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

Część II. Łubin gorzki

Changes of alkaloid content in plants of Lupinus albus during their vegetation

Part II. White bitter lupine

H. BIRECKA, W. SZYMAŃSKA, A. ŚCIBOR-MARCHOCKA

W poprzedniej publikacji (H. Birecka, A. Mazan, D. Szklarek 1959) przedstawiono wyniki badań nad zmianami zachodzącymi w ilościach alkaloidów u roślin łubinu białego pastewnego w czasie ich wegetacji. W niniejszej pracy prześledzono zmiany zarówno w składzie, jak i ilości tych związków w poszczególnych organach roślin populacji gorzkiej tego samego gatunku. Ponieważ jednym z głównych celów przeprowadzonych badań było porównanie obu form, dlatego też doświadczenia te były wykonane w tym samym czasie i w jednakowych warunkach.

METODYKA BADAŃ

Zakładanie i prowadzenie doświadczenia oraz czas siewu i wzejścia łubinu były analogiczne jak w przypadku łubinu białego pastewnego (H. Birecka, A. Mazan, D. Szklarek 1959). Sprzętu roślin (po trzy wazony w czasie wegetacji i 5 w fazie pełnej dojrzałości) dokonywano w następujących terminach, ścinając je zawsze w godzinach południowych:

1. 26.V — w wieku 16 dni,
2. 9.VI — w wieku 30 dni (początek zakładania pąków kwiatowych na pędzie głównym),
3. 25.VI — w wieku 46 dni (pełne kwitnienie pędu głównego, początek tworzenia się pędów bocznych),
4. 5.VII — w wieku 56 dni (początek zakładania pąków kwiatowych na pędach bocznych, na pędzie głównym utworzone bardzo małe strąki),

5. 19.VII — w wieku 70 dni (kwitnienie bardzo słabe pędów bocznych, żółknięcie dolnych liści),

6. 2.VIII — w wieku 84 dni (zielone duże strąki na pędzie głównym, bardzo nieliczne małe strąki na pędach bocznych),

7. 19.IX — w wieku 132 dni (rośliny w pełni dojrzałe).

W tych samych terminach (oprócz ostatniego sprzętu) zbierano sok płaczu w sposób analogiczny, jak w przypadku łubinu pastewnego.

Analizę alkaloidów wykonano metodą ilościową (H. Birecka, H. Rybicka, A. Scibor-Marchocka 1959), używając dla ich rozdziału chromatograficznego faz: 1) butanol: HCl: toluen (I. Reifer, D. Kleczkowska, J. Przeździecka, 1959) i 2) butanol: 0,1 n HCl. Dla alkaloidów nie zidentyfikowanych chemicznie zastosowano współczynnik ekstynkcyj — 0,10. Azot ogólny oznaczono metodą Kjeldahla.

WYNIKI BADAŃ

Wzrost roślin w ciągu wegetacji przebiegał na ogół normalnie. W wieku 70 dni obserwowano już żółknięcie liści dolnych, które w późniejszym okresie opadały (zbierano je oddzielnie). Po trzech miesiącach wegetacji zaczęły żółknąć i opadać liście środkowe, jak i częściowo górne pędu głównego, a później również i część liści pędów bocznych (w porównaniu z analogicznym w czasie doświadczeniem polowym z tą samą populacją łubinu omawiane rośliny w warunkach wazonowych wcześniej traciły liście. Należy również podkreślić, że w odróżnieniu od warunków polowych strąki wykształciły się w większości na pędzie głównym, udział pędów bocznych w ich plonie był minimalny). Właściwie rośliny dojrzały o około 7—10 dni przed ostatnim ich sprzętem. Nie ścięto ich jednak w tym czasie, czekając na pełne wyschnięcie łądyg.

We wszystkich terminach sprzętu sok płaczu (ilości ml analogiczne do ilości otrzymywanych w przypadku łubinu pastewnego) wykazywał chromatograficznie na trzech fazach rozwijających (dodatkowa faza etanol: nasycony roztwór $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — M. Wiewiórowski, D. Bratek 1957) obecność lupaniny, hydroksylupaniny i alkaloidu o R_f analogicznym do R_f oksylupaniny. Ilość lupaniny była zawsze znacznie wyższa niż pozostałych zasad. Alkaloidy te można było wykryć nanosząc na chromatogram ilości ekstraktu nawet 5—10-krotnie mniejsze niż w przypadku łubinu pastewnego.

Plony roślin z poszczególnych zbiorów podane są w tabeli 1. Istotne przyrosty sumaryczne ciężaru liści obserwuje się do 56 dnia wegetacji, w okresie późniejszym są one już nieznaczne. Jednakże w tym czasie istotnie zwiększa się ciężar liści pędów bocznych. Proces wzrostu łądyg pędu

głównego występuje do 84 dnia wegetacji (kiedy rośliny posiadają już duże wykształcone strąki). Przyrosty ich masy są nawet większe niż u łodyg pędów bocznych w analogicznych okresach czasu.

Sumaryczne plony roślin zwiększają się na ogół równomiernie do okresu kwitnienia pędów bocznych (70 dni). Największy jednak ich przyrost, bo około 40% plonu końcowego, występuje w ciągu następnych dwóch tygodni. Jest on głównie wynikiem zwiększenia się masy części generatywnych (łupiny i nasiona) oraz łodyg. W okresie późniejszym, aż do końca wegetacji, plon ogólny roślin nie ulega zmianie. Zwiększa się jedynie masa nasion przy jednoczesnym zmniejszeniu ciężaru łupin.

Tabela 1 — Table 1

Plony łubinu białego gorzkiego (8 roślin) w gramach suchej masy
Weight of white bitter lupine (8 plants) in g. d. m.

Części roślin Plant parts	Terminy sprzętu i wiek roślin w dniach Date of harvesting and age of plants in days						
	26.V 16 dni	9.VI 30 dni	25.VI 46 dni	5.VII 56 dni	19.VII 70 dni	2.VIII 84 dni	19.IX 132 dni
Liście pędu głównego							
Liście dolne	—	3,35	2,75	2,67	2,93	1,66	—
„ środkowe	—	3,26	3,50	3,51	3,20	2,37	—
„ górne	—	—	4,54 ¹	3,55	3,30	2,52	—
„ p. bocznych	—	—	—	3,57 ²	4,70	6,43	—
„ opadłe	—	—	—	—	—	2,76	15,08
Liście razem	—	6,61	10,79	13,30	14,13	15,74	15,08
Łodygi pędu głównego	—	2,87	8,97	13,17	16,14	21,94	} 22,99 ⁴
Łodygi pędów bocznych	—	—	—	0,93	1,63	3,34	
Łupiny	—	—	—	1,44 ³	6,76 ³	14,62	9,28
Nasiona	—	—	—	—	—	8,00	15,84
Część nadziemna	2,96	9,48	19,76	28,84	38,66	63,64	63,19
μ	0,11	0,56	1,73	1,95	1,64	2,02	3,41
Korzenie	1,77	2,60	3,58	6,09	8,42	9,28	— ⁵

1 Do liści górnych dołączono kwiaty (0,48 g) i ukazujące się pędy boczne (0,61 g).

2 Wraz z nielicznymi pączkami na pędach bocznych.

3 Są to strączki w całości, gdyż nie udało się oddzielić bardzo małych nasion od łupin.

4 Suma łodyg pędu głównego i bocznych.

5) Korzeni nie sprzątnięto w tym terminie.

Tabela 2 ilustruje sumaryczne ilości alkaloidów w poszczególnych częściach roślin. Względna ich zawartość w liściach zależna jest zarówno od czasu wykształcania się, jak i wieku tych organów. Im później wy-

Tabela 2—Table 2

Sumaryczna zawartość alkaloidów w łubinie białym gorzkim

Total content of alkaloids in white bitter lupine

Terminy sprzętu i wiek roślin w dniach Date of harvesting and age of plants in days													
zawartość alkaloidów													
26.V—16		9.VI—30		25.VI—46		5.VII—56		19.VII—70		2.VIII—84		19.IX—132	
0/00	mg	0/00	mg	0/00	mg	0/00	mg	0/00	mg	0/00	mg	0/00	mg
Liście pędu głównego:													
Liście dolne													
		2,21	7,5	1,24	3,4	1,15	3,1	1,26	3,7	1,05	1,8		—
		6,47	21,1	2,93	10,3	2,36	8,3	2,22	7,1	1,21	3,0		—
		—	—	9,87	44,7	5,56	19,7	5,00	16,6	1,86	4,8		—
		—	—	—	—	15,23	54,3	10,69	50,2	3,81	24,5		—
		—	—	—	—	—	—	—	—	0,51	1,4		—
		3,74	10,7	3,94	35,3	3,42	45,1	3,35	54,1	3,04	66,7	1,70	25,9
		—	—	—	—	5,68	5,3	6,43	10,4	3,77	12,6	1,07	24,6
		—	—	—	—	12,70	18,3	25,51	172,5	8,66	126,7	6,79	63,1
		—	—	—	—	—	—	—	—	7,88	63,0	13,37	211,7
Łodygi pędu głównego													
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ pędów bocznych													
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ opadłe													
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Łupiny													
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nasiona													
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Część nadziemna													
7,91	23,5	4,15	39,3	4,74	93,7	5,35	154,1	8,17	314,6	4,79	304,5	5,16	325,3
Korzenie													
2,55	4,4	2,14	5,6	1,55	5,6	2,31	14,0	2,00	16,9	1,52	14,2		

kształcą się one, tym więcej zawierają alkaloidów. Szczególnie wysoką zawartością tych związków odznaczają się liście pędów bocznych. W miarę starzenia się roślin u wszystkich liści obserwuje się zmniejszenie zarówno względnej, jak i bezwzględnej ilości alkaloidów. Względna zawartość tych zasad w łodygach pędu głównego ulega niewielkim zmianom w czasie wegetacji, zmniejsza się znacznie tylko w okresie dojrzwania roślin. We wszystkich terminach sprzętu jest ona istotnie wyższa niż u liści dolnych, a od okresu kwitnienia nawet niż u liści środkowych. Względna zawartość alkaloidów w łodygach pędów bocznych jest wyższa niż w łodygach pędu głównego, ale w miarę starzenia się roślin znacznie się zmniejsza. Najwyższe jednak względne zawartości tych związków występują (oprócz sprzętu czwartego) w organach generatywnych. Jest rzeczą godną uwagi, że zawartość ta osiąga maksimum w strąkach bardzo młodych, w których udział nasion był jeszcze stosunkowo niewielki. W okresie późniejszym względna zawartość alkaloidów w łupinach zmniejsza się, natomiast w nasionach znacznie wzrasta. Duże nagromadzenie alkaloidów w roślinach wystąpiło w okresie od początku zakładania pąków kwiatowych do wykształcania się strąków na pędzie głównym (od 30 do 70 dnia wegetacji). W ramach tego okresu największy przyrost ilości tych związków, bo około 50% ich zawartości w dojrzałych roślinach przypadł na okres dwutygodniowy — między 56 a 70 dniem. Jest on głównie wynikiem zwiększenia się sumy alkaloidów w strąkach, przy jednoczesnym braku istotnych zmian pod tym względem w liściach. Wzrasta również w tym okresie, ale w stopniu niewielkim, zawartość tych związków w łodygach.

Od 70 dnia wzrostu sumaryczna ilość alkaloidów w części nadziemnej roślin nie ulega zmianie do końca wegetacji. W okresie tym jednak występują zmiany zawartości tych związków w poszczególnych organach. I tak w 84 dniu ilość ich w liściach, nawet najmłodszych, istotnie spada, natomiast w łodygach i w częściach generatywnych ulega zwiększeniu, wprawdzie stosunkowo bardzo nieznacznemu. Pod koniec wegetacji w częściach wegetatywnych sumaryczna zawartość alkaloidów znacznie zmniejsza się, jednocześnie w nasionach wzrasta bardzo istotnie. Przyrostowi temu towarzyszy również duży spadek ilości alkaloidów w łupinach.

Zarówno względna, jak i bezwzględna zawartość tych zasad w korzeniach w ciągu całego okresu wegetacji w porównaniu z częścią nadziemną jest bardzo mała.

Warto podkreślić, że zmiany zawartości azotu (tab. 3) w liściach w zależności od czasu ich wykształcenia i wieku układają się dość podobnie jak i zmiany ilości alkaloidów. Niemniej jednak, przy przyjęciu przeciętnej zawartości azotu w alkaloidach około 11% (do czego upoważnia domi-

Tabela 3

Zawartość azotu w
Nitrogen content

Części roślin Plant parts	Terminy sprzętu i wiek Date of harvesting and							
	9.VII — 30			25.VI — 46			5.VII	
	zawartość N		% udział alkaloidów w zawart. N (—100%)	zawartość N		% udział alkaloidów w zawart. N (—100%)	zawartość N	
	%	mg		%	mg		%	mg
Liście pędu głównego								
Liście dolne	3,50	117	0,7	3,05	84	0,4	2,47	66
„ środkowe	4,06	132	1,8	3,53	124	0,9	3,30	116
„ górne	—	—	—	3,98	181	2,7	4,22	150
„ pędów bocznych	—	—	—	—	—	—	5,02	179
„ opadłe	—	—	—	—	—	—	—	—
Łodygi pędu głównego	1,11	32	3,7	1,05	94	4,1	0,96	126
„ pędów bocznych	—	—	—	—	—	—	1,00	9
Część wegetat.	3,07	281	1,5	2,44	483	2,2	2,36	646
Łupiny	—	—	—	—	—	—	3,26	47
Nasiona	—	—	—	—	—	—	—	—
Część nadziemna	3,07	281	1,5	2,44	483	2,2	2,40	693
Korzenie	2,32	60	1,0	2,29	82	0,7	2,19	133

* Niestety z przyczyn przypadkowych nie można było w tej próbie oznaczyć zawartości azotu.

nująca ilościowo lupanina), uzyskane dane wskazują na to, że większej ilości azotu ogólnego w liściach towarzyszy zwiększenie procentowego udziału w nim alkaloidów, przy czym w miarę starzenia się liści, często, mimo jeszcze dużej zawartości azotu, udział ten znacznie maleje. Im więc liście są młodsze i im później wykształcają się na roślinie, tym większy jest udział alkaloidów w ogólnej ilości azotu. Nie przekracza on jednak 3,3⁰%. Względna zawartość azotu w łodygach jest o wiele niższa niż w liściach, nawet najuboższych w ten składnik. Udział alkaloidów w tym azocie ulega stosunkowo b. małym wahaniom w miarę starzenia się roślin, ale we wszystkich przypadkach jest wyższy (szczególnie w łodygach pędów bocznych) niż nawet w najpóźniej powstałych liściach. Stosunkowo bardzo

— Table 3

łubinie białym gorzkim
in white bitter lupine

roślin w dniach
age of plant in days

— 56			19.VII—70			2.VIII — 84			19.IX — 132		
% udział alkaloidów w zawart. N (—100%)	zawartość N		% udział alkaloidów w zawart. N (—100%)	zawartość N		% udział alkaloidów w zawart. N (—100%)	zawartość N		% udział alkaloidów w zawart. N (—100%)	zawartość N	
	%	mg		%	mg		%	mg		%	mg
0,5	2,32	68	0,6	2,11	35	0,5	—	—	—	—	—
0,8	3,09	99	0,8	2,23	53	0,6	—	—	—	—	—
1,4	4,01	132	1,4	2,98	75	0,7	—	—	—	—	—
3,3	4,91	231	2,4	3,71	239	1,1	—	—	—	—	—
—	—	—	—	0,92	25	0,6	1,75	264	1,1	—	—
3,9	1,03	166	3,5	0,91	200	3,7	0,85	195	1,4	—	—
6,2	0,98	16	7,2	1,39	46	3,0				—	—
2,4	2,23	712	2,2	1,64	673	1,9	1,20	459	1,2	—	—
4,3	*	—	—	2,15	314	4,4	1,26	117	6,0	—	—
—	—	—	—	2,48	198	3,5	4,33	686	3,4	—	—
2,2	—	—	—	1,86	1185	2,8	2,00	1262	2,8	—	—
1,2	2,24	189	1,2	1,85	172	0,9	—	—	—	—	—

wysoki udział badanych związków w ogólnej ilości azotu obserwuje się w strąkach, szczególnie w łupinach. Jest on w nich zawsze wyższy niż w organach wegetatywnych, ustępując pod tym względem jedynie w jednym wypadku łodygom pędów bocznych. Udział alkaloidów w azocie korzeni jest we wszystkich terminach sprzętu istotnie niższy niż w części nadziemnej.

Skład jakościowy badanych zasad w łubinie białym (tab. 4) jest podobny do składu stwierdzonego przez nas uprzednio (H. Birecka, H. Rybicka i A. Scibor-Marchocka 1959). Nie znaleziono jedynie angustifoliny, która mogła występować, ale w zbyt małych ilościach (przy stosunkowo dużym jej R_f), aby móc ją wykryć. Przy stosowanych rozcień-

czeniu, tylko w nielicznych przypadkach stwierdzono obecność w roślinach sparteiny i zasady, a_x , przy tym w ilościach bardzo małych. Sparteina występuje w liściach roślin stosunkowo młodych (30-dniowych). Nieco większe jej ilości stwierdza się we wszystkich liściach w 84 dniu wegetacji, kiedy już sumaryczna zawartość alkaloidów nie wzrasta. Nie znaleziono jej ani w łodygach (poza jednym wypadkiem), ani w korzeniach, ani też w organach generatywnych.

Spśród badanych alkaloidów w czasie wegetacji roślin we wszystkich ich organach dominuje lupanina. Największy przyrost jej ilości wystąpił między 56 i 70 dniem, stanowiąc ponad 80% sumarycznego wzrostu alkaloidów w tym okresie, a około 50% zawartości w plonie końcowym.

Ilość hydroksylupaniny w częściach nadziemnych do 84 dnia wegetacji wahała się od 8 do 12% zawartości lupaniny (tab. 5). W roślinach zaś dojrzałych dochodzi do 21%. Szczególnie mało hydroksylupaniny jest w liściach, natomiast w znacznie stosunkowo większych ilościach występuje ona w łodygach, przede wszystkim pędu głównego. Jest rzeczą charakterystyczną, że w początkowym okresie strąki zawierały bardzo mało hydroksylupaniny, to samo odnosi się i do nasion. W 70 dniu wegetacji, kiedy stwierdzono największy przyrost sumy alkaloidów w strąkach, zawierały one 141 mg lupaniny i 5 mg hydroksylupaniny, części zaś wegetatywne odpowiednio 103 i 15 mg. W okresie następnym bezwzględna zawartość hydroksylupaniny znacznie wzrasta jedynie w łupinach. W fazie zaś pełnej dojrzałości największe ilości tego alkaloidu stwierdza się w nasionach, chociaż w stosunku do lupaniny więcej jest go nadal w łupinach. W korzeniach stosunek między obu alkaloidami jest bardziej korzystny dla hydroksylupaniny niż w części nadziemnej we wszystkich okresach rozwoju roślin.

Sumaryczna zawartość alkaloidu, którego R_f odpowiada oksylupaninie, do 70 dnia wegetacji jest istotnie wyższa niż ilość hydroksylupaniny. W okresie tym szczególnie jest go dużo w łodygach i liściach górnych pędu głównego oraz liściach pędów bocznych. Stosunkowo znaczny przyrost zawartości tego alkaloidu między 56 i 70 dniem jest głównie wynikiem zwiększenia się jego ilości w organach generatywnych. W okresie zaś następnym obserwuje się w nich istotne jego zmniejszenie. Pod koniec wegetacji ogólna ilość tego alkaloidu w roślinach znacznie spada.

Zawartość zasady a_x — przy użytym współczynniku ekstynkcji — do 84 dnia wzrostu występuje we wszystkich organach w stosunkowo bardzo małych ilościach. Pod koniec zaś wegetacji znacznie wzrasta, niewiele ustępując zawartości hydroksylupaniny. Przyrost ten jest wynikiem głównie zwiększenia się ilości tego alkaloidu w organach generatywnych, szczególnie w nasionach.

Tabela 4 — Table 4

Zawartość poszczególnych alkaloidów w łubinie białym gorzkim (mg)
Content of particular alkaloids in white bitter lupine (mg)

Części roślin Plant parts	Terminy sprzetu i wiek roślin w dniach date of harvesting and age of plant in days																																													
	26.V—16						9.VI—30						25.VI—46						5.VIII—56						19.VII—70						2.VIII—84						19.IX—132									
	zawartość alkaloidów w 8 roślinach w mg																																													
	spar-teina	lupa-nina	hydro-ksylu-panina	(oksy-lupa-nina?)	a _x	a _y	spar-teina	lupa-nina	hydro-ksylu-panina	(oksy-lupa-nina?)	a _x	a _y	spar-teina	lupa-nina	hydro-ksylu-panina	(oksy-lupa-nina?)	a _x	a _y	spar-teina	lupa-nina	hydro-ksylu-panina	(oksy-lupa-nina?)	a _x	a _y	spar-teina	lupa-nina	hydro-ksylu-panina	(oksy-lupa-nina?)	a _x	a _y	spar-teina	lupa-nina	hydro-ksylu-panina	(oksy-lupa-nina?)	a _x	a _y	spar-teina	lupa-nina	hydro-ksylu-panina	(oksy-lupa-nina?)	a _x	a _y				
Liście pędu głównego																																														
Liście dolne							0,6	5,2	0,4	0,8	0,4	0,1	śl	2,5	0,1	0,3	0,5	śl	śl	2,5	0,1	0,2	0,1	śl	—	3,0	0,4	0,3	śl	—	0,1	1,1	0,1	0,1	0,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ środkowe							1,1	14,5	1,0	3,9	0,5	0,1	śl	7,5	1,2	0,9	0,4	0,3	—	7,0	—	0,6	0,5	0,2	—	5,9	0,2	0,7	0,3	—	0,7	1,9	0,1	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ górne							—	—	—	—	—	—	—	32,3	—	9,3	2,6	0,6	—	16,3	—	2,3	0,7	0,4	—	13,6	0,5	2,0	0,5	—	0,7	2,7	0,6	0,5	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ pędów bocznych							—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	37,5	2,5	7,6	5,68	0,9	—	38,6	3,7	5,2	2,7	—	2,9	16,4	1,5	3,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ opadłe							—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,0	0,1	0,3	—	—	—	—	15,7	5,0	2,7	2,3	0,2	—		
Łodygi pędu głównego							—	6,3	1,2	2,5	0,7	—	—	20,8	4,3	9,6	0,6	—	—	30,3	9,1	5,2	0,5	—	—	35,8	8,6	8,6	1,1	—	—	47,2	9,9	6,8	2,6	0,2	}	—	—	—	—	—	—	—	—	
„ pędów bocznych							—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,4	0,8	0,9	0,2	śl	0,4	7,0	0,7	2,0	0,3	—	—	8,2	0,5	3,3	0,4	0,2		—	16,5	4,4	1,8	0,7	1,2	—		
Łupiny							—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13,2	1,1	2,6	1,2	0,2	—	141,3	4,7	24,8	1,6	0,1	—	98,0	16,5	9,1	2,8	0,3	—	39,0	11,6	1,8	9,7	1,0	—	—	—	
Nasiona							—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	58,5	0,6	1,8	1,8	0,3	—	148,1	25,3	10,3	22,5	5,5	—	—	—	
Część nadziemna	—	17,8	2,2	3,1	0,4	—	1,7	26,0	2,6	7,2	1,6	0,2	śl	63,0	5,6	20,1	4,1	0,9	śl	110,2	13,6	19,4	9,0	1,7	0,4	245,2	18,8	43,6	6,5	0,1	4,4	235,0	29,9	25,9	8,3	1,0	—	219,3	46,3	16,6	35,2	7,9	—	—	—	—
Korzenie	—	3,3	0,5	0,6	śl	—	—	3,4	0,5	1,3	0,4	—	—	3,2	0,6	1,1	0,5	0,2	—	7,8	2,6	1,7	1,9	—	—	12,8	1,3	2,1	0,7	—	—	10,8	1,5	1,5	0,2	0,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

DYSKUSJA

Omówione wyżej doświadczenia dotyczą łubinu białego gorzkiego. Pod względem dynamiki rozwoju rośliny te nie różniły się od roślin pastewnej populacji średniowczesnej opisanej w części I. Pewne jednak różnice wystąpiły w dynamice wzrostu. Do 70 dnia wegetacji przyrosty masy u populacji gorzkiej były na ogół mniejsze niż u pastewnej, natomiast w ciągu następnych dwóch tygodni znacznie większe. Końcowy plon łubinu gorzkiego jest tylko niewiele wyższy od plonu pastewnego. Skład jakościowy alkaloidów u obu form jest podobny, oczywiście sumaryczne ich ilości są bardzo różne. O ile u formy pastewnej względna zawartość tych związków wahała się od 0,01 do 0,04%, to u formy gorzkiej od 0,1 do 2,5%, w zależności od organu i wieku rośliny. Należy podkreślić, obok podobieństw, istotne różnice między tymi populacjami w dynamice gromadzenia alkaloidów w części nadziemnej (tab. 6).

U populacji pastewnej, od okresu wytworzenia pąków kwiatowych, zawartość alkaloidów wzrasta na ogół równomiernie do 84 dnia wegetacji, osiągając w tym czasie maksymalne wartości. Również równomiernie zwiększa się ilość tych związków w strąkach. W fazie pełnej dojrzałości udział ich w tych organach jest mniejszy niż w częściach wegetatywnych (ciężar jednak nasion w tym okresie stanowi 31,6% plonu ogólnego, a zawartość alkaloidów 34,6% całkowitej ilości w roślinach).

U populacji natomiast gorzkiej względny przyrost zawartości alkaloidów do 56 dnia wegetacji jest mniejszy niż u formy pastewnej, jednak znacznie się zwiększa między 56 i 70 dniem osiągając już w tym okresie maksymalną wartość. Na ten właśnie interwał czasu przypada również największy przyrost ilości alkaloidów w częściach generatywnych. Następne, bardzo istotne, zwiększenie zawartości tych związków w strąkach występuje pod koniec wegetacji, przy czym udział ich w tych organach jest znacznie większy niż w częściach wegetatywnych (ciężar nasion stanowi wtedy 25,1% plonu ogólnego, a zawartość alkaloidów 65,1% całkowitej ilości w roślinach). To duże zwiększenie zawartości badanych zasad w organach generatywnych łubinu gorzkiego w najpóźniejszym okresie jest najprawdopodobniej wynikiem znacznego dopływu do nich alkaloidów z części wegetatywnych, czego nie obserwuje się — w każdym bądź razie w takim stopniu — u populacji pastewnej.

Istotne wydają się różnice między badanymi populacjami pod względem zmian ilości alkaloidów w liściach w miarę ich starzenia. O ile u łubinu pastewnego w liściach, szczególnie dolnych i środkowych, z wiekiem ich obserwowano wzrost zawartości względnej alkaloidów, to u analogicznych liści populacji gorzkiej występował znaczny spadek ilości tych związków. Oczywiście trudno sądzić, w jakim stopniu było to skutkiem

Tabela 5—

Zawartość niektórych alkaloidów w %

Content of some alkaloids in

Części roślin Plant parts	Zawartość alkaloidów w Alkaloid content in percentage								
	26.V — 16			9.VI — 30			25.VI — 46		
	hydroksylu- panina	(oxylupa- nina?)	a _x	hydroksylu- panina	(oxylupa- nina?)	a _x	hydroksylu- panina	(oxylupa- nina?)	a _x
Liście pędu głównego									
Liście dolne				8	15	8	3	12	20
„ środkowe				7	27	3	16	12	5
„ górne				—	—	—	—	29	8
„ pędów bocznych				—	—	—	—	—	—
„ opadłe				—	—	—	—	—	—
Łodygi pędu głównego				19	38	10	21	46	3
„ pędów bocznych				—	—	—	—	—	—
Łupiny				—	—	—	—	—	—
Nasiona				—	—	—	—	—	—
Część nadziemna	12	18	2	10	28	6	9	32	7
Korzenie	16	22	śl	15	40	12	18	34	16

procesu przemieszczenia, a w jakim skutkiem ewentualnych przemian na inne związki, szczególnie w okresie pierwszych dwóch miesięcy wzrostu. Istotne zmniejszenie zawartości alkaloidów w miarę starzenia miało miejsce również w liściach górnych pędu głównego, jak i w liściach pędów bocznych. U łubinu zaś pastewnego względne ilości tych zasad z biegiem czasu nie ulegały zmianom. Jeśli u populacji gorzkiej pod koniec wegetacji znacznie zmniejszyła się zawartość alkaloidów również i w łodygach, to u pastewnej ilość ich pozostała na tym samym poziomie, jak w wieku 84 dni.

Zmiany sumarycznej zawartości alkaloidów w różnych częściach łubinu białego gorzkiego, szczególnie w liściach i organach generatywnych, w zależności od ich wieku jak i wieku całej rośliny, są podobne do zmian obserwowanych przez szereg autorów u tego samego, względnie innych gatunków łubinu (Iwanow 1932, Meyer 1942, Liebin 1947, Byśzewski 1957), a nawet częściowo u takich roślin jak *Atropa* czy *Datura* (Augustowska, Kaczmarek 1956, Rowson 1954).

Szereg autorów zwraca uwagę na pewną dodatnią korelację między zawartością azotu a zawartością alkaloidów (Guillaume 1930, Iwa-

— T a b l e 5

w stosunku do ilości lupaniny
percentage of lupanine content

% ilości lupaniny
of lupanine content

5.VII — 56			19.VII — 70			2.VIII — 84			19.IX — 132		
hydroksylu- panina	(oxylupa- nina?)	a _x	hydroksylu- panina	(oxylupa- nina?)	a _x	hydroksylu- panina	(oxylupa- nina?)	a _x	hydroksylu- panina	(oxylupa- nina?)	a _x
2	9	3	14	10	—	10	9	40	—	—	—
—	8	7	3	12	5	4	14	—	—	—	—
—	14	4	3	15	3	21	18	10	—	—	—
7	20	15	10	13	7	9	23	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	14	30	—	32	17	15
30	17	2	24	24	3	21	14	5	} 27	11	4
24	27	5	10	28	4	7	45	5		5	25
8	20	9	3	17	1	17	9	3	30	5	25
—	—	—	—	—	—	1	3	3	17	7	15
12	18	8	8	18	3	12	11	4	21	8	16
33	22	24	10	17	5	15	15	2			

now 1932, Meyer 1942). Uzyskane przez nas wyniki wskazują na to, że związek między tymi wielkościami jest bardziej skomplikowany. Zależy on od charakteru organu, od jego wieku, jak i wieku całej rośliny, prawdopodobnie również od gatunku i charakteru jego populacji. I tak w naszym przypadku łodygi i lupiny zawierały w porównaniu z innymi organami nadziemnymi najmniej azotu, a procentowy udział alkaloidów w tym azocie był największy. Przy wyższej zawartości azotu w liściach, zwiększała się na ogół nie tylko ilość alkaloidów, ale również i udział ich w tym składniku ulegał wzrostowi. Jednakże nie wyłącznie zawartość azotu o tym decydowała. W dużej mierze zależało to od wieku samego liścia, jak i całej rośliny. Na przykład w liściach młodych rośliny 30-dniowej przy zawartości 4,06% N udział w niej alkaloidów wynosił 1,8%, w liściach młodych rośliny 46-dniowej odpowiednio 3,98 i 2,7%, w tychże liściach po upływie 10 dni zawartość azotu wynosiła 4,22, a udział w nim alkaloidów 1,4%.

U form pastewnych łubinów Byszewski (1957) nie stwierdził korelacji między zawartością azotu a ilością alkaloidów.

Tabela 6 — Table 6

Zmiany w wysokości plonu i zawartości alkaloidów (w %) w czasie wegetacji pastwnej i gorzkiej populacji lubinu białego
Changes in yield and alkaloid content during the growth of fodder and bitter white lupine

Zod. №	Populacja	Wiek roślin w dniach Age of plants — days							Ciężar części nadziemnej i zawartość w niej alkaloidów w % plonu końcowego				
		16	30	43*—46	56	69*—70	84	132	w tym strąki	w tym strąki	w tym strąki	w tym strąki	
1	Pastew- na	plony alkaloidy	6,9	22,5	32,1	54,3	6,4	76,1	27,3	95,5	40,0	100 (55,5 g)	49,0
2			5,0	15,7	39,8	65,5	7,6	80,6	19,9	99,1	31,4	100 (10,1 mg)	40,8
3	Gorzka	plony	4,7	15,0	31,3	45,6	2,3	61,2	10,7	100,8	35,8	100 (63,2 g)	39,7
4		alkaloidy	7,2	12,1	28,8	47,4	5,6	96,6	53,1	93,6	58,3	100 (325,5 mg)	84,5

* Liczby odnoszą się do populacji pastwnej (różnice te wynikają z niejednakowych terminów sprzętu). Niestety w opublikowanej części I wkradły się błędy w obliczeniu ilości dni wegetacji.

Jest rzeczą charakterystyczną, że we wszystkich terminach sprzętu w naszym doświadczeniu udział alkaloidów w azocie korzeni był znacznie niższy niż przeciętnie w części nadziemnej. Shibata (cyt. wg Rowsona 1954) stosując N^{15} u *Datura* (u której, jak wiadomo, alkaloidy tworzą się głównie w korzeniach) stwierdził 0,38% pobranego azotu w alkaloidach korzeni, a tylko 0,08% w alkaloidach części nadziemnej. Upřednie nasze doświadczenie (H. Birecka, D. Szklarek, A. Mazan 1960, H. Birecka, E. Nalborczyk, T. Sebyła 1960) wskazują na to, że część nadziemna łubinów jest głównie odpowiedzialna za syntezę alkaloidów i że istnieje duże prawdopodobieństwo poważnego udziału łodyg obok liści w tym procesie. Oczywiście przyjęcie procentowego udziału alkaloidów w azocie określonego organu za pewne kryterium miejsca syntezy tych związków byłoby niesłuszne. Udział ten bowiem może być wynikiem m. in. również procesu przemieszczania, jak i przemian na inne związki. Niemniej jednak mógłby on służyć jako dodatkowy wskaźnik, przy zachowaniu dużej ostrożności w interpretacji wyników.

Stwierdzony przez nas charakter gromadzenia w czasie alkaloidów u łubinu gorzkiego w warunkach wazonowych w pewnym stopniu różnił się od dynamiki tego procesu w warunkach polowych (dane jeszcze nie opublikowane). W tym ostatnim przypadku istotne zwiększenie ilości alkaloidów obserwowano do 90, a nie tylko do 70 dnia wegetacji. Należy jednak zaznaczyć, że w polu opadanie liści było późniejsze, a przy tym na okres między 70 i 90 dniem przypadało wykształcanie się dużej ilości strąków na pędach bocznych, czego prawie zupełnie brak było w kulturach wazonowych. Inny również charakter gromadzenia się alkaloidów obserwował Van der Kuy (1956) u tego samego gatunku roślin. Sądząc z dynamiki ich wzrostu i rozwoju, różnią się one bardzo istotnie od badanej przez nas populacji. Niemniej jednak i czynniki tego autora wskazują, iż największy przyrost alkaloidów wystąpił w okresie wykształcania się strąków.

Na uwagę w naszym doświadczeniu zasługuje fakt, że w tym okresie bardzo dużemu zwiększeniu zawartości alkaloidów w młodych strąkach (w których udział nasion w tym czasie był jeszcze niewielki) nie towarzyszyło obniżenie ilości tych związków w organach wegetatywnych, jak to miało miejsce w ostatnich tygodniach wegetacji. Należy również podkreślić, że stosunek ilościowy między poszczególnymi alkaloidami w młodych strąkach istotnie różni się od stosunku stwierdzonego w łodygach i liściach. Fakty te nasuwają przypuszczenie, że w organach generatywnych łubinu białego, a szczególnie w łupinach, może również przebiegać proces syntezy alkaloidów. Na możliwość udziału tego typu organów w tworzeniu alkaloidów wskazują niektórzy badacze (Mothes, Romeike 1951,

ci sami 1958). Oczywiście zaobserwowane fakty nie przekreślają prawdopodobieństwa, że przyrost ilości tych związków w łupinach może być wynikiem procesu ich przemieszczenia.

Stosunki ilościowe między alkaloidami w poszczególnych organach ulegały w czasie wegetacji istotnym zmianom. W liściach na ogół trudno stwierdzić jakąś prawidłowość w tych zmianach. Na uwagę może zasługuje fakt, iż w każdym terminie sprzętu procentowy udział alkaloidu odpowiadającego chromatograficznie oksylupaninie był tym większy, im młodsze były liście. W łodygach w ciągu całego okresu wegetacji sumaryczny udział dwu zasad bardziej utlenionych niż lupanina był stale wyższy niż w liściach.

Zmiany w stosunkach ilościowych między alkaloidami w częściach generatywnych, w miarę ich kształtowania się i dojrzewania, wskazują na to, że w organach tych zachodzą przemiany badanych zasad. Istotnym na to dowodem są zmiany zachodzące zwłaszcza w zawartości oksylupaniny w strąkach między 70 a 84 dniem wegetacji.

W odróżnieniu od łubinu badanego przez Van der Kuy'a (1956) w populacji, która była przedmiotem naszych doświadczeń, stwierdzano bardzo rzadko obecność sparteiny (w ilościach w każdym bądź razie wykrywalnych) i to tylko w liściach. Uzyskane przez nas wyniki nie wskazują na to, aby lupanina przekształcała się w sparteinę szczególnie w łupinach, jak to przypuszcza cytowany autor. Możliwe, że rozbieżność wyników jest spowodowana różnicami między badanymi populacjami.

Rzadkie bardzo występowanie sparteiny w roślinach niekoniecznie świadczy o słabej jej syntezie. Przyczyną tego zjawiska może być również stosunkowo bardzo szybkie jej przekształcanie się na inne alkaloidy, np. lupaninę lub na związki o charakterze niealkaloidowym. Pojawienie się stosunkowo większych ilości sparteiny we wszystkich liściach w 84 dniu wegetacji może być raczej skutkiem, między innymi zmniejszenia intensywności jej przekształceń. Do takiego przypuszczenia upoważniają nas również wyniki uzyskane w doświadczeniach z łubinem białym, do którego wprowadzano lupaninę (Birecka, Sebyła 1960). Nawet po upływie 16 dni od zastosowania tego alkaloidu nie stwierdzono żadnego wzrostu ilości sparteiny.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1. W warunkach kultur wazonowych największe nagromadzenie alkaloidów u łubinu białego gorzkiego wystąpiło już w 70 dniu wzrostu roślin. W następnym okresie sumaryczna zawartość tych związków nie ulegała zmianom.

2. Największy przyrost ilości alkaloidów obserwowano między 56 a 70 dniem vegetacji. Był on głównie wynikiem zwiększenia zawartości tych związków w młodych strąkach. W okresie tym nie stwierdzono zmniejszenia ilości alkaloidów w organach vegetatywnych.

3. Względna zawartość alkaloidów w liściach zależna jest zarówno od czasu ich wykształcenia, jak i wieku. Najzasobniejsze w te związki są młode liście starszych rozwojowo roślin. Zawartość alkaloidów w łodygach ulega tylko niewielkim zmianom w czasie vegetacji.

4. Wyższej zawartości azotu w liściach towarzyszy na ogół zwiększenie nie tylko ilości alkaloidów, ale również i procentowego ich udziału w tym składniku. Jednakże decydujący wpływ pod tym względem miał wiek samego liścia, jak i całej rośliny. Mimo stosunkowo najniższej zawartości azotu w łodygach i łupinach, w porównaniu z innymi organami nadziemnymi, udział alkaloidów w ich azocie jest największy.

5. Zawartość poszczególnych alkaloidów i stosunki między nimi w roślinie i jej organach ulegają zmianom w czasie vegetacji. We wszystkich jednak fazach rozwojowych dominuje ilościowo lupanina. Pod koniec vegetacji istotnemu zwiększeniu ulega zawartość hydroksylupaniny i zasady a_x , zmniejsza się natomiast ilość alkaloidu o R_f odpowiadającym oksylupaninie.

6. Między populacją pastewną i gorzką łubinu białego o podobnej długości okresu vegetacji istnieją znaczne różnice: a) w charakterze gromadzenia w czasie alkaloidów w stosunku do ich zawartości w roślinach dojrziałych, b) w zmianach ilości tych związków w liściach i łodygach w zależności od ich wieku, c) w stopniu zakumulowania alkaloidów w strąkach w stosunku do organów vegetatywnych.

SUMMARY

1. The greatest accumulation of alkaloids in bitter white lupine (in pot culture) took place already on 70th day of plant development. The total amount of these compounds did not change during the subsequent period of time.

2. The greatest increase of alkaloid content was observed between the 56th and 70th day. It was due mainly to the increment of these compounds in young pods. No decrement of alkaloids in the vegetative plant parts within this period of time was noticed.

3. The percentage of alkaloid content in leaves depends on the time of their formation as well as on their age. The young leaves of older plants show the highest content of these bases. But it decreases on ageing (in all leaves). The alkaloid content in stems shows little changes during plant development.

4. Higher nitrogen content in leaves is accompanied by an increase not only of the content of alkaloids, but also of their share in this

element. However the age of the leaves as well as of the whole plant has a decisive influence on it. The share of alkaloids in nitrogen of stems and pericarp is the highest in spite of the smallest content of this element in these parts as compared to other ones.

5. The content of particular alkaloids and the proportions between them in plants and their parts changes during the vegetation. However in all stages of development lupanine is the dominant base. At the end of vegetation the content of hydroxylupanine as well as of the base — a_x increases, and the amounts of the alkaloid, which R_f corresponds to oxylupanine, decreases.

6. There are significant differences between the fodder and bitter forms of white lupine concerning: a) the character of alkaloids accumulation in time, b) the quantitative changes of these compounds in leaves and stems in relation to their age, c) the rate of alkaloid accumulation in pods as compared to the vegetative plant parts.

LITERATURA

- Augustowska D., Kaczmarek F., 1956, Biul. Państw. Inst. Nauk. Leczn. Sur. Rośl. nr 3 (7).
- Birecka H., Rybicka H., Scibor-Marchocka A., 1959, Acta Bioch. Pol. 6 (1).
- Birecka H., Mazan A., Szklarek D., 1959, Acta Soc. Bot. Pol. 28 (2).
- Birecka H., Szklarek D., Mazan A., 1960, Biul. Acad. Pol. Sci. 8 (5).
- Birecka H., Nalborczyk E., Sebyła T., 1960, ibidem.
- Birecka H., Sebyła T., 1960, ibidem.
- Byszewski Wł., 1957, Hodowla Roślin, Aklimat. i Nasien. 1 (3).
- Guillaume A., 1930, Recherches experimentales sur le lupin, Paris.
- Iwanow N. N., 1932, Trudy po prikladnoj botanikie, genietike i selekcii, 54.
- Van der Kuy A., 1956, Bijtrage tot kennis van alkaloid vorming bij enkele species van het genus Lupinus, S-Gravenhage, dysertacja.
- Liebin J., 1947, Dokłady Wsiesojuz. Akad. Sielchodz. Nauk 4.
- Meyer K., 1942, Landw. Jahrb. 91, 418.
- Mothes K., Romeike A., 1951, Biol. Zbl., 70, 97.
- Mothes K., Romeike A., 1958, Encyklopedia of Plant Physiology 8.
- Reifer I., Przeździecka J., Kleczkowska D., Acta Bioch. Pol. 6 (1).
- Rowson J. M., 1954, J. Pharm. Belg. 26 (1—2).
- Wiewiórowski M., Bratek M. D., 1957, Acta Soc. Bot. Pol. 26 (1).