypuszczać, aby pobrana w większych ilościach sparteina mogła być tak szybko przeobrażona w związki niealkaloidowe, co z kolei uniemożliwiłoby wykrycie jej, chociażby w jednej z przebadanych faz rozwoju roślin. Inne nasze doświadczenia (Birecka, Sebyła, Nalborczyk w druku) świadczą o tym, że alkaloid ten wprowadzony do roślin (za pomocą iniekcji) dość długo jest wykrywalny w znacznych ilościach w różnych organach. Dlatego też z punktu widzenia zmian zawartości alkaloidów w ontogenezie roślin obie serie można w pewnym stopniu traktować jako jedną kombinację w dwóch powtórzeniach. Stwierdzone przez nas ilości alkaloidów nie mogą być wskaźnikiem zdolności badanych roślin do ich syntezy, gdyż dotychczas nie ma pewności, czy po powstaniu — niezależnie od właściwości genetycznych roślin (Hackbarth 1957) pozostają na uboczu i nie wchodzą w dalszy metabolizm, czy też ulegają przemianom na związki niealkaloidowe. Istnieje obecnie szereg dowodów na to, że druga hipoteza jest bardzo prawdopodobna (Maszkowcew, Sirotienko 1956, Mothes 1955, Romeike 1956, Sander 1956). Należy do tego dodać, iż zawartość określonego alkaloidu może też być wynikiem przemian jednego w drugi.

Badany łubin należy do roślin niskoalkaloidowych. W warunkach doświadczenia wykazał maksymalną przeciętną zawartość alkaloidów około 0,020% w części nadziemnej. Niestety nie uzyskano szczegółowych ilościowych danych o poszczególnych alkaloidach poza sparteiną, jednakże z badań chromatograficznych wynika, że dominującą jest lupanina (związek najbardziej toksyczny ze wszystkich alkaloidów występujących w łubinach uprawnych). Hydroksylupanina natomiast

występuje w bardzo małych ilościach, najczęściej w mniejszych niż sparteina. To samo można powiedzieć o związku a_x .

Należy podkreślić fakt, że przeprowadzona przez nas identyfikacja badanych zasad opierała się głównie na metodzie chromatograficznej, która jednak nie jest w pełni wystarczająca dla tego celu. Jest rzeczą również możliwą, że wykrywana przez nas plama na chromatogramie odpowiada nie jednemu, ale np. dwom związkom o analogicznym R_f . Wprawdzie użycie trzech różnych faz rozwijających znacznie zmniejsza taką możliwość, jednak nie daje całkowitej pewności. Porównując nasze wyniki jakościowe z wynikami innych badań, przeprowadzonych podobną metodą nad łubinem białym pastewnym (Van der Kuy 1956, Schwarze, Hackbarth 1957, Wiewiórowski, Bratek 1957), należy stwierdzić, że poza lupaniną, hydroksylupaniną i sparteiną, których obecność u tej formy łubinu została stwierdzona, badana przez nas populacja zawierała dodatkowo dwie zasady — a_x i a_y rozpuszczalne w chloroformie, reagujące z odczynnikami Dragendorffa i jodem. Nie sądzimy, aby były artefaktami powstałymi w czasie analizy. Możliwe jest, że są one już znanymi alkaloidami znajdującymi się u innych gatunków roślin motylkowych. Należy podkreślić, że występowanie angustifoliny powinno być jeszcze dokładnie przebadane.

Przeanalizowane organy nadziemne i korzenie w różnym wieku roślin nie wykazują jakościowych różnic w składzie alkaloidów. W soku płaczu wykryto lupaninę i hydroksylupaninę. Nie stwierdzono zaś sparteiny, ale może to być wynikiem stosunkowo małej jej zawartości. Jednakże sam fakt obecności alkaloidów w soku płaczu u formy pastewnej łubinu świadczy — podobnie jak u wielu gatunków wysokoalkaloidowych — o przemieszczaniu się tych związków z korzeni do organów nadziemnych, co oczywiście nie zaprzecza możliwości ich ruchu w kierunku przeciwnym.

Stosunek sparteiny do sumy pozostałych zasad w części nadziemnej jest na ogół taki sam jak w korzeniach w różnych okresach wegetacji roślin, przy czym w zależności od ich wieku ulega zmianom. Stąd też dynamika gromadzenia się sparteiny jest inna niż pozostałych alkaloidów. Najwięcej jej jest na początku zawiązywania strąków, potem zaś nie ulega zwiększeniu, podczas gdy ilość innych zasad wzrasta. Fakt ten w pewnym stopniu potwierdzałby istniejące hipotezy dotyczące roli sparteiny w syntezie lupaniny i hydroksylupaniny u łubinów, szczególnie w późniejszych fazach ich wegetacji. Nie możemy nadal uważać tej sprawy za całkowicie rozstrzygniętą, ze względu na brak dostatecznej ilości bezpośrednich dowodów.

Podobnie jak wiele roślin wysokoalkaloidowych i łubin biały pastewny stosunkowo najwięcej alkaloidów gromadzi w okresie butonizacji i kwitnienia, jednakże w późniejszych fazach wegetacji nie zauważono ich spadku, ale znaczny wzrost. Zarówno względna, jak i bezwzględna zawartość alkaloidów w części nadziemnej wskazywałaby raczej na ich akumulację w roślinie.

W poszczególnych częściach roślin, a szczególnie w liściach, zaobserwowano

duże różnice w zawartości tych zasad w zależności od wieku. Młode liście młodych rozwojowo roślin wykazują niską zawartość alkaloidów, która się znacznie zwiększa w miarę ich starzenia. Natomiast młode liście starych rozwojowo roślin, np. liście pędów bocznych zawierają stosunkowo większą ilość tych związków, która nie ulega zmianom w miarę ich starzenia. Te zmiany w zawartości alkaloidów u liści, w zależności od ich wieku własnego jak i wieku całej rośliny, mogą być wynikiem nie tylko różnej intensywności procesu syntezy, względnie rozkładu, ale również i procesu przemieszczania się tych związków.

Jest rzeczą charakterystyczną, że zarówno w okresie intensywnego wzrostu młodych korzeni, jak i w okresie ich obumierania, ilość alkaloidów w tym organie silnie wzrasta. Podobne zjawisko występuje u liści dolnych i środkowych. Obserwuje się więc stosunkowo duże nagromadzenie alkaloidów w tych organach, wtedy gdy na ogół przebiega albo intensywna synteza białka, albo też jego rozkład.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1. W różnych organach łubinu białego pastewnego, średniowczesnego stwierdzono chromatograficznie obecność lupaniny, hydroksylupaniny, sparteiny oraz ponadto dwóch zasad rozpuszczalnych w chloroformie, reagujących z odczynnikiem Dragendorffa i jodem. Sporadycznie znajdowano również angustifolinę.

2. W czasie wegetacji roślin organy nadziemne i korzenie nie wykazywały jakościowych różnic w składzie alkaloidów, chociaż stosunki ilościowe między poszczególnymi zasadami ulegały istotnym zmianom w zależności od wieku roślin i organu. Jednak we wszystkich przypadkach dominującym ilościowo alkaloidem była lupanina.

3. Najintensywniejsze gromadzenie alkaloidów w części nadziemnej stwierdzono w okresie butonizacji, kwitnienia i zawiązywania strąków, w późniejszych fazach ilość tych związków wzrastała, ale w stopniu mniejszym. Łodygi i korzenie na ogół są uboższe w alkaloidy niż liście.

4. W liściach zaobserwowano duże różnice we względnej zawartości alkaloidów w zależności od wieku, młode liście młodych rozwojowo roślin wykazują stosunkowo niską zawartość alkaloidów, która zwiększa się w miarę ich starzenia. Natomiast młode liście starych rozwojowo roślin zawierają większą ilość alkaloidów, która w miarę ich starzenia nie ulega zmianie.

5. W liściach i korzeniach, zarówno w okresie ich intensywnego wzrostu, jak i starzenia oraz obumierania, ilość alkaloidów znacznie wzrasta.

6. Intensywność gromadzenia się sparteiny w roślinie jest na ogół inna niż pozostałych alkaloidów. Najwięcej jest jej w częściach nadziemnych na początku zawiązywania strąków, potem zaś nie ulega ona zwiększeniu, podczas gdy ilość pozostałych alkaloidów wzrasta.

SUMMARY

1. Lupanine, hydroxylupanine and two not identified bases were found by means of paper chromatography in various organs of white sweet lupine. The unidentified bases were soluble in chloroform and gave tests with iodine and the Dragendorff reagent. Now and then the presence of angustifoline was also established.

2. The qualitative composition of the alkaloids in the roots as well as in the aerial parts does not change during vegetation. However the quantitative relations between the individual alkaloids varied distinctly with age of the plant and its particular parts. Lupanine was the dominant base in all investigated cases.

3. Greatest accumulation of alkaloids in the aerial parts was noticed during butonisation, flowering and pods formation. Later the increases were also found but in a smaller degree. Stems and roots contain generally less alkaloids than the leaves.

4. Young leaves of young plants show a low percentage of alkaloids, which increases with age. On the other hand young leaves of old plants show a higher percentage of alkaloids, which however remains constant on ageing.

5. The total content of alkaloids in leaves and roots increases markedly during their intense growth, as well as during ageing and the dying off period.

6. The intensity of sparteine accumulation in the lupine is different from the remaining alkaloids. Most sparteine is found during pods formation. Later the content of other alkaloids rises whereas the amount of sparteine remains constant.

LITERATURA

- Barbacki S., 1952, Łubin, P.J.W.R. i L., Warsz. wa.
- Birecka H., Rybicka H., Ściobor-Marchocka A., 1959, Alkaloidy *Lupinus albus* i metoda ich oznaczania ilościowego, Acta Bioch. Polon. 8 (1).
- Birecka H., Sebyła T., Nalborczyk E., Przemiany sparteiny u *Lupinus albus* (w druku).
- Byszewski W., 1950, Studia nad łubinem pastewnym, Ann. Univ. M. Curie-Skłod. 5 (6) Sec. E.
- Byszewski W., 1957, Alkaloidy łubinowe, Hod. Roślin Aklim. i Nasien. 1 (3) :327—373.
- Evans W. C., Partridge M. W., 1953, Alkaloid biogenesis Part. II. Changes in the ontogenetic production of alkaloids in *Atropa* and *Datura*, Jour. Pharmacy Pharmac. 5 (10).
- Hackbarth J., 1957, Die Gene der Lupinenarten III Weisse Lupine (*Lupinus albus*), Ztsch. f. Pflanzenzüchtung 37 (2).
- Hegnauer M. R., 1955, Considerations botaniques et biogénétiques sur les alcaloïdes du genre lupinus, Bul. Soc. Pharm. de Bordeaux 94 (nr spécial) :209.
- Van der Kuy A., 1956, Bijdrage tot de Kennis van alkaloidvorming bij enkele species van het genus lupinus S-Gravenhage, Dysertacja.
- Marszewska, Ziemięcka J., Gołębiowska J., 1948, Wpływ szczepienia słodkiego łubinu na zawartość w nim alkaloidów i białka, Ann. Univ. M. Curie-Skłod. 3 (8):175—195.
- Maszkowcew M. F., Sirotienko A. A., 1956, Razruszenije nikotina korniami tabacznego rastienija w procesie gołownogo obmiena Fizjologia Rastienij 3 (1).
- Mothes K., 1955, Physiology of alkaloids, Ann. Rev. of Plant Physiol. 6:393—425.
- Mothes K., Romeike A., 1954, Nicotin als Ursache der Unverträglichkeit von Pfropfungen Flora 142 (31 12).
- Mothes K., 1956, Stoffliche Beziehungen zwischen Wurzel und Spross, Angewandte Botanik 33 (4—5).

- Mothes K., Engelbrecht L., 1956, Bemerkungen zur Alkaloidsynthese in Lupinen. Die Kulturpflanze, Beiheft 1, Biochemie der Kulturpflanzen.
- Peters L., Schwanitz F., Sengbusch R., 1956, Über die Entstehung, den Entstehungsort und die Leitung der Alkaloide bei einigen Lupinenarten, Die Kulturpflanzen, Beiheft 1, Biochemie der Kulturpflanzen.
- Reifer J., Kleczkowska A., 1957, Badania nad biosyntezą alkaloidów w łubinie wąskolistnym, Acta Bioch. Polon. 4 (2) :135—144.
- Reifer J. i Niziolek S., 1957, Kolorymetryczna mikrometoda oznaczania alkaloidów w nasionach łubinu, Acta Bioch. Pol. 4 (3) :165—180.
- Romeike A., 1956, Über die Mitwirkung des Sprosses bei der Ausbildung des Alkaloidspektrums, Flora B. 143 H. 1.
- Sander H., 1956, Studien über Bildung und Abbau von Tomatin in der Tomatenpflanze, Planta 47 (1).
- Smirnowa M. J., Moszkow W. W., 1940, Izmenienija alkaloidnosti u priwivok lupina, Wiest. Social. Rastieniew. 2.
- Schwarze P., Hackbarth J., 1957, Untersuchungen über die Alkaloidkomplexe von gelben, blauen und weissen Lupinen, Züchter 27 (332).
- Tso T. C., Jeffrey R. N., 1956, Studies on tobacco alkaloids, I Changes in nicotine and nornicotine content in *Nicotiana*, Plant Physiology 31 (6).
- Wiewiórowski M., Bratek M.D., 1966, Chromatographic separation and identification of alkaloids present in lupine, Bul. Acad. Pol. Scien. 4(1).
- Wiewiórowski M., Bratek M. D., 1957, Die qualitative Alkaloidzusammensetzung der Lupine im Lichte chromatographischer Untersuchungen, Acta Soc. Bot. Pol. 26 (1):129—156.
- Woker G., 1956, Die Chemie der natürlichen Alkaloide, Verlag, Stuttgart.