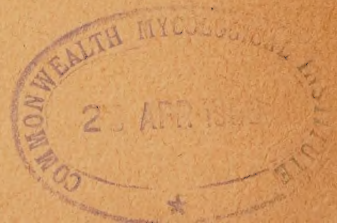
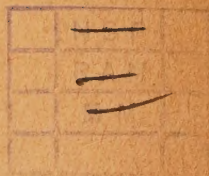


ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne



WARSZAWA 1959



TREŚĆ — SOMMAIRE

VOL. XXVIII Nr 4

Pięćdziesięciolecie pracy naukowej Władysława Szafera — Le cinquantenaire de l'activité scientifique de Władysław Szafer . . .	581
J. Stabrowska: Wzrost roślin na azotanach lub na solach amonowych w zależności od stopnia natlenienia podłoża — Das Wachstum der Pflanzen auf Nitraten beziehungsweise auf Ammonsalzen in Abhängigkeit von der Sauerstoffversorgung des Substrats	589
T. Baszyński: Wpływ światła na syntezę tokoferoli u <i>Zea mays</i> L. w początkowym okresie wzrostu — The influence of light on the synthesis of tocopherols in <i>Zea mays</i> L. seedlings	621
B. Goriaczko-Morawiecka: Poziom glutationu zredukowanego i utlenionego we wczesnych fazach rozwoju <i>Pisum sativum</i> L. i <i>Lupinus luteus</i> L. — The content of reduced and oxydized glutathione in the early development stages of <i>Pisum sativum</i> L. and <i>Lupinus luteus</i> L.	635
W. Brzeski i I. Reifer: Próba zastosowania żelazicyjanku jako stymulatora w uprawie rzecznika — An attempt of using ferricyanide as stimulator in the cultivation of the castor bean	653
W. Brzeski: Wpływ pory dojrzewania nasion rzecznika na wydajność, stopień wykształcenia i zawartość tłuszczu — Time of ripening of the castor bean and its influence upon the yield, physical characteristics, and fat content	665
J. Kączkowski: Mikrobiologiczny rozkład alkaloidów tropanowych — Microbiological decomposition of tropane alkaloids	677
A. Tomaszewski: Badania cytologiczne nad czterema gatunkami rodzaju <i>Ranunculus</i> L. — Cytological studies in four species of the genus <i>Ranunculus</i> L.	695
S. Gumiński, L. Badura, J. Buczek: Studium porównawcze oddychania korzeni kukurydzy i pomidorów — Eine vergleichende Studie über die Atmung der Mais- und Tomatenwurzeln	705
I. Reifer i S. Buraczewski: Próba stymulacji buraka cukrowego przy zastosowaniu żelazicyjanku — Stimulatory effect of ferricyanide on sugar beet	727
J. Z. Kadłubowska: O odchyleniach w przebiegu koniugacji <i>Spirogyra majuscula</i> Kütz — Über die Unregelmässigkeit im Kopulationsprozess von <i>Spirogyra majuscula</i> Kütz	745

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

Vol. XXVIII Nr 4



WARSZAWA 1959

RADA REDAKCYJNA — CONSEIL DE RÉDACTION

B. HRYNIEWIECKI (WARSZAWA), ST. KULCZYŃSKI (WROCŁAW),

B. NIKLEWSKI (POZNAŃ), FR. X. SKUPIŃSKI (ŁÓDŹ),

W. SZAFER (KRAKÓW), P. WIŚNIEWSKI (LUBLIN),

J. ZABŁOCKI (TORUŃ).

KOMITET REDAKCYJNY — COMITÉ DE RÉDACTION

K. BASSALIK (WARSZAWA), W. GAJEWSKI (WARSZAWA),

A. GAJEWSKA (WARSZAWA).

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — DZIAŁ CZASOPISM
WARSZAWA, MIODOWA 10

Nakład 847+123	Oddano do składu 30.X.59
Ark. wyd. 11,50, druk. 10,625 + 0,5 wkl.	Podpisano do druku 22.II.60
Papier ilustr. III, kl. 80 g 70 × 100/16	Druk ukończono w marcu 1960
Cena zł 35.—	Zam. 502. C-34

WARSZAWSKA DRUKARNIA NAUKOWA, W-WA, ŚNIADECKICH 8

*Polskie Towarzystwo Botaniczne
ofiarowuje niniejszy tom
swemu członkowi honorowemu
Profesorowi doktorowi Władysławowi Szaferowi
w pięćdziesiątą rocznicę Jego pracy naukowej*

*La Société Botanique de Pologne
dédie ce volume
à son membre d'honneur
le Professeur docteur Władysław Szafer
au cinquantième de son activité scientifique*



prof. dr Władysław Szafer

Pięćdziesięciolecie pracy naukowej Władysława Szafera

B. PAWŁOWSKI

W roku bieżącym mija pięćdziesiąt lat od daty ogłoszenia w czasopiśmie „Wszechświat” pierwszego artykułu naukowego Władysława Szafera pod tytułem „O zadaniach i celach geografii roślin” (1909 r.). W rok później (1910) ukazała się drukiem jego praca o organach asymilacyjnych *Danaë racemosa* (L.) Mönch, wykonana już wcześniej w pracowni R. Wettsteina.

Życiorys i działalność naukowa Władysława Szafera są przedmiotem artykułu B. Hryniewieckiego, zamieszczonego w tomie XX „Acta Societatis Botanicorum Poloniae” (1949—50). Tutaj podajemy dane dotyczące lat następnych.

Z utworzeniem Polskiej Akademii Nauk w Warszawie w roku 1952 został Władysław Szafer powołany na jej członka rzeczywistego i członka Prezydium. W roku 1957 został wybrany przez Walne Zgromadzenie PAN wiceprezesem tej Instytucji. Był jednym z głównych organizatorów Oddziału PAN w Krakowie i jest od jego powołania do życia w roku 1957 jego prezesem.

Od jesieni 1953 r. jest Szafer dyrektorem Instytutu (początkowo Zakładu) Botaniki PAN; zorganizował go w Krakowie w oparciu o Katedrę Systematyki i Geografii Roślin UJ. Instytut ten zatrudnia obecnie (łącznie ze swymi placówkami pozakrakowskimi) 51 pracowników naukowych, w tym 13 samodzielnych. Jest też Szafer twórcą i dyrektorem Zakładu Ochrony Przyrody PAN w Krakowie.

W latach 1952—1955 był Szafer przewodniczącym Komitetu Botanicznego PAN.

Na Uniwersytecie Jagiellońskim kontynuuje Szafer swą działalność jako kierownik Katedry Systematyki i Geografii Roślin i dyrektor Ogrodu Botanicznego. Wykłada, egzaminuje, kieruje pracami magisterskimi i pracami asystentów. Dzięki jego staraniom powierzchnia Ogrodu wzrosła w tym czasie znacznie; obecnie jest przeszło dwukrotnie większa niż w roku 1918. Powstały nowe szklarnie, w toku jest budowa nowej palmiarni.

Naukowa działalność Władysława Szafera w okresie od roku 1949 dotyczy przede wszystkim paleobotaniki. Z licznych prac jego w tej dziedzinie, zwłaszcza cztery wysuwają się na plan pierwszy, tak co do rozmiarów, jak i co do znaczenia w nauce: „Stratygrafia plejstocenu w Polsce na podstawie florystycznej“ (1953), „Pliocieńska flora okolic Czorsztyna“ (1954), oddana ostatnio do druku „Miocieńska flora ze Starych Gliwic na Śląsku“ oraz napisany wspólnie z M. Kostyniukiem podręcznik pt. „Zarys paleobotaniki“ (1952).

Najwybitniejszym w omawianym dziesięcioleciu osiągnięciem W. Szafera w zakresie geografii roślin jest opracowanie — pod jego redakcją — zbiorowym wysiłkiem jego i jego uczniów dzieła „Roślinna Szata Polski“ (1959). Pióra samego Szafera są w nim rozdziały: „Zarys historii rozwoju geografii roślin w Polsce“, „Podstawy geobotanicznego podziału Polski“ i „Szata roślinna Polski niżowej“.

Wspomnieć też należy ukazanie się nowo opracowanego wydania „małej flory polskiej“ (Szafer, Kulczyński, Pawłowski — „Rośliny polskie“, 1953) oraz wydanie pod redakcją W. Szafera i B. Pawłowskiego dwu dalszych tomów „Flory polskiej“ (1955 i 1959).

Działalność Władysława Szafera jako badacza naukowego, a zarazem jako organizatora i kierownika placówek naukowych, jest dziś, w pięćdziesiąt lat od ogłoszenia drukiem pierwszej jego pracy, w pełnym biegu. Życzymy Mu, by trwała nadal przez jak najdłuższe lata!

Le cinquantenaire de l'activité scientifique de Władysław Szafer

Le premier article scientifique de Władysław Szafer („Les problèmes et les buts de la géographie des plantes“ — „Wszechświat“, Varsovie) a été publié en 1909. Son mémoire „Zur Kenntnis der Assimilationsorgane von *Danaë racemosa* (L.) Mönch“, achevé déjà auparavant au Laboratoire de R. Wettstein à Vienne, a été publié un peu plus tard (Österreichische Botanische Zeitschrift, 1910).

La biographie et l'activité scientifique de W. Szafer jusqu'à l'année 1949 ont été traitées par B. Hryniewiecki dans son article paru dans le volume XX des „Acta Societatis Botanicorum Poloniae“. Nous en donnons ici un complément concernant les dix années passées depuis ce temps.

En 1952 Szafer a été nommé membre titulaire et membre de la présidence de la nouvelle Académie Polonaise des Sciences créée à Varso-

vie. En 1957 il fut élu par l'Assemblée Générale vice-président de l'Académie. Dès l'année 1957 il est président de la Section de Cracovie de la même Académie.

Il a organisé à Cracovie l'Institut Botanique de l'Académie Polonaise des Sciences, dont il est directeur dès 1953. Il l'a organisé en liaison étroite avec l'Institut Botanique de l'Université Jagellonienne. Le nouvel Institut est devenu un centre bien considérable de la paléobotanique, ainsi que de la systématique et de la géographie des plantes; il comprend aujourd'hui 51 botanistes.

Szafer est en même temps directeur de l'Institut de la Protection de la Nature à Cracovie, dont in fut aussi l'organisateur.

Il a présidé dès 1952 jusqu'à 1955 au Comité Botanique de l'Académie Polonaise des Sciences.

Szafer est aussi bien actif comme professeur à l'Université Jagellonienne et directeur du Jardin Botanique à Cracovie. Ce dernier a été agrandi plus de deux fois sous sa direction.

L'activité scientifique de Władysław Szafer pendant les dix ans passés se concentrait surtout dans le domaine de la paléobotanique. Parmi ses mémoires bien nombreuses publiées en ce temps-là, il faut mentionner surtout quatre à cause de leur importance singulière: „La stratigraphie du pleistocène de la Pologne au point de vue floristique“ (1953), „La flore pliocène des environs de Czorsztyn“ (1954), „La flore miocène de Stare Gliwice en Silésie“ (sous presse); le manuel de paléobotanique de W. Szafer et M. Kostyniuk (1952).

En géographie végétale, son oeuvre principale durant la dernière dizaine d'années c'est un ouvrage collectif écrit par lui et ses disciples intitulé „Le tapis végétal de la Pologne“. Szafer lui même est l'auteur des trois importants chapitres de cet ouvrage.

A côté de cela, il faut mentionner une nouvelle édition de la „petite flore de la Pologne“ („Rośliny polskie“ — Plantes de la Pologne, 1953). Deux volumes de la „grande flore de la Pologne“ („Flora Polska“) rédigés par W. Szafer et B. Pawłowski ont paru durant cette période (1955, 1959).

SPIS PRAC NAUKOWYCH I POPULARYZACYJNYCH
WŁADYSŁAWA SZAFERA *

ROK 1949 (uzupełnienie)

Arktyda i Antarktyda, Czasopismo Geograficzne, T. XX, 1—4, s. 1—30, Wrocław.

ROK 1950

Atlas Polski, Krainy geobotaniczne i zasięgi drzew leśnych. Mapa, 1:2 000 000, 1950, Główny Urząd Pomiarów Kraju, Warszawa.

Epoka lodowa, Wydanie II uzupełnione, Państwowe Zakłady Wydawnictw Szkolnych, cm 21 × 15, s. 116, ryc. 39, Warszawa.

Flora dryasowa w Krościenku nad Dunajcem. The Dryas Flora of Krościenko on the River Dunajec, Państwowy Instytut Geologiczny, Biuletyn 24, s. 86, t. 4, ryc. 8. (Współautorzy: Klimaszewski Mieczysław, Szafran Bronisław, Urbąński Jarosław).

Przewodnik do wycieczki na Podhale XXII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Geologicznego w roku 1949, XIX Rocznik Polskiego Towarzystwa Geologicznego z roku 1950, s. 505—508, Kraków.

Tajemnica jednego kwiatu, Wierchy, Rocznik 4, s. 58—62, ryc. 2.

ROK 1951

Aktualne zadania paleobotaniki w Polsce (Referat), XX Rocznik Polskiego Towarzystwa Geologicznego z roku 1950, s. 225—226.

Problematyka i program pracy naukowej w zakresie paleobotaniki w Polsce, Muzeum Ziemi, Vol. V, s. 317—322.

ROK 1952

Młodszy Trzeciorząd Podhala i jego stosunek do Plejstocenu, Państwowy Instytut Geologiczny, Biuletyn 65, s. 555—566.

Przedstawiciel rodziny *Podostemonaceae* w Trzeciorzędzie Karpat Zachodnich.

A Member of the Family of *Podostemonaceae* in the Tertiary of West Carpathian Mts., Acta Societatis Botanicorum Poloniae Vol. XXI, nr 4, s. 747—769, tabl. 5.

Rodzina *Eucommiaceae* w Trzeciorzędzie europejskim, Kosmos, Seria A, Tom LXVI, Rocznik 1948—1951, zeszyt 1—3, s. 1—33, tabl. 4, 2 tablice numerowane w tekście.

Roślinność wzgórza wawelskiego przed wiekami, Dziennik Polski z dnia 23.XI.1952 r.

Schyłek Plejstocenu w Polsce. Decline of the Pleistocene in Poland, Państwowy Instytut Geologiczny, Biuletyn 65, s. 1—73, tabl. 1, ryc. 6.

* Por. Acta Soc. Bot. Pol. XX. 1949—50, s. 18—34.

Zestawienie niniejsze, wykonane przez pracowników biblioteki Instytutu Botaniki PAN, nie obejmuje publikacji z zakresu ochrony przyrody, których wykaz ukazuje się drukiem w roczniku „Ochrony Przyrody” za rok 1959.

Zarys Ogólnej Geografii Roślin Wyd. II, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, cm 25,5 × 17,5, s. 428, ryc. 162, Warszawa.

Zarys Paleobotaniki, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, cm 23 × 16,5, s. 192, ryc. 118, Warszawa, (współautor: Kostyniuk Mikołaj).

ROK 1953

Rośliny Polskie. Opisy i klucze do oznaczania wszystkich gatunków roślin naczyniowych rosnących w Polsce bądź dziko, bądź zdziczałych lub częściej hodowanych, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, cm 21 × 15, s. 1019, ryc. 2187, Warszawa (współautorzy: Kulczyński Stanisław, Pawłowski Bogumił).

Stratygrafia plejstocenu w Polsce na podstawie florystycznej. Pleistocene Stratigraphy of Poland from the Floristical Point of View. Rocznik Polskiego Towarzystwa Geologicznego. T. 22. z. 1.: 1—99. Tabl. I i II. 20 rys.

ROK 1954

Charakterystyka geobotaniczna Neotropis czyli państwa tropikalnego Nowego Świata, Czasopismo Geograficzne 1954, zeszyt 1/2, s. 106—125.

Czwartorzęd w nowym ujęciu, Nauka Polska, Rok II, nr 1 (5), s. 36—51, ryc. 2.

Flora i roślinność, Mapa: 1:4 000 000, Atlas Polski, zeszyt II, Państwowe Przedsiębiorstwo Wydawnictw Kartograficznych, Warszawa.

Krainy geobotaniczne i zasięgi drzew leśnych, Mapa 1:2 000 000, Atlas Polski, zeszyt II, Państwowe Przedsiębiorstwo Wydawnictw Kartograficznych, Warszawa.

Niektóre problemy schyłku Plejstocenu, Kosmos Nr 4/54, s. 373—380, ryc. 1.

O niektórych żyjących i kopalnych formach orzecha wodnego (*Trapa* L.) On some living and fossil forms of *Trapa* L., Acta Societatis Botanicorum Poloniae Vol. XXIII, nr 1, tabl. 2.

Płocieńska Flora okolic Czorsztyna, Wydawnictwa Geologiczne, cm 30 × 21,5, s. 238, tabl. 20, ryc. 10, Warszawa.

ROK 1955

Potentilla L., Pięciornik, Flora Polska, Tom XII, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, s. 96—143, ryc. 17.

Roślinność świata, Mapa 1:66 000 000, Państwowe Przedsiębiorstwo Wydawnictw Kartograficznych, Warszawa.

Rzut oka na postęp badań flor czwartorzędowych w Polsce. Instytut Geologiczny, (Z badań czwartorzędu t. VI), Biuletyn 70, s. 55—64, tabl. 1.

ROK 1956

Flora utworów soliflukcyjnych w Wadowicach, Instytut Geologiczny (Z badań czwartorzędu, t. VII), Biuletyn 100, s. 227—230.

Przewodnik po Ogrodzie Botanicznym UJ, Wyd. II. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, cm 19 × 12, s. 84, mapa 1, ryc. 28, Warszawa.

Tajemnice kwiatów. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Biblioteka Problemów, cm 19 × 12, s. 66, ryc. 45, Kraków.

Основы общей географии растений. Издательство Иностранной Литературы, ст 13 x 5, s. 380, ryc. 162, Москва 1956. Перевод с польского Г. И. Поплавской. Под ред. В. Н. Сукачева.

ROK 1957

Człowiek ogniwem w łańcuchu biologicznym, Problemy, Rocznik 13, nr 4, s. 230—236, ryc. 9.

Drzewa i krzewy, Państwowe Zakłady Wydawnictw Szkolnych, cm 20 × 14, s. 128, tabl. 33, Warszawa.

O konieczności ścisłej współpracy nauk technicznych i biologicznych w gospodarce wodą, Nauka Polska, Rok V, nr 3/57.

O niektórych niespełnionych zadaniach Polskiej Akademii Nauk, Kultura i Społeczeństwo, Tom I (1957) nr 1, s. 56—63.

Subfossylny biotop chomika w Mielniku nad Bugiem. Subfossil storechamber of the hamster in Mielnik on the River Bug in Poland, Acta Societatis Botanicorum Poloniae, Vol. XXVI, nr 1, s. 105—128, tabl. r, ryc. 2.

Znaczenie biologii dla życia gospodarczego, Nauka Polska, Rok V, nr 1 (17), s. 51—57.

ROK 1958

Analiza pyłkowa w zastosowaniu do badań historii kultury materialnej człowieka, Kultura i Społeczeństwo, Tom II, nr 1, s. 50—64.

Biologia w służbie społecznej (artykuł), „Tygodnik“ nr 17 (58), Rocznik II, 27 kwietnia 1958, Warszawa.

The Genus *Sphaenotheca* Kirchheimer in the Lower Pliocene of the Carpathian Mountains, Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes Rübel in Zürich, Heft 33, Festschrift Werner Lüdi, s. 203—206, ryc. 1.

Kwiaty w naturze i sztuce. III Wydanie, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Biblioteka Problemów, cm 19,5 × 13, s. 124, tabl. 3, ryc. 37 (Współautor: Szafarowa Janina).

A new approach to the Quaternary, The Review of the Polish Academy of Sciences, Vol. III, nr 1 (9), s. 27—37, ryc. 3.

Nowa flora eoceńska w Tatrach, Kwartalnik Geologiczny, Tom II, nr 1, s. 173—176.

Rodzaj *Cunninghamia* R. Br. w miocene europejskim. The Genus *Cunninghamia* R. Br. in the European Miocene, Acta Biologica Cracoviensia, Série botanique, Vol. I, 5.7.12, tabl. 1.

Secale cereale und *Triticum spelta* im Neolithicum von Polen, Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes Rübel in Zürich, Heft 34, s. 132—132.

Spätglazial am nördlichen Fuss des Tatragebirges, Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes Rübel in Zürich, Heft 34, s. 123—125, ryc. 1.

Über die Zweiteilung des Riss-Glazials, Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes Rübel in Zürich, s. 126—131, ryc. 3.

Rok 1959 (niekompletny)

Botanika w Krakowie w okresie wojny 1939—1945, Polska Akademia Nauk, s. 3—32.

O początkach kultury rolniczej w okolicy Rzeszowa, Rocznik Województwa Rzeszowskiego, Rok I, zeszyt 2, s. 1—8, ryc. 1.

- Od Redaktora, Wstęp do pracy zbiorowej „Szata roślinna Polski“, pod redakcją W. Szafera, cm 24 × 17, ss. XIX. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Kraków.
- Zarys historii rozwoju geografii roślin w Polsce, Rozdz. I w pracy zbiorowej „Szata roślinna Polski“, pod redakcją W. Szafera, T. I, cm 24 × 17, s. 3—18, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Kraków.
- Podstawy geobotanicznego podziału Polski, Rozdz. IX w pracy zbiorowej „Szata roślinna Polski“, pod redakcją W. Szafera, T. 2, cm 24 × 17, s. 1—9, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Kraków.
- Szata roślinna Polski niżowej, Rozdz. X w pracy zbiorowej „Szata roślinna Polski“, pod redakcją W. Szafera, T. II, cm 24 × 17, s. 13—186, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Kraków.

Wzrost roślin na azotanach lub na solach amonowych w zależności od stopnia natlenienia podłoża

*Das Wachstum der Pflanzen auf Nitraten beziehungsweise auf Ammonsalzen
in Abhängigkeit von der Sauerstoffversorgung des Substrats*

J. STABROWSKA

WSTĘP

Zagadnieniem przyswajania azotu przez roślinę zajmowano się już w drugiej połowie XIX wieku. Przede wszystkim poszukiwano związków azotu najkorzystniejszych dla roślin. Poglądy zmieniały się w bardzo szerokich granicach, zanim utrwalił się pogląd, że należy brać pod uwagę tylko sole amonowe i azotany.

Prianisznikow (1899—1935) zgodnie z badaniem Mazé (1889) wykazał, że jednym z ważniejszych czynników, od których zależy wartość odżywcza soli amonowych lub azotanów, jest pH pożywki. W środowisku słabo kwaśnym — przy pH 5,0 — azotany mają przewagę nad solami amonowymi, przeciwnie zaś w środowisku obojętnym — przy pH 7,0 — jon amonowy może przewyższać azotany.

Według Prianisznikowa (1899—1935) i Chibnalla (1939) na stosunek roślin do soli amonowych lub azotanów wpływa również ilość węglowodanów w roślinie. Węglowodany służą jako źródła szkieletu węglowego w tworzeniu azotowych związków organicznych. Przy braku węglowodanów dalsza przeróbka soli amonowych na aminy zostaje zahamowana, przy czym nagromadzający się amoniak może spowodować zatrucie rośliny; nagromadzenie azotanów jest znacznie mniej niebezpieczne. Z tego też względu przy zasilaniu gleby większą ilością soli amonowych siewki roślin ubogie w węglowodany, np. buraków cukrowych, mogą reagować ujemnie, nawet przy zneutralizowaniu kwasowości fizjologicznej tych soli przy pomocy węglanu wapnia, podczas gdy siewki zbóż posiadające nadmiar węglowodanów w tym wypadku rosną dobrze.

Intensywność przyswajania azotanów i soli amonowych zależy także od gatunku i okresu rozwoju rośliny.

Ogólnie można powiedzieć, że azotany i sole amonowe w ich optymalnych warunkach fizjologicznych są mniej więcej jednakowo skuteczne w działaniu. Jednak istnieją dane, zwracające uwagę na to, że w warunkach słabego przewietrzania azotany działają lepiej niż sole amonowe, ponieważ tlen azotanów może częściowo złagodzić niedobór tlenu w podłożu. Arnon (1937) stwierdził wyraźną poprawę siewek jęczmienia przy przewietrzaniu roztworów zawierających jon amonowy. Natomiast przewietrzanie pożywek zawierających azotany daje mniejszy efekt. Badanie Gumińskiego i współpracowników (1957) nad przemianą gazową korzeni wykazały, że w doświadczeniach krótkotrwałych kukurydza, pszenica i pomidory intensywniej oddychają w obecności azotanów, aniżeli w obecności soli amonowych. Według tych badaczy korzenie kukurydzy nie ujawniły spadku intensywności oddychania w warunkach silnego ograniczenia tlenu w roztworze. Natomiast pomidory wykazały w tych warunkach silny spadek intensywności oddychania, ale tylko wówczas, gdy azot podany był w formie amonowej; w wypadku zastosowania azotu w formie azotanowej spadek intensywności oddychania przy braku tlenu nie następował.

Wobec tego należało przebadać, czy istnieje zależność pomiędzy różnicą we wzroście różnych roślin na azotanach bądź na solach amonowych, a ich wrażliwością na niedostatek tlenu w podłożu. Równoległe z tym wypadałoby stwierdzić, czy utleniające działanie azotanów może kompensować niedostatek tlenu w dłuższych doświadczeniach wegetacyjnych.

Przebadanie tych zależności stało się celem niniejszej pracy.

METODYKA BADAŃ

Doświadczenia przeprowadzono w szklarni Ogrodu Botanicznego w roku 1956. Do badań użyto następujących roślin: kukurydzy, pomidorów, buraków, kapusty, pszenicy, jęczmienia i żyta.

Wymienione rośliny kielkowano w piasku, następnie jednotygodniowe siewki przenoszono do słoï, gdzie pozostawały one zanurzone w pożywce po szyję korzeniową w ciągu trzech tygodni.

Stosowano porównawczo pożywki z solami amonowymi i azotanami o pH 6,0 oraz 6,6 i 7,6. Dodatkiem HCl lub NaOH regulowano początkowe pH pożywki. Celem utrzymania pH roztworu na mniej więcej stałym poziomie w czasie wegetacji roślin dodawano do pożywki amonowej 0,33 g CaCO₃ na litr roztworu.

Wyjściową pożywką była pożywka według Hampe i Truffaut (1938, 1939) sporządzona na wodzie wodociągowej, stosowana z powodze-

niem w licznych doświadczeniach przeprowadzonych przez pracowników Wrocławskiego Instytutu Botanicznego. Po przeliczeniu otrzymano następujący skład pożywek:

a) Pożywka azotanowa: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ — 0,335 g; MgSO_4 — 0,284 g; KNO_3 — 0,698 g; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 0,774 g; FeCl_3 — 0,112 g; KJ — 0,00284 g; ZnSO_4 — 0,00056 g; H_3BO_3 — 0,00056 g; MnSO_4 — 0,00056 g na litr wody wodociągowej.

b) Pożywka amonowa: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0,942 g; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ — 0,124 g; MgSO_4 — 0,284 g; K_2SO_4 — 0,589 g; FeCl_3 — 0,112 g; KJ — 0,00284 g; ZnSO_4 — 0,00056 g; H_3BO_3 — 0,00056 g; MnSO_4 — 0,00056 g na litr wody wodociągowej.

Skontrolowano zawartość azotu w pożywkach. W litrze pożywki azotanowej stwierdzono 190,5 mg, a w amonowej — 191,0 mg azotu.

W każdym doświadczeniu były 4 kombinacje: kultury wodne z solami amonowymi wietrzone i nie wietrzone oraz kultury wodne z azotanami także wietrzone i nie wietrzone. W każdej kombinacji było 5 powtórzeń. Wietrzenia dokonywano przez codzienne ostrożne kilkakrotne przelewanie pożywki ze słoí. Rośliny wietrzone rosły w szerokich i niskich słojach o pojemności 1 litra, nie wietrzone zaś w węższych i wyższych — o pojemności 900 ml. W ten sposób zróżnicowano kultury również pod względem warunków dyfuzji gazów. W miarę wyparowywania wody uzupełniano jej ilość w kulturach wietrzonych świeżą wodą wodociągową, w nie wietrzonych zaś — wodą wodociągową, bezpośrednio przed tym przygotowaną i ostudzoną.

W czasie doświadczenia obserwowano wzrost roślin, kontrolowano temperaturę otoczenia zwykłym termometrem oraz notowano ogólnie przebieg pogody.

Po zlikwidowaniu doświadczenia dokonywano pomiarów pH pożywek, rośliny rozdzielano na pędy i korzenie, dobrze wymyte korzenie przekładano bibułą filtracyjną i suszono w 105°C , oddzielnie pędy i korzenie, a następnie ważono. Po oddzielnym zważeniu korzeni i pędów roślin z każdego słoja, zmieszano i sproszkowano korzenie z 5 powtórzeń danego obiektu, następnie identycznie postąpiono z pędami. Z tak przygotowanego materiału brano po 3 próbki 10 mg do oznaczenia azotu całkowitego osobno w korzeniach i osobno w pędach. Rośliny z kultur amonowych spalano ze stężonym kwasem siarkowym, a rośliny z kultur azotanowych spalano z kwasem fenolosiarkowym według zmodyfikowanej metody Kjeldahla podanej przez Fiodorowa (1951). Następnie, po zubożeniu, azot w formie amoniaku oddestylowano w aparacie Parnasa-Wagnera i przez miareczkowanie wobec czerwieni metylowej oznaczano ilość azotu w danej próbce. Otrzymany wynik przeliczono na całość pędów lub korzeni 4 roślin (w jednym słoju zawsze rosły 4 rośliny).

Przed założeniem poszczególnych kultur wodnych oznaczano azot całkowity w pędach i korzeniach siewek, przy czym ze względu na małą ich suchą masę do analizy brano po 20 sztuk i wynik dzielono przez 5. Różnicę pomiędzy średnią ilością azotu w pędach czy korzeniach 4 roślin (z jednego słoja) po zlikwidowaniu doświadczenia i średnią ilością azotu w pędach czy korzeniach 4 siewek przed doświadczeniem przyjęto jako przyrost azotu całkowitego w tych częściach roślin. Przyrost azotu całkowitego w całych roślinach otrzymano po zsumowaniu ilości azotu całkowitego w poszczególnych częściach roślin.

W pożywkach azot amonowy oznaczano kolorymetrycznie przy pomocy odczynnika Nesslerera, a azot azotanowy przy pomocy kwasu fencjodwusulfonowego według metody podanej przez Czistjakowa (1953). W obu przypadkach azot oznaczano w 10 ml pożywki i przeliczano na całą zawartość słoja. Różnicę ilości azotu amonowego względnie azotanowego w pożywce przed doświadczeniem i po doświadczeniu przyjęto jako zużycie azotu przez roślinę.

We wszystkich przypadkach, uwzględniając różnicę metod, stwierdzono dość dobrą zgodność pomiędzy przyrostem azotu całkowitego w roślinach a odpowiednim ubytkiem azotu w pożywce.

Za miarę wzrostu przyjęto wagę ich suchej masy, gdyż waga świeżej masy ze względu na różną zawartość wody ulega dużym wahaniom.

Przedział ufności obliczono metodą równoległych analiz. Pomiedzy odpowiednimi obiektami obliczono współczynniki korelacji. Na podstawie obliczeń statystycznych badane rośliny podzielono na grupy (T. Ruebenbauer 1946).

KULTURY WODNE

I. Kukurydza zwyczajna — (*Zea Mays* L.)

Kultury wodne o pH 7.6 — od 19.IV. do 9.V.

W czasie wegetacji temperatura wahała się od 10°C do 20°C. Na ogół dni były pochmurne, niekiedy z krótkimi przejaśnieniami.

Nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych kukurydzy pomiędzy poszczególnymi kombinacjami.

Analizy wykazały, że ubytek azotu azotanowego był nieco większy w kulturach wietrzonych (średnio 20,3 mg) niż w kulturach nie wietrzonych (średnio 16,8 mg, przedział ufności 2,05). Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic ubytku azotu amonowego pomiędzy kulturami wietrzo-

nymi i nie wietrzonymi. Stwierdzono większy przyrost azotu w pędach niż w korzeniach tak w kulturach azotanowych, jak i w kulturach amonowych. Ogólnie zanotowano prawie dwa razy większy ubytek w pożywkach jak również przyrost w roślinach azotu amonowego niż azotanowego. Jednak większy przyrost azotu amonowego w roślinach z kultur amonowych nie wpłynął na produkcję ich suchej masy. Dane liczbowe zestawiono w tabeli I.

Tabela 1

Wzrost kukurydzy na pożywce azotanowej i amonowej od 19.IV—9.V
Das Wachstum des Maises auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 19.IV—9.V

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stick- stoffs in der Nähr- lösung (aus ei- nem Ge- fäß) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Ge- fäß) auf 1 Gram Trocken- substanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Sprosse	korze- nie Wur- zeln		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Sprosse	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa	a	1,69	1,09	0,60	20,3	19,4	11,6	7,8	11,5
Nitratnähr- lösung	b	1,48	1,00	0,48	16,8	15,8	8,8	7,0	10,7
Pożywka amonowa	a	1,60	1,02	0,58	42,5	41,4	25,7	15,7	25,9
Ammonnähr- lösung	b	1,58	1,04	0,54	41,1	40,1	25,2	14,9	25,4
Przedział ufności		0,28	0,18	0,10	2,05				
Vertrauens- grenze									

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 7,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 7,8; amonowej — 7,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 7,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 7,8; der Ammonnährlösung — 7,4.

Kultury wodne o pH 6.0 od 17.V. — 6.VI

W celu przekonania się, czy środowisko kwaśne nie spowoduje większych różnic wzrostowych kukurydzy, założono kultury wodne o pH 6,0 od 17.V. do 6.VI. W ciągu tego okresu były duże wahania tak temperatury (15°C—35°C), jak i oświetlenia, jednak była przewaga dni słonecznych i ciepłych.

Tabela 2

Wzrost kukurydzy na pożywce azotanowej i amonowej od 17.V—6.VI
Das Wachstum des Maises auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 17.V—6.VI

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stick- stoffs in der Nähr- lösung (aus ei- nem Ge- fäss) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Ge- fäss) auf 1 Gram Trocken- substanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- se	korze- nie Wur- zeln		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- se	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa	a	1,93	1,27	0,66	23,2	22,1	15,4	6,7	11,5
Nitratnähr- lösung	b	1,84	1,25	0,59	20,4	19,4	11,9	7,5	10,5
Pożywka amonowa	a	1,98	1,39	0,59	44,0	43,1	26,5	16,2	21,8
Ammonnähr- lösung	b	1,22	0,81	0,41	27,0	26,2	15,5	10,7	21,5
Przedział ufności		0,29	0,23	0,06	1,19				
Vertrauens- grenze									

a — wletrzona (gelüftete); b — nie wletrzona (nicht gelüftete).

Początkowo pH pożywek — 6,0; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,2; amonowej — 5,8.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,0; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,2; der Ammonnährlösung — 5,8.

Rośliny z kultur azotanowych wietrzonych (średnio 1,93 g s.m.) i nie wietrzonych (średnio 1,84 g s.m.) były wzrostem podobne do roślin z kultur amonowych wietrzonych (średnia s.m. 1,98 g, przedział ufności 0,29). Wyraźne różnice wzrostowe zanotowano w kulturach nie wietrzonych na korzyść pożywki azotanowej (średnio 1,84 g suchej masy roślin z kultur azotanowych i 1,22 g suchej masy roślin z kultur amonowych przy przedziale ufności 0,29).

Tabela 3

Wzrost kukurydzy na pożywce azotanowej i amonowej od 28.V.—18.VI.
Das Wachstum des Maises auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 28.V.—18.VI.

Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g					Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg
Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g						Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			
całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- e	korze- nie Wur- zeln				całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- e	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa	a	2,93	2,01	0,92	35,2	34,1	23,1	10,3	11,6
Nitratnähr- lösung	b	2,76	1,87	0,89	33,1	32,0	30,4	11,6	11,6
Pożywka amonowa	a	2,45	1,76	0,69	65,1	64,1	44,1	19,2	26,2
Ammonnähr- lösung	b	2,05	1,44	0,61	52,0	50,8	35,9	14,9	24,8
Przedział ufności	0,55		0,42	0,13	1,42				
Vertrauens- grenze									

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywek azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

W środowisku słabo kwaśnym stwierdzono istotną różnicę ubytku azotu azotanowego pomiędzy kulturami wietrzonymi (średnio 23,2 mg) i nie wietrzonymi (średnio 20,4 mg, przedział ufności 1,19). W pożywce amonowej znaleziono około 1,5 razy większy ubytek azotu amonowego w kulturach wietrzonych (średnio 44,0 mg) niż w kulturach nie wietrzonych (średnio 27,0 mg, przedział ufności 1,19). Także i w tym doświadczeniu stwierdzono znacznie intensywniejsze pobieranie azotu amonowego niż azotanowego i to zarówno w kulturach wietrzonych, jak i nie wietrzonych. Podobnie też jak w poprzednim doświadczeniu nie znalazło to odbicia w produkcji suchej masy. Wyniki zebrano w tabeli 2.

Kultury wodne o pH 6.6 od 28.V. — 18.VI

W okresie wegetacji było na ogół ciepło (20°C—35°C) i słonecznie.

Przy pH 6,6 również nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych pomiędzy roślinami rosnącymi na pożywce azotanowej wietrzonej (średnia s.m. 2,93 g) i nie wietrzonej (średnia s.m. 2,76 g) oraz amonowej wietrzonej (średnia s.m. 2,45 g, przedział ufności 0,55). Nie stwierdzono też istotnej różnicy pomiędzy kulturami amonowymi wietrzonymi (średnia s.m. 2,45 g) i nie wietrzonymi (średnia s.m. 2,05 g, przedział ufności 0,55). Podobnie jak w doświadczeniu poprzednim zanotowano wyraźne różnice wzrostowe w kulturach nie wietrzonych na korzyść pożywki azotanowej (średnio 2,76 g suchej masy roślin z kultur azotanowych i 2,05 g suchej masy roślin z kultur amonowych, przy przedziale ufności 0,55).

W środowisku prawie obojętnym (pH 6,6) także stwierdzono istotne różnice tak ubytku azotu azotanowego, jak i przyrostu azotu całkowitego w odnośnych roślinach pomiędzy kulturami wietrzonymi i nie wietrzonymi. Na pożywkach amonowych różnice te były jeszcze znacznie większe. Podobnie jak w poprzednich doświadczeniach ogólnie przyrost azotu całkowitego w roślinach z kultur amonowych był znacznie większy niż w roślinach z kultur azotanowych. Rezultaty analiz zebrano w tabeli 3.

Kultury wodne o pH 6.6 od 5.IX. — 26.XI

Kukurydę hodowano także w okresie jesiennym. Wrzesień był pogodny i ciepły, temperatura wahała się od 10°C do 27°C.

Kukurydza rosła jednakowo dobrze we wszystkich kulturach. (Nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych.)

I tu także w suchej w przybliżeniu jednakowej masie znaleziono więcej azotu całkowitego w roślinach z kultur amonowych niż azotanowych. Większy przyrost azotu amonowego nie wpłynął jednak na zwiększenie produkcji suchej masy kukurydzy. Wyniki zebrano w tabeli 4.

Tabela 4

Wzrost kukurydzy na pożywce azotanowej i amonowej od 5.IX—26.IX.
Das Wachstum des Maises auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 5.IX.—26.IX.

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stick- stoffs in der Nähr- lösung (aus ei- nem Ge- fäß) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittle- re Zunah- me des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Ge- fäß) auf 1 Gram Trocken- substanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- se	korze- nie Wur- zeln		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- se	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa	a	1,80	1,11	0,69	22,5	21,9	13,0	8,9	12,2
Nitratnähr- lösung	b	1,75	1,09	0,66	20,6	19,8	12,5	7,3	11,3
Pożywka amonowa	a	1,77	1,10	0,67	46,4	45,7	27,8	17,8	25,8
Ammonnähr- lösung	b	1,72	1,08	0,64	43,3	42,8	26,5	16,3	24,9
Przedział ufności Vertrauens- grenze		0,18	0,14	0,04	1,9				

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

Jak wynika ze stosunków odpowiednich suchych mas (tabela 5) kukurydza na ogół słabo reagowała na niewietrzenie pożywki i podobnie rosła na azotanach, jak i na solach amonowych. PH 6,0 pożywki i wysoka temperatura spowodowały nieco większe odchylenia. W kulturach wodnych kukurydzy, gdy było ciepło (wysoka temperatura) lepiej rosły rośliny na azotanach niż na solach amonowych w warunkach ograniczenia tlenu w podłożu (tabela 2 i 3), natomiast gdy było chłodniej, te różnice

wzrostowe zanikały (tabela 4). Przy wysokiej temperaturze na pożywce amonowej o pH 6,0 kukurydza rosła lepiej w kulturach wietrzonych w porównaniu z kulturami nie wietrzonymi.

Tabela 5

Stosunki odpowiednich suchych mas kukurydzy
Die Verhältnisse entsprechender Trockensubstanz des Maises

Okres wegetacji Vegetations- periode	Temperatura Temperatur	pH	A		B	
			Kultury wietrzne Gelüftete Kulturen	Kultury nie wietrzne Nichtgelüf- tete Kulturen	Kultury azotanowe Nitrat- kulturen	Kultury amonowe Ammon- kulturen
17.V.—6.VI.	15°—35°C	6,0	0,97	1,50	1,04	1,62
28.V.—18.VI.	20°—35°C	6,6	1,20	1,35	1,06	1,20
5.IX.—26.IX	10°—27°C	6,6	1,02	1,02	1,03	1,03
19.IV.—9.V.	10°—20°C	7,6	1,06	0,93	1,14	1,01

$$A = \frac{\text{sucha masa roślin z kultur azotanowych}}{\text{sucha masa roślin z kultur amonowych}}$$

$$\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus Nitrakulturen}$$

$$\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus Ammonkulturen;}$$

$$B = \frac{\text{sucha masa roślin z kultur wietrzonych}}{\text{sucha masa roślin z kultur nie wietrzonych}}$$

$$\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus gelüfteten Kulturen}$$

$$\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus nichtgelüfteten Kulturen}$$

Bez względu na stosowane pH pożywki i warunki zewnętrzne u kukurydzy przyrost azotu całkowitego w roślinach był większy w kulturach amonowych w stosunku do kultur azotanowych. Jednak ilość pobranego azotu amonowego większa niż azotanowego wcale nie zwiększyła suchej masy roślin.

We wszystkich kulturach wodnych kukurydza z kultur amonowych była zieleniejsza niż kukurydza z kultur azotanowych. Wygląd chlorotyczny kukurydzy w kulturach azotanowych nasunął myśl, że żelazo dawane do pożywek w formie chlorku żelaza było źle przyswajalne przez tę roślinę, co być może powodowało jej chlorozę. Jednak przeprowadzone doświadczenia z zastosowaniem żelaza w formie cytrynianu żelazowego, gdy zapewniono optymalne stężenie soli żelazowej równomiernie w całym roztworze, nie rozwiązało zagadnienia różnicy pomiędzy intensywnością zieleńi w kulturach azotanowych i amonowych.

Z badań Johnsona i współpracowników (1952) wynika, że kukurydza musi pobierać molibden z gleby z powodu znikomo małej jego

Tabela 6

Wzrost kukurydzy na pożywce azotanowej i amonowej od 21.IX.—10.X
 Das Wachstum des Maises auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 21.IX.—10.X

			Średni ciężar suchej ma- sy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in g			Średni ubytek azotu w po- żywce (z 1 słoja) w mg Die mittle- re Ab- nahme des Stick- stoffs in der Nähr- lösung (aus einem Ge- fäss) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślin- nach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittle- re Zunah- me des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Gefäss) auf 1 Gram Trocken- substanz in mg
			całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spro- se	korze- nie Wur- zeln		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spro- se	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa Nitratnährlösung	bez Mo ohne Mo	a	1,49	0,92	0,57	18,1	17,4	10,9	6,5	11,7
		b	1,39	0,90	0,49	16,1	15,2	9,9	5,3	10,9
	+1 mg Mo na litr pożywki	a	1,47	0,91	0,56	19,4	18,5	11,5	7,0	12,6
		b	1,39	0,89	0,50	18,9	18,1	11,2	6,9	13,0
	+2mg Mo na litr pożywki	a	1,69	1,01	1,61	24,7	24,1	15,0	9,1	14,9
		b	1,55	0,95	0,60	24,2	23,4	14,1	9,3	15,1
Pożywka amo- nowa	a	1,45	0,95	0,50	36,1	35,4	23,5	11,9	24,4	
Ammonnährlö- sung	b	1,40	0,90	0,50	34,6	33,9	21,9	12,0	24,2	
Przedział ufności Vertrauensgrenze			0,21	0,13	0,08	1,75				

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete)

Do pożywki azotanowej dodano molibdenu. Man gab Molybdänium in die Nitratnährlösung
 Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8;
 der Ammonnährlösung — 6,4

ilości w nasionach, a dużego zapotrzebowania w okresie wegetacji. Wobec tego założono jeszcze kultury wodne z dodatkiem molibdenu do pożywki azotanowej. Zastosowano 4 kombinacje:

1. Pożywka azotanowa bez dodatku molibdenu.
2. Pożywka azotanowa + 1 mg Mo na litr pożywki.
3. Pożywka azotanowa + 2 mg Mo na litr pożywki.
4. Pożywka amonowa bez dodatku molibdenu.

Kukurydza, z wyjątkiem kultur azotanowych wietrzonych, z dodatkiem 2 mg molibdenu na litr pożywki, w przybliżeniu jednakowo rosła we wszystkich kulturach (nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych). Rośliny z kultur amonowych, tak wietrzonych jak i nie wietrzonych, były zielniejsze niż rośliny z kultur azotanowych bez dodatku molibdenu. Kukurydza z kultur amonowych i kukurydza z kultur azotanowych z dodatkiem molibdenu (1 mg Mo lub 2 mg Mo na litr pożywki) wyglądały jednakowo pod względem intensywności zieleni. Molibden usunął chlorozę na pożywcę azotanowej.

Analizy wykazały większy ubytek azotu w pożywcę azotanowej z dodatkiem 2 mg Mo na litr roztworu i to tak w kulturach wietrzonych, jak i nie wietrzonych w stosunku do poszczególnych pozostałych kultur azotanowych. Jednak największy ubytek azotu stwierdzono w pożywkach amonowych. Nie stwierdzono zaś istotnych różnic ubytku azotu pomiędzy odpowiednimi kulturami wietrzonymi i nie wietrzonymi (tabela 6).

II. Pomidor (*Solanum lycopersicum* L.)

Kultury wodne o pH 6.0 od 8.V. — 1.VI

W okresie wegetacji pierwszy tydzień był pochmurny z małymi przejaśnieniami (20°C—25°C), a następnie wszystkie dni były słoneczne (24°C—32°C).

Najlepszy w ogóle wzrost pomidorów obserwowano w kulturach azotanowych wietrzonych (średnia s.m. 1,15 g), zaś w kulturach nie wietrzonych azotanowych zanotowano o wiele lepszy wzrost (średnia s.m. 0,43 g) niż w kulturach amonowych wietrzonych (średnia s.m. 0,10 g, przedział ufności 0,0034). Najsłabszy wzrost pomidorów obserwowano w kulturach amonowych nie wietrzonych. Poza tym zarówno na pożywcę azotanowej, jak i amonowej pomidory rosły lepiej w kulturach wietrzonych niż nie wietrzonych.

W pożywcę, na której rosły pomidory, znaleziono większy ubytek azotu w kulturach azotanowych niż w kulturach amonowych, przy czym w obu kombinacjach zanotowano większy ubytek azotu w kulturach wietrzonych niż nie wietrzonych. Jednak w przeliczeniu na gram suchej

Tabela 7

Wzrost pomidorów na pożywce azotanowej i amonowej od 8.V.—1.VI
Das Wachstum der Tomaten auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 8.V.—1.VI

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stick- stoffs in der Nähr- lösung (aus ei- nem Ge- fäß) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittle- re Zunah- me des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Ge- fäß) auf 1 Gram Trocken- substanz in gm
		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spros- se	korze- nie Wur- zeln		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spros- se	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa	a	1,15	0,86	0,29	18,6	17,8	11,9	5,9	15,5
Nitratnähr- lösung	b	0,43	0,35	0,08	7,4	6,5	4,9	1,6	15,1
Pożywka amonowa	a	0,10	0,08	0,02	2,5	2,3	1,7	0,6	23,0
Ammonnähr- lösung	b	0,04	0,03	0,01	1,2	1,0	0,7	0,3	25,0
Przedział ufności		0,034	0,03	0,004	1,01				
Vertrauens- grenze									

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

masy stwierdzono większy przyrost azotu całkowitego w roślinach z kultur amonowych niż w roślinach z kultur azotanowych. Wyniki zebrano w tabeli 7.

Kultury wodne o pH 6.6 od 23.V. — 12.VI

W tym okresie było więcej dni słonecznych, nawet upalnych (27°C—33°C).

Rośliny z kultur azotanowych wietrzonych były wybitnie lepsze (średnia s.m. 1,93 g) niż rośliny z kultur amonowych wietrzonych (średnia s.m. 0,40g), te ostatnie jednak miały lepszy wzrost niż rośliny z kultur azotanowych nie wietrzonych (średnia s.m. 0,16 g, przedział ufności 0,08). Najgorszy wzrost pomidorów obserwowano w kulturach amonowych nie wietrzonych (średnia s.m. 0,09 g).

Tabela 8

Wzrost pomidorów na pożywce azotanowej i amonowej od 23.V.—12.VI
Das Wachstum der Tomaten auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 23.V.—12.VI

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stick- stoffs in der Nähr- lösung (aus ei- nem Ge- fäss) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Ge- fäss) auf 1 Gram Trocken- substanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spros- se	korze- nie Wur- zeln		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spros- se	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa	a	1,93	1,53	0,40	31,7	30,8	24,6	6,2	16,0
Nitratnähr- lösung	b	0,16	0,12	0,04	2,8	2,4	1,9	0,5	15,0
Pożywka amonowa	a	0,40	0,31	0,09	12,6	11,9	8,5	3,4	29,8
Ammonnähr- lösung	b	0,09	0,07	0,02	2,7	2,4	2,0	0,4	26,7
Przedział ufności		0,08	0,07	0,01	1,47				
Vertrauens- grenze									

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

W środowisku prawie obojętnym znaleziono w pożywce większy ubytek azotu azotanowego (średnio 31,7 mg) niż azotu amonowego (średnio 12,6 mg) w odpowiednich kulturach wietrzonych, natomiast w kulturach nie wietrzonych nie stwierdzono różnicy pomiędzy ubytkiem azotu azotanowego i ubytkiem azotu amonowego. Jednak na gram suchej masy stwierdzono także większy przyrost azotu całkowitego w roślinach z kultur amonowych niż w roślinach z kultur azotanowych. Wyniki analiz umieszczono w tabeli 8.

Kultury wodne o pH 7.6 od 3.V. — 24.V

W okresie wegetacji dni były pochmurne z małymi przejaśnieniami o zmianie temperatury od 15°C do 25°C. Jeden dzień był upalny.

Wyniki co do wzrostu zupełnie podobne jak w poprzednich kulturach. Pomidory rosły lepiej na azotanach niż na solach amonowych i reagowały silnie na niewietrzenie pożywki.

W środowisku alkalicznym (pH 7,6) w warunkach ograniczenia tlenu znaleziono w przybliżeniu jednakowy ubytek azotu azotanowego i amonowego w odpowiednich pożywkach. W warunkach tlenowych natomiast stwierdzono większy ubytek azotu azotanowego (średnio 10,0 mg) niż azotu amonowego (średnio 5,5 mg, przedział ufności 1,16). Jednak i tu ogólnie stwierdzono większy przyrost azotu całkowitego na gram suchej masy roślin z kultur amonowych w porównaniu do roślin z kultur azotanowych. W tabeli 9 przedstawiono wyniki analiz.

Kultury wodne o pH 6.6 od 6.IX. — 28.IX

Założono jeszcze kultury wodne z pomidorami we wrześniu. W okresie tym było słonecznie, temperatura wahała się od 10°C do 27°C.

I w tym doświadczeniu także pomidory rosły lepiej na azotanach niż na solach amonowych. Nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych pomiędzy kulturami azotanowymi nie wietrzonymi (średnia s.m. 0,20 g) i kulturami amonowymi wietrzonymi (średnia s.m. 0,25 g, przedział ufności 0,0054). I tutaj pomidory mocno reagowały na niewietrzenie tak pożywki azotanowej, jak i amonowej.

Tak samo jak w poprzednich kulturach wodnych pomidory pobierały azot amonowy z podobną intensywnością co azotanowy w warunkach ograniczenia tlenu w podłożu. W warunkach tlenowych pobierały one nieco intensywniej azot azotanowy (średnio 10,7 mg) niż azot amonowy (średnio 8,5 mg, przedział ufności 1,08). Jednak i tutaj na gram suchej masy stwierdzono ogólnie większy przyrost azotu całkowitego w roślinach z kultur amonowych w stosunku do roślin z kultur azotanowych. Wyniki podano w tabeli 10.

Tabela 9

Wzrost pomidorów na pożywce azotanowej i amonowej od 3.V.—24.V
 Das Wachstum der Tomaten auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 3. V.—24.V

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stick- stoffs in der Nahr- lösung (aus ei- nem Ge- fäß) in mg		Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunah- me des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Ge- fäß) auf 1 Gram Trocken- substanz in mg	
		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- se	korze- nie Wur- zeln			całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spross- se	korze- nie Wur- zeln		
Pożywka azotanowa	a	0,67	0,56	0,11	10,0		9,2	6,8	2,4	13,7	
Nitratnähr- lösung	b	0,08	0,07	0,01	1,8		1,7	0,9	0,2	13,8	
Pożywka amonowa	a	0,18	0,16	0,02	5,5		4,9	4,2	0,7	27,2	
Ammonnähr- lösung	b	0,05	0,04	0,01	1,3		1,2	0,8	0,4	24,0	
Przedział ufności Vertrauens- grenze		0,04	0,3	0,00	1,16						

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

Stosunki odpowiednich suchych mas (tabela 11) upoważniają do twierdzenia co następuje. Pomidory przy wszystkich stosowanych pH pożywki i przy różnych warunkach zewnętrznych reagowały silnie ujemnie na niewietrzenie pożywki zarówno w kulturach azotanowych, jak i amonowych oraz rosły wybitnie lepiej na azotanach niż na solach amonowych. Różne warunki zewnętrzne (temperatura, pH) zwiększyły tylko lub zmniejszyły różnice pomiędzy poszczególnymi kombinacjami, nie odwra-

Tabela 10

Wzrost pomidorów na pożywce azotanowej i amonowej od 6.IX.—28.IX
 Das Wachstum der Tomaten auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 6.IX—28.IX

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stick- stoffs in der Nähr- lösung (aus ei- nem Ge- fäß) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			Średni przyrost azotu cał- kowitego na gram suchej masy w mg Die mittle- re Zunah- me des totalen Stickstoffs in 4 Pflan- zen (aus einem Ge- fäß) auf 1 Gram Trocken- substanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spros- se	korze- nie Wur- zeln		całe rośliny Ganze Pflan- zen	pędy Spros- se	korze- nie Wur- zeln	
Pożywka azotanowa	a	0,68	0,55	0,13	10,7	10,7	8,6	1,9	15,5
Nitratnähr- lösung	b	0,20	0,17	0,03	3,2	3,0	2,4	0,6	15,0
Pożywka amonowa	a	0,25	0,19	0,06	8,5	7,4	6,4	1,0	29,6
Ammonnähr- lösung	b	0,08	0,07	0,01	2,5	2,2	1,9	0,3	27,5
Przedział ufności									
Vertrauens- grenze		0,54	0,05	0,004	1,08				

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywkł azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8;
 der Ammonnährlösung — 6,4.

cały jednak stosunku liczbowego wyników. PH 6,0 i wysoka temperatura wybitnie sprzyjały wzrostowi pomidorów na azotanach. Pod wpływem wysokiej temperatury zwiększyły się różnice wzrostowe pomiędzy kulturalnymi wietrzonymi i nie wietrzonymi.

PH pożywki zaważyło na intensywności pobierania azotu amonowego względnie azotanowego przez pomidory. Pomidory w środowisku prawie

obojętnym (pH 6,6) i alkalicznym (pH 7,6) pobierały azot amonowy z podobną intensywnością co azotanowy w warunkach ograniczenia tlenu w podłożu. Natomiast w środowisku słabo kwaśnym (pH 6,0) pochłaniały one lepiej azot azotanowy niż amonowy i to tak w kulturach wietrzonych, jak i nie wietrzonych. Jednak na gram suchej masy, podobnie jak i u kukurydzy, stwierdzono ogólnie większy przyrost azotu całkowitego u pomidorów rosnących w kulturach amonowych w stosunku do roślin z kultur azotanowych.

Tabela 11

Stosunki odpowiednich suchych mas pomidorów
Die Verhältnisse entsprechender Trockensubstanzen der Tomaten

Okres wegetacji Vegetations- periode	Temperatura Temperature	PH	A		B	
			Kultury wietrzne Gelüftete Kulturen	Kultury nie wietrzne Nicht gelüftete Kulturen	Kultury azotanowe Nitratkul- turen	Kultury amonowe Ammon- kulturen
8.V—1.VI	20°—32°C	6,0	11,50	10,75	12,67	2,50
23.V—12.VI	27°—33°C	6,6	4,82	1,76	12,75	4,44
6.IX—28.IX	10°—27°C	6,6	2,72	2,50	3,40	3,10
3.V—24.V	15°—31°C	7,6	3,72	1,60	8,38	3,60

$$A = \frac{\text{sucha masa roślin z kultur azotanowych}}{\text{sucha masa roślin z kultur amonowych}}$$

$$= \frac{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus Nitratkulturen}}{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus Ammonkulturen}}$$

$$B = \frac{\text{sucha masa roślin z kultur wietrzonych}}{\text{sucha masa roślin z kultur nie wietrzonych}}$$

$$= \frac{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus gelüfteter Kulturen}}{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus nichtgelüfteter Kulturen}}$$

Z kolei przeprowadzono badania nad pszenicą, żytem, jęczmieniem (4.IX.—24.IX), burakami i kapustą (6.IX.—28.IX) na pożywkach azotanowych i amonowych o pH 6,6. Wrzesień był na ogół pogodny i ciepły (temperatura 10°C—27°C).

III. Pszenica zwyczajna (*Triticum vulgare* Vill.)

Pszenica rosła podobnie na azotanach jak i na solach amonowych w jednakowych warunkach tlenowych. (Nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych.) Roślina ta reagowała na niewietrzenie pożywki i to zarówno na azotanach, jak i na solach amonowych.

Rośliny z kultur nie wietrzonych obu kombinacji były nieco chlorotyczne w porównaniu do roślin z odpowiednich kultur wietrzonych. Rośliny z kultur azotanowych wietrzonych i z kultur amonowych wietrzonych były jednakowo zielone.

Tabela 12

Wzrost pszenicy na pożywce azotanowej i amonowej od 4.IX.—24.IX
Das Wachstum des Weizens auf Nitrat-oder Ammonnährlösung von 4.IX.—24.IX

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stickstoffs in der Nährlösung (aus einem Gefäss) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in mg			Średni przyrost azotu całkowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) auf 1 Gram Trockensubstanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln	
Pożywka azotanowa	a	0,42	0,32	0,10	2,8	2,1	1,9	0,2	5,0
Nitratnährlösung	b	0,28	0,21	0,07	1,4	1,2	0,8	0,4	4,3
Pożywka amonowa	a	0,36	0,27	0,09	6,1	5,5	4,2	1,3	15,3
Ammonnährlösung	b	0,28	0,23	0,05	4,2	3,8	3,3	0,5	13,6
Przedział ufności									
Vertrauensgrenze		0,06	0,05	0,01	1,19				

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

Stwierdzono istotne różnice w pobieraniu azotu i jego przyroście w suchej masie roślin pomiędzy kulturami azotanowymi wietrzonymi

i nie wietrzonymi, jak również kulturami amonowymi wietrzonymi i nie wietrzonymi. Analizy wykazały także, że przyrost azotu całkowitego w roślinach był większy w kulturach amonowych w porównaniu z kulturami azotanowymi. Jednak większy przyrost azotu amonowego nie zwiększył ich suchej masy. Rezultaty ujęto w tabeli 12.

IV. Jęczmień zwyczajny (*Hordeum vulgare* L.)

Nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych pomiędzy kulturami azotanowymi wietrzonymi (średnia s.m. 0,69 g) i nie wietrzonymi (średnia s.m. 0,60 g), jak również amonowymi nie wietrzonymi (średnia s.m. 0,61 g, przedział ufności 0,11). Także nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych pomiędzy kulturami azotanowymi wietrzonymi (średnia s.m. 0,69 g) i amonowymi wietrzonymi (średnia s.m. 0,78 g, przedział ufności 0,11). Natomiast stwierdzono istotne różnice wzrostowe na pożywkach amonowych na korzyść kultur wietrzonych. Jęczmień ogólnie słabo reagował na niewietrzenie pożywki (stosunek suchych mas roślin z kultur wietrzonych do nie wietrzonych na pożywce azotanowej wynosi 1,15, a na pożywce amonowej — 1,28). Wszystkie rośliny z kultur azotanowych i amonowych były jednakowo zielone.

Stwierdzono w przybliżeniu jednakowy ubytek azotu w pożywce azotanowej wietrzonej (średnio 4,7 mg) i nie wietrzonej (średnio 4,6 mg). Natomiast jęczmień intensywniej pobierał azot amonowy w kulturach wietrzonych (średnio 11,7 mg) w porównaniu z kulturami nie wietrzonymi (średnio 9,2 mg, przedział ufności 0,85). Ogólnie stwierdzono większy ubytek azotu amonowego niż azotanowego. Wyniki podano w tabeli 13.

V. Żyto (*Secale cereale* L.)

Żyto w kulturach azotanowych wietrzonych rośło o wiele lepiej (średnia s.m. 0,61 g) niż w kulturach amonowych wietrzonych (średnia s.m. 0,33 g, przedział ufności 0,08). Natomiast nie było różnic wzrostowych pomiędzy kulturami nie wietrzonymi azotanowymi (średnia s. m. 0,24 g) i kulturami nie wietrzonymi amonowymi (średnia s.m. 0,26 g, przedział ufności 0,08). W kulturach azotanowych żyto wyraźnie reagowało na niewietrzenie pożywki (stosunek suchej masy roślin z kultur wietrzonych do nie wietrzonych — 2,54), a w kulturach amonowych bardzo słabo (stosunek suchej masy roślin z kultur wietrzonych do nie wietrzonych — 1,32). Żyto w kulturach wietrzonych obu kombinacji było jednakowo zielone, natomiast w kulturach nie wietrzonych nieco chlorotyczne w porównaniu z roślinami z kultur wietrzonych.

Tabela 13

Wzrost jęczmienia na pożywce azotanowej i amonowej od 4.IX.—24.IX
 Das Wachstum der Gerste auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 4.IX.—24.IX

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stickstoffs in der Nährlösung (aus einem Gefäß) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			Średni przyrost azotu całkowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) auf 1 gram Trockensubstanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln		całe rośliny ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln	
Pożywka azotanowa	a	0,69	0,51	0,18	4,7	4,1	3,0	1,1	5,9
Nitratnährlösung	b	0,60	0,40	0,20	4,6	3,9	2,6	1,3	6,5
Pożywka amonowa	a	0,78	0,59	0,19	11,7	11,1	8,4	2,7	14,2
Ammonnährlösung	b	0,61	0,41	0,20	9,20	8,4	5,7	2,4	13,8
Przedział ufności Vertrauensgrenze		0,11	0,06	0,05	0,85				

a — wietrzona (gelüftet); b — nie wietrzona (nicht gelüftet).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

Z pożywki azotanowej żyto pobierało intensywniej azot w warunkach tlenowych (średnio 4,4 mg) niż w warunkach ograniczenia tlenu w podłożu (średnio 1,5 mg, przedział ufności 1,00). W pożywce amonowej zaś znaleziono tylko nieznaczne różnice ubytku azotu pomiędzy kulturami wietrzonymi (średnio 5,0 mg) i kulturami nie wietrzonymi (średnio 3,9 mg,

Tabela 14

Wzrost żyta na pożywce azotanowej i amonowej lod 4.IX.—24.IX
 Das Wachstum des Roggens auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 4.IX.—24.IX

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stickstoffs in der Nährlösung (aus einem Gefäss) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in mg			Średni przyrost azotu całkowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) auf 1 gram Trockensubstanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln	
Pożywka azotanowa	a	0,61	0,47	0,14	4,4	3,8	2,9	0,9	6,2
Nitratnährlösung	b	0,24	0,17	0,07	1,5	1,4	1,0	0,4	5,8
Pożywka amonowa	a	0,33	0,26	0,07	5,0	4,1	3,2	0,9	12,4
Ammonnährlösung	b	0,26	0,20	0,06	3,9	3,1	2,4	0,7	11,9
Przedział ufności Vertrauensgrenze		0,08	0,06	0,02	1,00				

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

przedział ufności 1,00). Jednak na gram suchej masy znaleziono większy przyrost azotu całkowitego w roślinach z kultur amonowych w porównaniu do roślin z kultur azotanowych. Wyniki podano w tabeli 14.

VI. Burak zwyczajny (*Beta vulgaris* L.)

Buraki zachowywały się podobnie jak pomidory. Silnie ujemnie reagowały one na niewietrzenie pożywki i jednocześnie wyraźnie lepiej rosły

Tabela 15

Wzrost buraków na pożywce azotanowej i amonowej od 6.IX.—28.IX
 Das Wachstum der roten Rüben auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 6.IX.—28.IX

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stickstoffs in der Nährlösung (aus einem Gefäss) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) in mg			Średni przyrost azotu całkowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäss) auf 1 Gram Trockensubstanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln	
Pożywka azotanowa Nitratnährlösung	a	0,26	0,21	0,05	2,1	2,0	1,6	0,4	7,7
	b	0,13	0,12	0,01	1,2	1,0	0,9	0,1	7,7
Pożywka amonowa Ammonnährlösung	a	0,13	0,12	0,01	2,8	2,3	2,1	0,2	17,7
	b	0,07	0,06	0,01	1,5	1,2	1,0	0,2	17,1
przedział ufności Vertrauensgrenze		0,055	0,05	0,005	0,84				

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywki azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

na pożywcę azotanowej niż na solach amonowych. Buraki jednakowo rosły na pożywcę azotanowej nie wietrzonej (średnia s.m. 0,13 g) i amonowej wietrzonej (średnia s.m. 0,13 g). Najslabszy wzrost buraków był w kulturach amonowych nie wietrzonych (średnia s.m. 0,01 g).

Buraki pobierały z podobną intensywnością azot azotanowy co amonowy (w odpowiadających sobie warunkach tlenowych). Jednak na gram suchej masy przypada więcej azotu całkowitego w roślinach z kultur amonowych niż azotanowych i zarówno w warunkach tlenowych, jak i w warunkach ograniczenia tlenu w pożywcę. Tabela 15 streszcza wyniki analiz.

VII. Kapusta ogrodowa (*Brassica oleracea* L.)

Kapusta również lepiej rosła na pożywcę azotanowej niż na pożywcę amonowej. Nie stwierdzono istotnych różnic wzrostowych kapusty pomiędzy kulturami azotanowymi nie wietrzonymi (średnia s.m. 0,39 g) i kulturami amonowymi wietrzonymi (średnia s.m. 0,33 g, przedział ufności 0,06). Roślina ta rosła najslabiej w kulturach amonowych nie wietrzonych (średnia s.m. 0,11 g). W obu kombinacjach kapusta wyraźnie reagowała na niewietrzenie pożywki.

Analizy wykazały, że w warunkach tlenowych kapusta, podobnie jak pomidory i buraki, pobierała z podobną intensywnością azot azotanowy (średnio 8,8 mg) co amonowy (średnio 9,2 mg, przedział ufności 0,83). Jednak kapusta pobierała intensywniej azot azotanowy względnie amonowy w kulturach wietrzonych w stosunku do odpowiednich kultur nie wietrzonych. Zanotowano także większy przyrost azotu całkowitego w gramie suchej masy roślin rosnących na pożywcę amonowej niż roślin rosnących na pożywcę azotanowej. Wyniki podano w tabeli 16.

We wszystkich przypadkach stwierdzono większy przyrost azotu całkowitego w pędach niż w korzeniach. Nie znaleziono dużych różnic w przyroście azotu całkowitego na 1 g suchej masy roślin rosnących tak na azotanach jak i na solach amonowych pomiędzy odpowiednimi kulturami wietrzonymi i nie wietrzonymi. Stwierdzono natomiast większy przyrost azotu całkowitego na 1 g suchej masy roślin z kultur amonowych w stosunku do roślin z kultur azotanowych.

We wszystkich przypadkach system korzeniowy roślin z kultur amonowych był krótszy i bardziej powierzchniowo rozkrzewiony niż roślin z kultur azotanowych. Korzenie pomidorów, buraków i kapusty z kultur amonowych nie wietrzonych były najslabiej rozwinięte.

Celem porównania zachowania się prawie równocześnie rosnących roślin (wrzesień) w zależności od stopnia natlenienia podłoża w obecności azotanów i soli amonowych obliczono odpowiednie stosunki suchych mas

Tabela 16

Wzrost kapusty na pożywce azotanowej i amonowej od 6.IX.—28.IX
 Das Wachstum des Krautes auf Nitrat- oder Ammonnährlösung von 6.IX.—28.IX

		Średni ciężar suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w g Das mittlere Gewicht der Trockensubstanz von 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in g			Średni ubytek azotu w pożywce (z 1 słoja) w mg Die mittlere Abnahme des Stickstoffs in der Nährlösung (aus einem Gefäß) in mg	Średni przyrost azotu całkowitego w 4 roślinach (z 1 słoja) w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) in mg			Średni przyrost azotu całkowitego na gram suchej masy w mg Die mittlere Zunahme des totalen Stickstoffs in 4 Pflanzen (aus einem Gefäß) auf 1 gram Trockensubstanz in mg
		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln		całe rośliny Ganze Pflanzen	pędy Sprosse	korzenie Wurzeln	
Pożywka azotanowa	a	0,73	0,55	0,18	8,8	8,1	6,0	2,1	11,1
Nitratnährlösung	b	0,39	0,32	0,07	4,7	4,1	3,4	0,7	10,5
Pożywka amonowa	a	0,33	0,28	0,05	9,2	8,5	7,4	1,1	25,8
Ammonnährlösung	b	0,11	0,10	0,01	3,0	27,7	2,4	0,3	24,5
Przedział ufności Vertrauensgrenze		0,06	0,05	0,01	0,83				

a — wietrzona (gelüftete); b — nie wietrzona (nicht gelüftete).

Początkowe pH pożywek — 6,6; końcowe pH pożywek azotanowej — 6,8; amonowej — 6,4.

Anfangs pH Werte der Nährlösungen — 6,6; Ende pH Werte der Nitratnährlösung — 6,8; der Ammonnährlösung — 6,4.

tych roślin oraz obliczono współczynniki korelacji pomiędzy odpowiednimi obiektami (tabela 17).

Stosunki suchej masy roślin z kultur azotanowych do suchej masy roślin z kultur amonowych określają wzrost badanych roślin na azotanach, względnie na solach amonowych.

Stosunki suchej masy roślin z kultur wietrzonych do suchej masy roślin z kultur nie wietrzonych określają wrażliwość badanych roślin na niedostatek tlenu w podłożu.

Tabela 17

Stosunki odpowiednich suchych mas badanych roślin
Die Verhältnisse entsprechender Trockensubstanzen untersuchter Pflanzen

Rośliny Pflanzen	Okres wegetacji Vegetations- periode	A		B	
		Kultury wietrzzone Gelüftete Kulturen	Kultury nie wietrzzone Nichtgelüf- tete Kulture	Kultury azotanowe Nitrat- kulturen	Kultury amonowe Ammon- kulturen
Pomidory	6.IX.—28.IX	2,72	2,50	3,40	3,10
Tomaten					
Kapusta					
Kraut					
Buraki	4.IX.—24.IX.	1,85	0,94	2,54	1,32
rote Rüben					
Żyto					
Roggen					
Pszenica	5.IX.—26.IX.	1,02	1,02	1,03	1,03
Weizen					
Jęczmień					
Gerste					
Kukurydza					
Mais					
		$f = 0,75$		$f = 0,41$	$f = 0,66$
		$f = 0,89$			
		$f = 0,88$			
		$f = 0,93$			

f — współczynnik korelacji pomiędzy odpowiednimi obiektami. Klamry wskazują pomiędzy jakimi obiektami obliczono poszczególne współczynniki korelacji.

$$A = \frac{\text{sucha masa roślin z kultur azotanowych}}{\text{sucha masa roślin z kultur amonowych}}$$

$$= \frac{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus Nitratkulturen}}{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus Ammonkulturen;}}$$

$$B = \frac{\text{sucha masa roślin z kultur wietrzonych}}{\text{sucha masa roślin z kultur nie wietrzonych}}$$

$$= \frac{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus gelüfteten Kulturen}}{\text{Trockensubstanz der Pflanzen aus nichtgelüfteten Kulturen}}$$

Otrzymane współczynniki korelacji (tabela 17) upoważniają do twierdzenia, że zachodzi zależność pomiędzy wzrostem badanych roślin na

azotanach lub na solach amonowych a ich wrażliwością na niedostatek tlenu w podłożu.

Na podstawie obliczeń statystycznych badane rośliny podzielono na 3 grupy:

1. Pomidory, kapusta, buraki (najsilniej azotanolubne i najwrażliwsze na tlen).

2. Żyto, pszenica, jęczmień (średnio azotanolubne i średnio wrażliwe na tlen).

3. Kukurydza (najmniej azotanolubna i najmniej wrażliwa na tlen).

Wydzielone grupy roślin różnią się między sobą stopniem wrażliwości na niedostatek tlenu w podłożu oraz wzrostem na azotanach względnie na solach amonowych.

ZESTAWIENIE WYNIKÓW

Kultury wodne z kukurydzą i pomidorami wykazały związek pomiędzy wzrostem tych roślin na azotanach, względnie na solach amonowych, a ich wrażliwością na niedostatek tlenu w podłożu.

Pomidory są silnie wrażliwe na niedostatek tlenu w podłożu i równocześnie lepiej rosną na azotanach niż na solach amonowych.

Wyraźnie różnie niż pomidory zachowuje się kukurydza. Roślina ta okazuje się mało wrażliwa na ograniczenie tlenu w pożywce i rośnie podobnie na azotanach jak i na solach amonowych.

Kultury wodne z tymi roślinami założone na pożywkach o różnych pH (6,0, 6,6 i 7,6) i w różnym czasie wykazały, że warunki zewnętrzne i stosowane pH pożywki wpływają na wzrost zarówno kukurydzy, jak i pomidorów, natomiast nie zmieniają charakteru stosunku suchej masy roślin z kultur wietrzonych do suchej masy roślin z kultur nie wietrzonych na azotanach względnie na solach amonowych oraz stosunku suchej masy roślin z kultur azotanowych do suchej masy roślin z kultur amonowych w warunkach tlenowych lub ograniczenia tlenu w podłożu. Powodowały one tylko rozszerzenie lub zwężenie tych stosunków.

Kultury wodne z innymi roślinami, wykonane we wrześniu na pożywce azotanowej i amonowej o pH 6,6 (mniej więcej w jednakowych warunkach zewnętrznych) wykazały również związek pomiędzy wzrostem tych roślin na azotanach lub na solach amonowych a ich wrażliwością na niedostatek tlenu w podłożu i ze względu na ten związek pozwoliły ugrupować badane rośliny następująco: 1. pomidory, kapusta, buraki, 2. żyto, pszenica, jęczmień, 3. kukurydza.

Kapusta i buraki zachowują się podobnie jak pomidory. Wszystkie te rośliny rosną lepiej na azotanach i silnie reagują na niewietrzenie po-

żywki. Przy tym wzrost wymienionych roślin jest podobny na azotanach w warunkach ograniczenia tlenowego jak i na solach amonowych w warunkach tlenowych.

Rośliny drugiej grupy zajmują miejsce pośrednie: zarówno ich azotancelubność, jak i wrażliwość na stopień natleniania podłoża są słabsze niż w grupie pierwszej, jednakże wyraźnie wyróżniają się od kukurydzy słabo reagującej na stopień natlenienia pożywki jak i na formę źródła azotu.

Różne zachowanie się badanych roślin w stosunku do azotanów lub soli amonowych i natlenienia pożywki można by wyjaśnić różną ilością węglowodanów w nasionach i korzeniach. Według Prianisznikowa (1899—1935) węglowodany chronią roślinę przed zatruciem amoniakiem soli amonowych, a więc rośliny bogate w cukrowce mogą lepiej korzystać z azotu amonowego niż rośliny o małym ich zapasie. Z badanych roślin najobficiej zaopatrzoną w węglowodany jest kukurydza i, jak wskazują doświadczenia, zarówno dobrze rozwija się ona na pożywce zawierającej azotany, jak i na pożywce z solami amonowymi. Przewietrzanie pożywki nie wywiera większego wpływu na stosunek suchej masy tej rośliny z kultur wietrzonych do suchej masy roślin z kultur nie wietrzonych (prawie równy jedności). Możliwe, że duże ilości węglowodanów umożliwiają jej oddychanie śróddrobinowe, do pewnego stopnia wyrównujące częściowo osłabione oddychanie tlenowe. Przypuszczenie to znajduje uzasadnienie w pracy S. Gumińskiego i współpracowników (1957) nad oddychaniem pomidorów i kukurydzy stwierdzających w krótkotrwałych doświadczeniach w warunkach beztlenowych różne zachowanie się tych dwu roślin. Z chwilą przeniesienia siewek pomidorów do pożywki pozbawionej tlenu i nie zawierającej azotanów korzenie pomidorów przestają wydzielać dwutlenek węgla, natomiast w obecności azotanów wydzielanie dwutlenku węgla nie zmniejsza się. Inaczej zachowują się korzenie kukurydzy: ilość wydzielonego dwutlenku węgla przez jej korzenie jest niezależna od zawartości azotanów w pożywce i obecności tlenu, intensywność wydzielania dwutlenku węgla w pożywce pozbawionej i azotanów i tlenu jest taka sama jak w pożywce natlenionej. S. Gumiński (praca jeszcze nie opublikowana) wyjaśnia tę różnicę w zachowaniu się korzeni tym, że korzenie kukurydzy są zasobne w węglowodany, są zatem zdolne do oddychania beztlenowego, zaś korzenie pomidorów, ubogie w te związki, możliwości tej nie posiadają, mogą zatem oddychać tylko wtedy, gdy mają do rozporządzenia tlen azotanów.

Potwierdzenie hipotezy kompensacji tlenu przez azotany można znaleźć w moich doświadczeniach z kukurydzą, przeprowadzanych przy wysokiej temperaturze (tab. 2 i 3), w których nie występował hamujący

wpływ amoniaku (roślina rozporządzała dużym zapasem węglowodanów) i w których — z powodu wysokiej temperatury — uwidaczniał się wpływ niedostatku tlenu. W doświadczeniach tych wzrost kukurydzy na azotanach w kulturach wietrzonych i nie wietrzonych oraz na solach amonowych w kulturach wietrzonych był w przybliżeniu jednakowy, natomiast w warunkach ograniczenia tlenu był lepszy na azotanach niż na solach amonowych. W tym wypadku pH nie odgrywa roli, bo w następnych kulturach wodnych, o takim samym pH 6,6 i temperaturze 10°C—27°C (tab. 4), ani nie uwidoczniła się wrażliwość na niedostatek tlenu, ani nie wystąpiła azotanolubność u tej rośliny.

Natomiast wyniki moich doświadczeń świadczą, że u pomidorów w długotrwałych doświadczeniach vegetacyjnych azotany nie mogą kompensować niedostatku tlenu w pożywce. U pomidorów, przy skromnych zapasach węglowodanów i przy wysokiej temperaturze, występuje silny głód tlenu, przy czym działanie utleniające azotanów widocznie jest niewystarczające.

Tu uwydatnia się różnica pomiędzy utleniającym działaniem próchnicy stosowanej przez S. Gumińskiego (1950) a działaniem azotanów. Wydaje się, że różnica ta polega na tym, że próchnica jest układem oksydoredukcyjnym odwracalnym, azotany zaś nie. Dlatego też drobne ilości azotanów mogą kompensować niedostatek tlenu w doświadczeniach krótkotrwałych, nie mogą zaś w doświadczeniach długotrwałych, podczas gdy podobnie małe dawki próchnicy mogą być skuteczne także i w doświadczeniach vegetacyjnych.

We wszystkich wypadkach system korzeniowy z kultur amonowych był krótszy i bardziej powierzchniowo rozkrzewiony niż roślin z kultur azotanowych. Zjawisko powierzchniowego rozkrzewienia korzeni tych roślin rosnących na solach amonowych można by tłumaczyć aerotropizmem. Natomiast w obecności azotanów ten proces jest osłabiony tym, że azotany są czynnikiem utleniającym i w takim wypadku geotropizm wspomógł przez ten czynnik przewycięża aerotropizm.

Kukurydza, jęczmień i pszenica, bez względu na stopień natlenienia pożywki, pobierały intensywniej azot amonowy niż azotanowy. Żyto zachowywało się podobnie jak wymienione rośliny w warunkach ograniczenia tlenu w podłożu, a w warunkach tlenowych pobierało z podobną intensywnością jon amonowy co azotanowy. Wreszcie pomidory, buraki i kapusta bez względu na stopień natlenienia przyswajały z podobną intensywnością azot amonowy co azotanowy. Natomiast stwierdzono większy przyrost azotu całkowitego na gram suchej masy wszystkich badanych roślin z kultur amonowych w stosunku do roślin z kultur azotanowych. Pobieranie azotu amonowego na gram suchej masy wcale nie

jest miarą wykorzystania azotu przez roślinę, przeciwnie, przy słabszym wzroście rośliny stwierdzono większy przyrost azotu na gram suchej masy np. pomidorów.

Na pożywce azotanowej zawsze ujawniała się u kukurydzy chloroza. Na pożywce amonowej kukurydza była zielona. Dodatek molibdenu do pożywki azotanowej usuwał całkowicie objawy chlorozy i równocześnie sprzyjał intensywniejszemu pobieraniu azotu azotanowego przez kukurydzę. Zaobserwowane zjawisko zgodne jest z badaniami Johnsona i współpracowników (1952), które wykazały silną wrażliwość tej rośliny na niedobór molibdenu.

Przeprowadzone przeze mnie badania pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Azotany są korzystniejszym źródłem azotu niż sole amonowe dla siewek roślin silnie wrażliwych na niedostatek tlenu w podłożu.

2. Azotany i sole amonowe są równorzędnymi źródłami azotu dla siewek roślin słabo wrażliwych na ograniczenie tlenu w podłożu.

3. Azotany mogą kompensować do pewnego stopnia niedostatek tlenu w podłożu siewek niektórych roślin.

4. Jon amonowy przeważnie jest pobierany intensywniej niż jon azotanowy przez siewki roślin, jednak to nie znajduje wyrazu w zwiększeniu suchej masy tych roślin w porównaniu z roślinami rosnącymi na azotanach.

5. Na pożywce azotanowej obserwuje się w kulturach kukurydzy chlorozę; objaw ten nie występuje na pożywce amonowej. Dodatek molibdenu usuwa objawy chlorozy, jak również zwiększa intensywność pobierania azotu przez kukurydzę w kulturach azotanowych.

Pracę wykonano w Zakładzie Fizjologii Roślin im. E. Godlewskiego we Wrocławiu. Kierownikowi tego Zakładu, prof. S. Gumińskiemu składam serdeczne podziękowanie za cenne rady i pomoc w pracy. Dziękuję również prof. H. Krzemieniewskiej za krytyczne uwagi w czasie pisania mojej pracy. Za pomoc przy obliczaniu statystycznym wyrażam podziękowanie doc. dr S. Brejowi.

Zakład Fizjologii Roślin
Uniwersytetu we Wrocławiu

(Wpłynęło dn. 10.2.1959 r.)

ZUSAMMENFASSUNG

Die Versuche wurden im Glashaus des Botanischen Gartens im Sommer 1956 durchgeführt. Zu den Untersuchungen wurden folgende Pflanzen benutzt: Mais, Tomaten, rote Rüben, Kraut, Weizen, Gerste und

Roggen. Es wurden vergleichbare Nährlösungen mit Ammon- und Nitratsalzen angewendet. Ausserdem wurden in jeder Kombination die Sauerstoffbedingungen der Nährlösung auf solche Weise differiert, dass die eine Hälfte der Gefässe gelüftet wurde, die andere nicht. Die Pflanzen wurden in fast neutraler (pH 6,6), in schwach saurer (pH 6,0) und leicht alkalischer (pH 7,6) Nährlösung gezüchtet.

Die Wasserkulturen mit Mais und Tomaten zeigten einen Zusammenhang zwischen Nitratvorliebe dieser Pflanzen und ihrer Empfindlichkeit gegen Sauerstoffmangel in der Nährlösung.

Die Tomaten sind stark empfindlich gegen den Sauerstoffmangel und wachsen wesentlich besser auf Nitrat- als auf Ammonsalzen.

Deutlich verschieden verhält sich Mais. Diese Pflanze zeigt sich gegen Sauerstoffmangel in der Nährlösung wenig empfindlich und wächst ähnlich auf Nitraten, wie auf Ammonsalzen.

Die Wasserkulturen mit den oben genannten Pflanzen, die man in der Nährlösungen von verschiedenen pH (pH 6,0, 6,6, 7,6) und in verschiedenen Zeiten durchführte, zeigten, dass äussere Bedingungen und pH der Nährlösung das Wachstum von Mais, sowie der Tomaten beeinflussen. Sie ändern aber niemals das Verhältnis der Trockensubstanz der Pflanzen von gelüfteten Kulturen, zur Trockensubstanz der Pflanzen von nicht gelüfteten Kulturen, die auf Nitrat- beziehungsweise auf Ammonsalzen aufgewachsen sind. Sie ändern auch nicht das Verhältnis der Pflanzensubstanz von Nitratkulturen zu den Ammonkulturen bei Sauerstoffmangel, beziehungsweise bei Sauerstoffanwesenheit. Sie veranlassen nur eine Verbreiterung, oder Verengerung dieser Verhältnisse.

Die Wasserkulturen mit anderen Pflanzen, die man in September in den Nährlösungen von pH 6,6 durchführte (bei ungefähr gleichen äusseren Bedingungen) bestätigten den Zusammenhang zwischen dem Wachstum dieser Pflanzen auf Nitrat- sowie auf Ammonsalzen und die Empfindlichkeit gegen den Sauerstoffmangel in der Nährlösung, und erlaubten eine Gruppierung der Pflanzen in folgender Weise:

1) Tomaten, Kraut und rote Rüben, 2) Roggen, Weizen und Gerste, 3) Mais.

Kraut und rote Rüben verhalten sich ähnlich wie Tomaten. Die Pflanzen der ersten Gruppe wachsen besser auf Nitraten als auf Ammonsalzen, und reagieren stark auf das Nichtlüften der Nährlösung. Das Wachstum der erwähnten Pflanzen in den nicht gelüfteten Nitratkulturen ist ähnlich diesem in den gelüfteten Ammonkulturen.

Die Pflanzen der zweiten Gruppe nehmen eine Mittelstellung ein. Ihre Vorliebe für Nitrate wie auch ihre Empfindlichkeit gegen den Grad der Sauerstoffzufuhr ist schwächer als in der ersten Gruppe; sie unterscheiden sich deutlich vom Mais, der schwach auf Sauerstoffmangel in der Nährlösung, wie auch auf die Form der Stickstoffquelle reagiert.

Mais, Gerste und Weizen nehmen, ohne Hinsicht auf Lüftungsbedingungen, intensiver Ammon- als Nitrastickstoff auf. Der Roggen verhält sich ähnlich wie die genannten Pflanzen in nicht gelüfteten Kulturen, dagegen nimmt er in gelüfteten Kulturen mit ähnlicher Intensität den Nitrat- wie Ammonstickstoff auf. Tomaten, rote Rüben und Kraut, neh-

men, ohne Hinsicht auf Luftungsbedingungen, mit fast gleicher Intensität Nitrat- sowie Ammonstickstoff auf. Jedoch auf 1 Gram Trockensubstanz ist die Zunahme des totalen Stickstoffs in den Pflanzen in den Ammonnährlösungen grösser, als in den Nitratnährlösungen. Die grössere Intensität der Ammonstickstoffaufnahme gibt keine proportionale Trockensubstanzvergrösserung dieser Pflanzen, umgekehrt, der Nitratstickstoff gibt meistens grösseren Trockensubstanzzuwachs.

Die Versuche mit Mais zeigten eine starke Empfindlichkeit dieser Pflanzen gegen den Molybdänmangel, was schon von Johnson und seinen Mitarbeitern nachgewiesen wurde (1952). In jeder Nitratnährlösung wurde eine Chlorose sichtbar, welche bei einem Molybdänzusatz zurückging. In den Ammonnährlösungen tritt keine Chlorose ein.

Aus den durchgeführten Untersuchungen kann man folgende Schlüsse ziehen:

1. Nitrate sind eine günstigere Stickstoffquelle als Ammonsalze, für Pflanzensämlinge, welche stark empfindlich auf einen Sauerstoffmangel in der Nährlösung sind.

2. Nitrate und Ammonsalze sind gleichwertige Stickstoffquellen für Pflanzen, welche gegen eine Sauerstoffbeschränkung in der Nährlösung schwach empfindlich sind.

3. Nitrate können, in einem gewissen Grade, den Sauerstoffmangel in der Nährlösung mancher Pflanzen kompensieren.

4. Ammonstickstoff wird meistens intensiver als Nitratstickstoff aufgenommen, jedoch hat das keinen Einfluss auf Vergrösserung der Trockensubstanz in Vergleich mit Pflanzen, welche auf Nitraten wachsen.

5. In den Nitratnährlösungen beobachtet man eine Chlorose in Maiskulturen; diese Erscheinung tritt nicht in der Ammonnährlösung auf. Ein Zusatz von Molybdän beseitigt diese Chloroseerscheinung.

*Institut der Pflanzenphysiologie
Breslauer Universität*

LITERATURA

- Arnon D. J., 1937, *Soil., Sci.* 44:91—113.
 Chibnall A. C., 1939, *Protein metabolism in the plant*, New Hawen: Yale University Press.
 Czistiakow G. K., 1953, *Osnowy sanitarnogo fiziko-chimiczeskogo analiza i mietodiki chlorigowanija wody*, Miedgiz, Moskwa.
 Fiodorow M. 1951, *Rukowodstwo k prakticzskim zaniatijam po mikrobiologii*, Moskwa.
 Gumiński S., 1950, *Acta Soc. Bot. Pol.* 20 (2):589—620.
 Gumiński S., W. Czerwiński, E. Unger i H. Skrabka, 1957, *Acta Soc. Bot. Pol.* 26 (3) : 631—645.
 Johnson C., C. Pearson a. P. Stout, 1952, *Plant a. Soil* 4: 1—178.
 Maze P., 1898, *Ann. Inst. Pasteur* 14:26—45.
 Prianisznikow D. N., 1899, *Ber. bot. Ges.* 17:151—155.

- Prianisznikow D. N., 1900, Ber. bot. Ges. 18:285—291.
Prianisznikow D. N., 1904, Ber. bot. Ges. 22:35—43.
Prianisznikow D. N., 1908, Ber. bot. Ges. 26:716—724.
Prianisznikow D. N., 1922, Ber. bot. Ges. 40:242—248.
Prianisznikow D. N., 1927, Biochem. Z. 182:204—215.
Prianisznikow D. N., 1929, Biochem. Z. 207:341—349.
Prianisznikow D. N., 1935, Soil. Sci. 1:207—209.
Ruebenbauer T., 1946, Zarys metodyki doświadczalnictwa polowego, Kraków.
Truffaut G. et P. Hampe, 1938, Nos essais de culture dans l'eau, Jardinage.
Truffaut G. et P. Hampe, 1938, Les cultures dans l'eau et la science, Jardinage.

Wpływ światła na syntezę tokoferoli u *Zea mays* L. w początkowym okresie wzrostu

*The influence of light on the synthesis of tocopherols in Zea mays L.
seedlings*

T. BASZYŃSKI

Występowanie tokoferoli u roślin było przedmiotem licznych prac, jednak badania nad wyjaśnieniem ich fizjologicznej roli w życiu roślin nie były prawie podejmowane. Przyczyn braku zainteresowania tym zagadnieniem należy szukać między innymi w trudnościach, na jakie napotykali badacze w oznaczaniu tych związków. Znaczny postęp techniki oznaczania tokoferoli w ostatnich latach, a zwłaszcza zastosowanie chromatografii bibułowej (Brown F. 1952a, 1952b, Eggitt Russell P. W., Ward L. D. 1953, Green J., Marcinkiewicz S., Watt P. R. 1955) do rozdziału poszczególnych „izomerów“, pozwala pokonać te trudności i zainteresować się bliżej tymi ważnymi i ciekawymi zarówno z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia związkami.

Synteza tokoferoli w roślinach nie jest jeszcze dostatecznie poznana. Występowanie ich wspólne z barwnikami plastydowymi oraz pewne strukturalne podobieństwo tych związków pozwala przypuszczać, że tworzenie się tokoferoli pozostaje w pewnym stosunku do tych barwników.

Zacharowa (1954) prowadząc badania nad tworzeniem się i lokalizacją tokoferoli wykazała przeciwny charakter ich syntezy w porównaniu z chlorofilem i karotenoidami, zwłaszcza po osiągnięciu ich maksymalnego nagromadzenia. W toku badań doszła do wniosku, że nasilenie biosyntezy tokoferoli w czasie wegetacji uzależnione jest od uwalnianego alkoholu fitolu podczas rozpadu chlorofilu, czyli że ilość zawartych w roślinie tokoferoli zależy od zatrzymania konkurencyjnych procesów biosyntezy karotenu i chlorofilu. Nie odnosi się to do wczesnego okresu wzrostu, bowiem obserwacje wpływu światła na zawartość po-

wyższych związków przeprowadzone przez Zacharową na siewkach grochu i owsa wykazały, że:

1) intensywna synteza tokoferoli zachodzi nawet w ciemności, kiedy nie występują jeszcze chlorofil i karoten (na tej podstawie opiera przypuszczenie o prawdopodobnym tworzeniu się fitolu w tych warunkach).

2) światło stymuluje tworzenie się wszystkich trzech badanych związków, przy czym nie daje się zaobserwować między nimi żadnych konkurencyjnych stosunków.

Uwzględniając przypuszczenie Godniewa o syntezie fitolu z łańcucha karotenoidowego na drodze odbudowy i przeciwstawny mu pogląd Karrera, że karotenoidy tworzą się na drodze odwodorowania i kondensacji fitolu, Zacharowa opowiada się za pierwotną syntezą fitolu.

Fischer i Bohn (1958) badając warunki tworzenia się fitolu nie stwierdzili go w etiolowanych kielkach kukurydzy i jęczmienia (które, jak wiadomo, stanowią poważne źródło tokoferoli) w przeciwieństwie do kielków rosnących na świetle. w których znaleźli ok. 0,3 mg fitolu w 1 g świeżej masy. Dochodzą stąd do wniosku, że synteza fitolu w chloroplastach obydwu badanych roślin wymaga tak samo światła, jak synteza chlorofilu. Dla potwierdzenia tego poglądu podają, że kielkująca na świetle kukurydza w swoich niezielonych organach (kielki, korzenie) nie zawierała fitolu. Tworzenie się fitolu we wszystkich badanych przypadkach występowało tylko wtedy, gdy zachodziła synteza chlorofilu. Jest rzeczą interesującą, że siewki kukurydzy rosnące na sztucznym świetle, mimo że były zielone, zawierały więcej fitolu, niż by to wynikało z ilości chlorofilu obecnego w roślinie. Tymi „nadwyżkami fitolowymi“ w stosunku do chlorofilu starają się autorzy wytłumaczyć w pewnym stopniu syntezę tokoferoli czy też witaminu K₁. Wyniki Fischera i Bohna mają znaczenie dla potwierdzenia zaobserwowanej przez Zacharową zwiększonej syntezy tokoferoli na świetle, jednak nie dają podstaw do poparcia jej przypuszczenia, jakoby tworzenie się tokoferoli w ciemności było konsekwencją intensywnej syntezy fitolu w tych warunkach.

Stosowana przez Zacharową metoda oznaczania tokoferoli nie pozwalała na ustalenie udziału poszczególnych tokoferoli w ich syntezie. Ważną jednak sprawą jest stwierdzenie jakie spośród siedmiu znanych tokoferoli tworzą się w kielkujących nasionach w początkowym okresie wegetacji. Brown (1952a) wykazał, że zielone części kilku roślin z rodziny *Gramineae* zawierają wyłącznie α -tokoferol, podczas, gdy powszechnie wiadomo, iż nasiona i oleje większości dotychczas przebadanych roślin nie zawierają α -tokoferolu wcale albo w znikomych ilościach, natomiast inne tokoferole stanowią znaczny procent ogólnej ich sumy. Można by

przeto przyjąć, że w okresie kiełkowania powinno zachodzić przegrupowanie w ilościowym, a być może i jakościowym składzie tokoferoli.

W świetle cytowanych prac wydało nam się słuszne przy zastosowaniu dokładniejszych metod oznaczania:

- 1) sprawdzenie wpływu ciemności i światła na syntezę tokoferoli w najwcześniejszym okresie wzrostu rośliny,
- 2) prześledzenie jakościowego i ilościowego składu tokoferoli podczas pierwszych dni wzrostu,
- 3) zbadanie wzajemnego stosunku tokoferoli, karotenoidów i chlorofilu w tym okresie.

Przy okazji przebadano również rozmieszczenie tokoferoli w nasionach *Zea mays* L., które były obiektem naszych badań, oraz niektóre ich własności, co może mieć pewne znaczenie praktyczne.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiał i metody

Do doświadczeń wybrano nasiona *Zea mays* L. (odmiana złota górecka) pochodzące ze stacji Hodowlano-Badawczej IHAR Smolice. Przed przystąpieniem do doświadczeń nad kiełkującymi nasionami przeanalizowano materiał wyjściowy. Analizowano całe nasiona, a także wydzielone z nasion zarodki i bielmo. Materiał po oddzieleniu zarodków mielono w młyn-

Tabela 1

Analiza nasion *Zea mays* L. Analysis of *Zea mays* L. seeds

Próbka Sample	Wilgotność %	Ekstrakt eterowy %	Azot ogólny %	Suma tokoferoli w µg/g s.m	
	Moisture	Ether extract	Nitrogen	Total tocopherol µg/g dry weight	
Kukurydza maize	ziarno grain	10,9	5,8	1,38	46,4
	zarodek embryo	7,8	41,1	2,24	166,5
	mąka flour	11,1	1,4	1,19	7,2
	otręby bran	11,2	1,1	1,40	56,4

T a b

 Zawartość tokoferoli, karotenoidów
 Content of tocopherols, carotenoids and

Dni wzrostu Growth period days		Sucha masa o/o Dry matter	T o k o f e r o l e T o c o p h e r o l s								
			na g świeżej masy per g of fresh weight					na g s. m. per g of dry weight	w 10 siewkach in 10 seedlings		
			α		γ		suma total	suma total	α	γ	suma total
			μg	o/o	μg	o/o	μg	μg	μg	μg	μg
Ciemność — dark											
2	48,8	8,3 $\pm 0,79$	11,0	66,9 $\pm 0,65$	89,0	75,2	153,7	1,4	11,2	12,6	
3	28,6	5,6 $\pm 0,11$	12,2	41,0 $\pm 0,76$	87,8	46,0	160,8	1,4	10,3	11,7	
4	15,0	6,0 $\pm 0,15$	23,2	19,9 $\pm 0,76$	76,8	26,1	173,3	3,2	10,8	14,8	
5	12,3	5,4 $\pm 0,15$	34,0	10,5 $\pm 0,69$	66,0	15,9	129,3	5,4	10,5	15,9	
7	12,2	2,5 $\pm 0,11$	38,0	4,1 $\pm 0,08$	62,0	6,6	54,1	5,7	9,4	15,1	
Światło — Light											
2	49,2	9,0 $\pm 0,80$	11,2	71,6 $\pm 1,04$	88,6	80,6	184,1	1,6	12,3	13,9	
3	35,4	8,3 $\pm 0,29$	14,5	48,9 $\pm 0,40$	85,5	57,2	161,4	2,4	13,9	16,3	
4	20,7	4,6 $\pm 0,14$	19,5	19,0 $\pm 0,57$	80,5	23,6	114,0	3,5	14,6	18,1	
5	15,0	4,4 $\pm 0,18$	32,4	9,2 $\pm 0,65$	67,6	13,6	90,7	6,3	13,1	19,4	
7	16,4	2,7 $\pm 0,10$	42,2	3,7 $\pm 0,09$	57,8	6,4	39,0	9,6	13,2	22,8	

ku, po czym roztarte bielmo przesiewano przez sito otrzymując 50% mąkę i otręby.

W celu otrzymania kiełków moczone nasiona przez 24 godziny w wodzie, a następnie wykładano po 25 nasion w szalkach Petriego na ligninę zwilżoną 50 ml pożywki Hampe i Truffaut i umieszczano w termostacie o temperaturze $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Dla utrzymania stałej wilgotności dodawano do kultury w międzyczasie wody. Kiełkowanie

chlorophylls in *Zea mays* L. seedlings.

Karotenoidy w μg Carotenoids in μg						Chlorofil w μg Chlorophyll in μg						a/b
na g świeżej masy per g of fresh weight		na g suchej masy per g of dry weight		w 10 siewkach in 10 seedlings		na g świeżej masy per g of fresh weight		na g suchej masy per g of dry weight		w 10 siewkach in 10 seedlings		
karoten carotene	ksantofil xanthophyll	karoten carotene	ksantofil xanthophyll	karoten carotene	ksantofil xanthophyll							
a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
0,5	1,4	3,7	11,3	0,5	1,4							
$\pm 0,12$	$\pm 0,05$											
0,8	6,0	6,3	49,3	1,8	13,7							
$\pm 0,04$	$\pm 0,05$											
0,4	1,9	1,1	5,4	0,1	0,5							
$\pm 0,02$	$\pm 0,01$											
1,2	5,2	5,8	25,1	0,9	4,0	72,0	25,0	356,8	123,8	55,4	19,2	2,7
$\pm 0,07$	$\pm 0,02$					$\pm 0,17$	$\pm 0,71$					
4,1	13,0	27,3	86,7	5,9	18,6	198,0	68,0	1320,0	563,3	286,0	97,0	2,9
$\pm 0,17$	$\pm 0,09$					$\pm 2,95$	$\pm 2,79$					
2,9	35,5	78,7	216,5	46,1	126,8	368,0	137,0	2243,9	835,4	1307,0	489,0	2,7
$\pm 0,15$	$\pm 0,24$					$\pm 5,04$	$\pm 1,29$					

W drugiej serii doświadczeń etiolowane kielki trzymane w zupełnej

ciemności i tylko podczas dodawania wody w celu utrzymania odpowiedniej wilgotności zapalano na bardzo krótki czas ciemnozielone światło.

Obydwie serie doświadczeń prowadzono w ciągu siedmiu dni. W tym czasie wyrastające w ciemności rośliny osiągały długość około 8 cm, u niektórych z nich pojawiały się liście. Rosnące na świetle miały w ostatnich dniach doświadczeń około 5 cm długości i dwa wykształcone liście.

Po upływie 2, 3, 4, 5 i 7 dni oddzielano roślinę od nasienia, krojono skalpelem na drobne kawałki, a po wymieszanu brano bezzwłocznie średnią próbkę do oznaczenia suchej masy. Inną część materiału analizowano na zawartość tokoferoli, karotenoidów i chlorofilu.

Oznaczanie tokoferoli: Próbkę materiału roślinnego, w ilości odpowiadającej około 500 μg tokoferoli, rozcierano dokładnie w moździerzu z metanolem i przenoszono do kolbki. Następnie zmydlano na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną 2 n alkoholowym roztworem KOH w obecności pirogallolu, w temperaturze 70°C, w ciągu 30 minut w atmosferze azotu. Nie zmydloną frakcję rozpuszczoną w eterze naftowym chromatografowano na kolumnie wypełnionej ziemią rejewiecką (śr. 1 cm, wys. 4 cm) aktywowaną według Glavinda, Kjølhede'a i Prange'a (cyt. Brown 1952a) i eluowano 20 ml 25% eteru etylowego w eterze naftowym. Otrzymany eluat oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość rozpuszczano w 1 ml benzenu. Przygotowany w ten sposób ekstrakt rozdzielano chromatograficznie metodą Greena i wsp. (1955). Rozwinięty chromatogram wywoływano 0,2% FeCl_3 w alkoholu absolutnym i 0,5% alkoholowym roztworem α, α' -dwupirydyli według Emmerie i Engela. Otrzymane plamy eluowano metanolem (modyfikacja Masona i Jonesa 1958). Pomiaru ekstynkcji dokonywano na fotometrze wizualnym Pulfricha, przy filtrze S 50. Krzywą wzorcową przygotowano z octanu dla α -tokoferolu, po uprzedniej hydrolizie kwasowej. Ilość γ -tokoferolu, z powodu braku czystego preparatu, obliczano również z tej samej krzywej. Plamy α - i γ -tokoferolu identyfikowane były na podstawie Rf. γ -Tokoferol ponadto traktowano roztworem dwuazo-o-dwuanizydyny (roztwór przygotowany według sposobu Weislera i wsp. 1947). Zarówno α -, jak i γ -tokoferol dawały brązowe plamy po spryskaniu amoniakalnym roztworem AgNO_3 w metanolu.

Oznaczanie chlorofilu: Z roztartej w moździerzu tkanki roślinnej ekstrahowano barwniki acetonem tak długo, aż wyciąg acetonowy stał się bezbarwny. Ekstrakt acetonowy przenoszono do rozdzielacza, dodawano małą ilość eteru naftowego i wody, aby barwniki przeszły do eteru. Przemytą wodą destylowaną warstwę suszono małą ilością bezwodnego Na_2SO_4 i chromatografowano na kolumnie skrobiowej. Metodę

rozdziatu, jak również sposób określania chlorofilu a i b na fotometrze Pulfricha filtr S 61, przyjęto z pracy Więckowskiego (1957).

Oznaczanie karotenoidów: Karotenoidy oznaczano metodą chromatograficzną według Workera (1957) eluując zaabsorbowane karoteny 2% acetonem w eterze naftowym, a ksantofile 8% etanolem w eterze naftowym. Oznaczenia kolorymetryczne otrzymanych eluatów przeprowadzono na fotometrze Pulfricha stosując filtr S 47. Krzywą standardową sporządzono z czystego β -karotenu w eterze naftowym.

Azot ogólny w nasionach oznaczano metodą Kjeldahla, natomiast ekstrakcję eterową przeprowadzono w aparacie Soxhleta.

Wyniki analiz nasion podano w tabeli 1. Zawartość tokoferoli, karotenoidów i chlorofilu w siewkach zestawiono w tabeli 2. Przedstawione wyniki w odniesieniu do świeżej masy stanowią średnią arytmetyczną z czterech oznaczeń. Przy wynikach podano średni błąd średniej arytmetycznej. Inne wyniki przeliczono z powyższych otrzymanych z bezpośredniej analizy danych.

WYNIKI

Nasiona *Zea mays* L., będące obiektem badań, zawierały 46,4 μ g ogólnej sumy tokoferoli na 1 g s.m. Dużą zawartością tokoferoli odznaczały się zarodki stanowiące jednak tylko 11,5% ogólnej masy nasion. Znaczna część tokoferoli zlokalizowana jest w otrębach, mianowicie 56,4 g/1g s.m., mąka zaś zawiera 7,2 g/1g s.m. Zarodki ponadto zawierają znaczne ilości tłuszczu. Zawartość azotu w normie, u zarodków około dwukrotnie wyższa niż u reszty ziarna. Przy oznaczaniu tokoferoli w nasionach ograniczono się do podania ogólnej ich zawartości.

Etiolowane siewki kukurydzy zawierają tokoferole. Ilość ich w przeliczeniu na 10 siewek jest niższa aniżeli u rosnących na świetle. Wzrost zawartości tokoferoli u roślin etiolowanych w ciągu trwania doświadczenia nie jest duży, natomiast u roślin oświetlonych przewyższa 1,6-krotnie stan początkowy. U roślin rosnących w ciemności w ciągu pierwszych czterech dni zwiększa się ogólna zawartość tokoferoli w 1 g suchej masy, następnie wykazuje tendencję spadkową.

W badanym materiale stwierdzano wyłącznie α - i γ -tokoferole. Na chromatogramach obserwowano szereg plam pochodzących od nietokoferolowych substancji redukujących. W końcowym stadium doświadczeń w chromatogramach z eksponowanych na świetle roślin pojawiły się po zadaniu odczynnikami Emmerie i Engel słabo widoczne plamy wskazujące

na obecność η - tokoferolu. Pod wpływem dwuazo-o-dwuanizydyny barwiły się one na kolor czerwony. Identyfikację tych plam uniemożliwiał brak czystego η - tokoferolu. W czasie trwania doświadczeń procentowa zawartość poszczególnych tokoferoli ulega zmianie. α -Tokoferol wzrasta około czterokrotnie stanowiąc 38% w końcowym stadium doświadczeń w przypadku zaciemnionych roślin, a w przypadku oświetlonych 42,2% ogólnej sumy tokoferoli. γ -Tokoferol wykazuje spadek u roślin zaciemnionych, a dość duże wahania u rosnących na świetle.

U roślin pozostających w ciemności karotenoidy nie występują w pierwszych dniach po wykiełkowaniu. Pierwsze ślady tych związków obserwowano u siewek 3- i 4-dniowych. Większe ilości karotenoidów stwierdzono 5 dnia, w ostatnim dniu doświadczeń ilość ich jest już dość znaczna. Pośród badanych dwóch grup barwników karotenu i ksantofilu przeważał ten ostatni. W miarę upływu czasu ilość jego w stosunku do karotenu rosła. Stosunek ksantofilu do karotenu u siewek 5-dniowych wynosił 2,8, a po dwóch dniach wzrósł do 7,5.

Tworzenie się karotenoidów u roślin eksponowanych na świetle zaczyna się natychmiast i podnosi gwałtownie w czasie wzrostu. Stosunek ksantofilu do karotenu w miarę wzrostu roślin przesuwają się na korzyść karotenu. Jak wynika z tabeli 2 u 3-dniowych siewek wynosi on 4,8, a po czterech dniach spada do 2,8.

Równolegle z syntezą karotenoidów u roślin poddanych działaniu światła powstaje chlorofil, chociaż zawsze jego pojawienie poprzedzone było tworzeniem się lipochromów. Ilość chlorofilu wzrastała z wiekiem siewek. We wszystkich przypadkach ilość chlorofilu *a* była wyższa niż chlorofilu *b*. Stosunek chlorofilu *a* do *b* był mniej więcej stały i wynosił 2,7—2,9.

U roślin etiolowanych przez cały czas trwania doświadczeń chlorofilu nie stwierdzono.

Przyrost karotenoidów i chlorofilu wynikał zarówno z przeliczenia na świeżą i suchą masę, jak również z ich absolutnej ilości w odniesieniu do 10 roślin.

DYSKUSJA

Zawartość tokoferoli w analizowanych nasionach *Zea mays* L. jest niższa aniżeli otrzymana przez Masona i Jonesa (1958). Źródła rozbieżności naszych danych z wynikami Masona i Jonesa należy szukać poza różnicami odmianowymi, w odmiennych warunkach glebo-

wych, siedliskowych i klimatycznych Australii, skąd pochodził badany materiał. Interesujące jest wykrycie przez wspomnianych autorów w kukurydzy obok α - i γ -tokoferolu także ε -tokoferolu, podczas gdy dotychczas, nie biorąc pod uwagę sugerowanej przez nas obecności η -tokoferolu stwierdzano wyłącznie dwa pierwsze tokoferole.

Wyodrębnione z nasion zarodki odznaczają się dużą ilością tłuszczu. Stosowane dla podwyższenia jakości mąki kukurydzianej złuszczenie skórki i odrzucanie zarodka, ze względu na dużą w nich zawartość tokoferoli, obok wysokogatunkowego tłuszczu a także azotu, może mieć znaczenie praktyczne w konsumpcji i przemyśle.

Zaobserwowana przez Zacharową biosynteza tokoferoli w ciemności znajduje potwierdzenie w naszych wynikach, chociaż wzrost ten jest niewielki. Również wzrost tokoferoli w przeliczeniu na suchą masę w ciągu pierwszych czterech dni doświadczeń zgodny jest z jej wynikami.

Zwiększanie się procentowej zawartości α -tokoferolu w miarę wzrostu roślin, zarówno na świetle, jak i w ciemności jest interesującym zjawiskiem. Ten wzrost α -tokoferolu czyni zrozumiałym spostrzeżenie Browna (1952a), że u *Gramineae* występuje wyłącznie α -tokoferol, można bowiem mniemać, iż dalszemu rozwojowi rośliny towarzyszy dalszy wzrost α -tokoferolu.

Zwiększenie się zawartości α -tokoferolu u roślin rosnących w ciemności odbywa się prawdopodobnie na dwóch różnych drogach. Zmniejszanie się zawartości γ -tokoferolu, aczkolwiek niewielkie, sugeruje możliwość syntezy α -tokoferolu na drodze metylacji tego pierwszego. Większy wzrost α -tokoferolu aniżeli obserwowany spadek γ -tokoferolu świadczyć może również o innym bezpośrednim mechanizmie syntezy.

Co się tyczy siewek rosnących na świetle, obserwowany wzrost α -tokoferolu przy niewielkich wahaniach γ -tokoferolu pozwala przypuszczać o bezpośredniej syntezie α -tokoferolu z nieznanego bliżej prekursora. Intensywniejsza niż w ciemności synteza tego związku była spowodowana — być może — zaobserwowanym przez Fischera i Bohna powstawaniem fitolu na świetle, zachodzącym równocześnie z nagromadzaniem się chlorofilu.

Stwierdzony wzrost ogólnej sumy tokoferoli w początkowym okresie wegetacji zarówno u roślin etiolowanych, jak i eksponowanych na świetle odbywa się na skutek syntezy α -tokoferolu. Czy mechanizm powstawania α -tokoferolu na świetle jest podobny do syntezy tego związku w ciemności, jest sprawą otwartą. Zastanawiający jest wspomniany wyżej ubytek γ -tokoferolu w ciemności, nasuwający na myśl możliwość jego metylacji. Definitywne rozstrzygnięcie tego zagadnienia wymaga dalszych badań,

a zwłaszcza śledzenia zmian w ilościowym i jakościowym składzie tokoferoli w ciągu pełnego okresu wegetacji.

Z obserwacji zmian w składzie tokoferoli odnosi się wrażenie, że magazynowane w nasionach tokoferole o wysokich własnościach przeciwutleniających służą do zabezpieczenia nienasyconych tłuszczów roślinnych. Potwierdza to w pewnym stopniu zaobserwowana przez Piątkowskiego (1954) korelacja między zawartością tokoferoli a liczbą jodową olejów roślinnych. W rachubę wchodzi także możliwość zabezpieczenia procesów związanych z kiełkowaniem nasion. Do wyników Piątkowskiego należy jednak odnieść się z pewną rezerwą, gdyż dostępna mu metoda Furtera i Meyera oznaczania tokoferoli dotyczy ogólnej zawartości tych związków, a ponadto różni się względną specyficznością i czułością od metody przez nas stosowanej (Feldheim 1956, Wendt i Drokowa 1957).

Stwierdzona przez nas synteza karotenoidów w ciemności potwierdza liczne badania przeprowadzone na szeregu gatunków roślin w latach ubiegłych, głównie przez Straina (Godwin 1952). Znaczna ilość ksantofilu w stosunku do karotenu też była wielokrotnie stwierdzana.

O wzmacnianiu przez światło syntezy karotenoidów donoszono kilkakrotnie (cyt. Frank i Kenney 1955). Oświetlane rośliny, zgodnie z danymi literatury, syntetyzują w miarę upływu czasu głównie karoteny na niekorzyść ksantofilu.

Porównując karotenoidy z chlorofilem nie zaobserwowano, podobnie jak w doświadczeniach Norrisa (cyt. Goodvin 1952), aby synteza chlorofilu odbywała się kosztem karotenoidów. Stwierdzony przez S. Frank spadek stężenia karotenoidów w okresie powstawiania chlorofilu nie dał się w naszych badaniach uchwycić, gdyż przy stosowaniu 12-godzinnego oświetlenia karoteno- i chlorofilogeneza przewyższały znacznie destrukcję karotenoidów na świetle.

Nagromadzanie się karotenoidów i chlorofilu nie wpływa w początkowym okresie wzrostu na zmniejszenie zawartości tokoferoli w całej roślinie. Jeżeli rozpatrywać występowanie tych związków w przeliczeniu na suchą masę wzrost chlorofilu i karotenoidów w przeciwieństwie do wyników Zacharowej pokrywa się ze spadkiem tokoferoli.

WNIOSKI

1. Potwierdzono syntezę tokoferoli u siewek *Zea mays* L. rosnących zarówno w ciemności jak i na świetle.
2. Stwierdzono, że wzrost zawartości tokoferoli w obydwu przypadkach jest wynikiem syntezy α -tokoferolu.

3. Wysłunięto przypuszczenie, iż synteza α -tokoferolu odbywać się może na drodze bezpośredniej syntezy, a w ciemności częściowo na drodze metylacji γ -tokoferolu.

4. Nie stwierdzono konkurencyjnych stosunków w nagromadzaniu się tokoferoli, karotenoidów i chlorofilu w odniesieniu do 10 siewek, natomiast zaobserwowano przeciwny charakter syntezy tokoferoli w stosunku do karotenoidów i chlorofilu po przeliczeniu wyników na 1 g suchej masy.

Kierownikowi Katedry Fizjologii Roślin UMCS panu profesorowi dr Adamowi Paszewskiemu wyrażam serdeczne podziękowanie za umożliwienie mi wykonania niniejszej pracy i interesowanie się jej przebiegiem.

Katedra Fizjologii Roślin UMCS w Lublinie

Kierownik: Prof. Dr A. Paszewski

(Wpłynęło dn. 25.3.1959)

ADDENDUM: Już po napisaniu niniejszej pracy dotarła do naszych rąk publikacja Greena (J. Sci. Food and Agric. 1958, 9, 12, 801—12) dotycząca dystrybucji tokoferoli w cyklu życiowym roślin. Z czterech przebadanych roślin, u interesującej nas kukurydzy stwierdził on po raz pierwszy występowanie w nasionach pięciu tokoferoli ze znaczną przewagą γ -tokoferolu. Na liście tokoferoli, obok powszechnie stwierdzanych form α - i γ -, oraz wysuwanej przez nas możliwości występowania η -tokoferolu, autor ten podaje ponadto δ - i ξ -tokoferole. Wspomina również o nieznacznych śladach β - i ϵ -tokoferolu (ten ostatni podają również Mason i Jones 1958).

W doświadczeniach nad kiełkowaniem nasion kukurydzy na świetle i w ciemności Green stwierdził, podobnie jak to wykazaliśmy w naszych badaniach, wzrost zawartości α -tokoferolu i zmianę stosunku w składzie tokoferoli na korzyść α -tokoferolu.

W doświadczeniach polowych przez pierwsze trzy miesiące rozwoju rośliny obserwował on tworzenie się głównie α -tokoferolu, później syntetyzowany był również γ -tokoferol. Synteza innych tokoferoli związana była z powstawaniem nasion i ich dojrzewaniem.

Na podstawie przeprowadzonych badań Green wysuwa cztery możliwości syntezy tokoferoli (z wyjątkiem α -tokoferolu):

1. Tworzenie się tokoferoli w łodydze i liściach w niezależnej reakcji i jednocześnie przenoszenie ich do nasion.
2. Powstawanie tokoferoli w łodydze i liściach na drodze odmetylowania α -tokoferolu i przeniesienie wytworzonych produktów do nasion.
3. Bezpośrednie powstawanie tokoferoli w nasionach w miejscu odkładania lub pobliżu.
4. Powstawanie tokoferoli w nasionach, w miejscu ich odkładania na drodze odmetylowania α -tokoferolu.

W toku dyskusji opowiada się za ostatnim mechanizmem jako najbardziej prawdopodobnym.

Autor rozpatruje również możliwość syntezy α -tokoferolu jako procesu odwrotnego do przedstawionego w punkcie 4.

SUMMARY

Zaharova (1954) reported that in seedlings of peas and barley tocopherols were synthesized in darkness and supposed that also phytol must have been rapidly synthesized in these conditions. However, Fischer and Bohn (1958) found no phytol in etiolated seedlings of maize. In their opinion the synthesis of phytol takes place only in light when chlorophyll is present. Fischer and Bohn observed that in maize seedlings exposed to artificial light the level of phytol was higher than would have resulted from the chlorophyll content, and supposed that the „surplus“ of phytol might influence the more rapid synthesis of tocopherols.

The methods of Zaharova's experiments did not permit to identify which of the seven known tocopherols were formed in the seedlings. On the other hand, Brown (1952) demonstrated that some plants of the *Gramineae* family contained in their green organs only α -tocopherol. The presence in most seeds and vegetable oils of other tocopherols seems to indicate that a transformation in the composition of tocopherols may be possible during plant vegetation.

In view of these contradictory results it has been thought that investigations carried out with more accurate techniques might throw more light on the following problems:

1. the influence of darkness and light on the synthesis of tocopherols during the earliest stage of plant growth,
2. the possible changes in the composition and the level of tocopherols in the first days of growth,
3. the mutual relations between the particular kinds of tocopherols, carotenoids, and chlorophyll.

The experiments were carried out on *Zea mays* L. during the first seven days of growth in darkness and in light. Tocopherols were determined according to the method developed by Green et al. (1955). Determinations of chlorophyll were made with the chromatographic technique according to Więckowski (1957) and of carotenoids with Worker's (1957) method.

Tocopherols were synthesized by *Zea mays* L. seedlings growing in darkness as well as in light. In seedlings exposed to light the synthesis rate was higher. This result is conformable with the higher level of phytol observed by Fischer and Bohn in maize seedlings grown in similar conditions. The synthesis of tocopherols in darkness probably starts with some unknown precursor and does not necessitate the presence of phytol. The rise in the content of tocopherols in darkness as well as in light was due to the synthesis of α -tocopherol. It seems that α -tocopherol may be produced by way of direct synthesis and in darkness partly also by the methylation of γ -tocopherol. Competitive relations in the accumulation of

tocopherols, carotenoids, and chlorophyll were not observed relatively to 10 seedlings; on the other hand the synthesis of tocopherols had a competitive character with regard to carotenoids and chlorophyll when the results were calculated to one gram of dry mass.

*Department of Plant Physiology
Marie Curie-Skłodowska University of Lublin,
Director Professor A. Paszewski.*

LITERATURA

- Brown F., 1952a, The Estimation of Vitamin E. I. Separation of tocopherol mixtures occurring in natural products, *Biochem. J.* 51 (2); 237—239.
- Brown F., 1952b, The Estimation of Vitamin E. II. Quantitative analysis of tocopherol mixtures by paper chromatography, *Biochem. J.* 52 (3); 523—526.
- Eggitt Russell P. W., Ward L. D., 1953, The estimation of vitamin E activity by paper chromatography, *J. Sci. Food Agric* 4 (4); 176—179.
- Feldheim W., 1956, Beiträge zur chemischen Bestimmung von Tocopherol in Naturstoffen, *Vitamine und Hormone* 7 (2/3); 212—218.
- Fischer F. G., Bohn H., 1958, Über die Bildung und das Vorkommen von Phytol, *Liebigs Ann. Chem.* 611 (1—3); 224—235.
- Frank S., Kenney A. L., 1955, Chlorophyll and carotenoid destruction in the absence of light in seedlings of *Zea mays* L., *Plant Physiol.* 30 (5); 413—418.
- Goodvin T. W., 1952, *The Comparative Biochemistry of the Carotenoids*, London.
- Green J., Marcinkiewicz S., Watt P. R., 1955, The determination of tocopherols by paper chromatography, *J. Sci. Food Agric.* 6 (5); 274—282.
- Mason E. L., Jones W. L., 1958, The tocopherol contents of some Australian cereals and flour milling products, *J. Sci. Food Agric.* 9 (8); 524—527.
- Piątkowski T., 1954, Próba charakterystyki niektórych odmian kukurydzy uprawianych w Polsce pod względem wartości tłuszczu uzyskanego z ich kłóbków, *Roczn. Nauk Roln.* 68-A-4; 635—645.
- Weisler L., Robeson C. D., Baxter J. G., 1947, Delta-Tocopherol. Assay of Individual Tocopherols in Mixtures Containing Delta-Tocopherol, *Analyt. Chem.* 19, 11.
- Wendt W. P., Drokowa I. G., 1958, O spieczystości niektórych kolorimetrycznych metod opredzielenia witamina E, *Witaminy* 3, Kijew AN USSR, 75—84.
- Więckowski S., 1957, Badania nad dziennymi zmianami w stężeniu chlorofilu w liściach roślin stanowisk nizinnych i gróskich, *Acta Soc. Bot. Poloniae* 26 (4); 657—673.
- Worker N. A., 1957, A rapid procedure for the chromatographic separation and spectrophotometric estimation of certain pasture lipoids. I. Carotene, Xanthophyll and Chlorophyll, *J. Sci. Food Agric.* 8 (7); 442—444.
- Zacharowa M. P., 1954, K woprosu ob obrazowanii i lokalizacii witamina E w rastienii, *Trudy WNIWI*, V, 159—163.

Poziom glutationu zredukowanego i utlenionego we wczesnych fazach rozwoju *Pisum sativum* L. i *Lupinus luteus* L.

The content of reduced and oxydized glutathione in the early development stages of Pisum sativum L. and Lupinus luteus, L.

B. GORJACZKO-MORAWIECZKA

WSTĘP

Glutathion spełnia wiele funkcji biologicznych w żywej komórce, między innymi aktywuje hormony i enzymy (W. Grassman i wsp. 1930, F. Binkley i wsp. 1951 r.), pełni rolę specyficznego koenzymu: dehydrogenazy aldehydu 3-P-glicerolowego (J. Krimsky i E. Racker 1952), glioksalazy (C. Neuberger 1913), cis-, trans-izomerazy kwasu maleiloacetooctowego (Morgan i Friedemann cyt. wg E. Rackera 1954), dehydrogenazy formaldehydowej (D. Strittmatter, E. Ball 1955) i reduktazy nitroglicerolowej (L. A. Heppel, R. J. Hilmo 1950). Poza tym stymuluje podział i wzrost komórkowy. E. Racker (1954) porównał funkcję biologiczną glutathionu z rolą nukleotydów fosfopirydynowych, flawinowych i koenzymu A.

Badania nad występowaniem glutathionu w komórkach zwierzęcych, roślinnych i w drobnoustrojach są bardzo wyczerpujące (F. G. Hopkins 1921, 1945, E. Barron 1951, E. Bricas i wsp. 1953). Słabo natomiast są zbadane zmiany poziomu glutathionu i ich związek z fazami rozwojowymi żywych organizmów, a w szczególności roślin wyższych. F. G. Hopkins i E. J. Morgan (1943) wyrazili pogląd, że glutathion zredukowany powstaje szybko we wczesnym okresie kiełkowania nasion. J. M. Lawrence (1950) podważył to stanowisko swoimi pracami nad formowaniem się substancji redukujących w czasie kiełkowania, gdyż stwierdził, że poziom glutathionu w ciągu pierwszych ośmiu dni kiełkowania waha się w granicach od 690 μg do 450 μg . M. J. Proskuriakow i J. M. Mosolowa (1952) badając metabolizm glutathionu w grochu stwierdzili, że po-

ziom glutationu przez pierwsze osiem dni kiełkowania nie zmienia się wyraźnie, a następnie obniża się. W roślinach pozbawionych liścieni autorzy zaobserwowali dwukrotny przyrost glutationu w początkowym okresie kiełkowania.

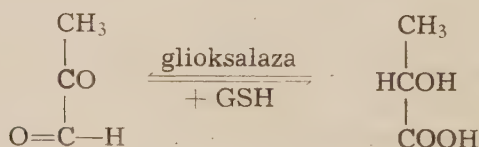
Ze względu na wysoką aktywność biologiczną glutationu interesujące było przebadanie zmiany poziomu glutationu w czasie rozwoju całych roślin i ich organów. W tym celu badania przeprowadziłam na dwóch roślinach motylkowych: grochu zwykłym, odmianie cukrowej i łubinie żółtym, białonasiennym. Rośliny te różnią się sposobem kiełkowania i rozwoju. Liścienie grochu w czasie kiełkowania pozostają pod powierzchnią gleby i pełnią funkcję materiałów zapasowych, liścienie łubinu natomiast wydostają się wraz z rozwijającą się rośliną ponad powierzchnię gleby i są nie tylko źródłem materiałów zapasowych, lecz funkcjonują również jako pierwsze asymilujące liście. Różnica ta została wykorzystana do porównania zmian poziomu glutationu w organach morfologicznie jednakowych, a fizjologicznie różnych.

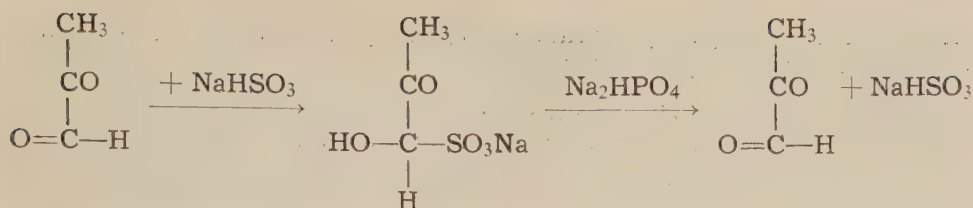
Bliższe dane o budowie i znaczeniu biologicznym glutationu podałam w pracy przeglądowej (Morawiecka 1959).

METODYKA BADAŃ

Metody chemiczne

Glutation zredukowany oznaczano miareczkową modyfikacją metody glioksalazowej wg E. F. Schroeder i G. H. Woodward (1939). Istotą tej metody są dwie zasadnicze reakcje: enzymatyczna i oznaczanie miareczkowe. W reakcji enzymatycznej, pod wpływem glioksalazy i glutationu jako koenzymu, z metyloglioksalu powstaje kwas mlekowy. Ilość przereagowanego metyloglioksalu zależy w pewnych granicach od stężenia glutationu (od 0—100 μg glutationu). Podstawą do oznaczania metyloglioksalu jest reakcja Clifta i Cooka, w której metyloglioksal wiąże się na związek addycyjny (kwas hydroksysulfonowy) z dodanym w nadmiarze kwaśnym siarczynem sodowym. Nadmiar kwaśnego siarczynu odmiareczkowuje się. Następnie, przez dodanie drugorzędowego fosforanu sodowego, zwalnia się związany z metyloglioksałem w stosunku stechiometrycznym kwaśny siarczyn sodowy. Ten ostatni miareczkuje się 0,005 N roztworem jodu.





Postępowanie przy sporządzaniu krzywych standardowych glutationu: do 100 mg proszku acetonowego z drożdży (źródło gliksalazy) zawieszonego w 0,5 ml M/15 moderatora fosforanowego o pH = 7,2 dodawano od 0—1 ml 0,2% standardu glutationu w 4% kwasie sulfosalicylowym. Próbkę zobojętniano i uzupełniano do objętości 2 ml M/15 moderatorem fosforanowym o pH 7,2. Z tego pobierano 1 ml do inkubacji z 0,5 ml roztworu metylogliksalu (przy sporządzaniu pierwszej krzywej standardowej używano metylogliksalu o mianie 5,12 ml 0,005 N jodu na 5 ml próbkę, a przy sporządzaniu następnych krzywych używano drugiego preparatu metylogliksalu, o mianie 4,15 ml 0,005 N jodu na 5 ml próbkę). Po 30 minutach w temp 26° reakcję enzymatyczną przerywano dodając 10 ml 0,002 N kwasu siarkowego. Po odwirowaniu pobierano 5 ml próbki do oznaczenia nadmiaru metylogliksalu przez zmiareczkowanie 0,005 N jodem. Specyficzność metody gliksalazowej podano w tabeli 1.

Tabela 1

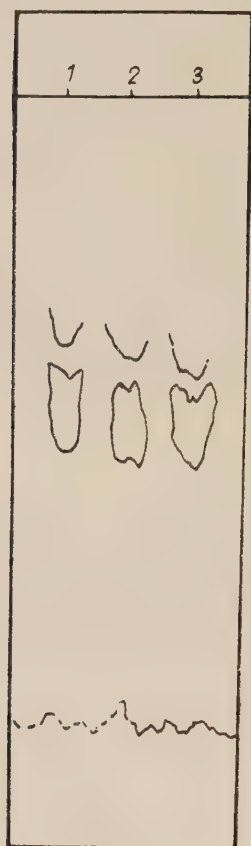
Specyficzność metod, służących do oznaczania glutationu wg D. Glicka (1955)

Metody	Czułość na glutat- ion μg	GSH (gluta- tion)	Cysteina	Cysteinył- glicyna	Glutamyl- cysteina	Ergotio- neina	Kwas askorbi- nowy
Jodometryczna	100	+	+	+	+	+	+
Fosforowol- framowa	100	+	+	+	+	+	+
Żelazicyjankowa	1	+	+	+	+	+	+
Amperometrycz- na	10	+	+	+	+	+	—
Nitroprusydko- wa	10	+	+	+	+	+	—
Mikrobiologiczna	1	?	?	?	?	—	—
Chromatografi- czna	50	+	—	—	—	—	—
Naftochinono- sulfonowa	100	+	+	+	—	—	—
Alloksanowa	1	+	—	—	—	—	—
„305”	1	+	—	—	—	—	—
Gliksalazowa	3	+	—	—	—	—	—

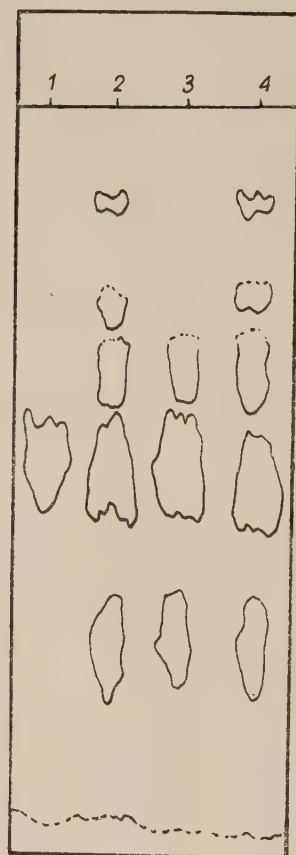
Źródłem gliksalazy był proszek acetonowy z drożdży piekarskich, który nie tracił aktywności enzymatycznej przy przechowywaniu przez kilka miesięcy w suchych naczyniach w temperaturze +4°. W czasie pracy uży-

wano czterech różnych preparatów glioksalazy, dla których odpowiednie wartości zostały podane w tabeli 2.

Metyloglioksal otrzymano wg metody C. Neuberga i wsp. (1917). Stężenie otrzymanego preparatu oznaczano wagowo i miareczkowo wg T. E. Friedemanna (1927). Miano otrzymanego metyloglioksalu zostało podane powyżej.



Ryc. 1. Chromatogram standardu glutationu i wyciągów sulfosalicylowych z *Lupinus luteus* L.: 1 — standard glutationu zredukowanego; 2 — wyciąg z całych roślin *Lupinus luteus* L. w II fazie rozwoju; 3 — wyciąg z całych roślin *Lupinus luteus* L. w II fazie rozwoju z dodanym glutationem zredukowanym



Ryc. 2. Chromatogram standardu glutationu zredukowanego i wyciągów sulfosalicylowych z *Pisum sativum* L.: 1 — standard glutationu; 2 — wyciąg z całych roślin w II fazie rozwoju; 3 — wyciąg z całych roślin w II fazie rozwoju z dodanym glutationem; 4 — wyciąg z całych roślin w II fazie rozwoju po elektroredukcji

Glutation wyizolowano z drożdży piekarskich wg A. W. Grassmanna (1936). Otrzymany preparat był krystaliczny i chromatograficznie jednorodny (ryc. 1 i 2). Roztwory standardowe glutationu zredukowanego przygotowywano codziennie. Sporządzono krzywe standardowe dla czterech preparatów glioksalazy (tabela 2).

Glutation całkowity oznaczano poddając uprzednio wyciągi z nasion i siewek elektroredukcji wg metody J. S. Dohan i G. E. Woodward (1939) w naczyniu katodowym o średnicy 2,8 cm, przy gęstości prądowej 2,6—3,0 mA/cm², w ciągu 12—15 minut. Skuteczność tej reakcji badano na standardowym roztworze glutationu utlenionego wykazując chromatograficznie glutation utleniony przed elektroredukcją i jego brak po elektroredukcji. Zaobserwowałam, że w czasie elektroredukcji istnieje niebezpieczeństwo utlenienia się glutationu zredukowanego, o ile oddziaływanie roztworu przekroczy wartość pH 3 (G. E. Woodward 1932). W tym celu sporządzałam wyciągi z badanego materiału kwasem sulfo-salicylowym o końcowym stężeniu około 3%. W czasie elektroredukcji stężenie jonów wodorowych wahało się w granicach od pH 1,5 do pH 2,4. Podobną modyfikację dla wyciągów z tkanek zwierzęcych podaje S. K. Battacharya i wsp. (1955).

Tabela 2

Krzywe standardowe glutationu, uzyskane dla czterech preparatów glioksalazy

Preparat glioksalazy	GSH μ g	0	25	50	75	100
	ml 0,005 N jodu					
1		4,26*	3,52	3,0	2,45	1,82
2		3,66	2,49	1,50	0,80	0,66
3		3,58	1,75	0,60	—	0,46
4		3,80	2,83	2,0	1,42	0,95

* Wszystkie podane wartości są średnią arytmetyczną z czterech pomiarów.

Do jakościowego wykrywania glutationu zredukowanego i utlenionego stosowano metodę zstępującej chromatografii bibułowej przez 8—10 godzin, na bibule Whatman No 4 w mieszaninie fenolu nasyconego wodą w atmosferze 1% kwasu solnego w temp. pokojowej (I. Krymsky, E. Racker 1952). Chromatogramy po wysuszeniu w temp. około 40° wywoływano 0,1% roztworem alkoholowym ninhydryny przez 10 minut w 80°.

Metody biologiczne

Do doświadczeń użyłam nasion łubinu żółtego o ziarnie białym (*Lupinus luteus*) o sile kiełkowania $96 \pm 2\%$ i nasion grochu zwykłego odmiany cukrowej (*Pisum sativum* L.) o sile kiełkowania $95 \pm 3\%$. Nasiona uzyskano z Wojewódzkiej Stacji Oceny Nasion we Wrocławiu. Doświadczenia z kulturami wodnymi i wazonowymi przeprowadzano w pomieszczeniu ze szklanym dachem. Przeznaczone do hodowli nasiona sterylizowano 0,1% wodnym roztworem chlorku rtęciowego, następnie przemywano sterylizowaną wodą destylowaną. Rośliny hodowano na świetle: w kulturach wodnych, wazonowych i polowych; w ciemności — w kulturach wodnych (etiolowane).

Kultury wodne

Kiełkowanie i wzrost roślin przeprowadzano w inkubatorach o pojemności 30 l i średnicy 36 cm w temp. $26^\circ \pm 3$. Z uwagi na to, że hodowla kultur wodnych odbywała się w miesiącu styczniu i lutym, rośliny dodatkowo oświetlano przez 5—6 godzin dziennie. Źródłem światła była 250 W żarówka, umieszczona prostopadle do powierzchni inkubatora w odległości 50 cm od roślin. Rośliny kiełkowały na wodzie destylowanej, a po trzech dniach (pierwsza lub druga faza rozwoju) część roślin przeznaczono do rozwoju w ciemności, a część na świetle. Jednakowo rozwinięte rośliny przenoszono do inkubatora z pięciokrotnie rozcieńczoną pożywką Knopa. Poszczególne rośliny umieszczano w otworach wyparafinowanej gazy, pokrywającej inkubator. Rośliny pozostawały zanurzone w pożywce po szyjkę korzeniową. W inkubatorze hodowano 20 roślin. Zależnie od stopnia rozwoju w 5 lub 6 dniu pożywkę rozcieńczoną zastępowano pełną, z dodatkiem mikroelementów wg Haasa i Reeda cyt. przez Hoaglanda (1948). pH pożywki wahało się od 6,5—6,8. Wietrzenia roślin dokonywano raz na dobę przez 10—15 minut przy pomocy wodnej pompy tłoczącej i systemu szklanych rurek z otwórkami, umieszczanych każdorazowo w pożywce.

Kultury wazonowe

Prowadzono hodowlę roślin w kulturach wazonowych w miesiącach lipcu i sierpniu na glebie ogrodowej o oddziaływaniu słabo kwaśnym (pH około 6,3) i wilgotności względnej 60%. Siewu dokonywano bezpośrednio do wazonów z glebą. Po skiełkowaniu rośliny przerywano, pozostawiając w każdym wazonie po 4 okazy. Pojemność wazonów wahała się od 1—4 l. Rośliny przeznaczone do analizy we wcześniejszej fazie (I lub II faza

rozwoju) rosły w wazonach o pojemności 1—2 l, a rośliny starsze w odpowiednio większych naczyniach. W celu wietrzenia kultur wazonowych wkładano na dno naczynia żwir i zaopatrywano je w sposób stereotypowy w rury wentylacyjne, po 3 na wazon. Optymalną wilgotność podłoża uzyskiwano przez codzienne podlewanie roślin do stałej wagi.

Kultury polowe

Rośliny hodowano w kulturach polowych w czerwcu i lipcu. Nasiona wysiewano na poletkach o wymiarach $1 \times 1,5$ m na glebie ogrodowej o pH 6,5. Rozstawa roślin w rzędach wynosiła około 5 cm, a rozstawa rzędów około 20 cm. Wegetacja trwała 3 tygodnie.

Sporządzanie wyciągów

Wyciągi sporządzano z nasion, siewek i z liścieni. W tym celu nasiona pozbawiano okrywy nasiennej, mielono w młynku nożowym, a następnie kulowym na jednorodny proszek. Siewki przepłukiwano wodą destylowaną i osuszano strumieniem powietrza. Tak przygotowany materiał w ilości od 0,5—1 g proszku z nasion lub 4—6 sztuk siewek lub liścieni ucierano przez około 7 minut w moździerzu porcelanowym z 5 ml 4% roztworu kwasu sulfosalicylowego. Wyciągi odwirowywano przy 3000 obrotów/min. Pozostałość przemywano dwukrotnie 5 ml 4—6% kwasu sulfosalicylowego. Postępowanie to było wystarczające dla całkowitego wymycia glutationu. Płyny po odwirowaniu łączono i oznaczano w nich natychmiast glutation zredukowany i całkowity. Próbowano również sporządzać wyciągi przy użyciu 6, 10, 15% kwasu metafosforowego lub sulfosalicylowego przez uprzednie zamrożenie materiału stałym dwutlenkiem węgla. Postępowanie to nie dało lepszych rezultatów.

Fazy rozwoju badanych roślin

Zaobserwowane zmiany poziomu glutationu w czasie rozwoju siewek *Pisum sativum* i *Lupinus luteus* odnosiłam nie do dnia, lecz do określonej fazy rozwojowej. W okresie wegetacyjnym wyróżniono następujące fazy rozwojowe (patrz tab. 3).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Odpowiednio ułożone kontrole przy oznaczaniu glutationu zredukowanego metodą glioksalazową w badanych wyciągach pozwoliły wykluczyć możliwość rozkładania dodanego metyloglioksalu lub glutationu, jak również hamowania reakcji glioksalazowej. Skład prób kontrolnych podano w tabeli 4. W pierwszym przypadku, oznaczając miano metyloglioksalu wobec wyciągów z nasion i siewek bez enzymu otrzymano rezultaty zgodne

z mianem czystego metyloglioksalu. Również fakt odzyskania glutationu dodanego do wyciągów z nasion i siewek pozwala przypuszczać, że wyciągi sulfosalicylowe nie miały zdolności rozkładania glutationu ani hamowania reakcji glioksalazowej. Wyniki próby kontrolnej, zawierającej znaną ilość dodanego glutationu leżą w granicach błędu metody i zostały podane w tabeli 5.

Tabela 3

Faza	<i>Lupinus luteus</i>	<i>Pisum sativum</i> L.
0	Suche, nie wykiełkowane nasiona lub zarodki.	Suche, nie wykiełkowane nasiona lub zarodki.
I	Częściowe zazielenienie się liścieni, pęknięcie okrywy nasiennej. 4 lub 5 dzień kiełkowania w kulturach wazonowych i polowych; 3 dzień w kulturach wodnych.	Pojawienie się pierwszych stulonych, zielonych liści. Liścienie twarde i żółte
II	Całkowite zazielenienie się liścieni, uformowanie się dwóch pierwszych stulonych liści. 7 dzień kiełkowania w kulturach polowych i wazonowych; 5 w kulturach wodnych.	2 lub 3 dzień kiełkowania we wszystkich kulturach.
III	Liścienie zielone asymilujące, utworzenie się trzeciego liścia. 9 lub 10 dzień kiełkowania w kulturach wazonowych i polowych, 6 lub 7 w kulturach wodnych.	Rozchylone zielone liście; liścienie twarde. 4 lub 5 dzień kiełkowania.
IV	Formowanie się piątego liścia. 12 lub 13 dzień kiełkowania w kulturach wazonowych i polowych; 9 w kulturach wodnych.	Cztery odgałęzienia w części nadziemnej. 6 lub 7 dzień kiełkowania.
V	Pojawienie się pierwszych brodawek korzeniowych. Liścienie miękną. 18 lub 19 dzień kiełkowania w kulturach polowych i wazonowych.	Tworzenie się zawiązków wąsów. 10 lub 12 dzień kiełkowania.
VI		Liścienie miękną. 12 lub 13 dzień kiełkowania.
		Liścienie miękną i kurczą się. Roślina dobrze wykształcona. 18 lub 19 dzień kiełkowania.

Obecność glutationu w wyciągach z siewek wykazałam metodą chromatografii bibułowej. Ryc. 1 i 2 przedstawiają dwa przykłady chromatogramów z wyciągów 7-dniowych siewek *Lupinus luteus* i 6-dniowych siewek *Pisum sativum* L. Na chromatogramach stwierdzono obecność glutationu w samych wyciągach i w wyciągach z dodanym glutationem zredukowanym zgodnie z położeniem plam glutationu standardowego.

Tabela 4

Skład prób kontrolnych przy oznaczaniu glutationu całkowitego i zredukowanego

Składniki	Skład próby kontrolnej na:			
	1 metyloglio- ksal	2 proszek acetonowy z drożdży	3 wyciągi z roślin	4 wyciągi z roślin z dodanym glutationem
0,5 ml metyloglioksalu	+	+	+	+
0,5 ml proszku acetonowego (glioksa- laza) w M/15 moderatorze fosforano- wym o pH 7,2	—	+	—	+
0,5 ml M/15 moderatora fosforano- wego o pH 7,2	+	—	+	—
1 ml zobojętnionego wyciągu sulfosa- licylowego z roślin	—	—	+	—
1 ml zobojętnionego 40/0 kwasu sulfo- salicylowego	+	+	—	—
0,75 ml zobojętnionego wyciągu sulfo- salicylowego z roślin	—	—	—	—
0,25 ml 0,20/0 standardu glutationu	—	—	—	—

Oznaczenie zmian w poziomie glutationu całkowitego i zredukowanego wykonano na dwóch roślinach motylkowych — *Lupinus luteus* i *Pisum sativum* L. Różnica w składzie ilościowym materiałów zapasowych liścieni tych dwóch roślin polega na tym, że w liścieniach łubinu materiałem zapasowym jest głównie białko, a w grochu — węglowodany. Istotną różnicą wczesnej fazy rozwojowej tych roślin jest funkcja fizjologiczna liścieni.

Tabela 5

Odzyskiwanie dodanego glutationu do wyciągów z badanych roślin

Wyciągi	Glutation całkowity w $\mu\text{g}/0,75$ ml wyciągu		0/0 glutationu odzyskanego
	bez dodanego GSH	z dodanym GSH—25 μg	
<i>Lupinus luteus</i> — całe nasiona—faza 0	27,0	53,8	105
<i>Lupinus luteus</i> —całe rośliny—faza IV	24,0	47,5	94
<i>Lupinus luteus</i> —całe rośliny—faza V	11,3	36,0	99
<i>Lupinus lateus</i> —same liścienie—faza V	20,0	43,8	95
<i>Pisum sativum</i> L —całe rośliny—faza V	33,8	60,0	105
<i>Pisum sativum</i> L —całe rośliny—faza VI	27,8	47,5	94,8

Liścienie łubinu we wczesnym okresie rozwoju pełnią rolę pierwszych asymilujących liści i są równocześnie źródłem materiału zapasowego; liścienie grochu pełnią tylko tę ostatnią funkcję.

Tabela 6

Poziom glutationu zredukowanego i całkowitego
Analiza całych roślin z kultur polowych i wazonowych

Faza rozwoju	<i>Lupinus luteus</i>			<i>Pisum sativum</i> L.		
	Dzień hodowli	Glutation całkowity $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation zredukowany $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Dzień hodowli	Glutation całkowity $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation zredukowany $\mu\text{g/g}$ suchej masy
0	0	$700 \pm 52,0$	$700 \pm 52,0$	0	$1585 \pm 23,4$	$1585 \pm 23,4$
I	5	$822 \pm 41,6$	$822 \pm 41,6$	3	$1180 \pm 10,4$	$1180 \pm 10,4$
II	7	$1428 \pm 62,4$	$1075 \pm 122,2$	5	$1119 \pm 24,7$	$1119 \pm 24,7$
III	10	$1095 \pm 85,8$	$813 \pm 96,2$	7	$870 \pm 24,7$	$791 \pm 41,6$
IV	13	$699 \pm 44,2$	$429 \pm 46,8$	10	$945 \pm 35,1$	$945 \pm 35,1$
V	18	$183 \pm 23,4$	$183 \pm 23,4$	13	$929 \pm 23,4$	$730 \pm 27,3$
VI	—	—	—	18	$813 \pm 33,8$	$813 \pm 33,8$

Wartości glutationu całkowitego i zredukowanego wyznaczono, podając przedział ufności wg metody statystycznej (A. Rokosz 1955) przy prawdopodobieństwie $P_1=0,95$; $n=3$.

W celu uchwycenia morfologicznej lokalizacji przypuszczalnych zmian w poziomie glutationu, spowodowanych odmienną funkcją fizjologiczną liści, przeprowadzono oddzielnie analizę całych roślin, samych liści i siewek pozbawionych liści. Wyniki analiz całych roślin hodowanych w kulturach polowych i wazonowych zebrano w tabeli 6. Poziomem wyjściowym jest ilość glutationu zredukowanego znajdująca się w suchych nasionach (faza 0). W suchym nasieniu grochu jest około 2 razy wyższy poziom glutationu zredukowanego niż w nasionach łubinu. Glutation w suchych nasionach występuje tylko w formie zredukowanej, natomiast

Tabela 7

Poziom glutationu zredukowanego i całkowitego
Analiza liści z roślin kultur wazonowych

Faza rozwoju	<i>Lupinus luteus</i>			<i>Pisum sativum</i> L.		
	Dzień hodowli	Glutation całkowity $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation zredukowany $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Dzień hodowli	Glutation całkowity $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation zredukowany $\mu\text{g/g}$ suchej masy
0	0	$700 \pm 52,0$	$700 \pm 52,0$	0	$1585 \pm 23,4$	$1585 \pm 23,4$
I	5	$801 \pm 24,3$	$751 \pm 22,1$		—	—
II	7	$1263 \pm 42,9$	$1091 \pm 22,1$		—	—
III	10	$855 \pm 7,8$	$794 \pm 14,3$	6	$480 \pm 0,0$	$480 \pm 0,0$
IV		—	—	10	$740 \pm 24,7$	$622 \pm 28,6$
V	18	$250 \pm 26,0$	$250 \pm 26,0$	13	$613 \pm 35,1$	$465 \pm 27,3$
VI		—	—	18	$659 \pm 28,6$	$659 \pm 28,6$

Wartości glutationu całkowitego, i zredukowanego wyznaczono, podając przedział ufności wg metody statystycznej (A. Rokosz 1955) przy prawdopodobieństwie $P_1=0,95$; $n=3$.

Tabela 8

Poziom glutationu zredukowanego i całkowitego

Analiza roślin bez liścieni z kultur wazonowych

Faza rozwoju	Dzień hodowli	<i>Pisum sativum</i> L.		Dzień hodowli	<i>Lupinus luteus</i>	
		Glutation zredukowany $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation całkowity $\mu\text{g/g}$ suchej masy		Glutation całkowity $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation zredukowany $\mu\text{g/g}$ suchej masy
0	0	$556 \pm 17,25$	$556 \pm 17,25$	—	—	—
I	—	—	—	5	1058	1058
II	—	—	—	7	1368	1217
III	6	$1417 \pm 37,7$	$1101 \pm 27,3$	—	—	—
IV	—	—	—	13	835	835
V	13	$1013 \pm 33,8$	$823 \pm 45,5$	18	453	453
VI	18	$923 \pm 33,8$	$808 \pm 27,3$	—	—	—

Wartości glutationu całkowitego i zredukowanego dla *Pisum sativum* L. wyznaczono na podstawie 3 pomiarów ($n=3$) przy prawdopodobieństwie $P_1=0,95$, podając przedział ufności wg metody statystycznej (A. Rokosz 1955).

Wartości glutationu całkowitego i zredukowanego dla *Lupinus luteus* pochodzą z jednego doświadczenia.

w przechowywanym suchym proszku z nasion można wykryć zmienne ilości glutationu utlenionego, dochodzące do 6% glutationu zredukowanego. W łubinie żółtym poziom glutationu całkowitego gwałtownie wzrasta i osiąga dwukrotnie wyższy poziom w II fazie rozwojowej. W IV fazie poziom glutationu spada do ilości wyjściowej, a w V stanowi już tylko 26% glutationu suchego nasienia. Glutation utleniony pojawia się w II fazie

Tabela 9

Poziom glutationu zredukowanego i całkowitego

Analiza całych roślin z kultur wodnych, hodowanych na świetle i w ciemności

Faza rozwoju	<i>Lupinus luteus</i>				<i>Pisum sativum</i>	
	Dzień hodowli	Na świetle	W ciemności		Dzień hodowli	W ciemności
		Glutation zredukowany* $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation całkowity $\mu\text{g/g}$ suchej masy	Glutation zredukowany $\mu\text{g/g}$ suchej masy		Glutation zredukowany* $\mu\text{g/g}$ suchej masy
0	0	$700 \pm 52,0$	$700 \pm 52,0$	$700 \pm 52,0$	0	$1585 \pm 23,4$
I	2	$1340 \pm 52,0$	—	—	—	—
II	5	$1515 \pm 65,0$	$1420 \pm 52,0$	$1420 \pm 52,0$	3	$1012 \pm 31,2$
III	6—7	$825 \pm 39,0$	$990 \pm 26,0$	$990 \pm 26,0$	6	$827 \pm 26,0$
IV	9	$765 \pm 39,0$	$705 \pm 39,0$	$512 \pm 20,8$	10	$768 \pm 19,5$

* Glutation całkowity w podanych doświadczeniach odpowiadał poziomowi glutationu zredukowanego. Wartości glutationu całkowitego i zredukowanego wyznaczono na podstawie 3 pomiarów ($n=3$) przy prawdopodobieństwie $P_1=0,95$ podając przedział ufności wg metody statystycznej (A. Rokosz 1955).

rozwoju i znika w V fazie. Jego poziom średnio wynosi 20% glutationu całkowitego. W grochu zwykłym, odmianie cukrowej glutation całkowity spada znacznie w I fazie rozwojowej, a w następnych od II—V utrzymuje się na poziomie, stanowiącym około 60% poziomu wyjściowego. Obecność glutationu utlenionego stwierdzono w III i V fazie rozwojowej.

Jak widać z tabeli 6 w miarę rozwoju zaobserwowano odmienne zachowanie się glutationu w dwóch badanych roślinach motylkowych.

Zmiany poziomu glutationu w samych liściach roślin przedstawia tabela 7. Glutation całkowity i zredukowany tak w liściach łubinu, jak i grochu zachowuje się podobnie, jak w odpowiadających liściom całych roślinach. Niewielkie różnice nie są związane z charakterem zmian, lecz raczej z bezwzględną ilością glutationu przeliczanego na gram suchej masy.

W tabeli 8 zebrano wyniki analiz przeprowadzonych na roślinach pozabawionych liści. Poziomem wyjściowym było stężenie glutationu zawartego w suchym zarodku. W obu roślinach w II i III fazie rozwojowej zaobserwowano wzrost zawartości glutationu całkowitego i zredukowanego w stosunku do ilości glutationu w suchym zarodku. W III fazie rozwojowej grochu obserwuje się 2-krotny spadek ilości glutationu, który jest wyraźniej widoczny w samych liściach (tabela 7). Różnica ta w całej roślinie jest kompensowana przez znaczny przyrost glutationu w samym kielku (tabela 8). Ponieważ w tym okresie suchą masę rośliny stanowi głównie materiał zapasowy liści, więc charakter zmian glutationu w całej roślinie po przeliczeniu na gram suchej masy jest wyrazem zmian odbywających się w liściach.

Zachowanie się glutationu całkowitego i zredukowanego w kolejnych fazach rozwojowych siewek grochu bez liści jest diametralnie różne od zmian przebiegających w tym samym czasie w całej roślinie (tabela 6), natomiast charakterem swym jest zbliżone do zmian, przebiegających w całej roślinie łubinu.

Dla zaobserwowania, w jakim stopniu zmiany w poziomie glutationu całkowitego i zredukowanego zależą od rodzaju hodowli (czynniki zewnętrzne), przeprowadzono hodowlę roślin w kulturach wodnych, kierując się tym, że warunki fizjologiczne rozwoju zostają zachowane dzięki materiałom zapasowym liści i pożywce, którą dodawano w późniejszych fazach rozwojowych.

Rozwój roślin hodowanych w kulturach wodnych na świetle i w ciemności jest intensywniejszy, szczególnie w I i II fazie i trwa krócej, niż w kulturach polowych i wazonowych. Obserwowane zmiany w zachowaniu się glutationu są w swym charakterze podobne do zmian, przebiegających w roślinach hodowanych w kulturach polowych i wazonowych. W II fazie

rozwijowej *Lupinus luteus* glutation całkowity wzrasta dwukrotnie, a w następnych maleje. U grochu natomiast w III fazie rozwojowej poziom glutationu obniża się dwukrotnie i pozostaje bez zmian w badanym okresie wegetacyjnym. Glutation utleniony stwierdzono tylko w roślinach etilowanych łubinu żółtego.

DYSKUSJA

Jak wspomniano na wstępie, badania dotyczące związku pomiędzy poziomem glutationu a wczesnym rozwojem roślin wyższych są dość skąpe i trudne do interpretacji. Cytowani autorzy nie precyzowali dokładnie, co oznacza „wczesny okres kiełkowania“, podając najczęściej dzień kiełkowania. Znany jest fakt, że dzień kiełkowania nie pokrywa się ze stopniem rozwoju siewek. Łatwiej jest uzyskać warunki standardowe, jeżeli analizuje się roślinę w określonej fazie rozwojowej, uchwytnej wizualnie dzięki zmianom morfologicznym, niż w kolejnym dniu kiełkowania, zależnym od warunków zewnętrznych, takich jak temperatura, wilgotność, nasłonecznienie itp. Dlatego wydawało mi się bardziej słuszne analizowanie rośliny w określonych fazach rozwojowych.

W interpretacji wyników należy wziąć pod uwagę fakt, że poziom glutationu oznaczony w całej siewce może maskować zmianę zachodzącą w samym kiełku. Wartości glutationu są przeliczane na gram suchej masy. Suchą masę nasienia w I i II fazie rozwoju rośliny stanowi głównie materiał zapasowy liścienia, ponieważ zarodek jest 1/100 całości nasienia. Jeżeli więc odbywające się zmiany w zawartości glutationu w liścieniach i samych zarodkach posiadałyby ten sam charakter, to analizując oddzielnie poszczególne części rośliny, różnice te w przypadku zarodka wpływałyby tylko na bezwzględną ilość glutationu. Natomiast w wypadku, gdy zmiany te są diametralnie różne, a ilość glutationu w samym kiełku mała, to zmiana odbywająca się w rosnącym kiełku byłaby zamaskowana przez zmianę, przebiegającą w liścieniach. Przypuszczenia te potwierdziłam badaniami nad całą rośliną grochu, łubinu żółtego i samymi liścieniami tych roślin. Fakty te również zaobserwowane zostały przez M. J. Prioskuriakowa i J. M. Mosołową (1952) na roślinach grochu cukrowego.

Innym zagadnieniem jest obecność glutationu utlenionego w suchych nasionach. S. P. Spragg i E. W. Yemm (1954) wykazali obecność utlenionej formy glutationu w nasionach grochu. Ja natomiast stwierdziłam, że jeżeli glutation był oznaczany w sproszkowanych nasionach obu roślin natychmiast po zmieleniu, to w wyciągach nie wykazywano obecności glutationu utlenionego. Jeżeli natomiast proszek z suchych nasion był przechowywany przez kilkanaście dni lub dłużej w temperaturze po-

kojowej lub w 4°, to można było w nim zawsze wykryć zmienne ilości glutationu utlenionego. Poza tym wykazałam pojawianie się formy utlenionej glutationu już w II fazie rozwojowej łubinu żółtego. Poziom utlenionego glutationu stanowi średnio 20% glutationu zredukowanego. Obecność glutationu utlenionego można było wykazać i w następnych fazach zarówno w całej roślinie, jak i w samych liściach. W grochu glutation utleniony był obecny w III i V fazie rozwojowej. Nieobecność utlenionego glutationu we wczesnym okresie rozwoju rośliny można wytłumaczyć działaniem reduktazy glutationowej. Równowaga reakcji chemicznej, którą prowadzi ten enzym, jest znacznie przesunięta na stronę powstawania glutationu zredukowanego, szczególnie w warunkach anaerobowych (Kohmann cyt. wg L. Mapson i wsp. 1951). Przypuszcza się, że warunki anaerobowe panują w czasie kiełkowania nasion do momentu pęknięcia okrywy nasiennej (S. P. Spragg i E. W. Yemm 1954). Występowanie glutationu w następnych fazach rozwojowych może być spowodowane przede wszystkim zmianą warunków anaerobowych na aerobowe. Być może w miarę rozwoju roślin zaczynają działać inne układy oksydo-redukcyjne, w których forma utleniona i zredukowana glutationu stanowią jedno z ogniw końcowego systemu utleniania tkankowego. Autorzy, zajmujący się dynamiką glutationu w czasie rozwoju grochu i ziemniaka, nie tłumaczyli mechanizmu powstawania glutationu w roślinach. Mechanizm ten został wyjaśniony przez G. C. Webstera (G. C. Webster 1953, G. C. Webster i wsp. 1954, 1955).

Należałoby się jeszcze zastanowić, czy oznaczane wartości glutationu nie pochodzą od innych substancji zastępujących glutation zredukowany w stosowanej przez mnie reakcji glioksalazowej. Wiadomo jest, że izoglutation i aspartion mogą zastępować glutation w reakcji glioksalazowej. Związki te zostały otrzymane syntetycznie przez G. L. Millera i wsp. (1941) i ich wpływ na reakcję glioksalazową stwierdzono tylko *in vitro* (O. K. Behrens 1941, T. H. Wieland i wsp. 1956). Związków tych nie stwierdzono w materiale biologicznym.

STRESZCZENIE

Oznaczano glutation całkowity i zredukowany w suchych nasionach, w całych roślinach i w samych liściach we wczesnych fazach rozwoju *Lupinus luteus* L. i *Pisum sativum* L.

1. Zawartość glutationu zredukowanego po przeliczeniu na gram suchej masy nasion dla *Lupinus luteus* L. wynosi $700 \mu\text{g} \pm 52$, a dla *Pisum sativum* L. $1585 \mu\text{g} \pm 23$.

2. W proszku ze zmielonych nasion obu roślin nie wykazano glutationu utlenionego.

3. W I fazie rozwojowej grochu hodowanego w kulturach wodnych, polowych i wazonowych poziom glutationu spada do wartości stanowiącej 54% ilości glutationu zawartego w suchym nasieniu. W następnych fazach rozwojowych od II—VI ilość glutationu całkowitego waha się od 813—945 μg na gram suchej masy, co stanowi średnio 55% ilości wyjściowej.

4. Zawartość glutationu całkowitego w I fazie rozwoju łubinu żółtego zarówno w całych roślinach, jak i kielkach oraz liścieniach wzrasta stopniowo, a w II fazie osiąga maksimum, które jest około dwukrotnie wyższe od poziomu glutationu w nasionach. W następnych fazach rozwojowych od III—V ilość glutationu maleje do wartości 26% poziomu wyjściowego.

5. Zawartość glutationu w siewkach grochu pozbawionych liścieni wzrasta trzykrotnie w III fazie rozwojowej w stosunku do wartości znajdującej się w suchym zarodku. W następnych fazach poziom glutationu spada poniżej wartości wyjściowej.

6. Poziom glutationu w liścieniach łubinu żółtego, pełniących we wczesnym okresie rozwoju funkcję pierwszych liści asymilujących wzrasta gwałtownie w II fazie rozwoju, a następnie spada poniżej wartości wyjściowej; natomiast ilość glutationu w samych liścieniach grochu obniża się sukcesywnie w miarę rozwoju roślin.

7. Zmiany w poziomie glutationu w obydwu roślinach mają charakter podobny do zmian odbywających się w ich liścieniach.

Panu profesorowi dr T. Baranowskiemu dziękuję za cenne rady i życzliwe zainteresowanie w czasie wykonywania tej pracy.

Pani docent dr W. Mejbaum-Katzenellenbogen dziękuję za krytyczne uwagi w czasie pisania pracy.

Zakład Chemii Fizjologicznej
Akademii Medycznej we Wrocławiu

(Wpłynęło dn. 26.4.1959 r.)

SUMMARY

The total and reduced glutathione of *Lupinus luteus* and *Pisum sativum* L. in dry seeds, whole plants and in the primary leaves at the early stages of development, have been determined.

1. The reduced glutathione content per gram of the dry mass of seeds was found to be $700 \mu\text{g} \pm 52$ for *Lupinus luteus* and $1585 \mu\text{g} \pm 23$ for *Pisum sativum* L.

2. No oxidized glutathione was found in the powder of grounded seeds of both plants.

3. In the 1-st development stage of pea in water, field and pot-cultures, the glutathione level decreased to 54% of that in the dry seeds.

In the next development stages (II—VI) the total glutathione level varied from 813 to 945 μg per gram of dry mass and it was about 55% of the initial value.

4. The total glutathione content of the yellow lupine in the whole plant, germs and primary leaves in the I-st stage of development was increasing gradually and reached in the II-nd stage its maximum, being about twice higher than the glutathione content of the seeds. In the next stages (III—V) the glutathione content was found to be only 26% of the initial value.

5. The glutathione content in the pea seedlings, deprived of its primary leaves in comparison with that of the dry germ (embryo) increased three times in the III-rd development stage. In the next stages, the content decreased below its initial value.

6. In the primary leaves of yellow lupine acting as the first assimilating leaves in the early development stages, the glutathione level increased rapidly in the II developmental stage and subsequently decreased below the initial value; the glutathione value however in the primary leaves alone, was found to be decreased simultaneously with the plant development.

7. In the both plants the changes in the glutathione level are similar in character to the changes, taking place in their primary leaves.

*Dept of Physiological Chemistry
Medical Academy, Wrocław*

LITERATURA

- Barron E. S. G., 1951, *Advances in Enzymology* 11: 248—260.
Behrens O. K., 1941, *J. Biol. Chem.* 141: 503—508.
Bertho A., Grassmann A. W., 1936, *Biochemisches Praktikum*, Berlin und Leipzig.
Bhattacharya S. K., Robson J. S., Stewart C. P., 1955, *Biochem. J.* 60: 696—702.
Binkley F., Olson C., 1951, *J. Biol. Chem.* 188: 451.
Bricas E., Fromageot C., 1953, *Advances in Protein Chemistry* 8: 20—23.
Dohan J. S., Woodward G. E., 1939, *J. Biol. Chem.* 129: 393—401.
Friedemann T. E., 1927, *J. Biol. Chem.* 73: 331—334.
Glick D., 1955, *Methods of Biochemical Analysis*, Interscience Publishers New York, II: 259—278.
Grassmann W., Heyde W., 1932, *Z. Physiol. Chem.* 189: 69—90.
Heppel L. A., Hilmo R. J., 1950, *J. Biol. Chem.* 183: 129—138.
Hopkins F. G., 1921, *Biochem. J.* 15: 286.
Hopkins F. G., Morgan E. J., 1943, *Nature*, 152, 288.
Hopkins F. G., Morgan E. J., 1945, *Biochem. J.* 39: 320—324.
Krimsky I., Racker E., 1952, *J. Biol. Chem.* 198: 721.
Kohmann cyt. wg Mapson L. W., Goddard D. R., 1951, *Biochem. J.* 49: 592.
Lawrance J. M., 1950, *Arch. Biochem.* 27: 1—5.

- Miller G. L., Behrens O. K. du Vigneaud V., 1941, J. Biol. Chem. 140: 411—416.
- Neuberg C., 1913, Biochem. Z. 49: 502—506.
- Neuberg C., Faerber E., Levite A., Schwenk E., 1917, Biochem. Z. 83: 244—268.
- Proskuriakow N. I., Mosołowa I. M., 1952, Dokł. AN ZSRR 87: 465—468.
- Racker E., 1954, Glutathione as a Coenzyme in Intermediary Metabolism, New York.
- Rokosz A., 1955, Wiad. Chem. 12: 635—641.
- Schroeder E. F., Woodward G. E., 1939, J. Biol. Chem. 129: 283—296.
- Spragg S. P., Yemm E. W., 1954, Biochem. J. 58: xi—xii.
- Strittmatter Ph., Ball E. G., 1955, J. Biol. Chem. 213: 445—461.
- Webster G. C., 1953, Plant Physiol. 28: 729.
- Webster G. C., Varner J. E., 1954 Arch. Biochem. Bioph. 52: 22—32.
- Webster G. C., Varner J. E., 1955, Arch. Biochem. Bioph. 55: 95—103.
- Wieland Th., Pfeleiderer G., Lau H. H., 1956, Biochem. Z. 327: 393—406.
- Woodward G. E., Fry E. G., 1932, J. Biol. Chem. 97: 465—482.

Próba zastosowania żelazicyjanku jako stymulatora w uprawie rącznika

*An attempt of using ferricyanide as stimulator in the cultivation of the
castor bean*

W. BRZESKI i J. REIFER

Stymulacja wzrostu i rozwoju roślin jest dotychczas jednym ze spornych zagadnień, podczas gdy praktyka rolnicza od dawna już stosuje różne substancje organiczne i nieorganiczne jako bodźce chemiczne (Czapek 1913).

W uprawie rącznika w Polsce podejmowano nieliczne próby przyspieszenia dojrzewania tej rośliny w celu zwiększenia plonu. Deryng (1939) badał wpływ przedsiewnego moczenia nasion, ale nie znalazł istotnych różnic ani w szybkości wschodzenia roślin, ani w ich plonowaniu. Próby auksynowania nasion nie dały również pomyślnych wyników (Jabłonowski 1953). Badając wpływ podlewania rącznika różnymi wyciągami w ciągu całego okresu wegetacyjnego, Kostecka-Mądałska (1954) obserwowała przyspieszone dojrzewanie w obecności wyciągów z liści pokrzyki-wilczej jagody i z próchnicy.

W 1952 roku Zakład Biochemii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie rozpoczął próby stymulacji rozwoju roślin za pomocą żelazicyjanku potasowego. Możliwość pobudzania metabolizmu w tych warunkach opiera się na wykazanym doświadczalnie wpływie kompleksowych jonów żelaza na potencjał oksydacyjno-redukcyjny żywej tkanki (Rummeni 1954); ponadto znane jest aktywujące działanie jonu żelazicyjankowego na niektóre enzymy (Sugai 1944, Farber i Wynne 1935, Maschmann i Helmert 1935).

Pierwszy komunikat Reifera (1953) o pomyślnych wynikach bodźcowania dotyczył wstępnych doświadczeń z podlewaniem pomidorów roztworem żelazicyjanku o różnych stężeniach i donosił o przyrostach około 50% i 70% plonu. Przy współpracy innych zakładów i placówek nauko-

wych prowadzono w ciągu kilku następnych lat doświadczenia wazonowe i polowe z różnymi roślinami. W niektórych z nich obserwowano zmiany zawartości azotu, cukrów i innych podstawowych składników, ale uzyskiwane wyniki nie były jednoznaczne i nie zostały dotychczas opublikowane. W dwuletnich badaniach nad wpływem żelazicyjanku w uprawie białunia wykazano przyrost plonu liści i wzrost zawartości alkaloidów w liściach i nasionach (Reifer, Rumińska i Kączkowski 1955, 1956); nie opublikowane dane z trzeciego roku doświadczeń nie wykazały natomiast różnic w zawartości alkaloidów z wyjątkiem jednego zbioru młodych liści.

W niniejszej pracy są przedstawione wyniki badań nad rącznikiem, w których w ciągu trzech okresów wegetacyjnych stosowano przedsięwzięte traktowanie nasion i podlewanie roślin roztworem żelazicyjanku w uprawie polowej oraz analizowano wpływ tych zabiegów na niektóre cechy nasion zbieranych w stanie pełnej dojrzałości.

MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny

Materiałem doświadczalnym były dojrzałe nasiona rącznika (*Ricinus communis* L., odmiana puławska) pochodzące z uprawy polowej w latach 1953, 1954 i 1955.

Sposób stosowania roztworu żelazicyjanku. Żelazicyjanek potasowy stosowano w postaci 0,25-procentowego roztworu, dokonując wyboru stężenia w oparciu o wcześniejsze badania (Reifer 1953). Przedsięwzięte traktowanie nasion polegało na moczeniu ich w tym roztworze w ciągu 48 godzin poprzedzających siew; przy traktowaniu w glebie stosowano dawkę 25 ml roztworu pod roślinę, po rozwinięciu się pierwszych liści, lub dwie dawki — w tym drugą w tydzień po pierwszej. Nasiona kontrolne traktowano wodą.

6 kombinacji polowych obejmowało rośliny kontrolne (symbol 0/0) i 5 wariantów traktowania żelazicyjankiem, tj. z jednorazowym i dwukrotnym traktowaniem w glebie (symbole 0/ż i 0/żż) oraz ich odpowiedniki uprzednio traktowane przedsięwzięcie (symbole ż/0, ż/ż i ż/żż).

W 1953 roku wykonano wstępne doświadczenie orientacyjne; w 1954 roku każda kombinacja obejmowała 4 powtórzenia, w 1955 roku — 5 powtórzeń.

Warunki uprawy i zbioru. Uprawę prowadzono na polkach doświadczalnych Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, na glebie typu bielicy pyłowej. Stosowano nawożenie solą potasową (150 kg/ha) i superfosfatem (300 kg/ha przedsięwzięcie i 180 kg/ha półgłów-

nie). Po wzejściu roślin, spulchniano glebę i usuwano chwasty w miarę potrzeby. Rozstawa roślin wynosiła 75×75 cm.

Daty siewu i liczby roślin były następujące w poszczególnych okresach wegetacyjnych: 28.V.1953 — 67 roślin, 3.V.1954 — 208 roślin, 2.V.1955 — 257 roślin.

Zbioru dokonywano wielokrotnie w miarę dojrzewania nasion (wrzesień — październik). Powietrznie suche nasiona przechowywano oddzielnie dla każdego grona, powtórzenia i kombinacji.

Metody analityczne

Próby laboratoryjne pobierano przez podział każdego zbioru nasion. Do oznaczania suchej masy bezpośrednią metodą suszenia stosowano oddzielne próby, po czym materiał odrzucano. W innych próbach oznaczano natomiast tłuszcz surowy, a uzyskany olej i odtłuszczoną mączkę wykorzystywano do pozostałych analiz.

Oznaczanie tłuszczu surowego. Stosowano metodę ekstrakcyjną Soxhleta (Meara 1955) przy użyciu eteru dwuetylowego, który odwadniano sodem metalicznym i destylowano. Dla prób po około 10 g nasion wymagany czas ekstrakcji wynosił 8 godzin.

Oznaczanie aktywności lipazy. Stosowano metodę Willstättera i Waldschmidt-Leitza (1924) z modyfikacją dla wielkości prób po 100 mg odtłuszczonej mączki oraz dla temperatury 30° i czasu działania enzymu 6 godzin.

Oznaczanie liczb tłuszczowych. Za pomocą metod alkacymetrycznych (Meara 1955) oznaczano liczbę zmydlenia w próbach po 1,2 g oleju i liczbę kwasową w próbach po 3 g oleju. Do oznaczania liczby jodowej stosowano półmikrometodę Margoschesa i Neufelda (1926) analizując próby po 100 mg oleju.

Oznaczanie azotu ogólnego i rozpuszczalnego. Ogólną zawartość azotu oznaczano w próbach po 20 mg odtłuszczonej mączki za pomocą mikrometody jodometrycznej Reifera i Tarnowskiej (1950). Metodę tę stosowano również do oznaczania azotu rozpuszczalnego w próbach po 100 mg mączki, którą uprzednio ekstrahowano za pomocą wrzącej wody i strącano białka wodorotlenkiem kadmowym (Fujita i Iwatake 1931).

Metody statystyczne

Do oceniania wpływu żelazicyjanku w prównywanych kombinacjach stosowano metody statystyczne. W analizie wyników po zakończeniu badań pominięto jednak wpływ różnych lat i gleby, gdyż różna i mała liczeb-

ność roślin uniemożliwiała zastosowanie pełnej klasyfikacji agrotechnicznej. Dane z trzech lat oceniono łącznie, przeprowadzając klasyfikację metodą serii równoległych analiz.

WYNIKI

Obserwacja rozwoju i plonowania

Przy wstępnych próbach kiełkowania nasion na podłożu z żelazicyjankiem znajdowano ich energię kiełkowania początkowo niższą w porównaniu z kontrolnymi nasionami, ale następnie różnica ta ulegała wyrównaniu. Podobne opóźnienie wschodów roślin z nasion „żelazicyjankowych” obserwowano również w warunkach polowych; wartości „energii wschodzenia” z uprawy w 1954 roku są zestawione w tabeli 1.

Tabela 1
„Energia wschodzenia” rącznika w uprawie polowej 1954
(średnia temperatura powietrza 14°)

Wysiane nasiona	Wschody (0/0) po upływie dni od siewu					
	21	22	23	24	25	26
kontrolne	12	27	44	64	73	82
ż*	6	17	47	68	77	87

* Przedsięwzięcie traktowane żelazicyjankiem.

Obserwacja przebiegu dojrzewania nasion w różnych kombinacjach wstępnej uprawy w 1953 roku nasuwała przypuszczenie o możliwym wpływie żelazicyjanku na szybkość dojrzewania i wielkość zbioru. Wprawdzie początek dojrzewania był niemal jednoczesny (w granicach 5 dni), ale z widoczną niższą wydajnością dojrziałych nasion z kombinacji nie traktowanych w glebie (symbole 0/0 i ż/0) w porównaniu z roślinami traktowanymi; najszybciej dojrzewała kombinacja ż/ż.

W celu wstępnego ocenienia tych obserwacji przeprowadzono analizę zmienności zbiorów nasion w porównywanych kombinacjach, przyjmując dane dla poszczególnych roślin. Analiza wykazała istotne ich zróżnicowanie, ale wyniki te należało przyjąć z zastrzeżeniem ze względu na charakter doświadczenia uniemożliwiający pełną klasyfikację.

W istocie, po dokonaniu łącznej oceny wyników zbiorów z lat 1954 i 1955 (przy 9 danych dla każdej kombinacji) nie stwierdzono zróżnicowania analizowanej cechy w zależności od traktowania żelazicyjankiem.

Ogólna średnia wydajności nasion i jej przedział ufności (z prawdopodobieństwem błędu 0,05) wynosiły: $74,7 < 80,3 < 85,9$ (w gramach z rośliny).

Nie stwierdzono również wpływu żelazicyjanku na stopień wykształcenia nasion. Wykorzystując dane o masie i liczebności zbiorów, obliczono i porównano przeciętne wartości ciężaru absolutnego nasion w różnych

Tabela 2

Okresy rozwoju rącznika w zestawieniu z temperaturą i odpowiadający im plon nasion (średnie wartości temperatury obliczone według danych dla stacji Warszawa — Obserwatorium Astronomiczne)

Rok uprawy	Średnia temperatura (w stopniach) dla okresu		Okres rozwoju (w dniach)			Plon nasion (w gramach) z rośliny
	W*	D*	W*	D*	razem	
1953	15,3		16	79	95	60
1954	14,2		19	108	127	72**
1955	11,7		25	113	138	86

* W — od siewu do wzejścia, D — od wzejścia do początku dojrzwania.

** Plon obniżony wskutek niepomysłnych warunków meteorologicznych w okresie kwitnienia.

kombinacjach polowych. Analiza zmienności wyników z trzech lat uprawy nie wykazała zróżnicowania tej oechy w zależności od traktowania żelazicyjankiem. Ogólna średnia wartość ciężaru absolutnego i jej przedział ufności (z prawdopodobieństwem błędu 0,05) wynosiły: $338,5 < 343,1 < 347,6$ (w gramach).

Obserwowano natomiast niezależne od traktowania żelazicyjankiem różnice w rozwoju i plonowaniu rącznika w trzech porównywanych okresach wegetacyjnych. Termin siewu w 1953 roku był późniejszy o 25 dni niż w następnych latach; temu opóźnieniu towarzyszyło przyspieszenie wschodów i znaczne skrócenie okresu do początku dojrzwania. W tabeli 2 zestawiono dane o okresach rozwoju z trzech lat uprawy wraz z odpowiadającymi tym okresom średnimi wartościami temperatury; widoczny jest związek między temperaturą a szybkością rozwoju. Tabelę tę uzupełniono danymi o plonie nasion w przeliczeniu na roślinę; przy porównaniu tych wartości widoczny jest ujemny wpływ przyspieszonego rozwoju na wysokość plonu w 1953 roku.

Analiza nasion i oleju

Wyniki analizy zbiorów nasion pochodzących z wstępnej uprawy w 1953 roku miały różnorodny charakter. Niektóre cechy nie wykazywały więk-

szych wahań lub nawet były bardzo wyrównane, jak np. wartości suchej masy nasion od 94,51—94,98%. Inne cechy różniły się w różnych kombinacjach, jak np. liczba jodowa oleju równa 90,6 dla kombinacji 0/ż w porównaniu z wartością 88,9 dla kontroli.

Próba oceny wstępnych wyników nie wskazywała jednak wyraźnie na związek tych wahań z traktowaniem żelazycyjankiem, a zatem dopiero po zebraniu wyników analitycznych dla zbiorów nasion z trzech lat uprawy dokonano ich łącznej oceny; analizę zmienności przeprowadzano z prawdopodobieństwem błędu 0,01.

Ze względu na wartość użytkową nasion porównano przede wszystkim zawartość tłuszczu, w której nie znaleziono jednak zróżnicowania. Ogólna średnia zawartość tłuszczu w nasionach bez okrywy i jej przedział ufności wynosiły: $67,25 < 68,00 < 68,75$ (w procentach suchej masy), przy czym średnie wartości dla poszczególnych kombinacji mieściły się w tych granicach (por. tabela 3).

Tabela 3
Zawartość tłuszczu w nasionach bez okrywy
w różnych kombinacjach traktowania żelazycyjankiem

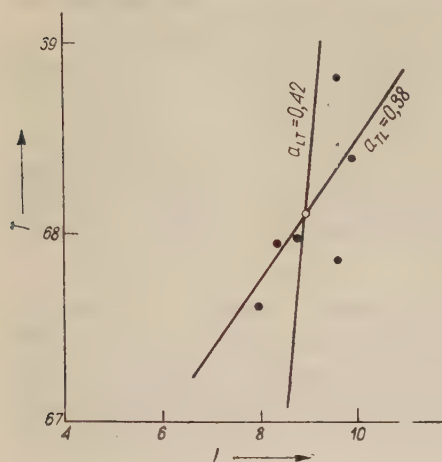
Symbol przedsięwzięcia traktowania	Średnia* zawartość tłuszczu (w % s. m.) dla kombinacji traktowania w glebie		
	o	ż	żż
o	67,80	68,90	67,62
ż	68,37	67,54	67,78

* Średnia obliczona z 9 powtórzeń polowych w latach 1954 i 1955.

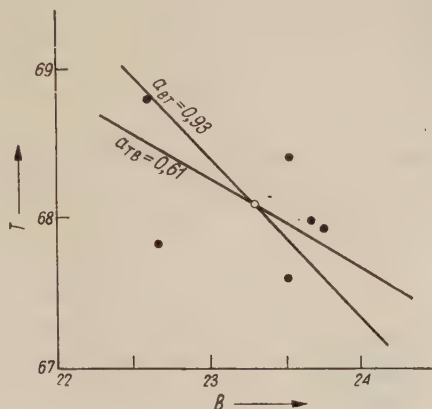
Nie stwierdzono również zróżnicowania aktywności lipazy, której ogólna średnia zawierała się w przedziale ufności $8,62 < 9,15 < 9,68$ (w mililitrach 0,5 na KOH na 100 mg odtłuszczonej mączki).

Zwrócono natomiast uwagę, że obydwie omówione cechy nasion ulegają jednak znacznie większym wahaniom w poszczególnych powtórzeniach polowych tej samej kombinacji, przy czym zmiany te są niemal równoległe dla zawartości tłuszczu i aktywności lipazy. Dla porównywalnych cech obliczono współczynniki regresji znajdując prostoliniową zależność; na ryc. 1 wykreślono linie regresji i oznaczono odpowiednie średnie wartości współzależnych cech. Współczynnik korelacji zawartości tłuszczu i aktywności lipazy wynosił 0,40.

Oceniono wpływ żelazicyjanku na zasadnicze wskaźniki składu tłuszczów, tj. liczbę zmydlenia, kwasową i jodową. Na podstawie analizy zmienności liczby zmydlenia i liczby kwasowej prób oleju ręcznikowego nie stwierdzono, ażeby traktowanie żelazicyjankiem wywoływało jakiekolwiek zmiany składu glicerydów lub zawartości wolnych kwasów tłuszczo-



Ryc. 1. Linie regresji dla współzależności między zawartością tłuszczu (T) a aktywnością lipazy (L) w nasionach 1954. Punktami są oznaczone średnie wartości dla kombinacji połowych i ogólna średnia (T — w procentach suchej masy, L — w mililitrach 0,5 n KOH na 100 mg odtłuszczonej mączki)



Ryc. 2. Linie regresji dla współzależności między zawartością tłuszczu (T) a zawartością białka (B) w nasionach 1954. Punktami są oznaczone średnie wartości dla kombinacji połowych i ogólna średnia (w procentach suchej masy)

wych. Ogólne średnie wartości obydwóch wskaźników i ich przedziały ufności wynosiły: $182,1 < 182,4 < 182,7$ (w jednostkach LZ) i $0,22 < 0,27 < 0,32$ (w jednostkach LK).

Przedstawiona w tabeli 4 analiza zmienności wykazała natomiast istotne zróżnicowanie liczby jodowej w porównywanych kombinacjach. Dla oceny średnich różnic obliczono przedział ufności równy 1,00; porównanie średnich wartości wskazywało, że najwyżej nienasyconym charakterem wyróżniał się istotnie olej z kombinacji ż/żż (88,76 jednostek LJ), lecz tylko w porównaniu z kontrolą (87,50 jednostek LJ) i kombinacją ż/0 (87,26 jednostek LJ).

Nie stwierdzono wpływu traktowania żelazicyjankiem na stosunki ilościowe związków azotowych w nasionach. Ogólne średnie wartości i ich

Tabela 4

Analiza zmienności LJ oleju z nasion w różnych kombinacjach z upraw 1953, 1954 i 1955

Rodzaj zmienności	Suma kwadratów	Liczba stopni swobody	Przeciętna zmienność	F _{emp}	F _{teor} (0,01)	Istotność
Obiektowa	13,6275	5	2,7255	3,67	3,38	+
Błąd	40,1281	34	0,7431			
Całkowita	53,7556	39				

przedziały ufnosci wynosiły: dla azotu ogólnego $12,10 < 12,38 < 12,65$ i dla azotu rozpuszczalnego $0,66 < 0,70 < 0,74$ (w procentach suchej masy bez-tłuszczowej).

Po obliczeniu z tych danych zawartości białka w nasionach bez okrywy stwierdzono, że w różnych kombinacjach traktowania żelazicyjankiem ilościowy stosunek białka i tłuszczu pozostaje w odwrotnej współzależności, wykazując wysoki współczynnik korelacji 0,75; na ryc. 2 wykreślono odpowiednie linie regresji i oznaczono średnie wartości porównywanych cech.

DYSKUSJA

Wyniki naszych badań nie potwierdzają roli żelazicyjanku jako stymulatora roślin. W związku z tym należy zwrócić uwagę na różnorodność i rozbieżność dostępnych w piśmiennictwie informacji o działaniu tego utleniacza.

Podczas gdy w naszych badaniach obserwowano ujemny (przynajmniej początkowo) wpływ moczenia nasion ręcznika w roztworze żelazicyjanku na energię ich kiełkowania, to w cytowanych już pracach z traktowanymi nasionami bielunia występowała stymulacja kiełkowania (Reifer, Rumińska i Kączkowski 1956); w końcu dostępne są także informacje o braku jakiegokolwiek wpływu takiego zabiegu na nasiona sałaty (Thompson i Rosar 1938) i buraka cukrowego (Buraczewski 1959). Podobnie znane są obserwacje wykazujące brak wpływu traktowania żelazicyjankiem na oddychanie kiełkujących nasion pszenicy (Szarkowski 1956), natomiast w przypadku nasion buraka cukrowego wykazano obniżone pobieranie tlenu w określonych warunkach (Buraczewski 1959).

W naszych badaniach nie uzyskano dowodów wpływu żelazicyjanku na większość analizowanych cech dojrzałych nasion ręcznika, oprócz obserwowanego przez nas wzrostu nienasyconego charakteru oleju. W związku

z tym należy zwrócić uwagę na wcześniejsze doniesienia o katalitycznym działaniu żelazicyjanku na utlenianie nienasyconych kwasów tłuszczowych surowicy krwi (Wright i Arthur 1931, Chow i Kamerling 1934). Efekt obserwowany w oleju rącznikowym występował jednak tylko w niektórych kombinacjach traktowania i dlatego wymaga on dokładniejszego zbadania.

W dotychczasowych próbach stymulacji różnych roślin żelazicyjankiem obserwowano dodatni wpływ na plonowanie, chociaż i te obserwacje były także różnorodne (Reifer 1953, Reifer i in. 1955, 1956 oraz dane nie publikowane). W ostatnio prowadzonych na szeroką skalę kilkoletnich doświadczeniach polowych nad stymulacją buraka cukrowego (Buračewski 1959) nie stwierdzono wpływu żelazicyjanku na plon. Prowadzone przez nas orientacyjne obserwacje nie wskazują także, ażeby plon nasion rącznika mógł ulegać zmianom pod wpływem stosowania żelazicyjanku.

Prowadząc uprawę rącznika w ciągu trzech lat, zwrócono natomiast uwagę na znaczne wahania plonów w różnych latach oraz na zależność tych wahań od terminu siewu i związanych z tym warunków temperatury w okresie rozwoju roślin. Obserwacje te są całkowicie zgodne z wynikami szczegółowych badań Derynga (1939) oraz Dembińskiego i współautorów (1956).

Interesujące jest dokonane przez nas spostrzeżenie o korelacji zawartości tłuszczu i aktywności lipazy w dojrzałych nasionach rącznika. Już wcześniej Szmalowa (1952) podejmowała próby ustalenia zależności między stopniem dojrzałości nasion a rozmieszczeniem w nich lipazy. W badaniach nad zmianami aktywności lipazy w przebiegu dojrzewania nasion obserwowano znaczny jej wzrost z równoczesnym wzrostem zawartości tłuszczu od momentu osiągnięcia maksymalnej masy przez nasiona (Callebresse 1953). W świetle naszego spostrzeżenia można przypuszczać, że stopień aktywności lipazy jest jednym z czynników bezpośrednio warunkujących szybkość gromadzenia się tłuszczu i jego zawartość w dojrzałych nasionach.

STRESZCZENIE

1. Przeprowadzono próbę zastosowania żelazicyjanku jako stymulatora w ciągu trzech lat uprawy rącznika (*Ricinus communis* L., odmiana puławska).

2. Obserwowano ujemny wpływ przedsiewnego traktowania nasion na energię kiełkowania i wschodzenie roślin w polu; wpływ ten jest widoczny tylko w początkowym okresie i następnie zanika.

3. Stwierdzono wzrost nienasyconego charakteru oleju pochodzącego z roślin traktowanych w glebie.

4. Nie stwierdzono wpływu traktowania żelazicyjankiem na następujące cechy dojrzałych nasion: ciężar absolutny, zawartość tłuszczu, aktywność lipazy, zawartość związków azotowych oraz na liczbę zmydlenia i kwasową oleju.

5. Niezależnie od traktowania obserwowano wysoką korelację między zawartością tłuszczu a zawartością białka w nasionach.

6. Nie obserwowano wpływu żelazicyjanku na wielkość zbiorów nasion, natomiast obserwowano ich zależność od terminu siewu i warunków temperatury w okresie rozwoju.

7. Wykazano korelację między zawartością tłuszczu a aktywnością lipazy w dojrzałych nasionach.

Katedra Biochemii

*Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie*

(Wpłynęło dn. 26.4.1959 r.)

SUMMARY

1. During the period of 3 years ferricyanide was used as a prospective stimulator in the cultivation of castor bean (*Ricinus communis* L., variety Puławska).

2. Ferricyanide when employed to the seeds prior to sowing has a negative effect upon the energy of germination and upon the emergence of early shoots in the field. This last effect is noticeable only in the early stages of growth, later on these differences disappear.

3. An increase in unsaturated fats has been observed in seeds from plants grown on soils treated with ferricyanide.

4. No effect of ferricyanide upon the following characteristics of the ripe castor bean could be observed: absolute weight, fat content, lipase activity, total nitrogen, saponification and acid indices.

5. Independent of the ferricyanide treatment a significant relation between fat content and protein in the seeds has been observed.

6. Ferricyanide has no effect upon the yield of the castor bean; there is however a close relation between yield on one hand and time of sowing and temperature during growth on the other.

7. Fat content and lipase activity in the ripe bean are interdependent.

The Chair of Biochemistry

*College of Agriculture
Warsaw, (Poland)*

LITERATURA

- Buraczewski S., 1959, Niektóre przemiany biochemiczne w buraku cukrowym oraz wpływ żelazicyjanku jako bodźca chemicznego, Praca doktorska wykonana w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa.
- Calabrese A. M., 1954, Sull' attività della lipasi del *Ricinus communis* in particolari condizioni sperimentali, Nota II. Variazioni di attività durante il ciclo di maturazione del seme, *Ricerca Sci.* 24: 1016—1020. *RZChimBch* 17994 (1956).
- Chow F., Kamerling S. E., 1934, The catalytic effect of ferricyanide in the oxygen absorption of oleic acid, *Journ. Biol. Chem.* 104: 69—79.
- Czapek F., 1913, *Biochemie der Pflanzen*. B. I, Jena.
- Dembiński F., Jabłoński M., Hoffmanowa A., Kiełczewski B., 1956, Wpływ pory siewu i rozstawy na plon nasion i tłuszczu rącznika, *Roczniki Nauk Roln.* 72-A: 465—501.
- Deryng J., 1939, O uprawie rącznika (*Ricinus communis* L.), *Acta Pol. Pharm.* 3: 246—308.
- Farber L., Wynne A. M., 1935, Studies on proteinase. II. The effects of various compounds on the activity of the enzyme, *Biochem. J.* 29: 2323—2330.
- Fujita A., Iwatake D., 1931, Bestimmung des echten Blutzuckers ohne Hefe, *Biochem. Z.* 242: 43—60.
- Jabłonowski W., 1953, Próby doświadczalne nad auksynowaniem nasion i dekapitacją rącznika (*Ricinus communis* L.) w Ogrodzie Roślin Leczniczych w Łodzi w r. 1952, *Acta Pol. Pharm.* 10: 175—178.
- Kostecka-Mądalska O., 1954, Próby skrócenia okresu wegetacji u *Ricinus communis* L., *Acta Soc. Bot. Pol.* 23: 335—357.
- Margosches B. M., Neufeld E., 1926, Über eine Halbmikro-Ausführungsform der Jodzahlschnellmethode, *Chem. Ztg* 50: 210—211.
- Maschmann E., Helmert E., 1935, Über intracelluläre Proteinase. XIV. Aktivierung und Hemmung des Papains durch Ferricyankalcium, *Biochem. Z.* 279: 213—224.
- Meara M. L., 1955, Fats and Other Lipids. W dziele: *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse* (Herausg. K. Paech, M. V. Tracey). II B, Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- Reifer I., 1953, Zakład Biochemii SGGW w Warszawie, *Kosmos* 2, seria biologiczna 92—93.
- Reifer I., Rumińska A., Kączkowski J., 1955, Wstępne badania nad wpływem żelazicyjanku potasu na plon i zawartość alkaloidów w *Datura stramonium* L., *Acta Biochim. Pol.* 2: 315—320.
- Reifer I., Rumińska A., Kączkowski J., 1956, Wpływ żelazicyjanku potasu na *Datura stramonium* L. Plon liści, zawartość alkaloidów i niektórych innych składników. *Acta Biochim. Pol.* 3: 209—224.
- Reifer I., Tarnowska K., 1950, Mikro-jodometryczne oznaczenie azotu w materiale roślinnym, *Acta Soc. Bot. Pol.* 20: 739—744.
- Rummen G., 1954, Modellstudien über das physiologische Redoxpotentiale der Pflanzen und den Chemismus seiner Steuerung. *Wiss. Z. Friedrich-Schiller-Univ., Math.-naturwiss. Reihe* 4: 611—632. *RZChimBch* 20161 (1956).
- Sugai K., 1944, Protease. VI. Effect of the addition of various salts on tryptic activity, *J. Biochem. (Japan)* 36: 91—100. *Chem. Abstr.* 3438 (1951).

- Szarkowski J. W., 1956, Studies on the respiration of wheat seedlings. Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences, classe deuxième, 4: 371—374.
- Szmalowa Z., 1952, Rozmieszczenie lipazy w nasionach rącznika (*Ricinus communis* L.), *Farmacja Polska* 8: 294—300.
- Thompson R. C., Rosar W. F., 1938, Germination of lettuce seed stimulated by chemical treatment, *Science* 87: 218—219.
- Willstätter R., Waldschmidt-Leitz E., 1924, Über Ricinuslipase, *Ztschr. f. phys. Ch.* 134, 161—223.
- Wright G. P., Arthur B., 1931, On the oxidation by potassium ferricyanide on certain constituents of the serum in anemia, *Journ. Biol. Chem.* 90: 757—769.

Wpływ pory dojrzewania nasion rącznika na wydajność, stopień wykształcenia i zawartość tłuszczu

*Time of ripening of the castor bean and its influence upon the yield,
physical characteristics, and fat content*

W. BRZESKI

Prace nad aklimatyzacją rącznika w Polsce są prowadzone od około 30 lat (Kaznowski i Iwańska 1937, Kaznowski 1938, 1939). Obecnie uprawia się już kilka wczesnych odmian tej rośliny, ale w systematycznych obserwacjach wyników uprawy zwracają nadal uwagę bardzo duże wahania uzyskiwanych zbiorów nasion (Kaznowski 1950, Kaznowski i in. 1956, Adamanis i in. 1956). Wartość krajowych nasion i oleju podlega także większym wahanom (Wiadrowska 1939, Purzycka-Wolińska 1954, Leyko i Purzycka-Wolińska 1957), chociaż można spotkać w literaturze i pozytywną ocenę tego zagadnienia (Adamanis i in. 1954).

Obok prac hodowlanych i rejonizacyjnych z krajowymi odmianami rącznika prowadzi się badania nad ustaleniem takich warunków uprawy, które byłyby optymalne dla wielkości plonu i wartości użytkowej nasion (Deryng 1939, Jabłonowski 1952, Jańczyk 1954, Dembiński i in. 1956). W dążeniu do maksymalnego zwiększenia planu zwrócono również uwagę na możliwość wykorzystania niedojrzałych nasion (Adamanis i in. 1953, Adamczewski i Małek 1956, Augustowska 1956).

Większość dotychczasowych danych o wartości krajowych nasion rącznika odnosi się do średniej próby z całkowitego plonu. Tylko na marginesie niektórych prac (Wiadrowska 1939, Deryng 1939, Jabłonowski 1951) można spotkać informacje o nasionach z różnych zbiorów tego samego plonu, ale zbiory te w związku ze sposobem ich dokonywania stanowiły najczęściej mieszaninę nasion z różnych gron. Szczegółowy obraz

struktury plonu obejmującego siedem kolejnych zbiorów znajduje się w ogłoszonej niedawno pracy Dembińskiego i in. (1956); w aspekcie prowadzonych badań autorzy ci analizowali jednak próby reprezentujące zbiory łącznie z plonami nasionami, które w praktyce są usuwane przy oczyszczaniu nasion.

W niniejszej pracy zbadano, w jakim stopniu różnią się dojrzałe nasiona ręcznika z poszczególnych gron dojrzewających stopniowo na polu w okresie do dwóch miesięcy. Uzyskane informacje o zróżnicowaniu niektórych cech nasion osiagających pełną dojrzałość w różnym czasie mogą mieć znaczenie dla dokładniejszej niż dotychczas klasyfikacji nasion na materiał o różnym przeznaczeniu. Istnieje również możliwość praktycznego wykorzystania tych informacji w związku z wprowadzaną obecnie techniką dokonywania zbioru całych gron.

MATERIAŁY I METODY

Materiał doświadczalny

Materiałem doświadczalnym były dojrzałe nasiona ręcznika (*Ricinus communis* L., odmiana puławska) z uprawy w 1951 roku w Kazuniu Polskim (Ośrodek Doświadczalny b. Centrali Zielarskiej w Warszawie) oraz z własnych upraw w latach 1953, 1954 i 1955 w Warszawie. Nasiona z trzech pierwszych gron w kolejności ich dojrzewania zbierano i analizowano oddzielnie, pozostałe zaś — łącznie.

Nasiona 1951. Uprawa pochodziła z siewu 6.V.1951. Próby polowe zbierano z pięciu rzędów po 70—80 roślin z pozostawieniem brzeżnych rzędów jako pasa ochronnego. Daty zbiorów: 10.IX (grona 1), 17.IX (grona 2 i 3), 4.X (pozostałe grona). Po osiągnięciu stanu powietrznie suchego w temperaturze pokojowej usuwano z prób nasiona płone.

Nasiona 1953, 1954 i 1955. Wykorzystano zbiory nasion z upraw prowadzonych w związku z inną pracą nad ręcznikiem, w której też podane są warunki uprawy i zbioru (Brzeski i Reifer 1959): wobec udowodnionego tam braku zmienności analizowanych cech między porównywanymi kombinacjami polowymi potraktowano w niniejszej pracy te kombinacje jako wielokrotne próby polowe od I—VI.

Metody analityczne

Za mierniki przy porównywaniu materiału doświadczalnego z różnych gron przyjęto niektóre cechy nasionoznawcze oraz zawartość tłuszczu i jego liczby właściwe.

Średnie wymiary. Odliczano 30 nasion bez wyboru z próby polowej i mierzono śrubą mikrometryczną ich długość, szerokość i grubość.

Zdolność kiełkowania, ciężar absolutny, zawartość okrywy. Do oznaczania tych cech nasionoznawczych stosowano metody podane przez Dorywalskiego i Wojciechowicza (1949) z modyfikacjami. Obserwację kiełkowania prowadzono w ciągu 25 dni w temperaturze od 15—18°. Zawartość okrywy oznaczano w próbach po 50 nasion. W przypadku zbiorów nasion 1953—1955 nie oznaczano ciężaru absolutnego za pomocą podanej metody, natomiast do obliczenia średnich wartości wykorzystywano informacje o liczbie i masie nasion zawartych w zbiorach.

Sucha masa. Suchą masę oznaczano bezpośrednią metodą suszenia prób po 10 nasion pobieranych przez podział zbioru lub próby polowej. Dla celów porównawczej oceny nasion metoda ta może być stosowana, lecz z zachowaniem jednakowych warunków z uwagi na możliwość ubytku lotnych kwasów tłuszczowych.

Tłuszcz surowy. Próby po 30 nasion pobierano przez podział zbioru lub próby polowej. Do oznaczania stosowano ekstrakcyjną metodę Soxhleta (Meara 1955) przy użyciu eteru dwuetylowego, który odwadniano sodem metalicznym i destylowano. Czas ekstrakcji wymagany w warunkach oznaczania wynosił 8 godzin.

Tabela 1

Wielkość zbiorów nasion z poszczególnych gron od 1—3

Rok uprawy	Liczba roślin	Średnia wydajność nasion (w gramach na roślinę)		
		grono 1	grono 2	grono 3
1953	67	20,6	14,2	11,4
1954	208	8,6*	15,6	13,8
1955	257	22,2	20,0	14,1

* Wskutek niepomysłnych warunków meteorologicznych w okresie kwitnienia plon uległ obniżeniu.

Liczba zmydlenia i liczba kwasowa. Liczby te oznaczano metodami alkacymetrycznymi (Meara 1955) w próbach odpowiednio po 1, 2 g i 3 g oleju uzyskiwanego przy oznaczaniu tłuszczu surowego.

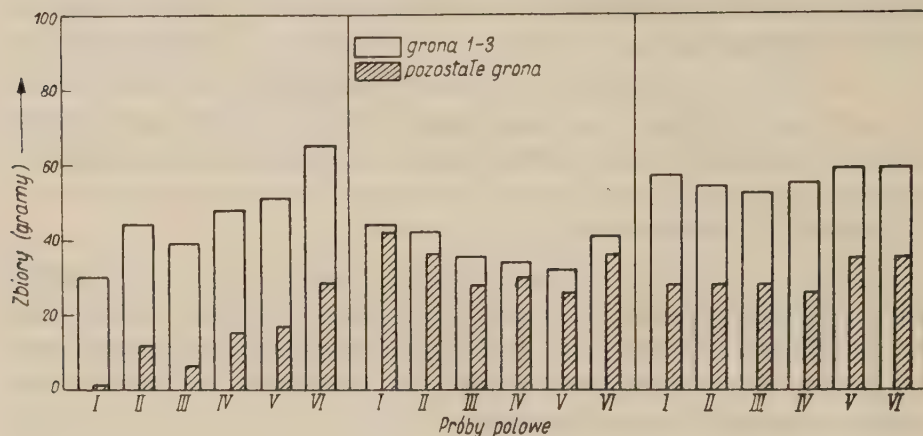
Liczba jodowa. Do oznaczania liczby jodowej w próbach po 100 mg oleju stosowano półmikrometodę Margoschesa i Neufelda (1926).

WYNIKI

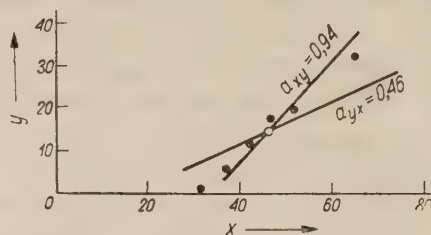
Wydajność dojrzałych nasion

Wykorzystując informacje uzyskane przy dokonywaniu zbiorów porównano wielkość zbiorów nasion z poszczególnych gron, które zwykle dojrzewają w naszym klimacie, tj. z gron 1, 2 i 3. Odpowiednie dane liczbowe w przeliczeniu na jedną roślinę są zestawione w tabeli 1.

Uzyskane wyniki wskazują, że najwyższy jest zbiór z grona 1 (z wyjątkiem 1954 roku). W przypadku później dojrzewających gron obniża się



Ryc. 1. Zbiory nasion (w gramach na jedną roślinę) z gron od 1—3 i z później dojrzewających gron w próbach polowych od I—VI z lat 1953, 1954 i 1955



Ryc. 2. Linie regresji dla współzależności między zbiorami nasion 1953 z różnych gron; x — zbiory z gron od 1—3; y — zbiory z pozostałych gron. Punktami są oznaczone średnie wartości z prób polowych i ogólna średnia (w gramach na jedną roślinę)

on stopniowo, przy czym średnie wartości z lat 1953 i 1955 wynoszą: 80% dla grona 2 i 60% dla grona 3 w porównaniu ze zbiorem z grona 1. Po-

dobne wyniki otrzymuje się przez porównanie liczebności nasion w poszczególnych gronach.

W każdym z trzech lat własnej uprawy obserwowano niższe zbiory z później dojrzewających gron niż zbiory z gron od 1—3 łącznie (ryc. 1).

Dla porównywanych grup zbiorów nasion obliczono współczynniki regresji (na podstawie 67 danych w 1953 roku, 24 — w 1954 roku i 30 — w 1955 roku) i w każdym okresie wegetacyjnym znaleziono zależność prostoliniową. W latach 1953 i 1955 występowały współczynniki korelacji 0,66 i 0,90, natomiast niższa wartość 0,48 w 1954 roku była uzasadniona częściowym zniszczeniem grona 1 na polu. Na ryc. 2 są podane przykładowo linie regresji i odpowiednie średnie wartości współzależnych cech w przypadku zbiorów nasion 1953.

Cechy nasionoznawcze

Większość cech nasionoznawczych analizowano tylko wstępnie w próbach nasion 1951, nie znajdując znaczniejszych różnic w różnych gronach.

Dla wymiarów nasion, tj. długości, szerokości i grubości, obliczano średnią arytmetyczną z 30 pomiarów i jej błąd oraz przedział ufności (z prawdopodobieństwem błędu 0,05). Średnia długość nasion z grona 1 wynosiła 13,25 mm (przy amplitudzie wahań 2,45 mm), przewyższając o istotną wartość 0,4 mm wyrównany wymiar nasion z wszystkich pozostałych gron. Szerokością wyróżniały się natomiast nasiona z gron 2 i 3, gdyż ich średnie wymiary wynosiły 8,80 i 8,86 mm (przy amplitudach wahań 1,56 i 1,62 mm), przewyższając o istotną wartość 0,25 mm wymiary nasion z grona 1 i z najwyższych gron. Grubość nasion nie różniła się istotnie i przeciętnie dla wszystkich gron wynosiła 6,40 mm (przy amplitudach wahań od 0,76—1,25 mm). Współczynniki zmienności dokonywanych pomiarów zawierały się w granicach od 3,4—4,8%.

Najwyższą zdolność kiełkowania 85% wykazywały nasiona z grona 1; dla nasion z wyższych gron znaleziono wartości przeciętnie o 10% niższe, ale różnica ta nieznacznie tylko przewyższa dopuszczalny błąd oznaczenia.

Zawartość okrywy była bardzo wyrównana w nasionach z gron od 1—3 i wynosiła przeciętnie 22,5%, natomiast w nasionach z wyższych gron była nieco większa (23,3%).

Wstępnie nie stwierdzono również dużych różnic między ciężarem absolutnym nasion z różnych gron. Przeciętna masa 1000 nasion 1951 wynosiła 355 g przy wahaniach średnich wartości od 360 g (grono 1) do 352 g (najwyższe grono); wahania te są zawarte w granicach dopuszczalnego błędu oznaczenia. Na cechę tę zwrócono jednak więcej uwagi jako na miernik stopnia wykształcenia nasion, ale obliczano średnie wartości ciężaru abso-

lutnego na podstawie masy i liczebności zbiorów nasion 1953, 1954 i 1955. W każdym z tych okresów wegetacyjnych zaobserwowano w ten sposób stopniowy spadek wartości w kolejno dojrzewających gronach. Przykładowo są zestawione w tabeli 2 dane dla nasion 1955 z poszczególnych gron z uwzględnieniem średniej arytmetycznej (z 30 poletek) i jej błędu, amplitudy wahań, przedziału ufności oraz współczynnika zmienności.

Z przedstawionych danych wynika, że nasiona z grona 1 wyróżniają się istotnie najwyższym ciężarem absolutnym, którego wartość w przypadku później dojrzewających gron zmniejsza się stopniowo: dla grona 2 — o 2,5%, dla grona 3 — o 6,5% i dla pozostałych — o 12,5% w porównaniu z nasionami z grona 1; zgodnie z analizą wyników występują tu istotne różnice między poszczególnymi gronami.

Tabela 2
Ciężar absolutny nasion 1955 z różnych gron

Grono	Wartości dla 1000 nasion (w gramach)				Współczynnik zmienności (w %)
	średnia masa	amplituda wahań	błąd średniej arytm.	przedział ufności (0,05)	
1	376,8	57,8	2,56	5,23	3,72
2	367,6	64,1	2,64	5,40	3,94
3	352,2	66,5	2,95	6,03	4,58
Pozostałe	330,2	61,4	2,48	5,07	4,12

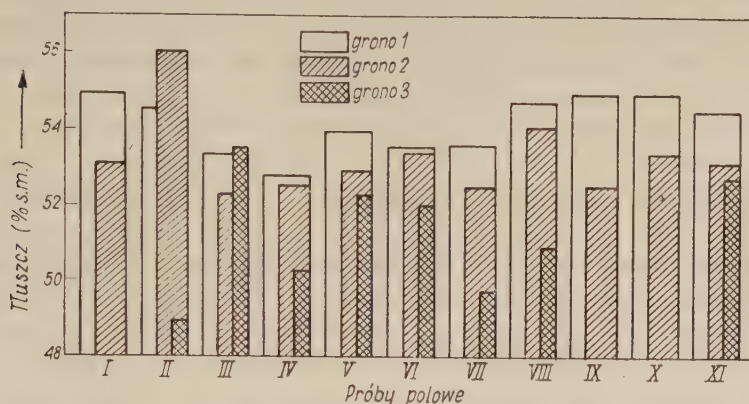
Na podstawie danych z dwóch lat wykazano, że dojrzałe nasiona z różnych gron charakteryzują się bardzo bliskimi wartościami suchej masy. Przeciętna jej zawartość w nasionach 1951 wynosiła 94,32% (od 94,30—94,37%); dla kilkudziesięciu prób nasion 1953 znaleziono ogólną średnią 94,72%, przy czym średnie dla gron najpóźniej dojrzewających były nieco niższe, lecz pozostawały w granicach błędu metody.

Zawartość i cechy tłuszczu

Jako główne kryterium wartości użytkowej nasion analizowano zawartość tłuszczu. W ciągu dwóch okresów wegetacyjnych obserwowano najwyższą zawartość w nasionach z grona 1 i stopniowy jej spadek w kolejności dojrzewania gron.

Wstępna obserwacja przeprowadzona nad nasionami 1951 wykazała średnią zawartość tłuszczu 50,3% (w odniesieniu do suchej masy nasion z okrywą) w przypadku grona 1; wartość dla gron 2 i 3 była wyrównana i wynosiła średnio 49,2%, natomiast dla gron najpóźniej dojrzewających obniżała się aż do 43,8%.

Analizując materiał z 1953 roku zwrócono szczególną uwagę na grona od 1—3 jako te, które zazwyczaj dojrzewają w naszym klimacie; na ryc. 3 przedstawiono graficznie średnie wyniki dla 11 prób polowych.



Ryc. 3. Zawartość tłuszczu (w procentach suchej masy) w nasionach z poszczególnych gron w próbach polowych od I—XI z 1953 roku

Analiza zmienności uzyskanych wyników wykazała istotne zróżnicowanie zawartości tłuszczu w nasionach z porównywanych gron; wyniki analizy są przedstawione w tabeli 3.

Tabela 3

Analiza zmienności zawartości tłuszczu w nasionach 1953

Rodzaj zmienności	Suma kwadratów	Liczba stopni swobody	Przeciętna zmienność	F _{emp}	F _{teor} (0,01)	Istotność
Między gronami	21,9750	2	10,9875	13,55	6,01	+
Między próbami	4,6087	10	0,4609	0,56	3,54	—
Błąd	14,5940	18	0,8108			
Całkowita	41,1777	30*				

* Z ogólnej liczby informacji pominięto wartości wyliczone.

Dla każdego grona obliczono ogólną średnią zawartość tłuszczu oraz przedział ufności średnich różnic równy 1,00% (z prawdopodobieństwem błędu 0,01). Ogólna średnia dla grono 1 wynosi 54,26%, podczas gdy nasiona z grono 2 wykazują średnio o 1,20% niższą zawartość tłuszczu (tj. 53,06%), a w nasionach z grono 3 występuje dalszy spadek o 2,00%; przed-

stawione dane liczbowe stanowią dowód dla istotnego zróżnicowania zawartości tłuszczu w różnych gronach.

Liczby właściwe oleju z nasion porównywano tylko wstępnie dla różnych gron nie znajdując różnic w materiale pochodzącym z 1951 roku. Odpowiednie wartości wynosiły przeciętnie: liczba zmydlenia — około 180 (od 179,4—180,7), liczba kwasowa — około 0,4 (od 0,33—0,48), liczba jodowa — około 81 (od 80,9—81,6).

DYSKUSJA

W świetle przedstawionych wyników wydaje się, że istnieją podstawy dla wniosku o zróżnicowaniu niektórych cech dojrzałych nasion rącznika puławskiego w zależności od pory dojrzwania. Częściowe potwierdzenie naszych obserwacji można także znaleźć w dotychczasowym piśmiennictwie dotyczącym badań nad nasionami z krajowych upraw, chociaż dane innych autorów najczęściej nie odnoszą się do określonych i pojedynczych gron (J a b ł o n o w s k i 1951, D e m b i ń s k i i in. 1956).

Poza obserwowanym przez nas wpływem pory dojrzwania gron na wielkość zbioru i stopień wykształcenia nasion należy zwrócić szczególną uwagę na wykazane zróżnicowanie zawartości tłuszczu. Podobne spostrzeżenie zostało dokonane już wcześniej przez P o p o w ą (1926) w badaniach nad uprawą rącznika perskiego w Azji Środkowej; stopniowy spadek zawartości tłuszczu obserwowano tam w nasionach z gron pędu głównego, pędów bocznych I rzędu i pędów bocznych II rzędu.

W odniesieniu do rącznika uprawianego w Polsce istnieją sprzeczne dane o zróżnicowaniu zawartości tłuszczu. I tak D e r y n g (1939) w przypadku wybranej przez losowanie rośliny nie znalazł różnic w nasionach z gron od 1—4, a stopniowy spadek obserwował dopiero w gronach pędów bocznych II rzędu. Przeciwnie do naszych wyniki J a b ł o n o w s k i e g o (1951) są nieporównywalne, gdyż widocznie odnoszą się do prób z całego plonu zawierającego nasiona o różnym stopniu dojrzałości.

Pewne potwierdzenie dla naszych wyników stanowią już najwcześniejsze obserwacje W i a d r o w s k i e j (1939) nad rącznikiem puławskim, które wskazują na tym wyższą zawartość tłuszczu, im wcześniejszy jest zbiór. Niedawno zostały ogłoszone wyniki badań, w których A d a m c z e w s k i i M a ł e k (1956) oznaczali zawartość tłuszczu w nasionach doprowadzanych przez suszenie do stanu pełnej dojrzałości. Z danych tych autorów wynika, że nasiona z I zbioru (grono 1) zawierają najwięcej tłuszczu, a z następnych zbiorów — coraz mniej, mimo że warunki sztucznego dojrzewania były identyczne.

Zestawiając dane innych autorów z naszymi wynikami, należałoby przyjąć spadek zawartości tłuszczu za cechę charakteryzującą kolejno dojrzewające grona rącznika — zgodnie zresztą z pierwotnym wyjaśnieniem P o p o w e j (1926). Jednak w rozprawie ogłoszonej przez P o p o w ą (1930) w kilka lat później ten sam fakt spadku zawartości tłuszczu jest uzasadniany dokonywaniem zbioru niedojrzałych nasion z wyższych gron, podczas gdy nasiona w stanie pełnej dojrzałości nie powinny — według autorki — wykazywać istotnego zróżnicowania. Mimo że stopień dojrzałości jest niewątpliwie czynnikiem warunkującym zawartość tłuszczu w dojrzewających nasionach, to jednak w odniesieniu do naszych badań nie ma zastosowania drugi wniosek P o p o w e j (1930), gdyż przedmiotem ich były nasiona o pełnej dojrzałości

STRESZCZENIE

1. Porównano wielkość zbiorów i niektóre cechy dojrzałych nasion z kolejno dojrzewających gron rącznika (*Ricinus communis* L., odmiana puławska).

2. Obserwowano najwyższe zbiory nasion z grona 1 i stopniowe ich obniżanie się w kolejności dojrzewania gron. Udowodniono korelację między wielkością zbiorów z pierwszych trzech gron a później dojrzewającymi gronami.

3. Nasiona z grona 1 wyróżniają się długością, a nasiona z gron 2 i 3 są nieco szersze niż pozostałe, podczas gdy grubość różnych nasion nie różni się istotnie. Nie stwierdzono większych wahań zdolności kiełkowania, zawartości okrywy, ani suchej masy nasion z różnych gron.

4. Między nasionami z różnych gron występują istotne różnice ciężaru absolutnego, który zmniejsza się w zależności od pory dojrzewania.

5. Wykazano zróżnicowanie zawartości tłuszczu w nasionach, przy czym jest ona największa w przypadku grona 1 i stopniowo obniża się w kolejności dojrzewania gron.

6. Nie stwierdzono zróżnicowania liczb właściwych oleju z różnych nasion w zależności od pory dojrzewania.

Katedra Biochemii

Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie

(Wpłynęło dn. 26.4.1959 r.)

SUMMARY

1. Yields and certain other characteristics of the ripe seeds of successively maturing clusters of the castor bean (*Ricinus communis* L., variety Puławska) have been investigated.

2. Biggest yields were obtained from the first cluster and a gradual decrease in the successively maturing clusters was observed.

3. The seeds from the first cluster are marked by their length, the seeds of the second and third clusters are slightly broader than the rest, whereas the thickness of all seeds show no marked differences. No significant fluctuation in the power of germination, weight of the hull in relation to total weight and dry matter of seeds from different clusters was noted.

4. There are significant differences in the absolute weight of beans from various clusters, the weight decreasing with the time of maturation.

5. Marked differences in fat content of various clusters were proved. The fat content is highest in the first cluster and decreases gradually in the successively maturing clusters.

6. No differences in the saponification, iodine and acid indices were noted in seeds from various clusters.

Chair of Biochemistry
College of Agriculture
Warsaw, (Poland)

LITERATURA

- Adamaniś F., Broda H., Zajączkowski J., 1953, Przyspieszenie dojrzewania owoców rącznika (doniesienie tymczasowe), *Farmacja Polska* 9; 248—249.
- Adamaniś F., Dębska W., Kaczmarek F., 1954, Rącznik polski jako źródło farmakopealnego oleju rycynowego, *Farmacja Polska* 10; 9—12.
- Adamaniś F., Zajączkowski J., 1955, Dosuszanie jako czynnik przyspieszający dojrzewanie owoców rącznika, *Farmacja Polska* 11; 25—26.
- Adamaniś F., Nowiński M., Zajączkowski J., 1956, Wyniki prac rejonizacyjnych prowadzonych w roku 1951 w zakresie uprawy rącznika, *Dissertationes Pharmaceutica* 7; 171—178.
- Adamaniś F., Nowiński M., Owsianny I., Zajączkowski J., 1956, Wyniki prac rejonizacyjnych nad rącznikiem prowadzonych w roku 1952, *Dissertationes Pharmaceutica* 7; 237—246.
- Adamaniś F., Jaruszewski W., Nowiński M., 1956, Wyniki prac rejonizacyjnych nad rącznikiem prowadzonych w r. 1953, *Dissertationes Pharmaceutica* 7; 313—321.
- Adamczewski B., Małek B., 1956, Wpływ dosuszania na wartość nasion rącznika przy zbiorze gronami, *Acta Pol. Pharm.* 13; 477—481.
- Augustowska D., 1956, Wpływ przegrzewania nasion rącznika na kwasowość otrzymanego oleju, *Acta Pol. Pharm.* 13; 483—486.
- Brzeski W., Reifer I., 1959, Próba zastosowania żelazicyjanku jako stymulatora w uprawie rącznika *Acta Soc. Bot. Pol.* 28; s. 653—664.
- Dembiński F., Jabłoński M., Hoffmannowa A., Kiełczewski B., 1956, Wpływ pory siewu i rozstawy na plon nasion i tłuszczu rącznika, *Roczn. Nauk Roln.* 72-A; 465—501.
- Deryng J., 1939, O uprawie rącznika (*Ricinus communis* L.), *Acta Pol. Pharm.* 3; 246—308.
- Dorywalski J., Wojciechowicz M., 1949, *Metodyka oceny nasion*, Poznań.
- Jabłonowski W., 1951, Próby uprawy rącznika (*Ricinus communis* L.) w Ogrodzie Roślin Leczniczych w Łodzi w r. 1950, *Acta Pol. Pharm.* 8; 154—156.

- Jabłonowski W., 1952, Wpływ nawożenia na hodowlę rącznika (*Ricinus communis* L.), Acta Pol. Pharm. 9; 173—180.
- Jańczyk J., 1954, Wpływ nawożenia mineralnego na plon i skład chemiczny rącznika. Dissertationes Pharmaceutica 6; 77—86.
- Kaznowski L., 1938, Rącznik i jego uprawa, Przegląd Uprawy Tytoniu 5; 213—215.
- Kaznowski L., 1939, Rącznik i jego uprawa, Wiadomości Zielarskie 7; 208—215.
- Kaznowski L., 1950, Rącznik, Warszawa.
- Kaznowski L., Iwańska W., 1937, Polski Komitet Zielarski, Sprawozdanie z prac Wydziału Doświadczalno-Aklimatyzacyjnego, Wiadomości Zielarskie 5; 106—108.
- Kaznowski L., Kaczmarek F., Kiełczewski B., Golenia A., 1956, Rącznik, Warszawa.
- Leyko Z., Purzycka-Wolińska J., 1957, Badania nad wartością nasion rącznika (*Ricinus communis* L.) z upraw na terenie Polski w r. 1949. Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Rolnictwo, Zeszyt 2; 65—74.
- Margosches B. M., Neufeld E., 1926, Über eine Halbmikro-Ausführungsform der Jodzahlschnellmethode, Chem. Ztg 50; 210—211.
- Meara M. L., 1955, Fats and Other Lipids. W dziele: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse (Herausg. K. Paech, M. V. Tracey), II B. Berlin — Göttingen — Heidelberg.
- Popowa G. M., 1926, Kleszczowina i jej kultura w Sriedniej Azii (The Castor Bean in Central Asia), Trudy po Prikladnoj Botanike i Sielekcii (Bulletin of Applied Botany and Plant-Breeding) 16; 145—240.
- Popowa G. M., 1930, Kleszczowina, Leningrad.
- Purzycka-Wolińska J., 1954, Badania nad wartością nasion rącznika (*Ricinus communis* L.) z upraw na terenie Polski w 1949 r., Dissertationes Pharmaceutica 6; 41—76.
- Wiadrowska J., 1939, Próby chemicznego opracowania oleju rącznika polskiej produkcji, Przegląd Doświadczalnictwa Rolniczego (Review of Agricultural Research) 2; 361—369.

Mikrobiologiczny rozkład alkaloidów tropanowych

Microbiological decomposition of tropane alkaloids

J. KĄCZKOWSKI

Większość cytowanych w literaturze prac na temat bakteryjnego rozkładu alkaloidów posiada charakter jakościowy. Prace Behrensa (1894 i 1896), Faitelowitz (1930), Łypacewicz (1930), Werlego (1938 i 1940), Bucherera (1942a, 1942b), Küstera (1952), Graya i Lachance'a (1956) oraz Możejko (1952) wykazały istnienie szczepów bakterii, głównie glebowych, zdolnych do korzystania z różnych rodzajów alkaloidów jako źródła azotu czy węgla.

O istnieniu bakterii, rozkładających alkaloidy tropanowe donieśli: Łypacewicz (1930), Küster (1952) i Możejko (1952). Autorzy ci wyodrębnili i zidentyfikowali szczepy, korzystające z tych alkaloidów jako jedyne źródła azotu i węgla.

W ostatnich latach szereg autorów zajęło się przebadaniem mechanizmu bakteryjnego rozkładu alkaloidów. Prace te dotyczyły głównie alkaloidów tytoniu, przy czym autorzy uzyskali i zidentyfikowali szereg produktów pośrednich tego rozkładu, jak również wyodrębnili i opisali pewne enzymy, biorące udział w tym rozkładzie. Z autorów tych należy wymienić: Wada i Yamasaki (1954), Frankenburgera (1956), Wada (1956), Toczko (1958) i Hochsteina i Rittenberga (1959a, 1959b). Ponadto Możejko-Toczko (1958) przeprowadziła badania nad mikrobiologicznym rozkładem lupaniny w różnych organach łubinu wąskolistnego.

Główne alkaloidy tropanowe, występujące w rodzajach bielunia (*Datura*), wilczej jagody (*Atropa*) i lulka (*Hyoscyamus*), są związkami o charakterze estrów. Najbardziej znanym alkaloidem z tej grupy jest atropina, którą stosowano w niniejszych badaniach. Jest to mieszanina racemiczna d- i l-hioscyjaminy.

Podstawowym założeniem niniejszej pracy jest zidentyfikowanie produktów powstałych przy rozkładzie alkaloidów tropanowych, mogących

być równocześnie związkami przejściowymi w biosyntezie tych zasad. Przedstawione są również próby wyodrębnienia i bliższego scharakteryzowania enzymów, katalizujących te przemiany. Poznanie tych związków i enzymów mogłoby rzucić światło na końcowe odcinki biosyntezy alkaloidów tropanowych.

I. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Izolowanie i identyfikacja czystych kultur bakterii

Bakterie rozkładające atropinę wyizolowano z gleby, stosując selektywne pożywki, przy czym postępowanie było następujące:

Próbki gleby pobierano z pola doświadczalnego SGGW, na którym w poprzednim roku prowadzono doświadczalną hodowlę bielunia (*Datura stramonium*). Około 10 gramów gleby wytrząsano w 1 litrze wody i przenoszono stąd 1 ml zawiesiny do 100 ml pożywki, według K. Bassalika, o następującym składzie, podanym przez M o ̧ e j k o - T o c z k o (1958):

0,03% KH_2PO_4	0,05% NaCl
0,03% K_2HPO_4	0,05% MgSO_4

Pożywka zawierała ponadto 0,02% siarczanu atropiny. Po trzech pasażach, przy użyciu analogicznej pożywki i po przygotowaniu odpowiednich rozcieńczeń, zawiesinę bakteryjną przenoszono do pożywki o powyższym składzie, zestalonej przez dodanie 1,4% agaru i wylewano na szalki Petriego. Na szalkach uzyskano kolonie o następującej charakterystyce: okrągłe, błyszczące o brzegach gładkich, strukturze jednolitej i zabarwieniu początkowo żółtym, następnie ciemniejącym aż do odcienia czerwono-pomarańczowego, i o konsystencji mazistej.

Czystą kolonię uzyskanego szczepu przeniesiono do pożywki selektywnej i po 2 dniach przeszczepiono na skos agarowy i w takiej postaci przechowywano.

Wyizolowany szczep posiadał następujący obraz mikroskopowy: nieruchliwe pałki, układające się w figury geometryczne o końcach zaokrąglonych i bokach nierównoległych.. Wymiary: średnica — 0,60—0,90 μ , długość około 3 μ . Po 5 dniach następuje degeneracja i rozpad komórek.

Wyizolowany szczep oznaczono według Bergey'a (1957) i stwierdzono, że należy on do klasy *Schizomycetes*, rzędu *Eubacteriales*, rodziny *Corynebacteriaceae* i wykazuje duże podobieństwo do *Arthrobacter terregens*, opisanego przez Lockheeda i Burtona (1953). W stosunku do opisanego, wyizolowany szczep wykazuje następujące różnice. Bakterie

te są gram-dodatnie, na ziemniaku i na mleku rozwijają się, jednak w tym ostatnim nie powodują zmiany odczynu. Na pozostałych standardowych pożywkach również się rozwijają i dopiero po około 12 miesiącach od momentu izolowania z gleby wydatnie spada ich zdolność do rozwoju.

Równocześnie wyizolowano drugi szczep bakterii, rozkładających atropinę, ponieważ jednak jego aktywność była znacznie mniejsza, nie stosowano go w dalszych badaniach.

Przy badaniu optymalnych warunków działania szczepu uwzględniono wpływ temperatury, odczyn, rodzaj podawanego alkaloidu i wykorzystanie azotu i węgla. Bakterie hodowano na pożywkach o pH 5,8 (str. 678). Przy badaniu rodzaju wykorzystywanego alkaloidu do pożywki mineralnej dodawano l-hioscyjamineę, atropinę, skopolamineę i homatropinę. Stopień wykorzystania alkaloidów przez bakterie w wspomnianych warunkach stwierdzano przez oznaczanie ich ubytków.

2. Chemiczna preparatyka pochodnych atropiny

W wyniku chemicznej hydrolizy atropiny uzyskuje się kwasy tropowy i atropowy, oraz zasadę — tropinę. Badając produkty bakteryjnego rozkładu atropiny stwierdzono również produkty kwaśne i zasadowe. Chromatogramy produktów bakteryjnego i chemicznego rozkładu były identyczne z wyjątkiem dodatkowej zasadowej plamy z rozkładu bakteryjnego. Powyższe obserwacje nasunęły wniosek, że wczesne produkty rozkładu bakteryjnego mogą być identyczne z produktami hydrolizy chemicznej. W związku z tym wykonano preparaty tropiny, kwasu tropowego i atropowego w celu ich późniejszego porównania z nieznanymi preparatami, otrzymanymi w wyniku rozkładu bakteryjnego.

Preparaty te otrzymano stosując hydrolizę atropiny przy pomocy stężonego kwasu solnego (L o s s e n 1866) w zatopionej rurce z grubego szkła w temp. 120—130° (K r a u t 1863). Produkty kwaśne hydrolizy rozfrakcjonowano i oczyszczono metodami opisanymi przez L o s s e n a (1866). Tropinę uzyskano z roztworu po hydrolizie po wymyciu frakcji kwaśnej i po alkalizacji, wytrząsając ten roztwór wielokrotnie z chloroformem. Surową zasadę oczyszczano jako krzemowolframian, z którego wolną tropinę uzyskano przy pomocy wodorotlenku sodowego. Temp. topnienia krystalicznego preparatu wynosiła 51—52°, zgodnie z temp. topnienia preparatu uzyskanego przez A m e n o m i y a (1902). Wartość ta dla tropiny, przyjęta w literaturze wynosi 62°.

Preparat tropigeniny otrzymano ze spreparowanej uprzednio tropiny zmodyfikowaną metodą W i l l s t ä t t e r a (1896).

3. Hodowla bakterii i wydzielenie produktów rozkładu atropiny

W celu uzyskania produktów bakteryjnego rozkładu w większych ilościach, oraz masy bakteryjnej w ilości wystarczającej do sporządzenia z niej wyciągu enzymowego, prowadzono hodowlę bakterii w 5 l pożywki o składzie podanym na str. 678, ze zwiększoną jednak zawartością alkaloidu do 0,05%. W tym celu pożywkę sterylizowano w kolbie na 10 l w autoklawie pod ciśnieniem 2 at, jednorazowo przez godzinę, po czym zaszczerpiono ją 50 ml uprzednio przygotowanej gęstwy bakteryjnej. Hodowlę prowadzono w ciągu 12 dni, stosując codzienne napowietrzanie pożywki przy pomocy mieszadła magnetycznego. Po uzyskaniu prawie całkowitego rozkładu zawartego w pożywce alkaloidu (co sprawdzano chromatograficznie), bakterie odwirowano na szybkoobrotowej wirówce typu Servall przy 8500 obr./min ($9260 \times g$). Gęstwę bakteryjną przechowywano do dalszej pracy w próżni w temp. 0°, a klarowny płyn z nad osadu zagęszczono do objętości około 200 ml, silnie zakwaszono stężonym kwasem siarkowym do pH poniżej 1 i wytrząsano 5-krotnie z 50 ml eteru etylowego. Prowadząc rozdzielanie kwaśnego eterowego wyciągu w sposób analogiczny do stosowanego przy preparatyce, uzyskano dwa preparaty, zidentyfikowane w toku badań.

Roztwór pozostały po oddzieleniu frakcji eterowej zagęszczono na łaźni wodnej do zaniku zapachu eteru. Po ostudzeniu roztwór ten silnie alkalizowano przy pomocy stężonego wodorotlenku sodowego i wytrząsano 6-krotnie z 20 ml chloroformu. Wyciąg chloroformowy zagęszczono do objętości około 10 ml, uzyskując żółty roztwór o konsystencji syropu, zawierający produkty zasadowe. Produkty te rozdzielono chromatograficznie na bibule, stwierdzając obecność 2 związków zasadowych, 3 i 4. Po elucji i ponownej chromatografii otrzymano te związki w stanie czystym.

4. Otrzymanie preparatu enzymatycznego i badanie jego aktywności

Przechowywaną w próżni gęstwę bakteryjną użyto do spreparowania proszku acetonowego, według metody podanej przez Appleyarda i Woodsa (1956). Uzyskany proszek acetonowy inkubowano z 0,2 molarnym buforem fosforanowym o pH 6,0 przez 2 godz. w temp. 0°, po czym uzyskany wyciąg odwirowywano od pozostałości.

Przebadano aktywność uzyskanego wyciągu enzymowego w zależności od czasu inkubacji i od stężenia enzymu. W tym celu próbki alkaloidu w ilości około 1,5 mg atropiny w 0,2 molarnym buforze fosforanowym o pH 6,0 traktowano odpowiednią ilością wyciągu enzymowego i przetrzymywano w ciągu określonego czasu w termostacie o temp. 27°. Stosowano 2 rodzaje prób kontrolnych: 1) alkaloid + bufor, i 2) alkaloid + bufor + wyciąg enzymowy, inaktywowany w temp. 100° przez 3 minuty.

Równocześnie wykonano orientacyjne próby rozkładu alkaloidu przy pomocy enzymów, nie wylugowanych z proszku acetonowego. W tym celu sporządzano zawiesinę odwirowanego proszku acetonowego w świeżym buforze o pH 6,0 i całość traktowano roztworem, zawierającym około 1,5 mg alkaloidu. Próbę kontrolną przeprowadzano analogicznie inaktywując jednak enzymy bezpośrednio po dodaniu roztworu alkaloidu przez 3-minutowe gotowanie we wrzącej łaźni wodnej. Zawartość alkaloidu oznaczano w próbie kontrolnej oraz w próbach badanych po 1, 2 i 4 godz. inkubacji.

5. Metody analityczne

a) Oznaczanie zawartości alkaloidów w pożywkach przeprowadzano szybką mikrometodą Reifera, Buchowicza (1955). Obniżono jednak stężenie wodorotlenku sodowego z 2 n do 1 n i próbki przy oznaczeniach seryjnych wytrząsano natychmiast z chloroformem, ponieważ w odczynie zasadowym alkaloid ulega dość szybkiej hydrolizie. Ponieważ zawartość atropiny oznaczano przy dużych stężeniach produktów jej hydrolizy, przebadano, czy produkty te nie przeszkadzają w oznaczeniu. Stwierdzono, że kwas tropowy w ogóle nie daje barwnej reakcji w tych warunkach, a ilość tropiny, odpowiadająca ilości alkaloidu, powoduje błąd nie przekraczający 2%.

b) Metody chromatografii bibułowej. Do wstępnych badań bakteryjnego rozkładu alkaloidów, do identyfikowania uzyskanych produktów, a także do preparatywnego rozdzielania pochodnych zasadowych, stosowano metodę chromatografii bibułowej.

Chromatografia związków o charakterze kwaśnym. Do identyfikowania związków frakcji kwaśnej eterowej stosowano zarówno metodę chromatografii wstępującej, jak i zstępującej na bibule Whatman Nr 1 i Nr 3. Badane substancje наносzono na paski długości 45 cm i szerokości, zależnej od ilości nakraplanych plam. Stosowano 2 rodzaje fazy ruchomej: mieszaninę n-butanolu, kwasu octowego lodowatego i wody w stosunku 50:3:25, gdzie górnej warstwy butanolowej używano do rozwijania, a dolnej, wodnej do wysycania komory jako fazy stałej. Drugą stosowaną fazą była mieszanina 96-procentowego etanolu, stężonego amoniaku i wody w stosunku 80:4:16 (Long i in. 1951). W pierwszym przypadku stosowano dwugodzinną klimatyzację przygotowanego do rozwijania chromatogramu. Czas rozwijania chromatogramów na fazie I na bibule Nr 1 wynosił 30—40 godz., a na bibule Nr 3 — około 16 godz., na fazie II czas ten wynosił w przypadku bibuły Nr 1 około 48 godz., a w przypadku bibuły Nr 3 godzin 28—30. Przy stosowaniu metody zstępującej czas rozwijania był o około

10% krótszy. Po rozwinięciu chromatogramy suszono w temperaturze pokojowej i wywoływano przez spryskiwanie jednym z wywoływaczy wskaźnikowych.

Chromatogramy wywoływano roztworami zieleni bromokrezolowej, błękitu bromotymolowego oraz jego mieszaniny z czerwienią metylową (Block i in. 1955), przy czym ten ostatni roztwór dawał najlepsze wyniki. Spryskany tym wywoływaczem chromatogram kilkakrotnie poddawano działaniu par amoniaku na kilkanaście sekund i uzyskiwano czerwone plamy na żółtozielonym tle, wracającym szybko do czerwonego zabarwienia. Plamy wywołane w atmosferze amoniaku znikwały bardzo szybko, co uniemożliwiało wykonanie fotografii chromatogramów.

Chromatografia związków zasadowych. Produkty zasadowe z alkalicznego wyciągu chloroformowego wstępnie identyfikowano stosując I fazę, to znaczy *n*-butanol, kwas octowy lodowaty i wodę w stosunku 50:3:25. Chromatogramy wykonywano na paskach bibuły Whatman Nr 1 i Nr 3 długości około 45 cm, stosując metodę zstępującą. Analogicznie postępowano przy chromatograficznym badaniu kolejności powstawania zasadowych produktów rozkładu i badaniu aktywności wyciągów z bakteryjnego proszku acetonowego. Przy identyfikacji zasadowych produktów bakteryjnych za pomocą chromatografii bibułowej stosowano ponadto jako fazę ruchomą mieszaninę toluenu i *izo*-butanolu w stosunku 1:1, wysychoną wodą (Büchi, Schumacher 1957), jednak bibułę impregnowano przed nakraplaniem nie buforem boranowym o pH 6,6, lecz buforem fosforanowym o pH 6,5. Ponadto stosowano tę samą fazę z dodatkiem 1% stężonego kwasu solnego, przy czym w tym przypadku nie stosowano impregnacji bibuły. Wysuszone chromatogramy wywoływano przez spryskiwanie zmodyfikowanym odczynnikiem Dragendorffa (Bettschart 1954).

Rozdziału dwóch zasadowych produktów rozkładu atropiny (3 i 4) dokonano również przy pomocy chromatografii bibułowej. Na arkusz bibuły Whatman Nr 3 o długości 45 cm i szerokości 25 cm nakraplano linią ciągłą chloroformowy wyciąg mieszaniny produktów zasadowych w ilości odpowiadającej 2—3 mg suchej masy i rozwijano w ciągu 18—20 godzin. W tym czasie czoło fazy ruchomej dochodziło do końca arkusza. Wysuszony na powietrzu chromatogram spryskiwano zmodyfikowanym odczynnikiem Dragendorffa i po wysuszeniu wycinano oddzielnie rejony odpowiadające poszczególnym związkom. Drobnopokrajane skrawki bibuły przenoszono do rozdzielacza, traktowano 2 *n* wodorotlenkiem sodowym w ilości potrzebnej do odbarwienia brązowo zabarwionej bibuły, co było równoznaczne z rozkładem kompleksu zasady z odczynnikiem Dragendorffa. Uwolnioną zasadę eluowano do chloroformu przez 5-krotne wytrząsanie z porcjami po 10 ml tego odczynnika, chloroform odparowywano do objętości około

2 ml, a uzyskany wyciąg zanieczyszczony jeszcze małymi ilościami drugiego składnika oczyszczano ponownie przez rechromatografię. W ten sposób uzyskano oba zasadowe produkty bakteryjnego rozkładu atropiny w ilościach wystarczających do chromatograficznej identyfikacji.

c) Identyfikacja spektrofotometryczna. Jedną z metod identyfikacji, dotyczącą kwasu tropowego, było spektrofotometryczne wyznaczenie wierzchołków krzywej absorpcji w zakresie widma ultrafioletowego. Pomiary przeprowadzono w spektrofotometrze typu „Algerie” firmy A. Jobin i G. Yvon, przy zastosowaniu lampy wodorowej jako źródła światła.

II. WYNIKI

1. Badanie warunków aktywności bakterii

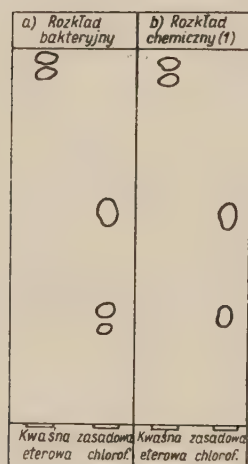
Z przebadanych 4 alkaloidów: atropiny, 1-hioscyjaminy, skopolaminy i homatropiny wyizolowany szczep najlepiej wykorzystywał skopolaminę, nieco gorzej atropinę i 1-hioscyjaminę, natomiast wykorzystanie homatropiny było wyraźnie słabsze. Optymalną temperaturą rozwoju bakterii jest 25—27°. Poniżej 18° i powyżej 33° rozkład atropiny jest nieznaczny. Optymalne pH wynosi około 5,0—6,0. Przy pH 4,0 osiągnięto około 80%-owy rozkład alkaloidu. Wyższe pH nie sprzyja rozwojowi bakterii, a pH 8,0 powoduje już chemiczny rozkład alkaloidu na skutek nadmiaru jonów OH (K a c z k o w s k i 1959).

2. Wstępne badania produktów rozkładu bakteryjnego

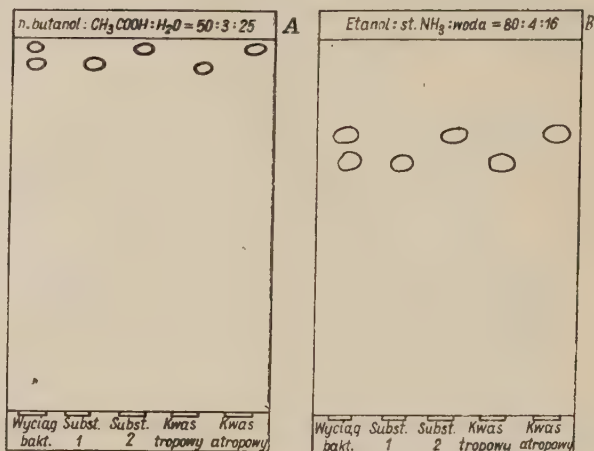
Zagęszczona pożywka po 12-dniowej działalności bakterii i ich odwirowaniu, nakropiona na chromatogram po rozdziale na 2 frakcje kwaśną eterową i zasadową chloroformową i po wywołaniu odczynnikami wskaźnikowym przedstawiała obraz podany na rysunku (ryc. 1a).

Z frakcji eterowej uzyskano 2 plamy kwaśne o wartościach $R_f = 0,90$ i $0,94$, a z frakcji chloroformowej 3 plamy zasadowe: bardzo intensywną i dużą o $R_f = 0,58$, równie intensywną, choć mniejszą o $R_f = 0,31(3)$, oraz niewielką plamę o $R_f = 0,25(4)$. Jak stwierdzono przez wykonanie porównawczego chromatogramu, zasadowa plama o $R_f = 0,58$ odpowiada nie rozłożonej atropinie. Dla porównania przeprowadzono chemiczną hydrolizę atropiny, stosując jako czynniki hydrolizujące gotowanie przez 27 godzin w wodzie (A m e n o m i y a 1902), stężony kwas solny (L o s s e n 1866), 0,1 i 1 n wodorotlenek sodowy (Z w i r b l i s i in. 1956), oraz 0,1 n i nasycony wodorotlenek barowy (K r a u t 1863, L o s s e n 1866).

Hydrolizaty rozfrakcjonowano analogicznie jak w przypadku rozkładu bakteryjnego na frakcję kwaśną eterową i zasadową chloroformową i wykonano chromatogramy. Obrazy były we wszystkich przypadkach analogiczne do przedstawionego na rysunku (ryc. 1b) dla hydrolizy wodnej (Amenomiya 1902), a różniły się pod względem ilościowym, to znaczy intensywnością i wielkością poszczególnych plam. Z porównania chromatogramów rozkładu bakteryjnego i hydrolizy chemicznej widać, że w obu



Ryc. 1. Chromatograficzne porównanie produktów hydrolizy chemicznej z produktami rozkładu bakteryjnego atropiny (rozwijane w układzie I)



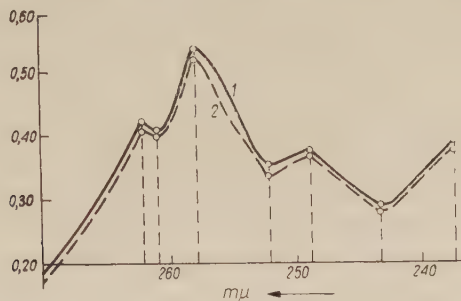
Ryc. 2. Chromatograficzna identyfikacja kwaśnych produktów (nr 1 i nr 2) bakteryjnego rozkładu atropiny. A — w układzie I, B — w układzie II

wypadkach uzyskano analogiczne produkty kwaśne oraz produkt zasadowy o $R_f = 0,31$. Na podstawie tych wstępnych badań nasunęło się przypuszczenie, że produkty kwaśne bakteryjnego rozkładu atropiny to kwasy tropowy i atropowy, natomiast produkt zasadowy to tropina, gdyż według wymienionych wyżej autorów te właśnie produkty powstają w czasie hydrolizy chemicznej atropiny.

3. Identyfikacja poszczególnych produktów rozkładu atropiny

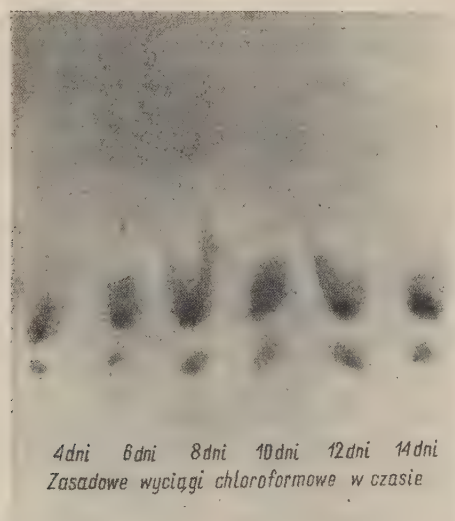
a) Produkty frakcji kwaśnej. Dotychczas nie zidentyfikowane kwaśne produkty rozkładu bakteryjnego chromatografowano równolegle z produktami rozkładu chemicznego atropiny — kwasem tropowym i atropowym jako wzorcami, stosując fazy I i II. Obrazy tych chromatogramów są przedstawione na rycinach 2A i 2B.

Jak wynika z przedstawionych rysunków chromatogramów, wartości R_f dla substancji 1 w obu fazach odpowiadają wartościom R_f dla kwasu tropowego. Stąd nasuwa się wniosek o identyczności substancji 1 z kwasem tropowym. Analogicznie wartości R_f dla substancji 2 są równe wartościom



Ryc. 3. Spektrofotometryczne krzywe absorpcji kwasu tropowego i związku bakteryjnego nr 1

R_f dla kwasu atropowego w wymienionych dwóch układach, co z kolei prowadzi do wniosku o identyczności substancji 2 z kwasem atropowym. Wnioski te potwierdzono w dalszych badaniach. Przede wszystkim ozna-



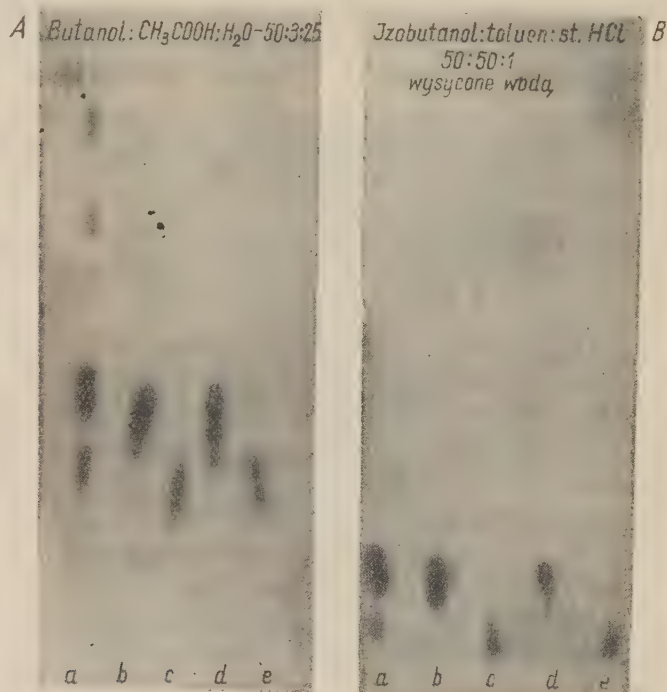
Ryc. 4. Chromatograficzne badanie kolejności powstawania zasadowych produktów bakteryjnego rozkładu atropiny (rozwijane w fazie I)

czono temperaturę topnienia obu tych związków. Uzyskano dla związku Nr 1 temp. topnienia 114° , natomiast dla związku Nr 2 — 108° . Temperatury te są w przybliżeniu zgodne z temp. topnienia podanymi w literatu-

rze dla kwasu tropowego (116°) i atropowego (106°), a zupełnie zgodne z temp. topnienia uzyskanych kwasów tropowego i atropowego drogą chemicznej hydrolizy w toku niniejszych badań.

W końcu wyznaczono krzywe absorpcji widma w granicach 270—230 m μ (w 0,1 n kwasie solnym) dla chemicznie otrzymanego kwasu tropowego i dla bakteryjnego produktu Nr 1. Krzywe te przedstawione są na rycinie 3.

b) Produkty frakcji zasadowej. Wstępny chromatogram, zamieszczony na rycinie 1 wskazuje, że tropina o $R_f = 0,31$, która pojawia się w wyniku wszystkich rodzajów hydrolizy chemicznej, jest również produktem rozkładu bakteryjnego. W odróżnieniu od hydrolizy chemicznej, wyciąg chloroformowy produktów bakteryjnego rozkładu poza postulowaną tropiną, zawierał dodatkowo drugi związek. Związki te należało przeto rozdzielić i otrzymać w stanie chemicznie czystym, jak również przebadać kolejność ich powstawania.



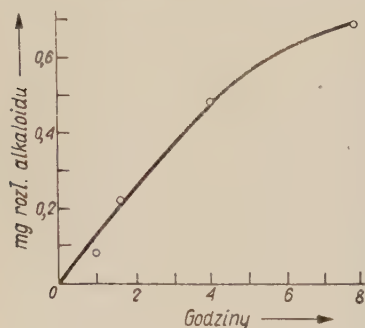
Ryc. 5. Chromatograficzna identyfikacja produktów zasadowych rozkładu bakteryjnego atropiny, nakroplonych równolegle z tropiną i tropigeniną: A — w układzie I; B — w układzie: izo-butanol, toluen, st. HCl = 50:50:1, wyciąg woda; a — wyciąg bakteryjny, b — substancja nr 3, c — substancja nr 4, d — tropina, e — tropigenina

Przytoczony na rycinie 4 chromatogram, na który nakraplano wyciągi chloroformowe z kultur o różnym czasie inkubacji, wskazuje, że jako pierwszy pojawia się związek o $R_f = 0,31$, po nim dopiero związek o $R_f = 0,25$.

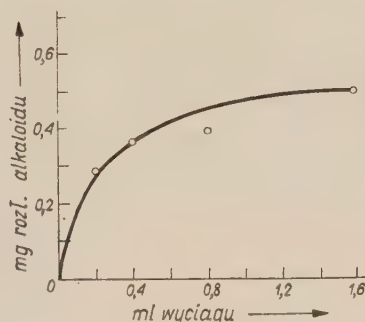
Chloroformowy roztwór związku 3 o $R_f = 0,31$ nakraplano na chromatogramy, na których porównywano ten związek z nakroploną równocześnie, preparatywnie otrzymaną tropiną, jako wzorcem. Chromatogramy rozwijano w dwóch fazach o składzie podanym w metodyce.

Załączone na rycinach 5A i 5B chromatogramy wykazują, że zarówno preparowana tropina, jak i badany związek zasadowy posiadają analogiczne wartości R_f w obu układach. Na tej podstawie wnioskuje się, że pierwszym produktem zasadowym bakteryjnego rozkładu atropiny jest tropina powstająca obok kwasu tropowego w reakcjach hydrolizy atropiny.

W celu zidentyfikowania związku 4, dającego w układzie I plamę o wartości $R_f = 0,25$, przebadano chromatograficznie produkty ważniejszych przekształceń chemicznych tropiny, jak utlenianie jej do tropinonu



Ryc. 6. Zależność enzymatycznego rozkładu atropiny od czasu przy użyciu 0,5 ml wyciągu



Ryc. 7. Zależność enzymatycznego rozkładu atropiny od stężenia wyciągu enzymowego, przy czasie inkubacji = 3 godz.

i kwasu tropinowego oraz przemiany do tropigeniny, tropidyny i dwu-hydroksytropidyny. Były to teoretycznie najbardziej prawdopodobne przekształcenia, obejmujące takie reakcje, jak utlenianie, demetylację i dehydratację cząsteczki tropiny. Stwierdzono chromatograficznie, że tropigenina — powstająca w wyniku demetylacji tropiny — daje po wywołaniu odczynnikami Dragendorffa lub odczynnikami wskaźnikowymi silnie zasadową plamę o R_f analogicznym do tej wartości dla zasadowego związku nr 4, uzyskanego w rozkładzie bakteryjnym. W celu ściślejszego zidentyfikowania badanego związku, otrzymano z tropiny preparatywnie tropigeninę w postaci karbaminianu o temp. topnienia = 158° , według metody

podanej w części doświadczalnej. Otrzymaną tropigeninę nakraplano w charakterze wzorca na chromatogramy obok związku, otrzymanego z rozkładu bakteryjnego, i rozwijano je w dwóch układach, podanych przy identyfikowaniu tropiny. Obrazy uzyskane na chromatogramach, przedstawionych na ryc. 5, wykazują, że oba powyższe związki układają się w obydwu fazach w miejscach o jednakowych wartościach R_f . Bardzo małe ilości czystego związku bakteryjnego uniemożliwiły otrzymanie pochodnych o znanej temp. topnienia. Wniosek, że tropigenina jest również jednym z produktów rozkładu bakteryjnego, opiera się więc wyłącznie na identyfikacji chromatograficznej.

4. Badanie aktywności enzymów, uzyskanych z bakterii

W celu bliższego scharakteryzowania enzymów biorących udział w wyżej opisanych przemianach, wykonano z gęstwy bakteryjnej proszek acetonowy, stosując postępowanie podane w metodyce. Do sporządzenia



Ryc. 8. Chromatogram produktów rozkładu atropiny pod działaniem wyciągu z proszku acetonowego

proszku acetonowego użyto około 30 mg bakterii. Uzyskany proszek inkubowano z około 7 ml buforu fosforanowego o pH 6,0. Przebadano wpływ czasu na stopień rozkładu atropiny przy 0,5 ml wyciągu enzymowego

oraz wpływ stężenia enzymu przy czasie inkubacji = 3 godz. Zależności te podane są na wykresach umieszczonych na rycinach 6 i 7.

Aktywność uzyskanego wyciągu enzymowego była stosunkowo niska. Znacznie aktywniejszy od wyciągu był sam proszek acetonowy, z którym inkubowano alkaloid w pH 6,0. Uzyskane wyniki, podane w tabeli 1 wskazują, że już po 4 godzinach zostało rozłożone 90% atropiny.

Tabela 1

Inkubacja proszku acetonowego z bakterii
z 1,275 mg atropiny

Czas w godz.	Zawartość alkaloidów w próbie w mg	Alkaloid rozłożony w mg	% rozkładu
1	0,925	0,350	27,4
2	0,400	0,875	68,6
4	0,125	1,150	90,5

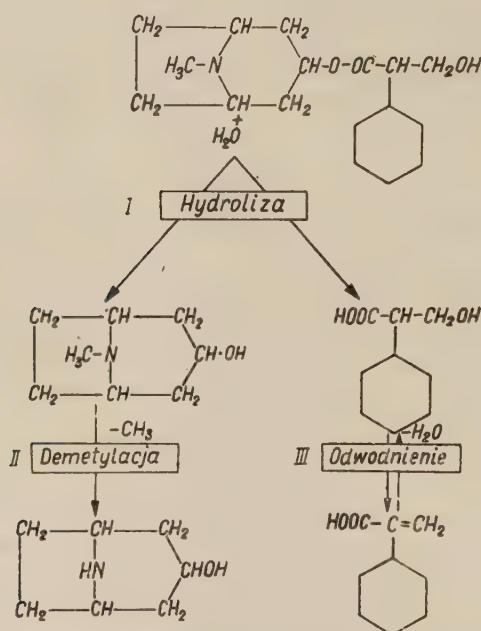
Sporządzone chromatogramy zasadowych, chloroformowych wyciągów produktów rozkładu enzymatycznego atropiny wykazały obecność tylko jednego produktu zasadowego o $R_f = 0,31$, zidentyfikowanego uprzednio jako tropina (ryc. 8). Uzyskany enzym ma więc charakter esterazy, gdyż powoduje hydrolizę atropiny do tropiny, bez dalszego jej rozkładu.

III. DYSKUSJA

Wyniki uzyskane w niniejszych badaniach nad bakteryjnym rozkładem atropiny doprowadziły zasadniczo do sformułowania trzech typów reakcji przebiegających w początkowych stadiach tego rozkładu. Pierwszą z tych reakcji jest hydrolityczny rozpad atropiny jako estru na produkt kwasowy — kwas tropowy, i produkt o charakterze alkoholowym — tropinę. Istnienie tych związków wśród produktów rozkładu można uznać za udowodnione, szczególnie zaś kwasu tropowego, zidentyfikowanego przy pomocy chromatografii bibułowej w dwóch układach, temp. topnienia i widma absorpcyjnego w zakresie fal 270—240 m μ . Wprawdzie widmo wyizolowanej i oczyszczonej substancji wykazuje tylko 3 maksima i 3 minima, a nie 4 maksima i minima, jak to w swych badaniach sugerują Thies i Storgenfrey (1958), ale wykazane szczyty są prawie zgodne z podanymi przez wymienionych autorów. Brak czwartego maksimum jest być może maskowany przez ślady benzenu, który był stosowany do wyimywania kwasu atropowego.

Drugą reakcją, przebiegającą tylko do pewnego stanu równowagi, jest odwodnienie kwasu tropowego do atropowego. Powstawanie tej substancji można także uznać za udowodnione chromatograficznie i przez oznaczenie temp. topnienia wyizolowanego, czystego związku. Niezależnie od czasu działania bakterii na alkaloid, uzyskiwano zawsze mieszaninę tych dwóch kwasów z znaczną przewagą kwasu tropowego. Oba te związki były produktami końcowymi przemiany materii opisanego szczepu, gdyż bakterie te nie rozwijały się na mieszaninie wymienionych kwasów, nawet po dodaniu azotu mineralnego w postaci soli amonowej.

Trzecią reakcją, którą sugerują przedstawione na ryc. 5 chromatogramy, byłaby reakcja demetylacji tropiny, w wyniku której powstaje



Ryc. 9. Schemat pierwszych stadiów bakteryjnego rozkładu atropiny (objaśnienia w tekście)

tropigenina. Demetylacja tropiny do tropigeniny została dowiedziona jedynie chromatograficznie, gdyż otrzymano z rozkładu bakteryjnego bardzo nieznaczne ilości tego związku. Jednakże porównanie substancji bakteryjnej z chemicznie otrzymaną tropigeniną w dwóch fazach na drodze chromatografii bibułowej pozwala przyjąć, że demetylacja przebiega również w procesie bakteryjnego rozkładu tropiny. Schemat omówionych reakcji jest podany na rycinie 9.

Z enzymów, katalizujących wyżej omawiane reakcje otrzymano w wyciągu z proszku acetonowego i bliżej przebadano jedynie esterazę atropiny, katalizującą hydrolizę estru do kwasu tropowego i tropiny. Aktywność uzyskanego wyciągu była stosunkowo niska bądź na skutek nieodpowiednich warunków ekstrakcji, bądź na skutek nierozpuszczalności enzymu rozkładającego jedną z optycznych form atropiny. Przypuszczenie takie byłoby zgodne z doniesieniami Gocheaux i Moyens (1949), oraz Wernera (1958), którzy z serum krwi królika otrzymali esterazę atropiny, rozkładającą tylko 1-formę. Atropina, inkubowana nie z buforowym wyciągiem, lecz z suchym proszkiem acetonowym, uległa prawie całkowitemu rozkładowi, co świadczy o obecności w nim enzymów hydrolizujących obie formy optyczne alkaloidu. Obecności innych enzymów, katalizujących pozostałe opisane dwie reakcje, nie badano w bakteryjnym proszku acetonowym.

Tropina i tropigenina mogą być bezpośrednimi prekursorami biosyntezy hioscyjminy w roślinach wyższych, zgodnie z postulowanym założeniem niniejszej pracy — odwracalnością reakcji enzymatycznych w przemianach alkaloidów tropanowych. Przemawiają za tym rozważania Cromwella (1943), Diaperà i in. (1951), oraz Robinsona (1953), według których szkielet tropanowy powstaje przed metylacją azotu. Autorzy ci podają w swych przypuszczeniach, że jednym z przejściowych związków w biosyntezie może być nor-tropinon. Dotychczas nie wiemy, czy metylacja azotu następuje przed czy też po redukcji grupy ketonowej nor-tropinonu do grupy wodorotlenowej, przeto nie można wykluczyć możliwości metylacji po redukcji nor-tropinonu do tropigeniny (nor-tropiny). Z drugiej strony stwierdzenie przez Bendikà i in. (1958) wolnej tropiny w *Scopolia carniolica* wskazywałoby na syntezę hioscyjminy bezpośrednio poprzez esteryfikację, a zatem tropina byłaby również związkiem przejściowym tej biosyntezy.

Kierownikowi Katedry, Panu prof. dr I. Reiferowi za cenne rady i pomoc w czasie wykonywania niniejszej pracy oraz Pani dr M. Toczko za pomoc przy wykonywaniu części mikrobiologicznej autor składa na tym miejscu serdeczne podziękowanie.

STRESZCZENIE

1. Wyizolowano z gleby i bliżej przebadano szczep bakterii, zdolnych do korzystania z alkaloidów tropanowych, jako jedyne źródła azotu i węgla. Szczep ten oznaczono według Bergeya i stwierdzono, że jest on bardzo podobny do *Arthrobacter terregens*.

2. Wyizolowano i zidentyfikowano 4 produkty bakteryjnego rozkładu atropiny: kwasy tropowy i atropowy, oraz tropinę i tropigeninę.

3. Otrzymano z bakterii proszek acetonowy i wyciąg wodny z tego proszku, w którym stwierdzono esterazę atropiny, katalizującą rozkład tego alkaloidu do tropiny i kwasu tropowego, oraz wykonano wstępne badania nad kinetyką tego enzymu.

4. Dyskutowana jest możliwość roli wymienionych produktów bakteryjnego rozkładu alkaloidów tropanowych jako związków przejściowych ich biosyntezy.

Katedra Biochemii

*Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie*

(Wpłynęło dn. 17.7.1959)

SUMMARY

1. A bacteria, utilizing tropane alkaloids as the sole source of carbon and nitrogen, has been isolated from soil. Its properties have been investigated. This strain possesses many characteristics of *Arthrobacter terregens*.

2. Four products of bacterial decomposition of atropine have been isolated and identified. These products are: tropic acid, atropic acid, tropine and tropigenine.

3. Acetone powder has been prepared from the bacteria and aqueous buffered extract contained atropine esterase, which catalysed the decomposition of this alkaloid to tropine and tropic acid. Preliminary investigations, concerning kinetics of this enzyme were carried out.

4. The possibility of the role of these decomposition products as possible precursors in the biosynthesis of tropane alkaloids are discussed.

*Chair of Biochemistry
College of Agriculture
Warsaw, (Poland)*

LITERATURA

- Amenomiya T., 1902, Überführung des Atropins in d- und l-Hioscyamine, Arch. Pharm. 240: 498—504.
- Appleyard C., Woods D., 1956, The Pathway Creatin Catabolism by *Pseudomonas ovalis*, J. Gen. Microbiol. 14(2): 351—365.
- Behrens J., 1894, Weitere Beiträge zur Kenntnis der Tabakpflanze, Land. Vers. Stat. 46: 271.
- Behrens J., 1896, Über Mikroorganismen des Tabaks nach der Ernte, Land. Vers. Stat. 46: 163.
- Bendik J., Bauerowa O., Bauer S., Mokry J., Tomko J., 1958, Alkaloidy zo *Scopolia carniolica*. Chem. Zvesti 12(3): 181—184.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, VII Ed. Bailiere, Tyndall and Cox LTD London 1957.

- Bettschart A., 1954, Über die Eignung chromatographischer Verfahren für die Trennung der Alkaloidgemischen unter besonderer Berücksichtigung der Tropin- und der Opium-alkaloide, Zürich (praca doktorska).
- Block R. J., Durrum E. L., Zweig G. A., 1955, A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis, Acad Press New York, p. 160.
- Bucherer R., Enders C., 1942a, Abbau von Histamin und Nicotin durch Bakterien, Biochem. Z. 310: 222.
- Bucherer H., 1942b, Über den mikrobiellen Abbau von Giftstoffen, Mitt II, Zentr. f. Bact. II. 105: 445.
- Büchi J., Schumacher H., 1957, Die Reinheitsprüfung der Alkaloide mit Hilfe der Papierchromatographie. I. Solanaceen Alkaloide, Pharm. Acta Helv. 32(2): 75—98.
- Cromwell B. T., 1943, Studies on the Synthesis of Hyoscyamine in *Atropa belladonna* L. and *Datura stramonium* L., Biochem. J. 37: 717—726.
- Diaper D. G. M., Kirkwood S, Marion L., 1951, The Biogenesis of Alkaloids. III. A Study of Hyoscyamine Biosynthesis using Isotopic Putrescine, Canad. Journ. Chem. 29(11): 964—969.
- Duncan R. E. B., Porterus J. W., 1953, The Identification and Determination of the Lower Straight-Chain Fatty Acids by Paper Partition Chromatography, Analyst 78: 641—646.
- Faitelowitz A., 1930, Zur Kenntnis des Nicotinabbaus im Tabak, Biochem. Z. 224: 460.
- Frankenburg W G., 1955, Nicotine Degradation in vitro Induced by Agents from Tobacco Seed., Nature (Lond.) 175(4465): 945.
- Gocheaux, Moyens, 1949, Investigations into Atropine Metabolism in the Animal Organism, Acta Pharmacol. et Toxicol. 5: 95—109.
- Gray P. H., Lachance R. A., 1956, Assimilation of Berberine by Bacteria, Nature (Lond.) 177: 1182.
- Hochstein L. J., Rittenberg S. C., 1959 a, The Bacterial Oxidation of Nicotine. I. Nicotine Oxidation by Cell Free Preparations, J. B. C. 234(1): 151—155.
- Hochstein L. J., Rittenberg S. C., 1959b, The Bacterial Oxidation of Nicotine. II. The Isolation of the First Oxidation Product and its Identification as (1)-6-hydroksynicotine, J.B.C. 234(1): 156—160.
- Kączkowski J., 1959, Badania nad biologicznym rozkładem alkaloidów tropanowych w powiązaniu z drogami ich biosyntezy (praca doktorska wykonana w Kat. Biochemii SGGW, nie opublikowana).
- Kraut K., 1863, Über das Atropin, Annalen 128: 280—285.
- Lockheed, Burton, 1953, Canad. J. Botany 31, 7. L. C. Bergeys Manual of Determinative Bacteriology VII Ed. London 1957, p. 611—612.
- Long A. G., Quagh J. R., Stedman R. J., 1951, The Separation of Acids by Paper Partition Chromatography, J. Chem. Soc. 2197—2201.
- Küster E., 1952, Abbau heterocyclischer N-Verbindungen durch verschiedene Bodenmikroorganismen, Zbl. Bacter. Parasit. 158: 350—357.
- Lossen W., 1866, Über das Atropin, Annalen 138: 231—241.
- Lypacewicz J., 1930, Rozkład alkaloidów przez bakterie, Acta Soc. Bot. Pol. 7(4): 553—582.
- Możejko M., 1952, Rozkład alkaloidów przez mikroorganizmy glebowe (praca magisterska wykonana w Zakładzie Fizjologii Roślin UW pod kierunkiem K. Bassalika, nie opublikowana).

- Możejko-Toczko M., 1958, Rozkład lupaniny przez *Pseudomonas lupanini* (praca doktorska, wykonana w Zakładzie Biochemii Roślin Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN, nie opublikowana).
- Reifer I., Buchowicz J., 1955, Mikrometoda oznaczania alkaloidów tropowych w materiale roślinnym, *Acta Biochim. Polon.* 2: 187—198.
- Robinson R., 1955, Biogenesis of Alkaloids in Solanaceae, *Nature (Lond.)* 172: 344—345.
- Thies H., Storgenfrey Cl. H., 1958, Über die spektrophotometrische Bestimmung von Alkaloiden in ultravioletten Spektralbereich bei 2637 Å, *Arch. Pharm.* 291/63 (2): 68—76.
- Toczko K., 1958, Mikrobiologiczny rozkład nikotyny, *Acta Biochim. Polon.* 5(4): 373—379.
- Wada E., 1956, Microbial Degradation of Nor-nicotine, *Arch. Biochem. Biophys.* 64: 244.
- Wada S., Yamasaki K., 1954, Degradation of Nicotine by Soil Bacteria, *J. Am. Chem. Soc.* 76: 155.
- Werle E., 1938, Über Entgiftung von Nicotin durch tierische Gewebe, *Biochem. Z.* 298: 267.
- Werle E., Über die Histamin-zerstörende Fähigkeit von Bakterien, *Biochem. Z.* 306: 265.
- Werner G., 1958, Untersuchungen über den Abbau von Tropan-Alkaloiden durch Esterasen. IV International Congress of Biochemistry, Wien, Abstracts of Communications 4—3, 37.
- Willstätter R., 1896, Zur Kenntnis von Tropinon und Nortropinon, *B.* 29: 1575 i 1584.
- Zwirblis P., Socholitzky I., Kondritzer A. A., 1956, The Kinetics of Hydrolysis of Atropine, *J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 45(7): 450—454.

Badania cytologiczne nad czterema gatunkami rodzaju *Ranunculus* L.

Cytological studies in four species of the genus Ranunculus L.

A. TOMASZEWSKI

WSTĘP

Celem niniejszej pracy było poznanie szczegółów budowy kariologicznej różnych biotypów następujących gatunków rodzaju *Ranunculus*: *R.acer* L., *R.lanuginosus* L., *R.bulbosus* L. oraz *R.repens* L. Jak wynika z dotychczasowych badań, w obrębie rodzaju *Ranunculus* pewne gatunki posiadają liczbę podstawową 7, inne zaś 8. Spośród badanych w niniejszej pracy gatunków do pierwszej grupy należą: *R.acer* L. i *R.lanuginosus* L.; pierwszy z nich jest diploidem ($2n = 14$), a drugi tetraploidem ($2n = 28$). Do drugiej grupy należy diploidalny *R.bulbosus* L. ($2n = 16$) oraz tetraploidalny *R.repens* L. ($2n = 32$). Gatunki te były już poprzednio badane przez licznych autorów. Dla *R.acer* L. większość autorów podaje somatyczną liczbę chromosomów $2n = 14$. (H. Sorokin 1927, Senjaninowa 1926, O. Langlet 1927, Larter 1932, M. Skalińska — badania nie opublikowane). Jedynie we wcześniejszej pracy H. Sorokin (1924) podała $2n = 12$, 18 oraz liczby pośrednie $2 = 13$, 14, 15. Liczba $2n = 28$ była podana dla *R.lanuginosus* L. przez Bruuna (1932) i Gregory'ego (1941) Mattick (1949 wg Tischlera 1950) znalazła wprawdzie $2 = 28$, lecz również $2n = 32$. Dla *R.bulbosus* L. zarówno Larter (1932), jak i Böcher (1938) ustalili $2n = 16$, zaś Matsuura i Suto (1925 wg Tischlera 1950) podali $n = 7$ i $n = 8$. Somatyczna liczba chromosomów 32 u *R.repens* L. została stwierdzona przez Langleta (1927a), Lartera (1932) i innych (Tischler 1950). Wyniki niniejszej pracy potwierdziły podane dotychczas liczby chromosomów wymienionych gatunków, wykazały jednak pewne zróżnicowanie morfologii chromosomów u różnych biotypów *Ranunculus acer* L.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań cytologicznych pochodził wyłącznie ze stanowisk naturalnych. Rośliny zbierałem w latach 1949—1951. Okazy *R. repens* L. i *R. lanuginosus* L. zebrali i utrwalony materiał przekazał mi mgr K. Wróbel. Ogółem zbadano *R. acer* L. z 14, *R. lanuginosus* L. z 4, *R. bulbosus* L. z 5, a *R. repens* L. z 18 stanowisk. Najlepsze wyniki otrzymano stosując utrwalacze Navashina oraz Delaunay'a. Do utrwalania na stanowiskach naturalnych utrwalacz Navashina rozcieńczany był wodą destylowaną w stosunku 1 : 1. Skrawki mikrotomowe grubości 11 μ barwiono 0,5% roztworem wodnym fioletu gencjanowego, różnicując roztworem fenolu w ksylene w stosunku 1 : 3. Rysunki wykonano spod aparatu rysunkowego Leitz. Powiększenie rysunków wynosi ok. 2700 $\times$, a powiększenie mikrofotografii ok. 2100 $\times$.

ROZMIESZCZENIE GEOGRAFICZNO-EKOLOGICZNE BADANYCH GATUNKÓW

Gatunek *Ranunculus acer* L. wykazuje bardzo szeroki zasięg geograficzny. Należy on do gatunków holarktycznych (Szafer 1949). Do dotychczasowych badań cytologicznych używano przeważnie materiału pochodzącego z północnych części Europy; Larter (1932) badał rośliny pochodzące z Ogrodu Botanicznego w Kew, Langlet (1932) używał do badań materiału pochodzącego ze Sztokholmu, Laplandii i Kopenhagi, zaś Böcher (1938) z Danii, wysp Faröes i Islandii. Według Hegiego (1906) *R. acer* L. rośnie na terenie całej Europy, Azji północnej i południowej, Ameryki Północnej, Abisynii oraz Grenlandii. W Polsce zgodnie z danymi „Flory Polskiej“ (1927), występuje na wilgotnych łąkach, wśród zarośli, na niżu i w górach aż po piętro kosodrzewiny. W Tatrach sięga po 1740 m. *R. lanuginosus* L. występuje w Europie południowej i środkowej (do Danii), brak go w Skandynawii i północnej Rosji (Hegi 1906). W Polsce rośnie w cienistych lasach liściastych w glebie bogatej w próchnicę. W Tatrach sięga po 1640 m („Flora Polska“ 1927). *R. bulbosus* L. występuje w Europie, z wyjątkiem jej północnej oraz wschodniej części, w Norwegii po 60°24', Azji, Persji północnej, w Ameryce Północnej. Występuje na suchych łąkach wśród traw, dochodzi w górach do 2130 m n.p.m. (Hegi 1906). W Polsce rośnie na wzgórzach, łąkach, miejscach trawiastych. Przekracza wschodnią granicę Polski („Flora Polska“ 1927). *R. repens* L. występuje w Europie, na Kaukazie, w Persji, na Syberii do Kamczatki, w północnej Afryce, zawleczony do Ameryki Północnej (Hegi 1906). W Polsce rośnie na niskich wilgotnych łąkach, na brzegach rzek, w zaroślach itd. Występuje w całym kraju, sięgając w Karpatach po dolną granicę kosodrzewiny; w Tatrach po 1540 m („Flora Polska“ 1927).

Wykaz 1

A. WYKAZ STANOWISK *RANUNCULUS ACER* L.

1. Dolina Strążyska — przy ścieżce koło mostku (ok. 900 m n.p.m.).
2. Zbocze Łysanek — las świerkowy (ok. 1400 m n.p.m.).
3. Ścieżka wśród piargów koło Wielkiej Turni — szczeliny skał wapiennych, małe skrawki muraw (ok. 1600 m n.p.m.).
4. Kominek koło Wielkiej Turni — szczeliny skał wapiennych (ok. 1700 m n.p.m.).
5. Zbocze nad Droga pod Regłami (ok. 900 m n.p.m.).
6. Droga pod Regłami — wśród traw i krzewinek (ok. 900 m n.p.m.).
7. Kraków—Dębники — Zbocze trawiaste przy drodze ku Wiśle.
8. Lasek Wolski — przy ścieżce.
9. Lasek Wolski — Zwierzyniec.
10. Miechowice (Górny Śląsk) — w nieuprawianej części ogrodu, wśród wysokich traw.
11. Miechowice—Osiedle — młody lasek mieszany, wśród traw.
12. Stolarzowice (Górny Śląsk) — przy drodze w lesie mieszanym.
13. Bytom—Dąbrowa — park, wśród traw i krzewów.
14. Łańcut — w parku wśród wysokich traw.

B. WYKAZ STANOWISK *RANUNCULUS BULBOSUS* L.

1. Dolina Bentkowska — wśród traw.
2. Kraków—Dębники — trawiaste zbocze.
3. Ojców — na zboczu wśród traw i krzewów.
4. Skały Twardowskiego k. Krakowa — na skraju młodego lasu mieszanego w zaroślach, wśród traw.
5. Lasek Wolski k. Krakowa — na skraju lasu, wśród traw i krzewów.

BADANIA CYTOLOGICZNE

W toku niniejszej pracy potwierdzone zostały somatyczne liczby chromosomów czterech następujących gatunków rodzaju *Ranunculus*:

R.acer L. — $2n = 14$

R.lanuginosus L. — $2n = 28$

R.bulbosus L. — $2n = 16$

R.repens L. — $2n = 32$.

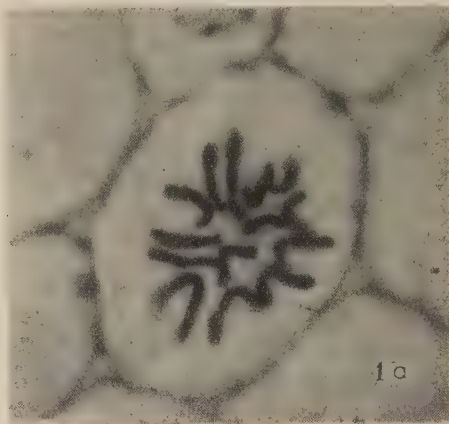
Dwa pierwsze gatunki posiadają liczbę podstawową 7, u dwu następnych występuje liczba 8.

Należy zaznaczyć, że u okazów *R.acer* L. pochodzących z 14 stanowisk naturalnych, bardzo różnych pod względem ekologicznym, dały się zaobserwować różnice dotyczące szczegółów budowy kariologicznej. Na ogół zbadać okazy dają się podzielić na dwie grupy, wyraźnie różniące się morfologią chromosomów. W wyniku badań płytek somatycznych stwierdzono, że biotypy *R.acer* L. pochodzące ze stanowisk górskich (wykaz 1 A., stan:

1—5) posiadają siedem normalnych par chromosomów homologicznych (Fig. 2, 2a, tab. 1). Występuje tu jedna para chromosomów równoramien-nych, pięć par chromosomów nierównoramien-nych, o proporcjach ramion ok. 4 : 3, 2,5 : 1, 2 : 1 i 4 : 1, oraz jedna para chromosomów z trabantem.



1



1a

Fig. 1—1a Płytki somatyczna *Ranunculus acer* L., stan. 10, typ nizinny. W dolnej części duży równoramienny chromosom nieparzysty, u góry — mały równoramienny

Root-tip metaphase of *Ranunculus acer* L. (lowland type). Bottom left: the large isobrachial chromosome; top: the small isobrachial chromosome

Trabanty jednak nie we wszystkich płytkach były widoczne. Rośliny ze stanowisk nizinnych, w przeciwieństwie do poprzednich, posiadają tylko 6 wyraźnych par. Brak tu pary chromosomów nierównoramien-nych, o proporcji ramion 4 : 1 (wymiary ramion 4,75 : 1,25 μ), a zamiast niej występują



2



2a

Fig. 2—2a Płytki somatyczna *Ranunculus acer* L., stan. 3, typ górski, 7 par
Root-tip metaphase of *Ranunculus acer* L. (mountain type). Seven pairs

dwa chromosomy równoramienne, wyraźnie różniące się od siebie wielkością (Fig. 1, 1a). Jeden z nich jest największy, drugi zaś przedstawia najmniejszy chromosom w kompleksie (wymiary ich ramion: 4,45 : 4,00 μ i 1,75 : 200 μ , tab. 1). Te dwa równoramienne chromosomy nieparzyste zastępują przypuszczalnie parę chromosomów nierównoramiennych o proporcji ramion ok. 4 : 1, dającą się obserwować w kompleksie typów górskich.

U *Ranunculus bulbosus* L. ($2n = 16$) występuje jedna para chromosomów równoramiennych, jedna para chromosomów nierównoramiennych

Tabela 1

Ranunculus acer L.: długość i proporcje ramion chromosomów
Średnie z 30 pomiarów

(Length and arm proportions of chromosomes of the mountain and the lowland type.
Average values from 30 measurements)

	Forma górską Mountain type		Forma nizinna Lowland type	
	długość ramion w μ Length of arms in μ	przybliżone pro- porcje ramion Proportions of arms	długość ramion w μ Length of arms in μ	przybliżone pro- porcje ramion Proportions of arms
I para	3,90:3,60	1:1	2,87:2,87	1:1
I pair	4,05:3,50		2,90:2,75	
II para	2,70:2,15	4:3	3,00:2,05	3:2
II pair	2,75:2,15		3,00:2,00	
III para	3,25:1,25	2,5:1	3,00:1,70	2:1
III pair	3,40:1,35		3,00:1,70	
IV para	2,05:1,25	2:1	3,50:1,25	3:1
IV pair	2,25:1,25		3,45:1,20	
V para	3,00:1,80	2:1	3,45:1,00	3,5:1
V pair	2,75:1,55		3,50:1,00	
VI para	4,75:1,25	4:1	—	—
VI pair	4,80:1,30			
bez pary	—		4,45:4,00	
without pair				1:1
bez pary	—		1,75:2,00	
without pair				
VII para	4,50		3,50	
VII pair	4,50		3,65	
(Chromosomy z traban- tami—całkowita długość				
(Chromosomes with trabants—total length)				

o proporcji 4 : 3, dwie pary chromosomów nierównoramiennych o proporcjach 3 : 2, trzy pary o proporcjach 3 : 1 oraz jedna para chromosomów z trabantem (Fig. 3). Zarówno u obydwu typów *R.acer* L. jak u *R.bulbosus* L. występują chromosomy równoramiennie oraz nierównoramiennie

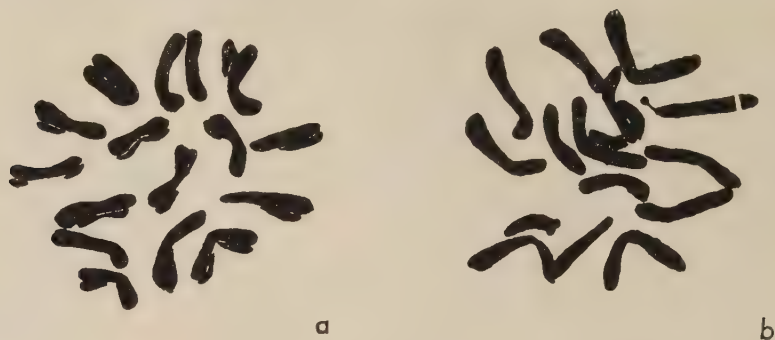


Fig. 3. Płytki somatyczne: a — *Ranunculus bulbosus* L., stan 2; b — *R.bulbosus* L., stan 4

Root-tip mitoses of *R.bulbosus* L.

o proporcji ramion 2 : 1, jak również para chromosomów z trabantem. Występowanie u nizinnego typu *R.acer* L. dwu chromosomów niehomologicznych wskazuje na istnienie pewnego odchylenia od tej typowej struktury

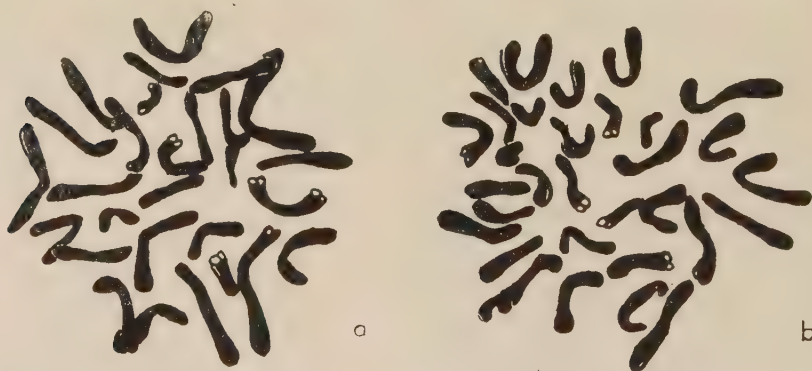


Fig. 4. Płytki somatyczne: a — *Ranunculus lanuginosus* L., stan 1, b — *Ranunculus repens* L., stan 12

Root-tip metaphases: a — *R. lanuginosus* L.; b — *R. repens* L.

kariologicznej, jaka daje się obserwować u *R.bulbosus* L. oraz u biotypów górskich *R.acer* L.

Szczegółowej morfologii chromosomów obu tetraploidalnych gatunków *R.repens* L. (Fig. 4b) i *R.lanuginosus* L. (Fig. 4a) nie studiowałem, lecz u obu tych gatunków występują również podobne typy chromosomów:

Wykaz 2

A. WYKAZ STANOWISK *RANUNCULUS LANUGINOSUS* L.

1. Dolina Bentkowska — Polanka w lasku bukowym.
2. Ojców — Na zboczu wśród traw i młodych świerków.
3. Tatry—Droga pod Reglami — Wśród traw i młodych drzewek.
4. Tatry—Droga pod Reglami — przy strumyku wśród niskich traw.

B. WYKAZ STANOWISK *RANUNCULUS REPENS* L.

1. Katowice — Wśród traw przy schodach do Parku Kościuszki.
2. Katowice — Park Kościuszki; wśród wysokich traw i krzewów.
3. Świerklaniec (Górny Śląsk) — Na łące przy stawie, wśród drobnych traw; podłoże torfiasto-bagienne.
4. Kraków — nad rowem, wśród traw, łopianu, lebiody.
5. Kraków — Ogród Botaniczny, wśród traw.
6. Dolina Bentkowska — Zbocze nad potokiem, gleba gliniasta.
7. Dolina Bentkowska — w lasku bukowym na polance.
8. Ojców — wśród traw.
9. Modlin — między potokami, na łące; wśród traw i turzyc.
10. Modlin — nad brzegiem Narwi wśród wierzb.
11. Puszcza Kampinowska — koło Strzeleckich Łąg, wśród wysokich drzew; podłoże bagniste.
12. Częstochowa—Lesiniec — obok zabudowań gospodarczych, wśród traw.
13. Dolina Strążyska — przy strumieniu wśród traw i podbiału.
14. Dolina Strążyska — na zboczu wśród paproci w lesie świerkowym.
15. Droga pod Reglami — nad strumieniem; wśród traw.
16. Zbocze trawiaste koło Wielkiej Turni (ok. 1600 m n.p.m.).
17. Hala Kondratowa — wśród traw.
18. Zakopane — obok drogi wśród chwastów i traw.

chromosomy równoramienne i nierównoramienne oraz chromosomy z trąbantem. Należy dodać, że u *R.repens* L. pochodzącego ze stanowiska nr 1 (Wykaz 2 B) zaobserwowałem jednorazowo zjawisko spontanicznego podwojenia liczby chromosomów w peryblemie stożka wzrostu korzenia. Znaleziona płytka somatyczna posiadała 64 chromosomy.

DYSKUSJA

Niniejsze badania cytologiczne potwierdzają wyniki dawniejszych prac dotyczących liczb chromosomów gatunków: *R.acer* L., *R.lanuginosus* L., *R.bulbosus* L. oraz *R.repens* L. Gatunki te przedstawiają diploidy i tetraploidy z liczbą podstawową 7 oraz diploidy i tetraploidy z liczbą podstawową 8. Powyższe liczby podstawowe są charakterystyczne dla rodziny *Ranunculaceae*, np. 7 występuje u rodzajów: *Aquilegia*, *Isopyrum*, *Hepa-*

tica, *Thalictrum*, a 8 u rodzajów: *Delphinium*, *Aconitum*, *Anemone* (Gregory 1941).

Każdy z czterech badanych gatunków *Ranunculus*, zdaje się być jednolity pod względem liczby chromosomów, mimo dużych różnic w morfologii zewnętrznej roślin pochodzących z różnych i częstokroć odległych stanowisk. Charakterystyczne zróżnicowanie stwierdzone zostało jedynie w obrębie gatunku *R. acer* L. Wyraża się ono nie w liczbie chromosomów, lecz w ich morfologii. U okazów *R. acer* L. pochodzących ze stanowisk górskich, kompleks 14-chromosomowy daje się uszeregować w wyraźne pary. Natomiast dla biotypów nizinnych charakterystyczne jest występowanie tylko sześciu wyraźnych par, a oprócz nich obecność dwu chromosomów równoramiennych różnej wielkości. Obecność dużego nieparzystego chromosomu w obrębie kompleksu stwierdziła M. Skalińska w r. 1950 (praca nie publikowana) u karłowatych okazów *R. acer* L. rosnących na podłożu galmanowym w okolicach Olkusza. Tego rodzaju zjawisko nie zostało dotychczas opisane przez innych autorów; zarówno Sorokina (1927), jak Langlet (1927) i Larter (1932) opisują kompleksy chromosomowe z normalnymi parami. Natomiast wyniki badań przeprowadzonych przez badaczy angielskich Schafer i La Cour (1934) nad okazami *Aconitum variegatum* z Tyrolu wykazują stosunki podobne do zaobserwowanych u *R. acer* L. Występuje tu w obrębie kompleksu ($2n = 16$) tylko sześć par chromosomów, pozostałe zaś cztery chromosomy nie stanowią dwóch par, gdyż różnią się morfologią i wielkością. Interesujące uzupełnienie tych spostrzeżeń dają wyniki badań W. Leszczak (1950) na materiale tatrzańskim *Aconitum variegatum* ($2n = 16$). Stwierdziła ona obecność wyraźnych ośmiu par chromosomów. Powstanie nieparzystych chromosomów u okazów z Tyrolu wyjaśnia autorka przypuszczeniem wymiany niehomologicznych odcinków między chromosomami homologicznymi. Mianowicie para dużych chromosomów nierównoramiennych mogła przypuszczalnie wymienić między sobą odcinki niehomologiczne w ten sposób, że oba ich dłuższe ramiona utworzyły jeden duży chromosom równoramienny (izochromosom), a równolegle przez połączenie ramion krótszych mógł powstać chromosom mały. Gdy zestawimy więc wyniki pracy Schafer i La Cour (1934) oraz W. Leszczak (1950) z wynikami niniejszej pracy (materiał tatrzański i nizinny *R. acer*) możemy w podobny sposób interpretować powstanie nieparzystych chromosomów u biotypów nizinnych tego gatunku. Wskazywałoby to na pierwotniejszą strukturę kariologiczną biotypów tatrzańskich. Z różnicami cytologicznymi wiążą się pewne różnice morfologii zewnętrznej. Nadto biotypy górskie wykazują odmienną reakcję na wyrównane warunki pola doświadczalnego niż rośliny nizinne. Okazały się one niezdolne do zaaklimatyzowania się w nowych

warunkach i w krótkim czasie wyginęły. Wśród roślin górskich jedynie okazy pochodzące z najniższego odcinka Drogi pod Regłami (ok. 900 m n.p.m.) i posiadające podobny skład chromosomowy do roślin typu nizinnego, nie wykazały specjalnych zakłóceń rozwojowych i przetrwały o wiele dłużej niż rośliny pochodzące z wyższych stanowisk górskich.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

Praca niniejsza podaje wyniki badań dotyczących liczby i morfologii chromosomów gatunków: *R.acer* L., *R.bulbosus* L. oraz liczby chromosomów gatunków *R.repens* L. i *R.lanuginosus* L., ogółem z 41 naturalnych stanowisk z południowej Polski oraz Tatr. Ustalone liczby chromosomów są zgodne z wynikami badań poprzednich. *R.acer* L. ($2n = 14$) i *R.bulbosus* L. ($2n = 16$) są diploidami o liczbach podstawowych 7 i 8. *R.lanuginosus* L. ($2n = 28$) i *R.repens* L. ($2n = 32$) są tetraploidami o liczbach podstawowych 7 i 8. W obrębie gatunku *R.acer* L. stwierdzone zostało zróżnicowanie na dwa główne kariotypy: górski i nizinny. W kompleksie chromosomów pierwszego występuje 7 wyraźnych par, drugi zaś posiada tylko 6 par chromosomów homologicznych, a nadto dwa równoramienne chromosomy nieparzyste, z których jeden jest największy, a drugi najmniejszy z całego kompleksu. W obrębie innych badanych gatunków nie stwierdziłem podobnych różnic kariologicznych.

Praca niniejsza została wykonana w latach 1951—1953 w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Kierownikowi Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin UJ prof. dr M. Skalińskiej składam podziękowanie za kierowanie tokiem niniejszej pracy, cenne uwagi i wskazówki.

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Jagiellońskiego

(Wpłynęło dn. 7.8.1959 r.)

SUMMARY

This paper gives the chromosome numbers and chromosome morphology of the species *Ranunculus acer* L. and *R.bulbosus* L. as well as the chromosome numbers of *R.repens* L. and *R.lanuginosus* L. from a variety of natural habitats in southern Poland and the Tatra Mts. The somatic numbers of chromosomes established on root-tip mitoses agree with those found previously by other authors. *R.acer* L. ($2n = 14$) and *R.bulbosus* L. ($2n = 16$) are diploids with the basic numbers 7 and 8. *R.lanuginosus* L. ($2n = 28$) and *R.repens* L. ($2n = 32$) are tetraploids with the same basic numbers 7 and 8. Studies on *R.acer* L. have revealed a karyological differentiation within this species; two main karyotypes: a mountain type and a type found in lowland specimens could be discerned. The first possesses 7 pairs of homologous chromosomes whereas in the second, only 6 pairs of homologous chromosomes could be identified; the two remaining chro-

mosomes (Fig. 1. and Table 1) are isobrachial and of unequal size. The first is the largest while the second represents the smallest chromosome in the set.

The present study has been carried out in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the University in Cracow. The author wishes to express his deep gratitude to the Head of the Institute Prof. Dr M. Skalińska for her valuable advice and criticism.

LITERATURA

- Böcher T. W., 1938, Cytological Studies in the Genus *Ranunculus*, Dansk. Bot. Arkiv. Bd. 9. Nr 4.
- Hegi G., 1906, Illustrierte Flora von Mittel-Europa T. III. München.
- Bauer Z., 1954, Badania cytologiczne nad trzema gatunkami tatrzańskimi rodzaju *Ranunculus* L., Acta Soc. Bot. Pol. 23: 229—242.
- Gregory W. C., 1941, Phylogenetic and cytological Studies in the *Ranunculaceae*, Trans. of the Am. Phil. Soc. Philadelphia 31.
- Kulczyński S., Paczowski J., Pawłowski B., 1927, Flora Polska Tom III (5), Warszawa.
- Langlet O., 1927, Beiträge zur Zytologie der Ranunculazeen, Svensk. Bot. Tidskrift. Bd 21. H. 1.
- Langlet O., 1932, Über Chromosomenverhältnisse u. Systematik der *Ranunculaceae*, Sv. Bot. Tidskrift. Bd 26.
- Leszczak W., 1950, Studia cytologiczno-ekologiczne nad gatunkami tatrzańskimi rodz. *Aconitum* Tourn., Acta Soc. Bot. Pol. 20: 647—664.
- Levitsky G. A., 1931, Morfologia chromosom, Trudy po prikl. bot. gen. i selekciji, Leningrad.
- Larter L. N. H., 1932, Chromosome variation and behaviour in *Ranunculus* L., Journ. of Genetics 26: 255—266.
- Schafer and La Cour, 1934, A chromosome survey of *Aconitum*, Ann. Bot. 18: 693—713 (cyt. wg Leszczak 1950).
- Senjaninova M., 1926, Das Verhalten des Nucleolus und der Trabanten während der somatischen Mitosen und der Reifeteilungen bei *Ranunculus acer* L., Zeitschr. f. Zellforschung u. mikrosk. Anat. 3: 417—430.
- Sorokin H., 1927, The chromosomes of *Ranunculus acris*, Amer. Nat. 61: 571—574.
- Sorokin H., 1927, Cytological and morphological investigations on gynodimorphic and normal forms of *Ranunculus acris* L., Genetics 12: 59—83.
- Szafer W., 1949, Zarys Geografii Roślin.
- Tischler G., 1950, Die Chromosomenzahlen der Gefässpflanzen Mitteleuropas, Haga.

Studium porównawcze oddychania korzeni kukurydzy i pomidorów

Eine vergleichende Studie über die Atmung der Mais- und Tomatenwurzeln

S. GUMIŃSKI, L. BADURA, J. BUCZEK

WSTĘP

W trakcie badań nad wpływem stopnia utlenienia związków mineralnych na oddychanie korzeni zauważyliśmy, iż wykluczenie dostępu tlenu powoduje różną reakcję u trzech używanych do doświadczeń gatunków roślin. Podczas gdy korzenie pomidorów reagowały na brak tlenu bardzo silnym spadkiem intensywności oddychania, mierzonej ilością wydzielanego dwutlenku węgla, to kukurydza nie wykazała żadnej reakcji — korzenie jej oddychały w ciągu trzech dni równie intensywnie w wodzie natlenionej, jak też i pozbawionej tlenu. Oddychanie korzeni pszenicy uzależnione było od obecności tlenu podobnie, jak oddychanie korzeni pomidorów, chociaż reakcja była mniej wyraźna. Publikując omawiane badania w r. 1957 (Gumiński S. i współpracownicy) zapowiedzieliśmy przeprowadzenie doświadczeń, mających za zadanie wyjaśnienie różnic w oddychaniu korzeni pomidorów i kukurydzy. Badania takie zostały przeprowadzone i stanowią treść niniejszej pracy.

Przystępując do wyjaśnienia zjawiska intensywnego wydzielania CO_2 przez korzenie kukurydzy w warunkach beztlenowych wzięliśmy pod uwagę następujące możliwości: 1) przenikanie tlenu z nadziemnych części rośliny, 2) fermentację w korzeniach i 3) błąd doświadczalny spowodowany fermentacją mikroorganizmów (kultury nie były aseptyczne).

Możliwość trzecia wydawała się nam mało prawdopodobna z uwagi na to, iż wydzielanie dwutlenku w kulturach beztlenowych było prawie identyczne, jak w kulturach tlenowych. Jedynie dziwny zbieg okoliczności mógłby spowodować taką zgodność, gdyby dwutlenek węgla w jednym wypadku pochodził z oddychania korzeni, w drugim zaś z fermentacji

bakteryjnych. Wyniki badań porównawczych nad wpływem azotanów i soli amonowych, wykonanych przez J. Stabrowską w kulturach wodnych na różnych gatunkach roślin (1959), jeszcze bardziej ograniczyły możliwość trzecią. J. Stabrowska bowiem wykazała w kilkutygodniowych doświadczeniach wegetacyjnych, iż kukurydza istotnie jest znacznie odporniejsza na niedostatek tlenu w pożywce aniżeli pomidor. Pomimo to postanowiliśmy przebadać wszystkie trzy wyżej wymienione możliwości.

OGÓLNA METODYKA DOŚWIADCZEŃ

Rośliny kiełkowano w piasku, następnie przenoszono do 5-litrowych naczyń kamiennych, napełnionych pożywką mineralną, sporządzoną na wodzie wodociągowej. Skład pożywki był następujący: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,124 g, MgSO_4 0,284 g, KNO_3 0,568 g, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,71 g, FeCl_3 0,112 g, KJ 0,00284 g, ZnSO_4 0,00056 g, H_3BO_3 0,00056 g, MnSO_4 0,00056 g, Na_2MoO_4 0,00056 g na 1 l wody. W tych kulturach wodnych, ustawionych w szklarni, rośliny rosły przez dwa do trzech tygodni. Z tak uzyskanego materiału roślinnego wybierano do doświadczeń okazy o równej wielkości systemie korzeniowym. W tym celu mierzono objętość korzeni przez zanurzanie ich do wody w menzurkach. Wybrane okazy umieszczano po kilka sztuk razem w poszczególnych aparatach oddechowych Lundegardha. W każdym aparacie, podczas danego doświadczenia, umieszczano oczywiście identyczną ilość roślin; jednakże w różnych doświadczeniach ilość ta była różna — kierowaliśmy się przy tym wielkością systemu korzeniowego.

Korzenie roślin doświadczalnych oddychały w wodzie wodociągowej, bądź to świeżej, bądź wygotowanej, ewentualnie z dodatkiem wody utlenionej oraz penicyliny, co podawane będzie w szczegółowych opisach doświadczeń.

Dwutlenek węgla w wodzie oznaczany był przy pomocy wody barytowej, tlen za pomocą metody Winklera. Dokładniejszy opis zastosowania aparatów Lundegardha w naszych doświadczeniach znajdzie czytelnik w pracy S. Gumińskiego i współpracowników ogłoszonej w *Acta Soc. Bot. Pol.* w r. 1955. Dla oszczędności miejsca w czasopiśmie opisu tego tutaj powtarzać nie będziemy, zaznaczymy tylko, że wydzielanie dwutlenku węgla, względnie pobieranie tlenu przez korzenie obliczaliśmy z różnicy pomiędzy ilością tego gazu znalezionej w danym aparacie z roślinami a odpowiednią kontrolą, którą stanowił aparat wypełniony identycznym płynem (np. woda wodociągowa wygotowana, z penicyliną) i pozostawiony równocześnie w tych samych warunkach bez roślin.

Rośliny przebywały w aparatach Lundegardha przez okres 1 doby lub dłużej, zależnie od celu zamierzonego doświadczenia (czasokres poszcze-

gólnych doświadczeń podajemy w szczegółowych opisach). Aparaty ustawione były w pracowni, w której temperatura wahała się (zależnie od pory roku) od 16 do 24°C. Rośliny, o ile nie były specjalnie zaciemniane, wystawione były na działanie równomiernego, rozproszonego światła dziennego lub (wieczorem) elektrycznego.

W każdej kombinacji stosowaliśmy 5 powtórzeń.

Wyniki analiz przemiany gazowej korzeni opracowano statystycznie przy pomocy metody podbloków.

OPIS DOŚWIADCZEŃ

Siewki kukurydzy umieszczono w aparatach Lundegardha w wodzie wodociągowej. Nie usuwano przy tym resztek nasion. Warunki tlenowe zostały zróżnicowane w ten sposób, że w jednej serii aparatów użyto wody wodociągowej, świeżo wygotowanej, w drugiej zaś świeżej, wzbogaconej w zapas tlenu przez dodatek 0,8 ml 3% H_2O_2 na 1 l wody.

Celem przekonania się, czy oddychanie korzeni nie jest uzależnione od dyfuzji tlenu poprzez części nadziemne, odkryliśmy je u połowy roślin wąskimi cylindrami o ścianach nie przepuszczających gazu ani światła¹.

W ten sposób otrzymaliśmy 4 kombinacje:

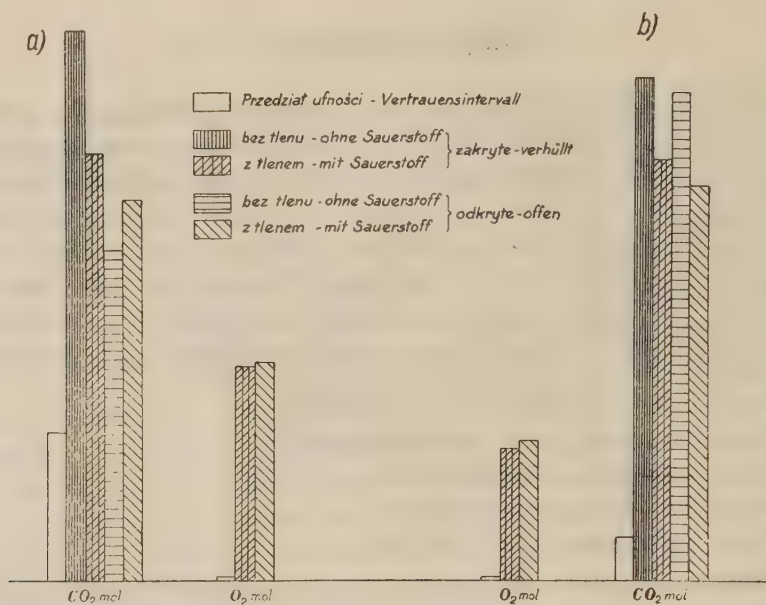
1. Woda bez tlenu, liście szczelnie zakryte.
2. Woda natleniona, liście szczelnie zakryte.
3. Woda bez tlenu, liście odkryte.
4. Woda natleniona, liście odkryte.

Doświadczenie trwało 48 godzin, po czym oznaczono ilość wydzielonego dwutlenku węgla i pochłoniętego tlenu. Wyniki ilustruje wykres. Są one obarczone dużym błędem doświadczalnym, wskazują jednak zgodnie z poprzednimi obserwacjami (1957), iż korzenie kukurydzy wydzielają dwutlenek węgla nie mniej intensywnie w warunkach beztlenowych niż w tlenowych. Uniemożliwienie, względnie bardzo silne ograniczenie dyfuzji tlenu poprzez liście nie wpłynęło zupełnie na przebieg zjawiska.

Aby przekonać się, czy wydzielanie dwutlenku węgla w warunkach beztlenowych tłumaczyć można oddychaniem (fermentacją mikroorganizmów), zmodyfikowano doświadczenie w ten sposób, że przed włożeniem siewek do aparatów (przed doświadczeniem) usuwano resztki nasion, które ewentualnie mogłyby gnić, a do aparatów dodawano wszędzie penicyliny w ilości 1,5 j.m. na 1 ml wody.

¹ Z początku używaliśmy cylindrów tekturowych o ścianach nasyconych kolloidum. W dalszych doświadczeniach zastosowaliśmy cylindry szklane okrywane ciemnym papierem.

Jak widać z załączonego wykresu, dodanie penicyliny do wody, w której oddychały korzenie, nie zmieniło wyniku doświadczenia — stwierdzić można było jedynie zmniejszenie odchyłeń w poszczególnych doświadczeniach, co znalazło swój wyraz na wykresie w zmniejszeniu błędu doświadczalnego. Ponadto zauważono, że o ile w doświadczeniu poprzednim woda w naczyniach mętniała i przy likwidacji ujawniała wyraźny zapach gnilny, o tyle przy zastosowaniu penicyliny pozostawała zupełnie czysta i nie ujawniała zapachu. Prób bakteriologicznych nie przeprowa-



Wykres 1a — Oddychanie korzeni kukurydzy w wodzie bez penicyliny (nasion nie amputowano); 1b — to samo, przy użyciu penicyliny i po amputacji resztek nasion. Objaśnienia w tekście

1a — Die Atmung der Maiswurzeln im Wasser ohne Penicillin (die Reste d. Samen wurden nicht amputiert); 1b — Das Selbe mit Anwendung von Penicillin und nach der Amputation der Samenreste. Erläuterungen im Text

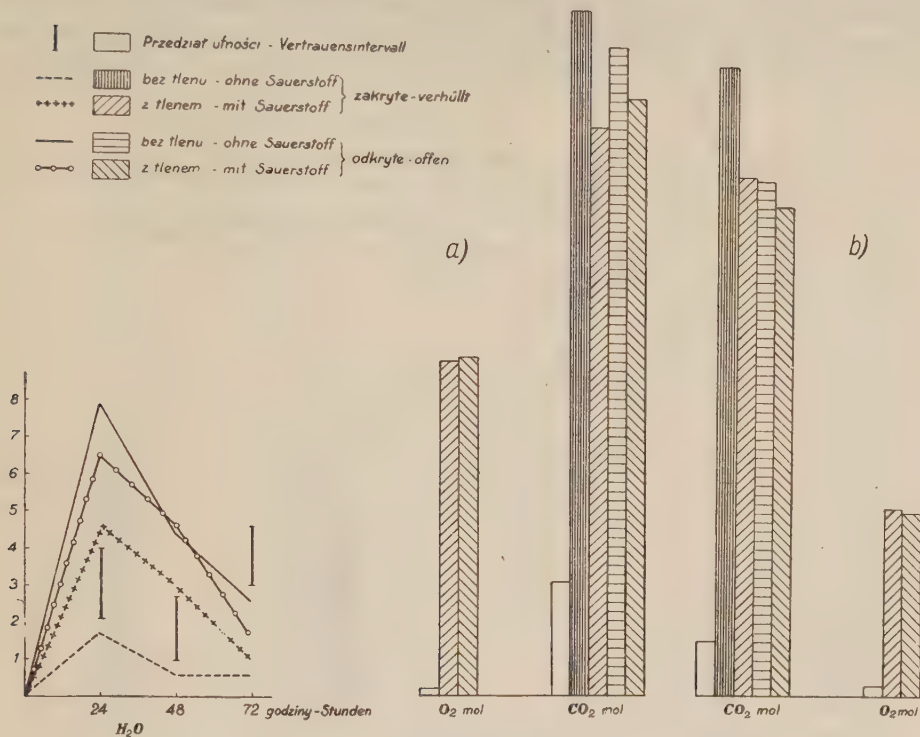
dzaliśmy i dlatego nie możemy stwierdzić w sposób ścisły jak penicylina wpłynęła na rozwój mikroorganizmów.

W dalszych doświadczeniach stale używaliśmy penicyliny — ponadto zaś przeprowadzaliśmy korzenie kukurydzy przed włożeniem ich do aparatów Lundegardha przez zanurzenie w 3% wodzie utlenionej celem przytłumienia rozwoju mikroorganizmów.

Korzystając z tego, że w aparatach Lundegardha można równocześnie z badaniem intensywności oddychania korzeni przeprowadzić pomiary

pobierania przez nie wody, nastaviliśmy odpowiednie doświadczenia z kukurydzą i pomidorami. Wyniki uwidocznione są na wykresach: 2 i 3. Odczytać z nich można co następuje:

1. Korzenie kukurydzy wydzielają dwutlenek węgla w warunkach beztlenowych nie mniej, a raczej bardziej intensywnie niż w tlenowych, natomiast korzenie pomidorów reagują na brak tlenu w wodzie bardzo wyraźnym obniżeniem procesu wydzielania dwutlenku węgla.



Wykres 2a — Oddychanie korzeni kukurydzy i pobieranie przez nie wody w doświadczeniu 72-godzinnym; 2b — Oddychanie korzeni kukurydzy w doświadczeniu 120-godzinnym

2a — Die Atmung der Maiswurzeln und die Wasseraufnahme im 72-stündigem Versuch; 2b — Die Atmung der Maiswurzeln im 120-stündigem Versuch

2. Ewentualną dyfuzją tlenu z liści do korzeni nie można tłumaczyć tych różnic, gdyż zjawisko przebiega identycznie u roślin zakrytych, jak i odkrytych.

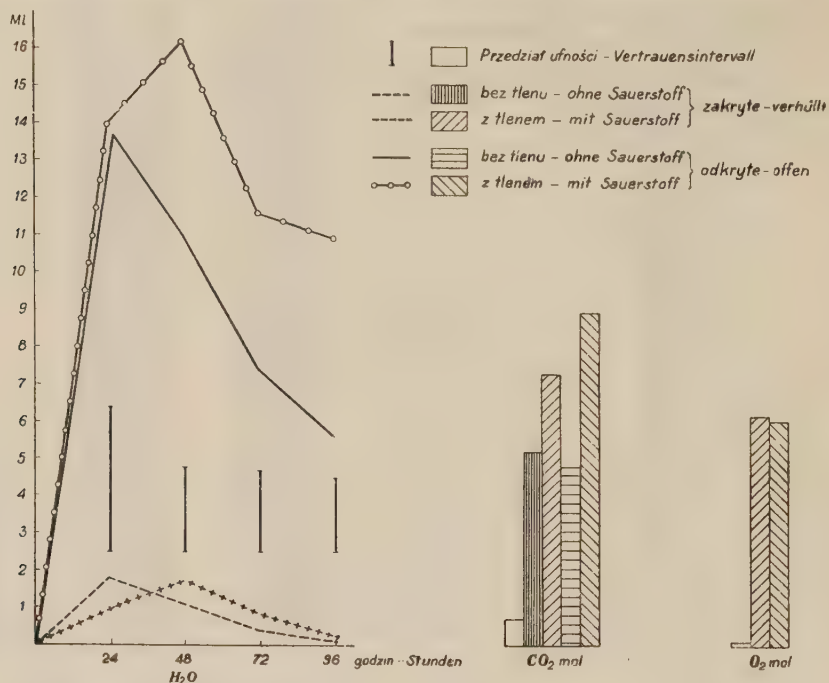
3. Pobieranie wody przez korzenie badanych roślin jest zależne od transpiracji oraz od tlenowego oddychania korzeni, przy czym czynnik transpiracji znacznie jaskrawiej wystąpił u pomidorów. Szczególniej inte-

resujące jest spostrzeżenie, że oddychanie betlenowe, tak silnie występujące u kukurydzy, zdaje się nie mieć znaczenia dla pobierania wody.

4. Współczynniki oddechowe obliczone dla warunków aerobowych wykazują wyraźny niedostatek tlenu, występujący zapewne przy końcu doświadczenia.

5. W miarę upływu czasu u obu gatunków roślin obniża się intensywność pobierania wody.

Celem przeprowadzenia ściślejszego porównania pomiędzy przebiegiem oddychania korzeni i pobierania przez nie wody przeprowadzono z kolei



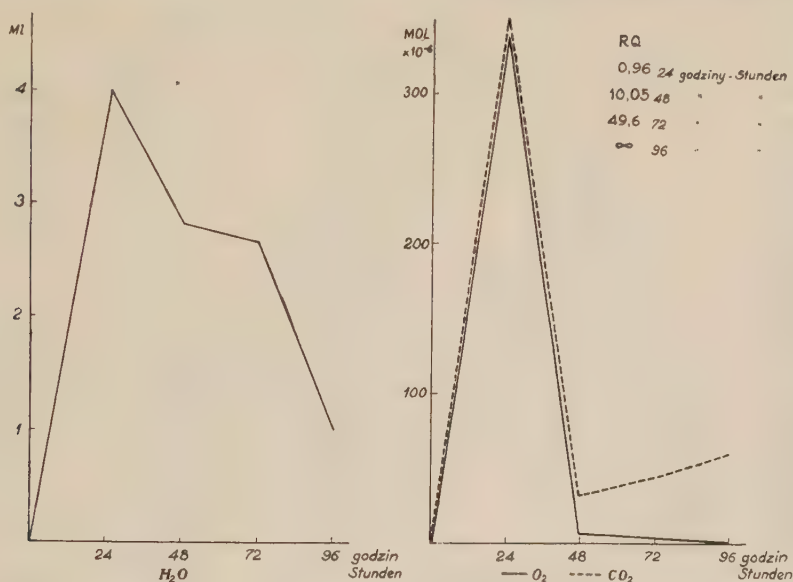
Wykres 3. Oddychanie korzeni pomidorów i pobieranie wody w doświadczeniu 96-godzinym

Die Atmung der Tomatenwurzeln und die Wasseraufnahme im 96 Stunden dauerndem Versuch

doświadczenia w ten sposób, że nastawiono większą serię bez różnicowania warunków: w jednym doświadczeniu mieliśmy tylko bądź to pomidory, bądź kukurydzę w warunkach aerobowych, przy czym rośliny były odkryte. Co 24 godziny dokonywano odczytu poziomu wody (w bocznych ramionach aparatów) oraz przeprowadzano analizę gazów w pięciu aparatach. W pozostałych aparatach uzupełniano zapas wody w bocznych ramionach aparatów i pozostawiano je na dalsze 24 godziny; w ten sposób

badano rośliny kilkakrotnie. Wyniki dla obu gatunków roślin przedstawiają wykresy 4 i 5:

Wskazują one wyraźnie (pomimo pewnych zakłóceń spowodowanych przez transpirację), że pobieranie wody u obu gatunków uzależnione jest od stężenia tlenu. W miarę wyczerpywania się zapasu tlenu intensywność pobierania wody maleje. Równocześnie stwierdzić można różnice w przebiegu krzywej wydzielania dwutlenku węgla u pomidorów i kukurydzy. C ile u pomidorów wydzielanie CO_2 kończy się równocześnie z wyczerpaniem tlenu, to u kukurydzy jest inaczej: krzywa wydzielania dwutlenku węgla spada równoległe z krzywą pobierania tlenu jedynie w ciągu drugiej doby — następnie zaś zamiast spadać, lekko się podnosi. Ubocz-



Wykres 4. Porównanie oddychania korzeni kukurydzy z równoczesnym pobieraniem przez nie wody

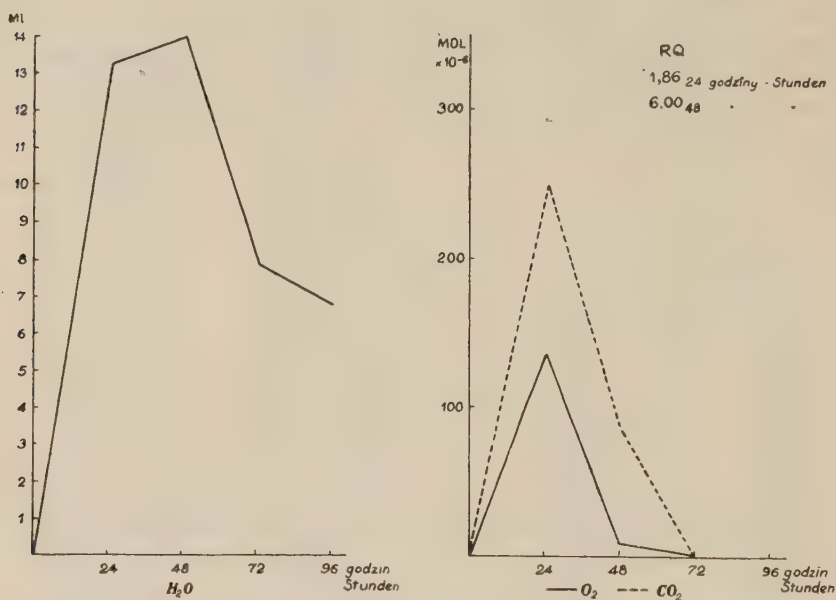
Der Vergleich der Maiswurzelnatmung mit der gleichzeitigen Wasseraufnahme

nie można stwierdzić, że niedostatek tlenu wystąpił w doświadczeniu z pomidorami wcześniej niż w doświadczeniu z kukurydzą: świadczy o tym porównanie współczynników oddechowych.

Chcąc bliżej poznać różnice w oddychaniu korzeni pomidorów i kukurydzy oraz zrozumieć powiązania pomiędzy oddychaniem i pobieraniem wody, postanowiliśmy przebadać te zjawiska przy pomocy inhibitorów oddechowych. Doświadczenia przeprowadziliśmy w ten sposób, iż

dodawaliśmy poszczególnych inhibitorów albo: 1) do pożywek, w których rośliny rosły przed włożeniem ich do aparatów oddechowych, albo 2) do pożywek, a następnie i do wody w aparatach oddechowych, lub wreszcie 3) jedynie do wody w aparatach oddechowych. Użyliśmy następujących inhibitorów: KCN, dwu-etylo-dwu-tio-karbaminianu sodowego („Dieca“), malonianu sodowego, zieleni malachitowej oraz 2-4-dwu-nitro-fenolu (DNP). Stężenia inhibitorów ustalono na podstawie danych W. O. Jamesa, zawartych w jego monografii poświęconej oddychaniu roślin oraz na podstawie własnych doświadczeń wstępnych.

Obliczeń przemiany gazowej dokonywano w ten sposób, iż od znalezionej wartości liczbowej, uzyskanej przez analizę wody w aparacie odde-

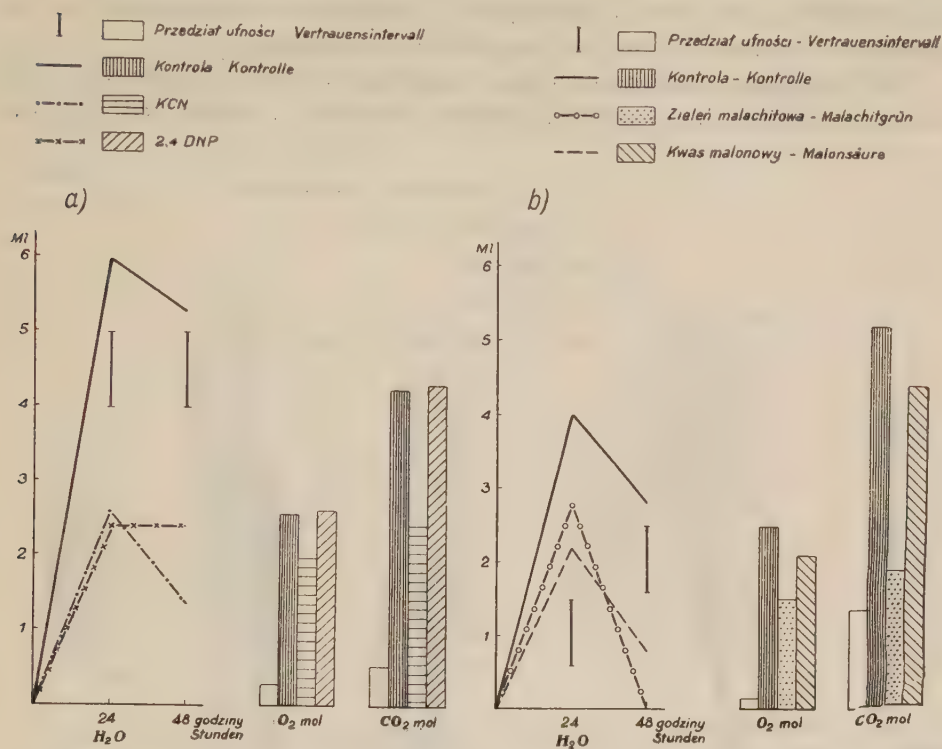


Wykres 5. Porównanie oddychania korzeni pomidorów z równoczesnym pobieraniem przez nie wody

Der Vergleich der Tomatenwurzelatmung mit ihrer gleichzeitigen Wasseraufnahme

chowym na końcu doświadczenia, odejmowano odpowiednią wartość liczbową, uzyskaną przez analizę wody w naczyniu kontrolnym (bez roślin), zawierającym identyczny inhibitor. W ten sposób podobnie jak w doświadczeniach z próchnicą (1955) uwolniliśmy się od błędów analitycznych, polegających na reagowaniu inhibitorów bądź z tlenem czy dwutlenkiem węgla, bądź też z odczynnikami stosowanymi przy analizie. W niektórych wypadkach jednak reakcje te szły tak daleko, że nie można

było uchwycić różnic w stężeniu tlenu (np. reakcja „Dieca“ z tlenem) — wówczas miarodajne pozostawały jedynie wyniki tych doświadczeń, w których używano inhibitorów tylko przed włożeniem roślin do aparatów oddechowych (korzenie roślin były przed tym opłukiwane).



Wykres 6. Działanie inhibitorów na oddychanie korzeni kukurydzy oraz na pobieranie przez nie wody. Przed doświadczeniem zatrutowano rośliny w pożywce w przeciągu 48 godzin. Do wody w aparatach oddechowych dodawano również trucizn. W aparatach pozostawały rośliny przez 48 godzin: a — KCN w pożywce M/100, w wodzie M/1000, „Dieca” w pożywce M 2500, w wodzie M/5000, 2,4-DNP w pożywce i w wodzie 8×10^{-5} M; b — Zieleni malachitowa w pożywce 2×10^{-5} M, w wodzie 10^{-5} M, kwas malonowy w pożywce i w wodzie 0,5 g/l

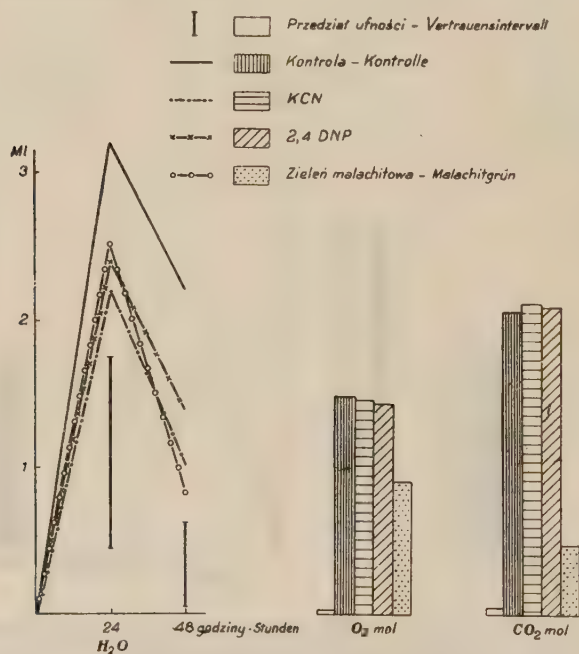
Die Wirkung der Inhibitoren auf die Atmung und die Wasseraufnahme der Maiswurzeln. Vor dem Versuche wurden die Wurzeln in der Nährlösung während 48 Stunden vergiftet. Dem Wasser in den Atmungsapparaten wurden die Inhibitoren auch beigelegt. In den Atmungsapparaten verweilten die Pflanzen während 48 Stunden: a — KCN in der Nährlösung M/100, im Wasser M/1000, „Dieca” in der Nährlösung M/2500, im Wasser M/5000, 2,4-DNP in d. Nährlösung u. im Wasser 8×10^{-5} M; b — Malachitgrün in d. Nährlösung 2×10^{-5} M, im Wasser 10^{-5} M, Malonsäure in d. Nährlösung u. im Wasser 0,5 g/l

Poniżej podajemy wykresy przedstawiające wyniki poszczególnych doświadczeń. Przy każdym wykresie umieszczone są dane co do sposobu użycia inhibitorów, ich stężenia oraz długości trwania doświadczenia.

Oto krótka analiza uzyskanych wyników:

Zieleń malachitowa jako inhibitor dehydrogenaz, zawierających DPN lub TPN, hamowała zarówno wydzielanie CO_2 , jak i pobieranie O_2 tak u pomidorów, jak i też i u kukurydzy. Zjawisko to występuje silniej lub słabiej, ale zgodnie zawsze we wszystkich doświadczeniach.

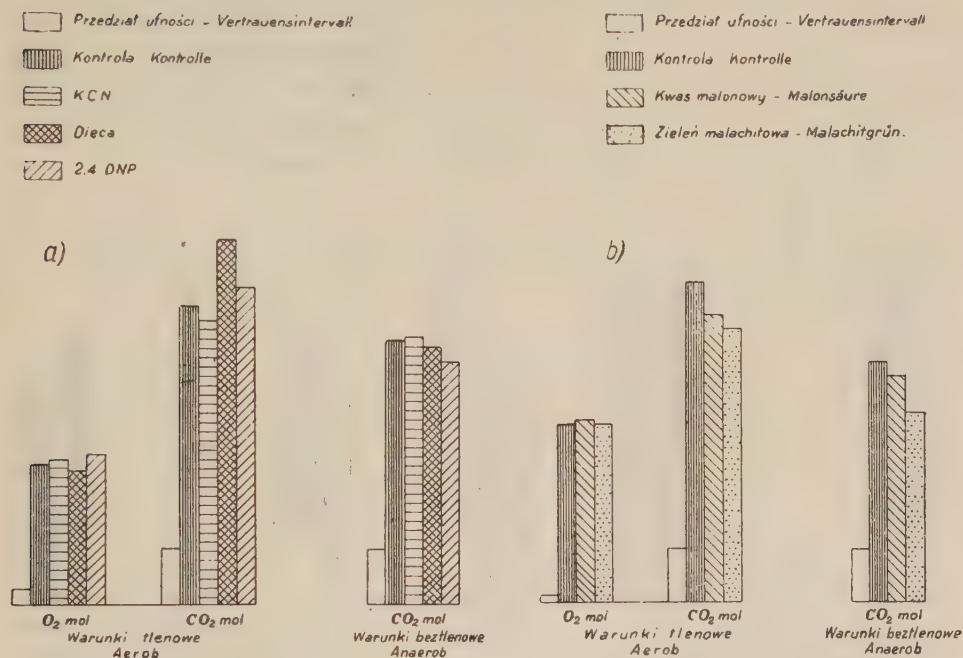
KCN inhibował pobieranie tlenu u pomidorów bardzo wyraźnie; u kukurydzy inhibicja występowała istotnie (przedział ufności) jedynie przy



Wykres 7. Powtórzenie poprzedniego doświadczenia
Wiederholung des vorigen Versuchs

dużym stężeniu oraz w doświadczeniu długotrwałym, w innych warunkach hamowania nie było. Interesującą różnicę można zauważyć w reakcji kukurydzy i pomidorów na działanie KCN w procesie wydzielania dwutlenku węgla. W doświadczeniu z pomidorami, przy którym ostrożnie stosowano KCN, tylko przed włożeniem roślin do aparatów oddechowych, można zauważyć, że hamowanie wydzielania CO_2 występuje jedynie w warunkach tlenowych, w beztlenowych zaś zanika. U kukurydzy KCN hamuje wydzielanie dwutlenku węgla tylko przy dużych stężeniach i to

zarówno w warunkach tlenowych, jak beztlenowych. Można zatem powiedzieć, że u pomidorów występuje swoiste hamowanie enzymów oddechowych, zawierających żelazo, względnie miedź, natomiast u kukurydzy tego swoistego działania nie znajdujemy, występuje jedynie ogólne za-



Wykres 8a, b — Kukurydza. Inhibitory dodawano tylko do pożywki — do wody w aparatach nie dodawano. W aparatach pozostawały rośliny przez 24 godziny.

Poza tym, jak poprzednio

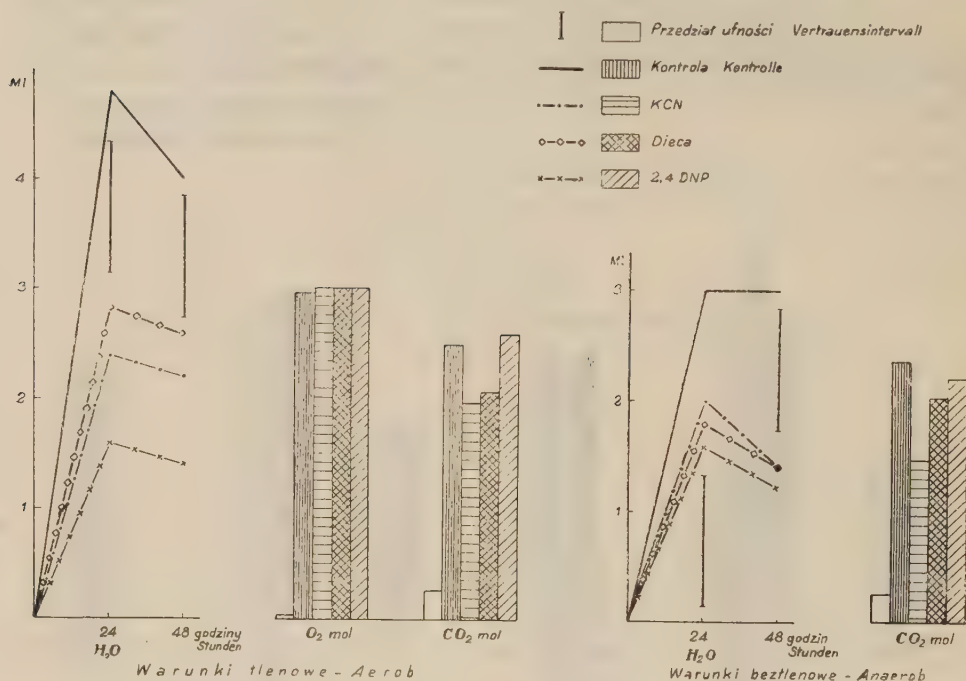
Mais. Die Inhibitoren wurden nur der Nährlösung zugefügt — nicht aber dem Wasser in den Atmungsapparaten. Die Pflanzen verweilten in den Apparaten während 24 Stunden. Sonst wie vorher

trucie przy wysokich stężeniach. Zatrucia tego nie możemy odnosić swoiście do hamowania enzymów oddechowych, gdyż enzymy te nie mogą być czynne w nieobecności tlenu.

„Dieca“ wywoływał u pomidorów słabą, ale statystycznie udowodnioną inhibicję pobierania tlenu (wykres 12a), natomiast nie stwierdzono swoistego zahamowania wydzielania dwutlenku węgla; zmniejszenie wydzielania CO_2 występowało tylko po długotrwałym truciu, wówczas efekt ten występuje zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych,

a więc jest dla „Dieca“ nieswoisty (wykres 11). U kukurydzy nie stwierdzono zahamowania tlenu pod wpływem „Dieca“, a wydzielanie CO_2 hamowane było nieswoiście w warunkach beztlenowych (wykres 9).

Kwas malonowy powodował zahamowanie pobierania tlenu silniej u pomidorów (wykres 12), słabiej u kukurydzy (wykresy 6 i 8). Natomiast zahamowanie wydzielania CO_2 stwierdzono jedynie u pomidorów.



Wykres 9. Kukurydza. Tak jak poprzednio z tym, że rośliny pozostawały w aparatach oddechowych przez 48 godzin

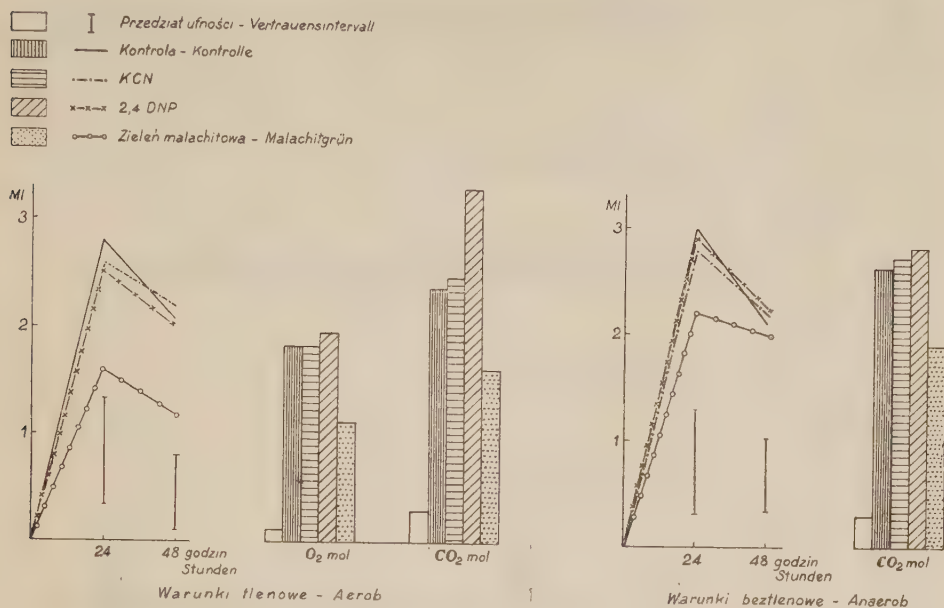
Mais. Wie vorher, nur die Pflanzen verweilten in den Atmungsapparaten während 48 Stunden

DNP nie powodował zahamowania pobierania tlenu i lekko stymulował wydzielanie CO_2 u obu gatunków roślin, natomiast hamował pobieranie wody.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Na pytanie zasadnicze, które postawiliśmy sobie na początku pracy, mianowicie na czym polega zjawisko niezmnieszonej intensywności wydzielania dwutlenku węgla przez korzenie kukurydzy po odcięciu dostępu tlenu, można, po przeprowadzeniu opisanych doświadczeń, dać odpow-

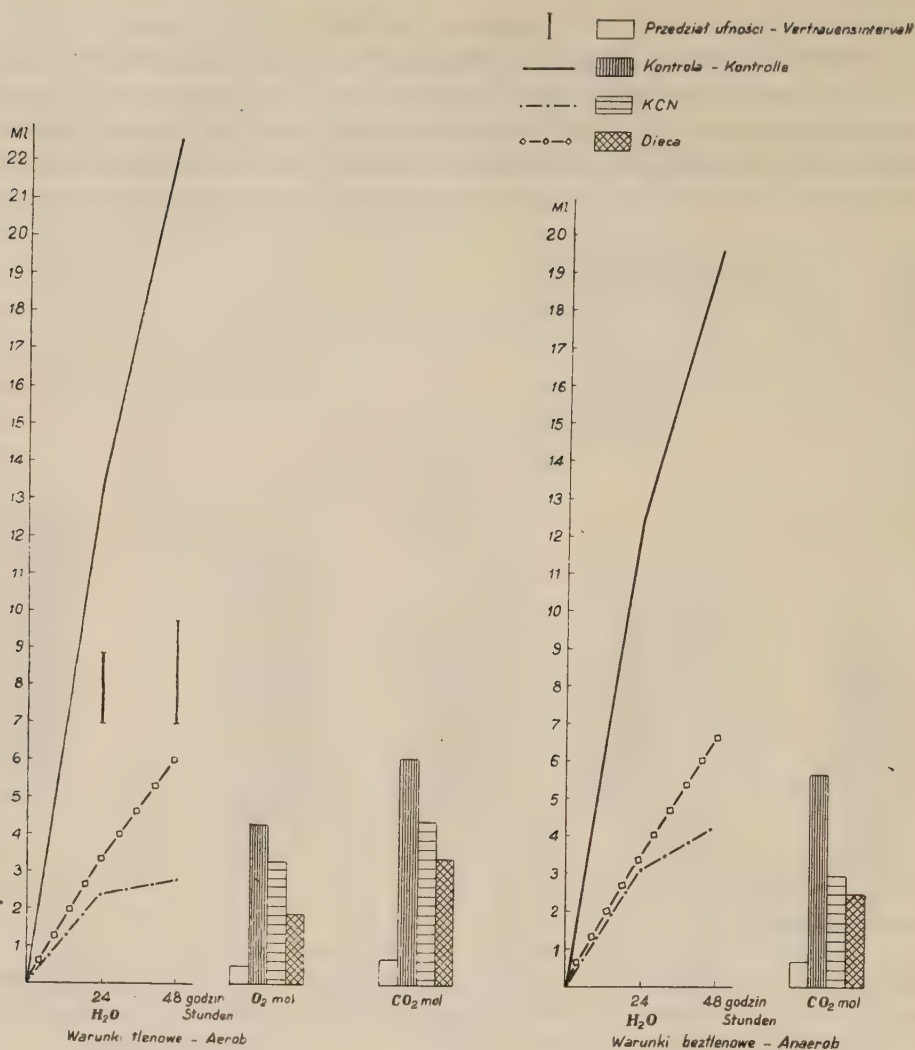
wiedź, iż powodowane jest ono przez beztlenowe oddychanie (fermentację) korzeni. Zdanie to wypowiadamy na następujących podstawach: Gdyby wydzielany dwutlenek węgla pochodził w zasadzie od mikroorganizmów, wówczas intensywność wydzielania tego gazu w różnych doświadczeniach nie powinna być współmierna z oddychaniem tlenowym korzeni kukurydzy, a przynajmniej w powtarzanych doświadczeniach powinny



Wykres 10. Kukurydza. Inhibitory dodawano jedynie bezpośrednio do wody w aparatach oddechowych. Rośliny pozostawały w nich przez 48 godzin. Stężenia inhibitorów: KCN—M/5000, 2,4-DNP 5×10^{-5} , zieleń malachitowa 10^{-5}

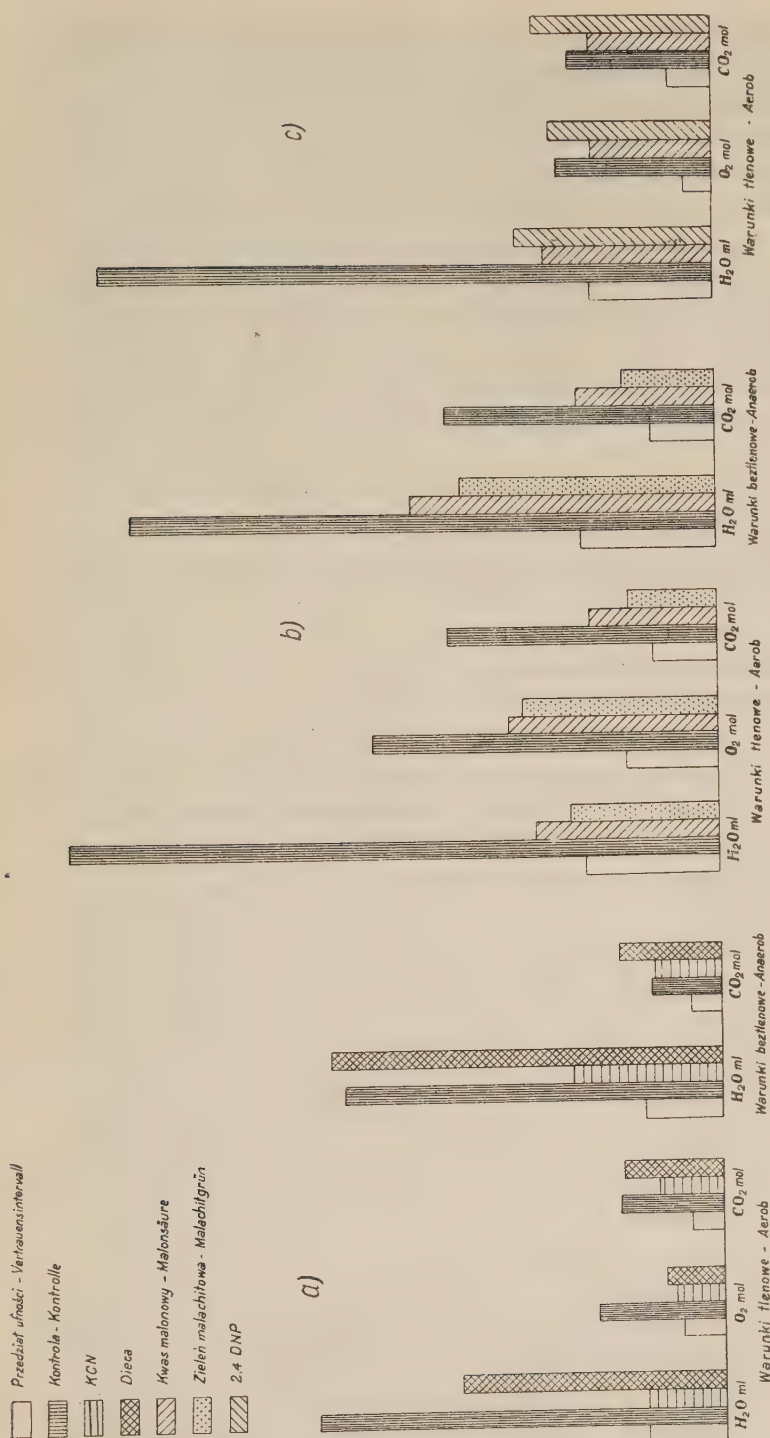
Mais. Die Inhibitoren wurden nur dem Wasser in den Atmungsapparaten zugefügt. Die Pflanzen verblieben in den Apparaten 48 Stunden lang. Die Konzentrationen der Inhibitoren: KCN—M/5000, 2,4-DNP 5×10^{-5} M, Malachitgrün 10^{-5} M

wystąpić wielkie różnice przy porównywaniu oddychania tlenowego i beztlenowego. Różnice te nie wystąpiły — przeciwnie, oddychanie beztlenowe było stale współmierne z tlenowym: intensywność wydzielania dwutlenku węgla była podobna. Zastosowanie penicyliny nie przyniosło tu żadnych zmian, poza zmniejszeniem błędu średniego. Można wprawdzie powiedzieć, że penicylina nie przytłumia wszystkich mikroorganizmów, ale nie można twierdzić, że nie powoduje istotnych zmian w rozwoju całości świata mikroorganizmów. Zastosowanie jej nie spowodowało, jak widać z opisanych doświadczeń, żadnych zmian w stosunku intensywności wydzielania dwutlenku węgla w warunkach tlenowych i beztlenowych.



Wykres 11. Pomidory. Inhibitory dodawano do pożywki przed doświadczeniem na 48 godzin. Do wody w aparatach oddechowych dodawano je również. Rośliny pozostawały w aparatach przez 48 godzin. KCN zarówno w pożywce, jak i w wodzie M/1000, „Dieca“ w pożywce M/2500, w wodzie M/5000

Tomaten. Die Inhibitoren wurden der Nährlösung sowie dem Wasser in den Atmungsapparaten zugefügt. Die Pflanzem verweilten in der Nährlösung sowie in den Atmungsapparaten während 48 Stunden. KCN gleichgültig in der Nährlösung und im Wasser M/1000, „Dieca“ in der Nährlösung M/2500, im Wasser M/5000



Wykres 12a, b, c. Pomidory. Przed doświadczeniem zatrutowano rośliny w pożywce w ciągu 48 godzin. Do aparatów nie dodawano trucizn. Rośliny przebywały w aparatach przez 24 godziny. Stężenia KCN, „Dieca” jak poprzednio, kwasu malonowego (malonianu sodowego) i zieleni malachitowej jak w doświadczeniach z kukurydzą, DNP 8×10^{-5} M w pożywce (6 godzin). Tomaten. Vor dem Versuche wurden die Pflanzen in der Nährlösung während 48 Stunden vergiftet. Dem Wasser in der Atrungsapparaten wurden die Inhibitoren nicht zugefügt. Die Pflanzen verweilten in den Atrungsapparaten 24 Stunden lang. Die Konzentrationen von KCN, „Dieca” wie vorher, des Natriummalonats und des Malachitgrün wie in den Versuchen mit Mais, DNP 8×10^{-5} M in. d. Nährlösung (6 Stunden).

Zmniejszenie błędu średniego, po zastosowaniu penicyliny, tłumaczymy sobie zlikwidowaniem indywidualnych wyskoków w poszczególnych doświadczeniach, występujących przez działanie bakterii gnilnych. Sądzymy też, że przeprowadzanie korzeni kukurydzy przez kąpiel w wodzie utlenionej przed włożeniem ich do aparatów oddechowych poważnie ograniczyło możliwość rozwoju mikroorganizmów na tych korzeniach.

Również fakt stałego obniżania się intensywności wydzielania dwutlenku węgla przez korzenie pomidorów, po odcięciu dopływu tlenu, przemawia przeciw tłumaczeniu wydzielania CO_2 w doświadczeniach z kukurydzą w ten sposób, że gaz ten byłby produkowany przez bakterie. Dlaczego bowiem zjawisko to nie miałooby występować nigdy u pomidorów? Trzeba by chyba przyjąć istnienie specjalnych substancji hamujących w korzeniach pomidorów. Ale nawet gdyby przyjąć takie hipoteczne założenie, wówczas niezrozumiałą pozostałaby fakt, stwierdzony przez Stabrowską (1959), wyraźnie większej odporności siewek kukurydzy na niewieźtrzenie pożywki aniżeli siewek pomidorów. Fakt ten natomiast staje się zrozumiałą, jeżeli przyjmujemy, iż korzenie kukurydzy mają dużą zdolność do oddychania beztlenowego.

Możliwość zasilania korzeni tlenem, dyfundującym z nadziemnych części rośliny, mającą pewne teoretyczne uzasadnienie w anatomii, odpada w wyniku zastosowania gazoszczelnych i nie przepuszczających światła osłon dla liści kukurydzy. Intensywność wydzielania dwutlenku węgla przez korzenie kukurydzy w warunkach beztlenowych utrzymywała się nadal, pomimo wykluczenia dyfuzji gazów przez górne części roślin. Występowało wtedy bardzo silnie zjawisko gutacji.

Badanie równoległe wydzielania dwutlenku węgla i pochłaniania tlenu przez korzenie wykazało, iż u kukurydzy, podobnie jak u pomidorów, wydzielanie to spada wraz ze spadkiem pochłaniania tlenu. Po wyczerpaniu zapasu tlenu wydzielanie CO_2 u pomidorów całkowicie ustaje, u kukurydzy przeciwnie — z powrotem narasta (wykres 4). Z punktu widzenia biochemicznego zjawisko obserwowane w kukurydzy tłumaczymy w sposób stereotypowy: w obecności tlenu przebiega tylko utlenienie tlenowe i jego intensywność zależy od stężenia tlenu, po wyczerpaniu zapasu tlenu dochodzą do głosu akceptory wodoru właściwe dla procesów fermentacyjnych. U kukurydzy ta droga jest otwarta, u pomidorów nie istnieje, względnie możliwości są bardzo małe.

Zjawisko zależności pobierania wody przez korzenie od ich oddychania występuje w naszych doświadczeniach zupełnie wyraźnie. Odnośne wykresy (2—5) wskazują, że pobieranie wody przez badane rośliny zależne jest od transpiracji oraz od oddychania korzeni, przy czym komponenta transpiracyjna wystąpiła silniej u pomidorów aniżeli u kukurydzy. Cha-

rakterystyczne jest, że na pobieranie wody zdaje się mieć wpływ jedynie oddychanie tlenowe i to tak u pomidorów, jak też i u kukurydzy (wykresy 2—5). Zjawisko to można tłumaczyć tym, iż jedynie tlenowe oddychanie jest w stanie wyzwolić odpowiednią dla parcia korzeniowego energię, beztlenowe jest zbyt mało ekonomiczne. Efekt Pasteura jakkolwiek zaznaczony w niektórych doświadczeniach z kukurydzą (wykresy 2 i 3), jest tu niewątpliwie za słaby. Z doświadczeń, w których zastosowano DNP, wynika, iż uwolniona przy oddychaniu energia nie może być bezpośrednio zużywana do pompowania wody przez korzenie: musi ona być uprzednio zmagazynowana w wysokoenergetycznych wiązaniach kwasu fosforowego. Jeżeli przez działanie DNP wyłącza się fosforylację, wówczas, pomimo intensywnego oddychania, pobieranie wody zostaje zahamowane (wykresy 6, 9, 10, 11).

Wyniki doświadczeń z inhibitorami interpretujemy w następujący sposób:

Swoista inhibicja oddychania wywoływana przez cyjanek u pomidorów i brak tej inhibicji u kukurydzy świadczy o tym, że u pomidorów oddychanie tlenowe odbywa się za pomocą enzymów zawierających w grupie czynnej metale, natomiast u kukurydzy może ono przebiegać przy pomocy oksydaz niemetalicznych.

Bardzo słabe hamowanie pobierania tlenu, wywołane działaniem „Dieca“, u pomidorów, przy równoczesnym braku hamowania wydzielania dwutlenku węgla wskazuje, że oksydazy miedziowe wprawdzie istnieją w korzeniach tego gatunku, ale nie odgrywają w oddychaniu — w naszych warunkach doświadczalnych — żadnej ważniejszej roli. U kukurydzy albo ich nie ma w ogóle, albo w naszych warunkach były bez znaczenia.

Wyniki z kwasem malonowym świadczą o tym, że u pomidorów oddychanie przebiega w ten sposób, iż jednym z etapów tego procesu jest utlenienie kwasu bursztynowego (prawdopodobnie w toku cyklu Krebsa). U kukurydzy silnie zaznaczone jest oddychanie beztlenowe i na skutek tego zahamowania wydzielania CO_2 przez malonian nie udało się nam zauważyć. Jednakże przy oddychaniu tlenowym korzeni tego gatunku kwas bursztynowy prawdopodobnie odgrywa również rolę (wykres 6).

Zieleń malachitowa okazała się najsilniejszym inhibitorem oddechowym w naszych doświadczeniach i to zarówno w stosunku do pomidorów, jak też i do kukurydzy. Jest to zupełnie zrozumiałe, jeśli się zważy, że związek ten inhibuje dehydrogenazy, zawierające DPN względnie TPN, a więc uniemożliwia tak oddychanie tlenowe jak i beztlenowe.

Inhibitor fosforylacji DNP oczywiście nie hamował, lecz przeciwnie, lekko stymulował oddychanie, co jest rzeczą powszechnie znaną; związek

ten używany był przez nas celem wnikięcia w problem powiązania pomiędzy oddychaniem i pobieraniem wody. Okazało się, iż DNP nie hamując oddychania wyraźnie osłabia pobieranie wody przez korzenie. Świadczy to o tym, że uwalniana przy oddychaniu energia przekazywana jest dla procesu pobierania wody poprzez pośrednie ogniwo reakcji fosforylacyjnych. Doświadczenia nasze z inhibitorami były niestety zbyt krótkotrwałe, aby na ich podstawie można było dobrze prześledzić pobieranie wody, jednakże wpływ zahamowania intensywności oddychania na pobieranie wody przez korzenie wystąpił dosyć wyraźnie. Na ogół można powiedzieć, że u pomidorów wszystkie inhibitory hamowały pobieranie wody — u kukurydzy zjawisko to wystąpiło słabiej, przy czym najsilniej działała zieleń malachitowa, następnie KCN (w warunkach tlenowych) oraz DNP.

WNIOSKI

1. Korzenie kukurydzy odznaczają się o wiele silniej wyrażoną zdolnością do oddychania beztlenowego (fermentacji), aniżeli korzenie pomidorów.

2. Przy oddychaniu tlenowym korzeni pomidorów utlenienie wodoru odbywa się za pomocą oksydaz metalicznych, przede wszystkim zawierających żelazo (zapewne układ cytochromowy); natomiast u kukurydzy prawdopodobnie biorą w tym udział oksydazy nie metaliczne.

3. Pobieranie wody przez korzenie (parcie korzeniowe) czerpie energię z procesu oddychania tlenowego u obu gatunków roślin; oddychanie beztlenowe zdaje się nie odgrywać w tym żadnej roli.

4. Przekazywanie energii uwalnianej przy oddychaniu dla procesu pobierania wody odbywa się poprzez procesy fosforylacji.

*Uniwersytet Wrocławski
Zakład Fizjologii Roślin*

(Wpłynęło dn. 15.9.1959 r.)

ZUSAMMENFASSUNG

Während unserer früheren Versuche (1957) über die Wirkung mancher Nährsalze auf die Atmung der Wurzeln haben wir bemerkt, dass die Maiswurzeln ganz anders auf den Sauerstoffmangel reagieren als die Tomatenwurzeln. Die Tomatenwurzeln verringerten nämlich bei Sauerstoffmangel die Kohlensäureausscheidung sehr stark — die Maiswurzeln verhielten sich dagegen so, als ob für sie der Sauerstoff überhaupt belanglos wäre.

Es waren drei Möglichkeiten dieses verschiedenen Verhaltens von Mais und Tomaten zu erwägen:

1. Bessere Diffusion des Sauerstoffs durch die oberen Pflanzenteile bei Mais als bei den Tomaten.
2. Die von den Mikroorganismen durchgeführte Gärung, die eine falsche Betimmung des Wurzelgaswechsels verursachte.
3. Anaerobe Atmung der Maiswurzeln.

Die Versuche haben wir folgendermassen durchgeführt: Keimlinge von Mais-, bzw. von Tomatenpflanzen wurden zwei bis drei Wochen in Wasserkulturen auf Minerallösungen gezogen und danach in die, von Lundegardh im Jahre 1935 beschriebenen, Atmungsapparate gebracht. In diesen Apparaten erfolgte die Untersuchung des Gaswechsels in der Weise, dass man den Sauerstoffverbrauch mit der Winklerschen Methode und die Kohlensäureausscheidung mittels Barytwasser bestimmte. Der gewählten Apparatur und Methode wegen, musste auf jede Sauerstoffzufuhr verzichtet werden. Die Apparate blieben gasdicht mit Kakaobutter verstopft. Um den Transpirationsverlust zu decken konnte das Wasser durch eine Kapillarröhre zufließen. Der Durchmesser der Kapillarröhre war so klein, dass man in der Praxis den Gaswechsel nach aussen ausschliessen konnte.

Die Wasseraufnahme wurde direkt von einer kalibrierten Röhre abgelesen.

Die Differenzierung in der Sauerstoffversorgung der Versuchspflanzen erzielte man dadurch, das die entsprechenden Apparate entweder mit frischem Leitungswasser mit Zugabe von 0,8 ml 3% Wasserstoffsuperoxyd pro 1 l Wasser, oder mit gekochtem Wasser gefüllt wurden.

Um sich zu überzeugen, ob die Diffusion des Sauerstoffs durch die oberen Pflanzenteile einen Einfluss auf die Atmung der Wurzeln ausübe, legte man die Hälfte der Pflanzen in ein gasdichtes, dunkles Rohr und verglich den Gaswechsel der Wurzeln der verhüllten mit dem freien Pflanzen.

Der erste, 48 Stunden dauernde Versuch mit Mais zeigte keine wesentlichen Unterschiede in der Ausscheidung der Kohlensäure. Die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure wurde weder von der Verhüllung der Sprossen noch von dem Vorhandensein von Sauerstoff im Wasser beeinflusst. Es muss aber erwähnt werden, dass der statistisch berechnete Versuchsfehler sich als sehr hoch erwies (Fig. 1a).

Im nächsten Versuch wurden die Überreste der Maiskörner von den Pflanzen abgeschnitten und dem Wasser, in welchem die Wurzeln atmen sollten, wurde ein Zusatz von 1½ Einheiten von Penicillin pro 1 ml Wasser beigegeben. Ausserdem wurden die Wurzeln vor dem Versuch in 3% Wasserstoffsuperoxydlösung eingetaucht. Diese Massnahmen sollten dazu dienen, die etwaige Mikroorganismengärung zu unterdrücken. Ein so durchgeführter Versuch ergab einen deutlich niedrigeren Versuchsfehler, — doch blieb die Kohlensäureproduktion der Maiswurzeln bei Mangel an Sauerstoff eher grösser, als bei seiner Anwesenheit. Die Verhüllung und Abdichtung der grünen Teile der Pflanzen übte keinen Einfluss auf die CO₂ — Ausscheidung ihrer Wurzeln aus (Fig. 1b).

Als nächstes wurden vergleichende, länger dauernde Versuche mit Mais und Tomaten durchgeführt, wobei man stets Penicillin verwendete.

Die beigelegten Diagramme (Fig. 2 u. 3) illustrieren die Resultate dieser Versuche. Sie zeigen, dass die Maiswurzeln bei mehrstündigem Sauerstoffmangel nicht weniger, sondern eher mehr Kohlensäure ausscheiden, als beim Vorhandensein von Sauerstoff. Die Verhüllung und Abdichtung der oberen Teile der Pflanzen übte darauf keinen Einfluss aus.

Bezüglich des Wasserverbrauchs wurde festgestellt, dass in den verhüllten Apparaten das Vorhandensein von Sauerstoff einen starken Einfluss ausübte. Demgemäss zeigten die Pflanzen in den verhüllten Apparaten, deren Wurzeln in besseren Sauerstoffbedingungen gehalten wurden, eine verblüffende Guttation im Gegensatz zu jenen, die ohne Sauerstoff verblieben.

Identische Versuche mit Tomaten zeigten, dass die Wurzeln dieser Gattung im sauerstoffreichen Wasser viel mehr CO_2 ausscheiden, als im sauerstoffarmen. Dieses Verhältnis blieb unverändert, unabhängig davon ob die Blätter verhüllt wurden oder frei blieben.

Der Einfluss der Sauerstoffkonzentration auf die Wasseraufnahme war auch bei den Tomaten festzustellen. Hier aber, im Gegensatz zum Mais, erwies sich der Einfluss des Sauerstoffs nur bei den transpirierenden Pflanzen stark; bei den verdeckten Tomatenpflanzen blieb die Wasseraufnahme im allgemeinen klein und der Einfluss des Sauerstoffs konnte deshalb nicht konstatiert werden.

Um sich davon zu überzeugen wie die Sauerstoffaufnahme und die Kohlensäureausscheidung sich sukzessive an einzelnen Tagen verhalten, führte man spezielle Versuche aus. Die verzeichneten Kurven zeigen nun folgendes:

1. Mais. Die Kohlensäureproduktion ist während der ersten 24 Stunden dem Sauerstoffverbrauch gleich ($\text{RQ}=1$). Am zweiten Tage sinkt die Sauerstoffaufnahme fast bis auf Null, die CO_2 Ausscheidung sinkt auch sehr stark, bleibt aber relativ hoch ($\text{RQ}=10$). In den zwei folgenden Tagen hört die Sauerstoffaufnahme völlig auf, aber die CO_2 Ausscheidung wird nicht vermindert, im Gegenteil kann man eine Intensivierung des Prozesses beobachten ($\text{RQ}=\infty$).

2. Tomaten. In den ersten 24 Stunden erweist sich die CO_2 -Produktion fast doppelt so gross, als die Sauerstoffaufnahme ($\text{RQ}=1.86$). Am nächsten Tage sinken beide Kurven stark ($\text{RQ}=6$) und am dritten Tage erreichen sie gleichfalls den Nullpunkt. Der Ablauf der Wasseraufnahmekurven zeigt eindeutig die Abhängigkeit dieses Prozesses von der Atmungsintensität.

Um etwas genauer den Atmungsmechanismus und seinen Einfluss auf die Wasseraufnahme kennen zu lernen, gebrauchte man einige Atmungsinhibitoren.

Die Inhibitoren wurden entweder einen Tag vor dem Versuch der Nährlösung und dann auch dem Wasser der Atmungsapparate beigegeben, oder nur dem Wasser in den Apparaten, oder aber nur der Nährlösung vor dem Versuch zugefügt. In Vorversuchen bestimmte man die geeigneten Konzentrationen der Inhibitoren. Die von uns benutzten Konzentrationen passen im allgemeinen in den Rahmen der von James, in sei-

nem Buche über die Pflanzenatmung (1953), angegebenen Daten. Nur bei Mais musste die zehnfache Konzentration von KCN gebraucht werden.

Die erhaltenen Ergebnisse (Fig. 6 bis 12) sollen mit grosser Vorsicht bewertet werden, da sie mit vielen Fehlern belastet sind. Vor allem muss man beachten, dass manche gebrauchten Chemikalien direkt mit Sauerstoff reagieren (Dieca), dann falschen sie die chemische Analyse, schliesslich beeinflussen sie die Durchlässigkeit des Plasmas und verstopfen vielleicht die Wasserbahnen in den Pflanzen (Malachitgrün). Wenn man aber vor allem diese Versuche beachtet, in welchen die Inhibitoren nur der Nährlösung beigegeben waren, bevor die Pflanzen in die Atmungsapparate eingesetzt wurden, darf man aus den Diagrammen manche Resultate ablesen.

Durch die Wirkung von Malachitgrün wird die Atmungsintensität der beiden Pflanzengattungen stark herabgesetzt.

Die Malonsäure übte nur einen schwachen Einfluss auf die Atmung der Maiswurzeln aus; die Tomatenwurzeln erwiesen sich empfindlicher gegen diesen Inhibitor.

KCN scheint die Atmung der Tomatenwurzeln spezifisch zu hemmen, also in kleinen Konzentrationen und nur in aeroben Bedingungen, nicht aber in anaeroben (Fig. 12a). Bei Mais dagegen hemmen die Atmung nur sehr hohe Konzentrationen und dann auch in anaeroben Bedingungen — also unspezifisch.

Ähnlich stehen die Verhältnisse mit „Dieca“ — doch aber scheint nur sehr hohe Konzentrationen und dann auch in anaeroben Bedingungen zu sein.

Was die Wirkung der Atmungsinhibitoren auf die Wasseraufnahme anbetrifft, so kann man sehen, dass alle diese Reagenzien, welche die Atmung herabsetzen, hemmen auch stark die Wasseraufnahme.

Sehr charakteristisch erwiesen sich die Resultate der Wirkung des DNP. Obwohl dieses Reagens auf die Atmung beider Pflanzenarten gar keinen Einfluss hat, kann man doch sehen, dass die Wasseraufnahme sowohl der Tomaten, wie auch des Mais stark herabgesetzt wird. Wir wollen davon den Schluss ziehen, dass oxydative Phosphorylierungen für die Wasseraufnahme von Bedeutung sind.

Alle Ergebnisse der beschriebenen Versuche zusammenfassend, glauben wir folgende Schlüsse ziehen zu dürfen:

1. Die Maiswurzeln haben eine viel stärker ausgeprägte Fähigkeit zur anaeroben Atmung, als die Tomatenwurzeln.

2. Bei der aeroben Atmung der Tomatenwurzeln wird der Wasserstoff vermittlels der metallischen Oxydasen oxydiert (vor allem die Cytochrom-oxydase) — bei Mais dagegen nahmen daran wahrscheinlich auch die nicht-metallische Oxydasen teil.

3. Die Wasseraufnahme beider Pflanzenarten ist stark von der Atmungsintensität der Wurzeln abhängig. Bei der Wasseraufnahme macht sich vor allem die aerobe Atmung geltend, die anaerobe spielt keine wesentliche Rolle.

4. Die Wirkung der Atmung in der Wasseraufnahme beruht auf der Produktion der energiereichen Phosphate.

Breslauer Universität

Institut der Physiologie der Pflanzen

LITERATURA

- Gumiński S., Czerwiński W., Unger S., Bacowa A., 1955, *Acta Soc. Bot. Pol.* 24: 723—731.
- Gumiński S., Czerwiński W., Unger S., Skrabka H., 1957, *Acta Soc. Bot. Pol.* 26: 631—645.
- James W. O., 1953, *Plant Respiration*. 282 p.p., Oxford. At the Clarendon Press.
- Lundegardh H. u. Burström H., 1935, *Bioch. Ztschr.*, 277: 223—249.
- Stabrowska J., 1959, *Acta Soc. Botan. Pol.*, w. druku.

Próba stymulacji buraka cukrowego przy zastosowaniu żelazicyjanku

Stimulatory effect of ferricyanide on sugar beet

I. REIFER i S. BURACZEWSKI

W 1952 r. w Zakładzie Biochemii SGGW rozpoczęły się próby nad stymulacją roślin za pomocą żelazicyjanku potasowego. Jego właściwości oksydacyjno-redukcyjne i możliwości oddziaływania na aktywność niektórych enzymów były przyczyną zwrócenia uwagi na ten związek.

Jak wykazano (Rumeni 1954), kompleksowe jony żelaza wpływają na potencjał oksydacyjno-redukcyjny w roślinie. Żelazicyjanek aktywuje procesy proteolizy i peptolizy (Maschman i Helmer 1935). W układach *in vitro* może spełniać rolę akceptora elektronów zamiast cytochromu c (Grane i Beinert 1956, Devlin i Lehninger 1956) i podobnie zachowuje się w fotosyntezie w znanej reakcji Hilla (Good 1955, Schwartz 1955, Krogman i Jagendorf 1957). Poznane jest również jego działanie hamujące tyrozinazę ziemniaka (Kawasaki i Osau 1938) i katalazę (Roca i Ondana 1951).

Wstępne badania prowadzone przez Zakład Biochemii SGGW dały obiecujące wyniki wyrażające się wzrostem plonów pomidorów stymulowanych żelazicyjankiem (Reifer 1953). Dalsze badania polowe i wazowne prowadzone przy współpracy z Zakładami SGGW i innymi placówkami naukowymi nie dały jednoznacznych rezultatów (dane nie publikowane). Prace nad bielunem (Reifer, Rumińska, Kączkowski 1955, 1956) wykazywały w ciągu 2 lat wpływ żelazicyjanku wyrażający się wzrostem plonu liści i zawartości alkaloidów w liściach i nasionach. Trzeci rok doświadczeń różnic takich nie wykazał z wyjątkiem jednego zbioru młodych liści (dane nie ogłoszone). Badania nad rącznikiem (Brzeski 1956) wykazały wpływ żelazicyjanku na zwiększenie się zawartości cleju o charakterze nienasyconym w nasionach, a także ujemny wpływ

na energię początkowego okresu kiełkowania nasion w warunkach polowych.

Burak cukrowy był przedmiotem wielu prac dotyczących jego stymulacji różnymi związkami chemicznymi. Uzyskiwano w nich wyniki zarówno świadczące o dodatnim wpływie stymulatorów na energię kiełkowania nasion i na zawartość cukrów i plony korzeni (Własiuk 1932, 1933, Iliev 1958), jak i nie stwierdzające jakiegokolwiek wpływu (Plaut 1925, Pietierburgskij 1928).

Według badań Popowa (Popow 1923, Iliev 1955) bodziec stymulujący jest przekazywany pokoleniom komórek wegetatywnych. Roślina wyhodowana z nasienia poddanego działaniu stymulatora ma zachować jego wpływ w ciągu całego swego okresu wegetacyjnego.

Prawie wszystkie prace nad działaniem stymulatorów ograniczały się do badania wpływu na wzrost i rozwój roślin i tylko w nielicznych przypadkach dotyczyły ewentualnych zmian ilościowych składników chemicznych w roślinie.

W niniejszej pracy przeprowadzono badania nad wpływem moczenia nasion w roztworach żelazicyjanku na ich energię i siłę kiełkowania, procesy oddychania nasion i roślin, wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego oraz zawartość niektórych składników w roślinie w okresie wegetacji i po zbiorach.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach użyto buraków marki AJ1, AJ2 i AJ3. Nasiona moczone w wodnych roztworach żelazicyjanku o stężeniach od 0,05‰ do 0,5‰ w temp. 15—18°. Czas moczenia wynosił od 6 do 96 godzin, przy czym podczas moczenia ponad 24 godziny stosowano w każdej dobie 8-godzinną przerwę w moczeniu w celu napowietrzenia nasion. Roztwór żelazicyjanku w czasie moczenia uzupełniano tak, ażeby nasiona były stale w nim zanurzone. Nasiona przeznaczone do wysiewu były po namoczeniu suszone w warstwie grubości około 3 cm na powietrzu w ciągu około 48 godz. przy częstym ich przegarnianiu. W nasionach moczonych w ciągu 96 godzin kiełki widoczne były w pojedynczych kłębках.

Doświadczenia polowe prowadzone były w Rolniczych Zakładach Doświadczalnych SGGW oraz WSR w Poznaniu. Poletka zakładano na polu produkcyjnym w miejscach przypadających w płodozmianie pod okopowe. Brak odpowiednio przygotowanego pola doświadczalnego starano się zastąpić najwłaściwszym wyborem miejsca kierując się obserwacjami przedplonów i innymi wskazówkami w celu uniknięcia większych błędów doświadczalnych. Doświadczenia zakładano w 6 powtórzeniach, umieszcza-

jąc poszczególne kombinacje w blokach losowo. Powierzchnia poletek do zbioru wynosiła 40—45 m². Gęstość siewu: 7—8 sztuk roślin na 1 m². Miejsc pustych po wypadnięciu roślin w okresie wegetacji nie uzupełniano. Wskutek tego ilość zbieranych korzeni była mniejsza o około 10%. Poletka o większej ilości braków były odrzucane lub zbierane częściowo. Do analiz pobierano proporcjonalnie według wielkości 50 szt. korzeni z poletka.

Wpływ moczenia w roztworach żelazicyjanku na energię i siłę kiełkowania oznaczano w nasionach o wielkości 3—5 mm biorąc w 4 powtórzeniach po 100 szt. nasion w próbce wyrównanej wagowo. Kiełkowanie przeprowadzano na piasku w krystalizatorach o zawartości 15% wilgoci w temperaturze zmiennej 18° i 30° w ciemni.

Cukry oznaczano metodą Fujita Akiji i Danzo Iwatake (1931). Próbkę do analizy cukrów w burakach były pobrane z mieszaniny po rozdrobnieniu na tarce promienistych wycinków wzdłuż osi korzenia buraka. Z 50 szt. korzeni pobierano 2 równoległe naważki po 25 g, utrwalano je przez zagotowanie i do oznaczenia przechowywano w lodówce z dodatkiem chloroformu.

Glutaminę i asparaginę oznaczano metodą Puchera, Vickery i Leavenwortha w modyfikacji Reifera i Tarnowskiej (1952). Azot oznaczano metodą Kjeldahla w modyfikacji Reifera i Tarnowskiej (1950).

Oddychanie nasion i liści oznaczano w aparacie Warburga. Pomiary pobierania tlenu przez nasiona przeprowadzano na próbkach 1 g (masa powietrznie suchych nasion), zawierających kłębki o wielkości 3—5 mm w wyrównanej ilości. Wydzielany dwutlenek węgla usuwano z naczynka przy pomocy 20% KOH, dawanego do środkowego zbiorniczka naczynka Warburga. Po ukończeniu pomiaru nasiona wyjmowano z naczynek i za lewano ponownie żelazicyjankiem lub wodą do następnych kolejnych oznaczeń.

Potencjał oksydacyjno-redukcyjny oznaczano w homogenatach liści buraków w atmosferze azotu. Naważkę zielonych liści z trzykrotną ilością wody umieszczano w zbiorniku homogenizatora i azot przepuszczano w ciągu 5 min. Następnie przy stałym jego dopływie homogenizowano liście w ciągu 1 min., i przenoszono homogenizat do naczynia zamkniętego z elektrodami podłączonymi do pehametru nie przerywając dopływu azotu. Pierwszy pomiar potencjału dokonywano w 3 min. od rozpoczęcia homogenizacji.

Glutation oznaczano metodą glioksalazową według Clifta i Cooka, ulepszoną przez Stettera (1951). Glutation utleniony oznaczano po uprzedniej redukcji na katodzie rtęciowej.

WYNIKI

Energia i siła kiełkowania nasion traktowanych żelazicyjankiem. Nasiona moczone przez 4 doby w roztworach 0,1‰ i 0,3‰ żelazicyjanku oraz w wodzie. Do oznaczenia brano nasiona bezpośrednio po ich moczeniu oraz po uprzednim wysuszeniu. Wyniki podane są w tabeli 1.

Tabela 1

Energia i siła kiełkowania nasion buraka AJ2 traktowanych przez 4 doby w roztworach żelazicyjanku

Sposób traktowania nasion		Okres kiełkowania dni	% kłębów skiełkowanych średnio*	Liczba kłębów średnio*
Nie suszone po moczeniu	Moczone: w wodzie	7	65	108
		14	66	110
	w 0,1‰ żelazicyjanku	7	59	107
		14	60	108
	w 0,3‰ żelazicyjanku	7	59	107
		14	61	111
Wysuszone po moczeniu	Niemoczone	7	66	122
		14	67	124
	Moczone: w wodzie	7	69	124
		14	69	125
	w 0,3‰ żelazicyjanku	7	67	120
		14	67	122

* Średnia z 4 powtórzeń.

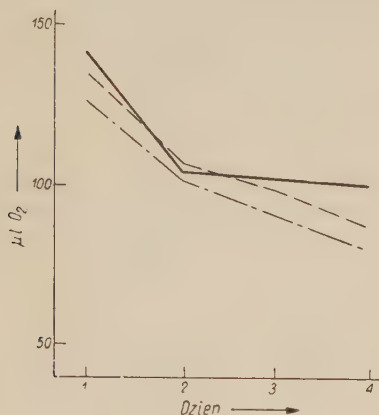
Jak wynika z danych, żelazicyjanek nie wpływał na energię i siłę kiełkowania nasion.

Oddychanie nasion. Pobieranie tlenu przez nasiona buraków AJ1 i AJ2 moczonych w wodzie i w roztworach żelazicyjanku oznaczano w ciągu pierwszych czterech dni kiełkowania. Pomiary wykonywano w 3 powtórzeniach, co 24 godz. Wyniki podane na rys. 1 i 2 przedstawiają średnią wartość z 5 serii pomiarów dla każdej odmiany.

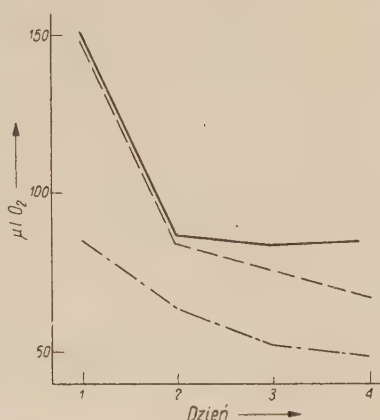
Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istotność różnic — z prawdopodobieństwem błędu 0,01 — w pobieraniu tlenu przez nasiona między odmianami, kombinacjami, czasem oznaczenia, a także i różnic we współdziałaniach *odmiany* $\times$ *kombinacje* i *odmiany* $\times$ *czas*. Współdziałanie *kombinacje* $\times$ *czas* wykazuje różnicę dopiero przy prawdopodobieństwie błędu 0,05. Przedział ufności wynosi dla odmian 6 μ l, dla kombinacji 7 μ l, dla czasu 8 μ l O₂.

Roztwór 0,3% żelazicyjanku obniża bardzo wyraźnie, w stosunku do nasion kontrolnych moczonych w wodzie, pobieranie tlenu przez nasiona AJ2 w przeciągu całego okresu badań. Roztwór 0,1% spowodował obniżenie pobierania tlenu dopiero po trzecim i czwartym dniu moczenia. Nasiona buraków AJ1 moczone w 0,3% żelazicyjanku pobierały mniej tlenu od kontrolnych, z wyjątkiem nasion po drugim dniu moczenia. Stężenie 0,1% obniżało pobieranie tlenu dopiero po czwartym dniu moczenia.

Oddychanie kiełków i liści buraków. Oznaczono pobieranie tlenu przez kiełki uzyskane z nasion buraków moczonych w wodzie



Ryc. 1. Pobieranie tlenu przez kłębki buraka AJ1 (średnie z 5 analiz)



Ryc. 2. Pobieranie tlenu przez kłębki buraka AJ2 (średnie z 5 analiz)

Nasiona moczone: ————— w wodzie, ———— 0,1% żelazicyjanku,
- - - - - w 0,3% żelazicyjanku

oraz w roztworach żelazicyjanku w ciągu 4 dób. Do oznaczeń pobierano po 0,5 g kiełków lub liści w trzech potwórzniach. Wyniki pomiarów przedstawione są w tabeli 2.

Analiza zmienności nie wykazała istotności różnic (z prawdopodobieństwem błędu 0,05) między kombinacjami, a wykazała tylko istotną zmienność materiału.

Współczynnik oddychania — CO_2/O_2 , oznaczony dla kiełków buraków AJ2, również nie wykazuje istotnych różnic między kombinacjami. Wyniki tych oznaczeń podane są w tabeli 3.

W celu poznania bezpośredniego wpływu żelazicyjanku na oddychanie tkanki, przeprowadzono pomiary współczynnika oddychania liści buraka w środowisku wodnym i w środowisku 0,1% żelazicyjanku. Wyniki podane w tabeli 4 nie wykazują różnic w oddychaniu między tymi kombinacjami.

Również inhibicja oddychania w obecności cyjanku i azydku oraz malonianu (tabela 5) nie powodowała różnic w pobieraniu tlenu przez rośliny z nasion moczonych w wodzie i w roztworach żelazicyjanku.

Tabela 2

Pobieranie tlenu przez kielki i liście buraków (w $\mu\text{l O}_2/30 \text{ min.}$ przez 500 mg świeżej masy)

Odmiana	Wiek roślin dni	Nasiona moczone 4 doby		
		w wodzie	w 0,10% żelazicyjanku	w 0,30% żelazicyjanku
AJ 1	8	95	91	106
	12	80	77	80
	15	74	73	91
	15	67	79	82
	15	55	55	66
	22	80	80	76
AJ 2	9	61	75	72
	16	49	—	48
	21	124	123	122
	21	111	111	111
AJ 3	2 miesiące	95	88	93
		69	62	68
		93	93	96
		73	68	75

Potencjał oksydacyjno-redukcyjny. Potencjał oznaczano w homogenatach liści buraków AJ2 z roślin 25, 50 i 120-dniowych. Wyniki pomiarów przedstawione na ryc. 3—5 wykazują zmienność potencjału zależną od wieku roślin, nie zaś od traktowania nasion.

Tabela 3

Wartość współczynników oddychania w zależności od traktowania roślin buraka AJ2 ($Q = \mu\text{l}/30 \text{ min.}$ średnio z dwu powtórzeń)

Wiek roślin	Nasiona moczone	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^*$	CO_2/O_2
8 dni	w wodzie	80,110	61,89	0,79
	w 0,10% żelazicyjanku	85,97	69,74	0,79
	w 0,30% „	116,97	96,75	0,80
12 dni	w wodzie	73,87	51,63	0,71
	w 0,10% żelazicyjanku	72,81	55,56	0,73
	w 0,30% „	76,85	54,56	0,68

* Q_{CO_2} obliczono na podstawie pomiarów pobierania tlenu w naczynkach równoległych nie zawierających KOH.

Zawartość cukrów i innych składników w okresie wegetacji buraka. Zawartość cukrów redukujących, sacharozy i azotu ogólnego w 12-dniowych kiełkach podana jest w tabeli 6. Oznaczenia te przeprowadzono w kiełkach otrzymanych z nasion, trakto-

Tabela 4

Oddychanie liści buraka AJ3 w środowisku 0,1% żelazicyjanku
(w μ l na 30 min., 500 mg zielonej masy)

Środowisko	QO ₂ *	QCO ₂ *	CO ₂ /O ₂
Woda	93,99	81,84	0,89
0,1% żelazicyjanek	96,90	82,84	0,89

* Wartości średnie z dwu powtórzeń.

wanych żelazicyjankiem o stężeniu 0,3% i wysianych bezpośrednio po moczeniu oraz po uprzednim ich wysuszeniu. Jako kontrolnych użyto nasiona moczone w wodzie lub też nie moczone.

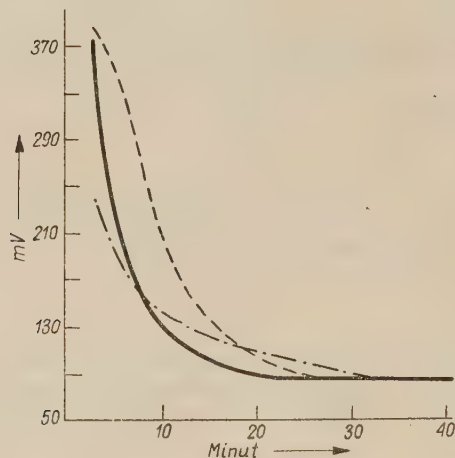
Tabela 5

Inhibicja pobierania tlenu przez liście z roślin buraka
(500 mg skrawków w środowisku z buforem fosforanowym ok. 0,066 M
o pH 7,0 i inhibitorem. Wyniki w μ l na 30 min oparte są na trzech powtórzeniach)

Inhibitor i jego stężenie	Odmiana i wiek rośliny	% inhibicji nasiona moczone		
		w wodzie	w 0,1% żelazicyjanku	w 0,3% żelazicyjanku
Azydek sodowy 0,005 M	AJ2, 9 dni	39	43	43
	AJ3, 3 mies.	41	37	39
		59	53	57
Cyjanek potasowy 0,005 M	AJ2, 19 dni	48	45	47
	AJ3, 3 mies.	33	34	33
Malonian 0,016 M	AJ3, 3 mies.	17	15	16

Zawartość cukrów i azotu nie była zależna od sposobu traktowania nasion. Materiał do analizy uzyskiwano wysiewając nasiona do ziemi ogrodowej w skrzynkach, znajdujących się w pomieszczeniu laboratoryjnym. Dla uzyskania materiału do analizy z roślin starszych założono małe polotka na terenie SGGW w Warszawie. Nasiona moczone w 0,3% roztworze żelazicyjanku, moczone w wodzie i nie moczone wysiano 15.V.1955 r. w 7 powtórzeniach. W rzędzie, stanowiącym jedno powtórzenie, umieszczało po 25 szt. roślin. Kiełkowanie buraków moczonych w roztworze żela-

zicyjanku i w wodzie było o 2—3 dni szybsze od kiełkowania buraków z nasion suchych. Do analizy pobierano 21 szt. roślin — po 3 z każdego powtórzenia. Po zważeniu liści i korzeni, każdą próbkę analizowano na zawartość cukrów, glutaminy i asparaginy. Materiał do analizy był możliwie szybko utrwalany ze względu na szybkie zmiany zawartości niektórych składników chemicznych, a zwłaszcza cukrów. Waga liści i korzeni podana jest w tabeli 7, z której wynika, że w początkowym okresie rośliny



Ryc. 3. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści buraka z roślin 25-dniowych.
Nasiona moczone:

w wodzie; —————
w 0,1% żelazicyjanku; - - - - -
w 0,3% żelazicyjanku -

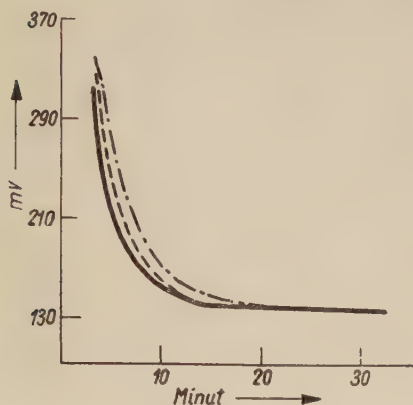
z nasion moczonych miały większą masę, natomiast żelazicyjanek w porównaniu z wodą nie wywierał żadnego widocznego wpływu.

Podobnie żelazicyjanek nie wywierał wpływu na zawartość cukrów (tabela 8), glutaminy i asparaginy (tabela 9).

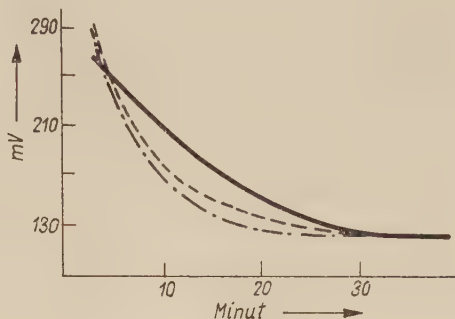
Glutationu w liściach buraka w ilościach oznaczalnych metodą glioksalazową nie wykryto, natomiast znaleziono go w postaci utlenionej, w ilości około 1 mg⁰/o świeżej masy w 5-dniowych etiolowanych kiełkach buraków. Moczenie nasion w 0,3% roztworze żelazicyjanku przez 4 doby nie spowodowało widocznych zmian w zawartości glutationu.

Doświadczenia polowe. Przeprowadzone w 1955 r. doświadczenia miały na celu zbadanie wpływu stężenia roztworu żelazicyjanku

użytego do moczenia nasion oraz długości czasu moczenia na plon i cukrowość buraków. Ponieważ z różnych względów założenie w jednej miejscowości obszerniejszego doświadczenia było niemożliwe, więc w RZD w Puczniewie porównywano wpływ stężenia żelazicyjanku na nasionach moczonych przez 4 doby, a w RZD w Swadzimiu — wpływ czasu moczenia stosując 0,3% roztwór żelazicyjanku. Wyniki uzyskane z doświadczenia w Swadzimiu (tabela 10) nie wykazują istotnych różnic między kom-



Ryc. 4. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści buraka z roślin 50-dniowych. Nasiona moczone:
w wodzie; —————
w 0,1% żelazicyjanku; - - - - -
w 0,3% żelazicyjanku - . - . - . -



Ryc. 5. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści buraka z roślin 120-dniowych. Nasiona moczone:

w wodzie; —————
w 0,1% żelazicyjanku; - - - - -
w 0,3% żelazicyjanku - . - . - . -

binacjami. Przedział ufności wynosi 9,7 kg, przy średniej generalnej plonu z poletka 135,1 kg, a przedział ufności dla zawartości cukrów w korzeniach wynosi 0,66.

Z doświadczenia w Puczniewie (tabela 11) wynika, że różnice plonów w niektórych kombinacjach, jak i powtórzeniach są istotne. Obliczony przedział ufności wynosi 10,5 kg. Z porównania różnic między średnimi wartościami plonu z poszczególnych kombinacji wynika, że zmienność ta była spowodowana błędami doświadczalnymi. Analiza zawartości cukrów (przedział ufności 0,34%) nie wykazała istotnego zróżnicowania poszczególnych kombinacji.

W dalszych dwu latach prowadzono doświadczenie w Puczniewie obejmujące w pierwszym roku 4 poziomy stężenia roztworów żelazicyjanku i 3 poziomy czasu moczenia nasion. W następnym roku stosowano 2 pozio-

my stężenia żelazicyjanku i 2 poziomy czasu moczenia nasion. Uzyskane wyniki przedstawione są w tabeli 12.

Analiza statystyczna każdego roku nie wykazała istotnych różnic w płonach i zawartości cukrów między poszczególnymi kombinacjami. Doświad-

Tabela 6

Zawartość cukrów redukujących, sacharozy i azotu ogólnego w 12-to dniowych kiełkach buraka (w 0/0 świeżej masy)

Czas moczenia dni	Składnik	Nasiona wysiane mokre		Nie moczone	Nasiona wysiane po wysuszeniu	
		moczone w wodzie	moczone w 0,30/0 żelazicj.		moczone w wodzie	moczone w 0,30/0 żelazicj.
1	Cukry red.	0,259	0,317	0,233	0,179	0,176
	Sacharoza	0,123	0,104	0,054	0,082	0,097
	Azot ogólny	0,383	0,393	0,468	0,426	0,423
2	Cukry red.	0,136	0,125	0,412	0,382	0,439
	Sacharoza	0,054	0,039	0,095	0,049	0,074
	Azot ogólny	0,334	0,310	0,356	0,328	0,354
3	Cukry red.	0,125	0,143	0,364	0,422	0,374
	Sacharoza	0,192	0,192	0,116	0,103	0,102
	Azot ogólny	0,317	0,335	0,321	0,369	0,367
4	Cukry red.	0,411	0,421	—	—	—
	Sacharoza	0,106	0,115	—	—	—
	Azot ogólny	0,307	0,316	—	—	—

czenia te były wykonane z dostateczną dokładnością, czego wyrazem jest wartość przedziału ufności wynosząca do 100/a wartości średnich generalnych.

Tabela 7

Waga liści i korzeni buraków w okresie wegetacji (w g na 1 roślinę)

Nasiona	Ważona część rośliny	Daty analizy				
		21.VI	27.VI	6.VII	28.VII	20.VIII
Nie moczone	liście	2,5	7,6	24,8	165	185
	korzenie	1,25	3,7	8,6	79,5	181
Moczone w wodzie	liście	3,2	9,5	19,6	166	183
	korzenie	1,95	5,2	6,2	81,9	195
Moczone w 0,30/0 żelazicj.	liście	3,8	8,8	22,7	162	167
	korzenie	2,0	6,3	8,3	81,4	197

DYSKUSJA

Oznaczenie energii i siły kiełkowania nasion przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych nie wykazało różnic między nasionami moczonymi w żelazicyjanku, w wodzie, jak i między nasionami w ogóle nie moczonymi. Thompson i Rosar (1938), badając wpływ moczenia na-

Tabela 8

Zawartość cukrów redukujących i sacharozy w liściach i korzeniach buraka (w ‰ świeżej masy)

Nasiona	Cukry	Daty analizy							
		21.VI	27.VI	6.VII		28.VII		20.VIII	
		<i>l</i> *	<i>l</i>	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>
Nie moczono	Reduk.	0,296	0,254	0,786	0,162	0,948	0,084	0,87	0,089
	Sachar.	0,143	0,133	0,050	7,10	0,357	13,0	0,489	19,5
Moczone w wodzie	Reduk.	0,348	0,247	0,748	0,163	0,892	0,095	0,790	0,082
	Sachar.	0,135	0,118	0,061	7,02	0,374	13,0	0,474	19,4
Moczone w 0,30‰ żelazicyjanku	Reduk.	0,383	0,263	0,783	0,168	0,961	0,087	0,974	0,082
	Sachar.	0,143	0,094	0,070	7,08	0,382	13,1	0,416	19,2

l — liście, — *k* korzenie.

Tabela 9

Zawartość glutaminy i asparaginy w liściach i korzeniach buraka (wyrażone ilością azotu amidowego w mg‰ świeżej masy)

Nasiona	Składnik oznaczany	Daty analizy						
		27.VI	6.VII		28.VII		20.VIII	
		<i>l</i> *	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>
Nie moczono	Glutamina	1,28	2,15	5,72	1,70	2,76	1,79	2,26
	Asparagina	3,97	1,96	4,67	0,93	1,40	3,74	1,15
Moczone w wodzie	Glutamina	1,28	2,34	5,95	1,46	2,10	1,79	1,56
	Asparagina	3,39	1,77	4,40	0,77	1,54	3,88	1,21
Moczone w 0,30% żelazocyjanku	Glutamina	0,47	2,52	5,78	1,74	2,19	2,03	2,31
	Asparagina	3,50	1,40	4,96	0,53	1,59	3,89	1,33

l — liście, *k* — korzenie.

sion sałaty m.in. także w roztworach żelazicyjanku, również nie stwierdzili jego wpływu na kiełkowanie. Jednakże w warunkach polowych obserwowano niejednokrotnie wyraźny wpływ moczenia, przyspieszający wschody buraków o kilka dni. Podobnie przyspieszone wschody uzyskiwano z nasion moczonych w wodzie, zjawisko to więc nie było wywołane dzia-

łaniem żelazicyjanku. Przyspieszenie wschodów uzyskuje się prawdopodobnie w pewnych sprzyjających warunkach klimatycznych i glebowych.

Badania nad oddychaniem nasion (kłębków) buraka są związane z dużymi trudnościami, ponieważ procesy oddechowe przebiegają nie tylko w nasieniu, lecz także i w owocni (de Roubaix i Lazar 1952). Ponadto usunięcie flory bakteryjnej z kłębka buraka i całkowite wymycie czynnika sterylizującego w odpowiednio krótkim czasie jest ze względu na jego budowę praktycznie niemożliwe.

Tabela 10

Wpływ długości czasu moczenia nasion buraków
AJ1 w 0,30% roztworze żelazicyjanku na plon
(kg z 42 m²) i cukrowość korzeni (Swadzim)

Kombinacje	Plon w kg	Cukrowość ‰
Nie moczone	132	21,0
Moczone {	6 godzin	21,4
	24 godzin	21,7
	2 doby	21,4
	4 doby	20,9

Tabela 11

Wpływ moczenia nasion w ciągu 4 dób w roztworach
o różnym stężeniu żelazicyjanku na plon (kg z 42,5 m²)
i cukrowość korzeni buraków. (Puczniew, 1955 r.)

Kombinacje	Plon w kg	Cukrowość ‰
Nie moczone	134	18,6
Moczone {	w wodzie	146
	w 0,050% ż*	152
	w 0,10% ż	147
	w 0,20% ż	152
	w 0,30% ż	139
	w 0,40% ż	162

* ż — żelazicyjanek.

Przeprowadzone pomiary obejmują pobieranie tlenu przez kłębki moczone w roztworach żelazicyjanku i wodzie. Ilości pobieranego tlenu były najwyższe po 24 godzinach moczenia w porównaniu z oznaczeniami w innych okresach. W drugiej dobie obserwowano znaczne obniżenie pobieranego tlenu, a w trzeciej i czwartej dobie dalszych większych zmian nie

obserwowano. Znaczne obniżenie pobierania tlenu w pierwszym okresie przypuszczalnie wynikało z wymycia z owocni enzymów oddechowych i ich substratów.

Różnice w ilości pobieranego tlenu między nasionami AJ1 i AJ2 są wynikiem różnicowania odmianowego. De Roubaix i Lazar (1954) uprzednio stwierdzili także, że ilość tlenu pobieranego przez kłębki jest zależna od odmiany. Pomiary przeprowadzali oni w ciągu pierwszych 7 godzin kiełkowania.

Tabela 12

Wpływ moczenia nasion buraków AJ1 w roztworach żelazicyjanku na plon (w kg z 43 m²) i cukrowość korzeni. Puczniew

Kombinacje	1956 rok		1957 rok	
	plon	cukrowość	plon	cukrowość
Nie moczone	143	17,8	157	18,0
Moczone w wodzie		...		
1 dobę	146	17,9	—	—
2 doby	139	17,8	158	18,0
4 doby	147	17,8	161	17,9
Moczone w 0,10% żelazicyjanku				
1 dobę	141	17,8	—	—
2 doby	140	17,7	165	17,9
4 doby	150	17,8	160	18,2
Moczone w 0,30% żelazicyjanku				
1 dobę	143	17,7	—	—
2 doby	138	17,6	162	18,0
4 doby	138	17,9	164	17,9
Moczone w 0,50% żelazicyjanku				
1 dobę	148	17,8	—	—
2 doby	147	17,5	—	—
4 doby	143	17,9	—	—

Żelazicyjanek o stężeniu 0,30% obniża pobieranie tlenu przez nasiona buraków AJ2 w porównaniu do nasion kontrolnych moczonych w wodzie. Roztwór 0,10% wyraźnie obniżył pobieranie tlenu dopiero po 3 i 4 dobie moczenia. W przypadku buraków AJ1 roztwór 0,30% nie powodował tak dużego wpływu na oddychanie. Wpływ stymulatora w obydwu stężeniach obserwowano dopiero po 3 i 4 dniu moczenia.

Obniżenie pobierania tlenu przez nasiona moczone w żelazicyjanku może być wynikiem inhibicji oksydaz w kłębku, względnie wynikiem działania żelazicyjanku jako utleniacza. Żelazicyjanek hamuje niektóre enzymy o działaniu związanym z pobieraniem i wydzielaniem tlenu, jak

w przypadku tyrozynazy (Kawasaki Osaum 1939) i katalazy ((Roca i Ondana 1951). W kłébkach buraka tyrozynazy nie znalaziono, natomiast wykryto katalazę, peroksydazę, oksydazę polifenolową i Nadi-oksydazę (de Roubaix i Lazar 1952). Enzymy te znajdują się zarówno w nasieniu, jak i w owocni. Różnice w działaniu żelazicyjanku na odmiany AJ1 i AJ2 mogą wynikać z różnych ilości enzymów obecnych w kłébkach tych odmian.

Traktowanie żelazicyjankiem nasion nie wpływa na intensywność pobierania tlenu przez młode kielki buraka, jak i przez liście z roślin starszych. Pomiarы oddychania młodych tkanek buraka w obecności roztworu 0.1% żelazicyjanku również nie wykazały jego wpływu na oddychanie. Wielkość współczynnika oddychania wynosiła od około 0,7 do 0,8 dla buraków AJ2 i od około 0,86 do 0,93 dla buraków AJ3. Według de Roubaix i Lazara (1952) u buraków cukrowych od 7 do 16 dnia wzrostu współczynnik oddechowy jest stały i wynosi około 0,75. Autorzy ci przeprowadzali pomiary na burakach jednej odmiany.

Inhibicja enzymów oddechowych azydkiem i cyjankiem powodowała zmniejszenie pobierania tlenu o około 35—55%. Traktowanie nasion żelazicyjankiem nie miało dodatkowego wpływu na wielkość inhibicji. Malonian hamował pobieranie tlenu w granicach 15—20%. W podobnych warunkach, na innych roślinach, cjanek powodował 50% zmniejszenie pobierania tlenu (Reifer i Solecka 1958). Częściowa inhibicja oddychania cyjankiem lub azydkiem wskazuje na to, że rośliny buraka posiadają poza systemem cytochromowym i polifenolowym inne jeszcze nie poznane systemy enzymów oddechowych.

Przeprowadzone pomiary potencjału homogenatów z liści buraka nie wykazały jego zmian w zależności od traktowania nasion żelazicyjankiem. Potencjał ustalał się po upływie około 30 min od rozpoczęcia homogenizacji w liściach z roślin 25-dniowych na poziomie 84 mV, a około 130 mV w liściach z roślin starszych. Pierwszy pomiar po zhomogenizowaniu wykazywał wartość potencjału ok. 300—400 mV. Geller podaje (1951), że w liściach zielonej rośliny buraka na świetle potencjał wynosił 238 mV, a w ciemności — 269 mV. Pod wpływem utleniaczy w pożywcę potencjał zwiększał się do 472 mV na świetle i do 494 mV w ciemności.

Zawartość cukrów redukujących i sacharozy w kielkach i liściach buraka była bardzo zmienna. Liście buraków AJ2 w okresie wegetacji zawierały od 0,25% do 1,07% cukrów redukujących, a 0,05% do 0,49% sacharozy w świeżej masie. Liście z roślin młodszych zawierały na ogół mniej cukrów niż w okresie późniejszym. W korzeniach natomiast zawartość cukrów redukujących w późniejszym okresie wegetacji była niższa i wynosiła 0,08% w roślinach 98-dniowych, podczas gdy w 53-dniowych wynosiła 0,16%.

Zawartość sacharozy w tym okresie wzrosła z 7% do 19%. Traktowanie żelazicyjankiem nasion nie wpłynęło na zawartość cukrów w kiełkach, liściach i korzeniach. Podobnie przedstawia się zawartość glutaminy i asparaginy w liściach i korzeniach oraz azotu ogólnego i glutationu w kiełkach.

Doświadczenia polowe przeprowadzone w Rolniczych Zakładach Doświadczalnych nie wykazały wpływu moczenia nasion w roztworach żelazicyjanku na plony i cukrowość buraków.

Przedstawione wyniki badań nie potwierdzają roli żelazicyjanku jako stymulatora buraka cukrowego. Wykryto jedynie jego wpływ na procesy oddechowe kiełkujących nasion.

STRESZCZENIE

Przeprowadzono badania nad wpływem moczenia nasion buraka cukrowego w roztworach żelazicyjanku na niektóre procesy biochemiczne oraz na wielkość plonu i zawartość cukrów w roślinach. Stwierdzono, że traktowanie nasion roztworami żelazicyjanku nie wpływa stymulująco na wielkość plonu oraz zawartość cukrów, azotu ogólnego, asparaginy, glutaminy i glutationu w roślinie. Wykazano natomiast jego wpływ na procesy oddechowe kiełkujących nasion, obniżający pobieranie tlenu przez kłębki buraka.

Poza tym wykazano różnice odmianowe w intensywności pobierania tlenu przez nasiona. Współczynnik oddychania zielonych tkanek wahał się od 0,7 do 0,9. Inhibicja cyjankiem i azydkiem obniżała pobieranie tlenu do ok. 50%, a malonianem — do 20%. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści wynosił 84 mV w roślinach 25-dniowych i około 130 mV w roślinach 50- i 120-dniowych. Zawartość glutationu w 5-dniowych kiełkach etiolowanych wynosiła około 1 mg% świeżej masy. W liściach zielonych glutationu nie wykryto.

Katedra Biochemii

Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego

w Warszawie

(Wpłynęło dn. 6.9.1959)

SUMMARY

The effect of ferricyanide applied to the seeds of sugar beet has been studied. Certain biochemical processes as well as the content of sugar and total yield on fresh weight basis were investigated.

It was shown that soaking of seeds in ferricyanide solution of various concentrations had no stimulatory effect upon the content of sugars, total nitrogen, asparagine, glutamine and glutathion. Ferricyanide however has shown a marked effect on the respiration of germinating seeds, decreasing the amount of oxygen normally taken up by sugar beet seeds. Furthermore it was shown that the oxygen uptake depends upon varietal differences.

The coefficient of respiration of green tissue varied between 0,7 to 0,9. The inhibition in the presence of cyanide and azide amounted to about 50 per cent, and in the presence of malonate to about 20 per cent. The redox potential in homogenates obtained from green leaves amounted to 84 mV in younger plants and 134 mV in older ones. Glutathione was found only in five day old etiolated seedlings and the content found amounted to about 1 mg⁰% on fresh weight basis.

The Chair of Biochemistry
College of Agriculture
Warsaw, Poland

LITERATURA

- Brzeski W., 1956, Badania nad składem chemicznym dojrzałych nasion rącznika puławskiego z uwzględnieniem wpływu żelazicyjanku, Praca kandydacka wykonana w Katedrze Biochemii SGGW w Warszawie.
- Crane F. L., Beinert H., 1956, On the mechanism of dehydrogenation of fatty acyl derivatives of coenzyme A. II. The electron transferring flavoprotein, *J. Biol. Chem.* 218: 717—731.
- Devlin T. M., Lehninger A. L., 1956, Oxydative phosphorylation by an enzyme complex from extracts of mitochondria. II. The span of β -hydroxybutyrate to cytochrome c, *J. Biol. Chem.* 219: 507—518.
- Fujita Akiji, Danzo Iwatake, 1931, Bestimmung des echten Blutzuckers ohne Hefe, *Biochem. Z.* 242: 43—60.
- Gieller J. A., 1951, O wlijanii kisłoroda i drugih oksilitielej na okislitielno — wosstanowitielnyj potencijał tkaniej sacharnoj swiokły, *DAN SSSR* 81: 251—254.
- Good N., 1955, Reduction of ferricyanide by algal suspension, *Plant Physiol.* 30: 483—484.
- Iliev P., 1955, The teaching of academician Methodi Popoff on general cellstimulation and the application of stimulation methods in increasing the yields of agriculture crops in Bulgaria. Bulletin of the Methodi Popoff Institute of Biology, Bulgarian Academy of Science, 6: 45—60.
- Iliev P., 1958, Die Stimulation als biologische Erscheinigung und die Vervendungsmöglichkeiten in der Praxis, w książce *Studies in Plant Physiology*: 55—68. Československe Akademie Věd. Praha.
- Kawasaki Osamu, 1938, Tyrosinase. III. Effect of the addition of various salts on the potato tyrosinase, *J. Biochem. (Japan)* 28: 383—403, *Chem. Abstr.* 2547 (1939).
- Krogman D. W., Jagendorf A. T., 1957, A spectrophotometric assay of the Hill reaction with ferricyanide, *Plant Physiol.* 32: 373—374.
- Maschman E., Helmert E., 1935, Über intracellulare Proteinasen. XIV. Aktivierung und Hemmung des Papains durch Ferricyankalcium, *Biochem. Z.* 279: 213—224.
- Pietierburgskij A. W., 1928, *Izw. Sielsko-Choz. Akad.* 2: 357—382, *Chem. Abstr.* 4965 (1931).
- Plaut M., 1925, Die Wirkung von warmen Beizmittel und Versuche zur Stimulation, *Angewandte Botanik* 7: 153—184.

- Popoff M., 1923, Die Stimulierung der Zellfunktionen, ihre theoretische und landwirtschaftliche Bedeutung, Die Landw. Versuchs-Stationen 101: 286—292.
- Reifer I., Tarnowska K., 1950, Mikro-jodometryczne oznaczanie azotu w materiale roślinnym, Acta Soc. Bot. Poloniae 20: 739—744.
- Reifer I., Tarnowska K., 1952, Mikrooznaczanie glutaminy w materiale roślinnym, Roczniki Nauk Roln. 61: 233—244.
- Reifer I., 1953, Zakład Biochemii SGGW w Warszawie, Kosmos, seria biologiczna 2: 92—93.
- Reifer I., Rumińska A., Kączkowski J., 1955, Wstępne badania nad wpływem żelazicyjanku potasu na plon i zawartość alkaloidów w *Datura stramonium* L., Acta Biochim. Pol. 2: 315—320.
- Reifer I., Rumińska A., Kączkowski J., 1956, Wpływ żelazicyjanku potasu na *Datura stramonium* L. Plon liści, zawartość alkaloidów i niektórych innych składników, Acta Biochim. Pol. 3: 209—224.
- Reifer I., Solecka M., 1958, Oksydazy końcowe kielków pszenicy, Acta Biochim. Pol. 5: 277—293.
- Roca J., Ondana R., 1951, Enzymic activity during germination III. Catalase in bean variates, Annales inst. biol. (Mexico) 22: 3—9, Chem. Abstr. 3617 (1952).
- de Roubaix J., Lazar O., 1952, Metabolisme respiratoire de la betterave sucrière. III. Respiration et activité enzymatique des plantules, La Sucrière Belge No. 11/12, 13/14, 15/16.
- de Roubaix J., Lazar O., 1954, Metabolisme respiratoire de la betterave sucrière. IV. L'activité respiratoire des plantules est-elle d'un caractère varietal?, La Sucrière Belge No. 7/8, str. 172.
- Rummen G., 1954, Modellstudien über das physiologische Redoxpotentiale der Pflanze und den Chemismus seiner Steuerung, Wiss. Z. Friedrich Schiller-Univ. Math.-naturwiss. Reihe 4: 611—632, R. Z. Chim. Bioch. 2016 (1956).
- Schwartz M., 1955, The quantum efficiency of the photochemical reduction of quinone and ferricyanide by lyophilized and whole *Chlorella* cells, Archiv. Biochem. Biophys. 59: 5—16.
- Stetter H., 1951, Enzymatische analyse. Verlag Chemie GMBH, Weinheim.
- Thompson R. C., Rosar W. F., 1938, Germination of lettuce seed stimulated by chemical treatment, Science 87: 218—219.
- Własiuk P. A., 1932, Chemical stimulation of sugar beet seeds for increase of the sugar yield. Naucznyje Zapiski Cukrowoj Promyszlennosti 9: 1—26, Chem. Abstr. 2597 (1933).
- Własiuk P. A., 1933, Chemical stimulation for increasing the yield of sugar beets, Naucznyje Zapiski Cukrowoj Promyszlennosti 10: 113—132 i 181—198, Chem. Abstr. 5873 (1933).

O odchyleniach w przebiegu koniugacji *Spirogyra majuscula* Kütz

Über die Unregelmässigkeit im Kopulationsprozess von *Spirogyra majuscula* Kütz.

J. Z. KADEL'BOWSKA

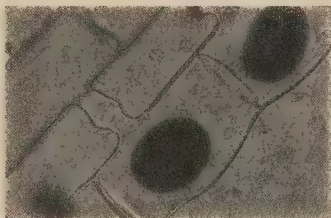
W czasie prowadzenia badań nad mikroflorą stawu na rzece Jasień, znajdującego się przy Państwowych Zakładach Przemysłu Bawełnianego im. F. Dzierżyńskiego w Łodzi, napotkano na zakwit *Spirogyra majuscula* Kütz. Gatunek ten rzadko był spotykany na terenie Polski. Łopot (1884) znalazł go w zbiornikach wodnych Wierzbna w województwie warszawskim, a Kozłowski (1890) w bagnach koło Aleksandrowa Kujawskiego.

Spirogyra majuscula Kütz. opisana została przez Kützinga w 1849 roku. Krieger (1944) podaje następujące synonimy *Spirogyra majuscula*: *Spirogyra majuscula* var. *brachymeres* Stitzenberger, *Spirogyra majuscula* a) *genuina* (Kütz.) Kirchner, *Degagnya majuscula* (Kütz.) Conard, *Spirogyra orthospira* Naegeli.

W próbie pobranej w dniu 30.III.1957 roku zwrócono uwagę na pewne odchylenia w procesie koniugacji *Spirogyra majuscula* Kütz. Wegetatywne nitki złożone były z komórek, w których chloroplasty przebiegały tworząc kąt prosty z błoną poprzeczną lub też ułożone były skośnie. Taki przebieg chromatoforów można było zaobserwować w komórkach tej samej nitki skrętnicy. Szerokość komórek wegetatywnych wahała się od 63 do 75 mikronów. W czasie koniugacji komórki „żeńskie“ ulegały skróceniu i nabrzmiwały po stronie przeciwległej kanałowi kopulacyjnemu (ryc. 1). Napotkano jednak również komórki „żeńskie“ z zygotą nie nabrzmiąle i nie skrócone (ryc. 2).

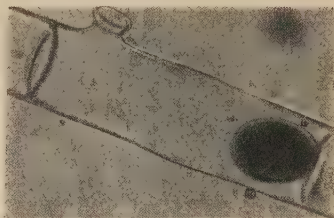
Osobliwością jest powstanie „zygot“ w obu kopulujących ze sobą komórkach (ryc. 3). Między tymi komórkami powstał prawidłowy kanał kopulacyjny. „Zygota“ w komórce „męskiej“ jest mniejsza od „zygoty“

w komórce „żeńskej“ o 10 mikronów. To zjawisko powstawania zygot w obu koniugujących ze sobą komórkach powtarzało się wielokrotnie. Komórki „męskie“ różniły się od „żeńskich“ tym, że nie nabrzmiwały i nie ulegały skróceniu. Przypuszczalnie w obu komórkach tak w ♀ jak i w ♂



Ryc. 1. Nabrzmiąta komórka „żeńska“ *Spirogyra majuscula* Kütz. z zygotą

Angeschwollene aufnehmende Zelle von *Spirogyra majuscula* Kütz.

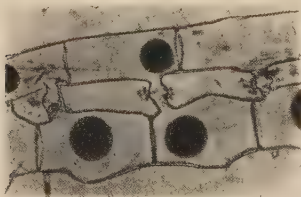


Ryc. 2. *Spirogyra majuscula* Kütz., komórka „żeńska“ z zygotą, nie nabrzmiąta

Spirogyra majuscula Kütz. Aufnehmende Zelle nicht angeschwollen

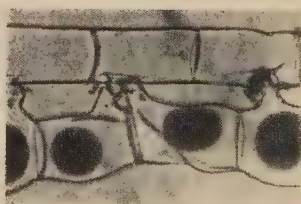
powstały parentospory. To zaburzenie w procesie koniugacji podaję dlatego, gdyż w dostępnym piśmiennictwie nie napotykałam wzmianek o powstawaniu partenospor w komórkach *Spirogyra majuscula* Kütz.

Na uwagę zasługuje również powstanie dwu zygot w sąsiednich komórkach nitki ♀, które koniugowały z tą samą komórką ♂ (ryc. 4). Zygoty



Ryc. 3. Partenospory w komórkach *Spirogyra majuscula* Kütz.

Parthenosporen bei *Spirogyra majuscula* Kütz.



Ryc. 4. *Spirogyra majuscula* Kütz. Proces koniugacji pomiędzy dwoma żeńskimi i jedną męską komórką

Spirogyra majuscula Kütz. Kopulationsprozess zwischen zwei „weiblichen“ und einer „männlichen“ Zelle

te są mniejsze od normalnych zygot, znajdujących się w komórkach tej samej nitki skrętnicy o około 10 mikronów.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Teiche am Jasiń-Fluss in Łódź wurden im März 1957 grosse Menge Kopulierender Fäden von *Spirogyra majuscula* Kütz. beobachtet.

Man hat in einigen Fällen augenscheinliche Unregelmässigkeiten im Konjugationsprozess festgestellt. Zum Beispiel sind die „Zygoten“ (wahrscheinlich Parthenosporen) mehrmals in beiden miteinander kopulirenden Zellen entstanden (Phot. 3). Der Verbindungskanal wurde indessen regelmässig angelegt. Die „Zygoten“ am „männlichen“ Faden waren kleiner als die „Zygoten“ am „weiblichen“ Faden.

Bemerkenswert ist auch die Zygotenentstehung in beiden Nachbarzellen am „weiblichen“ Faden, die mit derselben „männlichen“ Zelle kopulierten (Phot. 4).

LITERATURA

- Czurda V., 1937, Conjugatae, im Handbuch der Pflanzenanatomie II Abt. Band VI, 2 Teilband, Algen, Berlin.
- Kniep H., 1928, Die Sexualität der niederen Pflanzen, Jena.
- Kolkowitz R., Krieger H., 1944, Zygnemales, Rabenhorst's Kryptogamenflora v. Deutschland u. d. Schweiz Bd. XIII, Heft 2.
- Kozłowski Wł., 1890, Przyczynek do flory wodorostów okolic Ciechocinka, Pam. Fiz. 10.
- Lopot W., 1884, Materiały do flory algologicznej okolic Warszawy, Pam. Fiz. 4.

TREŚĆ — SOMMAIRE

VOL. XXVIII, 1959

B. Gomółka: Kwas jabłkowy i winowy jako substraty w fotosyntezie roślin zielonych — Malic and tartaric acids as substrates in the photosynthesis of green plants	3
K. Ermich: Badania nad sezonowym przebiegiem przyrostu grubości pnia u <i>Pinus silvestris</i> L. i <i>Quercus robur</i> L. — The investigations of the seasonal course of the diameter growth of <i>Pinus silvestris</i> L. and <i>Quercus robur</i> L.	15
T. Rylska: Rola skracania się lub wydłużania dnia przy indukcji fotoperiodycznej rośliny krótkiego dnia <i>Perilla ocimoides</i> L. — The influence of the shortening of lengthening of the day on the photoperiodic induction of the short-day plant <i>Perilla ocimoides</i> L.	65
S. Krupko: Występowanie oksyflawonów i flawonów w generatywnej komórce irysa — On the occurrence of oxyflavones (flavones?) in generative cells of the Iris	75
W. Maciejewska-Potapczyk i R. Nowacki: Wpływ kinetyny na zawartość węglowodanów w epikotylach grochu — The influence of kinetin on the carbohydrates content in peas epicotyls	95
K. Wilczyńska: Nowa uproszczona metoda biotestu wygięciowego „Avena Curvature Test” F. W. Went: „Coleoptile — Hypocotile Test” — The new easy method F. W. Went's „Avena Curvature Test”: „Coleoptile — Hypocotile Test”	111
D. Czapka: Badania cytologiczno-morfologiczne nad <i>Plantago media</i> L. i innymi gatunkami rodzaju <i>Plantago</i> — Cytological and morphological studies in <i>Plantago media</i> L. and other species of the genus <i>Plantago</i>	129
E. Mikulska: Chloroplasty w skórce liści roślin dwuliściennych — Sur l'existence des chloroplastes dans l'épiderme des feuilles des Dicotylédones	143
M. J. Olszewska: Etude autoradiographique de l'influence de la kinétine sur la synthèse des acides nucléiques et des protéines dans le méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i>	175
M. Moycho, M. Gubański, A. Rennert: Wyciąg z porostu <i>Cetraria islandica</i> inhibitorem wirusa mozaiki tytoniowej — An extract from the lichen <i>Cetraria islandica</i> as an inhibitor of TMV	185
M. J. Dąbrowski: Późnoglacialna i holocenska historia lasów Puszczy Białowieskiej, Część I. Białowiecki Park Narodowy — Late-glacial and	

Holocene history of Białowieża Primeforest, Part I. Białowieża National Park	197
T. Kowal i E. Kuźniewski: Uogólnienie metody dendrytowej i zastosowanie jej do systematyki roślin na przykładzie rodzajów <i>Chenopodium</i> L. i <i>Atriplex</i> L. — The generalization of the dendritic method and its application to the systematics of plants as shown on the example of <i>Chenopodium</i> L. and <i>Atriplex</i> L.	249
H. Wysocka: On the morphology and biology of <i>Centronella Reicheltii</i> Voigt	263
R. Domański: Zależność żywotności pyłku od niektórych czynników siedliska — The influence of some enviromental conditions on the viability of pollen	277
H. Birecka, A. Mazan, D. Szklarek: Badania nad alkaloidami łubinu białego (<i>Lupinus albus</i>) w czasie jego wegetacji. Część I. Łubin pastewny — Researches on alkaloid content of lupine (<i>Lupinus albus</i>) Part. I. White sweet lupine	285
H. Birecka, T. Sebyła, E. Nalborczyk: Przemiany sparteiny w łubinie białym (<i>Lupinus albus</i>) Część I. Łubin biały pastewny — Changes of sparteine in white lupine (<i>Lupinus albus</i>) Part. I. White sweet lupine	301
A. Stachurska: Morfologia pyłku <i>Pterocarya hupehensis</i> Skan. — The morphology of pollen grains of <i>Pterocarya hupehensis</i> Skan.	313
M. Jasnowski: Czwartorzędowe torfy mszyste, klasyfikacja i geneza — Klassifizierung Moostorfarten quartärer Niedermoore und ihre Entstehung	319
K. Bijok: Studia nad kariologią <i>Brassica napus</i> L. var. <i>biennis</i> (Schübler et Mart.) Rchb. i <i>Brassica napus</i> L. var. <i>typica</i> Posp. — Karyological studies in the species <i>Brassica napus</i> L. var. <i>biennis</i> (Schübler et Mart.) Rchb. and <i>Brassica napus</i> L. var. <i>typica</i> Posp.	365
A. Paszewski: The application of the electroencephalograph for the measurements of changes of electric potential differences in plants	373
I. Horvat: Die Pflanzenwelt Südosteuropas als Ausdruck der erd- und vegetationsgeschichtlichen Vorgänge	381
Z. Turnowska-Starck: Badania nad absorpcją sacharozy przez epidermę <i>Allium cepa</i> — Researches on the absorption of sucrose by the epidermis of <i>Allium cepa</i>	409
O. Kostecka-Mądalska: Działanie nowych pochodnych kwasu barbiturowego na rośliny — The influence of new derivatives of barbituric acid on plants	425
J. Sarosiek: Zawartość ołowiu w <i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth. — The contents of Lead in <i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	447
A. Hejnowicz a. Z. Hejnowicz: Variations of length of vessel membres and fibres in the trunk of <i>Robinia pseudoacacia</i>	453
S. Kownas: Przedstawiciele rodziny <i>Zingiberaceae</i> w trzeciorzędzie Dobrzyńa nad Wisłą — Representatives of the <i>Zingiberaceae</i> in the Miocene beds at Dobrzyń, on the Vistula, Poland	461
M. J. Olszewska: Obserwacje przyżyciowe nad wpływem kinetyny na czas trwania niektórych stadiów mitozy — Observations vitales de lin. de la kinétine sur la durée des certains stades de la mitose	

M. Zenkteler: Spostrzeżenia nad budową jąderek — Observations on the nucleolus structure in some native plants	477
M. Skalińska, R. Czapik, M. Piotrowicz et al.: Further studies in chromosome numbers of Polish Angiosperms (Dicotyledons)	487
A. Szweykowska, M. Gierczak a. R. Łuszczak: Anthocyanin synthesis in isolated embryos of red cabbage and radish	531
A. Szweykowska: The effect of nitrogen feeding on anthocyanin synthesis in isolated red cabbage embryos	539
M. Micek: Nowe stanowisko <i>Eucommia europaea</i> Mädlar w miocenie Polski — New locality of <i>Eucommia europaea</i> Mädlar in Miocene of Poland	551
B. Czeczuga: Pierwotna produkcja jezior Rajgrodzkich cz. I Jezioro Rajgrodzkie, J. Białe i J. Krzywe — The primary production of the Rajgród Lakes Part. I. Lake Rajgrodzkie, Lake Białe and Lake Krzywe	555
Pięćdziesięciolecie pracy naukowej Władysława Szafera — Le cinquantenaire de l'activité scientifique de Władysław Szafer	581
J. Stabrowska: Wzrost roślin na azotanach lub na solach amonowych w zależności od stopnia natlenienia podłoża — Das Wachstum der Pflanzen auf Nitraten beziehungsweise auf Ammonsalzen in Abhängigkeit von der Sauerstoffversorgung des Substrats	589
T. Baszyński: Wpływ światła na syntezę tokoferoli u <i>Zea mays</i> L. w początkowym okresie wzrostu — The influence of light on the synthesis of tocopherols in <i>Zea mays</i> L. seedlings	621
B. Goriaczko-Morawiecka: Poziom glutationu zredukowanego i utlenionego we wczesnych fazach rozwoju <i>Pisum sativum</i> L. i <i>Lupinus luteus</i> L. — The content of reduced and oxydized glutathione in the early development stages of <i>Pisum sativum</i> L. and <i>Lupinus luteus</i> L.	635
W. Brzeski i I. Reifer: Próba zastosowania żelazicyjanku jako stymulatora w uprawie rzącznika — An attempt of using ferricyanide as stimulator in the cultivation of the castor bean	653
W. Brzeski: Wpływ pory dojrzewania nasion rzącznika na wydajność, stopień wykształcenia i zawartość tłuszczu — Time of ripening of the castor bean and its influence upon the yield, physical characteristics, and fat content	665
J. Kączkowski: Mikrobiologiczny rozkład alkaloidów tropanowych — Microbiological decomposition of tropane alkaloids	677
A. Tomaszewski: Badania cytologiczne nad czterema gatunkami rodzaju <i>Ranunculus</i> L. — Cytological studies in four species of the genus <i>Ranunculus</i> L.	695
S. Gumiński, L. Badura, J. Buczek: Studium porównawcze oddychania korzeni kukurydzy i pomidorów — Eine vergleichende Studie über die Atmung der Mais- und Tomatenwurzeln	705
I. Reifer i S. Buraczewski: Próba stymulacji buraka cukrowego przy zastosowaniu żelazicyjanku — Stimulatory effect of ferricyanide on sugar beet	727
J. Z. Kadłubowska: O odchyleniach w przebiegu koniugacji <i>Spirogyra majuscula</i> Kütz — Über die Unregelmässigkeit im Kopulationsprozess von <i>Spirogyra majuscula</i> Kütz	745

UWAGI DLA AUTORÓW

Redakcja przyjmuje tylko pierwsze maszynopisy wraz z kopią. Maszynopis powinien odpowiadać następującym warunkom: 30 wierszy na stronie, 50 znaków w wierszu, bez podkreśleń, na papierze maszynowym znormalizowanym. Objętość nadesłanych prac nie powinna w zasadzie przekraczać 1 arkusza druku; umieszczanie większych prac wymaga poprzedniego omówienia z redaktorem. Materiał ilustracyjny w postaci rysunków w tekście lub tablic umieszczanych poza tekstem należy ograniczać do niezbędnego minimum. Rysunki muszą być dokładnie oznaczone, lecz nie numerowane na samej ilustracji. Poszczególne rysunki w tablicach powinny być oznaczane raczej literami niż cyframi. Podpisy do rysunków i tabel przygotowanych do kliszowania powinny być wypisane oddzielnie, gdyż inną techniką sporządzane są klisze, inną zaś objaśnienia do nich składane. Materiał tabelaryczny nie może zajmować więcej niż $\frac{1}{4}$ całego tekstu.

Prace przyjmowane są w języku polskim, angielskim, niemieckim, francuskim i rosyjskim z tym, iż prace w języku polskim muszą posiadać tytuł obcojęzyczny oraz streszczenie i ewentualnie objaśnienia rysunków w tym samym języku. W każdym maszynopisie powinno być umieszczone na końcu streszczenie ważniejszych wyników pracy. Wszystkie cytaty z literatury w tekście muszą zawierać nazwisko autora oraz pierwsze litery imion wraz z datą publikacji. Spis literatury cytowanej w tekście, umieszczony na końcu pracy pt. „Literatura“, powinien podawać nazwiska autorów alfabetycznie, a prace danego autora chronologicznie. Po nazwisku i pierwszych literach imion autora powinna znajdować się data publikacji, następnie tytuł (który może być opuszczony), dalej skrót nazwy czasopisma w cudzysłowie, według reguł przyjętych w „World list of scientific periodicals“ Oxford University Press 1925, następnie należy podać numer tomu, pierwszą i ostatnią liczbę stronic, oznaczoną literami arabskimi. W przypadku wydawnictwa książkowego, a nie periodycznego, należy podać liczbę stronic, miejsce i datę publikacji oraz nazwisko wydawcy. Np.:

Bridges C. B., 1938, A revised map of the salivary gland X chromosome, *Journ. Hered.* 29:11—13.

Hobgen L., 1933, *Nature and Nurture*. 144 pp. New York W.W. Norton and Co Inc.

Odnośniki w tekście powinny być w miarę możliwości unikane (zwykle mogą być umieszczane w tekście w nawiasach, w miejscu do którego się odnoszą). O ile są konieczne, powinny być oznaczane gwiazdkami, krzyżykami itp., aby nie myliły się z cyframi w tablicach.

Autor otrzymuje zasadniczo 1 korektę, w tym celu należy wraz z maszynopisem podać nazwisko i pełne imię oraz dokładny adres i ewentualne zmiany adresu. Korekta musi być zwracana szybko, bez większych zmian w tekście. *Acta Soc. Bot. Pol.* dają autorom 25 bezpłatnych odbitek bez okładek oraz na specjalne zamówienie do 75 egz. odbitek odpłatnych w cenie 25 gr za każdą stronę.

Rękopisy należy przysyłać do redaktorów: prof. K. Bassalika (Warszawa, Krakowskie Przedmieście 26/28) lub prof. W. Gajewskiego (Warszawa, Al. Ujazdowskie 4), wszelką zaś korespondencję w sprawach wydawniczych do Redakcji (Warszawa, Al. Ujazdowskie 4).

WARUNKI PRENUMERATY CZASOPISMA

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE — KWARTALNIK

Cena w prenumeracie zł 140.— rocznie, zł 70.— półrocznie

Zamówienia i wpłaty przyjmują:

1. Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch“ Warszawa, ul. Srebrna 12, konto PKO Nr 1-6-100.020.
2. Urzędy Pocztowe.
Prenumerata ze zleceniem wysyłki za granicę — 40% drożej. Zamówienia dla zagranicy przyjmuje przedsiębiorstwo Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch“, Warszawa, ul. Wilecza 46, konto PKO Nr 1-6-100.024.
Bieżące numery do nabycia w niżej podanych placówkach „Ruchu“, w księgarniach naukowych „Dom Książki“, we Wzorcowni ORWN PAN oraz we Wzorcowni PWN. Informacji w sprawie sprzedaży egzemplarzy z poprzednich lat udziela Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch“, Dział Handlowy, Warszawa, ul. Srebrna 12.

PLACÓWKI „RUCHU“

Warszawa, ul. Nowopiękna 3.	Nowy Sącz, ul. Jagiellońska 10.
Warszawa, ul. Nowy Świat 72, Pałac Staszica	Łódź, ul. Piotrkowska 200.
Warszawa, ul. Wiejska 14. Staszica.	Olsztyn, Pl. Wolności (kiosk)
Białystok, ul. Lipowa 1.	Opole, Rynek — sklep nr 76.
Bielsko Bibała, sklep nr 1, ul. Lenina 7.	Ostrów Wlkp., ul. Partyzancka 1.
Bydgoszcz, ul. Armii Czerwonej 2.	Płock, ul. Tamska, kiosk nr 270.
Bytom, sklep nr 39, Pl. Kościuszki.	Poznań, ul. Dzierżyńskiego 1.
Chorzów, ul. Wolności 54.	Poznań, ul. Głogowska 66.
Ciechocinek, kiosk nr 4 „Pod Grzybkem“.	Poznań, ul. 27-Grudnia 4.
Częstochowa, II Aleja 26.	Przemyśl, pl. Konstytucji 9.
Gdańsk, ul. Długa 33/34.	Radom, ul. Moniuszki 5.
Gdynia, ul. Świętojańska 27.	Rzeszów, ul. Kościuszki 5.
Gliwice, ul. Zwycięstwa 47.	Sopot, ul. Monte Cassino 32.
Gniezno, ul. Mieczysława 31.	Sosnowiec, Czerwonego Zagłębia, kiosk nr 18.
Grudziądz, ul. Mickiewicza, sklep nr 5.	Szczecin, Al. Piastów róg Jagiellońskiej.
Inowrocław, ul. Marchlewskiego 3.	Toruń, Rynek Staromiejski 9.
Jelenia Góra, ul. 1-go Maja 1.	Wałbrzych, ul. Wysockiego obok pl. Grunwaldzkiego.
Kalisz, ul. Śródmiejska 3.	Włocławek, Pl. Wolności — róg ul. 3 Maja.
Katowice Zach., ul. 3-go Maja 28.	Wrocław, Pl. Kościuszki, kiosk nr 9.
Koszalin, ul. Zwycięstwa 38.	Zabrze, Pl. 24-go Stycznia, pkt nr 50.
Kielce, ul. Sienkiewicza 22.	Zakopane, ul. Krupówki 51.
Kraków, Rynek Główny 32.	Zielona Góra, ul. Świerczewskiego 38.
Lublin, Krak. Przedmieście 29 (obok hotelu „Europa“).	

KSIĘGARNIE NAUKOWE „DOM KSIĄŻKI“

Warszawa, ul. Krakowskie Przedmieście 7.
 Kraków, ul. Podwale 6.
 Łódź, ul. Piotrkowska 102.
 Poznań, ul. Armii Czerwonej 69.
 Wrocław, Rynek 60.

OŚRODEK ROZPOWSZECZNIANIA WYDAWNICTW NAUKOWYCH PAN

Warszawa, Pałac Kultury i Nauki (Wzorcownia)
 Wzorcownia PWN, Warszawa, ul. Miodowa 10