



БУЛЕТИНУЛ

АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ А РСС МОЛДОВЕНЕШТЬ

ИЗВЕСТИЯ

АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКИХ
И ХИМИЧЕСКИХ
НАУК

3

1971

БУЛЕТИНУЛ

АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ АРСС МОЛДОВЕНЕШТЬ

ИЗВЕСТИЯ

АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКИХ
И ХИМИЧЕСКИХ
НАУК

3

1971

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ШТИИНЦА»
КИШИНЕВ * 1971

БОТАНИКА

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Академики АН МССР А. А. Спасский (главный редактор), Ю. С. Ляликов (зам. главного редактора), А. Е. Коварский, М. Ф. Ярошенко, члены-корреспонденты АН МССР Т. С. Гейдеман (зам. главного редактора), В. В. Арасимович, кандидаты биологических наук А. Ф. Кириллов (ответственный секретарь), В. И. Сабельникова.

Л. А. ЛУДНИКОВА

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОСТОВЫХ ВЕЩЕСТВ В СЕМЕНАХ И СТЕРИЛЬНЫХ СЕМЯПОЧКАХ ВИНОГРАДА

При гистохимическом исследовании завязей семянного и партенокарпических сортов винограда мы выяснили, что на всех исследованных стадиях развития гинецея (бутон—цветок—развивающийся плод) семяпочки и развивающиеся семена обычного (семянного) сорта и семяпочки партенокарпических сортов дают положительную реакцию на гетероауксин [1]. Этот факт не согласуется с установленным в научной литературе мнением, что семяпочки партенокарпических завязей в результате стерильности не должны содержать ростактивирующие вещества [3, 4].

Для того чтобы убедиться, что выявляемая гистохимической реакцией β -индолилуксусная кислота (гетероауксин) в стерильных семяпочках молодых интенсивно растущих плодов винограда обладает ростовой активностью, мы провели биотест хроматографически разделенных метаноловых вытяжек из стерильных семяпочек партенокарпических плодов сорта Кишиш черный и из нормально развивающихся семян сорта Алиготе. Развивающиеся семена Алиготе и стерильные семяпочки Кишиша черного извлекали из интенсивно растущих молодых плодов (25 суток после начала цветения). Свежеотпрепарированные семена и стерильные семяпочки фиксировали и одновременно экстрагировали кипящим метанолом. Растворенный зафиксированный материал несколько раз промывали метанолом, вытяжку выпаривали при 40—50°C и сухой остаток растворяли в небольшом количестве этанола. Неочищенный этаноловый экстракт хроматографически разделяли нисходящим током на бумаге «Ленинградская медленная» в двух растворителях: изо-пропиловый спирт—аммиак—вода (10:1:1) и нормальный бутиловый спирт—уксусная кислота—вода (40:12:28). На одино пятнико наносили экстракт из 0,15 г сырой навески исследуемого материала (семена или стерильные семяпочки).

Перед испытанием на биотест хроматограммы после разгонки просматривали в ультрафиолетовых лучах (УФ). Определение биологической активности отдельных участков хроматограмм проводилось на пшеничных колеоптилях длиной 5 мм сорта Мироновская 808*, вырезанных из проростков высотой 20—25 мм на расстоянии 3 мм от верхушки колеоптиля. Хроматограммы разрезали на 10 равных частей, отдельные отрезки хроматограмм элюировали в 2%-ном растворе сахараозы и в элюаты на 20 часов при 26°C помещали 5 мм отрезки колеоптилей пшеницы. В качестве контроля отрезки колеоптилей выра-

* Семена пшеницы сорта Мироновская 808 для проведения биотеста были любезно предоставлены ст. научным сотрудником отдела генетики АН МССР кандидатом с.-х. наук М. Л. Пынзарем, за что мы очень признателны.

171622

щивали в элюатах из участков хроматограмм, вырезанных выше стартового пятна. Параллельно с хроматографическим разделением исследуемых вытяжек провели на тех же хроматограммах разгонку некоторых индолевых соединений (β -индолилуксусную кислоту — ИУК, индолилацетонитрил — ИАН, этилиндолацетат — ЭИА).

Результаты полученных данных представлены в виде гистограмм (рис. 1, 2). Влияние элюатов из различных зон хроматограмм на рост колеоптилей выражено в процентах от прироста в контроле. На рисунках показано положение светящихся в ультрафиолетовом свете (УФ) участков хроматограмм из исследуемого растительного материала, а также значения R_f ИУК, ИАН и ЭИА, определенные по свечению в УФ.

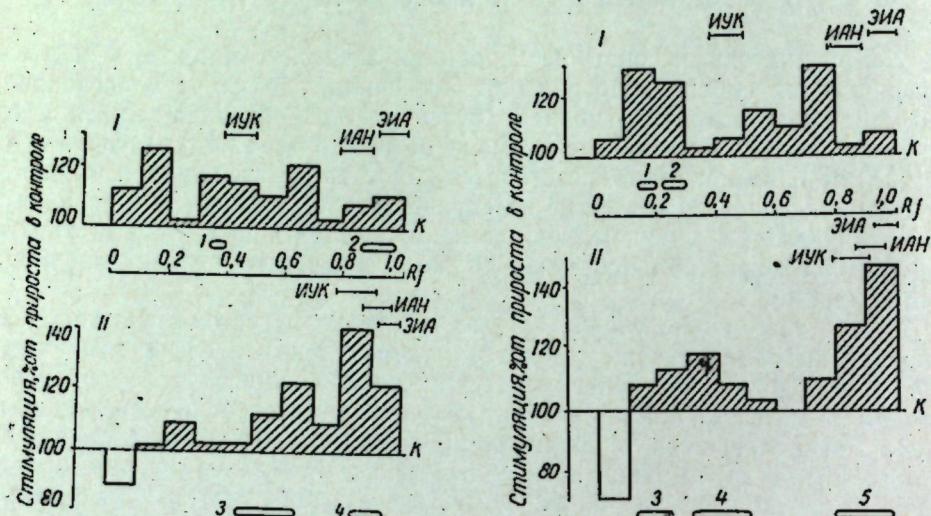


Рис. 1. Гистограммы свободных ростовых веществ (сырые метаноловые вытяжки) из семян 25-дневных плодов винограда сорта Алиготе.

I — растворитель ПАВ, II — растворитель БУВ, ИУК — β -индолилуксусная кислота, ИАН — индолилацетонитрил, ЭИА — этилиндолацетат. Свечение в УФ: 1 — бледно-голубое, 2 — бледно-бирюзовое, 3 — бледно-фиолетовое, 4 — бледно-бирюзовое

Рис. 2. Гистограммы свободных ростовых веществ (сырые метаноловые вытяжки) из стерильных семяпочек 25-дневных плодов винограда сорта Кишмиш черный.

I — растворитель ПАВ, II — растворитель БУВ, ИУК — β -индолилуксусная кислота, ИАН — индолилацетонитрил, ЭИА — этилиндолацетат. Свечение в УФ: 1 — голубое, 2 — бирюзовое, 3 — бледно-голубое, 4 — фиолетовое, 5 — бледно-бирюзовое

Как видно из графиков, метаноловые вытяжки из стерильных семяпочек партенокарпических ягод Кишмиша черного, так же как и из нормально развивающихся семян Алиготе, содержат ростактивирующие и ростингибирующие вещества. Как у семянного, так и у партенокарпического сорта по обоим растворителям (ПАВ, БУВ) зоны стимуляции и ингибиции роста в основном совпадают. Хроматограммы, полученные от разгонки в ПАВ, содержат только ростактивирующие вещества, тогда как после разгонки в БУВ выявляется четкая зона ингибиции на очень низких значениях R_f .

На основании полученных данных мы можем предполагать, что в нормально развивающихся семенах и в стерильных семяпочках молодых плодов винограда в состав ростактивирующих веществ входит

индолилацетонитрил. К сожалению, из-за методической трудности получения больших навесок стерильных семяпочек партенокарпических ягод не было возможности провести химическую идентификацию разделенных бумажной хроматограммой веществ метаноловой вытяжки. В направлении идентификации ростовых веществ исследование необходимо продолжить.

Следует отметить, что стимуляция и ингибиция роста колеоптилей на элюатах из хроматограмм по обоим растворителям для Кишмиша черного выше, чем для Алиготе. В действительности же стерильные семяпочки партенокарпического сорта содержат меньше ростовых веществ, так как одинаковые навески на одно пятно (0,15 г) у партенокарпического и семянного сортов приходятся на различное количество плодов: у партенокарпического сорта она получена из 30 семяпочек (7—10 ягод), а у семянного — из 5 семян (1,5—2 ягоды). Правильнее бы сравнивать данные биотеста хроматограмм, у которых на одно стартовое пятно нанесена вытяжка не из одинаковых навесок семян и стерильных семяпочек, как это было сделано в нашем опыте, а нанесен экстракт семян и стерильных семяпочек, приходящихся на одинаковое по весу количество соматических тканей развивающегося плода. Но тогда навеска стерильных семяпочек была бы ничтожно мала по сравнению с навеской нормально развивающихся семян. В таком случае во время приготовления элюатов для биологического проявления хроматограмм стерильных семяпочек мы произвели бы разбавление во много раз большее, чем для хроматограмм развивающихся семян и получили бы для стерильных семяпочек заниженную стимуляцию роста колеоптилей [2]. Поэтому и сравниваются вытяжки из одинаковых по величине навесок стерильных семяпочек и семян.

Таким образом, мы выяснили, что семяпочки партенокарпических ягод винограда, несмотря на их стерильность, содержат ростовые вещества. Вероятно, рост перикарпия партенокарпического плода стимулируется в какой-то степени и стерильными семяпочками, но, разумеется, роль последних не так велика, как роль нормально развивающихся семян в обычном (семянном) плоде.

ЛИТЕРАТУРА

- Лудникова Л. А. Известия АН МССР, серия биол. и хим. наук, № 1, 7—12, 1971.
- Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., изд-во «Наука», 1966.
- Рыбченко О. И. Цитоэмбриология развития партенокарпических плодов у томатов. Канд. дисс. Киев, 1960.
- Gustafson F. G. Amer. Journ. Bot., 26, 189—194, 1939.

М. В. БОДРУГ

НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШАЛФЕЯ ЭФИОПСКОГО (*SALVIA ACTHIOPIS L.*) В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ

Всестороннее исследование представителей дикорастущей флоры приводит к выявлению новых растений, содержащих ценные биологически активные вещества. Несомненный интерес представляют работы по выявлению эфирномасличных растений из дикорастущей флоры

Молдавии. Исследования показали высокое содержание эфирного масла в различных видах шалфея, в том числе в шалфее эфиопском.

В литературе имеются сведения об использовании листьев и цветков шалфея эфиопского в качестве пряности [6]. Настойка из надземной части этого растения может служить средством против профузного потоотделения у туберкулезных больных [1, 5].

Газ-хроматографическое исследование эфирного масла шалфея эфиопского позволило нам [3] идентифицировать следующие компоненты: α -пинен, β -пинен, лимонен, линалоол, борнеол и карифиллен. Интересно отметить, что в эфирном масле этого вида монотерпеновая углеводородная часть составляет только 0,08% от общего числа компонентов, тогда как в эфирном масле других видов шалфея она значительно больше, например в эфирном масле шалфея молдавского — около 40%.

Эфирное масло из шалфея эфиопского интересно для парфюмерной промышленности и медицины. Однако в природе запасы шалфея эфиопского невелики, поэтому возникает вопрос об изучении его биологических особенностей в естественных местах произрастания с целью введения этого растения в культуру.

Работа по изучению биологии шалфея эфиопского в естественных условиях произрастания была проведена нами в течение трех вегетационных периодов (1967—1969). Был выбран опытный участок в окрестностях г. Кишинева на склоне северо-западной экспозиции. Из растений, произрастающих на этом участке, наряду с шалфеем эфиопским, довольно часто встречаются пырей удлиненный (*Agropyrum elongatum* (Host.) P. B.), пырей волососонсий (*A. trichophorum* (Link.) Richt.), клевер равнинный (*Trifolium campestre* Schreb.), котики (*T. arvense* L.) и др.

На опытном участке имелись растения шалфея эфиопского разных возрастов. Было отмечено 20 экземпляров, над которыми велись наблюдения в течение трех вегетационных периодов.

Рост и развитие растений в первый год вегетации

Пластинки семядолей округлопреугольные, на верхушке широко закругленные, усаженные густыми короткими простыми волосками. В начале мая у большинства всходов появилась первая пара настоящих листьев. Первые листья овальные, по краю волнистые, слабо городчатые, опущенные длинными перепутанными простыми волосками. Вторая пара листьев по форме и опушению не отличается от первой. В конце мая растения имеют хорошо сформированную розетку, состоящую из 5—6 пар листьев; следующие пары листьев появляются через каждые 8—10 дней. Все листья густо покрыты длинными многоцелочными простыми волосками. Первые листья через 25—30 дней после их появления желтеют и отмирают. В конце октября максимальная длина листьев достигает 33 см, ширина — 14 см. К этому времени рост их прекращается, и при наступлении заморозков они отмирают.

Таким образом, растения шалфея эфиопского в первый год вегетации образуют мощную розетку листьев, и период их вегетации длится в среднем 180 дней (среднее за три года).

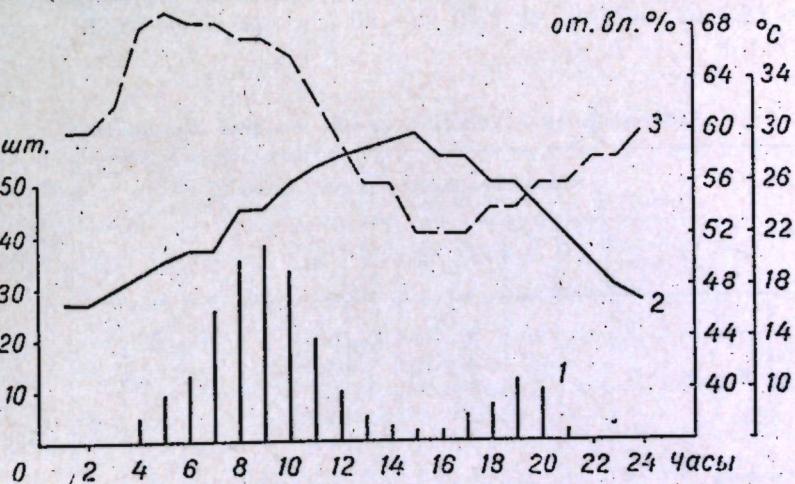
Рост и развитие растений второго и последующих лет жизни

Весеннее отрастание растений второго и последующих лет вегетации начинается в конце марта. До конца первой декады апреля они растут очень медленно, но к 15 апреля розетка состоит из 3—4 пар

листьев. Листья двух- и многолетних растений по форме и опушению не отличаются от листьев растений первого года вегетации. В течение апреля они растут очень интенсивно, в начале мая розетка состоит из 6—7 пар листьев с максимальной длиной 14 см и шириной 10 см. В середине мая у большинства растений начинает расти стебель. В начале стебель растет интенсивно (в среднем 2,2 см в сутки), в конце мая уже имеется 5—6 междуузлий. На всем протяжении стебель густо покрыт белыми многоклеточными простыми волосками.

В середине июня у большинства растений начинается фаза бутонизации. В это время они достигают высоты 48—50 см. Очень сильно развиваются на главном соцветии боковые ветви первого, второго и третьего порядков. Листья густо опушены, из-за чего верхняя сторона их светло-серая, почти белая. Черешок листа опущен слабее. Фаза бутонизации длится 8—10 дней. 23 июня 1968 г. были отмечены первые цветки, а через 7—8 дней наблюдалось массовое цветение. В целом фаза цветения у шалфея эфиопского продолжается в течение 12—15 дней (среднее за три года). За этот период на одном растении развивается от 2250 до 3000 цветков. Основная масса их раскрывается в период от 4-го до 9-го дня после начала цветения. В пределах одного соцветия первыми раскрываются бутоны, расположенные на нижней части главного соцветия, за ними — бутоны остальной его части и боковых разветвлений первого порядка. Последними раскрываются бутоны ветвей второго и третьего порядков.

Шалфей эфиопский принадлежит, по классификации В. Ф. Шамурина [8], к растениям с утренним типом раскрывания цветков. В 4 часа (29 июня, 1969 г.) были отмечены первые 5 раскрывшихся цветков при температуре воздуха равной 18° и относительной влажности его 70%. До 9 часов число раскрывающихся цветков в среднем увеличивается до 37 (среднее из 5 подсчетов). За это время температура воздуха повышается до 24°, а относительная влажность его понижается до 68%. При дальнейшем повышении температуры воздуха и уменьшении относительной влажности его количество раскрывающихся цветков уменьшается. С 13 до 21 часа раскрываются единичные цветки. С 21 до 4 часов не было отмечено случаев раскрывания цветков (см. рисунок).



Суточная динамика цветения шалфея эфиопского (28 июня, 1969 г., Рышкановка):

1 — количество цветков, распустившихся за час; 2 — температура воздуха; 3 — относительная влажность воздуха.

нок). Период жизни одного цветка — 48—55 часов. Цветки шалфея эфиопского хорошо посещаются опылителями — пчелами утром и вечером.

Спустя 7—10 дней после увядания последних цветков, наблюдается заметное увеличение завязи и побурение орешков. Вполне созревшие орешки отмечены уже в начале августа. Семена осыпаются не сразу после их созревания, а лишь после разрушения плодовой оболочки.

Мы определяли как потенциальную плодовитость, так и семенную продуктивность шалфея эфиопского. Завязь этого растения, как и у других представителей губоцветных, состоит из четырех семяпочек, из которых образуется 4 орешка. Подсчитав количество цветков на растении и умножив полученный результат на 4, получим количество семяпочек. Для исследования мы брали 10 нормально развитых особей, вычисляли среднее и выяснили, что потенциальная плодовитость растений шалфея эфиопского равна 10590 семяпочек. Семенная продуктивность меньше потенциальной плодовитости и равняется 10130. Следовательно, 95% цветков дают зрелые плоды.

По мере созревания семян высыхают все розеточные листья, а затем начинается отмирание стебля. В начале сентября вся надземная масса отмирает. Продолжительность периода вегетации двух- и многолетних растений длится 164 дня (среднее за три года). При полном отмирании надземных органов стебель становится очень хрупким и при легком ветерке или соприкосновении с другими стеблями отламывается от основания и перекатывается, образуя «перекати-поле». По мнению многих исследователей [2, 4, 7], жизненная форма «перекати-поле» имеет значение для рассеивания семян, а также служит для самоочистки поля от надземной органической массы, потому что ежегодное накопление на одном месте большого количества мертвых растительных остатков оказывало бы угнетающее действие на возобновление растений.

Нами были проведены опыты по определению всхожести семян шалфея эфиопского, собранных с дикорастущих растений. Семена — светло-коричневые с сетчатой поверхностью. Размеры семян: длина от 2,35 до 2,55 мм, ширина от 1,40 до 1,80 мм. Вес 1000 семян — от 2,4541 до 3,2693 г.

Лабораторная всхожесть семян шалфея эфиопского

Сроки хранения	Количество проросших семян за день													Энергия прорастания на 10-й день, %	Всхожесть семян за 20 дней, %
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	15	17	20		
12 дней	—	—	1	3	16	8	39	12	1	3	1	1	—	80	85
3 месяца	40	30	3	2	—	4	2	1	1	—	1	—	—	83	84
1 год	29	17	—	2	—	1	1	—	1	1	—	2	—	51	52
2 года	13	9	3	3	2	4	3	2	1	3	—	1	—	40	44
2 года*	—	—	11	6	4	1	—	—	—	—	—	—	—	22	22

* Семена прорашивались в темноте

Лабораторную всхожесть определяли в зависимости от сроков хранения семян (см. таблицу).

В лабораторных условиях семена начали прорастать на 2—4-й день после закладки опыта. На 10-й день опыта энергия прорастания семян составила в зависимости от сроков хранения 40—80%. В последующие 3—4 дня их всхожесть возрастала незначительно — всего на 4—5%. Всхожесть семян шалфея эфиопского снижается при их хранении. Наиболее высокая всхожесть наблюдается у семян, хранившихся в течение трех месяцев после сбора (85%). При хранении семян в течение двух лет всхожесть снижается до 44%.

Нами было исследовано количественное содержание эфирного масла в шалфее эфиопском. Полученные данные позволяют заключить, что эфирное масло содержится в неодинаковом количестве в разных органах: больше всего в соцветиях (0,28%), меньше — в стеблях (следы). Содержание эфирного масла в соцветиях шалфея эфиопского изменяется в течение суток. Количественное содержание его повышается до 7—8 часов утра, когда и наблюдается максимум; в послеобеденные часы содержание эфирного масла колеблется от 0,16—1,18%. Вечером (около 21 часа) отмечен минимум содержания эфирного масла (0,10%). Наибольшее количество эфирного масла содержится в растениях полного цветения.

Вы воды

1. Растения шалфея эфиопского, как и большинство многолетних травянистых растений, в первый год вегетации образуют мощную розетку листьев, а цветение начинается со второго года жизни.

2. Шалфей эфиопский принадлежит к растениям с утренним типом раскрывания цветков. В ночное время цветения не отмечено.

3. Всхожесть семян шалфея эфиопского находится в тесной зависимости от сроков хранения. Лучшей лабораторной всхожестью отличаются семена трехмесячного хранения — 84%. Практически для посевов лучше использовать семена, хранившиеся не больше одного года.

ЛИТЕРАТУРА

- Аболь Э. Я. Труды Тбилисского научно-исследовательского химико-фармацевтического института, т. 7, 1955, стр. 91—92.
- Алексин В. В. Президенту АН СССР академику В. Л. Комарову. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1939.
- Бодруг М. В., Петров Г. М. Растительные ресурсы. Л., изд. «Наука», 6, вып. 2, 251, 1970.
- Высоцкий Г. Н. Ергеня. Труды бюро по прикладной ботанике, т. 7, вып. 10—11, 23—24, 1915.
- Герсамия В. С., Ушверидзе Г. А. Труды Тбилисского научно-исследовательского химико-фармацевтического института, т. 7, 67—68, 1955.
- Денисова Г. А., Кожина И. С. Пряно-ароматические растения СССР и их использование в пищевой промышленности. М., 1963.
- Пачоский И. Растительность Херсонской губернии. Херсон, изд. Херсонского земства, 1917.
- Шамурина В. Ф. Ботанический журнал, 33, № 4, 117—119, 1958.

М. Г. ЧУХРИЙ

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О ТОНКОЙ СТРУКТУРЕ ПЛАЗМОДЕСМ

В последнее время все больше внимания уделяется исследованию плазмодесм. Большинство авторов [8, 11, 12, 13, 14, 17, 21, 23, 27, 28, 29, 30] считает, что плазмодесмы пронизывают оболочки растительных клеток, в результате чего рассматриваются как один из возможных механизмов межклеточной связи.

Вопрос о том, кому принадлежит приоритет открытия плазмодесм, решить довольно трудно. Кнентз-Герлоф [18] указывает, что плазмодесмы впервые описаны Фроманом [16] у высших растений в 1879 г. Другие авторы приписывают открытие их Тангелю [32] и называют их «тангельскими соединениями». Однако еще в 1877 г. Горожанкин [2] сделал сообщение о них на заседании Московского общества любителей естествознания, антропологии и этнографии, хотя в печати результаты его исследований были опубликованы в 1880 г. Следовательно, приоритет в этом вопросе должен принадлежать Горожанкину, что подтверждается также сообщением Варлиха [1].

Горожанкин установил, что нити протоплазмы соединяют протопласти двух соседних клеток, проходя через соответствующие канальцы в стенке клетки. Ему удалось увидеть плазмодесмы у *Pinus sylvestris* L., *Pinus strobus*, *Pinus sabiniana*.

Непрерывность цитоплазмы между клетками была предметом разногласий, пока Штруггер [28, 29] и Бюва [11, 12, 13, 14] не изучили плазмодесмы при помощи электронного микроскопа. Позже Уэлей [33] и другие предположили существование непрерывности эндоплазматического ретикулума, проходящего через клеточные стенки. Порттер и Мачадо [25] указывали, что организация плазмодесм связана с формированием клеточной пластинки в телофазе, когда эндоплазматическая сеть проходит через каналы; она и определяет расположение плазмодесм. Фрей-Висслинг [17], изучая формирование клеточной пластинки, сделал такие же наблюдения, как Порттер и Мачадо. Но Бюва отмечал, что непрерывность нитей эндоплазматической сети все еще сомнительна, так как никто не наблюдал, как эндоплазматический ретикулум проходит в районе плазмодесм. Некоторые исследователи обнаружили, что эндоплазматический ретикулум приближается к плазмодесмам [30]. Другие авторы [27] утверждали, что эндоплазматический ретикулум не только приближается, но и проходит через них.

Несмотря на многочисленные исследования плазмодесм их тонкая структура до настоящего времени еще окончательно не выяснена. Исследуя морфологию пор оболочек сочной паренхимы, мы имели возможность рассмотреть отдельные картины, которые позволяют несколько расширить сведения об ультратонком строении плазмодесм и, в частности, об участии эндоплазматической сети в их организации, а также установить связь между усложнением простых пор и плазмодесменными комплексами.

Материал и методика

Для исследования брали свежеубраные плоды столового арбуза и корнеплоды сахарной свеклы, а также находившиеся в процессе

хранения. Кусочки мякоти разрезали на части размером 1—2 мм, фиксировали 2,5 часа в 2%-ном растворе OsO₄, на веронал-ацетатном буфере при pH 7,4 [26]. Фиксированные ткани заливали в аралдит по прописи, предложенной В. Ф. Машанским (Институт цитологии АН СССР): 1) этиловый спирт+аралдит (1:1) без инициатора — 12 часов 30°C; 2) аралдит без инициатора — один сутки, комнатная температура; 3) аралдит+инициатор — один сутки, комнатная температура; 4) один сутки — 30°C; 5) один сутки — 45°C; 6) один сутки — 60°C; 7) неделя — при комнатной температуре.

Контрастировали уранилацетатом на этапе 70% спирта, а готовые срезы — 15—20 минут цитратом свинца по Рейнольду.

Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме ЛКБ-8802 А и просматривали в электронном микроскопе УЭМВ-100 К.

Результаты и обсуждение

При изучении морфологии, структуры и развития пор клеточных оболочек сочной паренхимы мякоти плода столового арбуза и корнеплода свеклы мы обратили внимание на то, что через поры проходит большое количество плазмодесм. Это наблюдалось и на других объектах [22, 10, 24, 31, 9, 17, 21]. При этом было заметно, что клеточные стеки вблизи плазмодесм видоизменены и образуют выступы в направлении полости каждой клетки (рис. 1, а, б).

В клетках мякоти плода столового арбуза были обнаружены плазмодесмы диаметром 400—500 Å, а в оболочках клеток корнеплода свеклы — диаметром 200—400 Å. По другим данным, диаметр плазмодесм имеет 200—500—600 Å [14, 27, 30]. Некоторые авторы [27, 30] указывают, что канал плазмодесм выстилается плазмалеммой. Однако у плодов, находившихся в хранении, нами было обнаружено, что плазмалемма не выстилает канал плазмодесм, что можно объяснить изменениями, происходящими во время хранения плодов (рис. 1, а, б). Как показали наши наблюдения, к концам плазмодесмы клеточная стенка образует выступы. Десмотубула обычно не входит в цитоплазму. В молодых клетках плазмодесмы следуют непрерывно через всю стенку (рис. 2, г), а в старых всегда наблюдается их непрерывность (рис. 1, а, б). Очень часто плазмодесмы в области срединной пластинки формируют узелки, которые у оболочек клеток мякоти плода арбуза и корнеплода сахарной свеклы достигают 1200—2000 Å [28, 15]. Такие же узелки наблюдали в оболочках ситовидных трубок [15, 19].

Исследования Бюва [14] показывают, что диаметр плазмодесм меристематических клеток равен 200 Å, то есть вдвое меньше, чем у клеток взрослых тканей. У молодых клеток корнеплода свеклы диаметром 1,5 см нами обнаружены плазмодесменные канальцы размером 150—200 Å (рис. 2, г), по мере увеличения корнеплодов до 8—10 см, увеличиваются и плазмодесменные канальцы до 250—300 Å (рис. 2, в, д). У корнеплодов диаметром 20 см (рис. 2, а, б) плазмодесмы равны 400—420 Å. Диаметр плазмодесм, очевидно, зависит от размеров клетки, то есть, чем больше клетки, тем больше и плазмодесменные канальцы, и наоборот. Крулл [19] утверждает, что плазмодесмы могут увеличиваться при помощи ветвления первичных образований.

Плазмодесмы у молодых клеток простые и меньше диаметром, а по мере увеличения клеток их диаметр увеличивается и наблюдается преобладание ветвистых плазмодесм. Число плазмодесм в процессе онтогенеза, по-видимому, не возрастает, а только увеличивается их диаметр, интервалы между ними, и число ветвистых плазмодесм. Точно такая же закономерность сохраняется и в процессе изменения простых пор в онтогенезе. Число простых пор на протяжении индивидуального развития органов растения не изменяется [3, 4, 5, 6, 7, 20, 34], а увеличивается только расстояние между ними и поровые просветы. Возрастает также количество множественных пор и уменьшается число одиночных.

Таким образом, очевидно, что одновременно с увеличением размера поровых просветов увеличивается и диаметр плазмодесм. С увеличением числа множественных пор увеличивается и число ветвистых плазмодесм. Длина плазмодесм зависит от толщины срединной пластинки или от общей толщины оболочки, так как плазмодесмы в некоторых случаях пронизывают всю толщу оболочки. По-видимому, одновременно с утолщением оболочки удлиняются и плазмодесмы. Так, например, длина плазмодесм, которые пронизывают только срединную пластинку, равна 2800—3500 Å, а длина тех, что пронизывают всю толщину оболочки, достигает 5000—8000 Å. Если морфология, структура и развитие плазмодесм коррелируют с морфологией, структурой и развитием простых пор, то эти места представляют собой не просто уточненные участки оболочки, а целые системы пор, которые связаны с физиологией клеток данной ткани и, в частности, с функцией транспорта веществ между клетками.

Плазмодесмы, так же как и поры, почти всегда сгруппированы в определенной части оболочки. Почти всегда через поры проходят по 10—15 плазмодесменных канальцев разных размеров и очертаний. Исследуя поперечные срезы оболочек, мы часто наблюдали, как через канальцы плазмодесмы соединяются между собой протопласты двух соседних клеток.

У клеток мякоти плода столового арбуза и корнеплода сахарной свеклы мы обнаружили простые и ветвистые плазмодесмы. В области срединной пластинки у взрослой ткани плазмодесмы образуют узелки, которые иногда контактируют между собой, составляя в этом месте поро-плазмодесменную систему.

Интересно отметить, что у исследованных нами объектов, очень часто встречается эндоплазматический ретикулум, парные мембранны которого расположены вдоль клеточных оболочек (рис. 2, а, в, д), а в области пор, то есть против плазмодесм, эндоплазматическая сеть направлена в сторону оболочки и во многих случаях контактирует с плазмодесмами [23]. Подобно Бюва, мы не заметили, что эндоплазматический ретикулум проходит через плазмодесмы. Вблизи них обнаружили диктиосомы, везикулы которых примыкают к плазмодесмам (рис. 2, а). В области плазмодесм сконцентрировано много митохондрий, которые, как правило, расположены по бокам пор. Тот факт, что в области, где проходят плазмодесмы, сосредоточено много элементов эндоплазматического ретикулума, диктиосомы и митохондрии, подтверждает, что эти участки оболочки являются более активными с физиологической точки зрения.

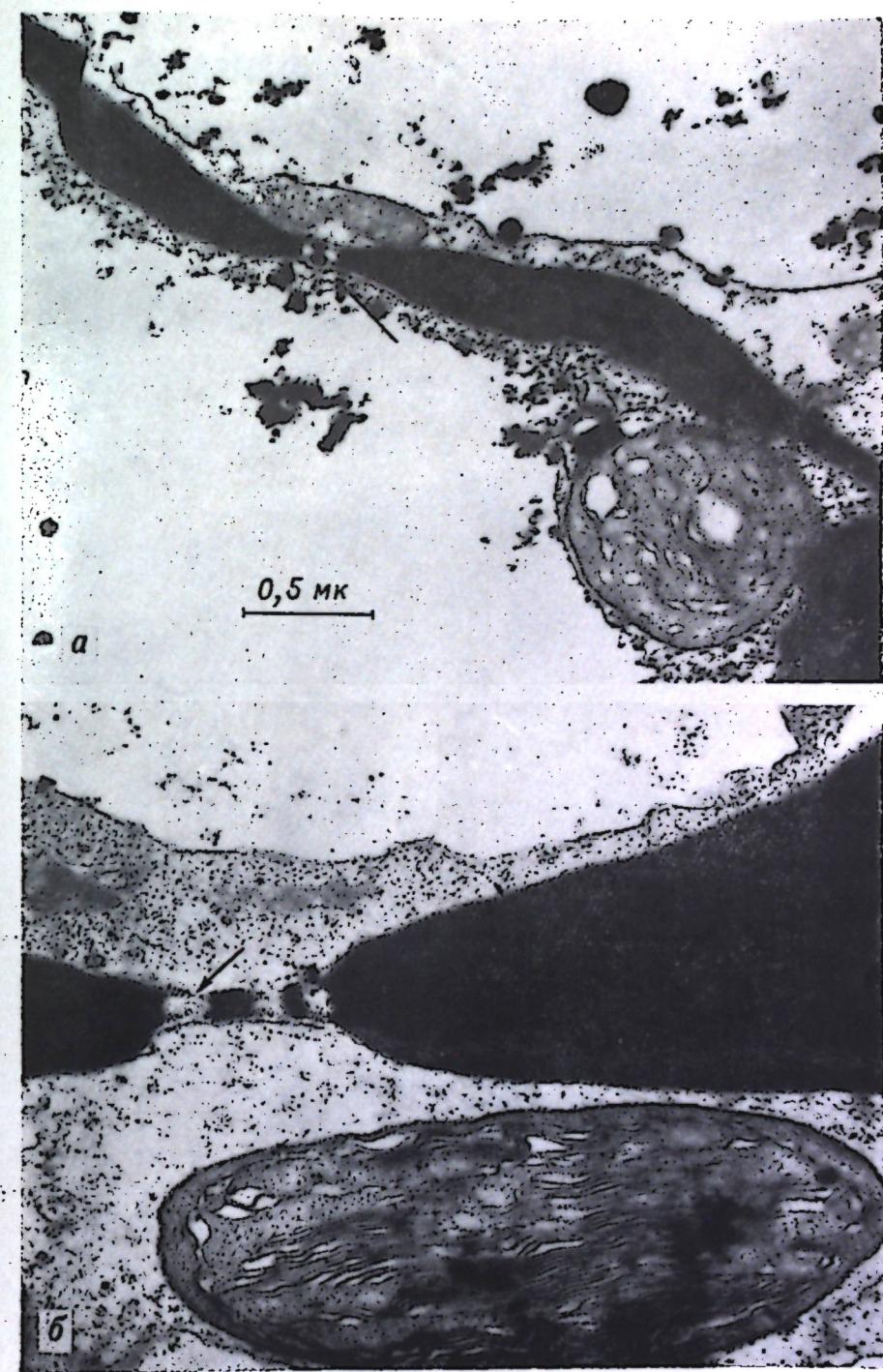


Рис. 1. Фрагменты клеток паренхимы плода столового арбуза (а, б) с плазмодесмами

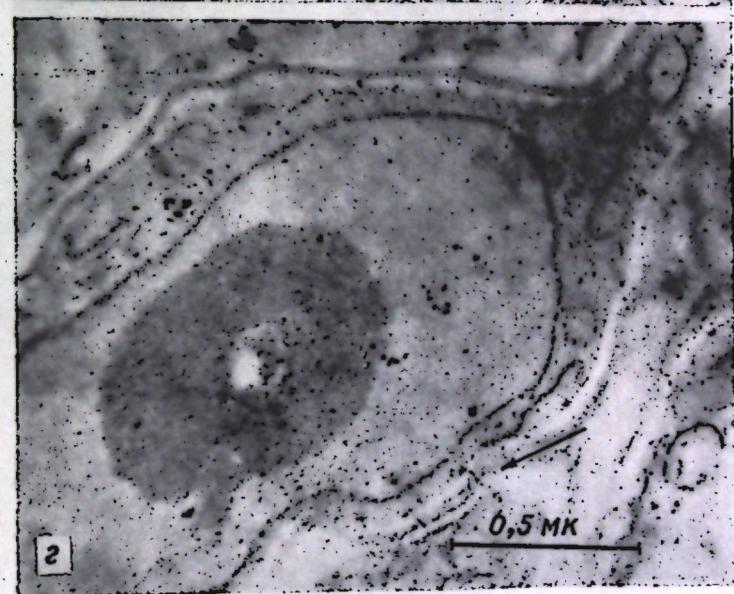
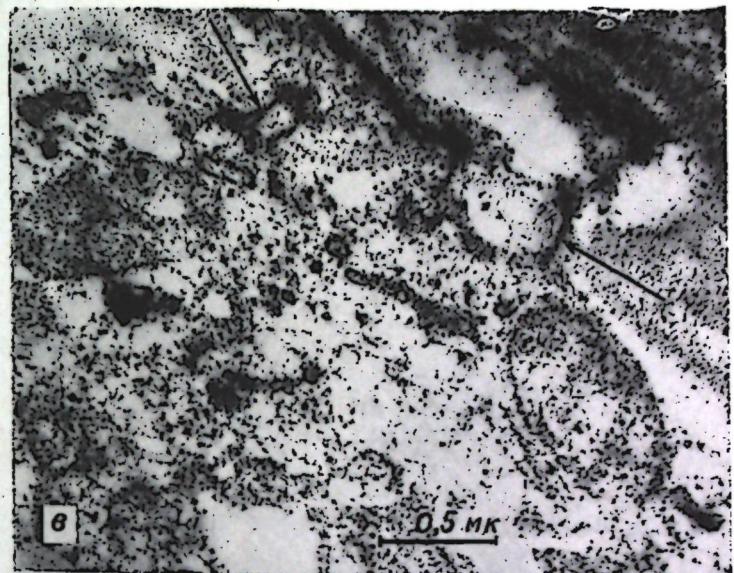
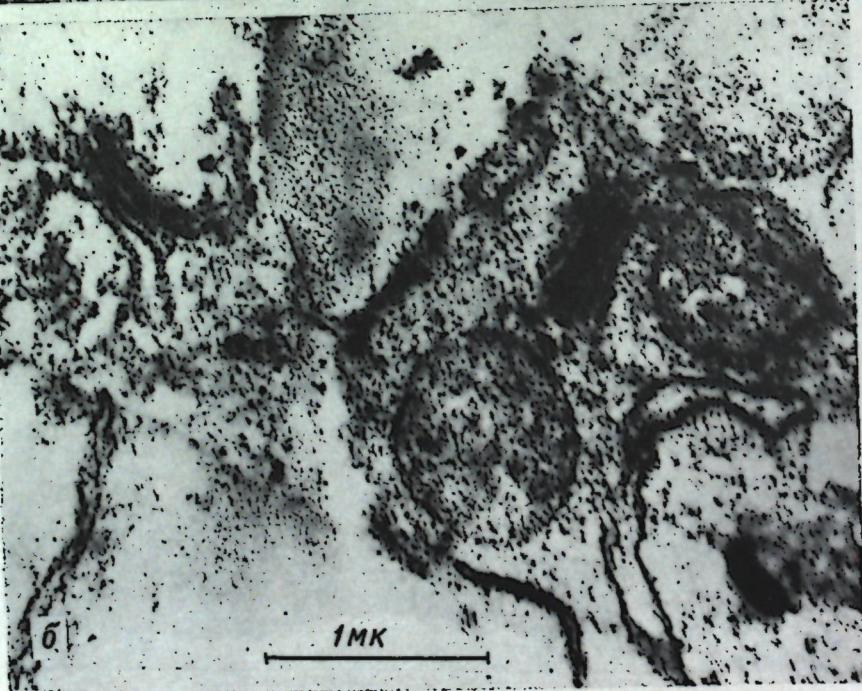
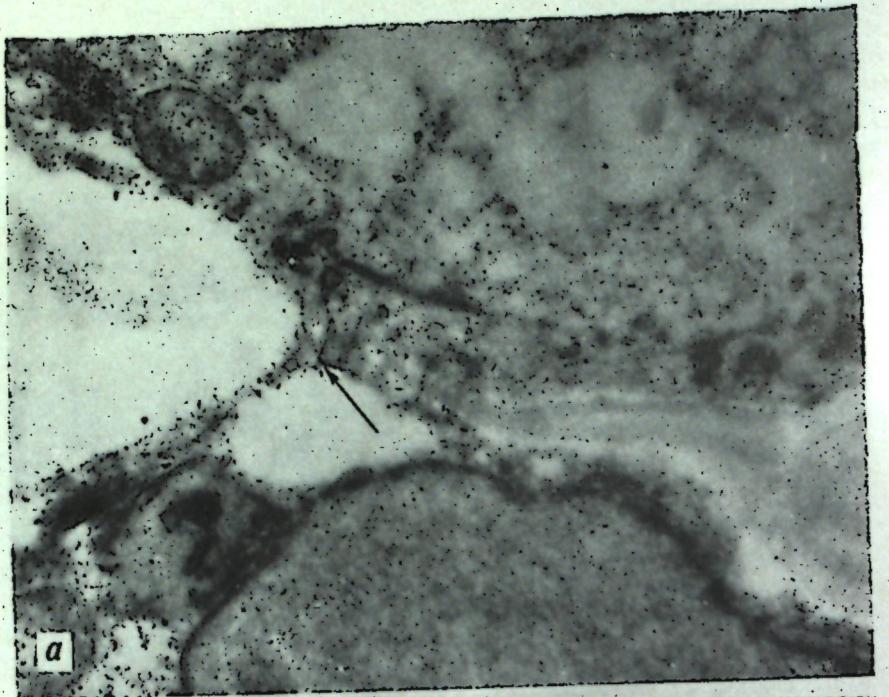
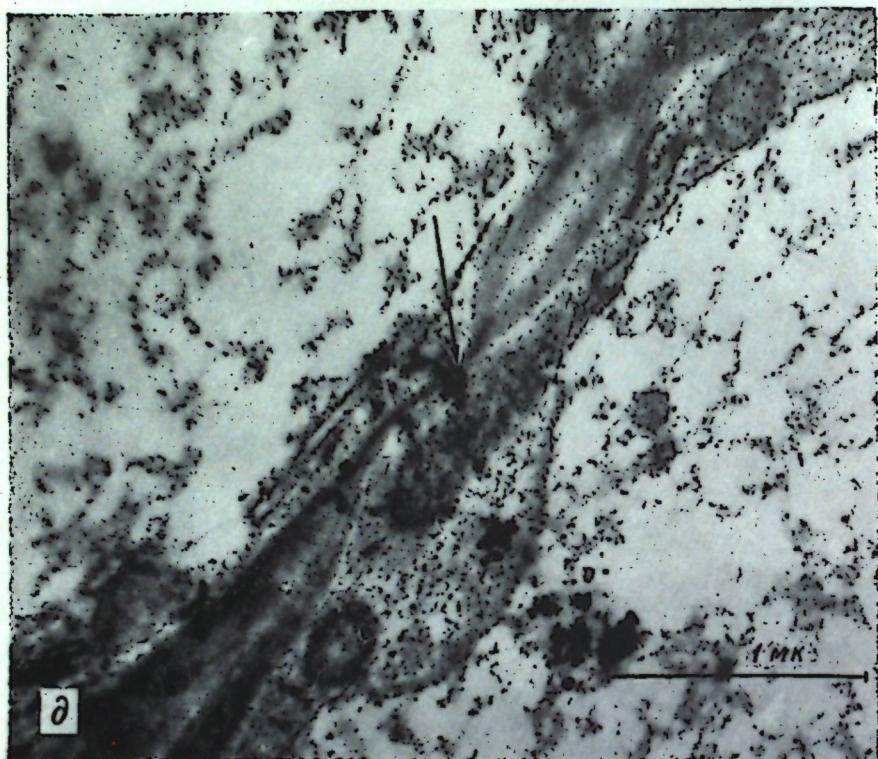


Рис. 2. Фрагменты клеток паренхимы корнеплода свеклы (а, б, в, г, д), показывающие наличие плазмодесм в оболочках (стрелка), а также положение эндоплазматической сети, диктиосом и митохондрий в районе пор и плазмодесменных каналцев



ЛИТЕРАТУРА

1. Варлих В. Бот. записки, IV, 1, 61, 1893—1895.
2. Горожанкин И. Н. О корпуксалах в половом процесссе у голосеменных растений. Изд. Имп. Моск. ун-та, 1880.
3. Коадэ В. С. Известия АН МССР, серия биол. и хим. наук, № 2, 1968.
4. Матиенко Б. Т. Сравнительная анатомия и ультраструктура плодов тыквенных. Автореф. докт. дисс. Киев, 1967.
5. Матиенко Б. Т. Сравнительная анатомия и ультраструктура плодов тыквенных. Кишинев, изд-во «Картя Молдовеняскэ», 1969.
6. Рогору Г. И. Известия АН МССР, серия биол. и хим. наук, 3, 1969.
7. Чебану Е. М. Сб.: Структура и ультраструктура плодов. Кишинев, 1968.
8. Benke A. E. Heinz-Dietmar Protoplasma, 4, 377—402.
9. Bömer H. Planta, 50, 5, 1958.
10. Roelofsen P. A., Houwink A. L. Acta Bot. Neerl., 2, 2, 1953.
11. Buvat R. C. r. Acad. Sci. Paris, 245, 198—201, 1957.
12. Buvat R. C. r. Acad. Sci. Paris, 250, 170—172, 1960.
13. Buvat R. C. r. Acad. Sci. Paris, 247, 233—235, 1958.
14. Buvat R. C. r. Acad. Sci. Paris, 257, 221—223, 1963.
15. Esau K. Planta, 67, 2, 1965.
16. Fromman J. Über die Structur der Ganglienzellen der Retina. Sitzber. b. Jenaisch. Gesellsch. für Medicin und Naturwissensch, S. 51, 1879.
17. Frey-Wissling A. Experientia, 21, 12, 1965.
18. Kientz-Gerloff A. Bot. Zeit, S. 2, 1891.
19. Kollmann R. Phytomorphology, 14, 2, 1964.
20. Krull R. Planta, 55, 5, 1960.
21. Helder R. J., Boerma J. H. Acta Bot. Neerl., 18, 1, 1961.
22. Huber B., Kolbe R. W. Svensk. Bot., 44, 367—371, 1948.
23. O'Brien T. P., Thimann K. V. Protoplasma, 63, 417—442, 1967.
24. Mericle L. W., Whaley W. G. Bot. Gaz., 114, 388—391, 1953.
25. Porter K. P. R. Maehado Jour. Byophys. Biochem. Cytol., 7, 169—180, 1964.
26. Palade G. E. Journ. Exper. med., 95, 3, 1952.
27. Lopez-Saez J. F., Gimenez-Martin, C. Risuen. Protoplasma, Bd. LXI, 1—2, 1966.
28. Strugger S. Naturw., 43, 451, 1956.
29. Strugger S. Protoplasma, 48, 231, 1957.
30. Robards A. W. Planta, 82, 200—210, 1968.
31. Scott F. M., Hamner K. S., Bowler E., Baker E. Amer. Jour. Bot., 43, 4, 1956.
32. Tangel E. Pringsheim's Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. XII, 170—189, 1879—1881.
33. Whaley W. G., Molenhauer H. H., Leech J. H. Amer. Journ. Bot., 47, 6, 1960.
34. Wilson K. The Growth of plant cell walls. Internat. review of cytology, 17, 1964.

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

К. В. МОРАРУ

О ВОЗНИКНОВЕНИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ НЕКОТОРЫХ ТИПОВ МАКРОМУТАНТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Всестороннее изучение факторов, обуславливающих естественное возникновение мутантов у пшеницы, представляется важным с точки зрения более глубокого познания природы естественного формообразования и повышения практической эффективности использования мутаций.

В этих целях в течение многих лет нами изучалось возникновение различных типов мутантов в потомстве константных линий различных сортов и форм озимой мягкой пшеницы, выращиваемых в условиях изоляции при высоте солнцестояния 22° и выше. Контролем во всех опытах служили те же линии, выращиваемые при естественном режиме освещения. Подробно методика исследований описана ранее [9, 11]. В данной статье рассматриваются результаты исследований по макромутантам.

Как видно из данных табл. 1, у всех линий исходных сортов и форм озимой пшеницы, выращиваемых в течение двух предыдущих генераций при высоте солнцестояния 22° и выше, в M_1+M_2 возникали макромутанты типа компактоидов, скверхедов и сферококоидов, что не отмечалось в потомстве линий контрольных вариантов. Следует отметить, что количество мутантов типа спельтоидов, возникающих в потомстве линий, выращенных при высоком солнцестоянии и в потомстве контрольных линий, было практически одинаковым и крайне малым.

Компактоиды и скверхеды, а также и другие типы мутантов в первом и последующих поколениях расщеплялись. Спектры расщепления и соотношение типов и форм, возникающих в их потомстве, представлены в табл. 2.

Анализ данных, приведенных в табл. 2, свидетельствует о том, что солнечная радиация при высоком солнцестоянии обуславливает возникновение некоторых типов макромутантов у пшеницы. Следует отметить, что в потомстве компактоидов и скверхедов в значительном количестве (4—26% от общего числа растений) возникают мутанты типа спельтоидов. Количество спельтоидов, выщепляющихся в потомстве компактоидов и скверхедов, в десятки раз превышает количество спельтоидов, возникающих в M_1+M_2 линий, выращенных при высоком солнцестоянии, и приближается к количеству спельтоидов, образующихся в потомстве семян, подвергнутых ионизирующему излучению [1, 8].

Вышеизложенное позволяет полагать, что сравнительно легко индуцируемые солнечной радиацией в условиях высокого солнцестояния мутанты типа компактоидов и скверхедов, а в их потомстве и спель-

таблица 1
Изменения типа мутаций в потомстве линий различных сортов и форм озимой пшеницы, выращенных при высоких значениях высоты солнцестояния. Данные по M_1+M_2 (1957—1968 гг.)

Вариант опыта	Изучено семей	Обнаружено семей с изменениями, %		
		всего	в том числе типа	
			скверхедов, компактоидов, сферококоидов	спельтоидов
I*	335	<i>Сорт Безостая 1</i> $0,50 \pm 0,30$	0	0,08
	350	$4,34 \pm 0,88$	2,66	0,07
II	321	<i>Сорт Одесская 3</i> $0,30 \pm 0,27$	0	0,10
	327	$5,76 \pm 0,72$	1,9	0,08
I	293	<i>Сорт Скороспелка 3</i> $0,38 \pm 0,24$	0	0,04
	300	$3,40 \pm 0,53$	2,12	0,05
II	330	<i>Сорт Мироновская 264</i> $0,51 \pm 0,22$	0	0,20
	354	$4,49 \pm 0,48$	1,60	0,17
I	283	<i>Экспериментальная форма № 1185</i> $0,18 \pm 0,13$	0	0,14
	317	$4,67 \pm 0,63$	2,04	0,13
II	261	<i>Экспериментальная форма № 49</i> $0,44 \pm 0,36$	0	0,29
	363	$5,16 \pm 0,80$	3,62	0,33

* I — контрольные растения (естественный режим солнечной радиации).

II — растения, выращиваемые при высоте солнцестояния 22° и выше (объяснение в тексте).

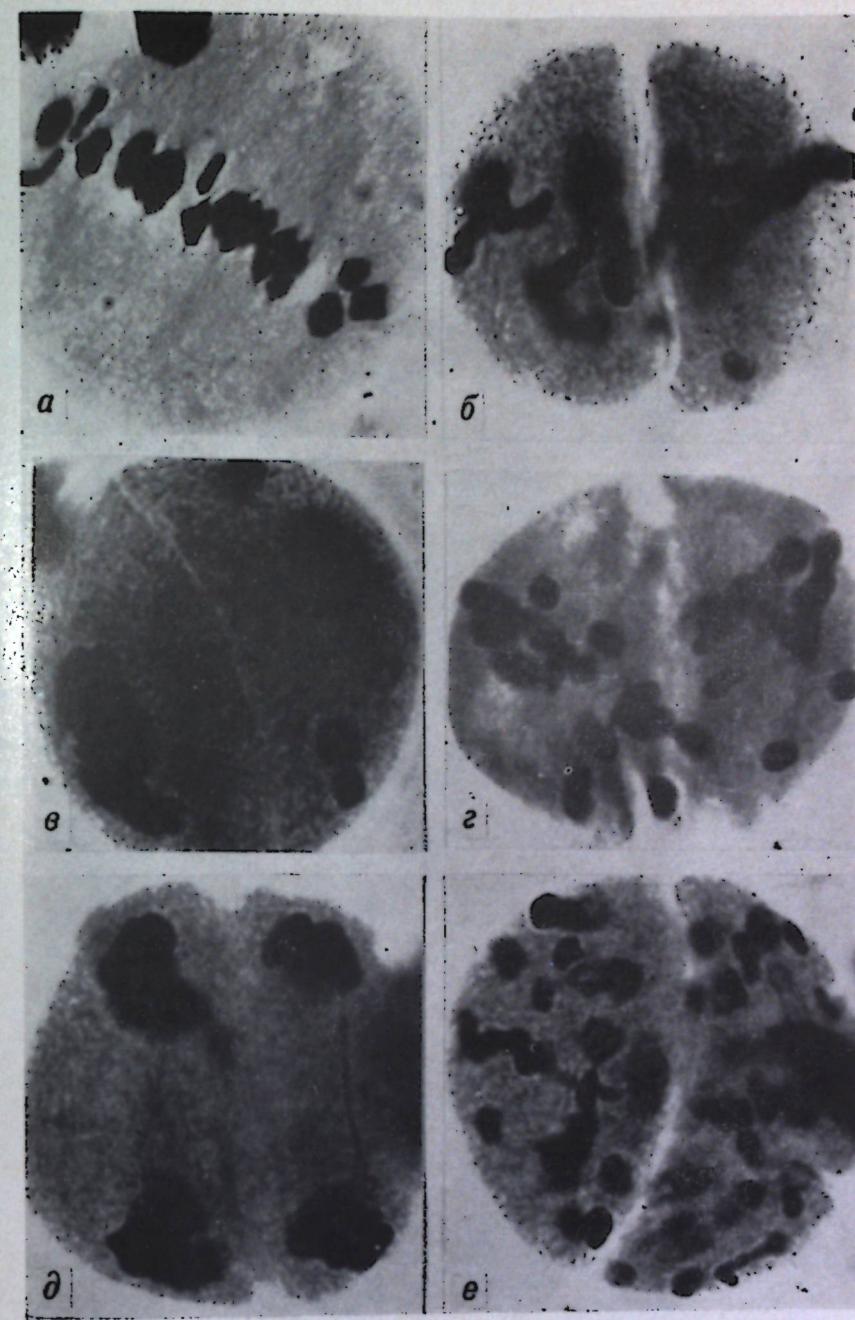
тоиды в силу тех же причин могут естественно возникать в некоторых географических районах, особенно горных. Следовательно, естественно возникающие компактоиды и скверхеды так же, как другие причины [3, 4, 14], могут обуславливать спонтанное возникновение спельтоидов.

Данные табл. 2 показывают, что наряду с возникновением в потомстве компактоидов — скверхедов и спельтоидов, появляются также и новые типы растений, условно отнесенные нами к промежуточным. Некоторые из них сочетают отдельные положительные признаки, присущие мутантам, в потомстве которых они выщепились, с положительными признаками исходных сортов.

Используя направленный отбор в потомстве промежуточных ти-

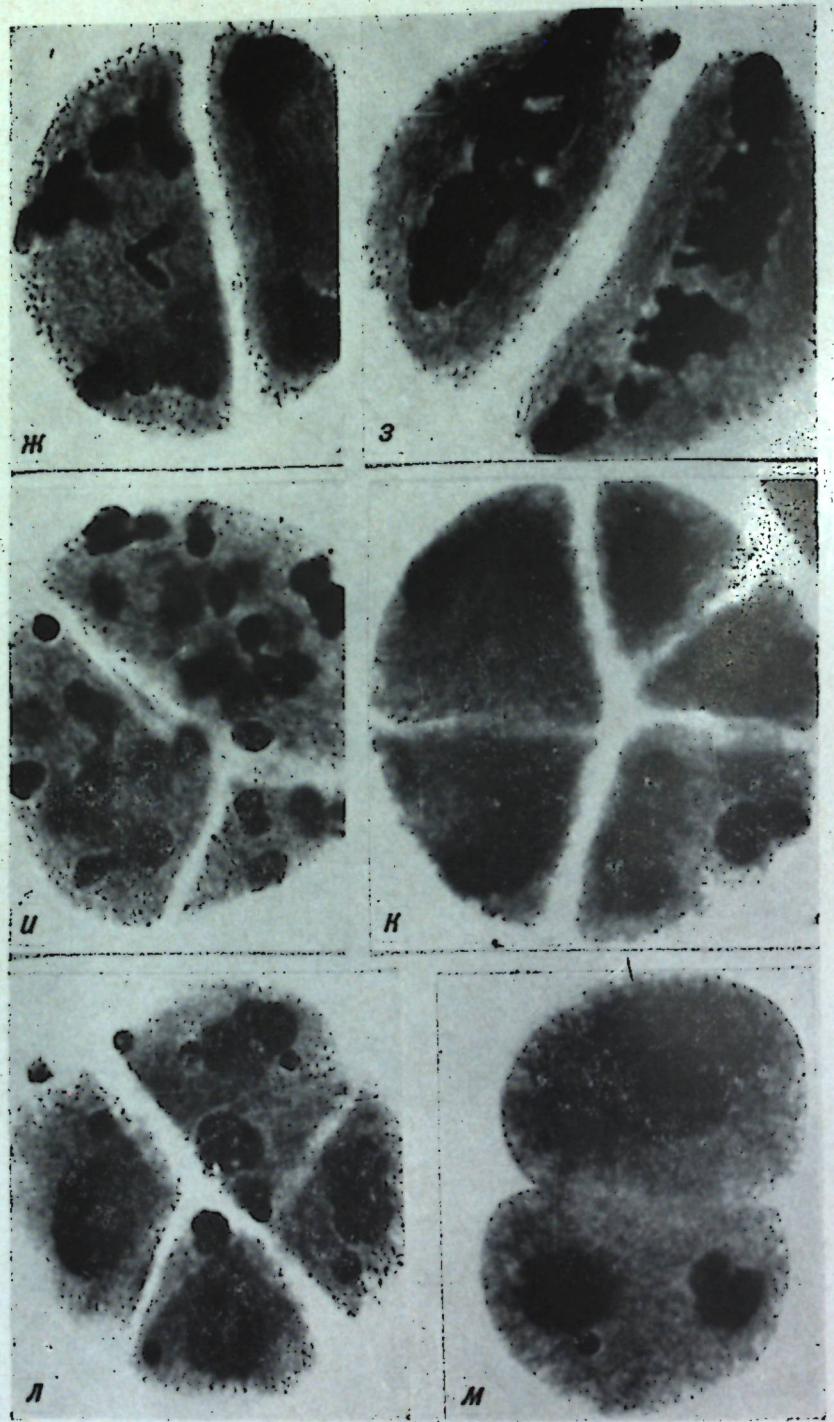
Спектры расщепления мутантов типа компактоидов, скверхедов и выщепившихся из них типов пшениц

Исходные пшеницы и полученные из них изменики типа мутантов	Группа пшениц	Изучено се-мей	Спектр расщепления потомства семян изученных типов пшеницы и M_1											
			компактоиды и скверхеды, %				промежуточные типы, %							
			спредний	коэффициент	средний	коэффициент	спредний	коэффициент	средний	коэффициент				
Безостая 1—исх. линия Компактоиды и скверхеды	—	124 68	— 38,2±1,76	— 17,4	23,0—47,3 —	4,0±0,54 61,9±3,0	— 32,5	— 33,3—91,6	— 4,8±0,62	— 39,2	— 2,0—8,7	100,0 53,0±2,75	— 45,6	— 12,2±70,0
Спельтоиды, выщепившиеся из компактоидов	А Б	145 120	— —	— —	— 50,2±1,28	— 11,4	— 43,3—60,0	— 14,0±1,16	— 37,4	— 4,8—18,7	— 38,1±3,0	— 53,4	— 8,4—66,7	
Промежуточные типы из компактоидов	—	170	—	—	—	—	— 58,2±2,27	— 32,6	— 23,1—85,0	— 41,8±2,27	— 45,6	— 15,0—76,9	— —	— —
Растения с морфологическими признаками исходного сорта, выщепившиеся из компактоидов	—	137	—	—	—	—	—	—	— —	— —	— 100,0	— —	— —	
Экспериментальная форма № 49—исходная	—	112	—	—	—	—	—	—	— —	— —	— 100,0	— —	— —	
Компактоиды	А Б	80 35	41,4±1,08 48,7±1,35	23,4 16,4	26,1—57,2 38,4—59,2	20,1±0,74 26,1±1,54	33,1 35,0	9,5—35,8 14,3—38,4	— —	— —	— 35,5±0,99	— 25,2±0,59	— 14,0	— 19,2—52,6 21,0—32,1
Спельтоиды, выщепившиеся из компактоидов	А Б	50 30	— 5,6±0,50	— 48,6	— 3,6—11,5	— 83,1±0,40	— 2,7	— 69,5—95,8 77,0—88,9	— —	— —	— 11,3±0,38	— 18,7	— 51,7	— 4,2—30,4 7,4—13,6
Растения с признаками исходной формы, выщепившиеся из компактоидов	—	60	—	—	—	—	—	—	— —	— —	— 100,0	— —	— —	



Ход мейоза у макромутантов пшеницы типа спельтоидов и компактоидов (обозначения а—е см. в тексте)

171622



пов, выщепившихся, например из спельтоидов, мы выделили новые константные формы озимой пшеницы, в том числе и форму Световая 1. Эта форма обладает крупным, высокостекловидным зерном с большим содержанием белка и клейковины и другими признаками, присущими спельтоидам, а также устойчивостью к полеганию, толстостебельностью, характерными для исходного сорта — Безостая 1 [9—11].

Направленным отбором в потомстве одного из мутантов типа сферококкоида, полученного из сорта Одесская 3, выделена новая форма пшеницы — Световая 14, сочетающая высокослость, характерную для исходного сорта с круглозерностью и очень высоким качеством зерна, присущими некоторым сферококкоидным типам [9—11].

Причинами изменения генетического аппарата растений, обусловливающими возникновение мутантов, является нарушение правильности конъюгации гомологичных хромосом, что может наступить вследствие инактивации, потери целиком или определенного участка хромосомы 5B, обуславливающей правильность конъюгации гомологических хромосом [16—18]. В результате нарушений могут возникать анеуплоидия, транслокации, инверсии, а вследствие последних дупликации — нехватки и другие хромосомные аномалии [2, 7, 13, 15], что подтвердилось и результатами наших наблюдений. Как видно из данных табл. 3 и рисунка, у изученных нами макромутантов наблюдались значительные и разнохарактерные нарушения хода отдельных стадий мейоза.

На рисунке видны: клетка макромутантов с несбалансированным числом хромосом в метафазе I (a), неправильная фигура метафазы II

Таблица 3

Особенности хода мейоза у некоторых мутантов пшеницы

Типы	Сорта пшениц	Просмотрено по клеткам	С нарушенным ходом мейоза			
			число	%	разность	достоверность разности
A	Скороспелка 3 — исходная линия	372	15	4,06 ± 0,55	—	—
	Спельтоид (выщепился из скверхеда в M_5)	382	189	49,4 ± 1,73	45,4 ± 1,82	24,9
B	Одесская 3 — исходная линия	200	4	2,0 ± 0,28	—	—
	Компактоид (из скверхеда)	220	52	23,6 ± 1,16	21,6 ± 1,2	18,0
	Константная форма № 5 (выщепилась из компактоида в M_3)	411	10	2,4 ± 0,37	0,4 ± 0,4	1,0
V	Безостая 1 — исходная линия	350	5	1,4 ± 0,22	—	—
	Спельтоид (из скверхеда)	207	68	32,3 ± 1,75	30,9 ± 1,76	17,5
	Компактоид	308	55	17,9 ± 1,12	16,5 ± 1,14	14,5
	Константная форма № 1 (выщепилась из спельтоида в M_3)			1,5 ± 0,43	0,1 ± 0,48	0,2
G	Экспер. форма № 49 — исх. линия	405	6			
	Скверхед	200	8	4,0 ± 1,20	—	—
		262	69	26,3 ± 1,42	22,3 ± 1,47	15,2

(б), клетка с несколькими микроядрами в телофазе I (в); элиминирование части хромосом в цитоплазме (г); хромосомные мосты (д); разброс хромосом по всей цитоплазме в анафазе II (е); отставание неразделившихся бивалентов (ж), разброс хроматинового вещества вдоль веретена (з).

Значительные нарушения наблюдались и в цитокинезе — образование триад, пентад, гексад, тетрад со множеством микроядер (и—л). У некоторых клеток цитокинез осуществлялся асинхронно и неравномерно (м).

О существенных нарушениях хода мейоза у макромутантов, а вследствие этого и об образовании стерильной пыльцы может свидетельствовать и меньшая озерненность их колосков, чем у нормальных растений (табл. 4).

Таблица 4

Озерненность колосков пшеницы

Исходные пшеницы и полученные из них типы пшениц	Количество зерен в 1 колоске, шт.	Разность в сравнении с исходными пшеницами	Достоверность разности
Безостая 1—исх. линия	2,15±0,021	—	
Компактоиды	1,75±0,042	-0,40±0,047	8,5
Скороспелка 3—исх. линия	2,10±0,033		
Скиерхеды (из спельтоида)	1,64±0,050	-0,46±0,036	13,1
Экспер. форма № 49—исх. компактоиды	2,08±0,052	—	
	1,70±0,057	-0,38±0,077	4,9

Можно полагать, что мутагенез и последующий формообразовательный процесс у пшениц в наших опытах был индуцирован длительным действием на растения исходных линий, и в частности на их пыльцу, солнечной радиации при высоком значении высоты солицестояния. В этом случае мутагенез мог возникнуть в результате действия комплекса целого ряда факторов — высокой общей интенсивности радиации, действия коротковолновых лучей, энергия которых при этом преобладает в составе прямой радиации и, наконец, резкого перевода растений от темноты к свету.

Могло иметь значение и то обстоятельство, что указанные факторы действовали на фоне ежедневного исключения света при низких значениях высоты солицестояния, характеризующегося более низкой интенсивностью и иным спектральным составом прямой радиации [5, 6, 12]. Названные факторы, вероятно, могли вызывать мутации лишь через цепь каких-то процессов, способствующих образованию внутриклеточных мутагенных метаболитов [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов Н. И. Избранные сочинения. М., «Колос», 1966, стр. 426.
2. Густафссон А. Сельскохозяйственная биология, т. III, № 1, 26, 1968.
3. Дорофеев В. Ф. Генетика, т. IV, № 3, 72, 1968.
4. Дубинин Н. П., Глембоцкий Я. Л. Генетика популяции и селекция. М., «Наука», 1967.
5. Калитин Н. И. Лучи Солнца. М., Изд-во АН СССР, 1947.
6. Клещин А. Ф. Растение и свет. М., Изд-во АН СССР, 1954.
7. Мак Кей Дж. Сельскохозяйственная биология, т. III, № 1, 12, 1968.

8. Можаева В. С. Влияние гамма-лучей на мутационный процесс у озимой пшеницы. Канд. дисс. М., 1964.
9. Морару К. В. Сельское хозяйство Молдавии, № 12, 27, 1968.
10. Морару К. В. Докл. Всес. конф. по использованию солнечной энергии. Секция 7, ВНИИТ, М., 121, 1969.
11. Морару К. В. Физиология и биохимия культурных растений. т. 1, 2, 139. Киев, 1969.
12. Пивоварова З. И. Докл. Всес. конф. по использованию солнечной энергии. Секция 6, ВНИИТ, М., 3, 1969.
13. Хвостова В. В. Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции. М., «Наука», 9, 1966.
14. Шевченко В. В. Успехи современной генетики, т. I, 132, 1967.
15. Mackey J. Hereditas, 40, 1954.
16. Riley R., Kimber G., Chapman V. J. Heredity, 52, 1, 1961.
17. Riley R. Proc. 2nd Int. Wheat genetics Simp. Lund 1963, Hereditas, suppl., 2, 1966.
18. Riley R., Chapman V., Jong R. M., Belfield A. M. Nature, 212, № 5069, 1966.

М. Д. КУШНИРЕНКО, А. С. КОРНЕСКУ, Т. Н. МЕДВЕДЕВА

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ
И ВЛАЖНОСТИ ПОЧВЫ НА ВОДНЫЙ РЕЖИМ И ПИГМЕНТНУЮ
СИСТЕМУ ЛИСТЬЕВ ЯБЛОНИ

Среди разнообразных факторов, влияющих на состояние пигментной системы листьев, важным является уровень влагообеспеченности и минерального питания. Известно также, что водный режим растений находится в определенной зависимости от минерального питания [1, 3, 10].

Влияние минеральных удобрений на водный режим растений проявляется различно в зависимости от химического состава удобрений, времени и доз их внесения, влажности почвы и др. Регулируя формы и соотношение питательных элементов, дозы и сроки их внесения, можно значительно улучшить водный режим растений: изменить фракционный состав воды в клетках, повысить степень гидратации коллоидов протоплазмы и хлоропластов [10].

А. С. Оканенко и Х. Н. Починок [9] считают, что увеличение количества хлорофилла при снижении влажности почвы до определенного уровня может быть следствием уплотнения тканей при обезвоживании и приводит к увеличению количества хлоропластов на единицу сырого веса.

По данным М. А. Соловьевой [11], при ограниченной и неравномерной влажности почвы происходит увеличение содержания зеленых и желтых пигментов в листьях яблони. Автор считает, что увеличение содержания хлорофилла объясняется тем, что процессы роста в этих условиях происходят не так интенсивно, как у растений, находящихся в оптимальных условиях увлажнения почвы.

Наши исследованиями [5—8] показана неспецифическая роль зеленых пластид в развитии водоудерживающих сил листьев. Обнаружена различная реакция хлорофиллов *a* и *b* на обезвоживание. Под воздействием засухи (заядание в течение четырех часов) хлорофилл *b* в абсолютных значениях изменяется меньше, чем хлорофилл *a*. При расчете степени изменения этих пигментов при засухе в % к исходному содержанию (до воздействия засухи) оказалось, что хлорофилл *b* изменяется больше по сравнению с хлорофиллом *a*. Послед-

ний расчет более правильно отражает количественное изменение пигментов, первоначальное содержание этих хлорофиллов у сравниваемых вариантов приравнивается к 100%. Засухоустойчивым растениям при обезвоживании тканей присущи меньшие изменения в содержании пигментов, особенноично прочно связанный формы хлорофилла *a* (при пересчете к исходному содержанию). Меньше изменяется и ультраструктура хлоропластов листьев у представителей этой группы растений.

Установлено, что при незначительном воздействии засухи увеличение содержания желтых и зеленых пигментов не является следствием ксерофильности листьев, так как при расчете количества пигментов на площадь листа их оказалось больше, как и в случае расчета на сырой и сухой вес навески.

Цель настоящей работы — изучение возможности воздействия минеральными удобрениями на водный режим и содержание пигментов в листьях саженцев яблони сорта Ренет Симиренко. Опыты проводи-

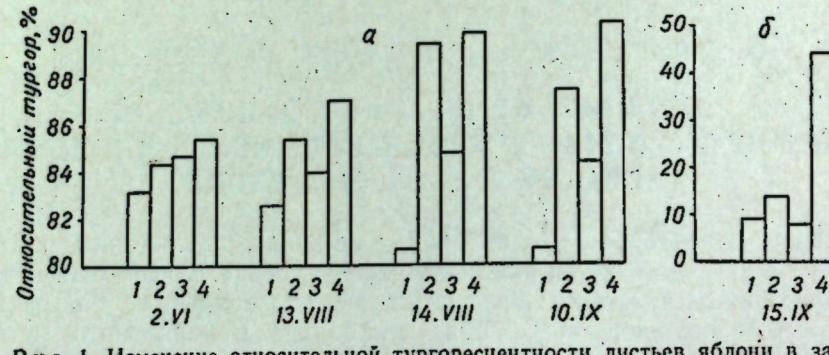


Рис. 1. Изменение относительной тургоресцентности листьев яблони в зависимости от минерального питания и условий увлажнения: а — относительный тургор листьев (% от полного насыщения); б — потеря тургера листьев (% к исходному — до завядания)

1, 2, 3, 4 — варианты опыта

лись в вегетационном домике Института физиологии и биохимии растений АН МССР, где саженцы яблони выращивались в сосудах емкостью 44 кг почвы. Схема опыта включала следующие варианты: I и II — влажность почвы в сосудах поддерживалась соответственно на уровне 30 и 70% от ПВ, в III и IV вариантах влажность почвы такая же, но в сосуды вносились полное минеральное удобрение (NPK) в количество 100 мг действующего начала на 1 кг воздушно сухой почвы.

Было проведено определение водного режима по методике, описанной ранее [4], и количества пигментов по И. Л. Аэрому и Д. О. Лихолат [2].

Из данных рис. 1, а следует, что листья растений влажного варианта опыта (II и IV) отличались большим тургором в сравнении с растениями сухого фона. Самый высокий тургор листьев, а следовательно, и меньший дефицит воды, наблюдался в листьях растений IV варианта, где влажность почвы была 70% от ПВ. Меньшие различия по вариантам наблюдались 2 июня, так как растения незадолго до этого были переведены на заданные фонны увлажнения.

С 10 по 15 сентября 1970 г. растения были подвергнуты воздействию засухи (бесполивной период). Потеря тургера в % от первоначального значения (до воздействия засухи) была высокой на влажном фоне и особенно у растений IV варианта, где она составляла 41% от исходного значения (рис. 1, б). Объяснить это можно следующим.

Растения оптимального фона увлажнения при наличии удобрений отличались более интенсивным приростом побегов, штамбов, у них более развита листовая поверхность (рис. 2). Удобрения и полив, создавая лучшие условия для роста растений, не способствуют закалке их к засухе. Это же можно подтвердить и результатами определения водоудерживающих сил при подсушивании листьев за 2, 4, 6 часов. Раз-

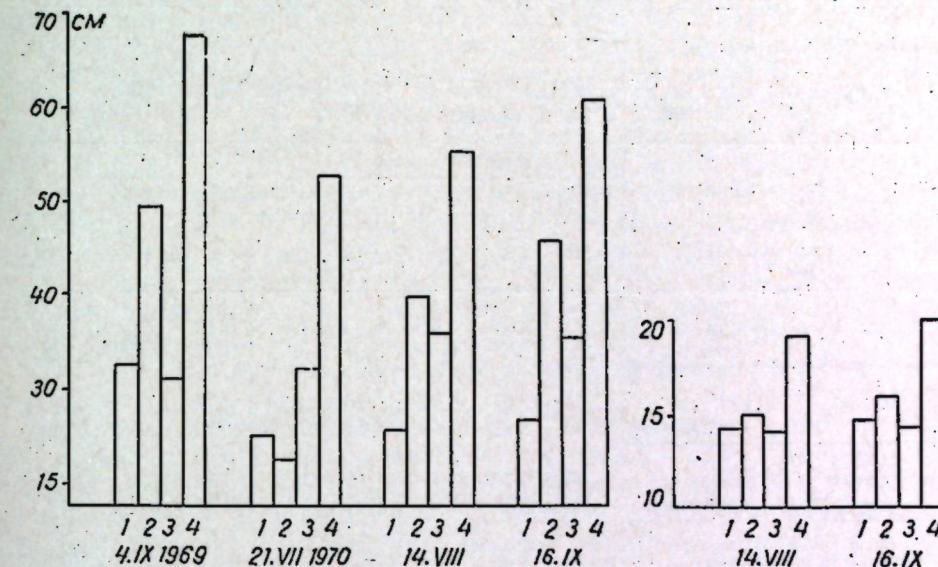
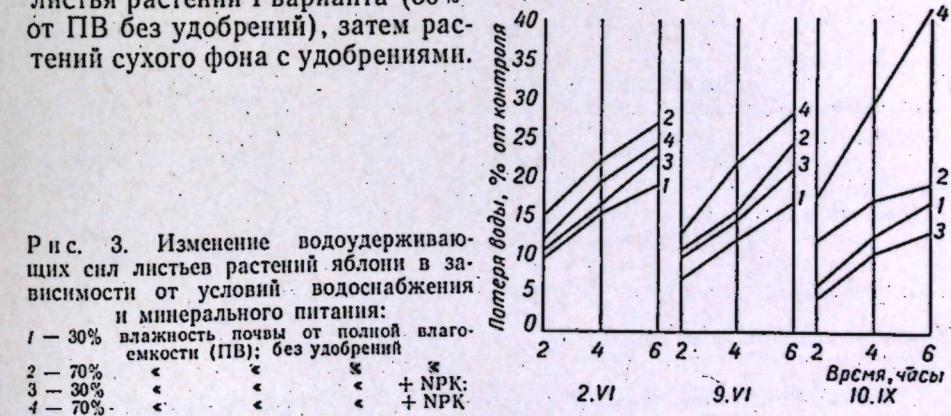


Рис. 2. Зависимость однолетнего прироста побегов (I) и диаметра штамбиков (II) от условий водоснабжения и минерального питания
1, 2, 3, 4 — варианты опыта

личия в водоудерживающих силах по вариантам опыта проявляются уже через 2 часа. Более интенсивно теряют воду растения влажного фона. Максимальная потеря воды обнаружилась у растений IV варианта — 70%-ный фон влажности и удобрения. Эти данные согласуются с результатами определения тургора при засухе (рис. 1, а, б). В качестве контроля приняли содержание воды в листьях опытных объектов, не подвергшихся завяданию, на начало опыта (рис. 3). Наименьшей потерей воды отличались листья растений I варианта (30% от ПВ без удобрений), затем растений сухого фона с удобрениями.



Больше всего теряли воду при засухе саженцы оптимального фона влажности почвы (вариант IV).

При сравнении данных по содержанию хлорофилла и каротиноидов в листьях растений в опытах с различным увлажнением почвы была обнаружена зависимость, отмеченная нами ранее [6, 7].

Листья растений сухого варианта как на удобренном фоне, так и без удобрений характеризовались повышенным содержанием пигментов (табл. 1). Растения, которые отличались высокими водоудерживающими силами листьев, меньшие теряли тургор при засухе (варианты I и III), содержали и большее количество пигментов в листьях. Особенно в этом отношении выделялись растения III варианта, где влажность почвы поддерживалась на уровне 30% от ПВ и было внесено удобрение. Растения этого варианта характеризовались и более высоким содержанием связанный формы хлорофилла и каротиноидов.

Таблица 1

Содержание пигментов в листьях яблони сорта Ренет Симиренко (мг/г сухого вещества) 1970 г.

Пигменты	Варианты опыта							
	4 июня		16 июля					
	I*	II*	III*	IV*	I	II	III	IV
Хлорофилл <i>a+b</i> общий . . . связанный	4,62 4,02	2,96 2,47	8,09 6,60	6,82 5,95	4,39 3,92	3,10 2,37	6,82 3,88	4,97 3,07
Хлорофилл <i>a</i> общий . . . связанный	3,54 3,06	2,26 1,82	6,26 4,94	5,23 4,58	3,33 3,01	2,48 1,78	5,17 2,85	3,89 2,22
Хлорофилл <i>b</i> общий . . . связанный	1,08 0,96	0,70 0,65	1,83 1,66	1,59 1,37	1,06 0,91	0,62 0,59	1,65 1,03	1,08 0,85
Каротиноиды общие . . . связанные	2,43 1,81	1,65 1,12	3,88 2,60	3,39 2,43	2,32 1,75	1,86 1,21	3,35 1,77	2,68 1,37

*1—30% влажности от ПВ, не удобренный; II — 70% влажности от ПВ, не удобренный;
III — 30% влажности от ПВ + NPK; IV — 70% влажности от ПВ + NPK.

Таблица 2

Степень изменения пигментов листьев яблони в зависимости от минеральных удобрений на различных фонах влажности (% к неудобреному варианту). 1970 г.

Пигменты	4 июня		16 июля		
	30% от ПВ	70% от ПВ	30% от ПВ	70% от ПВ	
Хлорофилл <i>a+b</i>	общий связанный	75,1 64,2	130,4 140,9	55,35 -1,02*	60,3 29,5
Хлорофилл <i>a</i>	общий связанный	76,8 61,4	131,4 151,6	55,25 -5,3*	56,8 24,7
Хлорофилл <i>b</i>	общий связанный	69,4 72,9	127,1 110,7	55,66 13,18	74,2 44,06
Каротиноиды	общие связанные	59,6 43,6	105,4 116,9	44,39 1,14	44,08 13,22

* Уменьшение количества связанных хлорофиллов в листьях растений на неудобреном фоне по сравнению с удобренным.

щими силами листьев, меньше теряли тургор при засухе (варианты I и III), содержали и большее количество пигментов в листьях. Особенно в этом отношении выделялись растения III варианта, где влажность почвы поддерживалась на уровне 30% от ПВ и было внесено удобрение. Растения этого варианта характеризовались и более высоким содержанием связанный формы хлорофилла и каротиноидов.

Для того чтобы можно было сравнить степень изменения пигментов в зависимости от удобрений на разных фонах влажности, мы произвели расчет степени изменения пигментов в % от вариантов, где не были внесены удобрения. Это позволило нам сравнить удобренные и неудобренные растения на разных фонах влажности (табл. 2). Содержание хлорофилла и каротиноидов в большей степени изменяется в зависимости от удобрений на фоне 70%-ной влажности почвы от ПВ по сравнению с 30%-ным фоном увлажнения. У первых значительно больше изменяется связанный форма зеленых и желтых пигментов по сравнению с фоном 30%-ной влажности от ПВ. Следовательно, и в данном случае проявляется та же закономерность: те варианты, в которых степень изменения пигментов листьев под воздействием засухи невелика, отличаются и более высокими водоудерживающими силами и тургором листьев.

На основании вышеизложенного можно прийти к следующим выводам.

Растения яблони, выращиваемые на оптимальном фоне питания и влажности почвы, лучше развиваются; листья этих растений отличаются высоким тургором, содержат большее количество пигментов по сравнению с растениями неудобренными. Однако под воздействием засухи растения этого варианта теряют тургор в результате низких водоудерживающих сил тканей, а содержание пигментов в процессе обезвоживания значительно снижается. Прочность связи хлорофилла с липопротеидным комплексом у них невысокая. Следовательно, и в этих опытах подтверждается коррелятивная зависимость между водоудерживающими силами листьев и степенью изменения пигментной системы при засухе: низкие водоудерживающие силы листа сочетаются с уменьшением количества пигментов у незасухоустойчивых растений. Растения оптимального варианта по обеспеченности минеральными элементами и водой более требовательны к условиям влагообеспеченности, чем те, которые выращивались на фоне недостаточного увлажнения.

ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев А. М., Гусев Н. А. Влияние минерального питания на водный режим растений. М., Изд-во АН СССР, 1957.
- Аэров И. Л., Лихолат Д. О. Докл. АН УССР, № 12, 1599—1602, 1966.
- Гусев Н. А., Белькович Т. М. Известия Казанского филиала АН СССР, серия биол. наук, вып. 9, 130—139, 1963.
- Кушниренко М. Д., Гончарова Е. А., Бондарь Е. М. Методы изучения водного обмена и засухоустойчивости плодовых растений. Кишинев, РИО АН МССР, 1970.
- Кушниренко М. Д., Медведева Т. Н., Крюкова Е. В., Семченко П. П. Известия Академии наук МССР, № 9, 69—78, 1967.
- Кушниренко М. Д., Медведева Т. Н. Физиология растений, 16, вып. 3, 529—534, 1969.
- Кушниренко М. Д., Медведева Т. Н. Сб.: Водный режим сельскохозяйственных растений. Изд-во АН СССР, 1969а, стр. 322—332.

8. Кушниренко М. Д., Медведева Т. Н., Крюкова Е. В. Физиология и биохимия культурных растений. т. 3, вып. 5, Киев, изд-во «Наукова думка», 1971.
9. Оканенко А. С., Починок Х. Н. Сб.: Проблемы фотосинтеза. Изд-во АН СССР, 1959, стр. 566—577.
10. Петинов Н. С. Сб.: Водный режим растений и их продуктивность. М., 1968, стр. 59—89.
11. Соловьева М. А. Зимостойкость плодовых культур при разных условиях выращивания. М., изд-во «Колос», 1967.

Б. И. БИБЛИНА, Э. Н. КИРИЛЛОВА

О ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ЗАКЛАДКОЙ ЦВЕТОЧНЫХ ПОЧЕК И УГЛЕВОДНО-АЗОТНЫМ ОБМЕНОМ ЯБЛОНИ

Многие исследователи пытались найти причину нерегулярного плодоношения в нарушении определенного соотношения между содержанием углеводов и азотистых соединений. Ряд авторов [1, 3, 5, 13, 15, 18] на основании полученных экспериментальных данных отмечали, что плодоношение деревьев наступает только в случае избытка углеводов; при этом одни отдавали предпочтение сахарам, другие — полисахаридам типа крахмала. Некоторые исследователи закладку цветочных почек связывали с высоким содержанием азотистых веществ [2, 14, 16, 19, 20].

И. А. Коломиец [9] придает большое значение концентрации клеточного сока и считает, что повышенная концентрация коррелирует с закладкой цветочных почек.

Чен и Кэйн [17] высказали предположение о том, что контролирующим фактором в образовании репродуктивных органов является формирование семян. Протекающие в семенах гормональные процессы ингибируют цветение.

Таким образом, мнения о физиологико-биохимических причинах закладки цветочных почек противоречивы, но сводятся к тому, что физиологическое состояние дерева определяется условиями питания.

Нами была поставлена задача выяснить, в каких условиях формируются репродуктивные органы.

Исследования проводили в плодоносящих яблоневых садах совхоза-техникума им. Фрунзе Тираспольского района и колхоза «Вяча Ноуэ» Оргеевского района на сортах Ренет Симиренко, Пепин лондонский и Пармен зимний золотой, отличающихся в условиях Молдавии нерегулярным плодоношением. Были взяты 2 группы деревьев: с урожаем и без урожая.

В течение вегетационного периода (апрель—октябрь) 1962—1968 гг. в надземных органах яблони определяли содержание фракций азотистых соединений (небелковую и белковую) осаждением белка трихлоруксусной кислотой с последующим отгоном азота по методу Кельдаля, углеводы — по методу Х. Н. Починка [11, 12], состав свободных аминокислот — методом распределительной хроматографии на бумаге по Бояркину; растворитель — бутанол — вода — уксусная кислота (4:1:1), проявитель — 0,4%-ный раствор никидрина в ацетоне.

Кроме этого, почки, снятые с кольчаток, взятых для химического анализа, подвергали анатомическому исследованию и определяли их качество.

Полученный нами экспериментальный материал позволяет вскрыть некоторые особенности обмена веществ яблони в онтогенезе.

Известно, что для возобновления роста и развития весной растение использует запасные пластические вещества. Полимерные формы их в запасающих органах и тканях превращаются в более мигрирующие метаболически активные формы и транспортируются в растущие части, где используются как структурные и энергетические источники для формообразовательных процессов.

Основные изменения в обмене веществ происходят в первую половину вегетации, когда активизируются процессы метаболизма, связанные с цветением, развитием ассимиляционной поверхности, формированием плодов, закладкой и дифференциацией цветочных почек.

Формирующийся урожай существенно влияет на характер обмена веществ; при этом усиливается синтез одних веществ за счет гидролиза других. Более четко видны различия в кольчатках — органах, на которых в основном формируются плоды. Так, кольчатки с плодами и листья деревьев с урожаем в течение вегетационного периода богаче низкомолекулярными углеводами (как моносахарами, так и сахарозой) по сравнению с кольчатками деревьев без урожая (табл. 1), что, вероятно, связано с активным воздействием плодов на синтетические процессы, происходящие в материнском растении [2, 16, 19]. Особенно большие различия отмечены в периоды, соответствующие закладке и дифференциации цветочных почек и формированию элементов цветка у неплодоносящих растений и интенсивного развития и созревания плодов — у плодоносящих (июнь, июль, август). Они резче проявляются на сорте Ренет Симиренко, что, по-видимому, можно объяснить более мощным развитием листового аппарата и прироста побегов. Так, 23 июня в кольчатках с плодами сумма сахаров составляла 3,59%, тогда как в бесплодных — всего 1,44%, 12 июля соответственно — 4,57 и 1,41%.

Концентрация же легкогидролизуемых полисахаридов типа крахмала, наоборот, более высокая у деревьев без урожая. Высокое содержание крахмала коррелирует с закладкой цветочных почек. Подобной точки зрения придерживаются С. В. Выюнов [3], Е. Д. Зеленская [5], Владек и Белинская-Чарнецкая [20] и др.

Наиболее подвижной и изменяющейся количественно фракцией азотистых веществ является небелковая низкомолекулярная и в первую очередь свободные аминокислоты. Независимо от наличия (или отсутствия) урожая на дереве состав свободных аминокислот в кольчатках в основном одинаков, различия отмечены только в содержании. В период цветения, когда начинают активизироваться все процессы метаболизма, обнаружены следующие аминокислоты: лизин, гистидин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, глутамин, глутаминовая кислота, серин, треонин, аланин, тирозин, метионин, триптофан, фенилаланин, лейцин. Основные изменения в процессе вегетации претерпевают такие жизненно важные аминокислоты, как аргинин, аланин, дикарбоновые аминокислоты и их амиды — аспарагин и глутамин. Более высокая концентрация названных аминокислот обнаружена в периоды, связанные с закладкой и дифференциацией цветочных почек.

Наличие урожая на дереве значительно сказывается на содержании азотистых веществ. Надземные органы деревьев с урожаем богаче азотистыми соединениями, особенно растворимыми низкомолекулярными, какими являются в первую очередь свободные аминокислоты.

Содержание углеводов в кольчатках яблони (% на абсолютно сухой вес)

Сроки отбора образцов	Ренет Симиренко					Пепин лондонский				
	Дерево с урожаем, 1966 г.					Дерево без урожая, 1967 г.				
	сумма сахаров	моно- сахара- рифы	саха- роза	крах- мал	сумма моно- саха- рифы	саха- роза	крах- мал	сумма моно- саха- рифы	саха- роза	крах- мал
26 апреля	—	—	—	—	2,38	0,74	1,64	1,48	3,49	1,23
5 мая	3,41	0,85	2,56	2,26	2,83	0,66	2,17	1,15	2,84	0,74
23 июня	3,59	1,76	1,83	1,56	1,44	0,58	0,86	3,04	3,21	1,64
12 июля	4,57	1,64	2,93	2,50	1,41	0,28	1,13	3,17	4,25	1,56
23 августа	5,39	1,78	3,61	2,97	3,20	1,01	2,19	4,18	4,47	2,55
6 октября	2,75	1,50	1,25	5,23	2,17	0,18	1,99	6,14	3,32	0,26

Более четко видны различия в кольчатках. По-видимому, у плодоносящих деревьев задерживается синтез белка и свободные аминокислоты накапливаются в большем количестве, чем у деревьев без урожая [6, 7, 8, 10].

О том, что формирующийся урожай задерживает синтез белка, убедительно свидетельствуют наши данные по содержанию белкового азота (в процентах от общего) в кольчатках в зависимости от физиологического состояния дерева (табл. 2).

Таблица 2

Содержание белкового азота в кольчатках яблони в зависимости от урожая (% от общего азота)

Сорт	Состояние дерева	Сроки отбора образцов				
		5.V	23.VI	12.VII	23.VIII	26.X
Ренет Симиренко	С урожаем, 1966 г.	70,83	60,71	66,67	61,50	51,05
	Без урожая, 1967 г.	75,72	61,19	73,00	77,14	51,70
Пепин лондонский	С урожаем, 1967 г.	78,18	49,65	66,96	61,43	60,00
	Без урожая, 1966 г.	78,00	67,57	71,13	71,80	54,78

Кольчатки, несущие только розетку листьев и закладывающие цветочные почки урожая будущего года, отличаются от кольчаток с плодами более высоким содержанием белкового азота.

Следовательно, высокое содержание белкового азота, так же как и высокое содержание крахмала, благоприятствует закладке цветочных почек.

Представляют интерес выявленные нами изменения в величине отношения крахмал в зависимости от наличия (или отсутствия) общего азота урожая на дереве (табл. 3).

Таблица 3

Изменение величины отношения крахмала к общему азоту в кольчатках яблони в зависимости от урожая

Сорт	Состояние дерева	Сроки отбора образцов				
		5.V	23.VI	12.VII	23.VIII	26.X
Ренет Симиренко	С урожаем, 1966 г.	1,57	1,39	2,69	1,59	3,64
	Без урожая, 1967 г.	1,12	2,81	3,17	3,98	6,89
Пепин лондонский	С урожаем, 1967 г.	1,41	0,75	1,86	1,49	3,42
	Без урожая, 1966 г.	2,85	2,31	4,77	3,46	4,81

Как видно из данных табл. 3, у деревьев без урожая кольчатки, несущие только розетку листьев, характеризуются более высокой величиной этого отношения, особенно в периоды, связанные с плодообразованием.

Различия эти вызваны интенсивностью и направленностью углеводного и азотного обмена у плодоносящих и неплодоносящих деревьев. Плоды, усиленно потребляющие питательные вещества в про-

цессе своего развития, ослабляют синтетические процессы в запасающих тканях.

Таким образом, высокое содержание крахмала, белкового азота, а также более высокая величина отношения $\frac{\text{общий азот}}{\text{крахмал}}$, характеризующие усиление процессов синтеза в кольчатках, коррелируют с закладкой цветочных почек и могут служить показателями подготовленности растений к плодоношению.

Полученные нами результаты не согласуются с работами авторов, которые связывают закладку и дифференциацию цветочных почек с повышенным содержанием сахаров. Наши данные, а также других исследователей [4, 7, 16] показывают, что высокое содержание сахаров характерно для деревьев с урожаем, на которых не формируются цветочные почки урожая будущего года.

Следовательно, это указывает на необходимость уточнения получившей широкое признание углеводной теории, утверждающей, что высокое содержание сахаров обусловливает формирование цветочных почек. В этом отношении особый интерес представляют наблюдавшиеся нами изменения в углеводном и азотном обмене деревьев Пармена зимнего золотого в 1965 г. в зависимости от физиологического состояния (рис. 1 и 2). У этого сорта кольчатки, несущие плоды, в отли-

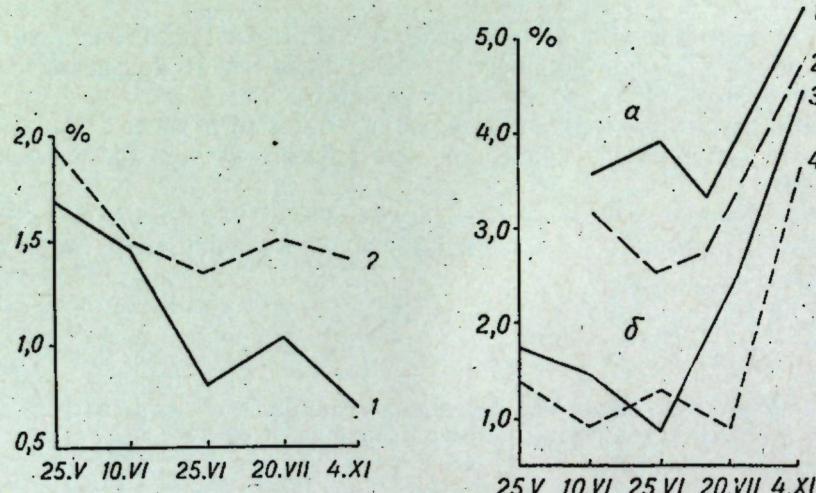


Рис. 1. Динамика общего азота в кольчатках яблони в зависимости от урожая (1965 г.): 1 — дерево с урожаем, 2 — дерево без урожая

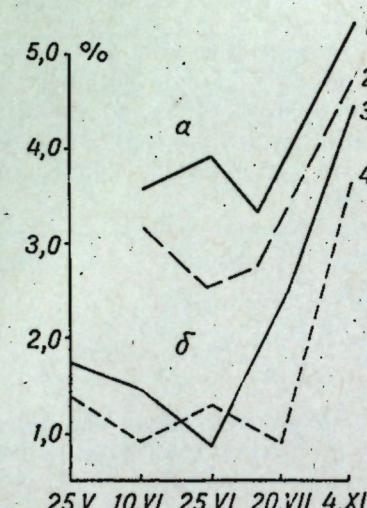


Рис. 2. Динамика сахаров (а) и крахмала (б) в кольчатках яблони сорта Пармэн зимний золотой в зависимости от урожая: 1, 3 — деревья с урожаем; 2, 4 — деревья без урожая

чие от свойственных плодовым кольчаткам признаков, характеризовались понижением концентрации азотистых веществ и повышенной — крахмала в основные сроки, связанные с плодообразованием. В то время как по содержанию сахаров они ничем не отличались от плодовых кольчаток других сортов и в другие годы, т. е. у этого сорта более высокая концентрация сахаров отмечалась у деревьев с урожаем. На первый взгляд, такие результаты казались противоречивыми, так как для плодовых кольчаток растений Пармена зимнего золо-

того, как и для кольчаток с плодами других изучавшихся сортов, в другие годы было характерно повышенное содержание азота и пониженное — крахмала. Но, как показал анатомический анализ почек, снятых с опытных кольчаток деревьев, плодоносящих в 1965 г., закладка цветочных почек урожая будущего года произошла в том же году, что подтвердилось цветением весной 1966 г.

Таким образом, рост плода и одновременная закладка цветочных почек оказали влияние на содержание азотистых соединений и крахмала, но незначительно отразились на концентрации сахаров. Этот факт также подтверждает наше предположение о том, что закладка и дифференциация цветочных почек не связаны с более высокой концентрацией сахаров.

На основании проведенных исследований показано, что широко распространенные в плодоводстве две концепции — азотная и углеводная — не противоречат друг другу, а, наоборот, взаимосвязаны. Закладка цветочных почек коррелирует с усилением синтетических процессов, происходящих в кольчатках — органах, на которых непосредственно формируются плоды, и показателями подготовленности растений к плодоношению могут служить высокое содержание крахмала, белкового азота, а также более высокая величина отношения $\frac{\text{крахмал}}{\text{общий азот}}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Басанько А. А и Петрова-Гриненко В. В. Труды Крымской опытной станции плодово-ягодного хозяйства. 1913—1938 гг., т. II, 1939.
2. Белафонов И. В., Урсуленко П. К. и др. Плодоводство. М., 1939.
3. Выонов С. Ф. Труды Сталинградского сельхозинститута, т. 9, 1959, стр. 213—218.
4. Грибановский А. П., Жаренова К. М., Пышкина О. Л. Бюллетень научной информации ЦГЛ им. Мичуринса, вып. 15, 1968, стр. 37.
5. Зеленская Е. Д. Научные труды Украинского научно-исследовательского института плодоводства, вып. 33, 1954, стр. 116.
6. Казарян В. О., Балагезян Н. В. Доклады АН АрмССР, XXXVI 2, 1963.
7. Казарян В. О. и Арутюнян Р. Г. Физиология растений, 13, вып. 2, 332—335, 1966.
8. Колесников В. А., Агафонов Н. В., Тучков В. П. Известия ТСХА, вып. 5, 162—171, 1968.
9. Коломиец И. А. Преодоление периодичности плодоношения яблони, 1961.
10. Окнина Е. З. и Пустовойтова Т. Н. Тезисы докладов на конференции «Пути и методы повышения стойкости акклиматизированных растений». М., Изд. АН СССР, 1962, стр. 34.
11. Починок Х. Н. Бюллетень по физиологии растений, № 2. Киев, 1958, стр. 27—33.
12. Починок Х. Н. Труды Украинского института физиологии растений, № 20, 1959, стр. 59—62.
13. Сергеенко В. М. Пути ликвидации периодичности плодоношения яблони. Симферополь, Крымиздат, 1955.
14. Соловьев Г. П. Исследование условий питания и биологических процессов у плодоносящих растений в связи с периодичностью плодоношения. Автореф. дисс. докт. биол. наук, 1967, Харьков.
15. Филиппов Л. А. и Субботина Н. В. Труды Молд. н.-и. института садоводства, виноградарства и виноделия, т. X, 1965.
16. Bielinska M. Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Biol., 4, 179—181, 1956.
17. Chan B. G. and Cain J. C. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 91, 1967.
18. Hooker H. P. Agr. Exp. Sta. Res. Bull., 40, 1—54, 1920.
19. Potter G. F. and Phyllips T. G. New Hampshire Agr. Exp. Sta. Techn. Bull., 42, 1—41, 1930.
20. Włodek L. Bielinska-Czarnecka M. Prace instytutu sadownictwa w skiernewicach, VII, 15—30, 1963.

Е. Я. ПРИНЦ

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЙ

Системные препараты внутрирастительного действия — метилмеркаптофос, метилнитрофос, Би-58 (фосфамид, диметоат, рогор) и другие приобретают все большую известность. Их испытывают и применяют в борьбе с вредителями плодовых, овощей и хлопчатника (с паутинным клещиком, плодовыми клещами, щитовками, минирующими молями и др.). Проводятся также физиологические исследования с целью изучения влияния препаратов на растения.

В. П. Васильев [5] отмечает, что применение меркаптофоса для борьбы с паутинным клещиком на хлопчатнике в среднеазиатских республиках позволило сохранять ежегодно до 600 т урожая хлопка-сырца. Использование эффективных химических средств борьбы с вредителями плодовых в совхозах Крымской области за период с 1958 по 1962 г. повысило почти вдвое урожай в садах.

Ряд авторов [1, 2, 3, 6, 8, 9, 11] рекомендуют в борьбе с вредителями садовых, овощных, полевых культур заменить хлорорганические препараты и масла системными фосфорорганическими препаратами, обладающими инсектицидными и акарицидными свойствами, с умеренной токсичностью по отношению к теплокровным. Эффект от обработки системными препаратами составляет 85—100%. Кроме того, установлено, что они стимулируют рост и развитие растений. Так, А. А. Богдарина [4] показала, что непосредственно после опрыскивания фосфорорганическими препаратами резко усиливается энергия дыхания листьев, снижается интенсивность фотосинтеза и активность ферментов, угнетается синтез хлорофилла, изменяется соотношение растворимых сахаров и азотистых соединений. Через 10—15 дней в зависимости от погодных условий происходит нормализация этих физиологических процессов.

Н. В. Сокольникова [10], исследуя динамику поведения фосфамида в тканях обрабатываемых растений, обнаружила, что в различных вегетативных органах яблони фосфамид сохраняется от 20 до 30 дней. Г. В. Долидзе [7], изучая физиологические процессы, происходящие в виноградной лозе под влиянием пестицидов, показал, что фосфамид и другие препараты положительно влияют на синтез хлорофилла в листьях, но тормозят образование каротина, повышают сахаристость и содержание витамина «С» в ягодах и снижают кислотность.

Принимая это во внимание, можно предположить, что в дальнейшем фосфорорганические системные препараты заменят масла и хлорорганические препараты.

Опрыскивание системными препаратами приобретает особенно важное значение в районах недостаточного увлажнения почв, к которым относится и Молдавия.

Изучение влияния опрыскивания растений системными препаратами на водный режим проводилось нами в 1966—1968 гг.

Нами исследовалось влияние Би-58 на некоторые стороны водного режима растений, поврежденных калифорнийской щитовкой. Учет прироста однолетних побегов, определение содержания хлорофилла в листьях, их водоудерживающей способности, водного дефицита (де-

фицита насыщения) проводили по ранее описанным методикам [9].

Опрыскиванию подвергались 12-летние яблони сортов: Ренет Симиренко, Пепин лондонский, Ренет шампанский и другие в колхозе «Красный садовод» Тираспольского района.

Варианты опыта в 1966 г. включали следующие виды опрыскиваний:

1) 0,3-ной эмульсией фосфамида (летом) — опыт (системный препарат);

2) 1,5-ной суспензией ДНОКа (весной) — контроль (контактный препарат).

В 1966 г. погодные условия в Тираспольском районе для роста и развития деревьев были благоприятными. В период вегетации плодовых, от распускания почек до созревания плодов (апрель — август), выпало 200 мм осадков, которые распределялись довольно равномерно. Периоды с высокой температурой воздуха были продолжительными. В мае — июне умеренно теплая погода и достаточные запасы почвенной влаги способствовали нормальному росту однолетних побегов и плодов. Средняя температура воздуха в июне была 16—18°C, в июле — августе — 20—22°C, осадков выпало в июле 60 мм, в августе — 50 мм.

После опрыскивания яблонь наблюдалась разница в росте и развитии вегетативных органов между деревьями, обработанными системными препаратами и контрольными (обработанными контактными ядами). Опытные деревья отличались окраской листьев (гладкая пластинка листа — темно-зеленая, блестящая). У этих деревьев наблюдался значительно больший прирост побегов (табл. 1), чем в контроле, а также выделялась по объему листовая поверхность. Разница в окраске листьев подтверждалась исследованиями на содержание хлорофилла в них (табл. 2). Хлорофилл в белковом комплексе обладает гидрофильными свойствами, и высокое содержание его у опытных деревьев по сравнению с контрольными, по-видимому, повышает водоудерживающую способность листьев (табл. 3), а также снижает водный дефицит в них (табл. 4).

Таблица 1

Средний прирост однолетних побегов у различных сортов яблони (октябрь 1966 г.)

Сорт	Прирост побегов, см		
	опыт	контроль	разница
Джонатан	45,0	22,0	+23,0
Ренет шампанский	30,0	18,5	+11,5
Ренет Симиренко	46,0	22,5	+23,5
Пармен зимний золотой	42,0	22,0	+20,0
Пепин лондонский	30,0	18,0	+12,0

Таблица 2
Содержание хлорофилла в листьях яблонь различных сортов (19 июля 1966 г.)

Сорт	Содержание хлорофилла, мг/с сырого веса		
	опыт	контроль	разница
Джонатан . . .	16,8	12,8	+6
Ренет шампанский	13,8	9,1	+4,7
Пармен зимний золотой . . .	16,3	10,8	+5,5
Ренет Симиренко	16,8	10,3	+6,5
Пепин лондонский	13,0	9,2	+3,8

Как видно из данных табл. 1, прирост однолетних побегов значительно выше в опыте, чем в контроле. Увеличение прироста у опытных растений в сравнении с контрольными было максимальным у сортов Ренет Симиренко (23,5 см) и Джонатан (23,0 см) и минималь-

Таблица 3
Водоудерживающая способность листьев у яблонь различных сортов (19 июля 1966 г.)

Сорт	Вариант	Потеря воды от первоначального веса, %		
		через		
		2 часа	4 часа	24 часа
Джонатан	Опыт	36,0	56,0	68,0
	Контроль	52,0	65,0	70,0
Ренет шампанский	Опыт	42,0	63,0	70,0
	Контроль	54,0	68,0	75,0
Пармен зимний золотой	Опыт	21,6	52,0	62,8
	Контроль	46,3	62,0	70,0
Пепин лондонский	Опыт	21,1	62,8	70,8
	Контроль	42,0	66,2	74,8

ными — у сортов Пепин лондонский (12 см) и Ренет шампанский (11,5 см).

Данные табл. 2 показывают, что разница в содержании хлорофилла в листьях опытных и контрольных деревьев в среднем составляет 4—6 мг, максимальная у сорта Ренет Симиренко — 6,5 мг, минимальная у сорта Пепин лондонский — 3,8 мг.

Из данных табл. 3 видно, что разница в потере воды листьями в опыте и контроле за 24 часа составляет 8—12%.

Как показали исследования (табл. 4), опытные деревья имеют несколько меньший дефицит насыщения, чем контрольные. Наибольшие различия в этом отношении отмечены у сортов Пармен зимний золотой, Пепин лондонский и Ренет Симиренко.

Аналогичные результаты получены в 1967 г. при обработке рогором болгарского производства. Анализы проводились по той же методике, что и предыдущие.

Варианты опыта 1967 г.:

1. Обработка деревьев 0,3%-ной эмульсией рогора — опыт.
2. Обработка деревьев 0,2%-ным ДДТ+0,1%-ным раствором хлорофоса — контроль.

В период вегетации плодовых деревьев (июнь—август) в 1967 г. в Тираспольском районе выпало 164 мм осадков (меньше обычного на 60—70 мм), причем наибольшее количество — в первой половине лета. Средняя температура в мае—июне была 17,1—19,1°C, в июле—августе — 22,0—21,1°C. Погодные условия в основном сложились благоприятно для роста растений. В июле — августе было несколько меньше продуктивной влаги в почве. Сухая и теплая погода способствовала вызреванию однолетней древесины и плодов. Системный препарат рогор и контактный ДДТ+хлорофос по-разному повлияли на состояние деревьев.

Из данных табл. 5 следует, что прирост побегов у яблонь в опыте

Таблица 4
Водный дефицит в листьях яблонь различных сортов (19 июля 1966 г.)

Сорт	Вариант	Дефицит насыщения за 24 часа, %		
		опыт	контроль	разница
		через		
Джонатан		19,5	27,0	+7,5
Ренет шампанский		20,5	29,0	+8,5
Пармен зимний золотой		17,6	26,5	+8,9
Пепин лондонский		20,5	29,2	+8,7

Таблица 5
Средний прирост однолетних побегов у яблонь различных сортов (октябрь 1967 г.)

Сорт	Прирост побегов, см		
	опыт	контроль	разница
	через		
Ренет Симиренко	45,5	28,0	+17,5
Пепин лондонский	40,8	25,0	+15,8
Кальвиль снежный	40,8	25,0	+15,8
Мантуанское	45,5	28,0	+17,5

Таблица 6
Содержание хлорофилла в листьях яблонь различных сортов (19 июля 1967 г.)

Сорт	Содержание хлорофилла, мг/г сырого веса		
	опыт	контроль	разница
	через		
Ренет Симиренко	14,7	10,5	+4,2
Пепин лондонский	15,2	10,1	+5,1
Кальвиль снежный	15,2	10,0	+5,2
Мантуанское	15,5	10,5	+5,0

Таблица 8
Водный дефицит в листьях яблонь различных сортов (19 июля 1967 г.)

Сорт	Дефицит насыщения за 24 часа, %		
	опыт	контроль	разница
	через		
Ренет Симиренко	20,5	26,5	-6,0
Пепин лондонский	22,0	27,5	-5,5
Кальвиль снежный	20,0	26,0	-6,0
Мантуанское	20,5	26,5	-6,0

значительно больший, чем в контроле. Как и в предыдущем году, Ренет Симиренко отличался наибольшей величиной прироста побегов.

Данные табл. 6 показывают, что разница в содержании хлорофилла в листьях опытных и контрольных деревьев составляет 4,2—5,2.

Из данных табл. 7 следует, что разница в потере воды листьями в опыте и контроле за 24 часа составила 8—12%.

Данные табл. 8 показывают, что опытные деревья имеют несколько меньший дефицит насыщения, чем контрольные.

В 1968 г. в том же колхозе получены аналогичные результаты (анализы проводились по той же методике, что и в предыдущих опытах).

Варианты опыта 1968 г.:

1. Обработка деревьев — 0,3%-ной эмульсией Би-58 (болгарский препарат) — опыт.

2. Обработка деревьев 0,2%-ным ДДТ+0,1%-ным раствором хлорофоса — контроль.

Опрыскивание препаратом Би-58 проводилось в яблоневом саду на участке площадью 4,5 га. Контроль — участок 10 га; возраст деревьев 12 лет.

Погодные условия в Тираспольском районе в 1968 г. были довольно неблагоприятными для роста и развития растений. В течение вегетационного периода (апрель—август) выпало 130 мм осадков (меньше нормы). В мае—июне средняя температура воздуха была 20,4—18°C, а относительная влажность его — 54%. В июле—августе были

Таблица 7

Водоудерживающая способность листьев у яблонь различных сортов (19 июля 1967 г.)

Сорт	Вариант	Потеря воды от первоначального веса, %		
		через		
		2 часа	4 часа	24 часа
Ренет Симиренко	Опыт	34,0	53,0	64,0
	Контроль	42,0	58,0	72,0
Пепин лондонский	Опыт	31,0	52,0	63,0
	Контроль	39,0	62,0	73,0
Кальвиль снежный	Опыт	32,0	48,0	63,0
	Контроль	48,0	58,2	74,2
Мантуанское	Опыт	36,0	53,0	62,0
	Контроль	43,0	61,0	74,0

ливни, в остальное время стояла довольно жаркая и сухая погода, что несколько отрицательно повлияло на созревание плодов и вызревание однолетней древесины. Контрольные растения по сравнению с опытными больше нуждались в почвенной влаге (табл. 9 и 10).

Таблица 9

Средний прирост однолетних побегов у различных сортов яблонь (октябрь, 1968 г.)

Сорт	Прирост побегов, см		
	опыт	контроль	разница
Ренет Симиренко	40,0	24,0	+16
Мантуанское	40,0	24,0	+16
Кальвиль снежный	38,0	20,8	+18
Пепин лондонский	36,0	20,8	+16

Таблица 11

Водоудерживающая способность листьев у яблонь различных сортов (20 июля 1968 г.)

Сорт	Вариант	Потеря воды, % от первоначального веса		
		через 2 часа	4 часа	24 часа
Ренет Симиренко	Опыт	30,0	53,0	65,0
	Контроль	40,0	58,0	75,0
Мантуанское	Опыт	31,0	51,0	64,0
	Контроль	42,0	62,0	75,0
Кальвиль снежный	Опыт	33,0	48,0	73,0
	Контроль	49,0	59,0	73,0
Пепин лондонский	Опыт	32,0	53,0	64,0
	Контроль	40,0	64,0	73,0

Как показывают данные табл. 9, прирост однолетних побегов у яблонь в опыте значительно больший, чем в контроле.

Данные табл. 10 свидетельствуют о том, что разница в содержании хлорофилла в листьях опытных и контрольных деревьев колеблется от 4,4 до 5,8 мг/г.

Из данных табл. 11 следует, что разница в потере воды листьями за 24 часа в опыте и контроле составляет 9—11%. Эти данные подтверждаются прошлогодними (1967 г.), в которых наибольшая потеря воды наблюдалась у сорта Кальвиль снежный (11—16%).

Данные табл. 12 показывают, что опытные деревья имеют несколько меньший дефицит насыщения, чем контрольные.

На основании исследований, проведенных в течение трех лет, установлено следующее:

1. Средний прирост однолетних побегов у деревьев, обработанных системными препаратами, значительно больше, чем у контрольных, обработанных контактными ядами.

2. Содержание хлорофилла в листьях опытных деревьев повысилось на 4—5 мг (на 1 г сырого веса).

3. Водоудерживающая способность листьев у контрольных деревьев значительно ниже, чем у опытных.

4. Разница в водном дефиците между опытными и контрольными деревьями за 3 года составляет: 8,3, 5,8 и 6,3%.

5. Системные препараты (Би-58, рогор, диметоат, фосфамид) стимулируют рост и развитие растений и благоприятно влияют на их водный режим.

Таблица 10
Содержание хлорофилла в листьях яблонь различных сортов (20 июля 1968 г.)

Сорт	Содержание хлорофилла, мг/г сырого веса		
	опыт	контроль	разница
Ренет Симиренко	15,8	11,4	+4,4
Мантуанское	16,1	11,0	+5,1
Кальвиль снежный	15,8	10,4	+5,4
Пепин лондонский	15,8	10,0	+5,8

Таблица 12

Водный дефицит в листьях яблонь различных сортов (20 июля 1968 г.)

Сорт	Вариант	Дефицит насыщения за 24 часа, %		
		опыт	контроль	разница
Ренет Симиренко	Опыт	30,0	53,0	65,0
	Контроль	40,0	58,0	75,0
Мантуанское	Опыт	31,0	51,0	64,0
	Контроль	42,0	62,0	75,0
Кальвиль снежный	Опыт	33,0	48,0	73,0
	Контроль	49,0	59,0	73,0
Пепин лондонский	Опыт	32,0	53,0	64,0
	Контроль	40,0	64,0	73,0

ЛИТЕРАТУРА

- Бичина Т. И., Болбочану З. А. Сб. Молдавского филиала Всес. ин-та защиты растений 1961—1965, вып. 5, 1967, стр. 10—12.
- Балабашенко В. С. Химия в сельском хозяйстве, 1967, № 4.
- Баймурадов Г. В. Химия в сельском хозяйстве, 1967, № 8.
- Богдарина А. А. Физиологические основы действия инсектицидов на растение. Сельхозгиз, 1961.
- Васильев В. П. Химия в сельском хозяйстве, т. III, № 10 (24), 1965.
- Голубева З. З., Попов В. П. Химия в сельском хозяйстве 1967, № 3, стр. 23.
- Долидзе Б. В. Химия в сельском хозяйстве, 1967, № 8, стр. 25.
- Мандельбаум А. Я., Сайфер Р. С., Мельников Н. Н., Федосеенко Л. Г., Сегнов С. А. Химия в сельском хозяйстве, 1967, № 7.
- Принц Е. Я. Вредная и полезная фауна беспозвоночных Молдавии, вып. III. Кишинев, изд-во «Карта Молдовеняскэ», 1968.
- Соколовская Н. В. Труды Всесоюзного ин-та защиты растений, вып. 24, 1965, стр. 130—133.
- Шаповалова Т. К., Бочарова Л. П. Химия в сельском хозяйстве, т. III, № 10 (24), 1965.

В. Г. КЛИМЕНКО, Н. С. ОКОПНЫЙ

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОЛЕРАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ СЕМЯН КУКУРУЗЫ

Белки семян кукурузы, извлекаемые растворами нейтральных солей, представлены в основном смесью глобулинов и альбуминов, играющих важнейшую роль в жизнедеятельности семян. С альбуминами семян связана их ферментативная функция [1—3]. Как альбумины, так и глобулины семян злаковых не являются однородными белками, а представляют сложные структуры [4, 5]. До настоящего времени нет обстоятельных сведений о хроматографическом и электрофоретическом поведении солерасторимых белков семян кукурузы.

Целью настоящих исследований было: 1. Хроматографией на ДЭАЭ-целлюлозе и гидроксилапатите разделить суммарный солевой экстракт семян кукурузы на фракции, а в хроматографических фракциях определить количественное соотношение белков и нуклеиновых кислот, а также электрофоретическое поведение белков фракций. 2. Выделить из суммарного солевого экстракта семян глобулины, осаждающиеся при различных изоэлектрических точках и исследовать их хроматографическое и электрофоретическое поведение. 3. Выделить из суммарного солерасторимого экстракта семян суммарные альбумины и также изучить их хроматографическое и электрофоретическое поведение.

Материал и методы

Для исследования были взяты семена кукурузы сорта Стерлинг урожая 1968 г. Семена превращали в тонкую муку, которую обезжиривали этиловым эфиром. В обезжиренной муке определяли содержание форм азота и белковых фракций по методам, принятым в нашей лаборатории [6].

Суммарный солерасторимый белковый экстракт из семян кукурузы готовили следующим образом. Навеску муки обрабатывали 10-кратным объемом 1 M NaCl, забуференным фосфатами до pH 7,0 при помешивании при 4—5° на протяжении 10—12 часов. Раствор белка от плотного остатка муки отделяли центрифугированием. К плотному остатку муки добавляли снова 5-кратный объем 1 M NaCl и после 2—3-часового стояния центрифугировали. При такого рода обработке муки было извлечено 95—98% суммарных глобулинов и альбуминов. Солевые экстракты объединяли и переносили в целлофановые мешочки для диялизации против дистиллированной воды pH 4,3 при 4—5°. При этом в осадок переходила первая порция глобулинов, которую отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием при 8000 об/мин. Осадок глобулина перерасторяли в 1 M NaCl и снова диялизовали против воды pH 4,3. Полученный нами глобулин был нами условно назван «глобулином-1». Он представлял основное количество белка суммарного солевого экстракта семян кукурузы. Надосадочную жидкость pH 4,3 диялизовали против дистиллированной воды pH 5,7. При этом происходило осаждение глобулина, который условно был назван «глобулином-2». Этот глобулин перерасторяли в 1 M NaCl с последующим диялизом его раствора против воды с pH 5,7. При дальнейшем изменении pH от 5,9 до 8,3 осадка белков обнаружено не было. Выделенные глобулины были подвергнуты хроматографическому и электрофоретическому исследованию.

К освобожденному от глобулинов раствору pH 8,3 добавляли сухой сернокислый аммоний до полного насыщения. При этом происходило осаждение суммарных альбуминов, которые от надосадочной жидкости отделяли центрифугированием при 10000 об/мин. Осадок альбуминов растворяли в минимальном объеме воды и диялизовали против дистиллированной воды pH 4,6. При этом не было обнаружено помутнения диялизуемого раствора, что указывало на отсутствие в нем глобулинов. Полученные глобулины и альбумины хранили в насыщенном растворе сернокислого аммония, а перед исследованием их освобождали от сернокислого аммония диялизом при соответствующем pH.

Выделенные нами глобулины и альбумины на ДЭАЭ-целлюлозе и гидроксилапатите хроматографировали по вариантам методов, разработанных в нашей лаборатории [7—9]. Белки хроматографических фракций осаждали при полном насыщении сернокислым аммонием и подвергали электрофорезу на бумаге [10]. Электрофорез проводили в ацетатном буфере при pH 5,4.

В хроматографических фракциях было определено содержание белка по связыванию его с красителем [11] и нуклеиновые кислоты спектрофотометрически [12]. Были также определены спектры поглощения фракций.

Результаты исследований и их обсуждение

Как показали наши исследования, из муки семян кукурузы 1 M NaCl было извлечено около 40% белкового азота по отношению к суммарному белковому азоту семян. Около 1/3 солерасторимого белкового азота приходится на азот альбуминов, а остальной представлен глобулинами. Следовательно, альбуминов и глобулинов значительно меньше по сравнению с проламинами и глютенинами. Альбумины и глобулины не могут быть отнесены к запасным белкам семян кукурузы.

Хроматография белков на ДЭАЭ-целлюлозе. Данные хроматографического разделения суммарного солевого белкового экстракта, гло-

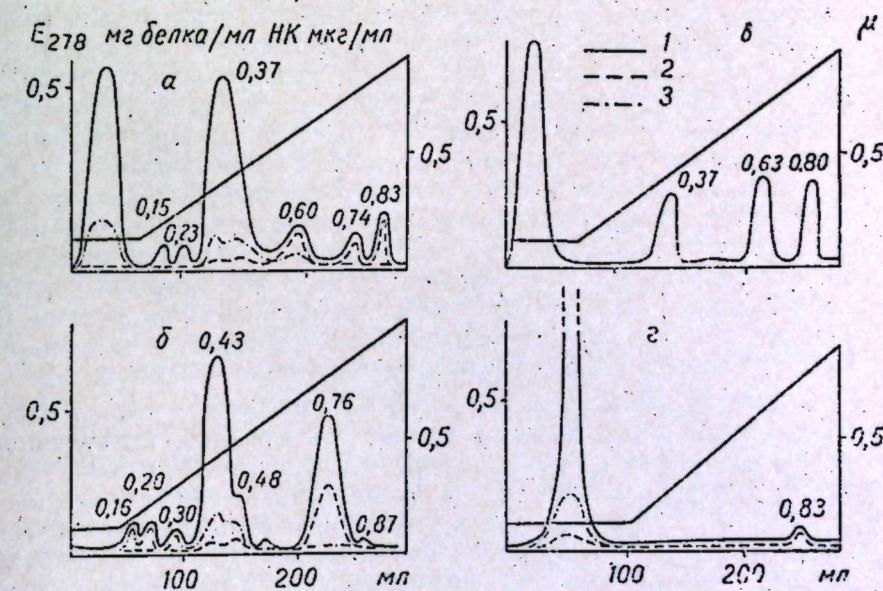


Рис. 1. Хроматограмма суммарного солевого экстракта и его белковых компонентов на ДЭАЭ-целлюлозе. Размер колонки 30,0×1,3 см, скорость элюирования 15 мл/час. Взято для хроматографии около 100 мг белка: а — суммарный солевой белковый экстракт, б — глобулин-1, в — глобулин-2, г — альбумин. 1 — экстинция при 278 мкм; 2 — содержание нуклеиновых кислот мкг/мл; 3 — содержание белка мг/мл. На ординатах справа — ионная сила элюирующего буфера

булини-1, глобулина-2 и альбумина семян кукурузы приведены на рис. 1, электрофорез белков хроматографических фракций на рис. 2 и спектры поглощения хроматографических фракций на рис. 3. Условимся фракции, элюирующиеся до наложения градиента (исходным буфером $\mu 0,10$), обозначать целыми числами, а после наложения градиента — цифрами, соответствующими ионным силам элюирующего буфера.

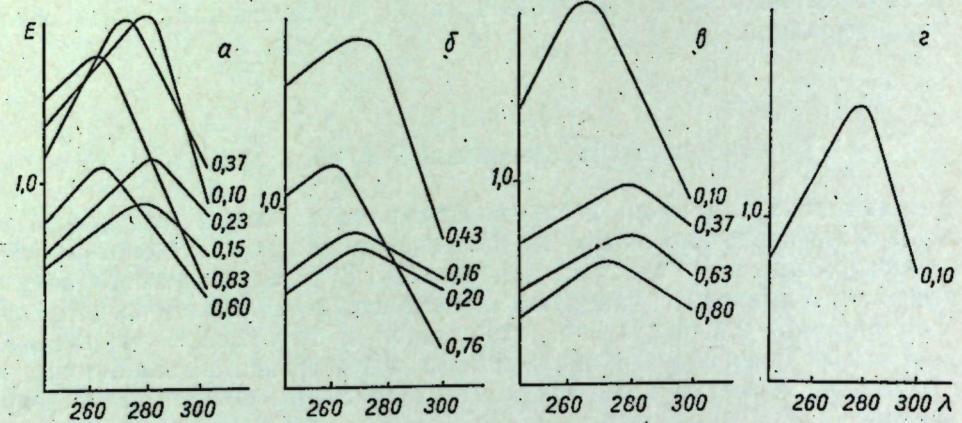


Рис. 3. Спектрограммы хроматографических фракций на ДЭАЭ-целлюлозе. Справа спектрограмм цифрами обозначены ионные силы буфера, при которых элюируются фракции. Обозначения те же, что на рис. 1

Суммарный солевой белковый экстракт разделился на семь фракций, одна из которых элюируется исходным буфером (рис. 1, а). Эта фракция представлена в основном белками, при практическомном отсутствии нуклеиновых кислот, что подтверждается и ее спектром поглощения (рис. 3, а). Фракции 0,15 и 0,23, элюирующиеся после наложения градиента, представлены в основном белками с минимальным содержанием нуклеиновых кислот (рис. 3, а). При дальнейшем повышении ионной силы буфера элюируются смешанные фракции, в состав которых, кроме белков, входят и нуклеиновые кислоты. Это хорошо подтверждается количественным соотношением белков и нуклеиновых кислот в фракциях 0,37 и 0,60 (рис. 3, а). При максимальных ионных силах элюируются фракции 0,74 и 0,83, которые представлены нуклеиновыми кислотами с незначительными количествами белков. Однако нам не удалось обнаружить фракций, элюирующихся при высоких ионных силах, в которых бы отсутствовали белки.

Любопытные данные получены по электрофоретическому поведению белков суммарного солевого экстракта и фракций, элюирующихся при различных ионных силах буфера (рис. 2, а). Так, если белки суммарного солевого экстракта при электрофорезе разделились на четыре—пять зон, из которых только одна мигрирует к аноду, то белки фракций, элюирующейся исходным буфером, дали одну сильно размытую катодную зону и зону, остающуюся по месту нанесения белка на электрофореграмму. Обнаруживается еще одна, быстро движущаяся к катоду, но еле заметная зона. Белки фракции 0,37 дали две электрофоретические зоны, из которых одна быстро движущаяся к катоду и другая, остающаяся по месту нанесения белка на электрофореграмму. Белок фракции 0,83 теряет способность миграции в электрическом поле. Можно допустить, что белок этой фракции быстро денатурирует-

ся, а поэтому и остается по месту его нанесения на электрофореграмму (рис. 2, а).

При хроматографии глобулина-1 он разделился на семь фракций, но все они появились после наложения градиента (рис. 1, б). Фракции 0,16, 0,20 и 0,30 представлены в основном белками с минимальным количеством нуклеиновых кислот. На смешанный характер этих фракций указывают и данные их спектров поглощения (рис. 3, б). С повышением ионной силы буфера элюируются фракции, обогащенные нуклеиновыми кислотами. Это хорошо заметно на фракциях 0,43 и 0,48. При более высоких ионных силах буфера элюируются нуклеиновые кислоты с незначительным количеством белка, что особенно четко выражено на фракции 0,76.

Глобулин-1 при электрофорезе разделился на две катодные и одну, остающуюся по месту нанесения, зоны (рис. 2, б). Ввиду крайне малого содержания белка в фракциях 0,16, 0,20 и 0,30 исследовать его электрофорезом не представлялось возможным. Белок смешанной фракции 0,34 при электрофорезе дал одну плохо разделенную катодную и еле заметную анодную зоны. Хотя фракция 0,76 содержит сравнительно мало белка, но при его электрофорезе получена одна, четко выраженная зона, которая остается по месту нанесения белка на электрофореграмму. Данные хроматографии глобулина-1 и электрофореза белков его фракций позволяют сделать заключение о том, что этот глобулин не является однородным белком, а представляет систему, состоящую из белка и нуклеиновых кислот, а белок, в свою очередь, состоит из нескольких, различающихся по подвижности электрофоретических зон.

При хроматографии глобулина-2 обнаружено всего четыре фракции, одна из которых элюируется исходным буфером (рис. 1, в). Эта фракция несет смешанный характер (рис. 3, в). В этом глобулине отсутствуют минорные фракции 0,15, 0,23 и 0,16, 0,20 и 0,23, которые выявлены в суммарном белковом экстракте и глобулине-1. Хроматограмма глобулина-2, за исключением минорных фракций, напоминает хроматограмму суммарного белкового экстракта, но резко отличается от хроматограммы глобулина-1.

При электрофорезе глобулина-2 обнаружено четыре зоны, две из которых движутся к аноду. Следовательно, по электрофоретическому поведению глобулина-2, как и глобулину-1, обладает сложным составом. Белок фракции, элюирующейся исходным буфером, представлен только одной, но быстро движущейся к катоду, зоной, тогда как белок фракции 0,63 при электрофорезе отчетливо разделился на основную катодную и второстепенную анодную зоны (рис. 2, в). Фракция, элюирующаяся при максимальной ионной силе (0,80), является смешанной (рис. 3, в), но электрофорез ее белка провести не удалось, так как его было очень мало.

Хроматограмма альбумина приведена на рис. 1, г. Из нее видно, что этот белок разделился в основном на две фракции, одна из которых элюируется исходным буфером и несет смешанный характер, и фракцию 0,83, в состав которой входят в основном нуклеиновые кислоты. Если суммарный альбумин при электрофорезе разделился на сильно размытую, указывающую на ее неоднородность катодную зону, и зону, остающуюся по месту нанесения белка на электрофореграмму, то белок фракции, элюирующейся исходным буфером, представлен только одной, хотя и размытой, катодной зоной. Данные хроматографии и электрофореза показали, что альбумин также не является од-

нородным белком, а каким-то образом связан с нуклеиновыми кислотами, часть которых при хроматографии отделяется небелковой фракцией, а часть элюируется с белком и, может быть, имеет протеидную природу.

Хроматография на гидроксилапатите. Хроматограмма суммарного солевого белкового экстракта и его компонентов приведена на рис. 4. Из нее следует, что суммарный солевой экстракт разделился на девять фракций, четыре из которых элюируются исходным буфером (рис. 4, а).

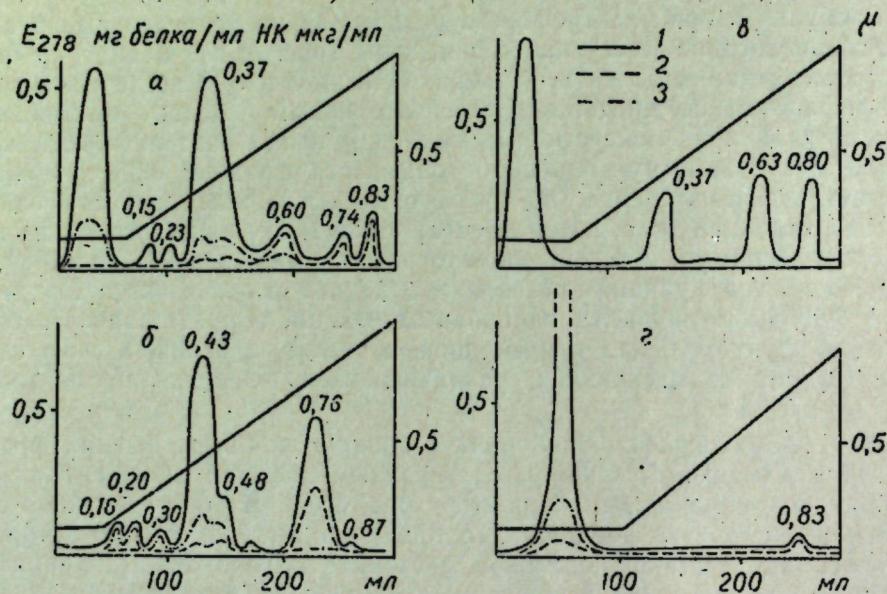


Рис. 4. Хроматограмма суммарного солевого экстракта и его белковых компонентов на гидроксилапатите. Размер колонок, скорость элюирования, количество взятого для хроматографии белка и другие обозначения те же, что на рис. 1

Из четырех фракций, элюирующихся исходным буфером, три оказались миорными, в которых определить соотношение белка и нуклеиновых кислот, в виду их малого количества, оказалось весьма затруднительным. Первая фракция, элюирующаяся исходным буфером, является смешанной, на что указывает содержание в ней белка и нуклеиновых кислот, а также спектр поглощения (рис. 6, а). По мере нарастания концентрации буфера элюируются фракции, в которых снижается содержание нуклеиновых кислот и повышается содержание белка. Фракции 0,22, 0,28 и 0,32 являются смешанными, а 0,47 содержит следовое количество нуклеиновых кислот и представлена фактически только белком (рис. 4, а, 6, а).

Белки фракций, элюирующейся исходным буфером при электрофорезе, дали плохо разделившиеся катодную и анодную зоны, которые обладают минимальной подвижностью. Белки фракций 0,22 и 0,28 также представлены одной катодной электрофоретической зоной (рис. 5).

Хроматограмма глобулина-1 представлена на рис. 4, б. Этот белок

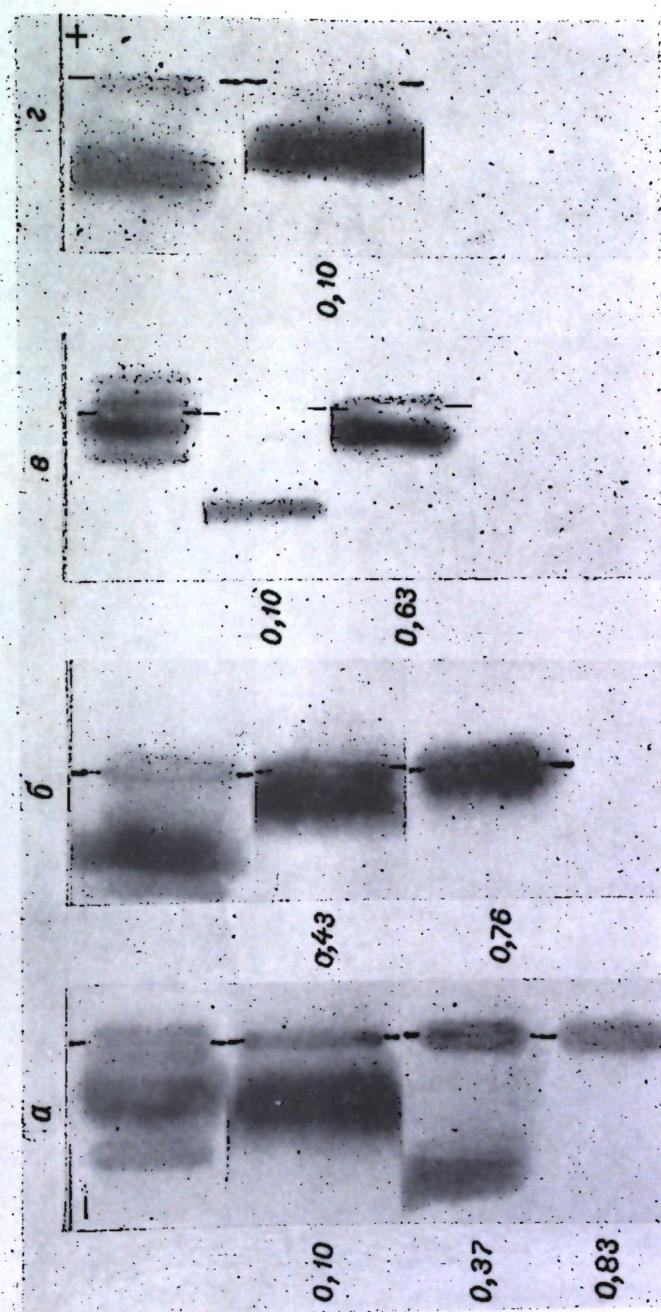


Рис. 2. Электрофорерограммы белков хроматографических фракций на ДЭАЭ целлюлозе. Фордергамма — ионная сила буфера, при которой элюируются белки. Обозначения те же, что на рис. 1

Слева — электро-

фордер-

ограмма.

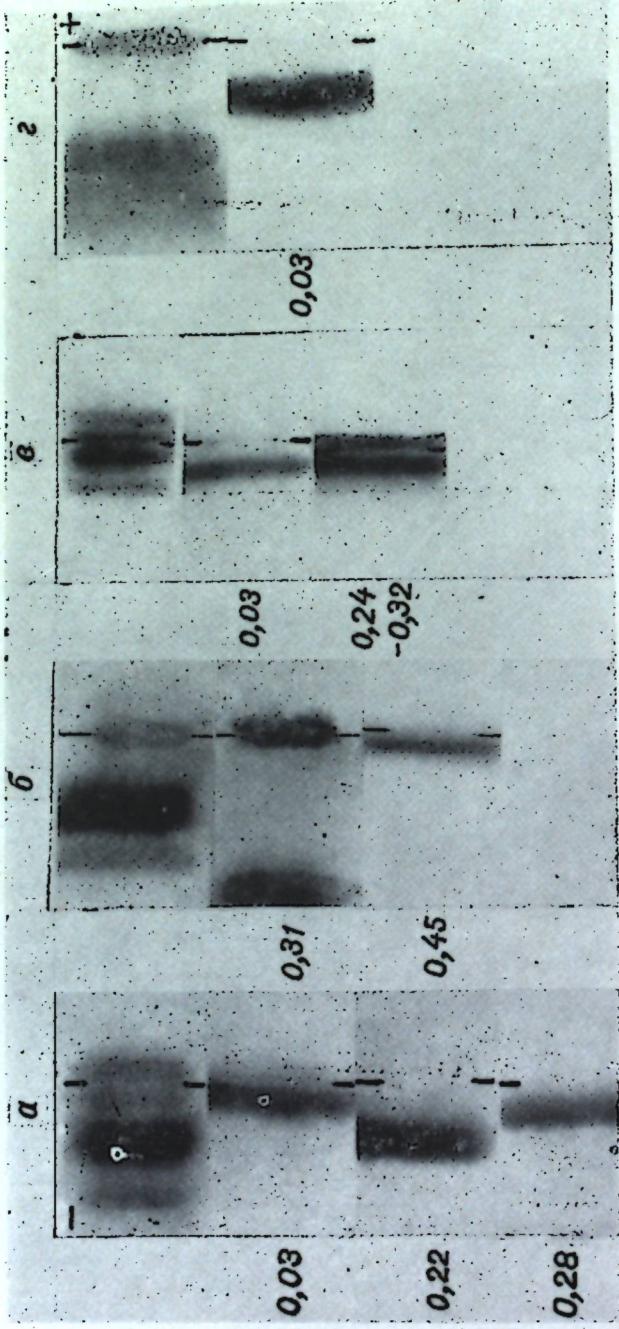


Рис. 5. Электрофорограммы белков хроматографических фракций на гидроксилапатите.
Обозначения те же, что на рис. 2.

разделился на шесть фракций, из которых только одна элюируется исходным буфером. Эта фракция носит смешанный характер, о чем свидетельствует содержание в ней белка и нуклеиновых кислот, а также спектр поглощения. Фракции 0,23, 0,31 и 0,45 являются также смешанными (рис. 6, б) и только 0,66 содержит минимальное количество нуклеиновых кислот и представлена в основном белком. При электрофорезе белков фракции 0,31 оказалось, что они разделились на две зоны — быстро движущуюся катодную и остающуюся по месту нанесения белка на электрофореграмму или медленно движущуюся к аноду. Белок фракции 0,45 дал одну, медленно движущуюся к катоду зону. Белки остальных хроматографических фракций ввиду их малого количества исследовать электрофорезом не удалось.

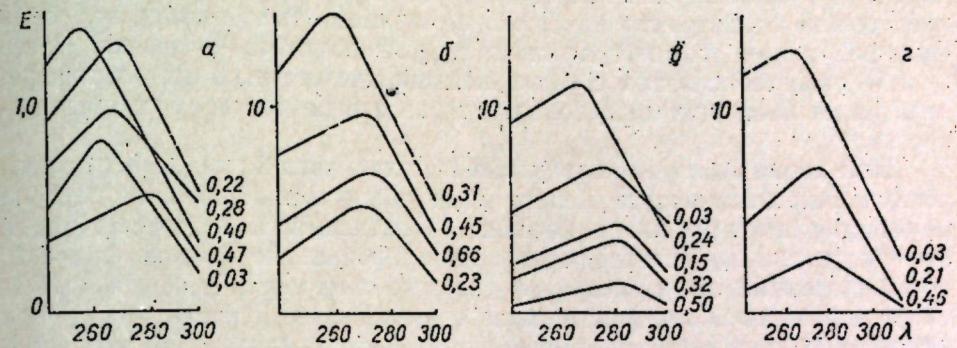


Рис. 6. Спектрограммы хроматографических фракций на гидроксилапатите. Обозначения те же, что на рис. 3

Хроматограмма глобулина-2 приведена на рис. 4, в. Из нее видно, что этот белок разделился на пять фракций, из которых только одна элюируется исходным буфером. Фракции 0,15, 0,32 и 0,50 оказались почти свободными от нуклеиновых кислот, а остальные смешанные (рис. 6, в). Белок фракции, элюирующейся исходным буфером, представлен одной катодной электрофоретической зоной, тогда как белок объединенных фракций 0,24—0,32 при электрофорезе разделился на две медленно движущиеся к аноду и катоду зоны.

Хроматограмма альбумина приведена на рис. 4, г, откуда видно, что этот белок разделился на три фракции, одна из которых элюируется исходным буфером и носит смешанный характер. Фракция 0,21, кроме белка, содержит, хотя и незначительное, количество нуклеиновых кислот и только фракция 0,46 представлена одним белком. Если суммарный альбумин при электрофорезе разделился на три катодные зоны, остающуюся по месту нанесения его на электрофореграмму, то белок, в какой-то степени связанный с нуклеиновыми кислотами, элюирующийся исходным буфером, дал четко выраженную одну катодную зону (рис. 5, г). Белки фракций, элюирующихся после наложения градиента, были получены в таких малых количествах, что не могли быть исследованы электрофорезом.

Полученные аналитические данные при хроматографии не только суммарного солевого экстракта, но и глобулинов, переходящих в осадок при различных изоэлектрических точках, а также альбуминов указывают на то, что часть белков находится в какой-то связи с нуклеиновыми кислотами. При электрофорезе белков хроматографических фракций они оказались неоднородными. Следовательно, глобулины и

альбумины, входящие в суммарный солевой экстракт семян кукурузы, представляют весьма сложные системы.

Выводы

Из семян кукурузы были получены суммарные солевые белковые экстракты, из которых выделены глобулины, осаждающиеся при рН 4,3 и 5,7, а также суммарные альбумины. При хроматографии суммарного солевого экстракта на ДЭАЭ-целлюлозе было получено семь фракций, а при хроматографии на гидроксилапатите — девять. Часть белков фракций связана с нуклеиновыми кислотами, а их электрофорез показывает, что они обладают различным составом и подвижностью.

При хроматографии глобулина-1 и глобулина-2 на ДЭАЭ-целлюлозе и гидроксилапатите между ними обнаружены различия как по количеству элюирующихся фракций, в зависимости от концентрации буфера, так и по электрофоретическому поведению белков фракций.

Выделенный из суммарного солевого экстракта альбумин находится в различной прочности связи с нуклеиновыми кислотами, а при электрофорезе делится на несколько зон, что указывает на его неоднородность.

ЛИТЕРАТУРА

- Кретович В. Л., Бундель А. А., Мелик-Сиркасян С. С., Степанович К. М. Биохимия, 19, 208, 1954.
- Прокуряков Н. И., Родионова И. В. Биохимия зерна, 5, 108, 1960.
- Danielsson C. E. Ann. Rev. Plant Physiol., 7, 215, 1956.
- Sastry L. V., Virupaksha T. K. Analyst Biochem., 19, 505, 1967.
- Зубайдов У. З. Доклады АН ТаджССР, 1, 70, 1968.
- Клименко В. Г., Березовиков А. Д. Биохимия, 28, 238, 1963.
- Вайнтрауб И. А., Шутов А. Д. Биохимия, 29, 863, 1964.
- Саянова В. В. Труды по химии природных соединений. Кишиневский гос. ун-т, 8, 14, 1969.
- Вайнтрауб И. А. Биохимия, 30, 628, 1965.
- Гофман Ю. Я., Вайнтрауб И. А. Биохимия, 25, 1049, 1960.
- Гофман Ю. Я. Авторское свидетельство СССР № 159059. Бюлл. изобрет. № 23, стр. 61, 1963.
- Спирин А. С. Биохимия, 23, 656, 1958.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Л. П. КОВАЛЬЧУК, А. И. ГАРКАВЕНКО, Л. Ф. САВЧЕНКО, П. Н. РАЗУМОВСКИЙ

СОСТАВ СУММАРНЫХ ЛИПИДОВ НЕКОТОРЫХ АКТИНОМИЦЕТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

В настоящее время среди продуктов метаболизма микроорганизмов важное значение придается липидам, так как они не только играют роль запасных источников энергии, но и принимают участие в различных физиологических процессах [2—7, 9].

Литературные сведения о биосинтезе липидов актиномицетами крайне ограничены, недостаточно изучен состав липидов мицелия этих организмов, а данные сравнительного изучения липидов и их фракций в мицелии представителей разных видов актиномицетов вообще отсутствуют.

Настоящая работа посвящена изучению биосинтеза суммарных липидов и их фракций ряда актиномицетов, выращенных на синтетической и комплексных мучных средах.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили с культурами *Act. griseus* 15, *Act. aureoverticillatus* 1306, *Act. auragineus* 2377, используемых в производстве кормовых препаратов для нужд животноводства, а также с *Act. antibioticus* 10, выделенного нами из почвы Молдавии.

Для культивирования актиномицетов использовали синтетическую и комплексные мучные среды следующего состава (г/л): среда № 1: глюкоза — 20,0, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ — 7,5, NaCl — 5,0, K_2HPO_4 — 2,0, MgSO_4 — 1,0, CaCl_2 — 0,4, FeSO_4 — 10 мг, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 10 мг. Среда I: кукурузная мука — 40,0, CaCO_3 — 1,5, дрожжи — 5,0. Среда № 5: пшеничная мука — 10,0, ячменная мука — 10,0, NaCl — 2,0, CaCO_3 — 5,0, CaCO_3 — 5,0. Среда № 6: компоненты среды № 5 за исключением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Среда IV: пшеничная мука — 40,0, дрожжи — 10,0, CaCO_3 — 1,5. Среда XIII: пшеничная мука — 20,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 15,0, CaCO_3 — 1,0.

Выращивание *Act. griseus* 15 вели на синтетической среде № 1 и ее двух вариантах, т. е. в среде № 1 фосфорникислый аммоний вносили в количестве 3,75 г/л (среда № 1 а) и в количестве 0,93 г/л (среда № 1 б). Исходный рН 6,8—7,0.

Опыты проводили в колбах на 1 л с 200 мл среды. Посевной материал вносили в количестве 8% (объемных). Выращивание велось на качалке (180 об/мин) при 26—28° в течение 5 суток. Биомасса учитывалась весовым методом. Внутриклеточные липиды выделяли из мицелия экстракцией смесью хлороформ — метanol в соотношении 2:1 [8]. Выход липидов рассчитывали на сухой вес биомассы и выражали

в процентах. Разделение липидов на отдельные классы соединений (фракций) проводили при помощи препаративной хроматографии на пластинках (18×24 см) с закрепленным слоем силикагеля марки КСК (150—200 меш), смешанного с гипсом и водой (8 г силикагеля, 0,4 г гипса и 24 мл воды), по методике Бергельсона и др. [1]. Для удаления органических примесей из силикагеля пластинку промывали смесью метanol—диэтиловый эфир (4:1). Затем пластинку активировали при 110° в течение 1 часа. Раствор липидов в петролейном эфире наносили полосой на стартовую линию пластинки.

Разделение проводили в следующих системах: 1) петролейный эфир — диэтиловый эфир — уксусная кислота (85:15:1); 2) петролейный эфир — диэтиловый эфир — уксусная кислота (85:15:7,5); 3) гексан — диэтиловый эфир — уксусная кислота (80:20:1). Проявление проводили парами йода. Идентификацию и количественное определение фракций липидов определяли весовым методом, используя в качестве свидетеля метчики [4].

Нейтральные липиды и свободные жирные кислоты элюировали смесью петролейный эфир (т. кип. 40—60°) — диэтиловый эфир (1:1), стерины, ди-, моноглицериды и фосфолипиды хлороформом [4].

Результаты исследований

Ранее нами изучена динамика накопления липидов в мицелии изучаемых культур актиномицетов [5]. Дальнейшие исследования проводились по изучению состава липидов мицелия данных организмов.

Данные табл. 1 показывают, что изучаемые штаммы отличаются по способности накапливать в мицелии липиды. Наиболее интенсивно этот процесс происходит у *Act. antibioticus* 10 при выращивании его как на синтетической, так и на комплексной средах.

Полученные данные по биосинтезу липидов *Act. griseus* 15 еще раз подтверждают положение о том, что накопление липидов в мицелии данной культурой не зависит от антибиотической активности культуральной жидкости и накопления биомассы. Так, на среде № 6 антибиотическая активность составляет 27 ед/мл (по *Staph. aureus* 209), а на среде № 5 — 6000 ед/мл, в то же время содержание липидов в мицелии на среде № 6 почти в два раза больше, чем на среде № 5.

Накопление липидов в мицелии *Act. aureoverlicillatus* 1306 и *Act. aurigineus* 2377 не зависит от пигментообразования. Так, в мицелии штамма 1306 при выращивании его на среде I и XIII содержание пигмента* равно 0,4 и 0,02 мг/мл, в то время как липиды в нем составляют 10,6 и 31,3% соответственно. Аналогичная картина наблюдается и в культуре 2377. Видимо, указанные процессы проходят независимо друг от друга.

Липиды, выделенные из мицелия актиномицетов, были разделены на отдельные классы соединений при помощи препаративной хроматографии с закрепленным слоем силикагеля. Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что липиды изучаемых актиномицетов содержат следующие классы: эфиры стеринов и воска, триглицериды, свободные жирные кислоты, стерины, диглицериды, моноглицериды и фосфолипиды, а также обнаруживаются на хроматограмме четыре неидентифицированных класса.

Таблица 1

Состав липидов мицелия актиномицетов в зависимости от состава среды

Актиномицеты	Среда	Биомасса, % ^a	Общие липиды, % сухого веса	Отдельные классы соединений, % от общих липидов										
				эфиры стеринов и воска	триглицериды	нейдентифиц. № 4	нейдентифиц. № 3	свободные жирные кислоты	стерины	диглицериды	нейдентифиц. № 2	нейдентифиц. № 1		
<i>Act. griseus</i> 15	№ 1	4,5	4,5	16,1	28,4	—*	4,2	2,6	8,0	2,1	—	9,0	6,6	6,2
	1	14,7	12,7	3,8	72,8	—	3,8	4,9	4,1	3,4	—	0,6	6,5	6,5
	№ 5	9,0	4,6	11,9	32,2	—	6,0	8,9	11,3	7,9	—	3,5	11,8	11,8
	№ 6	9,3	8,7	9,0	48,3	—	2,4	5,7	7,0	10,7	—	—	6,5	6,5
<i>Act. aurigineus</i> 2377	№ 1	3,1	8,9	13,0	56,0	—	0,6	3,0	13,0	10,0	—	—	1,8	3,0
	1	22,2	8,5	18,5	42,0	—	0,8	1,9	7,0	3,8	—	13,5	9,4	3,4
	IV	6,9	4,2	20,2	47,8	—	1,3	5,0	9,4	4,7	—	3,0	6,0	1,9
<i>Act. aureoverlicillatus</i> 1306	№ 1	4,4	6,5	12,4	19,3	—	10,3	7,6	7,8	14,2	—	6,0	9,1	5,2
	1	16,3	10,6	14,4	43,2	5,1	3,9	4,2	5,6	4,1	—	—	5,0	4,6
	XIII	10,6	31,3	66,9	10,8	1,8	0,9	4,1	4,2	2,5	0,8	1,0	3,4	2,0
<i>Act. antibioticus</i> 10	№ 1	5,1	10,5	21,5	15,8	—	3,2	6,3	10,4	5,1	—	3,2	6,2	6,6
	1	16,9	22,8	8,0	61,8	—	3,9	2,9	5,7	8,7	—	—	2,7	5,2
	IV	6,0	29,3	22,3	38,8	5,7	2,4	3,2	5,0	4,4	1,2	3,7	2,0	1,2

* Пигмент определяли в ацетоновой вытяжке в пересчете на фуксин.

^a) Класс отсутствует.

Необходимо отметить, что изучаемые штаммы актиномицетов отличаются по наличию отдельных классов соединений и их количественному содержанию в составе общих липидов мицелия. Причем состав питательной среды значительно влияет на изменение количественного соотношения отдельных классов в пределах каждой культуры (табл. 1).

При разделении общих липидов мицелия *Act. griseus* 15, выращенного на среде I, № 5, № 6, в использованных системах растворителей не было достигнуто четкого разделения фракций моноглицеридов и фосфолипидов, поэтому количество их в табл. 1 приводится суммарно.

Как видно из данных табл. 1, наибольший процент от общих липидов в мицелии *Act. griseus* 15 при выращивании на среде № 5 составляют классы свободных жирных кислот, стеринов, а также неидентифицированной фракции № 3 и суммы моноглицеридов и фосфолипидов. Высокое содержание триглицеридов наблюдается на среде I, а эфиры стеринов и воска преобладают на среде № 1.

В общей сумме липидов мицелия *Act. aurigineus* 2377 значительный процент составляют стерины, ди- и триглицериды при культивировании на среде № 1; моноглицериды, фосфолипиды и класс № 1 — на среде I. Классы свободных жирных кислот, фракции № 3 и эфиры стеринов и воска преобладают при выращивании культуры на среде № 1.

Наибольшее содержание классов № 1 и № 3, свободных жирных кислот, стеринов, диглицеридов и фосфолипидов в составе липидов мицелия *Act. aureoverticillatus* 1306 наблюдается при культивировании на среде № 1; триглицеридов и № 4 — на среде I, а эфиры стеринов и воска — на среде XIII.

В мицелии *Act. antibioticus* 10, выращенного на среде № 1, преобладающими являются свободные жирные кислоты, стерины, моноглицериды и фосфолипиды; на среде I — диглицериды и класс № 3, а на среде IV — эфиры стеринов и воска, триглицериды и фракции № 1 и № 2.

Сопоставляя полученные данные по содержанию отдельных классов соединений, можно сделать вывод, что преобладающей фракцией в общей сумме липидов мицелия изучаемых штаммов оказались триглицериды (72,8%). В значительных количествах присутствуют эфиры стеринов и воска (16,9%), диглицериды (14,2%), а также свободные стерины (13%). Наиболее сложный набор липидных фракций наблюдается в составе липидов мицелия *Act. aureoverticillatus* 1306 на сре-

Содержание стеринов в мицелии актиномицетов

Показатель	<i>Act. griseus</i> 15					
	№ 1	№ 1а	№ 16	1	№ 5	№ 6
Биомасса, г/л	4,5	3,2	3,6	14,7	9,0	9,3
Стерины, % от сухой биомассы	0,04	0,09	0,17	0,05	0,06	0,04
Стерины, г/л сухой биомассы	0,002	0,003	0,006	0,007	0,005	0,003

де XIII и *Act. antibioticus* 10 на среде IV, в которых присутствуют все 4 неидентифицированных класса.

Рассматривая накопление стеринов у изучаемых актиномицетов, можно отметить, что количественное содержание их тоже значительно колеблется в зависимости от вида микроорганизма и состава среды. Так, на синтетической среде № 1 культура 2377 синтезирует стеринов больше, чем все другие штаммы (13% от общих липидов). В пределах каждого актиномицета количественное содержание стеринов также изменяется.

С целью установления интенсивности биосинтеза свободных стеринов нами был проведен пересчет их содержания на единицу веса биомассы.

Как видно из данных табл. 2, продуктивность мицелия актиномицетов в отношении биосинтеза стеринов также подвергается изменениям в зависимости от состава питательной среды. Максимальная продуктивность мицелия в отношении образования стеринов наблюдается у *Act. antibioticus* 10 на комплексной (мучной) среде I.

Значительное накопление стеринов происходит в мицелии *Act. griseus* 15 при культивировании его на синтетической среде с незначительным содержанием в ней фосфорнокислого аммония (среда № 1 б).

На основании данных табл. 2 можно сделать вывод, что наиболее благоприятной средой, обеспечивающей высокий выход биомассы, а в результате этого и большое содержание стеринов в пересчете на 1 л нативной культуры для всех изучаемых штаммов, является мучная среда I.

Таким образом, изменением состава питательной среды можно регулировать процесс биосинтеза того или иного отдельного класса в пределах изучаемого вида. Эти данные могут быть использованы при селекции изучаемых штаммов, а также при объяснении процесса биосинтеза ими биологически активных веществ.

Выводы

1. В составе суммарных липидов мицелия *Act. griseus* 15, *Act. aureoverticillatus* 1306, *Act. aurigineus* 2377 и *Act. antibioticus* 10 установлено наличие эфиров стеринов и восков, триглицеридов, свободных жирных кислот, стеринов, диглицеридов, моноглицеридов, фосфолипидов и четыре неидентифицированных класса.

Таблица 2

в зависимости от состава питательной среды

	<i>Act. aurigineus</i> 2377			<i>Act. aureoverticillatus</i> 1306			<i>Act. antibioticus</i> 10		
	№ 1	I	IV	№ 1	I	XIII	№ 1	I	IV
	3,1	22,2	6,9	4,4	16,3	10,6	5,1	16,9	6,0
	0,02	0,01	0,01	0,01	0,013	0,02	0,05	0,08	0,04
	0,001	0,0013	0,001	0,0002	0,002	0,002	0,002	0,014	0,02

2. Пребладающими классами в составе липидов изучаемых культур оказались триглицериды (72,8%), эфиры стеринов и воска (16,9%), диглицериды (14,2%) и свободные стерины (13%).

3. Число отдельных классов и их количественное содержание зависит от состава питательной среды, условий культивирования и видовой принадлежности.

Благоприятной средой, обеспечивающей высокое накопление стеринов в мицелии, оказалась мучная среда I.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Воронкова В. В. Докл. АН СССР, 141, 1, 84, 1961.
2. Губарев Е. М. Основные процессы обмена веществ у микробов. М., 1961.
3. Гулий М. Ф. Об участии липидов в синтезе белка. Биосинтез белка. Киев, 139, 1963.
4. Дедюхина Э. Г., Бехтерева М. Н. Микробиология, 37, 2, 245, 1968.
5. Ковальчук Л. П., Гаркавенко А. И., Савченко Л. Ф., Духовная А. М. Изв. АН МССР, сер. биол. и хим. наук, № 5, 3, 1968.
6. Лурье А. М., Алиханян С. И. Антибиотики, 8, 4, 298, 1963.
7. Abdulla Y. H. a. Davison A. N. Biochem. J., 93, 3, 51, 1965.
8. Folch J., Lees M. a. Stanley G. J. Biol. Chem., 226, 497, 1957.
9. Kennedy E. P. Ann. Rev. Biochem., 26, 119, 1957.

В. И. САБЕЛЬНИКОВА, А. С. ЖИЖИНА, М. М. ВОЛОСКОВА

ВЛИЯНИЕ РОСТОВЫХ ВЕЩЕСТВ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ БОБОВЫХ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Положительное действие клубеньковых бактерий на бобовое растение начинается с инокуляции, которая приводит к инфицированию и образованию клубеньков.

В настоящее время установлено, что клубеньковые бактерии проникают в клетки корня бобового растения в основном через корневые волоски. Показателем инфицирования является закручивание корневого волоска [6, 8, 9, 10, 11, 12].

Какие же вещества способствуют осуществлению этого процесса?

Ряд авторов [6, 8, 9] считают, что корневые волоски изгибаются под влиянием β -индолилуксусной кислоты (β -ИУК), которая образуется под воздействием клубеньковых бактерий из триптофана, выделяемого корнями бобовых растений.

Тагиев [2] показал, что β -ИУК в дозе 0,0005% усиливает не только рост и развитие бобового растения, но и способствует активному образованию клубеньков, в то время как β -ИУК в концентрациях ниже и выше 0,0005% подавляет инфицирование.

Хаак [7] поставила под сомнение ведущую роль β -ИУК в процессе искривления корневого волоска, основываясь на ее неспецифичности и способности вызывать подобное явление у многих других видов растений.

Другие авторы предполагают, что изгибание корневых волосков происходит под влиянием фермента полигалактуроназы [13], которая образуется во внеклеточной слизи полисахаридной природы, выделяемой клубеньковыми бактериями. Чайлахян с сотрудниками [3, 4] ус-

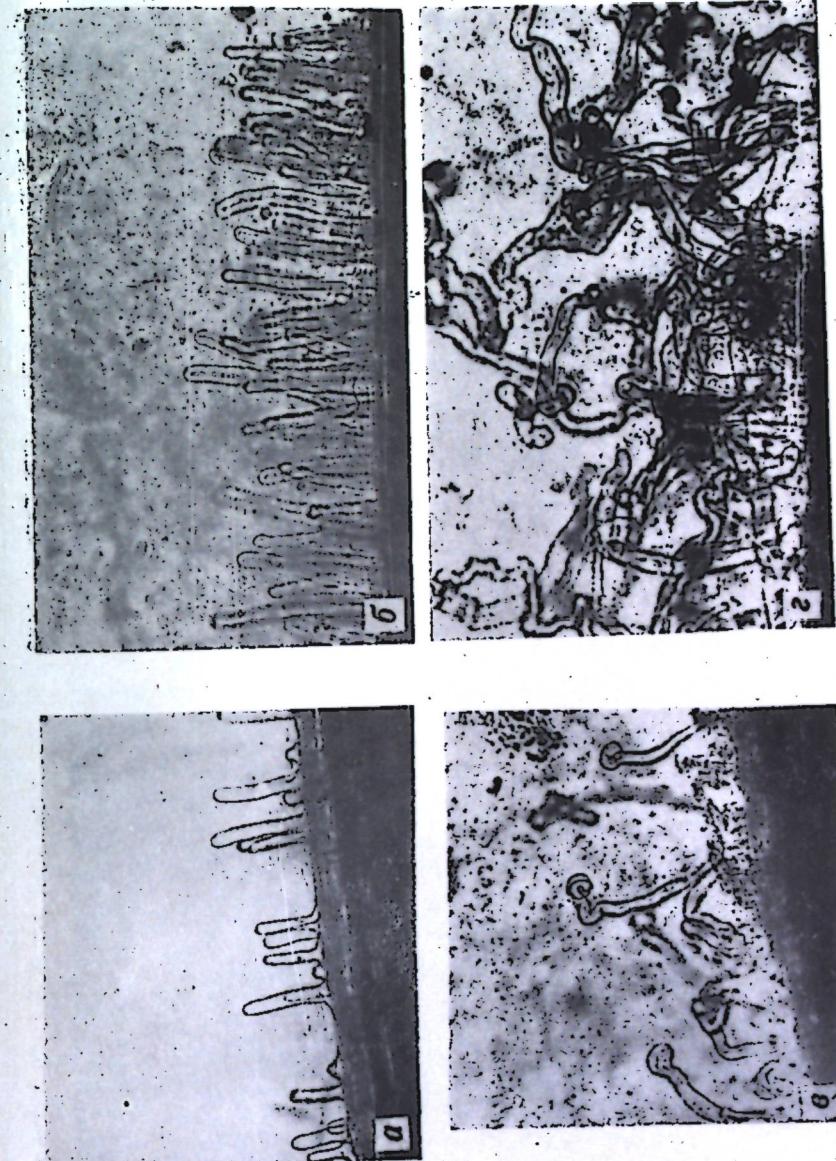


Рис. 1. Влияние ростовых веществ на инфицирование корневых волосков. Без бактериализации; а — контроль, б — кинетин (1:10000); с — бактериализацией; д — кинетин (1:10000). С бактериализацией: а — контроль, б — кинетин (1:10000).

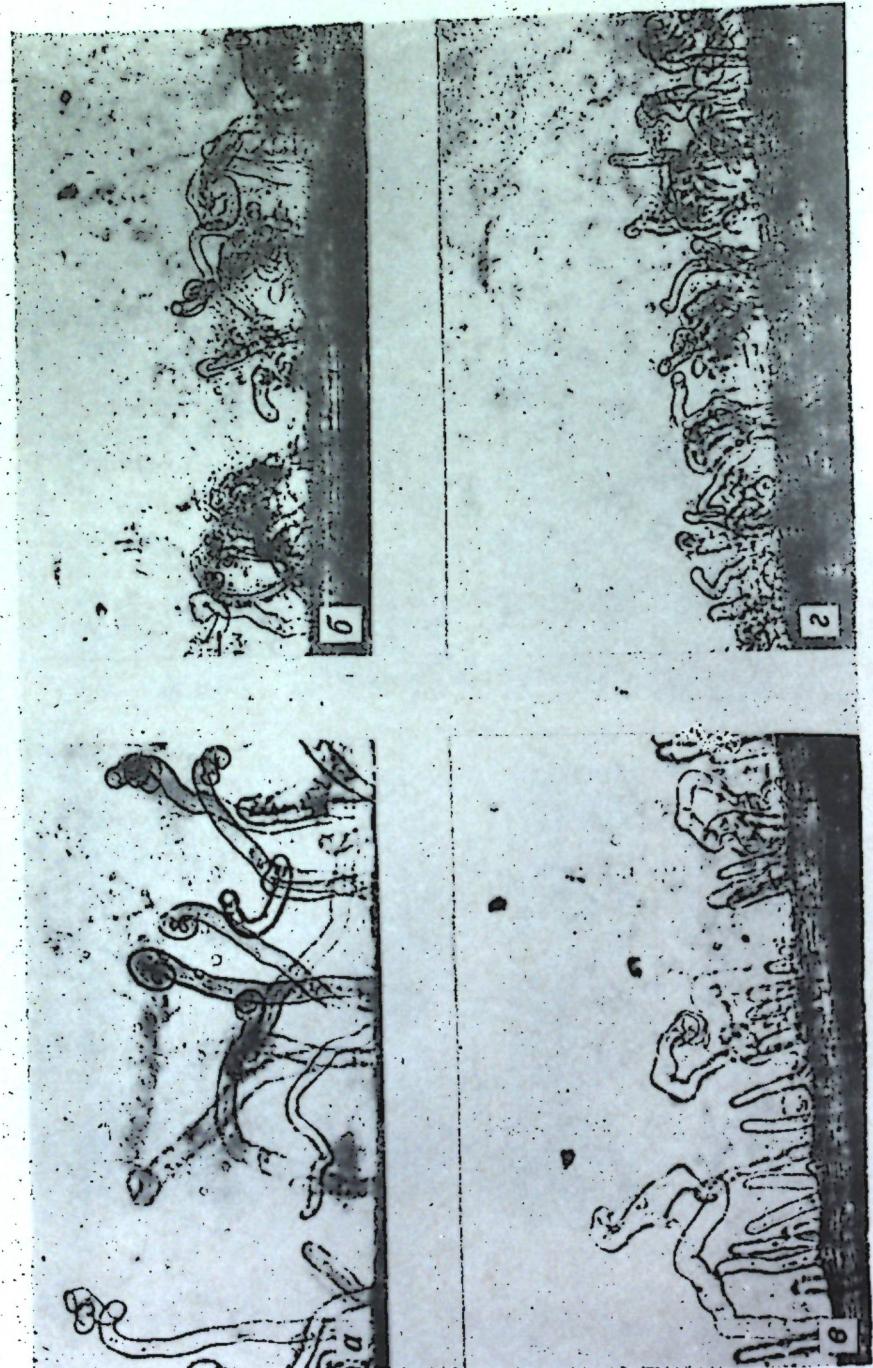


Рис. 2. С бактериацией: а — β -индолилуксусная кислота (1:100000), б, в, г — вещества, экстрагированные из пятен хроматограмм экстрактов корней и клубеньков сои (соответственно — x, y, z)

становили положительное влияние гетероауксина на образование клубеньков у бобовых растений.

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что в настоящее время не ясно, какие вещества способствуют процессу инфицирования.

Цель настоящей работы — выяснить роль некоторых ростовых веществ в процессе инфицирования бобового растения клубеньковыми бактериями.

Испытывалось влияние кинетина, β -ИУК и трех неидентифицированных ростовых веществ, полученных при расхроматографировании [1] экстрактов из корней и клубеньков сои, на корневые волоски и на образование клубеньков. Опытное растение — люцерна. Использовали метод Фореуса [6] в модификации В. К. Шильниковой и М. М. Нестеровой [5]. Варианты опыта приведены в таблице.

Неидентифицированные ростовые вещества были получены из пятен хроматограммы (обозначены индексами x — $R_f=0,20-0,24$; y — $R_f=0,45-0,50$; z — $R_f=0,30-0,40$), экстрагированных 1 мм цитратнофосфатного буфера ($pH\ 7,0$) в течение 17 часов при $22-23^{\circ}\text{C}$. Для посева использовали наклонувшиеся семена, бактеризованные клубеньковыми бактериями люцерны (двухсуточная культура, штамм 431) и обработанные ростовыми веществами в течение двух часов. Наблюдения за растениями вели в течение месяца. На 10-е и 20-е сутки проводили микроскопирование корневых волосков на МБИ-6.

Кинетин, β -ИУК, ростовые вещества, элюированные из пятен x и z , оказали положительное влияние на рост и развитие надземной массы и корневой системы растения, в том числе корневых волосков, а также на степень инфицирования и образование клубеньков (см. таблицу). К 20-му дню опытные растения превышали контрольные по высоте надземной массы в 1,5—2 раза, корневая система их была более мощной. В некоторых случаях отмечалось увеличение размеров листовой пластинки (пятно z). Количество клубеньков на 20-е сутки было в 12—16—24 раза больше, чем в контроле.

Влияние вышеуказанных веществ на корневые волоски было своеобразно (рис. 1 и 2). К 20-му дню в вариантах с β -ИУК и кинетином

Влияние ростовых веществ на образование клубеньков на корнях люцерны (шт.)

Время учета	Контроль	Кинетин			β -ИУК			x	y	z
		1:1000	1:10000	1:100000	1:1000	1:10000	1:100000			
На 10-е сутки (6 растений)	1	4	7	9	1	5	2	8	16	0
На 20-е сутки (3 растения)	1	6	24	12	2	8	21	11	21	2

корневые волоски были толще, превосходили по длине контроль в 2–4 раза. В варианте с кинетином, кроме того, они отличались густотой. В варианте с пятном z число и густота корневых волосков значительно увеличились, но по длине они почти не отличались от контроля.

Кинетин оказал наибольшее положительное влияние как на развитие всего растения, так и на инфицирование. Это действие стало проявляться с первых дней развития растения (на вторые сутки). На 20-й день преимущества этого варианта сохранились. Клубеньков образовалось наибольшее количество (24 шт.) и они выделялись большими размерами. Наилучшее действие наблюдалось при концентрации 1 : 10000.

β -ИУК оказала также положительное влияние на все вышеуказанные показатели, которые на 20-е сутки значительно отличались от контроля. Но отмечалось и своеобразие в действии этого вещества: на ранних этапах угнетался рост растения, инфицирование было слабым, затем эти процессы активизировались.

На 20-е сутки проявилось резкое стимулирующее действие β -ИУК (особенно в разведении 1 : 100000) и в дальнейшем достигло варианта с кинетином.

Ростовые вещества, элюированные из пятен z и x , также положительно влияют на развитие растений и их инфицирование (см. таблицу и рисунок). Среди них вещество из пятна z по своему воздействию на растение равно кинетину, а на ранних этапах (10 дней) даже превосходит последний. В варианте с кинетином на 10-й день насчитывалось 9 клубеньков, а в варианте с пятном z их было 16.

Положительное влияние вышеуказанных ростовых веществ на инфицирование бобовых несомненно, зависит от их концентрации.

Ростовое вещество, элюированное из пятна y , отрицательно влияло как на рост самого растения, так и на его инфицирование.

Анализ полученных данных показывает, что β -ИУК и особенно кинетин, вещества из пятна z , а также x принимают активное участие в инфицировании бобового растения, оказывая положительное влияние на рост корневых волосков и образование клубеньков. В их присутствии процесс инфицирования происходит активнее и на более ранних стадиях роста и развития растения.

Интересно то, что клубеньки и корни самого бобового растения содержат неидентифицированные ростовые вещества, стимулирующие не только рост и развитие растения, но и способствующие его инфицированию.

Степень положительного воздействия ростовых веществ на бобовое растение зависит от их концентрации.

ЛИТЕРАТУРА

- Кефели В. И., Турецкая Р. Х. Методы определения регуляторов роста и гербицидов. 1966.
- Тагиев В. Д. Известия АН СССР, серия биол., вып. 2, 291–292, 1965.
- Чайлахян М. Х., Меграбян А. А., Карапетян Н. А., Каладжян Н. А. Доклады Академии наук АрмССР, XXXVI, № 3, 189–192, 1963.
- Чайлахян М. Х., Меграбян А. А., Карапетян Н. А., Каладжян Н. А. Известия АН АрмССР, биол. науки, XIV, № 12, 25–38, 1961.
- Шильникова В. К., Нестерова И. М. Известия АН СССР, сер. биол., № 3, 445–448, 1969.
- Fähraeus G. J. Gen. Microbiol., 16, N 2, 374–381, 1957.

- Haak A. Z. Bacteriol., Parasitenkunde, Infektionskrankh und Hyg., Abt. 2, 177, N 4, 343–366, 1964.
- Kefferd N. P., Brockwell J., Zward A. Austral. J. Biol. Sci., 13, N 4, 456–467, 1960.
- Nutman P. S. J. Exptl. Bot., 10, № 29, 250–263, 1959.
- Nutman P. S. Proc. Roy. Soc., 156, N 962, 122–137, 1962.
- Sahlman K., Fähraeus G. J. Gen. Microbiol., 33, N 3, 425–427, 1963.
- Sahlman K., Fähraeus G. Kgl. lantbruksgögskol. ann., 28, 261–266, 1963.
- Zjunggren H., Fähraeus. Nature, 184, N 4698, 1578–1579, 1959.

В. К. ЛИПАТОВА

К МЕТОДИКЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ L-ТИРОЗИН: 2-ОКСО-ГЛУТАРАТ-АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ

В метаболитных процессах живой клетки существенное значение имеют ферменты азотистого обмена, к числу которых принадлежат пиридоксалфосфатсодержащие протеиды. Последние годы внимание исследователей привлечено к изучению L-тироzin:2-оксо-глутарат-аминотрансферазной системы и показано распространение и роль этой системы в животном организме [2, 4, 5, 7, 9, 10].

Сенвененмагеневен [11, 12] исследована эта система у пекарских дрожжей и изучены ее свойства.

Изучение L-тироzin:2-оксо-глутарат-аминотрансферазной системы у винных дрожжей представляет значительный интерес для виноделия, так как образующаяся в результате реакции переаминирования пара-оксифенилпироноградная кислота при своих дальнейших превращениях образует высший спирт — тирозол, который принимает участие в сложении букета и аромата вин.

Литературных данных по этому вопросу нет. С целью изучения этого ферmenta у винных дрожжей нами была отработана методика его определения.

L-тироzin:2-оксо-глутарат-аминотрансфераза осуществляет реакцию обратимого переаминирования между L-тироzinом и α -кетоглютаровой кислотой с образованием пара-оксифенилпироноградной кислоты и L-глютаминовой кислоты.

Прицип метода. Определение активности ферmenta основано на определении скорости катализируемой им реакции. Реакция проводится в строго определенных условиях, а образующиеся продукты могут быть количественно учтены с помощью различных физико-химических методов.

Спектрофотометрическое определение основано на способности ароматических α -кето-кислот образовывать енол-боратные комплексы, которые обладают характерным спектром поглощения в области 300 мк [6].

Колориметрическое определение основано на способности пара-оксифенилпироноградной кислоты давать окрашенные комплексы с фосфомолибдатом аммония [1].

Подготовка образца к определению

Источником фермента служил клеточный экстракт дрожжей, который получали следующим образом: сухие дрожжи тщательно расстирали в фарфоровой ступке с кварцевым песком или стеклом и дистиллированной водой, добавляемой в количестве 3 мл на 1 г сухих дрожжей. Полученная гомогенная масса выдерживалась 3 часа при 37°, затем охлаждалась и центрифугировалась 20 мин при 7000—8000 об/мин. Надосадочная жидкость является клеточным экстрактом дрожжей. Так как полученный дрожжевой экстракт, кроме ферментов, содержит различные вещества, мешающие определению ферментов, в частности, амино- и кето-кислоты, то необходима предварительная очистка экстракта от низкомолекулярных соединений.

С этой целью используется метод гелевой фильтрации. Через колонку, заполненную сепадексом G-50 размером 25 см×2 пропускается 2—4 мл дрожжевого экстракта. Элюция проводится фосфатным буфером (1/15М, pH 7,5). Собирается до 35 фракций по 3 мл на автоматическом коллекторе. Для определения локализации высокомолекулярных соединений проводится спектрофотометрическое определение плотности полученных фракций при 280 мкм на спектрофотометре СФ-4 в кювете на 1 см.

Затем белоксодержащие фракции объединяются, и в полученным суммарном объеме определяется белок по методу Лоури [8]. Этот объем служит источником фермента, вносимого в определяемую систему.

Определение активности фермента

Для определения активности фермента использовалась система, описанная Сенвешенмагеневен [12] для дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. В связи с тем, что ферментативные реакции измеряются начальной скоростью, когда сохраняется линейная зависимость между концентрацией фермента и скоростью реакции, необходимо скорость реакции отрегулировать, что достигается количеством фермента, вносимым в определяемую систему, и проводится следующим образом: берется несколько инкубационных систем, в которых при всех прочих равных условиях, меняется количество фермента, вносимого в систему. Определяется количество образующейся пара-оксифенилпировиноградной кислоты и по полученным данным строится кривая хода ферментативной реакции. Прямолинейный участок характеризует начальную скорость реакции. Количество фермента, которое в дальнейшем вносится в определяемую систему, берется в пределах этого участка кривой и характеризуется мг белка в пробе.

Для условий, описываемых нами, эта система включает: раствор фермента (0,06 мг белка), пиродоксальфосфат (0,04 мкмоль), α-кетоглутарат (10 мкмоль), глутатион (1 мкмоль) или β-меркаптоэтанол (10^{-3} мкмоль) в фосфатном буфере 1/15М, pH 7,5. Общий объем пробы 3 мл.

Смесь инкубируется 10 мин перед добавкой L-тирофина (5 мкмоль), и инкубация продолжается 30 мин при 37°.

В конце инкубационного периода добавляется 0,2 мл 40% ТХУ и после 3-минутного нагрева на кипящей водяной бане денатурированный белок удаляется центрифугированием. В надосадочной жидкости

определяется пара-оксифенилпировиноградная кислота по методу Бригса [1] в модификации Канеллакиса и Коэна [3], приспособленному к нашим условиям определения и состоящим в следующем: к депротинизированной реакционной смеси добавляется 2 мл смеси «реагента», которая готовится непосредственно перед употреблением из равных объемов 3%-ного молибдата аммония $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в 5н. HCl и 1%-ного водного KH_2PO_4 . Экстинкция окрашенного раствора, полученного смешением пара-оксифенилпировиноградной кислоты со смесью фосфомolibдата аммония, определяется через 1 час на ФЭКН-54 со светофильтром № 8 в кювете 0,5 см ($\lambda=656$ мкм).

В качестве контроля служат две пробы, содержащие все компоненты определяемой системы, кроме аминокислоты, в одном варианте или кетокислоты — в другом. В контрольных образцах окрашенного комплекса не должно образовываться.

Дальнейший расчет образовавшейся пара-оксифенилпировиноградной кислоты производится по калибровочному графику, постребенному со стандартными растворами пара-оксифенилпировиноградной кислоты.

За единицу активности фермента принимается количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль пара-оксифенилпировиноградной кислоты в течение 30 мин при 37° в стандартных условиях инкубации.

За удельную активность принимается количество единиц на мг белка.

Построение калибровочной кривой

2,25 мг пара-оксифенилпировиноградной кислоты или 2,55 мг пара-оксифенилпирувата растворяют в 25 мл дистиллированной воды. 1 мл такого раствора содержит 0,5 мкмоль пара-оксифенилпировиноградной кислоты. Готовится ряд стандартных образцов с содержанием 0,4; 0,3; 0,2 и 0,1 мкмоль пара-оксифенилпировиноградной кислоты. К полученному ряду образцов добавляется 2 мл цветного «реагента».

Через час замеряется экстинкция полученных окрашенных комплексов на ФЭКН-54 со свет. № 8 в кювете 0,5 см и строится кривая зависимости оптической плотности и количества пара-оксифенилпировиноградной кислоты.

Линейная зависимость между концентрацией и интенсивностью окраски получается до 0,55 мкмоль пара-оксифенилпировиноградной кислоты.

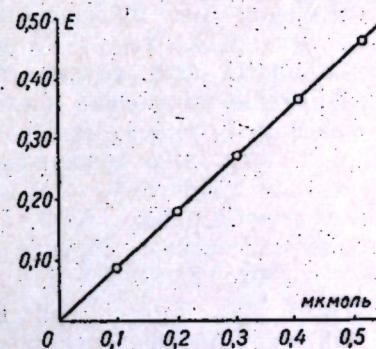


График зависимости оптической плотности к количеству пара-оксифенилпировиноградной кислоты

Пример расчета

Допустим, что экстинкция окрашенного комплекса равна 0,13, что соответствует по графику 0,14 ед. Для выражения результатов в еди-

цицах удельной активности полученное число делим на количество мг белка в пробе, т. е. на 0,06. Получаем удельную активность фермента 2,3 ед/мг белка (см. рисунок).

ЛИТЕРАТУРА

1. Briggs A. P. J. Biol. Chem., 51, 453, 1922.
2. Cammarata P. S. and Cohen P. P. J. Biol. Chem., 45, 193, 1951.
3. Canellakis Z. N., Cohen P. P. J. Biol. Chem., 222, 53, 63, 1956.
4. Hird F. J. R., Rowsell E. V. Nature, Zond., 166, 517, 1950.
5. Holten D., Wicks W. D. and Kenney F. T. J. Biol. Chem., 242, N 5, 1053—1054, 1967.
6. Knox W. E. and Pitt B. M. J. Biol. Chem., 225, 675, 1957.
7. Kenney F. T. J. Biol. Chem., 234, 2707, 1959.
8. Zowry H. O., Rosebroug T. N., Farri G. A., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
9. Rosen F. and Richard J. Milholland J. Biol. Chem., 238, 11, 1963.
10. Rowsell E. V. Biochem. J., 64, 326, 1956.
11. Sentheshanmuganathan S. and Elsden S. R. Biochem. J., 69, 210, 1958.
12. Sentheshanmuganathan S. Biochem. J., 77, 619, 1960.

Н. В. СЕРГЕЕВА, Г. А. БРУНЬ, И. В. ДРОЗДОВА, А. Ф. СЕРЕДИНСКАЯ

ВЛИЯНИЕ ФОСФОРА НА АДЕНОЗИНТИФОСФАТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ И ДЫХАНИЕ КЛУБЕНЬКОВ

Исследования, проведенные в последние годы, показали, что бесклеточные препараты из *Cl. pasteurianum* и *Az. vinelandii* фиксируют молекулярный азот только при наличии в реакционной смеси АТФ или АДФ генерирующей системы [7, 8, 9]. Зависимость между АТФ и фиксацией молекулярного азота бактериями вызывает необходимость изучения механизма трансформации энергии макроэргических связей. Поэтому особый интерес представляет фермент, способный гидролизовать АТФ. Установлено, что АТФ-аза встречается в цитоплазматических структурных образованиях животных и растительных клеток [1, 2, 3, 4, 5, 6, 10].

Нами проводилось сравнительное изучение активности АТФ-азы в клубеньках бобовых растений, которое позволило выявить ряд общих закономерностей и некоторые видовые особенности [5].

Задачей настоящей работы было изучение действия фосфора на активность АТФ-азы и интенсивность дыхания клубеньков.

Методика

С целью изучения действия фосфора на активность АТФ-азы и дыхания был заложен вегетационный опыт в сосудах Вагнера емкостью 6 кг серой лесной почвы. Опытным растением была соя сорта Бельцкая 306. Для испытания различных доз фосфорного удобрения в почву вносили CaHPO_4 из расчета на сосуд 0,5; 1,0; 2,0 P_2O_5 . Инокуляцию семян проводили за сутки до посева клубеньковыми бакте-

риями штамма 631 (полученный из Ленинградского Института сельскохозяйственной микробиологии). Затем засевали в сосуд по 10 штук, после всходов производили прореживание и оставляли по 6 растений в сосуде. Влажность в почве поддерживали 60—70% от полной влагоемкости. Повторность вариантов в опыте четырехкратная. Растительный материал отбирали для анализов в период массового цветения. В опыте учитывали сухой вес растений, общий азот и фосфор, активность АТФ-азы методом Поглазова. Дыхание определяли в аппарате Варбурга при температуре 30°C в течение одного часа. Повторность анализа трехкратная.

Результаты

Благоприятный режим фосфорного питания бобового растения способствует значительному повышению продуктивности клубеньковых бактерий и увеличению урожая бобового растения. Но, обладая довольно высокой общей потребностью в фосфоре, клубеньковые бакте-

Таблица 1
Влияние различных доз фосфора на накопление сухого веса,
содержание общего азота, фосфора и активность АТФ-азы
растений сои

Дозы фосфора (P_2O_5 , г на сосуд)	Сухой вес 6 расте- ний, г	N, %			P_2O_5 , %			АТФ-аза (Риогр, мг на 12 сырой массы за 5 мин)			
		листья	корни	клу- бень- ки	листья	корни	клу- бень- ки	листья	молодые старые	корни	клу- бень- ки
Контроль	32,2	3,76	2,22	4,62	0,61	0,65	1,32	7,2	3,0	1,5	2,1
0,5	40,0	3,36	2,52	5,60	0,75	0,62	1,32	6,4	3,8	1,3	1,5
1,0	44,6	4,52	2,52	7,2	0,75	1,1	1,4	3,7	0,82	1,9	1,5
2,0	41,3	4,76	2,52	8,0	0,92	1,7	1,6	6,2	2,5	1,8	1,9

рии весьма чувствительны к дозировкам фосфатов и к их формам.

Так, результаты опыта с соей показали, что различные дозы фосфора неодинаково влияют на развитие бобового растения и клубеньков (табл. 1). Из данных таблицы видно, что внесение фосфорного удобрения положительно действует до определенного предела, а затем наблюдается угнетение роста растений.

Так, в варианте с двойной дозой фосфора накопление сухих веществ растением снижается по сравнению с одной нормой фосфора. Тем не менее с увеличением содержания фосфора в почве количество общего азота и фосфора в листьях возрастает (табл. 1). Повышается содержание фосфора и особенно азота в клубеньках. Эти данные свидетельствуют о положительном влиянии фосфора на азотфиксирующую активность клубеньков.

Таблица 2

Интенсивность дыхания листьев и
клубеньков сои при разных
нормах фосфорного питания (мкл
 O_2 на 1 г сырого веса)

Варианты	Моло- дые листья	Старые листья	Клу- беньки
Контроль . . .	1143,0	744,8	625,5
0,5 нормы . . .	1062,2	694,3	365,6
1 норма . . .	993,8	613,4	313,0
2 нормы . . .	954,2	710,4	400,0

Активность АТФ-азы и интенсивность дыхания снижается в различных органах растений с увеличением их сухого веса (доза фосфора 0,5; 1,0 г на сосуд). При норме 2,0 г Р₂O₅ на сосуд рост растений несколько замедляется, в то же время гидролитическая активность АТФ-азы и интенсивность дыхания усиливаются. Разные нормы фосфора оказали особенно сильное влияние на активность АТФ-азы и интенсивность дыхания верхних растущих листьев, где активно протекают синтетические процессы (табл. 1 и 2).

Дыхание и гидролитическая активность АТФ-азы нижних листьев изменяются в такой же закономерности и зависимости от доз фосфора, как и в верхних листьях, только в несколько меньшей степени.

Таким образом, между ферментом АТФ-азой и дыханием бобового растения наблюдается определенная сопряженность и активность их в значительной степени зависит от уровня фосфорного питания.

ЛИТЕРАТУРА

- Кретович В. Л., Любимов В. И. Природа, № 9, 1964.
- Рэkker Э. Биоэнергетические механизмы, М., 1967.
- Райцина А. С., Вечер Г. И. Доклады АН БССР, II, № 6, 1965.
- Сисакян Н. М., Кобякова Е. Б., Филиппов И. И. Биохимия, 28, вып. 6, 1963.
- Сергеева Н. В., Брунь Г. А., Дроздова И. В. Известия АН МССР, серия биол. и хим. наук, № 2, 1971.
- Хемп Р. С. Биохимия цитоплазмы, М., 1960.
- J. E. Mc. Nary, Burris R. 2J. Bacteriol., 84, 3, 588, 1962.
- M. Aron. J. Biol. Chem., 240, 1962.
- R. N. F. Hardy, D'Eustachio A. J. Biochem and Biophys Res Commun., 15, 4, 314—318, 1964.
- Mortenson. Proc. Nat. Acad. Sci USA, 52, 272—278, 1964.

ГИДРОБИОЛОГИЯ

Т. А. ПЕТКЕВИЧ, Г. М. СТЕПАНОВА

МИКРОЭЛЕМЕНТЫ У ПРЕСНОВОДНЫХ МИЗИД И АМФИПОД

Многочисленные физиологические исследования свидетельствуют об огромной роли микроэлементов в целом ряде жизненно важных физиологических процессов — росте и развитии, размножении, образовании костной ткани, кроветворении и тканевом дыхании и т. д., несмотря на их чрезвычайно малые дозы в структуре биологически высокоактивных веществ — ферментов, гормонов, витаминов. Полное отсутствие биологически важных микроэлементов отрицательно сказывается на развитии живых организмов и может привести даже к их гибели.

Согласно основным положениям биогеохимии, разработанными В. И. Вернадским [1] и А. П. Виноградовым [2], большинство химических элементов, содержащихся в земной коре, находится и в тканях живых организмов. Водные организмы принимают активное участие в биогенной миграции многих химических элементов, в том числе и микроэлементов.

Изучению химического элементарного состава морских организмов, а также вопросам применения учения о биогеохимических провинциях океанов и морей посвящены многие работы З. А. Виноградовой с сотрудниками [3—7]. Сведений же о содержании микроэлементов у пресноводных организмов очень мало.

Нами исследовано содержание микроэлементов у пяти видов пресноводных амфипод и мизид Дубоссарского водохранилища и Кучурганского лимана методом эмиссионного спектрального анализа на кварцевом спектрографе ИСП-28. При расшифровке спектральных линий пользовались ДСП-1 и микрофотометром МФ-2 [6]. Расчеты производили на золу.

Из амфипод были исследованы *Chaetogammarus ischnus*, *Dikerogammarus haemobaphes* и *Pontogammarus robustoides*, а из мизид — *Limnomyces benedeni* и *Paramysis lacustris*. Для сравнения *Limnomyces benedeni* был отобран из Кучурганского лимана и *Paramysis lacustris* из Устья Дона.

Во всех пробах мизид были обнаружены Cu, Mn, Fe, Al, Ba, Zn, U, Ag, Ti, Ni, Li, Cr, Cd, Mo. Свинец и олово выявлены у *P. lacustris* из Устья Дона, свинец у *Limnomyces benedeni* из Кучурганского лимана, у последней не найдено серебра.

Количественное содержание Cu — важнейшего биоэлемента, входящего в состав гемоглобина — основного дыхательного фермента ракообразных, во всех исследованных организмах мизид находится в одних пределах (0,028—0,035% на золу).

Содержание Mn у *Limnomyces benedeni* из Кучурганского лимана и Дубоссарского водохранилища одинаково (0,125—0,120% в золе). Количество Mn у *P. lacustris* из Дубоссарского водохранилища и Устья

Дона соответственно равно 0,020 и 0,060% на золу. У *L. benedeni* из Дубоссарского водохранилища количество Mn в 6 раз выше, чем у *Paramysis lacustris* из этого водоема. Как известно, Mn является важнейшим биоэлементом, оказывающим влияние на половое развитие и процессы размножения. Вероятно, наблюдаемые количественные различия в содержании Mn являются следствием различного физиологического состояния организма, а также видовой специфики.

Содержание микроэлементов в пробах пресноводных мизид и амфиопод (в % на золу)

Микроэлементы	<i>Paramysis lacustris</i>		<i>Limnomyysis benedeni</i>		<i>Chaetogammarus ischnus</i>	<i>Dikerogammarus haemobaphis</i>	<i>Pontogammarus robustoides</i>
	Дубоссарское и-ще 18. V 1968 г.	Устье Дона 25. VII	Кучурганский лиман 23. IV	Дубоссарское и-ще 14. VII	Дубоссарское водохранилище 22. V	Дубоссарское водохранилище 18. V	Кучурганский лиман 23. IV
Cu	0,030	0,028	0,035	0,035	0,035	0,013	0,030
Mn	0,020	0,060	0,120	0,125	0,100	0,080	0,120
Fe	0,260	0,1	0,100	0,060	0,160	0,160	0,180
Al	0,120	0,10	0,160	0,150	0,150	0,05	0,150
Zn	0,04	0,10	0,050	0,080	0,04	0,1	0,100
PI	0	0,002	0,004	0	0	0	0
In	0	следы	0	0	0	0	0
Ba	0,180	0,260	0,0300	0,110	0,20-0	0,20	0,10
V	0,0018	0,0026	0,0015	0,0022	0,0028	0,0034	0,0030
Ag	0,0004	0,0005	0	0,0004	0	0	0
Ti	0,030	0,010	0,002	0,002	0,006	0,033	0,005
Ni	0,0027	0,0026	0,0026	0,0024	0,0031	0,0029	0,0027
Li	0,009	0,01	следы	0	следы	следы	0,01
Cr	0,0035	0,0036	0,038	0,0034	0,0045	0,0045	0,0040
Cd	0,020	0,01	0,009	0,009	0,010	0,01	0,01
Mo	следы	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Ga	следы	следы	следы	0	следы	0	0

Количественное содержание остальных микроэлементов у *Limnomyysis benedeni* из Кучурганского лимана и Дубоссарского водохранилища, так же как и у *Paramysis lacustris* из Дубоссарского водохранилища и устья Дона, сходно в основном, за исключением железа, количества которого у мизид из Дона ниже.

Содержание микроэлементов в морских видах *Mysis microphthalmata* и *Paramysis loxolepis* [6, 7] и исследованных нами пресноводных видах — идентично.

У обеих групп ракообразных не обнаружены висмут, сурьма, кобальт, цирконий. Однако различие экологических условий, очевидно, имеет значение и сказывается в большем содержании стронция и бария у морских видов и меньшем — молибдена и лития, чем у пресноводных.

Содержание цинка, свинца, олова, серебра и алюминия меньше у *L. benedeni* и *P. lacustris*, чем у мизид из Каспийского моря.

У исследованных нами трех видов амфиопод обнаружены Cu, Mn, Fe, Al, Zn, Ba, V, Ti, Ni, Li, Cr, Cd, Mo, Ga. Свинец, олово и серебро, найденные у мизид, у амфиопод не обнаружены.

Содержание вышеперечисленных микроэлементов у исследованных нами амфиопод в основном одинаково, за исключением меди и алюминия у *Dikerogammarus haemobaphis*, содержание которых в 2,5—3 раза ниже, чем у *Chaetogammarus ischnus* и *Pontogammarus robustoides*. Сходство в количественном содержании микроэлементов между

ближкими видами отдельных групп отмечают З. А. Виноградова и Т. А. Петкевич [6] для двух видов *Copepoda*. Исключение составляют медь, марганец, железо, которые подвержены наибольшей вариабельности, что характерно и для исследованных нами пресноводных мизид и амфиопод.

В заключение можно сказать, что исследованные виды пресноводных мизид и амфиопод концентрируют в большом количестве Mn, Al, Fe, Cu, Zn, а также и другие микроэлементы, содержание которых изменяется в зависимости от видовой специфики и экологических условий их обитания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вернадский В. И. Биогеохимические очерки. М., 1940.
2. Виноградов А. П. Докл. АН СССР, 18, № 4—5, 1938.
3. Виноградова З. А. Океанология, 4, 2, 1964.
4. Виноградова З. А. Гидробиологический ж., 1, 4, 1965.
5. Виноградова З. А. Петкевич Т. А. Тезисы докл. I республиканской конференции «Микроэлементы в медицине». Ивано-Франковск, 1965.
6. Виноградова З. А., Петкевич Т. А. Сб.: Биохимия морских организмов, «Наукова думка», 1967.
7. Петкевич Т. А. Биол. проблемы океанографии южных морей. 1969.

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ

Г. М. БАБЭРЭ

ГИСТОСТРУКТУРА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС ПРИ ИММУНИЗАЦИИ

В настоящее время общепринято, что в этиопатогенезе нарушений функций щитовидной железы значительное место принадлежит инфекциям. Так, М. А. Копелович [5], Н. М. Дразин [3], И. Б. Хавин и О. В. Николаев [8] считают, что причиной диффузного токсического зоба в 12—17% случаев является инфекция. Б. В. Петровский и В. С. Семенов [6] выявили несколько меньшую частоту (всего 5,5%). Диффузный токсический зоб часто наблюдается при остром суставном ревматизме, ангине, тифе, скарлатине, туберкулезе, гриппе и др. У лиц, умерших от оспы, дифтерии, скарлатины, тифа наблюдается увеличение и уплотнение щитовидной железы, уменьшение количества коллоида, гиперплазия фолликулярного эпителия, скопление лейкоцитов в интерстициальной ткани и др.

Однако как клинические данные о влиянии инфекции на функцию щитовидной железы, так и экспериментальные данные на животных весьма противоречивы. Известно, что легочная инфекция [13], вакцина брюшного тифа [1], дифтерийный токсин [12], сенсибилизация организма бруцеллезным антигеном [9] вызывают понижение функции щитовидной железы, в то время как при экспериментальном ревматическом процессе выявлены характерные признаки повышения ее функции [2, 4, 7].

До сих пор не установлено, является ли инфекция непосредственной причиной нарушений функций щитовидной железы или это два различных процесса, совпадающих во времени. Исследованиями показано, что различные по своей природе инфекционные агенты, кроме специфических реакций — лихорадка, аллергия и иммунитет, вызывают общую неспецифическую реакцию организма — стресс. Вот почему трудно в условиях естественного инфекционного процесса установить, какие изменения в структуре и функции щитовидной железы определяются той или иной реакцией организма, вызванной инфекцией. Без знания этих вопросов невозможно выяснить механизм возникновения расстройств функции щитовидной железы на почве инфекции. Вместе с тем успехи, достигнутые в выявлении химической природы различных бактериальных препаратов и механизма их действия на организм, позволяют дифференцированно изучать влияние специфических реакций организма — лихорадки, аллергии, иммунизации — на функцию и структуру щитовидной железы.

Целью настоящей работы было изучение гистоструктуры щитовидной железы при различных сроках иммунизации организма.

Опыты проводили на целинейных белых крысах (самцах) весом 180—200 г. Животных содержали на обычном рационе при температуре 18—20°C и нормальном освещении.

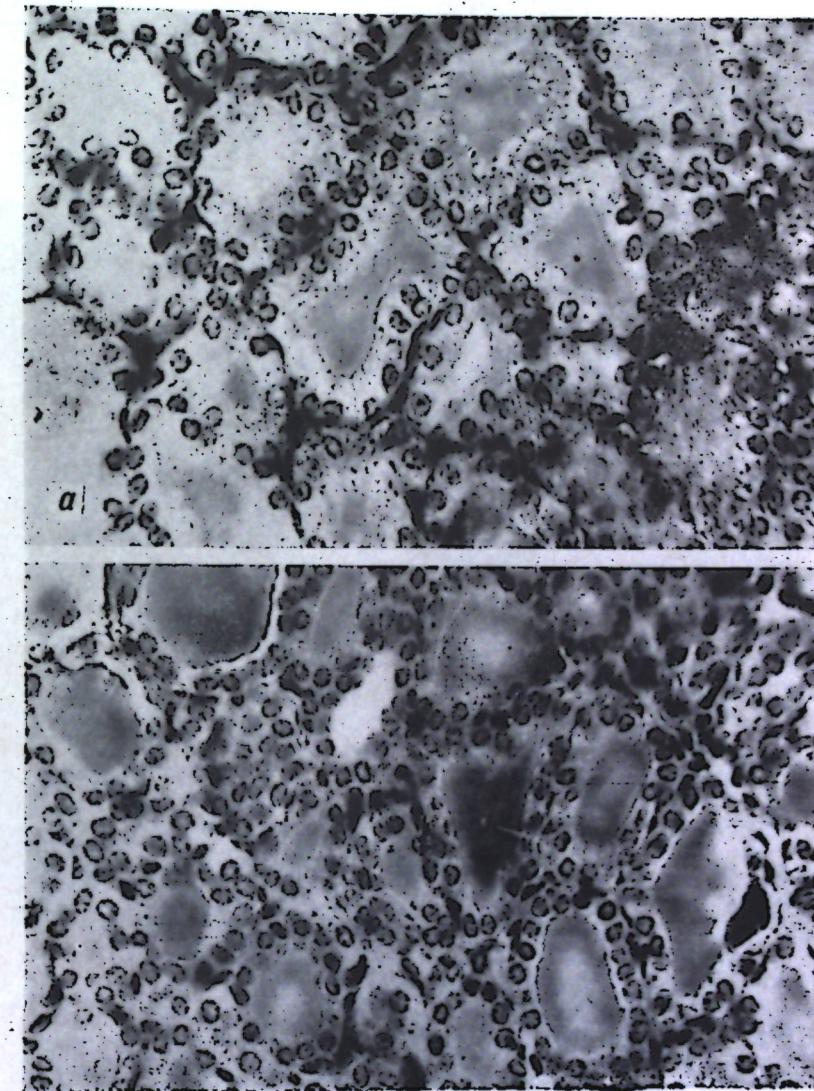


Рис. 1. Гистоструктура щитовидной железы у крыс после семидневного введения тетравакцины в условиях их свободного поведения: а — у контрольных животных; б — после семидневного введения тетравакцины

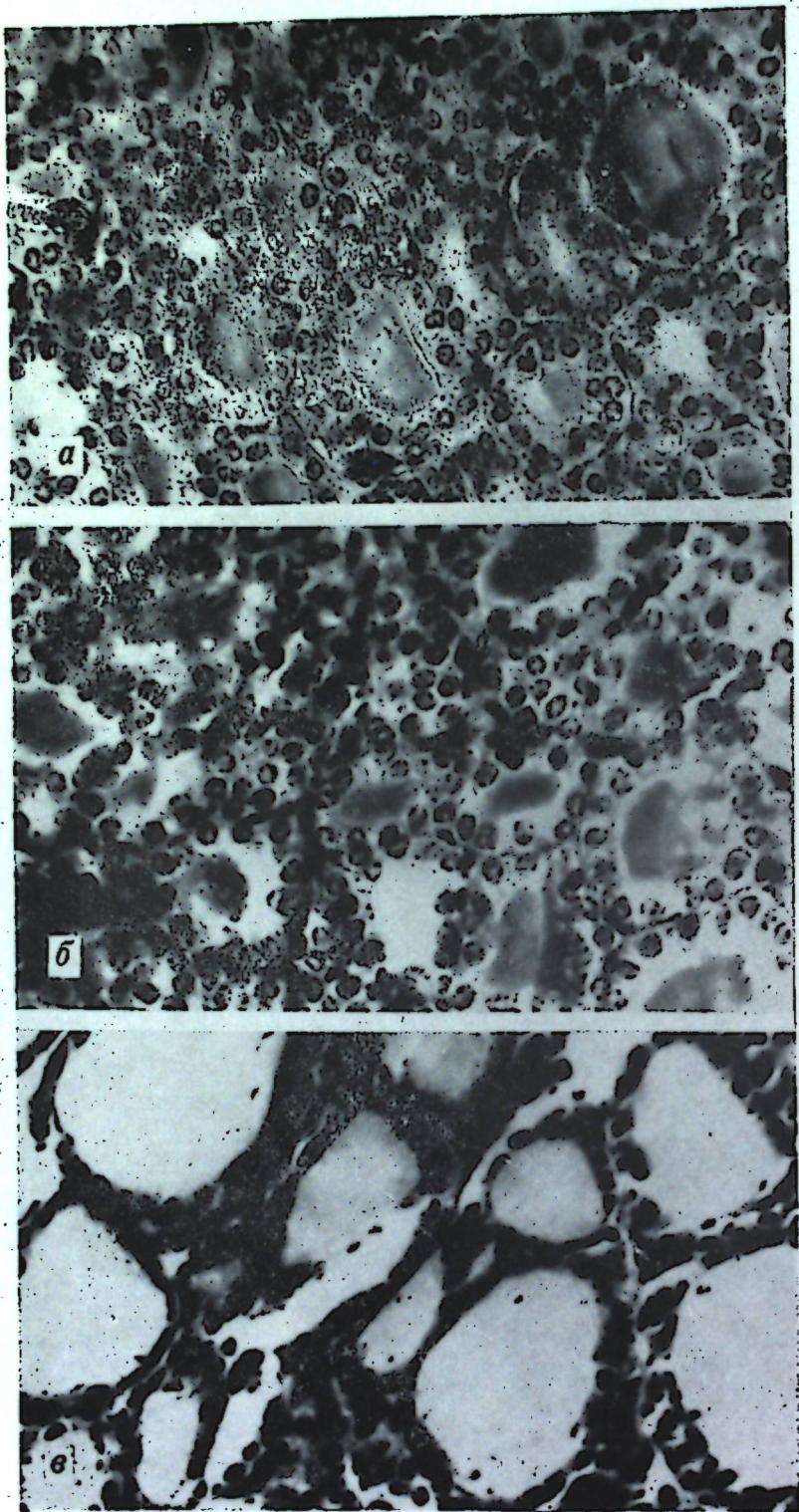


Рис. 2. Гистоструктура щитовидной железы у крыс после 10—30 дней введения тетравакцины:

а — через 10 дней свободного поведения;

б — через 30 дней

в — через 30 дней в условиях иммобилизации

Иммунизацию вызывали ежедневным введением внутрибрюшинно сорбированной тетравакцины (содержащей антиген брюшного тифа, паратифа А и Б и столбнячного анатоксина) из расчета 0,5 мл на 100 г веса тела животного.

Животных забивали декапитацией. Щитовидные железы фиксировали в растворе Буэна. Срезы толщиной 5 мк окрашивали гематоксилином-эозином и изучали путем микроскопии с последующим фотографированием на микроскопе МБИ-6.

Введение вакцины в течение 7 дней (опыты на 6 крысах) приводит к незначительному уменьшению размеров фолликулов, как и эпителиальных клеток, выстилающих последние. Интерстициальная ткань представлена больше, чем в контрольных опытах (рис. 1, а и 1, б).

На 10-й день введения вакцины (опыты на 6 крысах) размеры фолликулов незначительны. В их просвете находится малое количество зернистого коллоида. Интерфолликулярная ткань очень обильна. Эпителиальные клетки — кубические (рис. 2, а).

На 30-й день ежедневного введения вакцины (6 крыс) гистологическая картина щитовидной железы (рис. 2, б) такая же, как и на 10-й день, то есть наблюдается характерная картина для гиперфункции — фолликулы незначительного размера, колloid выявляется в незначительном количестве, интерфолликулярная ткань обильна, а эпителиальные клетки цилиндрические.

Если же введение вакцины в течение 30 дней сопровождалось иммобилизацией животных (6 крыс) на протяжении 12 часов в сутки (в ночное время), то в гистологической картине наблюдались признаки гипофункции щитовидной железы (рис. 2, в). Как видно на рисунке, размер фолликулов резко увеличен по сравнению с таковыми в контрольных опытах (рис. 1, а), причем они растянуты и их стенки образованы плоским эпителием.

Анализ полученных данных показывает, что иммунизация животных отражается на гистоструктуре щитовидной железы и что характер ее изменения во многом определяется состоянием двигательного аппарата. При свободном поведении животного иммунизация вызывает явления гиперфункции, в то время как при ограничении движений — гипофункции. Этот факт заслуживает особого внимания и дальнейшего исследования, ибо, как было показано ранее [10, 11], иммобилизация, сочетающаяся с болевым раздражением, вызывала усиление гормональной деятельности щитовидной железы. Проведенные исследования позволяют предположить, что корреляция, которая возникает между функцией двигательного аппарата и гормональной деятельностью щитовидной железы, непостоянна и в зависимости от условий деятельности организма может привести как к гипер-, так и к гипофункции щитовидной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асс-Бабич Б. Т. Формирование антибактериального иммунитета и щитовидная железа. Автореф. канд. дисс. Харьков, 1967.
2. Астраускас В. И. Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система и реактивность организма. Автореф. докт. дисс. Вильнюс, 1968.
3. Дразин Н. М. Изучение функционального состояния щитовидной железы при помощи радиоактивного йода. Автореф. докт. дисс., 1953.
4. Игнатене Г. К. Функциональное и морфологическое состояние эндокринных желез при экспериментальном ревматизме, Автореф. канд. дисс. Вильнюс, 1967.
5. Копелович М. А. Врачебное дело, 6, 499, 1955.

6. Петровский Б. В., Семенов В. С. Клиника и хирургическое лечение тиреотоксического зоба. М., Медгиз, 1961.
7. Стаморойтите Е. И. Функциональное и морфологическое состояние щитовидной железы при различных физиологических и патологических состояниях. Автореф. докт. дисс. Вильнюс, 1968.
8. Хавин И. Б., Николаев О. В. Болезни щитовидной железы. М., Медгиз, 1961.
9. Цой В. П. Взаимосвязь сенсибилизации бруцеллезным антигеном и функциональное состояние щитовидной железы. Автореф. канд. дисс. Алма-Ата, 1968.
10. Фурдуй Ф. И. О механизме возникновения неврогенного тиреотоксикоза. Автореф. канд. дисс. Кишинев, 1963.
11. Фурдуй Ф. И. Регуляция функции щитовидной железы и механизм возникновения неврогенного тиреотоксикоза. Кишинев, 1967.
12. Brown-Grant K. a. oth. J. Physiol., 151, 70, 1960.
13. Reichlin S., Glasser K. Endocrinol., 60, 4, 567, 1957.

ХИМИЯ

А. А. ШАМШУРИН, Л. Л. СИМОНОВА

КУМЭСТАНОВЫЕ ФИТОЭСТРОГЕНЫ

Открытие взаимосвязи между эстрогенной активностью пастбищных и культурных кормовых растений и плодовитостью животных привлекло внимание исследователей к изучению фитоэстрогенов в широком аспекте, в том числе химическом.

Еще больший интерес к ним появился со времени открытия ростстимулирующей активности у кумэстрола, а также близкой связи его с защитными агентами растений — фитоалексинами. Кроме того, они приобрели значение при таксономических исследованиях растений.

История и вопросы использования фитоэстрогенов в животноводстве наим освещены в ранних обзора [1, 2].

Фитоэстрогены относятся к обширному классу фенольных соединений — флавоноидам. Они принадлежат к генетически связанным группам — изофлавонам и кумэстанам, продуктами которых являются цветковые растения. Если эстрогенная активность у изофлавонов была открыта давно, то у оксипроизводных кумэстана только около 15 лет назад, когда впервые был выделен из клевера и люцерны кумэстрол [3, 4].

Номенклатура

Для кумэstanов принята как тривиальная (для природных), так и систематическая номенклатура, отличающаяся большой сложностью. Рационально и удобно производить их названия от основного скелета — кумэстана (I) и тогда, например, кумэстрол (II) принимает простое название как 7, 12-диоксикумэстан. С другой стороны, номенклатуру спутников кумэстрола в растениях можно производить от самого кумэстрола, приняв во внимание автономную нумерацию в цикле D.

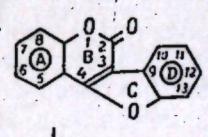
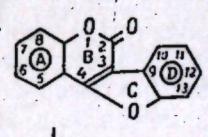


Схема 1

Строение кумэstanов

Строение кумэstanов устанавливается на основе химических свойств, спектров и продуктов деградации. Щелочное сплавление их приводит к фенолам и оксибензойным кислотам и, например, кумэстрол обра-

зует резорции и β -резорциловую кислоту. Мягкий гидролитический расплав кумаринового цикла при одновременном защитительном метилировании диметилсульфатом в щелочной среде приводит к карбометоксикумарану (Ia), который омыляют в кислоту (Ib), ее декарбоксилируют до бензофурана (Ib), последний окисняют в альдегид (II) и окисляют до (III) и (IV). По положению заместителей в продукте распада судят о строении кумэстанов в целом (см. схему 2).

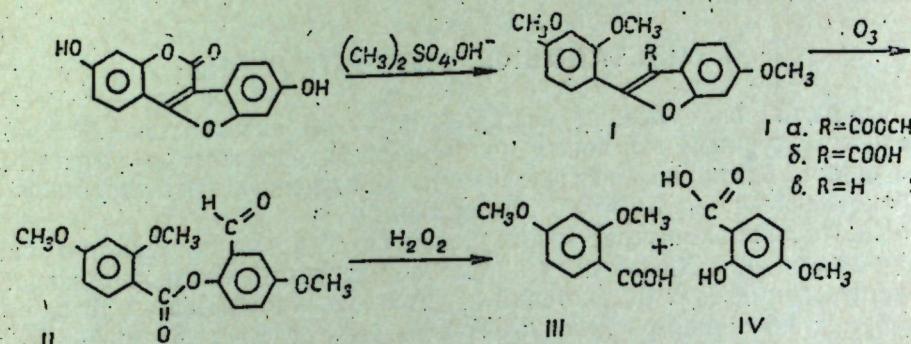


Схема 2

Пути образования кумэстанов

Систематические названия кумэстанов, например, для кумэстрола — 6',7-диоксибензофуро (3',2—3,4)-кумарин, отражают их кумариновую природу как кумаринокумаронов. Однако структурная близость кумэстанов к кумаринам просматривается не только формально. Они генетически связаны с недавно открытymi в природе 3-фенил-4-оксикумаринами.

Известно два природных типа изомерных 3-фенил-4-оксикумаринов. К одному из них относятся собственно кумэстаны, к другому же пока единственный представитель — лизетин, выделенный из ямайского дерева *Piseidina erythrina* (Оллис, 1966). Первый ближе к структуре кумарина, в то время как второй — изофлавона. Предполагают, что обе структуры в природе образуются из одного и того же предшественника, представляющего собой таутомерную смесь 3-фенил-4-оксикумарина и изофлавонола (I A и B); в зависимости от того, какая из этих структур преобладает в смеси, образуется либо кумэстан, либо лизетин. Определяющим моментом в этой альтернативе, по-видимому, является наличие или отсутствие свободного гидроксила в положении 5. Если гидроксил при C₅ будет замещен или вовсе отсутствовать, преобладающей структурой станет 3-фенил-4-оксикумарин (III), который после окислительной циклизации даст кумэстан (IV). Это подкрепляется и тем фактом, что природные кумэстаны, за исключением одного случая, не имеют свободного гидроксила при C₅ (лизетин, наоборот, имеет). С другой стороны, когда гидроксил при C₅ свободен, то вследствие образования хелатов структура изофлавонола более предпочтительна, и в результате окислительной циклизации будет получаться соединение типа лизетина (II).

Все эти структурные соотношения иллюстрируются синтезом аналогов кумэстана и лизетина, представленной на схеме 3.

Индийские химики [5] провели циклизацию нескольких 3-(2-метоксиенил)-4-оксикумаринов (Ia, Ib, IIIa, IIIb) с помощью HBr в уксусной кислоте при 100°C и показали, что кумарины (Ia) и (Ib), имеющие свободный гидроксил при C₅, дают аналоги лизетина (2a) и (2b) соответственно, в то же время как кумарины (IIIa) и (IIIb), не имею-

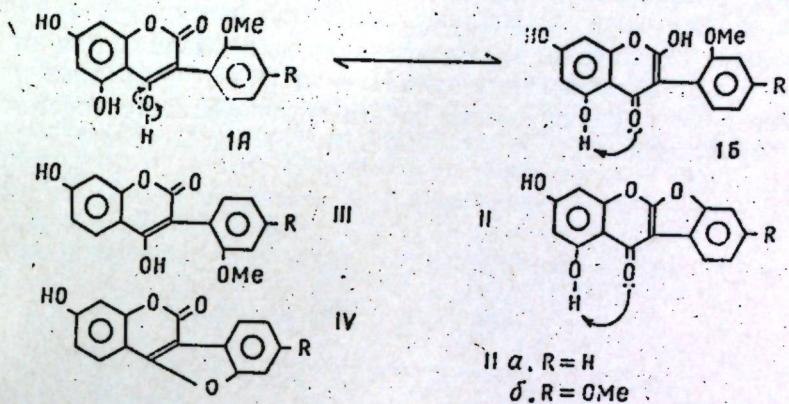
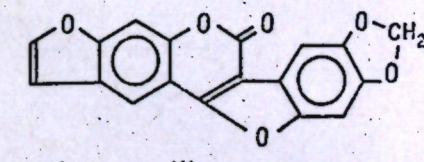
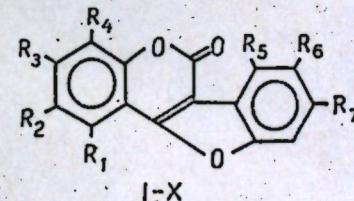


Схема 3

щие гидроксила при C₅, дают соответственно кумэстан (IVa) и (IVb). Таким образом, на основе этих логических заключений можно сделать вывод, что биосинтез кумэстанов в растениях проходит через стадию образования 3-фенил-4-оксикумаринов как предшественников.

Природные кумэстаны

Сейчас известно одиннадцать природных кумэстанов, строение которых представлено в схеме 4. Все они просинтезированы.



- I. Кумэстрол; R₁=R₂=R₄=R₅=R₆=H; R₃=R₇=OH.
- II. 7-Окси-12-метоксикумэстан; R₁=R₂=R₄=R₅=R₆=H; R₃=OH; R₇=OCH₃.
- III. Люцернол; R₁=R₄=R₅=R₆=H; R₂=R₃=R₇=OH.
- IV. Трифолиол; R₁=R₂=R₄=R₆=H; R₃=R₅=OH; R₇=OCH₃.
- V. Сативол; R₁=R₂=R₅=R₆=H; R₃=OCH₃; R₄=R₇=OH.
- VI. 7, 12-Диокси-11-метоксикумэстан; R₁=R₂=R₄=R₅=H; R₇=R₃=OH; R₆=OCH₃.
- VII. 7-Окси-II, 12-диметоксикумэстан; R₁=R₂=R₄=R₅=H; R₃=OH; R₆=R₇=OCH₃.
- VIII. Веделолактон; R₁=R₆=R₇=OH; R₂=R₄=R₅=H; R₃=OCH₃.
- IX. Псоралидин; R₁=R₄=R₅=R₆=H; R₂=CH₂—CH=C(CH₃)₂; R₃=R₇=OH.
- X. Медикалог; R₁=R₂=R₄=R₅=H; R₃=OH; R₆=R₇=—O—CH₂—O—
- XI. Эросин.

Схема 4

Восемь кумэстанов выделены из люцерны и клевера, где они содержатся в свободной форме совместно с изофлавонами (последние в виде глюкозидов). Остальные кумэстаны — псоралидин, веделолактон и эроснин найдены в других растениях.

В фуражных растениях (люцерна, клевер) кумэстаны содержатся в невысокой концентрации. В обычной люцерновой муке содержание кумэстрола, например, редко превышает 400 мк/кг. Поэтому открытие кумэстанов обязано современным методам выделения — противоточной распределительной экстракции и хроматографии.

Спутники кумэстрола в люцерне и клевере различаются от него степенью и местом замещения на OH — и OCH₃ — группы, причем замещение в положениях 7 и 12 на эти группы является постоянным для этих кумэстанов.

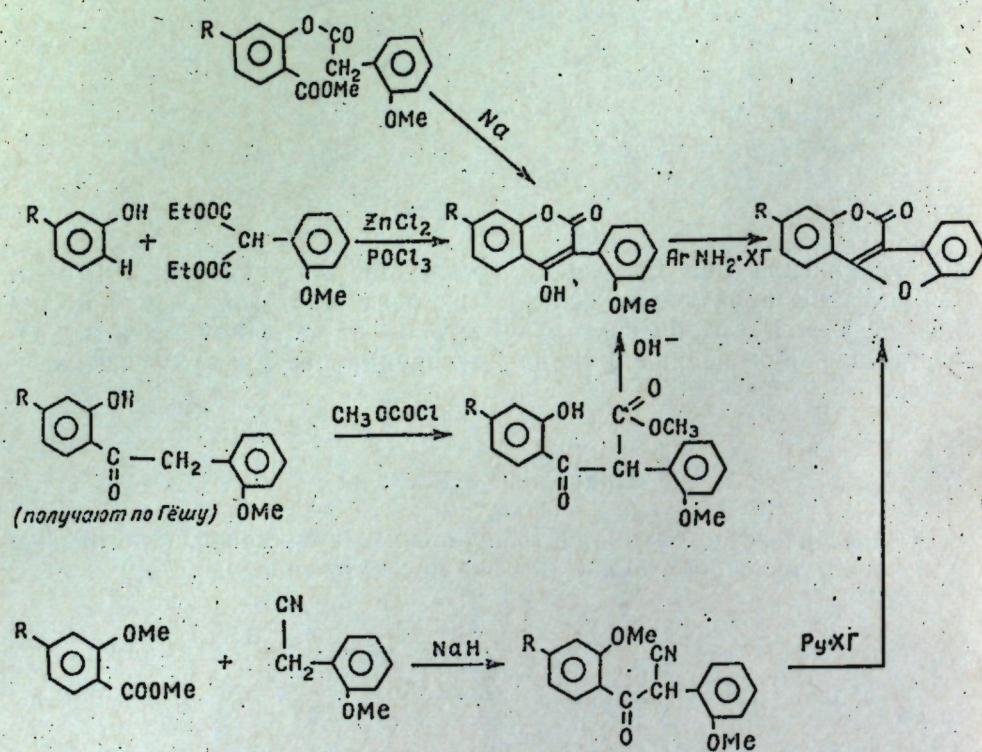


Схема 5

Примечание. Всюду R=H, OH или OMe

Из метилированных оксипроизводных кумэстана известны медикагол и эроснин, при этом структура последнего усложнена дополнительным фурановым циклом. Трехзамещенные кумэстаны включают сативол, люцернол, трифолиол и псоралидины. Ранее указывалось [10], что только цикл A во флавоноидах может быть производным флороглюцина. Строение природного трифолиола это опровергает. Из четырехзамещенных известен веделолактон. Однозамещенных кумэстанов в природе пока не обнаружено, а из C-алкилзамещенных известен только упомянутый псоралидин.

Синтез кумэstanов

Известно несколько подходов к синтезу кумэстановой системы, которые здесь кратко представлены.

Варианты классических методов использования показаны на схеме 5. Ключевыми соединениями в них служат соответствующие оксикитоны или другие полупродукты синтеза, позволяющие выйти к производным 3-фенил-4-оксикумарина (I), циклизуемые в заключительной стадии в кумэстан (II). Для получения полупродуктов используют конденсацию замещенных фенолов с CH-кислотными соединениями (малоновый эфир, бензилцианид, фенилуксусные кислоты).

В конкретном случае, например, необходимый для синтеза практически важного кумэстрола ключевой кетон — ω (2,4-диметоксифенил)-резацетофенон (I), мы получали [6] по реакции: (см. схему 6).

Это позволило сократить известную схему синтеза кумэстрола по Эмерсону-Быкову [7] вдвое.

Для получения кумэstanов, в которых замещение в D-цикле мо-

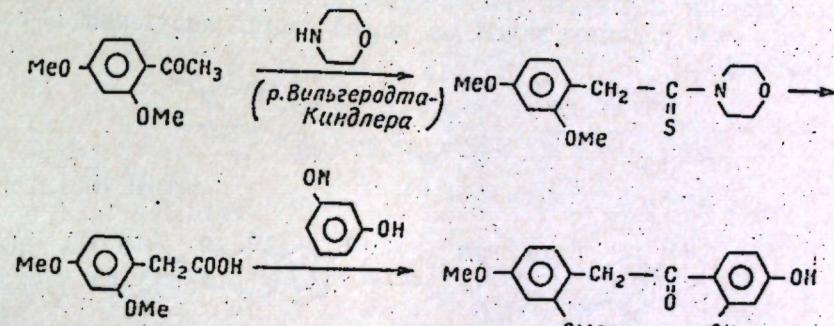


Схема 6

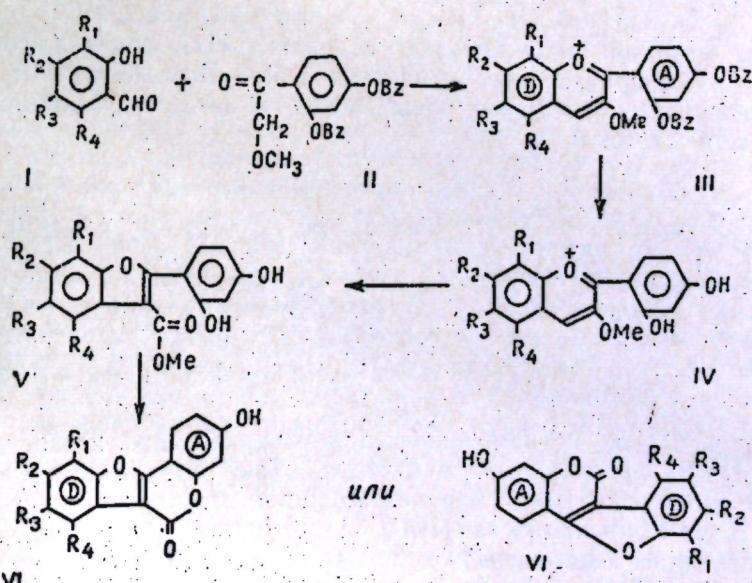


Схема 7

жет варировать, является весьма удобным флавилиевый метод Джурда [8]. Соответственно замещенные орто-оксибензальдегиды (I) конденсируются в эфирном растворе HCl и α -метокси-2,4-дibenзилоксиацетофеноном (II) в бензилоксифлавилиевую соль (III), которую затем дебензилируют в (IV) и окисляют продукт H_2O_2 в 3-карбометоксибензофуран (V). Последний легко претерпевает гидролиз и лактонизацию в кислой среде в кумэстан (VI) (см. схему 7).

Как видно, орто-оксибензальдегиды (I) с заместителем ($R_2=R_3=R_4=H$) дадут R_1 — производные кумэстана с замещением в цикле D в положении 13, а с заместителями R_2, R_3, R_4 образуют кумэстаны ряда — 12, 11 и 10 соответственно. Методом Джурда были получены природные кумэстаны: кумэстрол [8], медикагол [9], трифолиол [10], 3'-метоксикумэстрол [11] и ряд синтетических [12, 13, 14].

Другой изящный путь синтеза кумэстановой системы представляет метод Ванцлика [15]. Он основан на окислительном дегидрировании фенола (I) в хинон с одновременным сочетанием последнего с нуклеофильным анионом кумарина (II) и последующей циклизацией промежуточного продукта (III) в кумэстан (IV).

Суть этой реакции видна из нашей схемы получения 11-оксикумэстрола [16]:

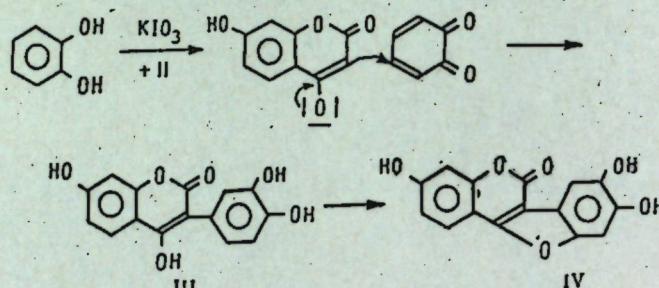


Схема 8

Этим методом синтезированы медикагол [17], веделолактон [15] и ряд галогенопроизводных кумэстана [15a]. Используя этот метод, мы синтезировали [16 a] ряд новых метил- и метокси-кумэстанов, приведенных в схеме 9.

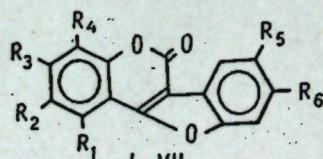


Схема 9

Избирательное метилирование и деметилирование позволяет расширить гамму производных кумэстана. Так, кипячение с йодистым метилом (с последующим гидролизом) диацетата кумэстрола приводит к 7-метокси-12-оксикумэстану [18], а диацетат 7,11-диоксикумэстана превращается в 7-метокси-11-оксикумэстан [13]. Деметилирование может быть достигнуто сплавлением метилатов с анилингидрохлоридом и, например, 7-окси-13-метоксикумэстан дает 7,13-диоксикумэстан [13].

Зависимость эстрогенной активности от структуры

При всем различии в происхождении природных фитоэстрогенов обращает на себя внимание тот факт, что они обнаруживают некоторое структурное подобие, если их сравнивать с эстрадиолом и диэтильбэстролом (схема 10).

Кумэстаны по сравнению с синтетическим эталоном диэтильбэстролом проявляют чрезвычайно слабую эстрогенную активность, однако она выше, чем у природных изофлавонов*. Генистеин, например, уступает по активности кумэстролу в 30 раз [19]. По другим данным [20], минимальная проявляемая доза для эстрадиола равна 25 μ , ацетата кумэстрола — 125 μ и генистеина 400 μ .

Хотя в литературе отсутствуют систематические оценочные данные по эстрогенной активности производных кумэстана в плане структура — действие, однако имеется возможность отметить некоторые закономерности. Она зависит от строения основного скелета, количества

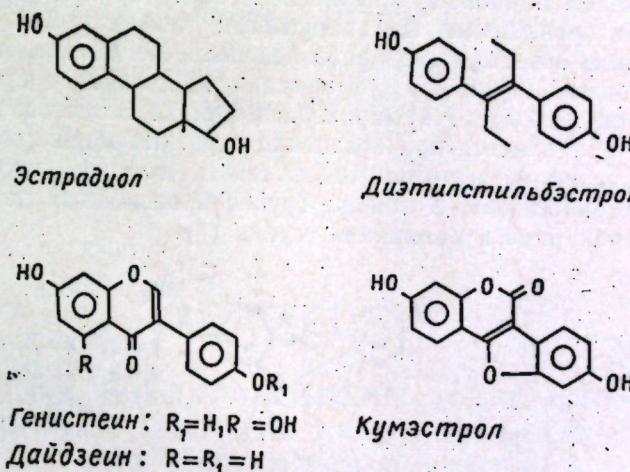


Схема 10

оксигрупп, степени метилирования последних и, видимо, других причин. Эстрогенная активность у кумэстрола полностью исчезает, если снять любой из гидроксилов в положениях 7 и 12. Метилирование уже одного из этих гидроксилов снижает активность, а диметилаты — неактивны. Прежнее абсолютное заключение [19] о том, что введение в кумэстрол дополнительных гидроксилов приводит к потере эстрогенности, оказалось неправильным. Так, синтезированный нами 11-оксикумэстрол [16] обладает активностью и, под названием Стимол-410 [22], вызвал практический интерес как стимулятор роста в животноводстве [23, 24]. Эстрогенную активность проявляет и синтетический 7, 10, 12-триоксикумэстан, в то время как природный трифолиол, представляющий собой монометилат первого с метоксилем в положении 12, не активен [10]. Размыкание лактонного цикла в кумэстане сохраняет

* Активность определяется биологическим тестом на мышах по увеличению веса матки при скармливании. Индекс активности оценивается количеством препарата, необходимого для достижения 25 мг веса матки по сравнению с исходным весом в 10 мг [21].

активность, а фуранового — снижает или уничтожает совсем. Изучение 29 синтетических препаратов из группы кумэстанов показало, что многие из них лишены активности и ни один не превзошел в этом отношении кумэстрол [19].

Канцерогенная опасность фитоэстрогенов как стимуляторов роста, видимо, не является проблемой, так как травоядные животные в долгой эволюции получают постоянный приток их с пищей. Возможно, обмен веществ у них ориентирован на систематическое поступление фитоэстрогенов в организм.

Кумэстаны и фитоалексины

Замечено, что содержание кумэстрола в люцерне может быстро возрастать в десятки раз в ответ на патогенную атаку растения-хозяина [25]. Селекционные сорта люцерны с повышенной устойчивостью к заражению содержат значительно меньше кумэстрола. Очевидно, что синтез подобных соединений индуцируется различными грибными, бактериальными или вирусными инфекциями. Защитные агенты растений известны как фитоалексины. Некоторые фитоалексины имеют сходную структуру с кумэстанами, отличаясь присутствием хроманового цикла вместо кумаринового. Общее сходство этих структур наглядно проявляется при сравнении строения медикагола с фитоалексином пизатином, выделенным из семян гороха, инокулированных спорами грибов [26]. К той же группе производных птерокарпана относятся птерокарпин и мааккиайн (схема 11).

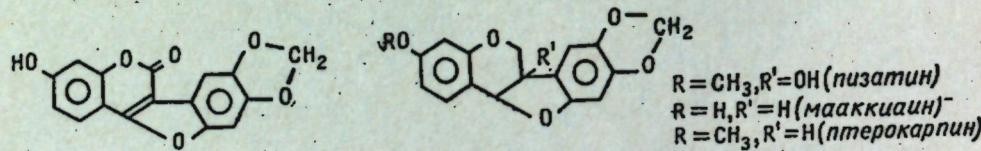


Схема 11

Синтетические переходы от кумэстановых структур к фитоалексинам в настоящее время осуществлены [27] и остается выяснить их биосинтетические связи. В Институте химии АН МССР ведутся исследования по синтетической химии кумэстановых фитоэстрогенов с целью выявления среди них соединений с анаболическими свойствами для животноводства. Желательно привлечь к этой области и специалистов биологического профиля. Подобно тому, как у нас изучаются на содержание каротина пастбищные растения, биологам необходимо исследовать их на содержание фитоэстрогенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Шамшурин. ЖВХО, 8, 620 (1963).
2. А. А. Шамшурин. ЖВХО, 11, 516 (1966).
3. Е. М. Bickoff et al. Science, 426, 969, (1957).
4. R. L. Lyman, E. M. Bickoff, A. N. Booth, A. L. Livingston. Arch. Biochem. Biophys., 80, 61 (1959).
5. А. Ч. Джейн. Доклад по опубликованным работам на степень доктора хим. наук ИОХ им. Н. Д. Зелинского. Москва, 1967.

6. А. А. Шамшурин, М. А. Ямпольская, Л. Л. Симонова. ХПС, 51 (1966).
7. O. H. Emerson, E. M. Bickoff. J. Am. Chem. Soc., 80, 4381 (1958).
8. L. Jurd. Tetrahedron Letters, № 18, 1151 (1963).
9. L. Jurd. J. Pharm. Sci., 54, 1221 (1965).
10. A. L. Livingston, E. M. Bickoff, R. E. Lundin, L. Jurd. Tetrahedron, 20, 1963 (1964).
11. E. M. Bickoff et al. J. Agr. and Food Chem., 24, 1786 (1959).
12. L. Jurd. J. Org. Chem., 29, 3036 (1964).
13. R. R. Spenser, B. E. Knuckles, E. M. Bickoff. J. Heterocycl. Chem., 3, 450 (1966).
14. Л. Л. Симонова, А. А. Шамшурин. ХПС, 367 (1967).
15. H. W. Wanzlick, R. Gritzky, H. Haidepriem. Chem. Ber., 96, 305, (1963).
- 15a. M. Darbarwar, V. Sundaramurthy, N. V. Subba Rao. Cur. Sci., 38, 1, 13—14 (1969).
16. А. А. Шамшурин, Л. Л. Симонова. ЖВХО, 11, 352 (1966).
- 16a. А. А. Шамшурин, Л. Л. Симонова. ХПС, 3, 355—358 (1970 г.).
17. A. L. Livingston, S. C. Witt, R. E. Lundin, E. M. Bickoff. J. Org. Chem., 30, 2353 (1965).
18. L. Jurd. J. Org. Chem., 24, 1786 (1959).
19. E. M. Bickoff, A. N. Booth, A. P. Hendrikson, G. O. Kohler. J. Anim. Sci., 19, 189 (1960).
20. D. Noteboot. J. Gorski. Endocrinology, 73, 736 (1963).
21. G. R. Moule, A. W. H. Bradden, D. R. Lamond. Anim. Breeding Abstr., 31, 139 (1963).
22. А. А. Шамшурин, Л. Л. Симонова. Авт. свид. СССР № 18851; бюллетень изобретений № 22 (1966).
23. Ю. Н. Шамбарев, В. Н. Соловьева, А. П. Горемыкина. Доклады ТСХА, вып. 130, 53 (1967).
24. Ю. Н. Шамбарев, Ю. И. Нетеса, Б. В. Головин. Доклады ТСХА, вып. 151, 33 (1969).
25. G. M. Loper, C. H. Hanson. Crop. Sci., 4, 480 (1964).
26. D. R. Perrin, W. Bottomley. Nature, 191, 76 (1961).
27. K. Fukui, M. Nakayama, H. Tsuge, K. Tsuzuki. Experientia, 24, 536 (1968).

Д. Г. БАТЫР, И. И. БУЛГАК

α -БЕНЗИЛДИОКСИМИНЫ ЖЕЛЕЗА(II) С МОНОДЕНТАТНЫМИ БИФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ПИРИДИНА

В [1] были описаны координационные соединения железа(II) с диметилглиоксимом (DH_2) и монодентатными бифункциональными лигандами типа $[\text{Fe}(\text{DH})_2\text{L}_2]$. В настоящем сообщении, являющимся продолжением [1], описываются α -бензилдиоксимины $[\text{Fe}(\text{HDf})_2\text{L}_2]$, где L — никотинамид, N,N-диэтилникотинамид, N-оксиметилникотинамид, этилникотинат, 4-аминопиридин и 3-бензоилпиридин.

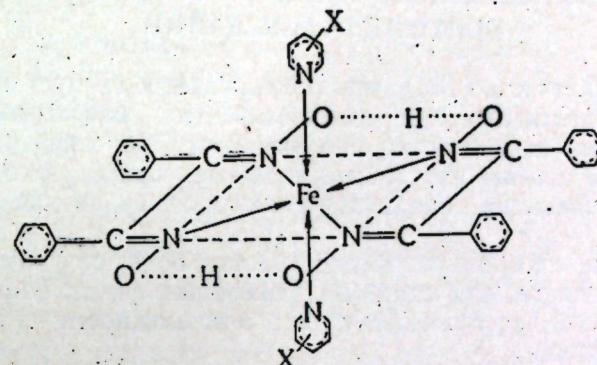
На основании известных рентгеноструктурных данных [2—4] в [5, 6] сделано предположение о том, что диоксимины железа(II) с галоген- и алкилзамещенными пиридинами имеют октаэдрическую трансконфигурацию. Естественно считать, что и бис(α -бензилдиоксимато)-ди(никотинамид) железа(II) имеет ту же структуру и молекулы никотинамида координированы к атому железа азотом гетероцикла (см. рисунок), поскольку в ИК-спектрах $[\text{Fe}(\text{HDf})_2(\text{C}_5\text{H}_4\text{NCONH}_2)_2]$ характерные полосы $\nu(\text{C}=\text{O})=1680 \text{ см}^{-1}$ и $\nu(\text{N}-\text{H})=3200$ и 3380 см^{-1} совпадают с таковыми для свободного лиганда ($\text{C}_5\text{H}_4\text{NCONH}_2$).

Для получения бис(α -бензилдиоксимато)-ди(никотинамид) железа(II) к раствору 1,0 г $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,005 моля) в 10 мл метанола добавляли одновременно, при постоянном перемешивании, растворы 2,4 г α -бензилдиоксимата (0,01 моля) и 1,2 г никотинамида (0,01 моля)

L	Число моле- кул в one (n)	Формула бруто	Цвет и форма кристаллов	Найдено, %				Для $[Fe(HDf)_2L_2]nH_2O$ вычислено, %			
				Fe	C	H	N	Fe	C	H	N
$C_5H_4NCONH_2$	1	$FeC_{10}H_{36}N_8O_7^+$	Темно-коричневый, удлиненные призмы	7,21	69,61	4,49	14,06	7,01	60,32	4,55	14,07
$C_5H_4NCON(C_2H_5)_2$	—	$FeC_{18}H_{50}N_8O_6$	Коричневый, паралле- лепипеды	6,47	64,43	5,67	12,68	6,27	64,71	5,66	12,58
$C_5H_4NCONHCH_2OH$	1	$FeC_{42}H_{40}N_8O_9$	Темно-коричневый, шестиугольные плас- тины	6,62	59,37	5,04	12,94	6,52	58,87	4,71	13,08
$C_5H_4NCO_2C_2H_5$	—	$FeC_{44}H_{40}N_6O_8$	Сине-фиолетовый, призмы	6,66	62,61	5,01	10,48	6,67	63,16	4,82	10,04
$4-C_5H_4NNH_2$	2	$FeC_{38}H_{38}N_8O_6$	Красно-коричневый, удлиненные призмы	7,44	60,40	5,48	14,45	7,36	60,17	5,05	14,78
$3-C_5H_4NCO_6H_3$	—	$FeC_{32}H_{40}N_6O_6$	—	6,24	—	—	—	9,35	6,20	—	9,33

*При нагревании в сушильном шкафу до 105° убыль массы соответствует одной молекуле кристаллизационной воды. (Найдено: убыль массы, % — 2,34.
Вычислено: для потери одной молекулы воды, % — 2,26).

в смеси 35 мл диметилформамида и 15 мл метанола (нагретого на водяной бане до полного растворения бензилдиоксима) и 1,36 г тригидрат ацетата натрия (0,01 моля) в 10 мл метанола. Из кроваво-красной жидкости выпадали темно-коричневые кристаллы, имеющие под ми-



Предполагаемая структура синтезированных α -бензилдиоксиминов

кроскопом форму удлиненных призм. Вещество отфильтровывали, промывали несколько раз смесью диметилформамид-метанол (1:1), затем метанолом и, наконец, эфиром. Анализы воздушносухого вещества приведены в таблице.

Аналогично были получены и другие соединения $[Fe(HDf)_2L_2]$ (см. таблицу) с N,N-диэтилникотинамидом, N-оксиметилникотинамидом, этилникотинатом [7], 3-бензоилпиридином и 4-аминопиридином, с той лишь разницей, что в случае хелата с N,N-диэтилникотинамидом хлорид железа растворялся в воде.

Все соединения диамагнитны и отличаются от соответствующих диметилглиоксиминов [1] тем, что они устойчивы на воздухе, окрашены в несколько более темные тона, труднее растворимы в воде и органических растворителях (метанол, этанол, эфир). Несколько растворимы в хлороформе, причем $[Fe(HDf)_2\{C_5H_4NCON(C_2H_5)_2\}_2]$ был даже перекристаллизован из этого растворителя.

Выводы

Синтезированы α -бензилдиоксимины железа(II), содержащие во внутренней сфере монодентатные бифункциональные лиганды типа $[Fe(HDf)_2L_2]$,

где L — никотинамид, N,N-диэтилникотинамид, N-оксиметилникотинамид, этилникотинат, 4-аминопиридин и 3-бензоилпиридин.

ЛITERATURA

- Д. Г. Батыр, И. И. Булгак. Изв. АН МССР, сер. биол. и хим., № 1, 77 (1971).
- L. E. Godycki, R. E. Runde. Acta crystallogr., 6, 487 (1953).
- K. S. Viswanathan, N. R. Kunzur. Acta crystallogr., 14, 675 (1961).
- C. X. Prout, T. J. Wissman. J. Chem. Soc., 1964, 497.
- А. В. Аблов, В. И. Гольданский, Р. А. Стукан, Е. Ф. Макаров. ДАН, 170, 128 (1966).
- А. В. Аблов, В. И. Гольданский, Р. А. Стукан, К. И. Турта, В. Н. Зубарев. ДАН, 186, 850 (1969).
- А. А. Шамшурина. Сб. Диэтилпироугольный эфир (ПИРЭФ) — новый консервант в виноделии. Кишинев, Изд-во «Карта Молдовеняскэ», 1965, стр. 16.

О. С. КОНОВАЛЕНКО, Н. Т. ФЛЕШТОР, Н. И. ЛОБАНОВ

ТЕПЛОТА СМАЧИВАНИЯ И ГИДРОФИЛЬНОСТЬ АКТИВИРОВАННОГО И КАТИОНЗАМЕЩЕННОГО БЕНТОНИТА МОЛДАВИИ

Народное хозяйство Молдавии испытывает большую потребность в дешевых и эффективных природных сорбентах, необходимых для осветления вин, соков и очистки продуктов переработки растительных масел. В связи с этим актуальное значение приобретает изыскание местных отбеливающих глин и изучение их адсорбционно-структурных свойств.

При оценке адсорбционной способности большое внимание уделяется гидрофильности как одной из важнейших физико-химических характеристик глин, позволяющей судить о возможности их промышленного использования.

В данной работе ставилась задача исследования гидрофильных свойств глинистых минералов, обладающих наибольшей поглотительной способностью.

В качестве объекта исследования брались молдавские бентониты, соответствующие примерно чистому Са-монтмориллониту, месторождения окрестности села Наславча [1].

В целях получения высокоактивных адсорбентов были предварительно проведены самые различные условия обработки глины: активирование кислотой, Ме-замещение и нагревание.

Для изучения факторов, определяющих высокую гидрофильность бентонита, и тех условий, в которых адсорбционная активность проявляется максимальной, был использован метод теплоты смачивания. Определение гидрофильности, характеризующейся количеством адсорбционно-связанной воды, и эффективной удельной поверхности бентонита по теплоте смачивания является одним из наиболее удобных и точных методов.

Интегральная теплота смачивания по воде определялась на калориметрической установке с автоматической записью изменения температуры, устройство и методика работы которого описаны ранее [2].

Предложенная Е. А. Таксиром установка удобна в работе, значительно облегчает труд исследователя и обеспечивает достаточную точность измерений.

В качестве датчика температуры автором был использован макротермистор МТ-54 с малой тепловой инерционностью, что обеспечивает быструю регистрацию изменения температуры, а следовательно, и точность определения начала и конца происходящего теплового процесса. Постоянная времени термистора в воде не более 0,3 сек. Запись теплового эффекта проводилась на диаграмме потенциометра ЭПП-09 мз. Чувствительность прибора достигала 0,001°C на деление.

На рис. 1 изображена запись, полученная на потенциометре, представляющая собой график зависимости изменения температуры t° от времени τ .

Участки 1, 2, 3 этого графика изображают соответственно начальный, главный и конечный периоды изменения температуры. Начальный и конечный периоды (1, 3) опыта записывают ход температуры калориметра в отсутствие изучаемого процесса, главный период (2) —

тепловые процессы, возникающие при взаимодействии дисперсной фазы с дисперсионной средой.

Продолжительность Δt главного периода для исследуемых образцов различна, она определяется характером изучаемого процесса и скоростью выравнивания температуры отдельных частей калориметрической системы.

Тепловой эффект, возникающий при взаимодействии молекул воды с поверхностью глин, и тепловое значение прибора рассчитывались по известным формулам [3].

Для удобства сопоставления результатов тепловой эффект относили к одному грамму исследуемого вещества.

$Q = \frac{\bar{W} \Delta t}{m}$, где Q — теплота смачивания в джоулях; Δt — изменение температуры калориметра, вызванное процессом смачивания глины водой с учетом побочных тепловых эффектов; m — масса исследуемого вещества.

Среднее тепловое значение калориметра \bar{W} определялось из 15—17 измерений W_i по формуле

$$W_i = \frac{J^2 R_i}{\Delta t} \text{ джоуль/градус},$$

где I — сила тока в нагревателе в амперах;

R — сопротивление нагревателя в омах;

τ — время пропускания тока в секундах;

Δt — изменение температуры, вызванной подачей тока на нагреватель.

Для проведения исследования Ме (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}) замещенные формы неактивированного (фракция 0,315 м.м.) и активированного соляной кислотой (порошок) бентонитов высушивали в сушильном шкафу в течение 6 часов при температурах 110°, 200°, 250°, 300°C и запаивали в ампулах.

Выбор температурного интервала обусловлен данными термического анализа [1], согласно которым при нагревании до 300°C на кривой убыли массы отмечалось наибольшее освобождение поверхности глины от гигроскопической и адсорбционно-связанной воды, что может способствовать повышению поверхностной активности.

Результаты измерений, представленные в табл. 1, свидетельствуют о значительном влиянии модификации поверхности на величину теплоты смачивания.

Для удобства сравнения с литературными данными значения Q выражены в кал/г с переводным коэффициентом 1 кал = 4,1840 джоуль.

По данным табл. 1 теплота смачивания естественного и активированного бентонита весьма чувствительна к изменению температуры сушки. Максимальное ее значение наблюдается при 250°C, что вполне

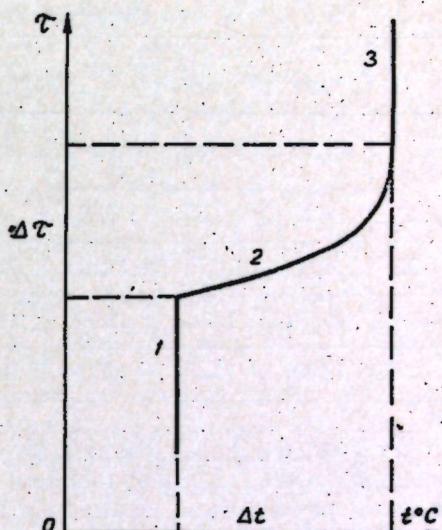


График зависимости изменения температуры от времени

согласуется с кривыми обезвоживания [1] бентонитов и подтверждает факт полного удаления адсорбционно связанный воды. Дальнейшее же повышение температуры вызывает необратимые процессы, приводящие к резкому изменению структуры, и соответствует уменьшению удельной поверхности.

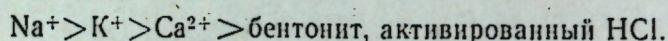
Таблица 1

Зависимость теплоты смачивания от температуры
Теплота смачивания Q , кал/г

$t^{\circ}\text{C}$	Бентонит		K^+ -замещенный		Na^+ -замещенный		Ca^{2+} -замещенный	
	естеств.	актив.	естеств.	актив.	естеств.	актив.	естеств.	актив.
110	4,26	5,55	7,00	9,00	7,78	9,26	4,72	7,00
200	18,68	10,79	11,81	12,26	15,79	12,51	18,57	16,82
250	19,09	10,92	12,09	11,81	14,81	12,17	23,30	16,83
300	19,00	10,40	10,53	12,33	13,61	10,81	21,23	15,26

Результаты исследований подчеркивают существенное влияние активации бентонита минеральными кислотами и природы насыщающего катиона на характер взаимодействия гидрофильных веществ с водой.

Из табл. 1 следует, что адсорбционные свойства активированного кислотой бентонита при 110°C значительно выше естественного, что происходит за счет увеличения пористости структуры и удельной поверхности глины при растворении полуторных окислов и окислов металлов. В этом случае теплота смачивания активированных образцов по силе влияния природы катионов на характер поглощения воды располагается по ряду:



Но при условии полного удаления механически захваченного и адсорбированного воздуха (высушивали под вакуумом с остаточным давлением 10^{-4} мм рт. ст. при 110°C в течение 6 часов) происходит резкое увеличение теплоты смачивания по противоположному ряду: $\text{Ca}^{2+} > \text{H}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$ (где Ca^{2+} актив.* — 17,99 кал/г, H^+ — 16,63 кал/г, Na^+ актив. — 12,43 кал/г, K^+ актив. — 11,75 кал/г), что согласуется с работами Ф. Д. Овчаренко [4], где найдена зависимость поверхностной активности глины от заряда и объема катиона.

Иначе изменяется теплота смачивания активированного кислотой бентонита по сравнению с естественным при термической обработке выше 110°C .

Обычная закономерность увеличения теплоты смачивания бентонита при активации кислотой нарушается. Активированный бентонит характеризуется меньшей адсорбционной активностью к воде, чем естественный. Понижение поверхностной активности активированных бентонитов вызвано уменьшением удельной поверхности глины при нагревании выше 110°C .

* Ca^{2+} актив. — Ca-форма бентонит, активированная HCl.

Из приведенных данных видно, что замещение катионов в естественных и катионзамещенных образцах на H^+ не приводит к такому заметному изменению теплоты смачивания, какое наблюдается в случае активации глины при термической обработке в интервале 110° — 250°C , что обязано образованию дополнительных пор в скелете сорбента.

Таблица 2

Гидрофильность бентонитов, нагретых при 250°C

Вид глины	Теплота смачивания, Q кал/г	Количество связанной воды, A, %	Удельная поверхность S, $\text{m}^2/\text{г}$
H^+ — форма бентонит	10,92	10,87	394
K^+ — форма бентонит	12,09	12,04	436,1
Na^+ — форма бентонит	14,81	14,74	534,5
Ca^{2+} — форма бентонит	23,30	23,20	840,7

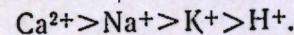
В изучаемых образцах значение теплот смачивания заметно возрастает с повышением температуры. Таким образом, резкое увеличение теплот смачивания бентонитов с повышением температуры сушки указывает на возможность его термической активации при 250°C .

Как известно [5], теплота смачивания определяет меру гидрофильности, позволяет наиболее полно оценить величину эффективной удельной поверхности (S) и количество связанной воды (A), перешедшей из свободного состояния в связанное.

Нами проводилось вычисление основных гидрофильных характеристик A и S по методу [6], где выражена их прямая зависимость от теплоты смачивания.

В табл. 2 приведены данные по теплотам смачивания Q , по количеству связанной воды (A)* и удельной поверхности (S) катионзамещенных бентонитов, термически активированных при 250°C .

По степени влияния на гидрофильность бентонитов неорганические катионы, выступающие в роли активных центров при связывании воды, располагаются в следующей последовательности:



Глина с двухвалентным катионом характеризуется значительно большей гидрофильностью по сравнению с глинами, насыщенными одновалентными ионами. Ca-форма при 250°C в большей степени подвержена термическому действию, обладает большой способностью адсорбционно связывать воду, что значительно характеризует поверхностную активность, а значит и возможность ее промышленного использования.

Полученные нами данные о гидрофильных свойствах молдавских бентонитов дают основание предположить, что катионзамещенные термически активированные образцы при 250° могут быть успешно применены для отбеливания масел и осветления вин, соков.

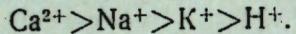
* При расчете A применяли значение толщины мономолекулярного слоя воды $h = 2,76 \text{ \AA}$.

Таким образом, изучение теплоты смачивания, определение количества связанной воды, удельной поверхности рассмотренных естественного, активированного и катионзамещенных бентонитов позволило рационально подобрать лучшие образцы поверхностноактивных глин для широкого использования их в народном хозяйстве.

Выводы

1. Определены теплоты смачивания активированного и катионзамещенного бентонита Молдавии, термически обработанного до 300°C.
2. Рассчитаны количество связанной воды и удельная поверхность бентонитов, характеризующихся наивысшими значениями теплот смачивания.
3. Максимальная гидрофильность бентонитов установлена при температуре 250°C.

4. Показано, что на гидрофильные и адсорбционные свойства существенное влияние оказывает природа поглощенных катионов, которые по снижению гидрофильности располагаются в ряд:



5. Са-форма бентонит, термически активированный при 250°C, обладает наибольшими гидрофильными свойствами.

6. Ме-замещенный молдавский бентонит (Ме- Ca^{2+} , Na^+ , K^+) месторождения села Наславча, термически активированный при 250°C, может быть предложен для промышленного использования в качестве отбеливающего сорбента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. И. Лобанов, А. И. Симонов, В. Н. Шаффранский, А. Б. Клигер, А. И. Бодеску. Известия Академии наук Молдавской ССР, № 9, 1966, стр. 74.
2. Е. А. Таксир. Известия Академии наук Молдавской ССР, № 4, 1970, стр. 67.
3. С. М. Скуратов, В. П. Колесов, А. Ф. Воробьев. Термохимия, ч. 1, Москва, 1964, стр. 215, 217.
4. Ф. Д. Овчаренко. Гидрофильность глин и глинистых минералов. Изд-во АН УССР, 1961.
5. Ф. Д. Овчаренко, С. П. Ничипоренко, Н. Н. Круглицкий, В. Ю. Третинник. Исследования в области физико-химической механики дисперсий глинистых минералов. АН УССР, Ин-т общей и неорг. химии, Киев, 1965.
6. А. В. Думанский, Ф. Д. Овчаренко. Колл. ж. 12, № 5, 333, 335, 1950.

НАУКА — НАРОДНОМУ ХОЗЯЙСТВУ

М. К. ДИКУСАР

ПРИМЕНЕНИЕ ВИРУСА ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА В БОРЬБЕ С АМЕРИКАНСКОЙ БАБОЧКОЙ

Наиболее экономичным методом борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур является интродукция небольших количеств энтомопатогенных вирусов в свободные от них популяции. Вирусы можно использовать и в период цветения плодовых деревьев, когда применение химических средств борьбы не рекомендуется. Искусственное внесение вируса в очаги массового размножения вредителей дает положительные результаты [1, 2, 3].

С целью определения возможности создания искусственных эпизоотий в природных условиях в 1968 г. вирус ядерного полиэдроза интродуцировали в популяцию американской бабочки нарастающей численности. Участок сада состоял из деревьев яблони, груши, сливы, вишни, черешни, абрикоса. Высота плодовых деревьев 1,5—2 м. Для внесения вируса ядерного полиэдроза в популяции американской бабочки из трупов погибших от полиэдроза гусениц, зараженных вирусом в лабораторных условиях, приготовляли 20 л взвеси полиэдроза с титрами $1,4 \times 10^6$ — 14×10^6 в 1 мл. Для лучшей фиксации полиэдроза на листьях в суспензии добавляли каолин из расчета 0,5 г на 100 мл взвеси. Приготовленными взвесями полиэдроз опрыскивали участки сада по 0,25 га, расходуя от 5 до 10 л на 1 га. Между ними находились контрольные участки шириной 15 м. Плотность вредителя на контрольных и обработанных участках была 500—1000 гнезд. Опрыскивание проводили ручным опрыскивателем обычно рано утром или вечером во избежание губительного действия солнечных лучей на вирус. Контрольные участки опрыскивали водопроводной водой. Полевые испытания вируса ядерного полиэдроза вели в колхозе им. С. Лазо Чимишлийского района. Заражение проводили 4—8 июня 1968 г., когда гусеницы вредителя находились главным образом в I-II возрасте. В момент испытания вирусного препарата против гусениц I генерации погода была весьма благоприятной (теплая, без ветра и существенных осадков), что способствовало быстрому распространению болезни. Температура воздуха во время полевых испытаний колебалась от 14,8 до 25,4° при средней температуре 20,3°. Количество осадков составило 45,5 мм.

Результаты опрыскивания

Первые симптомы болезни у гусениц в очаге заражения появились через 8 дней после опрыскивания. Гибель гусениц началась 14 июня и в дальнейшем носила характер сильной эпизоотии. Сбор и учет гусениц проводили на стволах и кронах 10 плодовых деревьев в очаге заражения через различные интервалы с момента опрыскивания. Данные учетов приведены в табл. 1.

Из данных таблицы видно, что смертность личинок через 12 дней была 39,2%, через 18 дней — 50,4%, а спустя 21 день с момента опрыскивания — 80,2%. При плотности 1000 гнезд на 1 га смертность особей в очаге заражения через один и те же интервалы была несколько больше.

Таблица 1

Результаты заражения гусениц американской бабочки I поколения вирусом ядерного полиэдроза при плотности 500 гнезд на 1 га

Время сбора и учетов	К-во особей вредителя на 10 деревьях		Микроскопический анализ		
	живых	мертвых	количество особей	из них заражено, %	
				полиэдрозом	паразитами
Очаг заражения					
16.VI	420	129	84	39,2	0,9
22.VI	340	215	100	50,4	1,9
25.VI	210	314	100	80,2	2,1

Таблица 2

Результаты заражения гусениц американской бабочки вирусом ядерного полиэдроза при плотности 1000 гнезд на 1 га

Время сбора и учетов	Количество особей вредителя на 10 деревьях		Микроскопический анализ		
	живых	мертвых	количество особей	из них заражено, %	
				полиэдрозом	паразитами
Очаг заражения					
16.VI	460	530	100	50,4	0,9
22.VI	380	390	100	30,2	1,9
25.VI	100	250	100	92,3	2,1

Опрыскивание взвесью полиэдров с титром 14 млн. полиэдров в 1 мл приводит к 100%-ной гибели гусениц через 17 дней после опрыскивания.

Наши наблюдения показали, что распространение болезни в очаге заражения наступает при контакте здоровых гусениц с больными и, особенно, погибшими от ядерного полиэдроза, которые оставались в кроне деревьев и загрязняли листья продуктами распада. Из 100 исследуемых особей, собранных в очаге заражения, у 75 были обнаружены на лапках и ротовой части полиэдры. Такие гусеницы могли легко инфицироваться сами и стать источником заражения других. Интенсивному вторичному инфицированию способствовала, очевидно, довольно высокая температура летнего сезона.

Осенью 1968 г. вирус ядерного полиэдроза был внесен в популяцию американской бабочки II поколения. Опрыскивание взвесью полиэдров с титром $1,4 \times 10^6$ в 1 мл и каолином проводили 3 августа. Температура воздуха во время опыта колебалась от 14,8 до 25,4°. Средняя температура была 19,5°. За время опыта выпало 99,3 мм осадков.

Первые симптомы у гусениц в очаге заражения появлялись через 8 дней с момента опрыскивания. Гибель гусениц началась 13 августа и через две недели болезнь распространилась широко, охватив большинство особей популяции.

Из данных табл. 3 видно, что смертность личинок через 15 дней после опрыскивания составила 48,6%, через 18 дней—74,5%, а спустя 21 день—82,5%. Следует отметить, что осенью 1968 г. наблюдалось значительное заражение вредителя паразитами. Осенью 1968 г. смертность вредителя от полиэдроза была несколько меньше, чем летом, хотя плотность и доза полиэдров были одинаковыми. Это, возможно, обусловлено менее бла-

Таблица 3

Результаты заражения гусениц американской бабочки второго поколения вирусом ядерного полиэдроза при плотности 1000 гнезд на 1 га

Время сбора и учетов	Количество особей вредителя на 10 деревьях		Микроскопический анализ		
	живых	мертвых	количество особей	из них заражено, %	
				полиэдрозом	паразитами
Очаг заражения					
18.VIII	530	497	59	48,6	12,4
21.VIII	490	389	70	74,5	14,2
24.VIII	150	236	70	82,5	16,3

Таблица 4

Результаты заражения гусениц американской бабочки I поколения на контрольных участках в результате миграции больных особей в июне 1968 г.

Расстояние от очага заражения, м	Количество особей вредителя на 10 деревьях		Микроскопический анализ		
	живых	мертвых	количество особей	из них заражено, %	
				полиэдрозом	паразитами
2—3	390	88	59	20,4	0,9
6—8	580	182	34	18,7	0,9
10—12	320	47	57	6,3	1,9
14—15	340	39	12	1,5	2,1

гоприятными условиями погоды (средняя температура 19,3° вместо 20,3°) и за время опыта выпало на 50 мм больше осадков. Во время сильных дождей, по-видимому, часть полиэдров смывалась с листьев и это приводило к уменьшению количества инфекционного материала.

Наблюдения в полевых условиях позволили обнаружить гибель гусениц за пределами обработанных участков на расстоянии более 15 м за счет миграции больных особей. Особенно большие расстояния преодолевали гусеницы старших возрастов, близкие к оккулированию. Гусеницы младших возрастов мигрировали на незначительные расстояния и, следовательно, в распространении инфекций на соседние участки их роль невелика.

Таблица 5

Результаты заражения гусениц американской бабочки II поколения на контрольных участках в результате миграции больных особей в августе 1968 г.

Расстояние от очага заражения, м	Количество особей вредителя на 10 деревьях		Микроскопический анализ		
	живых	мертвых	количество особей	из них заражено, %	
				полиэдрозом	паразитами
2—3	127	130	40	80,2	1,9
6—8	322	127	30	50,4	1,9
10—12	411	132	50	39,1	1,9
14—15	500	143	60	23,3	1,9

Значительно больше была смертность на прилегающих к очагу заражения участках сада осенью 1968 г.

Заражение гусениц на контрольных участках в результате миграции больных ядерным полиэдрозом особей несомненно представляет большой практический интерес и дает основание полагать, что при внесении небольшого количества вирусного препарата болезнь может распространяться на значительные расстояния. Следовательно, для уничтожения популяций американской бабочки нет необходимости применять сплошные обработки. Для этого достаточно создавать микроочаги инфекции путем опрыскивания взвесью полиэдров с титром $1,4-10^6 - 14 \times 10^6$ в 1 мл через каждые 14—15 м.

Выводы

1. Вирус ядерного полиэдроза можно успешно использовать в борьбе с американской бабочкой. Опрыскивание взвесью полиэдров с титром 14 млн в 1 мл приводит к 100%-ной гибели гусениц I и II возраста через 15 дней после опрыскивания.

2. Распространение болезни на необработанные участки сада происходит в результате миграции больных особей, особенно старших возрастов, отползающих на расстояние 15 м.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elmore F. G. J. Econ. Entomol., 54, N 1, 47—50, 1961.
2. Elmore F. G. Howland A. F. J. Insect. Pathol., 6, 430—438, 1964.
3. Mc Ewen F. L. and Herguey G. E. J. Econ. Entomol., v. 51, N 5, 626—631, 1958.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Л. П. СПАССКАЯ, Э. М. КОЛОТИЛОВА

ALCATAENIA ARMILLARIS (CESTODA:DILEPIDIDAE) ОТ ТИХООКЕАНСКИХ ЧИСТИКОВ

Большинство видов дилепидидных цепней обитает в кишечнике сухопутных и болотных птиц, у водоплавающих, в частности у гусиных, из фауны значительно беднее. Что же касается чистиков (*Alciformes*), то у них из числа дилепидид облигатно паразитируют лишь представители рода *Alcataenia* Spasskaja, 1971, объединяющего три вида: *Alcataenia compylacantha* (Krabbe, 1869) Spasskaja, 1971, *A. armillaris* (Rudolphi, 1810) Spasskaja, 1971, и *A. meinertzhageni* (Baer, 1956) Spasskaja, 1971. Все они описаны по материалу от чистиковых птиц Атлантики и Северного моря. В бассейне Тихого океана (о. Сахалин) зарегистрирована только *A. armillaris* (Кротов и Делямуре, 1952), причем все известные нам морфологические описания

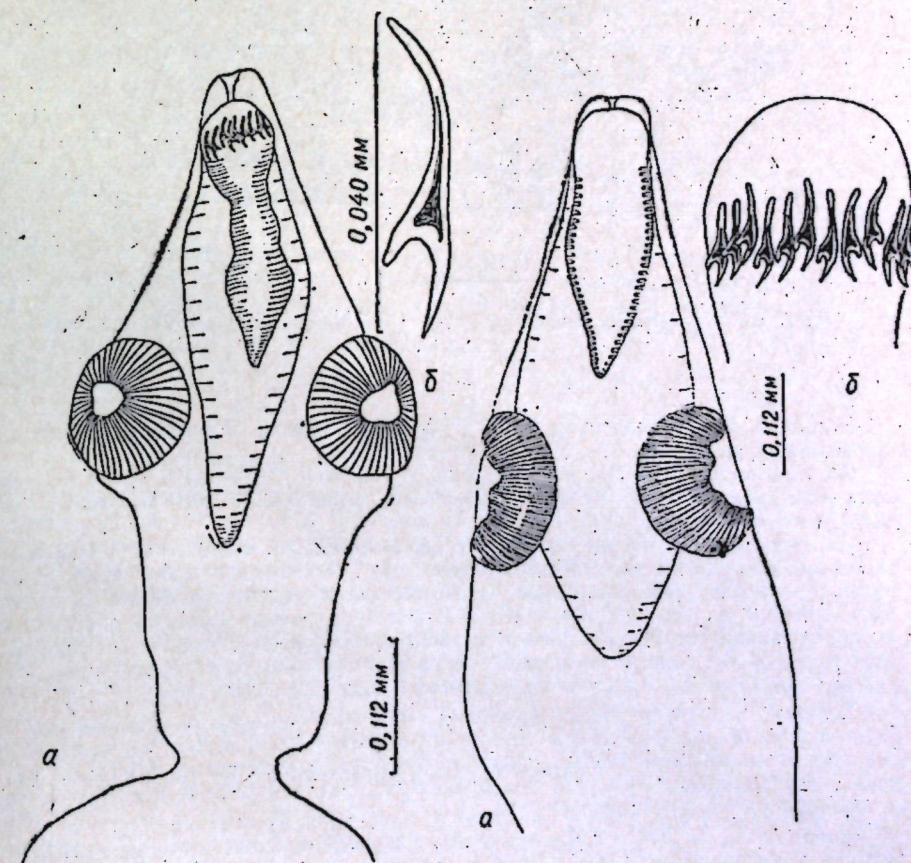


Рис. 1. *Alcataenia armillaris* (Rudolphi, 1810) Spasskaja, 1971: а — сколекс, б — схематическое расположение хоботковых крючков

Рис. 2. *Alcataenia armillaris* (Rudolphi, 1810) Spasskaja, 1971: а — сколекс, б — схематическое расположение хоботковых крючков

этих цестод очень кратки. Сведений о строении алькатений от тихоокеанских чистиков в опубликованных трудах нам вообще не удалось обнаружить, поэтому мы сочли целесообразным дать описание алькатений от кайр Олюторского залива Берингова моря, где летом 1960 г. работал отряд 317-й Союзной гельминтологической экспедиции (начальник отряда В. И. Фрезе). Олюторским отрядом было обследовано 739 птиц, в том числе 41 экз. чистиковых: 13 топорков и 28 кайр двух видов — 21 экз. *Uria aalge* и 7 экз. *U. lomvia*. Девять кайр инвазированы цестодами (7 и 2), которые морфологически идентичны *Alcataenia armillaris* (Rudolphi, 1810) Spasskaja, 1971. Кайры добыты на «птичьем базаре», расположенным на отвесной скале возле устья реки Апухи, где вместе с кайрами находятся топорки, чайки, бакланы. Эти птицы также были подвергнуты гельминтологическому обследованию, но алькатении найдены только у кайр. У чаек в этом районе нам встретились другие виды диплодид, лифилоботриид, тетработриид, о чем сообщается в отдельной работе (Спасская, Спасский, in print).

Несмотря на чрезвычайно высокую плотность популяции кайр на «птичьем базаре», интенсивность инвазии *A. armillaris* сравнительно не высока (1—5 экз.), что, видимо, объясняется особенностями их питания в открытом море.

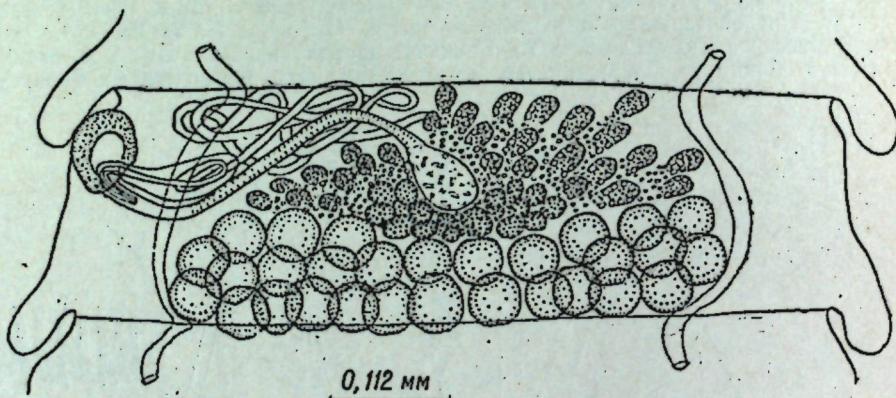


Рис. 3. *Alcataenia armillaris* (Rudolphi, 1810) Spasskaja, 1971: гермафродитный членник

Описание (по препарату № 125 от *Uria aalge*). Длина незрелой стробили 48 мм, наибольшая ширина 1,5 мм.

Сколекс шириной 0,325 мм, присоски диаметром 0,123—0,176 мм. Хоботковое влагалище длиной 0,364 мм при наибольшей ширине 0,112 мм. Хоботок размером 0,241×0,062 мм.

На препарате № 254 от того же хозяина сколекс отличается очень большим хоботковым влагалищем — 0,588×0,210 мм при обычных для этого вида размерах хоботка — 0,270×0,085 мм. Такое несоответствие в размерах хоботка и его влагалища говорит о том, что последнее выполняет не только функцию влагалища хоботка. Очевидно, сколекс этой цестоды может внедряться в стенку кишечника, при этом хоботковое влагалище наполняется жидкостью, благодаря чему червь прочно фиксируется (подобно *Aploparaksis penetrans* (Clerc, 1902; Clerc, 1903)).

Хоботок вооружен 20—22 крючьями, располагающимися в два неправильных ряда: в первом ряду — 1, 1, 1 и т. д., во втором — 2, 2, 2 и т. д., т. е. передний ряд образован каждым третьим крючком, но бывают отклонения, например, на препарате № 162 крючья лежат в два правильных ряда — 1:1:1:1 и т. д. и только по бокам хоботка расположение 1:2.

Длина крючьев 0,040—0,045 мм (лезвие длиной 0,012 мм, рукоятка — 0,028 мм). В области шейки имеется перехват, где ширина тела червя — 0,112 мм.

Половые отверстия неправильно чередуются, открываясь на боковой стороне передней половины членника. Половой атриум мускулистый, имеет вид присоски. Экскреторных каналов две пары, анастомозов не наблюдается. Половые протоки проходят между экскреторными сосудами.

В гермафродитных члениках (0,280—0,350×0,03—1,09) насчитывается 35—40 семенников, диаметр их 0,085 мм. Бурса цирруса чуть заходит за поральные экскреторные сосуды — 0,140×0,050 мм. Циррус, эвагинированный на 0,084 мм, на 0,106—0,016 мм, толщиной 0,020 мм, цилиндрической формы, дистальный конец его слегка сужен, шипиков на нем не обнаружено.

Яичник сильно лопастный, занимает всю переднюю половину среднего поля членников, лопасти его доходят до боковых сосудов.

Лопастный желточник размером 0,100×0,224 мм лежит в центре членника. Семяприемник овальный — 0,117×0,056 мм, располагается впереди поральной части желточника. Вagina в виде длинной трубки тянется позади бурсы цирруса, стени ее мускулистые, особенно хорошо заметны поперечные волокна. Зрелых членников в коллекции не оказалось.

ЛИТЕРАТУРА

- Кротов А. И., Делямуре С. А. Труды Гельминтологической лаборатории АН СССР, т. VI, 1952, стр. 278.
- Матевосян Э. М. Основы цестодологии, т. III. «Дилепидонды — ленточные гельминты домашних и диких животных», 1963, стр. 221—224, 231—232.
- Спасская Л. П. В сб.: Паразиты животных и растений, вып. VI. Кишинев, 1971, стр. 12.
- Спасская Л. П., Спасский А. А. «О цестодах чаек Земли коряков», in print.

Д. И. АТАМАНЮК, Г. М. МАКСИМЕНКО

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ САПОНИНОВ НА КАРОТИНОГЕНЕЗ ДРОЖЖЕЙ

Сапонины — природные соединения, пенящиеся в водных растворах, подобно мылам. Их относят к классу тритерпенгликозидов или стероидных глюкозидов. Известно, что сапонины влияют на синтез хлорофилла в зеленых растениях [2].

Так как каротиноиды образуются одновременно с хлорофиллом, интересно проследить влияние сапонинов на синтез каротиноидных пигментов.

Методика

В работе использована культура дрожжей *Rhodotorula gracilis* K-I. Дрожжи выращивали по описанной ранее методике [1]. Общее определение каротиноидных пигментов проводили по методу Виттманн [3]. Для исследования были взяты два вещества (сапонины), условно обозначенные: вещество А, вещество Д и смесь этих веществ (1:1). Оба они выделены из растений сотрудниками Института химии АН МССР.

Вещество А растворяли в небольшом количестве метанола (1 мл), затем водой доводили до необходимой концентрации, также готовили их смесь. Вещество Д хорошо растворялось в воде.

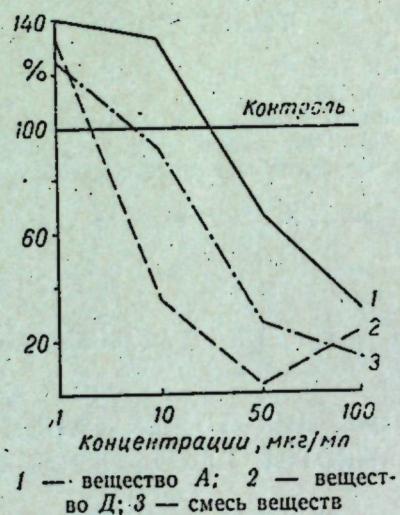
Результаты исследования

Влияние сапонинов на рост и развитие *Rhodotorula gracilis* своеобразно. Во всех исследованных концентрациях они угнетают рост биомассы, за исключением вещества А в концентрации 10 мкг/мл, где накопление биомассы на 32% превышает контроль. В дозе 100 мкг/мл сапонины почти полностью подавляют рост дрожжей (см. таблицу).

На каротинообразование дрожжей сапонины действуют следующим образом. Вещество А в концентрации 50—100 мкг/мл угнетает образование каротиноидных пигментов на 30—70%. Вещество Д и смесь веществ в концентрациях от 10 до

Влияние сапонинов на накопление биомассы
Rhodotorula gracilis (% к контролю)

Сапонины	%	Концентрации сапонинов, мкг/мл			
		100	50	10	1
Вещество А	—	0,4	80	132	71
Вещество Д	6,7	0,1	43	57	83
Смесь веществ	—	0,5	60	100	93



100 мкг/мл почти полностью угнетают пигментообразование, однако в дозе 1 мкг/мл они стимулируют его на 25–30% (см. рисунок).

Таким образом, влияние всех трех сапонинов на каротиногенез дрожжей, равно как и на рост биомассы, находится в обратной зависимости от их концентрации.

ЛИТЕРАТУРА

- Разумовский П. Н., Атаманюк Д. И. Известия АН МССР, серия биол. и хим. наук, № 10, 47, 1965.
- Balansard, Pellessier. Compt. rend. Soc. biol., 137, 763, 1943.
- Wittmann H. Arch. Mikrobiol., 25, 7, 373, 1957.

М. А. ЩЕРБАКОВ

СИНТЕЗ КСАНТОФИЛОВ ТЕРМОФИЛЬНЫМИ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Элективная анаэробная культура термофильных целлюлозных бактерий при энергичном сбраживании целлюлозы способна интенсивно накапливать в среде продукты метаболизма и синтезировать активные целлюлазы [1, 2]. Энергичное сбраживание целлюлозы сопровождается, как правило, стабильным образованием оранжевого пигмента. Данных о составе пигмента, образуемого элективной культурой термофильных целлюлозных бактерий, в литературе не встречается.

Настоящее сообщение посвящено выяснению природы пигмента, образующегося при интенсивном сбраживании целлюлозы элективной культурой термофильных целлюлозных бактерий.

Методика

При определении пигмента, образуемого термофильными целлюлозными бактериями, мы пользовались методом Гудвина [4, 5].

Для экстракции пигмента остаток целлюлозы, пигментированной бактериями, заливали ацетоном и взвешивали в делительной воронке. Затем ацетоновый экстракт пигментов отсасывали на шоттовской воронке № 3, упаривали на роторном вакуумном испарителе типа СД-09М при температуре водяной бани 35–40°. Спектр поглощения полученного пигментного ацетонового экстракта снимали на спектрофотометре СФ-10. Последующее извлечение пигментов из ацетонового экстракта проводили серным эфирем. Экстракт пигментов в серном эфире подсушивали прокаленным Na_2SO_4 и выпаривали досуха с помощью роторного испарителя. Полученный после высушивания остаток растворяли в небольшом объеме хлороформа и снимали спектр поглощения на спектрофотометре СФ-10. Для установления природы выделенного пигмента дополнительно к примененному нами методу спектрофотометрии проводили пробу на реакцию Кэрр-Прайса [3]. Параллельно ставили контроль на реактив Кэрр-Прайса с каротином и ликопином, полученными из томатов.

Развитие элективной культуры целлюлозных бактерий на жидкой среде с целлюлозой сопровождается характерными для этой культуры изменениями. После инокуляции среды 3–4-дневными культурами брожение возникает через 8–10 часов; со дна колбы начинают подниматься пузырьки газов; затем газообразование усиливается, бумага становится вялой, слегка слизистой и постепенно желтеет. Если брожение идет интенсивно, то, по мере разрушения целлюлозы, кусочки фильтровальной бумаги окрашиваются в оранжевый цвет. При вялом брожении окрашивания бумаги пигментом целлюлозных бактерий не происходит. Через 3–4 дня брожение почти заканчивается; на дне колбы остается небольшой рыхлый аморфный осадок желто-оранжевого цвета, состоящий из бактериальных клеток и остатков неразрушенной целлюлозы. Чем интенсивнее развивается бактерии, тем ярче эта окраска.

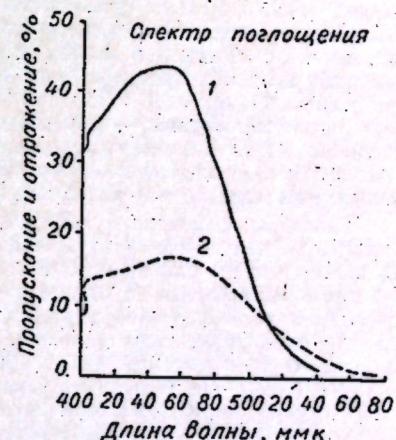
На рисунке приводятся спектры поглощения ацетонового и хлороформенного экстрактов пигмента целлюлозных бактерий, снятых на саморегистрирующем спектрофотометре СФ-10.

Максимум поглощения ацетонового экстракта лежит в области 440–460 мкм. Максимальное поглощение экстракта в хлороформе находится в области длины волн 450–465 мкм. Реакция Кэрр-Прайса, применяемая для обнаружения каротиноидов, в нашем опыте не дала четких положительных результатов, так как с SbCl_3 была недостаточно интенсивной. Пигмент удалось извлечь из ацетонового раствора не гексаном, а с помощью серного эфира и хлороформа.

Проведенные исследования позволяют полагать, что пигмент, образуемый термофильными целлюлозными бактериями, относится к окисленным каротиноидам — ксантофилам.

ЛИТЕРАТУРА

- Логинова Л. Г., Головачева Р. С. и Щербаков М. А. Микробиология, XXXV, 796, 1966.
- Щербаков М. А. Прикладная биохимия и микробиология, IV, 243, 1968.



3. Carr E. and Price E. Biochem. J., 497, 1926.
 4. Goodwin T. W. «Carotenoids». Moderne methoden des Phlangen analyse. Bd. III.
 Berlin. Cöllingen Heidelberg, 3, 272, 1955.
 5. Goodwin T. W. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Acadimie Prese.
 London and New-York, 1965.

П. М. БОТНАРЕНКО

ИНДУЦИРОВАННАЯ МУТАЦИЯ ДУРМАНА БЕЗВРЕДНОГО *DATURA INNOXIA MILL*

Дурман безвредный впервые был описан Миллером в 1768 г. В результате исследования Либизова [2—3] это растение было признано наиболее перспективным для получения алкалоида скополамина. Этот алкалоид извлекается из незрелых плодов, где содержание его наиболее высоко [1]. Как и атропин, скополамин вызывает мидриатический эффект (расширение зрачка). Кроме того, он входит в состав успокаивающих, снотворных и наркотических лекарств. Скополамин является лучшим средством от тошноты и используется при лечении морской и воздушной болезней. Быстрый рост потребности в этом алкалоиде привел к культивированию дурмана безвредного [1, 4].

Дурман безвредный — дикорастущее растение, при введении его в культуру ставится задача улучшить его полезные свойства. Получение мутантных форм его представляет непосредственный практический интерес, так как их можно использовать в качестве исходного материала для получения новых, более ценных форм.

Появление спонтанных мутаций — явление очень редкое, в связи с чем мы попытались индуцировать их N-нитрозоэтилмочевиной. Для этого сухие семена дурмана безвредного обрабатывали в чашках Петри в течение 18 часов раствором N-нитрозоэтилмочевины в концентрациях 0,05 : 0,025 и 0,0125. Обработанные семена промывали в течение часа водопроводной водой и в тот же день высевали на опытном участке. От каждого растения M_1 семена были собраны отдельно и посажены в следующем году посемено. Они дали растения M_2 поколения. Всего семя в M_2 было 44 (по 15—16 растений в семье), из них 5 — контрольных и 39 — обработанных. Причем одна и та же, мутация обнаружена в трех семьях из 39.

Отличительной чертой полученной мутации является характер ветвления и развития побегов. Ветвление первого и второго порядка вильчатое. Две вновь образовавшиеся ветви развиваются почти одинаково. У полученного мутанта, начиная с

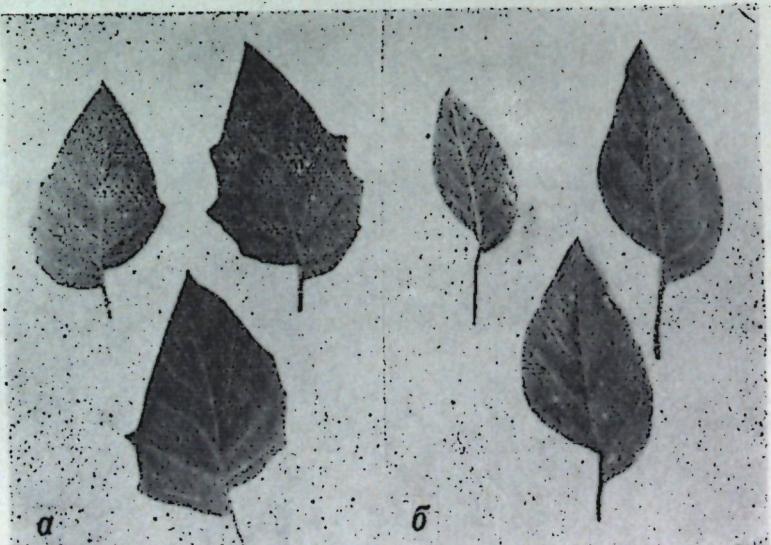


Рис. 1. Листья: а — исходной формы растений; б — мутантной формы

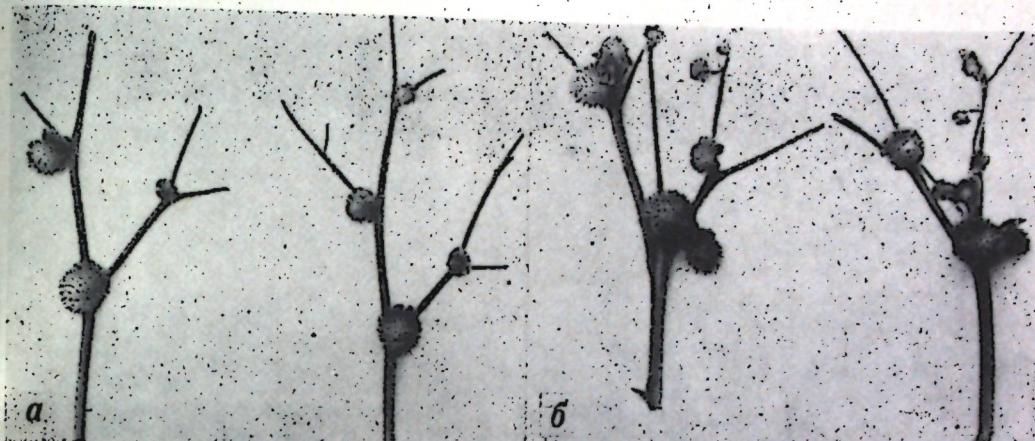


Рис. 2. Плодоношение: а — исходной формы растений; б — мутантной формы

ветвей 3-го порядка, в результате ветвления из двух вновь образующихся ветвей одна развивается нормально, а вторая растет в длину только на 2—3 см вместо 15—20. В результате получаются компактные, низкорослые растения, средняя высота которых 3 августа была 90 см, а у контроля — 111 см. Диаметр размаха ветвей — 48,2±13 см, у контроля — 116±12,1 см. Пластинка листа у новой формы цельнокрайняя, у контроля — слабо зубчато-выемчатая (рис. 1, а, б). У дурмана безвредного в каждой развилине стебля развивается по одному цветку и плоду. У полученной формы из-за сильного укорачивания ветвей (2—3 см) плоды скучены по 2—4 (рис. 2, а, б).

У контрольных растений дурмана безвредного на кусте находится в среднем по 10—12 плодов, у полученной формы — по 18—19. У мутантной формы в 1970 г. наблюдалось более сильное поражение вирусными заболеваниями, чем у контрольных растений. При предварительном химическом анализе на содержание алкалоидов в незрелых плодах новой формы сумма алкалоидов на воздушно сухой вес составляла 0,437%, а у контроля — 0,546%. Возможно, что пониженное содержание алкалоидов относительно контроля объясняется заболеванием растений столбром.

Следовательно, полученный мутант отличается от исходного типа низкорослостью и компактностью растений, а также повышенной плодовитостью. Поэтому он обладает определенными хозяйственными полезными свойствами и может быть использован в дальнейшей селекционной работе.

ЛИТЕРАТУРА

- Герасименко И. И., Либизов Н. И., Никольская Б. С. и Сацыперов Ф. А. Дурман индийский. М., Медгиз, 1953.
- Либизов Н. И. Доклады ВАСХНИЛ, № 3, 1941.
- Либизов Н. И. Труды ВИЛАР. М., вып. X, 1950.
- Avery A., Salina S., Rietsema J. The Genus *Datura*. Ronald Press., N-Y, 1959.

РЕФЕРАТЫ

УДК 581.17

Определение ростовых веществ в семенах и стерильных семяпочках винограда. Лудникова Л. А. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 3—5.

С помощью бумажной хроматографии с последующим биотестом на пшеничных колеоптилях проведено определение ростовых веществ в метаноловых вытяжках из стерильных семяпочек партенокарпических плодов и нормально развивающихся семян обычных (семянных) плодов винограда. Выяснено, что не только нормально развивающиеся семена, но и стерильные семяпочки содержат ростактивирующие вещества.

Рисунок 2, библиографий 4.

УДК 633—854—7

Некоторые биологические особенности шалфея эфиопского (*Salvia acutioris* L.) в естественных условиях прорастания. Бодруг М. В. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 5—9.

Приводятся сведения о биологических особенностях шалфея эфиопского в естественных условиях прорастания в Молдавской ССР. Более подробно излагаются данные о биологии цветения, в частности суточной динамики раскрытия цветков. На основании этих наблюдений шалфей эфиопский отнесен к растениям с утренним типом раскрытия цветков. Установлено, что всхожесть семян ш. эфиопского находится в тесной зависимости от сроков хранения. Практически для посевов лучше использовать семена, хранившиеся не более одного года. Приводятся данные о количественном содержании эфирного масла по органам растений и в течение суток.

Таблица 1, рисунков 1, библиографий 8.

УДК 576.314

Некоторые данные о тонкой структуре плазмодесм. Чухрий М. Г. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г. с. 10—13.

Изучение тонкой структуры плазмодесм позволило установить, что развитие плазмодесм оболочек клеток корнеплода свеклы и мякоти плода столового арбуза коррелирует с развитием простых пор. Общее число плазмодесм, как и простых пор в процессе онтогенеза, не изменяется, возрастают только интервалы между ними, увеличиваясь их диаметр, также число множественных пор и число ветвистых плазмодесм. Плазмодесмы в области срединной пластинки у взрослых растений образуют узелки. Эндоплазматическая сеть и везикулы диктиосом могут контактировать с плазмодесмами. В области пор сконцентрировано много митохондрий, диктиосом, эндоплазматическая сеть, что образует поро-плазмодесменную систему.

УДК 581:19,4

О возникновении и использовании некоторых типов макромутантов мягкой пшеницы. Морару К. В. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 14—19.

Доказано возникновение макромутантов в потомстве исходных линий, выражаемых при высоте солнцестояния 22° и выше.

Рефераты

Характеризуется формообразовательный процесс в потомстве мутантов и мейоз последних. Обсуждаются вопросы возникновения спельтоидов и использование мутантов в селекции.

Таблица 4, рисунков 1, библиографий 18.

УДК 581.032; 581.573

Влияние минерального питания и влажности почвы на водный режим и пигментную систему листьев яблони. Кушниренко М. Д., Корнеску А. С., Медведева Т. Н. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 19—24.

Приводятся данные, показывающие, что растения яблони сорта Ренет Симиренко, выращиваемые при полном NPK и оптимальной влажности почвы (70% от ПВ), лучше развиваются, листья этих растений отличаются высоким тургором и содержат большое количество пигментов по сравнению с растениями, неудобренными. При отсутствии полива эти растения значительно снижают тургор, а также содержание пигментов.

Растения же недостаточного увлажнения почвы, у которых степень изменения пигментов листьев под воздействием засухи невелика, отличаются и более высокими водоудерживающими силами и тургором листьев.

В статье развивается и подтверждается высказанная ранее гипотеза о роли зеленых пластид в водном режиме растений.

Таблица 2, рисунков 3, библиографий 12.

УДК 612.015.3:581.134

О взаимосвязи между закладкой цветочных почек и углеводно-азотным обменом яблони. Бабина Б. И. и Кириллова Э. Н. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 24—29.

На основании полученных в течение ряда лет (1962—1968) экспериментальных данных выявлена взаимосвязь между закладкой цветочных почек и углеводно-азотным обменом яблони. Показано, что закладка цветочных почек коррелирует с усилением синтетических процессов в кольчатках — органах, на которых непосредственно формируются плоды, о чем свидетельствует высокое содержание крахмала, белкового азота, а также более высокая величина крахмал в кольчатках деревьев азот

без урожая, закладывающих цветочные почки урожая будущего года. Найдены показатели подготовленности растений к плодоношению.

Таблица 3, рисунков 2, библиографий 20.

УДК 632.122.581.1

Влияние системных препаратов на некоторые физиологические процессы растений. Принц Е. Я. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 30—35.

Изучалось влияние системных препаратов (Би-58, рогора, диметоата и фосфамида) на некоторые стороны водного режима у поврежденных калифорнийской щитовой растений. Определялись средний прирост однолетних побегов, содержание хлорофилла в листьях, водоудерживающая способность листьев и водный дефицит.

На основании полученных данных, по всем изучавшимся физиологическим показателям делается вывод, что системные препараты стимулируют рост и развитие растений, благоприятно действуют на их водный режим.

Таблица 12, библиографий 11.

УДК 547.962

Хроматографическое и электрофоретическое исследование солерасторимых белков семян кукурузы. Клименко В. Г., Окопный Н. С. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 35—42.

Хроматографией на ДЭАЭ-целлюлозе и гидрокспапатите были разделены белки суммарного солевого экстракта семян кукурузы и выделенных из него глобулинов, осаждающихся при pH 4,3 и 5,7, а также суммарный альбумин. В хроматографии

вических фракциях было определено содержание белков и нуклеиновых кислот. Белки хроматографических фракций изучали электрофорезом на бумаге.

Установлено, что суммарный солевой экстракт и выделенные из него глобулины и альбумины при хроматографии на вышеупомянутых носителях разделились на значительное количество фракций, белки которых в различных количественных соотношениях связаны с нуклеиновыми кислотами, а при их электрофорезе делятся на несколько зон. Это указывает на то, что глобулины и альбумины, составляющие суммарный солевой экстракт семян кукурузы, не являются однородными белками, и представляют сложные биохимические системы.

Рисунок 6, библиографий 12.

УДК 576.8

Состав суммарных липидов некоторых актиномицетов в зависимости от питательной среды. Ковалчук Л. П., Гаркавенко А. И., Савченко Л. Ф., Разумовский П. Н. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 43—48.

Приводятся данные по качественному составу и количественному содержанию суммарных липидов мицелия четырех видов актиномицетов в зависимости от состава питательной среды.

Установлено наличие в липидах следующих фракций: фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов, свободных стеринов, свободных жирных кислот, триглицеридов и эфиров стеринов и воска, а также 4 неидентифицированные фракции.

Преобладающей фракцией в составе липидов являются триглицериды, в значительных количествах присутствуют стерины. Во фракции стеринов обнаружено вещество, обладающее высокой биологической активностью на микро- и макроорганизмы.

Таблица 2, рисунок 2, библиографий 9.

УДК 581.14.635.65

Влияние ростовых веществ на инфицирование бобовых клубеньковыми бактериями. Сабельникова В. И., Жижина А. С., Волоскова М. М. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 48—51.

В статье приведены данные о влиянии ростовых веществ: кинетина, β-индолилуксусной кислоты и трех неидентифицированных веществ ($x - R_f = 0,20 - 0,24$; $y - R_f = 0,45 - 0,50$; $z - R_f = 0,30 - 0,40$), элюированных из пятен хроматограмм экстрактов корней и клубеньков сои, на рост и развитие бобовых растений, их инфицирование клубеньковыми бактериями.

Установлено, что β-индолилуксусная кислота, особенно кинетин, вещества z и x стимулируют рост и развитие люцерны, в том числе оказывают положительное влияние на густоту, длину, ширину, степень деформирования, инфицирование корневых волосков и образование клубеньков. В их присутствии процесс инфицирования происходит на более ранних стадиях и более интенсивно.

Вещество, элюированное из пятна y , отрицательно влияло как на рост самого растения, так и его инфицирование.

Таблица 1, рисунок 1, библиографий 13.

УДК 577,15

К методике определения L-тироэозин:2-оксо-глутарат-аминотрансферазы винных дрожжей. Липатова В. К. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 51—54.

Предлагается методика определения фермента азотистого обмена L-тироэозин:2-оксо-глутарат-аминотрансферазы винных дрожжей, участвующей в образовании ароматических веществ вина. Определение активности фермента основано на спектрофотометрическом определении скорости катализируемой им реакции, и способности образовывать комплексы, обладающие определенным спектром поглощения.

Предполагаемая методика по сравнению с описываемыми в литературе отличается несложностью подготовки образца и более скорым определением активности фермента.

Рисунок 1, библиографий 12.

УДК 631.811.633.16

Влияние фосфора на аденоцитофосфатазную активность и дыхание клубеньков. Сергеева Н. В., Брунь Г. А., Дроздова И. В., Седринская А. Ф. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 54—56.

В результате исследования влияния фосфора на АТФ-азную активность сои в вегетационном опыте было установлено, что уровень содержания фосфора в питательной среде оказывает определенное влияние на дыхание и АТФ-азную активность различных органов бобового растения. При внесении двойной дозы фосфора значительно уменьшается процесс дыхания. Это действие фосфора на активность АТФ-азы более четко проявляется в листьях верхнего яруса, чем нижнего.

Таблица 4, библиографий 21.

УДК

Микроэлементы у пресноводных мизид и амфиопод. Петкевич Т. А. и Степанова Г. М. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 57—59.

Исследованные нами пресноводные мизиды (*Limnotomysis benedeni*, *Paramysis lacustris*) и амфиоподы (*Dikerogammarus haemobaphes*, *Pontogammarus robustoides*, *Chaetogammarus ischnus*) из водоемов Молдавии, устья Дона концентрируют в большом количестве такие важнейшие биоэлементы, как Mn Fe, Cu, Zn и другие (всего 17 — у мизид и 14 — у амфиопод), количественное содержание которых изменяется в зависимости от видовой специфиности и экологических условий.

Таблица 1, библиографий 7.

УДК 591.444

Гистоструктура щитовидной железы у крыс при иммунизации. Бабэр Г. М. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 60—62.

Излагаются данные об изменениях гистоструктуры щитовидной железы при различных сроках иммунизации организма. Опыты проводились на белых калининских взрослых крысах.

Установлено, что иммунизация животных тетравакциной влияет на гистоструктуру щитовидной железы и что характер её изменения во многом определяется состоянием двигательного аппарата. При свободном поведении животного иммунизация вызывает явления гиперфункции, в то время как при ограничении движений — гипофункции.

Рисунок 3, библиографий 13.

УДК 547

Кумэстановые фитоэстрогены. Шамшурин А. А., Симонова Л. Л. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 63—71.

Обзор посвящен исследованиям в области кумэстановых фитоэстрогенов. В нем обобщены как собственные исследования авторов, так и литературные данные по установлению строения, путям образования, синтезу кумэстановых фитоэстрогенов и их биологической активности.

Таблица 4, схема 11, библиографий 29.

УДК 546.72:541.49

α -Бензилдиоксимы железа(II) с монодентатными бифункциональными производными пиридина. Батыр Д. Г., Булгак И. И. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 71—73.

Из диметилформамид-метанольного раствора (1:1), содержащего хлорид железа(II), α -бензилдиоксим (H_2Df), никотинамид и ацетат натрия в молярном соотношении 1:2:2:2 выделены темно-коричневые кристаллы, отвечающие формуле $[Fe(HDf)_2(C_5H_4NCOH_2)_2]$. Аналогично были получены и другие соединения $[Fe(HDf)_2L_2]$, где L — N,N-диэтапникотинамид, N-оксиметилникотинамид, этилникотинат, 3-бензоилипиридин и 4-аминопиридин. Все соединения трудно растворимы в воде и органических растворителях (метанол, этанол, эфир).

Таблица 1, рисунок 1, библиографий 7.

УДК 664.34:66.067.8

Теплота смачивания и гидрофильность активированного и катионзамещенного бентонита Молдавии. Коноваленко О. С., Флештор Н. Т., Лобанов Н. И. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 74—78.

Проведено изучение теплоты смачивания активированного и катионзамещенного (Ca^{2+} , Na^+ , K^+) бентонита Молдавии термически обработанного при 110°, 200°, 250°, 300°C.

Рассчитаны гидрофильные характеристики глины (количество связанный воды и эффективная удельная поверхность).

Установлена максимальная гидрофильность бентонита при температуре 250°C. Показано, что на гидрофильные свойства существенное влияние оказывают как кислотная, термическая активация, так и природа поглощенных катионов, которые по снижению гидрофильности располагаются в следующей последовательности:

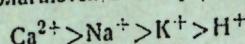


Рисунок 1, таблица 2, библиографий 6.

УДК 632.937.16

Применение вируса ядерного полиэдроза в борьбе с американской бабочкой. Диксар М. К. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 79—82.

В статье приводятся данные успешных полевых испытаний вируса ядерного полиэдроза в борьбе с американской бабочкой. Опрыскивание участков сада взвесями полизидров $1,4-14 \times 10^6$ в 1 мл при среднесуточной температуре 20,3° приводит к гибели 93,2—100% гусениц I и II возрастной стадии через 15 дней с момента опрыскивания.

Данные полевых опытов свидетельствуют о распространении болезни и на контрольные участки (расстояние 15 м).

Таблица 5, библиографий 3.

УДК 595.121.5

Alcataenia armillaris (*Cestoda Dilepididae*) от тихоокеанских чистиков. Спасская Л. П., Колотилова Э. М. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 83—85.

В работе приведено морфологическое описание *Alcataenia armillaris* от кайр Ольсторского залива. Сведений о строении алькатений от тихоокеанских чистиков в опубликованных трудах нам не встречалось. Кайры добыты на «птичьем базаре», расположенным на отвесной скале возле устья реки Апуки. Несмотря на чрезвычайно высокую плотность популяции кайр на «птичьем базаре», интенсивность инвазии *A. armillaris* сравнительно не высока (1—5 экз.), что, видимо, объясняется особенностями их питания в открытом море.

Библиографий 3, рисунков 3.

УДК 576,8

Влияние некоторых сапонинов на каротиногенез дрожжей. Атаманюк Д. И., Максименко Г. М. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 85—86.

Влияние сапонинов на рост и развитие дрожжей своеобразно. Они в основном угнетают выход биомассы и каротинообразование и только в очень низких концентрациях (1 мкг/мл) на 25—30% стимулируют его.

Таблица 1, рисунков 1, библиографий 3.

УДК 577.15/17

Синтез ксантофилов термофильными целлюлозными бактериями. Щербаков М. А. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 86—88.

Настоящее сообщение посвящено выяснению пигmenta, образующегося при интенсивном сбраживании целлюлозы электрической культурой термофильных целлюлозных бактерий.

На основании спектра поглощения пигmenta и при сопоставлении его с литературными данными, можно полагать, что пигмент, образуемый термофильными целлюлозными бактериями, относится к окисленным каротиноидам — ксантофилам.

Рисунок 1, библиографий 6.

УДК 581.15:582.951

Индукционная мутация дурмана безвредного (*Datura innoxia* Mill.). Ботнаренко П. М. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г., с. 88—89.

При обработке семян дурмана безвредного раствором N-нитрозоэтилмочевины в M_2 выявлена мутантная форма, отличающаяся от исходной низкорослостью, компактностью и плодовитостью. Коробочки у данной формы располагаются по 2—4. Полученная форма более чувствительна к вирусным заболеваниям.

Рисунок 4, библиографий 4.

СОДЕРЖАНИЕ

Ботаника

- | | |
|--|----|
| Л. А. Лудникова. Определение ростовых веществ в семенах и стерильных семяпочках винограда | 3 |
| М. В. Бодруг. Некоторые биологические особенности шалфея эфиопского (<i>Salvia acthiopsis</i> L.) в естественных условиях произрастания | 5 |
| М. Г. Чухрий. Некоторые данные о тонкой структуре плазмодесм | 10 |

Физиология и биохимия растений

- | | |
|---|----|
| К. В. Морару. О возникновении и использовании некоторых типов макромутантов мягкой пшеницы | 14 |
| М. Д. Кущинченко, А. С. Корнеску, Т. Н. Медведева. Влияние минерального питания и влажности почвы на водный режим и пигментную систему листьев яблони | 19 |
| Б. И. Библина, Э. Н. Кириллова. О взаимосвязи между закладкой цветочных почек и углеводно-азотным обменом яблони | 24 |
| Е. Я. Принц. Влияние системных препаратов на некоторые физиологические процессы растений | 30 |
| В. Г. Клименко, Н. С. Окопный. Хроматографическое и электрофоретическое исследование солерастворимых белков семян кукурузы | 35 |

Микробиология

- | | |
|--|----|
| Л. П. Ковалчук, А. И. Гаркавенко, Л. Ф. Савченко, П. Н. Разумовский. Состав суммарных липидов некоторых актиномицетов в зависимости от питательной среды | 43 |
| В. И. Сабельникова, А. С. Жижина, М. М. Волоскова. Влияние ростовых веществ на инфицирование бобовых клубеньковыми бактериями | 48 |
| В. К. Липатова. К методике определения L-тирозин:2-оксо-глутарат-аминотрансферазы винных дрожжей | 51 |
| Н. В. Сергеева, Г. А. Брунь, И. В. Дроздова, А. Ф. Серединская. Влияние фосфора на аденоинтрифосфатазную активность и дыхание клубеньков | 54 |

Гидробиология

- | | |
|--|----|
| Т. А. Петкевич, Г. М. Степанова. Микроэлементы у пресноводных мизид и амфиопод | 57 |
|--|----|

Физиология и биохимия животных

- | | |
|---|----|
| Г. М. Бабэрэ. Гистоструктура щитовидной железы у крыс при иммунизации | 60 |
|---|----|

Химия

- | | |
|---|----|
| А. А. Шамшурин, Л. Л. Симонова. Кумэстановые фитоэстрогены | 63 |
| Д. Г. Батыр И. И. Булгак. α -Бензилдиксимины железа(II) с монодентатными бифункциональными производными пиридина | 71 |
| О. С. Коноваленко, Н. Т. Флештор, Н. И. Лобанов. Теплота смачивания и гидрофильность активированного и катионзамещенного бентонита Молдавии | 74 |

Наука — народному хозяйству

- | | |
|--|----|
| М. К. Диксар. Применение вируса ядерного полиэдроза в борьбе с американской бабочкой | 79 |
|--|----|

Стр.

3

5

14

19

24

30

43

48

51

54

63

71

74

Краткие сообщения

Л. П. Спасская, Э. М. Колотилова. <i>Alcataenia armillaris</i> (Cestoda: Dilepididae)	83
от тихоокеанских чистиков	
Д. И. Атаманюк, Г. М. Максименко. Влияние некоторых сапонинов на каро-	85
тиогенез дрожжей	
М. А. Щербаков. Синтез ксантофилов термофильными целлюлозными бакте-	86
риями	
П. М. Ботнаренко. Индуцированная мутация дурмана безвредного <i>Datura</i>	88
<i>innoxia</i> Mill	

Рефераты

Поправка к схеме 9

Продолжение формулы VII читать под формулой I (вторая строка, стр. 68).

Известия АН МССР, Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР
Серия биологических и химических наук, № 3, 1971 г.

Редактор И. Карякина
Художественный редактор В. Пашецев
Технический редактор Н. Попеску
Корректор И. Сперанская

Сдано в набор 16/IV. 1971 г. Подписано к печати 8/VII. 1971 г. Формат бумаги 70×108^{1/4}.
Печ. л. 6,0.+6 вкл. Уч.-изд. л. 8,35. Усл. печ. л. 9,45. Тираж 650. АБ06157. Цена 45 коп.
Заказ № 353.

Бумага типографская № 2.
Издательство «Штиница»
Кишинев, 277001, проспект Ленина, 1.

Типография издательства «Штиница», Кишинев, 277004, ул. Берзарина, 10.