

# БУЛЕТИНУЛ

АКАДЕМИИ ДЕ ШТИНЦЕ А РСС МОЛДОВЕНЕШТЬ

# ИЗВЕСТИЯ

АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР



СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКИХ  
И ХИМИЧЕСКИХ НАУК

4

1977

# БУЛЕТИНУЛ

АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ А РСС МОЛДОВЕНЕШТЬ

# ИЗВЕСТИЯ

АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

Журнал основан в 1951 году. Выходит 6 раз в год



СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКИХ  
И ХИМИЧЕСКИХ НАУК

4

1977

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ШТИИНЦА» • КИШИНЕВ • 1977

Центральная научная библиотека

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Академики АН МССР А. А. Спасский (главный редактор), М. Ф. Ярошенко, члены-корреспонденты АН МССР Т. С. Гейдеман (зам. главного редактора), В. В. Арасимович, доктор биологических наук М. Д. Куширенко, доктор сельскохозяйственных наук В. Н. Лыиков, доктор химических наук Д. Г. Батыр, кандидат биологических наук А. И. Брынза (ответственный секретарь)

© Издательство «Штинница», 1977 г.

## СОДЕРЖАНИЕ

### Ботаника

- К. Р. Витко, Р. В. Черных. Интенсивность транспирации в различных ярусах кроны дуба пушистого и дуба скального в засушливых условиях произрастания . . . . . 5

### Физиология и биохимия растений

- Т. А. Гранатская, В. И. Зищенко. Влияние условий вегетации на содержание полисахаридов в виноградной ягоде . . . . . 12  
В. А. Рева, В. Г. Клименко. Фракционирование белков созревающих семян кукурузы и исследование их солерастворимой фракции хромато-электрофоретическими методами . . . . . 14

### Генетика

- Л. А. Бойко, А. Н. Зарецкая. Изменение стрептомицин- и фагорезистентности у трансформантов клубеньковых бактерий люцерны . . . . . 23

### Микология и вирусология

- А. Д. Дешкова, И. С. Попшой, Т. В. Плачинта. Влияние вертициллеза на активность окислительных ферментов устойчивого и восприимчивого сортов перцев . . . . . 27  
В. В. Бужоряну, М. Я. Молдован. Внутрисклеточное развитие вируса табачной мозаики (*Nicotiana virus 1*) . . . . . 32

### Микробиология

- Т. П. Дворникова. Влияние условий культивирования на 5-индолгидроксилазную активность *Aspergillus niger* 78 . . . . . 37  
Л. Л. Ефремова, С. П. Ильинская, Ф. Д. Костик. Фракционирование ферментного препарата Пектаризин Г10х . . . . . 41  
М. А. Щербаков, Е. Е. Емнова, Н. И. Заяц. Влияние источников углерода на биосинтез целлюлазы и ксиланазы грибом *Fusarium oxysporum* . . . . . 45  
В. И. Сабельникова, Г. А. Брунь. Биосинтез ростовых веществ клубеньковыми бактериями люцерны (*Rhizobium meliloti* Frank) . . . . . 49

### Физиология и биохимия животных

- Валентин Коварский. Термодинамические аспекты кормления животных . . . . . 54

Паразитология

- Н. С. Окопный, А. А. Спасский. Роль ферментов в системе паразит—хозяин при мелойдогнозе . . . . . 59

Палеонтология

- А. В. Карелина. Алгоритм построения формализованных описаний палеонтологических объектов . . . . . 66

Химия

- В. И. Руссу, П. И. Руссу, Г. В. Стратулат, В. М. Ропот. Количественное определение содержания различных минералов в смешанослойных природных образованиях . . . . . 71  
М. И. Жеру, В. А. Смирнова, Л. С. Водичар, Н. Т. Окопная, И. И. Монахова. Минералогия гидрослюдистой глины и исследование возможности ее практического применения . . . . . 76

Наука — производству

- Ф. М. Базелюк. Выведение гибридов табака, комплексно-устойчивых к ложной мучнистой росе и вирусу табачной мозаики . . . . . 81

Краткие сообщения

- А. С. Корнеску. Влияние препарата ТУР на водный режим и ростовые процессы яблони . . . . . 86  
Т. Н. Ракова, Л. П. Ковальчук, Е. Я. Качалова, В. Н. Ядовина. Аминокислотный состав *Actinomyces griseus* 15 — продуцента гризина . . . . . 88  
А. И. Давид. Новые данные о распространении ископаемого европейского осли в Восточной Европе . . . . . 89

- Рефераты . . . . . 92

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

Серия биологических и химических наук  
1977, № 4

Редактор С. А. Фридман  
Художник С. Е. Одайник  
Художественный редактор Э. Б. Ходякова  
Технический редактор Н. В. Попеску  
Корректоры Н. Ф. Торпан, Н. И. Яновер

Сдано в набор 4.IV 1977 г. Подписано к печати 8.VII 1977 г. АБ04278. Формат 70×108<sup>1/16</sup>.  
Бумага тип. № 2. Усл. печ. л. 8,92 (8,4+0,52 вкл.). Уч. изд. л. 8,82 (8,34+0,48 вкл.): Тираж 655.  
Цена 45 коп. Зак. № 197

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

БОТАНИКА

К. Р. ВИТКО, Р. В. ЧЕРНЫХ

ИНТЕНСИВНОСТЬ ТРАНСПИРАЦИИ  
В РАЗЛИЧНЫХ ЯРУСАХ КРОНЫ ДУБА ПУШИСТОГО  
И ДУБА СКАЛЬНОГО В ЗАСУШЛИВЫХ УСЛОВИЯХ  
ПРОИЗРАСТАНИЯ

Особенности водного режима листьев верхнего и нижнего ярусов кроны в основном изучались в сомкнутых лесных сообществах, где условия под пологом и над кроной резко контрастны [6, 7, 14]. Горышиной с соавторами [7] установлено, что в лесостепной дубраве заповедника «Лес на Ворскле» (Белгородская обл.) у дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) верхние листья транспирируют в среднем в 4 раза интенсивнее, чем нижние. Наши ориентировочные наблюдения [2] показали, что в сухой скумпиевой дубраве в Молдавии при значительной разреженности древостоя и световом типе строения крон [9] у дуба скального (*Q. petraea* Liebl.) верхние листья транспирируют в 1,5 раза слабее, что противоречит закономерности, установленной для высокополнотных древостоев.

Подробные сведения об особенностях транспирации в верхней и нижней зонах кроны дуба пушистого (*Q. pubescens* Willd.) и скального в ксероморфных сообществах ранее отсутствовали. В настоящей статье приводятся данные по сезонной и дневной динамике интенсивности транспирации в связи с анатомическими особенностями строения листьев и динамикой открытости устьиц у этих двух видов разного географического происхождения.

Дуб пушистый — гемиксерофильный субсредиземноморский вид, эдификатор семиаридных гырнецовых дубрав южной Молдавии, где для структуры его кроны характерно сравнительно равномерное распределение олиственных ветвей по стволу, начиная с высоты двух метров, а на опушках почти от основания [11]. Дуб скальный — мезоморфный, средневропейский вид, являющийся эдификатором как свежих, так и сухих типов леса в округе широколиственных лесов Кодр [5], при этом распределение листьев в пределах кроны в свежих и сухих типах леса значительно отличается [11, 12]. В южной части округа Кодр местами эти виды произрастают совместно. Своеобразной формой их ассоциирования являются комплексы фрагментов фитоценозов с преобладанием то одного, то другого вида дуба [4, 3].

В одном из таких комплексов на территории Реденской лесной дачи (квартал 37—38) Кишиневского мехлесхоза в 1974—1975 гг. мы проводили наблюдения за показателями микроклимата, влажности почвы, водного режима основных компонентов древесного, кустарникового, травяного ярусов (интенсивность транспирации, содержание и дефицит воды в листьях). Применяли полевые эколого-физиологические методы. Интенсивность транспирации изучали с мая по сентябрь методом быстрого взвешивания [8] срезанных листьев на 500-миллиграммовых торзионных весах. Экспозиция была трехминутной, повторность опыта шестикратной. Показатели снимали в 8—10, 10—12, 13—

15 и 17—19 часов. Одновременно определяли степень отверстости устьиц методом инфильтрации жидкостей (по Молишу). Интенсивность транспирации вычисляли в граммах на грамм сырых листьев в час. Для сравнения использованы данные, полученные нами ранее по основным анатомическим параметрам листьев дуба пушистого и скального в этом же местообитании [13].

Сомкнутость полога на пробной площади в среднем 0,5, в пределах фрагментов фитоценозов 0,6—0,7. Древостой порослевый, дуб расположен группами по 3—5 стволов. Высота дуба пушистого до 10 м, бонитет V; скального — до 12 м, бонитет IV. Подробнее участок описан ранее [13].

Наблюдения за особенностями структуры крон дуба пушистого и скального, а также за мозаикой освещения в сравниваемых фрагментах показали, что у дуба пушистого кроны более ажурные, освещение под ними довольно равномерное и составляет в среднем за день в летние месяцы 2800—4500 лк, или 13—14% от освещения на открытом месте, в дневные часы обычные участки с освещением 6000 лк. У дуба скального кроны более плотные, освещение в среднем за день 2000—2900 лк (9—10%); в дневные часы преобладают участки с освещением 4000 лк. Распределение листовой массы в кронах типично для сухих типов, когда значительная часть олиственных ветвей находится на небольшой высоте, что особенно хорошо прослеживается у дуба пушистого [9, 11].

Дуб пушистый в сезонном развитии отстает от скального на 10—12 дней, что способствует большей освещенности и прогреванию пушистодубовых фрагментов весной\*.

Температурные условия под пологом довольно напряженные. Температура на поверхности лесной подстилки под дубом пушистым достигала 37,8°C, под скальным — 32,5°C. Однако в среднем сравниваемые фрагменты по температуре воздуха и почвы различались мало (см. таблицу). Относительная влажность воздуха в ясные летние дни составляла 35—50%, в отдельные часы снижалась до 19%.

1974—1975 гг. были засушливыми, а содержание влаги в почве низким даже весной. В течение вегетации влажность почвы на глубине более 20 см фактически держалась на одном уровне и была близка к влаге завядания. Таким образом, изучение транспирации проводилось при напряженных микроклиматических режимах и низкой влагообеспеченности почвы. При разреженности древесного полога различия в условиях освещения листьев в нижнем и верхнем ярусах крон не являются столь контрастными, как это отмечено для высокополнотных древостоев [6].

Сравнительный анализ анатомических особенностей листьев показал, что ксероморфные черты более выражены у дуба пушистого. К ним относятся довольно высокий коэффициент палисадности (35—45%), большая толщина листа (до 217 мкм) и его кутикулы (до 5,5 мкм), значительное число устьиц (336—365 на мм<sup>2</sup>) и несколько меньшие их размеры (21,8×15,9 мкм). У дуба скального коэффициент палисадности составлял 31—36%, толщина листа не превышала 142 мкм, число устьиц 231—252 на мм<sup>2</sup>.

У дуба пушистого различия в анатомической структуре верхних и нижних листьев выражены сильнее. У верхних листьев толщина в

\* Разновременность развития влияет и на интенсивность физиологических процессов.

Изменение среднедневной интенсивности транспирации у дуба пушистого и скального в 1974 г. (г/г сырого веса листьев в час)

Показатель	Месяцы					В среднем за период V—IX	Максимальная за период	
	V	VI	VII	VIII	IX		V	VI—IX
<i>Quercus pubescens</i> Willd.								
Интенсивность транспирации в верхней части кроны	0,17	0,19	0,21	0,17	0,14	0,18	0,20	0,39
в нижней части кроны	0,16	0,29	0,24	0,22	0,20	0,22	0,20	0,55
Температура, °C								
воздуха на высоте 150 см	21,6	20,9	24,8	20,8	16,1	20,8	25,9	29,2
почвы на глубине 80 см	10,2	12,8	14,8	16,0	14,6	13,7	10,2	16,0
Влажность почвы, %								
на глубине 50 см	12,8	12,4	13,1	15,4	11,2	13,0	12,8	15,4
на глубине 150 см	11,5	9,1	10,4	9,8	9,5	10,1	11,5	10,4
<i>Quercus petraea</i> Liebl.								
Интенсивность транспирации в верхней части кроны	0,27	0,29	0,18	0,21	0,21	0,23	0,57	0,38
в нижней части кроны	0,23	0,27	0,28	0,22	0,20	0,24	0,49	0,40
Температура, °C								
воздуха на высоте 150 см	21,2	21,1	25,4	23,1	16,5	21,5	25,5	28,5
почвы на глубине 80 см	10,2	13,0	14,8	15,7	14,8	13,7	10,2	15,7
Влажность почвы, %								
на глубине 50 см	13,1	12,1	13,4	12,7	11,7	12,6	13,1	13,4
на глубине 150 см	11,5	9,8	10,2	9,7	9,1	10,1	11,5	10,2

1,5 раза больше, лист характеризуется значительной кожистостью за счет утолщения эпидермиса и кутикулы. Заметно толще палисадная ткань (в 1,7 раза). Однако число устьиц, а также их размеры в сравниваемых частях кроны сходны (разница 29 шт.). У дуба скального толщина верхних листьев и палисады лишь несколько больше, чем толщина нижних. Так же, как и у пушистого дуба, сходным оказалось число устьиц (разница 21 шт.).

При сравнении с данными Горышиной [7] по анатомическим параметрам верхних и нижних листьев дуба черешчатого в высокополнотной лесостепной дубраве можно сделать вывод, что различия в пределах кроны в сомкнутых древостоях более значительные. Это особенно проявляется в толщине палисады, которая была у верхних листьев в три раза толще, а также в насыщенности устьицами (490 на мм<sup>2</sup> — у верхних и 350 — у нижних). В сомкнутых лесах Словакии [14] у *Acer campestre* L. и *Carpinus betulus* L. листья верхней части кроны также характеризовались более высокой насыщенностью устьицами, чем листья нижней части. Так, у *C. betulus* величины соответственно составляли  $174,9 \pm 2,5$  на мм<sup>2</sup> и  $102 \pm 1,6$ .

Большая густота устьиц, меньшие их размеры, большая толщина кутикулы установлены у световых листьев по сравнению с теневыми и у растений маквиса на побережье Средиземного моря в Турции. При этом авторы [15] пришли к выводу, что транспирация тесно коррелирует с густотой устьиц. Таким образом, у дуба пушистого и скального в рассматриваемом ксероморфном комплексе фрагментов варьирование густоты устьиц и их размеров в пределах кроны сравнительно невелико.

Сезонные изменения среднедневной интенсивности транспирации как у дуба пушистого, так и скального в 1974—1975 гг. были небольшими, что соответствует сравнительной стабильности влажности корнеобитаемого горизонта почвы в эти годы. На основании 110 измере-

ний для каждого вида на протяжении сезона вегетации оказалось, что в среднем за сезон интенсивность транспирации их нижних листьев сходна и составляла 0,22—0,26 г/г у дуба пушистого и 0,24 г/г — у дуба скального (см. таблицу). Наибольшие различия отмечены в мае. Особенно хорошо они были видны в 1974 г., когда у дуба пушистого транспирация составляла 0,16 г/г (это почти в 2 раза меньше, чем в июне). У дуба скального в это время она была лишь незначительно ниже, чем в июне (1974 г.), или даже наиболее интенсивна за период вегетации (1975 г.).

Низкие величины транспирации в мае, когда листья находятся в состоянии роста, отмечены у дуба пушистого и в гырнецовой дубраве [1]. Видимо, это явление связано с защитной ролью опушения, которое предохраняет молодые листья от чрезмерного испарения, а в дальнейшем опушение почти полностью опадает. В летний период 1974 г. в среднем за день интенсивность транспирации у дуба пушистого держалась на уровне 0,29—0,20 г/г, а в 1975 г. — 0,32—0,21 г/г, при этом наблюдалось плавное ее снижение от июня к сентябрю; у дуба скального эти величины соответственно составили 0,27—0,20 и 0,23—0,21 г.

При сравнении среднедневных величин интенсивности транспирации верхних листьев установлено, что в 1974 г. они были значительно меньше у дуба пушистого, в 1975 г. эти различия статистически оказались не достоверными.

У дуба пушистого в среднем за день интенсивность транспирации верхних листьев заметно слабее, чем нижних, что коррелирует со степенью ксероморфности их структуры. У дуба скального не наблюдалось четкой закономерности в соотношении интенсивности транспирации верхних и нижних листьев, что коррелирует с менее четкими у него различиями в анатомической структуре листьев в пределах кроны.

С одной стороны, в среднем интенсивность транспирации у дуба пушистого и скального в условиях ксероморфного типа леса на территории Молдавии в нижней части кроны почти в 2 раза, а в верхней — в 3—4 раза слабее, чем у дуба черешчатого в высокополнотной лесостепной дубраве в Белгородской области. С другой стороны, близость величин интенсивности транспирации у дуба пушистого и скального в рассматриваемом комплексе свидетельствует о сближении физиологических особенностей популяций этих видов контрастных ботанико-географических областей в одном и том же засушливом местообитании.

На основании среднедневных величин нам не удалось установить корреляции между интенсивностью транспирации и числом устьиц на единицу площади. Так, интенсивность транспирации у нижних листьев сравниваемых видов была близкой при значительной разнице в числе устьиц, а у дуба пушистого заметно изменялась в пределах кроны при незначительных различиях в числе устьиц.

Для дневного хода интенсивности транспирации сравниваемых видов характерны кривые с максимумами в 10—12, реже 13—15 часов (рис. 1, 2). Пики транспирации обычно не совпадают с максимумами температуры и дефицита влажности воздуха, приходящимися чаще всего на 16, иногда 14 часов, а также освещенности, которая достигает наибольших значений на открытых участках в 12—13 часов, под пологом — 14—15 часов. Пики интенсивности транспирации у верхних и нижних листьев чаще не совпадают, при этом для верхних листьев характерны более ранние подъемы.

Перемещение максимумов интенсивности транспирации на более ранние сроки по сравнению с метеорологическими факторами свиде-

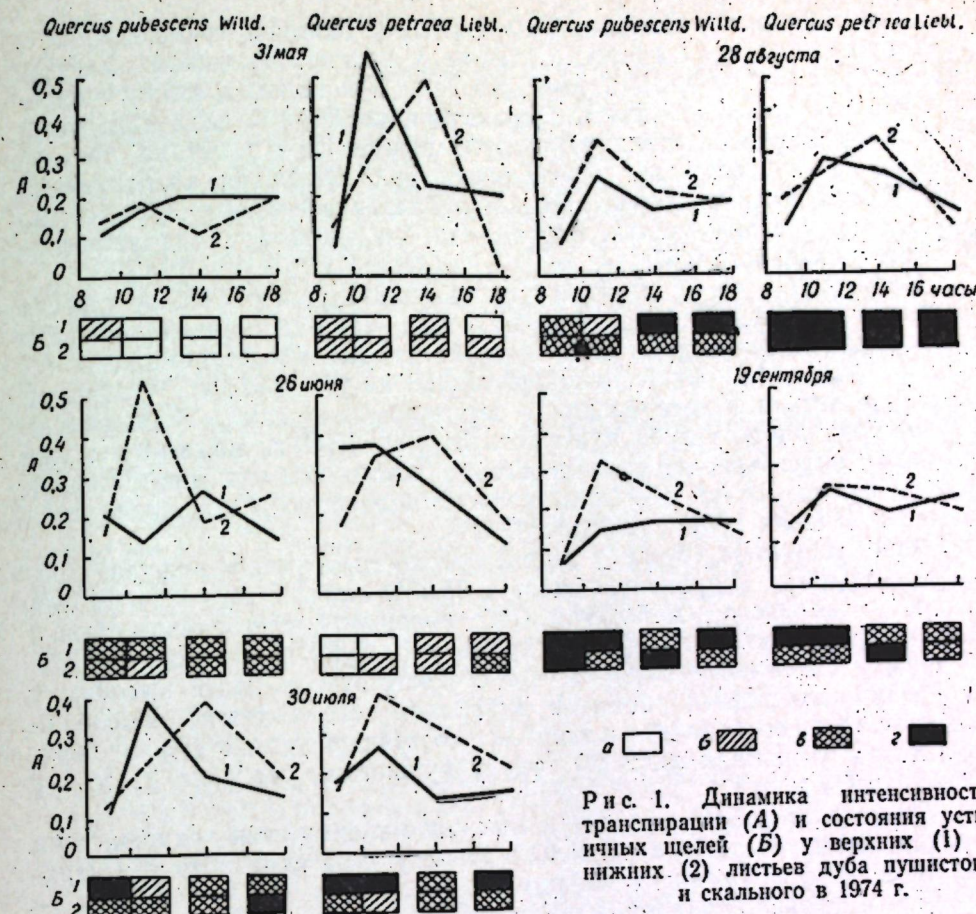
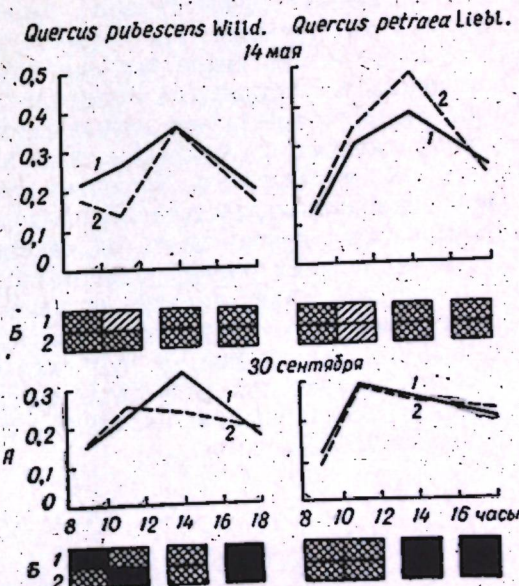


Рис. 1. Динамика интенсивности транспирации (А) и состояния устьичных щелей (Б) у верхних (1) и нижних (2) листьев дуба пушистого и скального в 1974 г.

Устьица открыты (а); полуоткрыты (б); слегка открыты (в); закрыты (г)

тельствует о напряженности водного баланса. Соответственно смещение максимумов транспирации у верхних листьев на более ранние сроки по сравнению с нижними можно рассматривать не только как результат различий в режимах освещения, но и как признак большей напряженности водного баланса в верхнем ярусе кроны.

Рис. 2. Динамика интенсивности транспирации (А) и состояния устьичных щелей (Б) у верхних (1) и нижних (2) листьев дуба пушистого и скального в начале и конце вегетации 1975 г. (Условные обозначения состояния устьиц см. рис. 1).



Прослеживается тенденция к сближению величин транспирации у дуба пушистого и скального, а также у верхних и нижних листьев каждого вида в утренние и вечерние часы и в целом к концу вегетации. Максимальные показатели транспирации у дуба скального установлены в мае (см. таблицу), у дуба пушистого — в летние месяцы, что еще раз подтверждает регуляторную роль опущения, не допускающего резких подъемов транспирации в начале вегетации. Абсолютные максимумы у сравниваемых видов были близкими: у дуба пушистого 0,55 г/г, у скального 0,57.

Наблюдения за состоянием устьиц показали, что большую часть вегетационного периода, иногда уже в мае (1975 г.), они находятся в течение дня в полуоткрытом или слегка открытом состоянии, а в отдельные дни даже полностью закрыты (28 августа 1974 г.). Открытое состояние устьиц в течение дня зарегистрировано как у верхних, так и у нижних листьев дуба пушистого 31 мая 1974 г., но, как мы уже отмечали, интенсивность транспирации в этот срок была минимальной. У дуба скального устьица были открыты полностью в отдельные часы 31 мая и 26 июня 1974 г. (см. рис. 1, 2).

Чаще состояние устьиц у листьев верхнего и нижнего ярусов кроны одинаковое (у дуба пушистого в 55,55% случаев от числа наблюдений, у скального — в 58,08%), при различном состоянии — обычно шире открыты устьица у нижних листьев (у дуба пушистого — 33,34% случаев, у скального — 24,29%), что соответствует и более высоким у них величинам транспирации. У дуба скального заметнее прослеживается тенденция к более замкнутому состоянию устьиц (как у верхних, так и у нижних листьев), чем у пушистого, особенно 31 мая и 26 июня 1974 г.

Существует слабая корреляция между максимумами транспирации и открытостью устьиц, она несколько выше у дуба скального и у верхних листьев по сравнению с нижними.

Таким образом, в разреженных ксероморфных сообществах у дуба пушистого и скального различия между верхними и нижними листьями как по анатомическим параметрам, так и по интенсивности транспирации меньше, чем у древесных пород в высокополотных древостоях. Особенно незначительно варьирует количество устьиц. В отличие от высокополотных древостоев в ксероморфных лесах у древесных пород интенсивнее транспирируют нижние листья. Такая же закономерность установлена Кушниренко для плодовых культур [10]. У дуба пушистого различия между верхними и нижними листьями как по анатомическим показателям, так и по величинам транспирации больше, чем у скального. Значения среднедневных величин интенсивности транспирации листьев обоих видов дуба различаются мало, а листьев верхних ярусов почти одинаковы. Сближение физиологических показателей у этих видов разного географического происхождения в одном местообитании, видимо, связано, с одной стороны, с тем, что в рассматриваемых комплексах дуб пушистый представлен наиболее мезоморфной популяцией, а дуб скальный — наиболее ксероморфной. С другой стороны, при недостатке влаги в почве наблюдается общая тенденция к сглаживанию различий между видами по величинам интенсивности транспирации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Витко К. Р. Экология гырнецовой дубравы в южной Молдавии. Кишинев, РИО АН МССР, 1966.
2. Витко К. Р. О транспирации растениями в сухой скумпиевой дубраве.— В сб.: Биологическая продуктивность и экология молдавских дубрав. Кишинев, РИО АН МССР, 1969, с. 66—88.
3. Витко К. Р. К проблеме контактных зон при геоботаническом районировании.— Международная география-76, т. 12. М., «Наука», 1976, с. 142—143.
4. Витко К. Р., Черных Р. В. Совместное произрастание в лесах Молдавии дуба скального, пушистого и черешчатого.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1975, № 1, с. 3—8.
5. Гейдеман Т. С. К вопросу о геоботаническом районировании Молдавской ССР.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1964, № 4, с. 33—48.
6. Горышина Т. К., Нешатаев Ю. Н. Особенности микроклимата дубового леса и их значение для жизни растений.— Вестник ЛГУ, Сер. биол., 1960, 15, вып. 3, с. 20—28.
7. Горышина Т. К., Ти Чан-цзинь, Хан Де-цун. Опыт сравнительной характеристики некоторых показателей водного режима и строения листа в разных ярусах дубового леса.— Вестник ЛГУ, Сер. биол., 1961, 15, вып. 3, с. 21—31.
8. Иванов Л. А. О методе определения испарения растений в естественных условиях их произрастания.— Лесной журн., 1918, № 1—2.
9. Киртока В. А. Биологическая продуктивность древесных пород в сухой скумпиевой дубраве.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1971, № 5, с. 3—11.
10. Кушниренко М. Д. Водный режим и засухоустойчивость плодовых растений. Кишинев, «Карта Молдовеняскэ», 1967, с. 273.
11. Лазу С. Н. Вертикальное распределение фитомассы надземной части фитоценоза гырнецовой дубравы.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1973, № 2, с. 3—9.
12. Лазу С. Н. Вертикальное распределение фитомассы в надземной части сообщества буковой дубравы.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1976, № 4, с. 7—14.
13. Черных Р. В., Ротару Г. И. Особенности строения листьев разных видов дуба.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1974, № 5, с. 10—17.
14. Huzulák J., Eliáš P. Within-crown pattern of ecophysiological features in leaves of *Acer campestre* and *Carpinus betulus*.— Folia Geobotan. et Phytotaxon., 1975, № 10, p. 337—350.
15. Vardar Y., Bütün G. Studies on the water economy of macchia elements in Turkey. I. Structural relations of sun and shade leaves of some typical macchia elements.— Berichte Dtsch. bot. Gesellschaft, 1974, 87, 3, p. 581—588.

## ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Т. А. ГРАНАТСКАЯ, В. И. ЗИНЧЕНКО

### ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЕГЕТАЦИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ В ВИНОГРАДНОЙ ЯГОДЕ

Высокое качество винограда и получаемого из него вина зависит от почвенно-климатических условий культивирования винограда. В связи с этим необходимо изучать индивидуальные особенности развития растений, специфику их реакции на изменения условий внешней среды.

Климат, по мнению Простосердова [4], является основным физико-географическим фактором, определяющим качество продукции. Это подтверждает и Негруль [3], который считает, что на сахаристость винограда влияют климатические условия, а от химического состава почвы зависит образование в виноградной ягоде веществ, определяющих вкус и букет вина.

Нами было изучено влияние метеорологических условий года на содержание полисахаридов в виноградной ягоде некоторых технических сортов.

#### Материалы и методы

Исследования проводились на сортах винограда Алиготе, Фетяска, Траминер розовый, Каберне-Совиньон, выращенных в кодровой зоне Молдавии на участках совхоза-завода «Романешты» в 1969—1971 и 1973 гг. Метеорологические данные получены из гидрометеорологической обсерватории г. Кишинева. Наиболее сухим был период вегетации 1973 г., вегетационные периоды 1970 и 1971 гг. отличались повышенной влажностью.

Легкорастворимые, щелочерастворимые полисахариды и  $\alpha$ -целлюлоза были последовательно экстрагированы различными растворителями из твердых частей ягоды (без семян) [1]. Полисахариды из виноградного сока и из полученных экстрактов осаждали этанолом (соотношение 1:4).

#### Результаты и их обсуждение

Как показали исследования (см. таблицу), наибольшее изменение общего количества полисахаридов (ПС) в ягодах винограда по годам составляет 1,20 (сорт Траминер розовый), 2,99 г/кг (сорт Каберне-Совиньон), что по отношению к соответствующей средней величине составляет 12,7—25,8%. Отсюда видно, что метеорологические условия года оказывают существенное влияние на содержание полисахаридов в виноградной ягоде.

По полученным данным хорошо прослеживается зависимость количественного изменения полисахаридов от условий влагообеспечения

### Изменения полисахаридов в виноградной ягоде технологической зрелости в зависимости от условий вегетации

Сорт	Год урожая	Сумма ПС, г/кг ягод	Полисахаридные фракции, % от суммы			
			ПС сока	ЛРПС	ЩГ	$\alpha$ -целлюлоза
Алиготе	1969	7,19	2,9	17,4	47,6	33,3
	1970	8,07	2,5	16,6	40,5	40,3
	1973	9,99	6,4	25,9	42,2	25,4
Фетяска	1969	8,99	2,7	12,6	37,5	47,3
	1970	9,29	1,3	10,6	41,6	35,7
	1973	10,68	8,3	14,0	49,3	27,3
Траминер розовый	1969	8,74	1,8	9,4	42,8	40,5
	1970	9,14	0,7	21,7	33,9	42,8
	1971	9,94	8,4	12,4	39,8	39,3
	1973	9,92	9,8	25,4	32,7	32,1
Каберне-Совиньон	1970	13,54	12,1	15,1	44,0	25,0
	1971	10,63	8,8	13,0	49,0	28,7
	1973	10,55	8,4	23,4	35,7	28,9

в период роста и созревания ягод. В более засушливый год (1973) в ягодах изучаемых белых сортов винограда увеличивается содержание полисахаридов (ПС) сока и легкорастворимых полисахаридов (ЛРПС) твердых частей ягоды, количество  $\alpha$ -целлюлозы уменьшается. Щелочерастворимые гемицеллюлозы (ЩГ) изменяются в меньшей степени.

В ягодах винограда красного сорта Каберне-Совиньон также наблюдается увеличение в засушливый год легкорастворимых полисахаридов, тогда как и количество щелочерастворимых гемицеллюлоз снижается. Полисахариды сока и  $\alpha$ -целлюлоза изменяются незначительно.

Кроме того, содержание полисахаридов в виноградной ягоде зависит и от особенностей сорта. Для определения силы влияния отдельных факторов (сортовые особенности, метеорологические условия года и случайные причины) мы применяли метод двухфакторного дисперсионного анализа [2]. Для оценки статистической достоверности влияния организованного фактора (год урожая и сорт винограда) на резуль- тативный признак (содержание полисахаридов в ягоде) в дисперсионном анализе использовали критерий *F*-Фишера.

Согласно полученным нами данным, доля влияния сортового фактора на содержание полисахаридов в виноградной ягоде составила 50,4%, влияние метеорологических условий года урожая — 19,6%, случайные причины — 7,2% (при уровне значимости  $P=0,01$ ).

Таким образом, в ягодах винограда существенные различия по содержанию полисахаридов обусловлены сортовыми особенностями на фоне количественного изменения этого показателя в зависимости от метеорологических условий года и случайных факторов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Арасимович В. В., Балтага С. В., Пономарева Н. П. Методы анализа пектиновых веществ, гемицеллюлоз и пектолитических ферментов в плодах. Кишинев, «Штиница», 1970.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия. М., «Высшая школа», 1973.
3. Негруль А. М. Виноградарство. М., Сельхозгиз, 1969.
4. Простосердов Н. П. Ампеология, т. I. М., Пищепромиздат, 1946.



В. А. РЕВА, В. Г. КЛИМЕНКО

## ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКОВ СОЗРЕВАЮЩИХ СЕМЯН КУКУРУЗЫ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ СОЛЕРАСТВОРИМОЙ ФРАКЦИИ ХРОМАТО- ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Белковый комплекс семян кукурузы представляет сложную систему, состоящую из водо-, соле-, спирто- и щелочерастворимых белков. Однако данные, касающиеся альбуминов, разноречивы [6, 7]. Кроме того, известно, что альбумины, глобулины, зеины и глютелины состоят из нескольких компонентов [2—5]. В связи с этим возникает вопрос о влиянии стадии созревания семян кукурузы на количественное соотношение белковых фракций и о качественных изменениях, происходящих в белках семян, которые не относятся к запасным и извлекаются растворами нейтральных солей, но играют физиологически активную роль в процессах формирования семян.

В настоящей работе изложены и обсуждены аналитические данные по содержанию форм азота и белковых фракций, а также хромато-электрофоретическому поведению солерастворимых белков созревающих семян некоторых сортов кукурузы.

### Материалы и методы

Для исследования брали семена различных стадий созревания сортов кукурузы Молдаванка оранжевая и Тираспольская скороспелая 33, выращенных в одинаковых почвенно-метеорологических условиях на биологической станции КГУ в 1975 г. Эндосперм отделяли от зародышей вручную, затем помещали в сосуд Дюара, наполненный твердой углекислотой. Одновременно брали пробу для определения влаги в образце, по которой устанавливали стадию созревания семян. Эндоспермы семян в замороженном состоянии растирали с твердой углекислотой в ступке и подвергали лиофильной сушке. Высушенный материал обезжиривали гексаном при 4—5°C на протяжении 48 час. Высушенные, грубо измельченные эндоспермы превращали в тончайшую муку, которую просеивали через капроновое сито с диаметром ячеек 0,11 мм, а остающиеся на сите частицы растирали в ступке и просеивали с таким расчетом, чтобы не оставалось отходов от исследуемого материала. Полученную муку дообезжиривали и хранили на холоду в герметически закрытых склянках.

**Определение содержания форм азота и белковых фракций.** Из навески муки суммарные водорастворимые белки количественно извлекали дистиллированной водой при pH 6,7 и в аликвотной части ее устанавливали содержание суммарного водорастворимого азота, в другой аликвотной части белки осаждали 2,5—3,0% ТХУ и определяли экстрактивный небелковый азот. Остаток водного экстракта количественно переносили в целлофановые мешочки и диализовали против дистиллированной воды, подкисленной  $\text{CH}_3\text{COOH}$  до pH 3,5—3,7 до тех пор, пока все глобулины не перейдут в осадок. Для этого диализ вели при 4—5° на протяжении 45—48 час. Оставшиеся в надосадочной жидкости суммарные альбумины отделяли от осадка глобулинов фильтрованием через плотный фильтр, раствор доводили до определенного объема и в аликвотной его части определяли содержание азота альбуминов. Из

остатка муки 1 М NaCl, забуференным фосфатами до pH 7,0, количественно извлекали суммарные глобулины и не перешедшие в водный раствор небелковые экстрактивные вещества. В одной аликвотной части раствора определяли содержание азота солевого экстракта, в другой части глобулины осаждали ТХУ и в безбелковом экстракте определяли содержание экстрактивного небелкового азота. Разница между суммарным солерастворимым и экстрактивным небелковым азотом относится к азоту глобулинов, извлекаемых 1 М NaCl, а разница между суммой азота водного и солевого экстрактов, из которой вычтена сумма экстрактивного небелкового азота, извлеченного водой и 1 М NaCl, плюс азот альбуминов равна содержанию азота суммарных глобулинов семян.

Остаток муки, из которого удалены суммарные водосолерастворимые белки и небелковые экстрактивные вещества, обрабатывали 80° этанолом при постоянном помешивании на протяжении 12 час. при комнатной температуре. Плотный остаток отделяли от спиртового раствора центрифугированием. После этого остаток муки обрабатывали этанолом на протяжении 1,5—2,0 час. при 35—40°C, плотный остаток отделяли также центрифугированием. Остаток муки снова обрабатывали этанолом на протяжении часа при 50°C. Спиртовые растворы объединяли, доводили до определенного объема и в аликвотной его части определяли содержание азота зеинов. Из остатка муки количественно извлекали 0,2% NaOH суммарные глютелины и определяли содержание в них азота. Остаток муки минерализовали и в ней определяли количество азота веществ, прочно связанных с углеводным комплексом семян. Все определения содержания форм азота и белковых фракций проводили микрометодом Кьельдаля. Таким образом был определен азот альбуминов, глобулинов, зеинов и глютелинов, а также экстрактивный небелковый азот, извлекаемый водой и 1 М NaCl.

Хроматографию солерастворимых белков семян проводили на гидроксилпатите, как было описано ранее [1]. Для хроматографии во всех случаях был взят одинаковый объем экстракта солерастворимых белков, полученных из одинаковых навесок муки кукурузы. Исходный буфер 0,03 М, pH 7,6. В хроматографических фракциях, элюирующихся при различных концентрациях буфера, определяли количественное содержание белков, нуклеиновых кислот и углеводов. Белки некоторых хроматографических фракций были исследованы электрофорезом в акриламидном геле. Были также определены отношения экстинкций  $E_{260}/E_{278}$  хроматографических фракций.

### Результаты и их обсуждение

Аналитические данные содержания форм азота и белковых фракций в созревающих семенах сортов кукурузы приведены в табл. 1, из данных которой видно, что наибольшее содержание общего азота находится в семенах, максимально обогащенных водой и, по сути дела, напоминающих по этому признаку вегетативные органы ранних стадий развития растений кукурузы. Независимо от сорта по мере созревания семян происходит потеря влаги и соответствующее уменьшение в эндоспермах общего азота, достигающего минимума в семенах полной спелости. В процессе созревания происходит, в зависимости от сорта, потеря влаги и соответствующее уменьшение в семенах в четыре—семь раз содержания экстрактивного небелкового азота и увеличение белкового. Азот плотного остатка (стромы) семян, содержащих макси-

мум и минимум влаги, меняется незначительно. Однако семена с 57—60% влаги независимо от сорта кукурузы содержат максимум азота плотного остатка. Из этих данных видны закономерности экстрактивного содержания общего азота, количественных соотношений экстрактивного небелкового азота и белкового азота от оводненности семян, т. е. от их стадии созревания. Природа сорта кукурузы сказывается не только на количествах общего азота, но и составляющих его форм.

Таблица 1

Содержание форм азота и белковых фракций в созревающих семенах кукурузы, % на сухой вес

Сорт	% влаги	Общий азот	% форм азота от общего азота			Белковый азот	% азота белковых фракций от белкового азота			
			плотного остатка	экстрактивного небелкового	белкового		альбуминов	глобулинов	зеинов	глутелинов
Молдаванка оранжевая	87,8	3,00	8,0	47,0	45,0	1,35	16,3	71,1	5,8	8,9
	75,8	2,16	12,5	31,7	55,8	1,20	13,3	49,2	22,5	14,2
	60,2	1,66	24,1	21,7	54,2	0,90	2,9	36,7	37,8	24,4
	49,0	1,56	12,1	15,7	72,2	1,13	2,3	12,1	50,4	31,8
	15,0	1,25	16,0	7,0	77,0	0,96	2,7	9,3	43,7	44,8
Тираспольская скороспелая 33	85,0	2,72	18,7	40,1	41,2	1,12	10,3	59,8	12,5	12,5
	73,0	2,32	13,4	16,2	70,4	1,63	10,5	29,4	31,3	30,0
	64,5	1,93	17,6	13,2	69,2	1,33	7,4	23,1	32,7	37,1
	57,0	1,78	22,5	13,1	64,4	1,14	4,8	29,0	35,5	31,1
	15,0	1,73	17,3	10,4	72,3	1,25	8,8	17,6	30,4	42,4

Заслуживает безусловного внимания влияние стадии созревания не только на содержание белкового азота, но и на его количественное распределение между белковыми фракциями. По содержанию белкового азота между сортами выявлены различия, выражающиеся в том, что в семенах сорта Молдаванка оранжевая по мере созревания происходит его снижение, а в семенах сорта Тираспольская скороспелая 33, содержащих максимум воды, обнаружен минимум белкового азота. При понижении содержания воды количество белка увеличивается, но в дальнейшем, по мере созревания, оно достигает минимальных величин, и между семенами самых ранних стадий созревания и семенами полной спелости различия в уровне содержания белкового азота становятся незначительными. Такого рода изменчивость содержания белкового азота семян в зависимости от стадии их созревания и сорта можно объяснить различным уровнем биосинтеза белков и углеводов в семенах. В свою очередь биосинтез этих биополимеров находится в зависимости от сорта и стадии созревания семян кукурузы.

Содержание альбуминов в семенах первых двух стадий созревания — максимальное, а на других стадиях эта белковая фракция мало изменяется количественно. Очень важные в научно-практическом отношении данные получены по содержанию и количественной изменчивости глобулинов. Их количество на самых ранних стадиях созревания семян оказалось максимальным и составляло в зависимости от сорта 60—71% от белкового азота семян. По мере созревания семян происходит снижение содержания азота глобулинов, которое достигает минимума в семенах полной спелости. Минимальное же количество спиртонзвлекаемой белковой фракции находится в семенах самых ранних стадий, но по мере созревания происходит увеличение содер-

жания азота этой белковой фракции (зеин), максимум достигается в семенах полной спелости или чуть раньше. Создается впечатление, что биосинтез зеинов осуществляется за счет глобулиновой фракции. Аналогичные закономерности обнаружены и по влиянию стадии созревания на белковый азот глутелинов. Следовательно, количество глобулинов, с одной стороны, и зеинов и глутелинов — с другой, в созревающих семенах находится в обратной зависимости.

Из полученных данных можно сделать заключение о том, что биосинтез зеинов и глутелинов в созревающих семенах связан с уровнем биосинтеза глобулинов. Можно также предположить, что биосинтез альбуминов, глобулинов, зеинов и глутелинов идет автономно, но не за счет отдельных групп ранее синтезированных белков, т. е. протекает независимо, но на уровень или величину биосинтеза каждой из белковых фракций влияет стадия созревания семян, характеризующаяся сопряженным биосинтезом азотсодержащих и безазотистых биополимеров.

Хроматограммы суммарных солерастворимых белковых экстрактов семян кукурузы сорта Молдаванка оранжевая приведены на рис. 1,

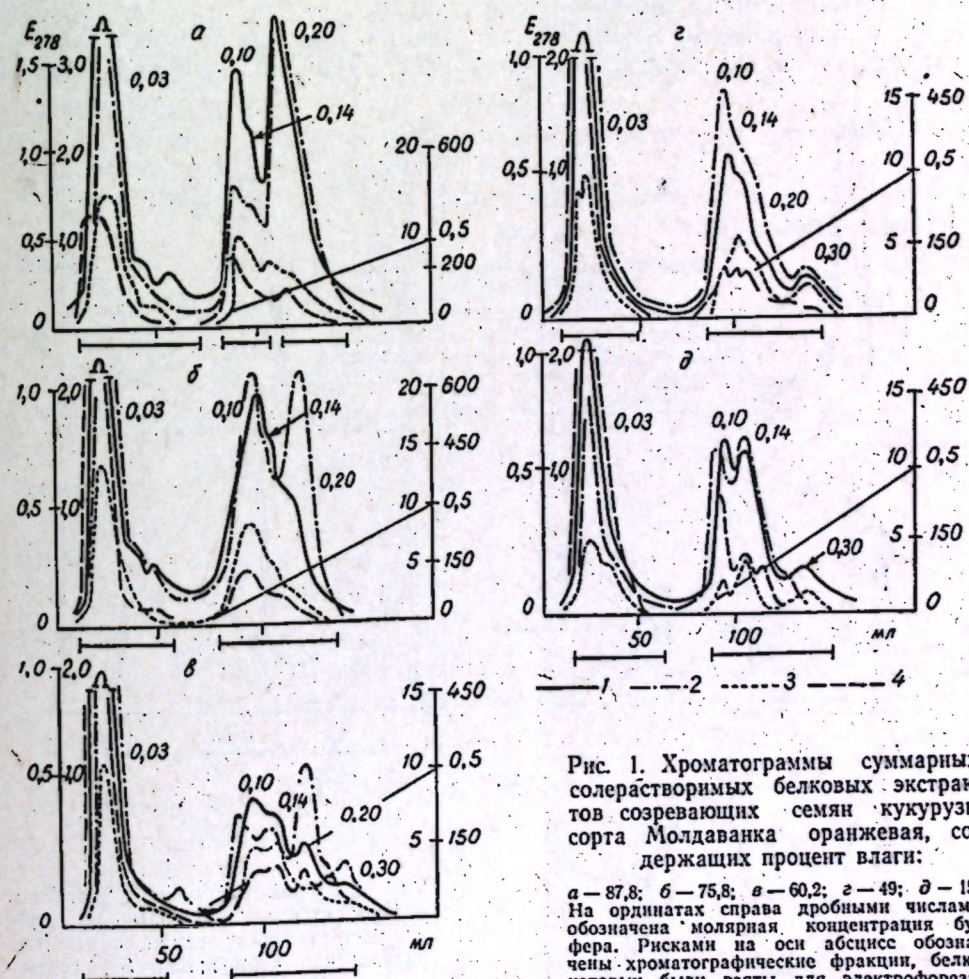


Рис. 1. Хроматограммы суммарных солерастворимых белковых экстрактов созревающих семян кукурузы сорта Молдаванка оранжевая, содержащих процент влаги:

а — 87,8; б — 75,8; в — 60,2; г — 49; д — 15. На ординатах справа дробными числами обозначена молярная концентрация буфера. Рисками на оси абсцисс обозначены хроматографические фракции, белки которых были взяты для электрофореза. 1 — экстинкция при 278 нм; 2 — содержание нуклеиновых кислот (мкг/мл) — на правых ординатах слева; 3 — содержание белка (мг/мл) — на левых ординатах справа; 4 — содержание углеводов (мкг/мл) — на правых ординатах справа

а Тираспольской скороспелой 33 — на рис. 2, из которых видно, что независимо от сорта белки семян, наиболее обогащенных влагой (87, 8 и 85%), разделились на пять фракций, из которых исходным буфером элюируется по одной, количественно основной, с перегибом на правом склоне. При этом после наложения градиента концентрации буфера на хроматограмме Тираспольской скороспелой 33 обнаружена практически не содержащая белка фракция 0,32, которая отсутствует на хроматограмме Молдаванки оранжевой. Но при этом на хроматограмме Молдаванки оранжевой выявлена фракция 0,20, которая отсутствует на хроматограмме Тираспольской скороспелой 33. Уже в этом проявляется различие между сортами.

Как показано на денситограммах электрофореграмм хроматографических фракций и суммарных белков семян Молдаванки оранжевой (рис. 3, а) и Тираспольской скороспелой 33 (рис. 4, а), эти белки разделились на 14—21 компонент, в зависимости от сорта кукурузы. Белки фракций, элюирующихся исходным буфером, разделились на 14—16, а белки фракций 0,10 семян обоих сортов дали по 14 электрофоретических компонентов. Выходит, что по электрофоретическому поведению белков семян, максимально обогащенных водой, проявляются хорошо выраженные межсортовые различия.

При определении отношения экстинкций  $E_{260}/E_{278}$  хроматографических фракций оказалось, что белки всех фракций сопровождаются

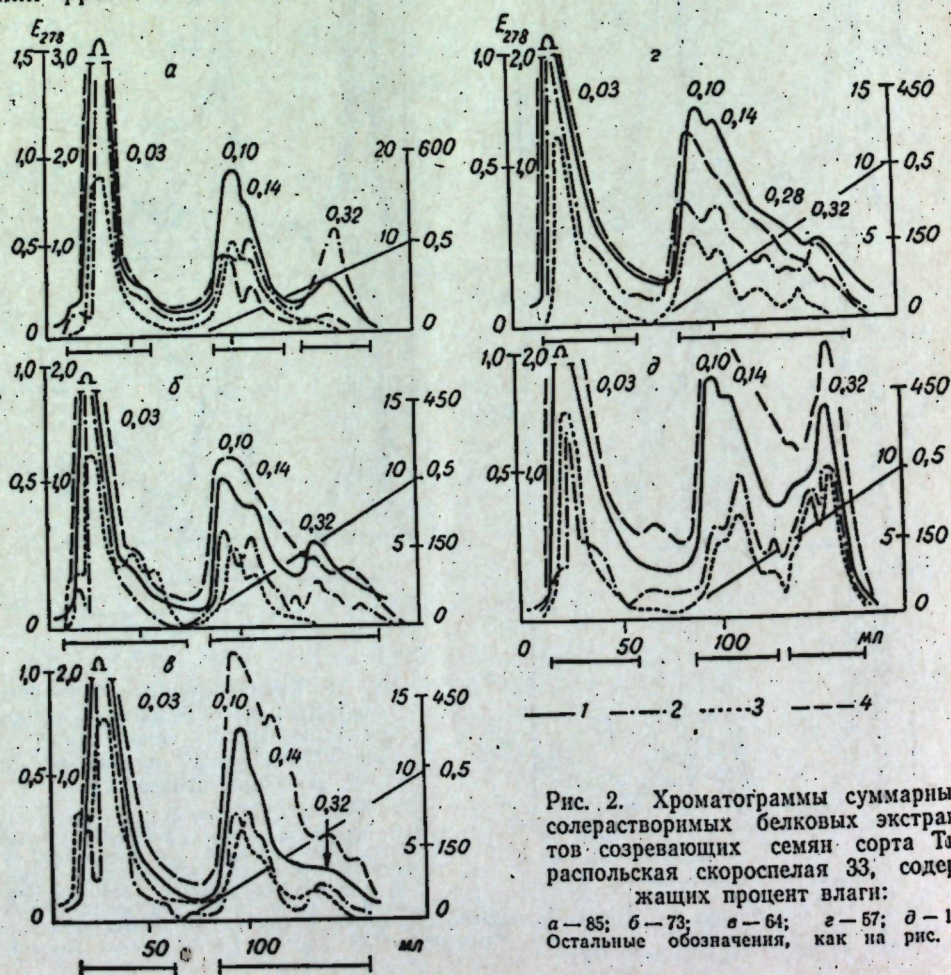


Рис. 2. Хроматограммы суммарных солюбилимых белковых экстрактов созревающих семян сорта Тираспольская скороспелая 33, содержащих процент влаги: а — 85; б — 73; в — 64; г — 57; д — 15. Остальные обозначения, как на рис. 1

значительными количествами нуклеиновых кислот и углеводов (табл. 2). При этом нуклеиновые кислоты сосредоточены в основном во фракциях, элюирующихся исходным буфером и при максимальных его концентрациях, а углеводы в основном сосредоточены во фракциях 0,03 и 0,10—0,14. На количественное содержание белков и небелковых веществ хроматографических фракций оказывает влияние также природа сорта кукурузы.

Хроматограммы суммарных солюбилимых белков семян Молдаванки оранжевой, содержащих 75,8% влаги, приведены на рис. 1, б, а Тираспольской скороспелой 33 (73% влаги) — на рис. 2, б, из которых видно, что белковый экстракт Молдаванки оранжевой разделился на пять фракций, две из которых элюируются исходным буфером, а после наложения градиента только фракция 0,10 проявляется определенно, тогда как фракции 0,14 и 0,20 представлены перегибами фракции 0,10. Белки Тираспольской скороспелой 33 разделились также на пять фракций, три после наложения градиента проявляются четко.

Из приведенных денситограмм видно, что суммарные белки Молдаванки оранжевой разделились на 21, а Тираспольской скороспелой 33 — на 17 электрофоретических компонентов (рис. 3, б, 4, б). Белки фракций 0,03 Молдаванки оранжевой разделились не менее чем на 16, а Тираспольской скороспелой 33 — на 12 электрофоретических компонентов. Таким образом, по составу белков суммарных солевых экстрактов обнаружены качественные сортовые различия. По данным хроматограмм белки в основном сосредоточены во фракциях, элюирующихся исходным буфером, и во фракциях 0,10—0,14.

Как и следовало ожидать, белки всех хроматографических фрак-

Таблица 2

Отношение экстинкции  $E_{260}/E_{278}$  основных хроматографических фракций

% влаги	Молдаванка оранжевая		% влаги	Тираспольская скороспелая 33	
	фракция	$E_{260}/E_{278}$		фракция	$E_{260}/E_{278}$
87,8	0,03	1,26	85	0,03 (1)	1,31
	0,10	1,00		0,03 (2)	1,02
	0,14	1,04		0,10	0,95
	0,20	2,15		0,14	0,97
	—	—		0,32	1,36
75,8	0,03	1,14	73,0	0,03	1,23
	0,10	1,19		0,10	1,02
	0,14	1,18		0,14	1,05
	0,20	1,36		0,32	1,34
60,2	0,03	1,00	64	0,03	1,09
	0,10	1,07		0,10	1,20
	0,14	0,98		0,14	1,07
	0,20	1,27		0,32	1,28
	0,30	1,00		—	—
49,0	0,03	1,15	57	0,03	1,09
	0,10	1,29		0,14	1,07
	0,14	1,11		0,10	1,09
	0,20	1,27		0,28	0,50
	0,30	0,86		0,30	0,40
15,0	0,03	1,18	15,0	0,03	1,25
	0,10	1,24		0,10	1,12
	0,14	1,30		0,14	1,00
	0,30	1,00		0,32	1,14
	—	—		0,28	1,09

ций сопровождаются значительными количествами небелковых веществ, что подтверждается их прямым определением и отношениями экстинкций (табл. 2), т. е. все фракции носят смешанный характер. При этом основное количество нуклеиновых кислот сосредоточено во фракциях 0,03 и элюирующихся максимальными концентрациями буфера. То же отмечается и по количественному распределению углеводов хроматографических фракций. Характер хроматограмм показывает, что на количественное соотношение белков, нуклеиновых кислот и углеводов заметное влияние оказывает стадия созревания.

Хроматограммы суммарных соластворимых белков созревающих семян, содержащих 60,2—64% влаги, приведены на рис. 1, в, 2, в, из которых видно, что белковый экстракт семян Молдаванки оранжевой

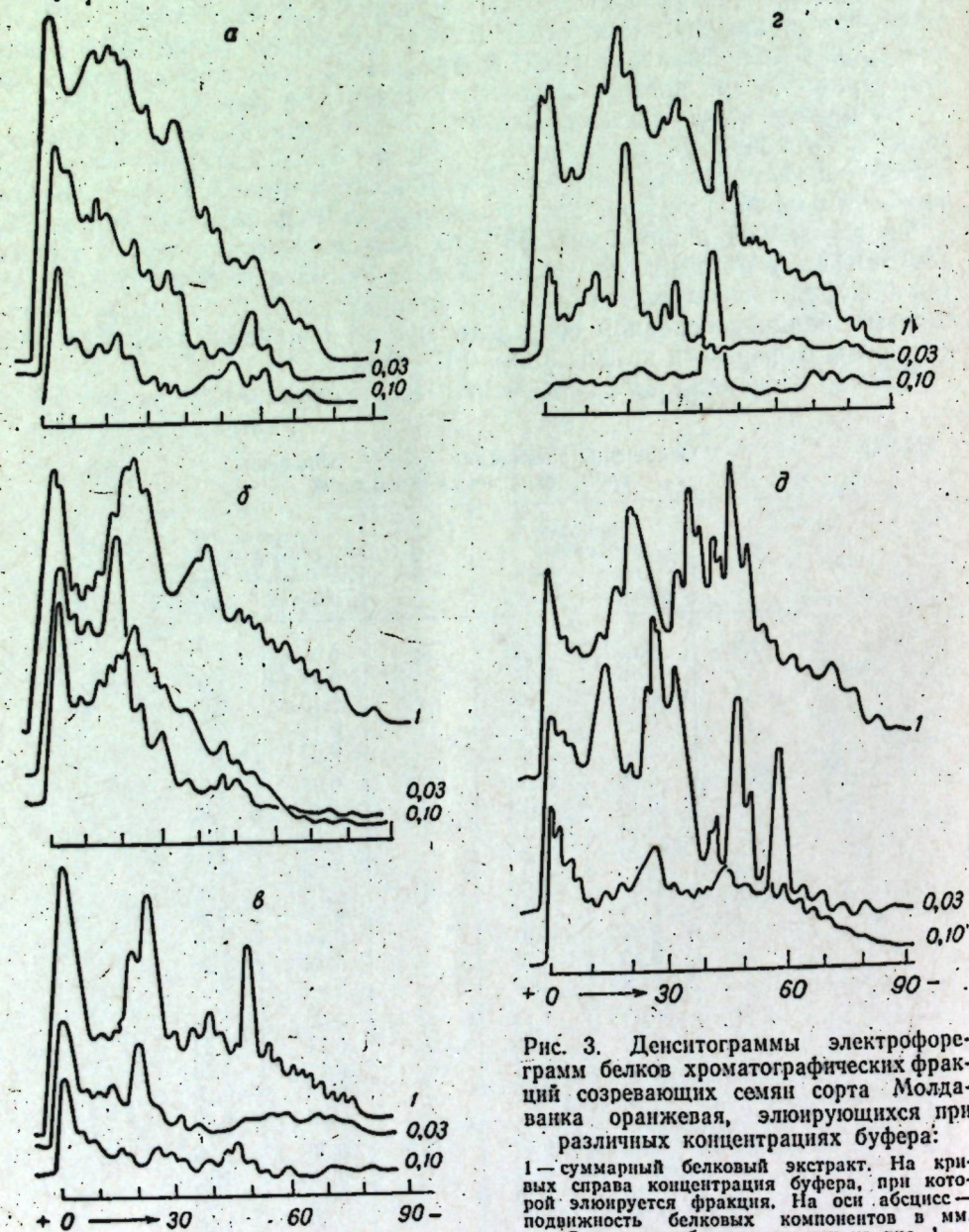


Рис. 3. Денситограммы электрофоретических хроматографических фракций созревающих семян сорта Молдаванка оранжевая, элюирующихся при различных концентрациях буфера: 1 — суммарный белковый экстракт. На кривых справа концентрация буфера, при которой элюируется фракция. На оси абсцисс — подвижность белковых компонентов в мм. Остальные обозначения, как на рис. 1.

разделился на пять фракций, а Тираспольской скороспелой 33 — только на три, так как фракция 0,14 может быть только перегибом фракции 0,10. При этом белки сосредоточены в основном во фракциях 0,03 и 0,10. Самое интересное, вытекающее из данных хроматограмм, то, что во фракциях, элюирующихся при максимальных концентрациях буфера, появляются белки, которые отсутствовали в семенах предыдущих стадий созревания.

Белки суммарных солевых экстрактов при электрофорезе разделились таким образом: Молдаванки оранжевой — на 21, Тираспольской скороспелой 33 — на 17 компонентов, а элюирующихся исходным

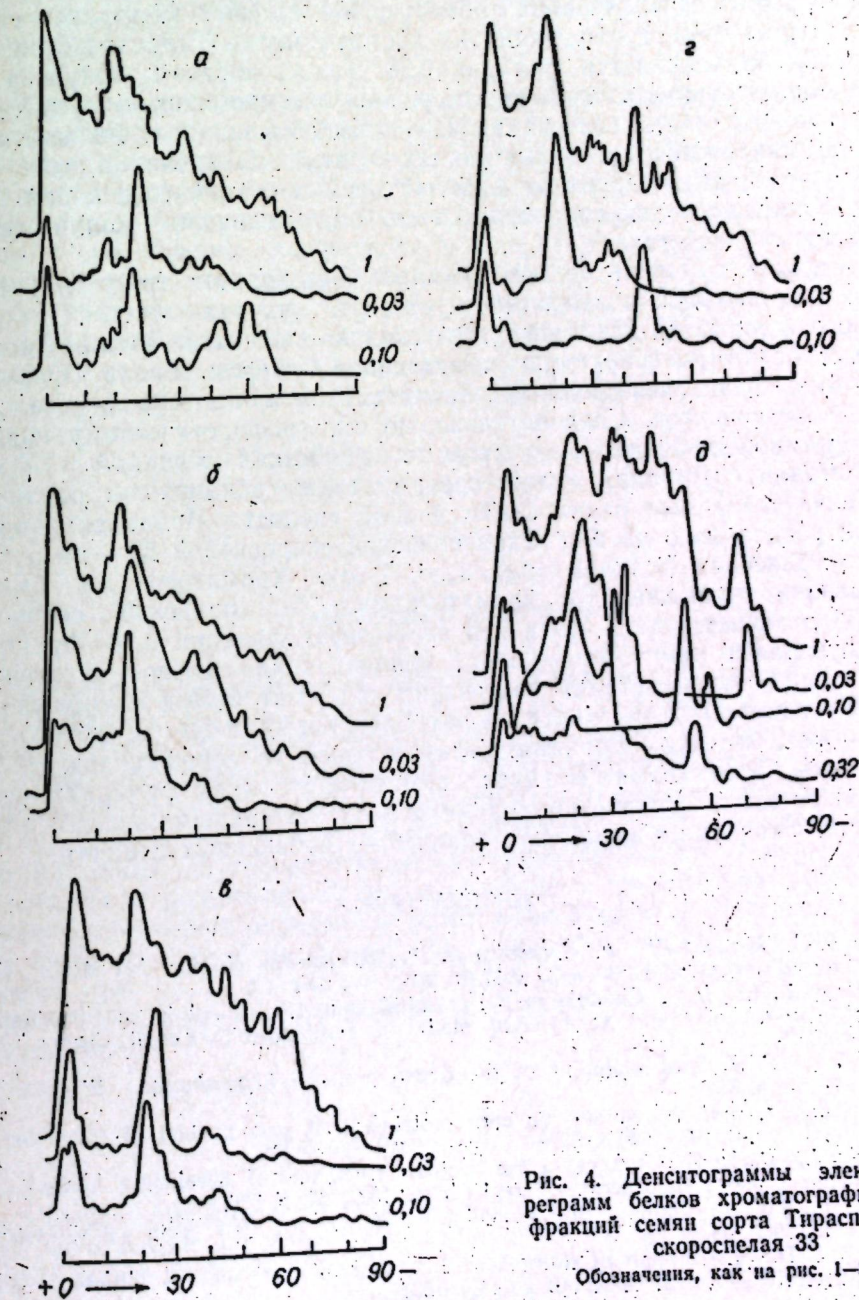


Рис. 4. Денситограммы электрофоретических хроматографических фракций семян сорта Тираспольская скороспелая 33. Обозначения, как на рис. 1—3.

буфером — на 14 и 10 компонентов соответственно (рис. 3, в, 4, в). Из многочисленных электрофоретических компонентов состоят и белки фракции 0,10. Белки хроматографических фракций сопровождаются значительными количествами небелковых веществ (табл. 2). Они сосредоточены в тех же фракциях, что и в предыдущих стадиях. Однако на содержание белков и небелковых веществ значительное влияние оказывают стадия созревания и сорт кукурузы.

Хроматограммы солерастворимых белковых экстрактов семян Молдаванки оранжевой, содержащих 49—57% влаги, приведены на рис. 1, г, а Тираспольской скороспелой 33 — на рис. 2, г. Эти экстракты белков разделились на пять фракций, из которых по одной элюируется исходным буфером. В отличие от хроматограмм солевых экстрактов семян предыдущих стадий созревания на хроматограмме Тираспольской скороспелой 33 появляется фракция 0,28. Таким образом, получена качественно иная хроматограмма по сравнению с хроматограммами семян более ранних стадий созревания. При этом во фракциях, элюирующихся при максимальных концентрациях буфера, выявлено наличие белков, а это и отличает их от фракций первых стадий созревания. И в этих фракциях белки сопровождаются значительными количествами небелковых веществ.

При электрофорезе белков суммарных экстрактов (рис. 3, г, 4, г) оказалось, что они, в зависимости от сорта кукурузы, состоят из различного количества электрофоретических компонентов. То же относится и к белкам, элюирующимся исходным буфером. Белки фракции 0,10 также оказались сложными веществами и при электрофорезе дали 10—12 компонентов. Следовательно, по электрофоретическому поведению суммарных белков и их хроматографических фракций у семян этой стадии созревания между сортами также обнаружены различия.

Солерастворимые белки семян полной спелости Молдаванки оранжевой разделились на 4, а Тираспольской скороспелой 33 — на 5 хроматографических фракций (рис. 1, д, 2, д). Хроматограмма белков Молдаванки оранжевой от хроматограммы Тираспольской скороспелой 33 отличается тем, что в ней отсутствует фракция 0,28. Фракции, элюирующиеся при максимальных концентрациях буфера, в отличие от фракций ранних стадий созревания содержат белки, сопровождаемые незначительными количествами небелковых веществ, хотя и не обнаружена ни одна фракция, белки которой не сопровождаются небелковыми веществами. Во всех хроматографических фракциях независимо от стадии созревания кроме белков, по данным прямого определения, содержится различное количество небелковых веществ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Рева В. А., Мюллер-Ури Ф., Клименко В. Г., Мюллер-Ури К. Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1976, № 3, с. 17.
2. Bressani R., Conde R. Changes in the chemical composition and in the distribution of nitrogen of maize at different stages of development.—Cereal Chem., 1961, 38, p. 76.
3. Danielsson C. E. Seed globulins of the Gramineae and Leguminosae.—Biochem. J., 1949, 44, p. 387.
4. Mertz E., Bressani R. Studies on corn proteins. 1. A new method of extraction.—Cereal Chem., 1957, 34, p. 63.
5. Murthy J., Dalby A. Changes in the protein fractions of developing normal and opaque-2, maize endosperm.—Cereal Chem., 1971, 44, p. 336.
6. Paulis J., Wall J. Albumins and globulins in extracts of corn grain parts.—Cereal Chem., 1969, 46, p. 263.
7. Zeleny L. The distribution of nitrogen in the seed of *Zea mays* at different stages of maturity.—Cereal Chem., 1935, 12, p. 536.

## ГЕНЕТИКА

Л. А. БОЙКО, А. Н. ЗАРЕЦКАЯ

### ИЗМЕНЕНИЕ СРЕПТОМИЦИН- И ФАГОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ТРАНСФОРМАНТОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ЛЮЦЕРНЫ

Для изучения вопросов генетики, селекции, а также для установления локализации гена азотфиксации (*nif*) и его взаимосвязи с другими признаками необходимо проведение исследований по переносу генетической информации. Известно три основных способа передачи генетического материала из клеток одного микроорганизма в клетки другого: конъюгация, трансдукция и трансформация. Они отличаются по характеру взаимодействия донора с реципиентом и по количеству ДНК, объединяющемуся с геномом реципиента. У *Rhizobium* обнаружены все вышеназванные способы передачи ДНК. Посредством трансформации установлена возможность передачи устойчивости к антибиотикам, изменение антигенной структуры, специфичности, активности азотфиксации.

Цель настоящей работы — изучить влияние трансформирующей ДНК на стрептомицин- и фагорецизистентность у *Rhizobium meliloti* люцерны.

#### Материалы и методы

Объектами исследования служили активные штаммы клубеньковых бактерий люцерны 401а, 419а, α5-30, 27 и неактивный штамм 425а-25. Все исследуемые штаммы отклонированы. Методы выделения стрептомицинустойчивых мутантов, характеристика штаммов-доноров и штаммов-реципиентов описаны ранее [1]. В работе использовано 12 фагов, выделенных из лизогенных культур *Rh. meliloti* и из почвы и размноженных на соответствующих индикаторных культурах. Методы выделения и размножения фагов описаны в предыдущей работе [3]. Фагорецизистентность определяли путем нанесения капли фаговой суспензии (титр фага  $\approx 10^7$  частиц/мл) на свежеприготовленные газоны испытываемых культур. При наличии зон лизиса на газоне тест-культуры проверкой на перевиваемость выявляли, вызваны ли они литическим действием фага.

#### Результаты и их обсуждение

Частота передачи маркера стрептомицинрезистентности и появления спонтанных стрептомицинрезистентных мутантов у реципиентных штаммов *Rh. meliloti*. Частота трансформации стрептомицинрезистентности рассчитана как отношение числа колоний, выросших на чашках

Петри с бобовым агаром и стрептомицином (1000 ед/мл), к общему числу бактерий. О спонтанном появлении антибиотикоустойчивых мутантов у реципиентных, не обработанных ДНК штаммов *Rh. meliloti*, судили по числу выросших колоний на чашках Петри с бобовым агаром и 1000 ед/мл стрептомицина.

Частота появления спонтанных стрептомицинустойчивых мутантов значительно ниже появления антибиотикорезистентных трансформантов, следовательно, клоны, выделенные со сред с антибиотиком и обработанные ДНК, являются трансформантами (табл. 1).

Таблица 1

Частота передачи маркера стрептомицинустойчивости и появления спонтанных стрептомицинустойчивых мутантов у реципиентных штаммов *Rhizobium meliloti*

Штамм	Частота трансформации	Процент трансформантов	Частота появления спонтанных стрептомициноустойчивых мутантов
401a	1:1,8·10 <sup>5</sup>	0,52·10 <sup>-3</sup>	5,3·10 <sup>-9</sup>
α5-30	1:1,7·10 <sup>5</sup>	0,54·10 <sup>-3</sup>	5,5·10 <sup>-10</sup>
419a-2	1:2,3·10 <sup>5</sup>	0,57·10 <sup>-3</sup>	5,7·10 <sup>-8</sup>

Подобная связь между антибиотико- и фагорезистентностью была обнаружена при изучении клубеньковых бактерий клевера [6]. При этом установлено, что большее число дефектов при синтезе соматических антигенов приводит и к более глубоким изменениям фагорезистентности. О связи между приобретением устойчивости к антибиотикам у микроорганизмов и изменении их антигенных, морфологических, культуральных, биохимических свойств и физико-химических параметров сообщают Лебедева, Воропаева [2] и другие исследователи.

При сопоставлении фагорезистентности трансформантов *Rh. meliloti* и исходных штаммов (доноров и реципиентов) видно, что в ряде случаев произошло изменение этого признака. Наиболее наглядно об этом свидетельствует изменение фагочувствительности у трансформантов от донора 425a-25-2 и реципиента 401a (см. табл. 2).

Полученные данные можно объяснить исходя из имеющихся представлений о механизме взаимодействия фагов с чувствительными бактериями [5] и из возможности изменения структуры клеточной оболочки при трансформации [4].

В варианте I при трансформации от донора к реципиенту, вероятно, передается фрагмент ДНК, включающий группу генов, ген или часть гена, ответственных за синтез клеточных рецепторов. В результате у трансформантов происходит изменение чувствительности к фагу. Во II и III вариантах у донора и реципиента могут быть нарушены участки генов, ответственных за синтез соответствующих клеточных рецепторов. При трансформации во II варианте синтез рецепторов восстанавливается, а в III варианте восстановления не происходит. В IV варианте в процессе трансформации участок ДНК донора, ответственный за синтез клеточных рецепторов, реципиенту, вероятно, не передается, и трансформант не приобретает способность синтезировать рецептор. Варианты V и VII не требуют специального объяснения.

Что касается вариантов VI и VIII, то полученные изменения можно объяснить двумя путями. Во-первых, возможно, в трансформирующей ДНК отсутствовали гены, участвующие в синтезе определенных

Чувствительность к фагам исходных штаммов *Rh. meliloti* (доноров и реципиентов) и их трансформантов. У некоторых мутантов *Rh. meliloti* с приобретением стрептомициноустойчивости (табл. 2) чувствительность к фагам остается прежней, другие же — изменили свое отношение к некоторым из них (обозначены в табл. 2 двумя звездочками). По-

Таблица 2

Фагорезистентность исходных и трансформированных штаммов *Rhizobium meliloti*

Исходная 425a-25 Донор 425a-25-2* Реципиент 401a Трансформанты 38 39 69	Фаги		Исходная 27 Донор 27-1* Реципиент α 5-30 Трансформанты 7 13 14	Исходная 419a Донор 419a-6* Реципиент 419a-2 Трансформанты 10 11 12
	425a α 5-30	417a		
Исходная 425a-25	+	+	+	+
Донор 425a-25-2*	+	+	+	+
Реципиент 401a	+	+	+	+
Трансформанты 38	+	+	+	+
Трансформанты 39	+	+	+	+
Трансформанты 69	+	+	+	+
Исходная 27	+	+	+	+
Донор 27-1*	+	+	+	+
Реципиент α 5-30	+	+	+	+
Трансформанты 7	+	+	+	+
Трансформанты 13	+	+	+	+
Трансформанты 14	+	+	+	+
Исходная 419a	+	+	+	+
Донор 419a-6*	+	+	+	+
Реципиент 419a-2	+	+	+	+
Трансформанты 10	+	+	+	+
Трансформанты 11	+	+	+	+
Трансформанты 12	+	+	+	+
Исходная 425a-25	+	+	+	+
Донор 425a-25-2*	+	+	+	+
Реципиент 401a	+	+	+	+
Трансформанты 38	+	+	+	+
Трансформанты 39	+	+	+	+
Трансформанты 69	+	+	+	+
Исходная 27	+	+	+	+
Донор 27-1*	+	+	+	+
Реципиент α 5-30	+	+	+	+
Трансформанты 7	+	+	+	+
Трансформанты 13	+	+	+	+
Трансформанты 14	+	+	+	+
Исходная 419a	+	+	+	+
Донор 419a-6*	+	+	+	+
Реципиент 419a-2	+	+	+	+
Трансформанты 10	+	+	+	+
Трансформанты 11	+	+	+	+
Трансформанты 12	+	+	+	+
Исходная 425a-25	+	+	+	+
Донор 425a-25-2*	+	+	+	+
Реципиент 401a	+	+	+	+
Трансформанты 38	+	+	+	+
Трансформанты 39	+	+	+	+
Трансформанты 69	+	+	+	+
Исходная 27	+	+	+	+
Донор 27-1*	+	+	+	+
Реципиент α 5-30	+	+	+	+
Трансформанты 7	+	+	+	+
Трансформанты 13	+	+	+	+
Трансформанты 14	+	+	+	+
Исходная 419a	+	+	+	+
Донор 419a-6*	+	+	+	+
Реципиент 419a-2	+	+	+	+
Трансформанты 10	+	+	+	+
Трансформанты 11	+	+	+	+
Трансформанты 12	+	+	+	+

\* Отклоненные штаммы-доноры, устойчивые к стрептомицину (1000 ед/мл), + фаг, анализирует культуру; — фаг не анализирует культуру. Фаги, размноженные на индикаторной культуре, обозначены дробью, в числителе которой указан номер исходной лизогенной культуры, в знаменателе — номер индикаторного штамма, цифрами обозначены фаги, выделенные из почвы и размноженные на штамме α5-30.

Таблица 3

Варианты изменения фагочувствительности у трансформантов *Rhizobium meliloti*

Штамм	Вариант							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Донор	+	-	-	+	+	-	-	+
Реципиент	-	-	-	-	+	+	+	+
Трансформант	+	+	-	-	+	-	+	-

клеточных рецепторов, либо донорный фрагмент ДНК включился в реципиентный таким образом, что нарушилась экспрессия генов. Во-вторых, в VI варианте в результате трансформации в реципиентный штамм, возможно, был перенесен профаг лизогенного донора. При этом трансформант становится лизогенным и поэтому устойчивым к гомологичному фагу. Подобное явление наблюдалось в эксперименте по трансформации нелизогенного реципиента посредством ДНК, выделенной из лизогенного донора [7]. Из изложенного следует, что лизогенность культур необходимо учитывать при подборе штаммов для опытов по трансформации. Об этом же свидетельствуют данные Zelazna-Kowalska, Lorkiewicz [8], которые при изучении условий, влияющих на частоту трансформации у *Rh. meliloti*, установили, что в таких опытах необходимо использовать нелизогенные и делизогенизированные штаммы, так как присутствие в препарате ДНК фаговых частиц вызывает лизис реципиентных клеток.

Результаты настоящей статьи дают представление о тех изменениях, к которым может привести трансформирующая ДНК в реципиентных штаммах, что необходимо учитывать при проведении исследований по генетической трансформации.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зарецкая А. Н. Метод трансформации как способ повышения активности клубеньковых бактерий.— Микробиология, 1976, 14, 5, с. 873.
2. Лебедева М. Н., Воропаева С. Д. Лекарственная устойчивость микроорганизмов. М., 1961.
3. Маранц Л. А., Москаленко Л. Н., Раутенштейн Я. И. Лизогения среди клубеньковых бактерий люцерны (*Rhizobium meliloti*).— Изв. АН СССР, Сер. биол., 1973, № 5, с. 720.
4. Прозоров А. А. Генетическая трансформация у микроорганизмов. М.; «Наука», 1966.
5. Стент Г. Молекулярная биология вирусов бактерий. М., «Мир», 1965.
6. Staniewski R., Jourzyk J., Lorkiewicz Z. Typing of *Rhizobium trifolii* by means of phages.— Acta Microbiol. Polon., 1973, A5 (22), № 1, p. 21.
7. Szende J., Sik F., Ordogh F., Gyorfly B. Transfer by immunity by nucleic acids of lizogenic *Rhizobium* strain.— Biochim. Biophys. Acta, 1961, 47, p. 215.
8. Zelazna-Kowalska J., Lorkiewicz Z. Conditions for genetical transformation in *Rhizobium meliloti*.— Acta Microbiol. Polon., 1971, A3, № 1-2, p. 21.

## МИКОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

А. Д. ДЕШКОВА, И. С. ПОПУШОН, Т. В. ПЛАЧИНТА

### ВЛИЯНИЕ ВЕРТИЦИЛЛЕЗА НА АКТИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ УСТОЙЧИВОГО И ВОСПРИИМЧИВОГО СОРТОВ ПЕРЦЕВ

Вертициллезное увядание сладкого перца широко распространено в Молдавии. Это заболевание снижает урожай плодов и ухудшает их товарные и пищевые качества. Один из наиболее эффективных способов борьбы с вилтом — выведение и внедрение в производство устойчивых сортов. В связи с этим селекционеры нуждаются в выявлении особенностей природы устойчивости сортов культурных растений и их физиолого-биохимических показателей.

Патогены вызывают сложные изменения в обмене веществ растения-хозяина, характер которых и определяет реакцию на внедрение возбудителя заболевания [1, 10]. Одно из проявлений механизма защитной реакции при грибной инфекции — усиление активности терминальных оксидаз — пероксидазы (ПО) и полифенолоксидазы (ПФО) [1, 7, 8, 12]. Особо важная роль принадлежит пероксидазе благодаря универсальности ее действия и высокой лабильности [7, 12].

Сравнительное изучение активности окислительных ферментов в растениях перцев контрастных по устойчивости сортов для выявления их участия в защитной реакции растения-хозяина при вертициллезе явилось предметом нашего исследования.

#### Материалы и методы

Объект исследования — два сорта перцев: устойчивый к вертициллезу Подарок Молдовы, выведенный в Молдавском НИИ орошаемого земледелия и овощеводства, в естественных условиях практически непоражаемый, и восприимчивый — Молдавский белый (потери урожая при вертициллезе этого сорта достигают 50%).

Растения в фазе бутонизации искусственно заражали грибом *Verticillium dahliae* Kleb. внесением кусочков мицелия через надрез в корневой шейке. Контрольные растения обрабатывались таким же образом, но не заражались грибом. Пробы для анализа отбирали от 10 здоровых и больных растений на 2, 3, 8, 14, 22 и 29-й день после заражения. Анализировали листья, стебли и корни. Активность пероксидазы и полифенолоксидазы определяли в свежем материале по методу Михлина и Брновицкой [6].

#### Результаты и их обсуждение

Результаты сравнительного изучения активности окислительных ферментов в разных органах контрастных по устойчивости сортов перцев здоровых и больных растений представлены на рис. 1-6. Полу-

ченные нами данные свидетельствуют о различиях в окислительном метаболизме изучаемых сортов.

Как видно из рис. 1, зависимость между уровнем активности ПО в здоровых листьях и устойчивостью к вертициллезу отсутствует; активность ПО в листьях здоровых растений устойчивого сорта была ниже, чем в соответствующих тканях восприимчивого сорта.

Уровень активности ПО в корнях здоровых растений обоих сортов на протяжении всего периода исследований примерно одинаков, за исключением фазы массового цветения — в это время наблюдается существенное снижение ее в корнях устойчивого сорта. И лишь в стеблях последнего отмечается в некоторые сроки отбора более высокий уровень активности ПО по сравнению с содержанием ее в стеблях восприимчивого сорта.

Что касается распределения ПО по органам растения, то наиболее высокий уровень ее содержания отмечается в корнях обоих сортов как здоровых, так и инокулированных.

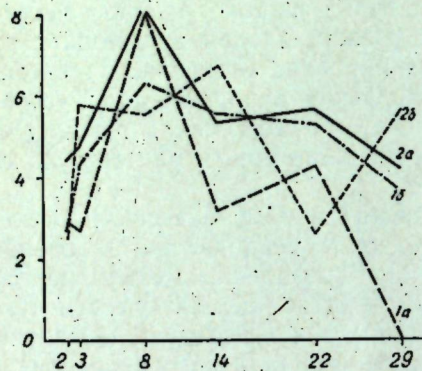


Рис. 1. Активность пероксидазы в листьях здоровых (а) и больных (б) растений устойчивого и восприимчивого сортов перцев в разные сроки после заражения:

1 — устойчивый сорт Подарок Молдовы; 2 — восприимчивый сорт Молдавский белый. По оси ординат — активность фермента в отн. ед./г сыр. веса. По оси абсцисс — дни после заражения. Эти обозначения приняты и для рис. 2—6

растений (в 5—10 раз выше, чем в листьях и стеблях в разные фазы развития). Динамика ПО в листьях и корнях здоровых растений обоих сортов носит сходный характер. Тенденция к снижению ПО с возрастом одинаково отчетливо выражена в листьях здоровых растений обоих сортов.

Наибольший интерес с точки зрения современных представлений об иммунитете как об активной ответной реакции растения на вмешательство в его обмен со стороны патогенного агента [7] приобретает выявление изменений в деятельности изучаемых ферментов в ранние сроки после заражения.

Сравнение отклонений от нормы в обмене веществ у сортов контрастных по устойчивости при различных инфекциях позволяет получить представление о защитных реакциях растений, возникающих в ответ на внедрение инфекции.

Повышение активности ПО в зараженных тканях отмечено многими исследователями, изучавшими различные заболевания растений [1, 5, 7, 9, 12]. В связи с этим утвердилось мнение, что ПО принадлежит значительная роль в устойчивости растений к патогенным организмам.

Как показали полученные нами данные (см. рис. 1), уже на 2-й день после инокуляции растений грибом *V. dahliae* проявляются различия в поведении ПО в листьях по сортам: в устойчивом сорте активность фермента сохраняется почти на том же уровне, что и в здоровой ткани, в восприимчивом она ингибируется на значительную величину. На 3-й день активность ПО повышается в листьях обоих сортов, но более существенно в устойчивом сорте. Наиболее резкие отличия в активности ПО по сортам отмечаются во время массового проявления

внешних симптомов заболевания — между 2-й и 3-й неделями с момента инокуляции растений. В этот период в листьях устойчивого сорта активность ПО возрастает почти в 2 раза по сравнению с уровнем активности ее в здоровых тканях и остается повышенной до конца исследований, в листьях восприимчивого сорта активирование пероксидазы менее значительно.

Что касается стеблей инокулированных растений, то в них различия в поведении пероксидазы по сортам еще более резко выражены, чем в листьях (рис. 2). Во всех органах восприимчивого сорта наблюдается обратная картина — повышение активности фермента как бы запаздывает по сравнению с изменениями ее в растениях устойчивого сорта или активируется в меньшей степени (рис. 1—3).

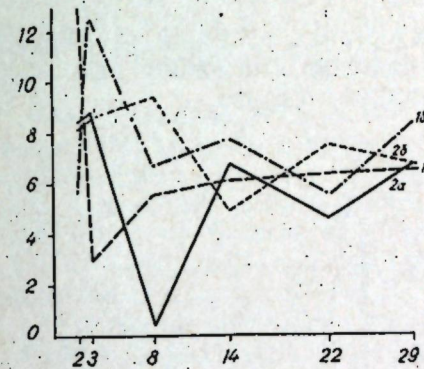


Рис. 2. Активность пероксидазы в стеблях здоровых и больных растений устойчивого и восприимчивого сортов перцев в разные сроки после заражения

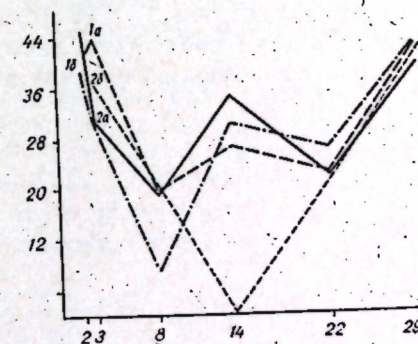


Рис. 3. Активность пероксидазы в корнях здоровых и больных растений устойчивого и восприимчивого сортов перцев в разные сроки после заражения

Известно, что активность ПО в пораженной устойчивой ткани обычно выше, чем в пораженной восприимчивой или в непораженной здоровой [1, 3, 4, 7, 10].

По характеру сдвигов в динамике и степени активирования ПО в патогенезе устойчивый сорт существенно отличается от восприимчивого. В растениях устойчивого сорта активирование ПО отмечается во всех органах растения в период проявления внешних симптомов заболевания. В растениях восприимчивого сорта в это время оно наблюдается лишь в листьях (в 2 раза меньше). Изменения в динамике ПО в растениях восприимчивого сорта наступали значительно позднее.

Полифенолоксидазе принадлежит важная роль в жизнедеятельности растительных организмов. Существует мнение, что полифенолоксидаза — главная, а в ряде случаев и единственная терминальная оксидаза у растений [8].

Соотношение между отдельными оксидазами у разных видов растений различно и не остается постоянным в ходе развития растений, что, по-видимому, имеет важное приспособительное значение. Защитная роль ПФО в явлениях фитоиммунитета основана на том, что в ответ на поражение усиливается окисление полифенолов, в результате чего образуется ряд веществ более токсичных, чем исходные соединения [8].

Согласно данным Майне [11], Томияма [12] и других авторов, заражение растений патогенными микроорганизмами приводит к повышению активности ПО и ПФО. Однако наряду с данными об активиро-



вании ПФО при заражении растений имеются сведения о том, что не все патогены обеспечивают такой эффект. Исследованиями Рудольфа [10] установлено, что активность ПФО ниже в листьях устойчивых сортов фасоли, зараженной бактериями и грибами, чем в листьях восприимчивых. Матышевская [5] также наблюдала активирование ПФО в листьях томатов некоторых восприимчивых сортов при заражении бактериями.

Результаты наших исследований по выявлению различий в активности ПФО в разных органах здоровых и зараженных растений восприимчивого и устойчивого сортов перцев (рис. 4—6) показали, что содержание ПФО в здоровых растениях обоих сортов по сравнению с количеством ПО в соответствующих органах невелико и подвержено значительным колебаниям.

Уровень активности ПФО во всех органах растений устойчивого сорта до наступления фазы массового цветения в основном был выше, чем в соответствующих органах восприимчивого сорта.

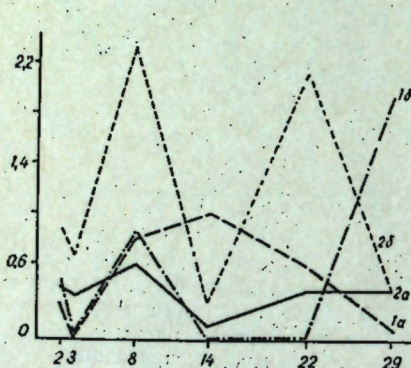


Рис. 4. Активность полифенолоксидазы в листьях здоровых и больных растений устойчивого и восприимчивого сортов перцев в разные сроки после заражения

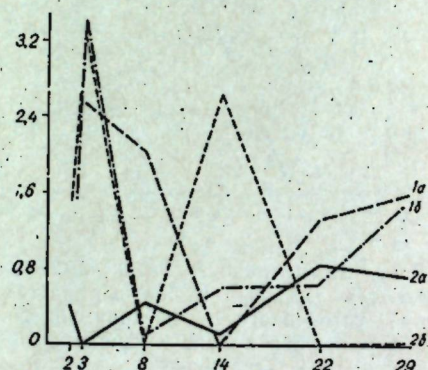


Рис. 5. Активность полифенолоксидазы в стеблях здоровых и больных растений устойчивого и восприимчивого сортов перцев в разные сроки после заражения

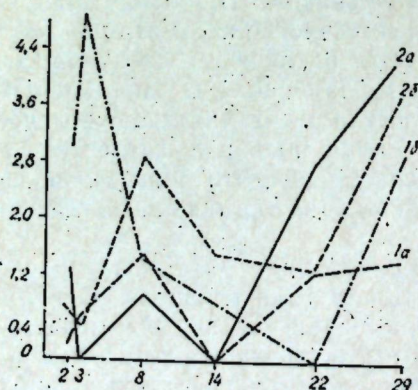


Рис. 6. Активность полифенолоксидазы в корнях здоровых и больных растений устойчивого и восприимчивого сортов перцев в разные сроки после заражения

Следует отметить, что характер кривых активности ПФО в листьях устойчивого и восприимчивого сортов растений в фазу массового цветения носит обратный характер, в стеблях устойчивого сорта уровень активности ПФО в начале фазы цветения в 6 раз выше, чем в стеблях восприимчивого сорта; в корнях последнего активность ПФО резко возрастает в начале фазы бутонизации по сравнению с уровнем активности в корнях устойчивого сорта.

При сравнении динамики ПФО и ПО в соответствующих органах обоих сортов проявляется обратная связь между ними: так, при сни-

жении уровня активности ПО в листьях, в фазу массового цветения, активность ПФО достигает максимума, в стеблях и корнях при уменьшении содержания ПО активность ПФО увеличивается — последняя как бы компенсирует снижение активности ПО. Особый интерес, как и в случае изучения активности пероксидазы, представляли для нас изменения в активности ПФО по сортам после заражения растений.

Согласно нашим данным (см. рис. 4) активность ПФО в листьях устойчивого сорта находилась в первые дни после заражения на уровне ее содержания в листьях здоровых растений, в дальнейшем к началу проявления внешних симптомов заболевания активность ПФО полностью ингибировалась, но к концу исследований она резко возрастала. Развитие инфекции в растениях восприимчивого сорта, наоборот, сопровождалось повышением активности ПФО, особенно резко выраженным на 8-й и 22-й день после заражения (в 5—6 раз по сравнению с соответствующими здоровыми и зараженными растениями устойчивого сорта).

Активирование ПФО в стеблях устойчивого сорта также незначительно по сравнению с уровнем активности ее в этих органах восприимчивого сорта (см. рис. 5). В корнях устойчивого сорта на 3-й день после заражения растений активность ПФО возрастает в 10 раз по сравнению с контролем, но в период проявления симптомов заболевания — на 14-й день — она была в 2 раза ниже, чем в корнях восприимчивого сорта (см. рис. 6).

Активность ПФО (см. рис. 4—6) в период проявления внешних симптомов заболевания (14-й день после заражения растений) резко ослабевала, что, по-видимому, было связано с использованием ее на окисление фенолов, играющих важную роль в защитных реакциях растений [1]. В тканях восприимчивого сорта, наоборот, отмечалось резко выраженное активирование ПФО.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований выявлены различия в ответных реакциях растений перцев, различающихся устойчивостью к вертициллезу — степень и скорость активирования ПО в пораженных растениях устойчивого сорта выше по сравнению с восприимчивыми растениями, у которых повышение активности фермента наступает позднее или активируется в меньшей степени.

У перцев с устойчивостью к вертициллезу коррелирует не исходный уровень активности пероксидазы здоровых растений, а способность активировать этот фермент в процессе заражения.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что окислительные ферменты играют существенную роль в определении устойчивости к вертициллезу.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабеев Ф. А. Иммунологические исследования вертициллезного вилта хлопчатника. Автореф. докт. дис. Баку, 1971.
2. Губанов Г. Я. Вилт хлопчатника. М., «Колос», 1972.
3. Кокин А. Я. Исследование больного растения. Петрозаводск, изд. Карельского ун-та, 1948.
4. Куревич В. Ф. Физиология больного растения в связи с общими вопросами паразитизма. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1947.
5. Матышевская М. С. Влияние фитопатогенных бактерий на физиолого-биохимические свойства растений. Киев, «Наукова думка», 1975.
6. Михлин Д. М., Броневицкая З. С. Йодометрический метод определения пероксидазы и полифенолоксидазы. — Биохимия, 1949, 14, 3, с. 379.

7. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Аксенова В. А. Биохимия и физиология иммунитета растений. М., «Высшая школа», 1975.
8. Рубин Б. А., Ладыгина М. Е. Энзимология и биохимия дыхания растений. М., «Высшая школа», 1966.
9. Сухоруков К. Т. Физиология иммунитета растений. М., Изд-во АН СССР, 1952.
10. Rudolph K., Stahmann M. Changes in activity and isozyme pattern of soluble dehydrogenases in bean leaves after infection with *Pseudomonas phaseolicola* and *Uromyces phaseoli*.— *Phytopath.*, 1968, 58, 8.
11. Maine E. C., Kelman A. Comparative physiological studies on hosts resistant and susceptible to southern bacterial wilt.— *Symp. Physiological Gen., Proc. 57-th Ann. Meet. Assoc. St. Agr. Works*, 1960, b, p. 248.
12. Tomiyama K., Stahmann M. Alteration of oxydative enzymes in potato tuber tissue by infection with *Phytophthora infestans*.— *Plant Physiol.*, 1964, 39, 3, p. 483—490.

В. В. БУЖОРЯНУ, М. Я. МОЛДОВАН

### ВНУТРИКЛЕТОЧНОЕ РАЗВИТИЕ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ (*NICOTIANA VIRUS 1*)

Первые описания внутриклеточного развития вируса табачной мозаики (ВТМ) в мозаичном листе табака были проведены в 1902 г. русским ученым Д. И. Ивановским — основоположником вирусологии. Классические зарисовки патологической картины клетки табака, пораженной вирусом, приведенные в докторской диссертации ученого, положили начало развитию цитологических исследований вирусных инфекций [4]. Внутриклеточное развитие ВТМ довольно полно показано Гольдиным при использовании световой микроскопии [2, 3]. Открытие электронного микроскопа и разработка методики получения ультратонких срезов дали возможность более полно изучить ВТМ.

В литературе приведено большое количество сообщений по ультраструктурной организации клеток растений, пораженных ВТМ. Наиболее обстоятельные исследования даются в монографии [6]. Однако, несмотря на многочисленную информацию по данной проблеме, нет единого мнения о локализации синтеза компонентов этого вируса в клетке растения-хозяина. Роль хлоропластов, ядер и митохондрий в репродукции вирионов ВТМ дискутируется [7, 10—12]. Распространенная точка зрения о внутриядерном синтезе вирусной РНК и накоплении вирусных частиц внутри ядра зараженной клетки нуждается в более веских доказательствах [1].

В связи с изложенным задачей наших исследований являлось изучение места сборки вирионов ВТМ в клетке пораженного растения-хозяина и выявление характера изменения структур хлоропластов, ядер и митохондрий при вирусной патологии.

#### Материалы и методы

Материалом для исследований служили растения табака (*Nicotiana tabacum* L.) сортов Переможец 83 и Юбилейный 8. Растения выращивали в теплице и в поле. В фазе 5—6 листьев их заражали молдавским (обыкновенным) и московским штаммами ВТМ. Последний



Рис. 1. Агрегаты вирусных частиц в цитоплазме клеток листа табака, пораженного молдавским штаммом ВТМ:  
а — ( $\times 19\ 000$ ); б — ( $\times 16\ 000$ ) — участки цитоплазмы с рибосомами среди вирусных агрегатов (ВА); в — рыхлая упаковка вирионов в агрегате ( $\times 30\ 000$ )

К стр. 33

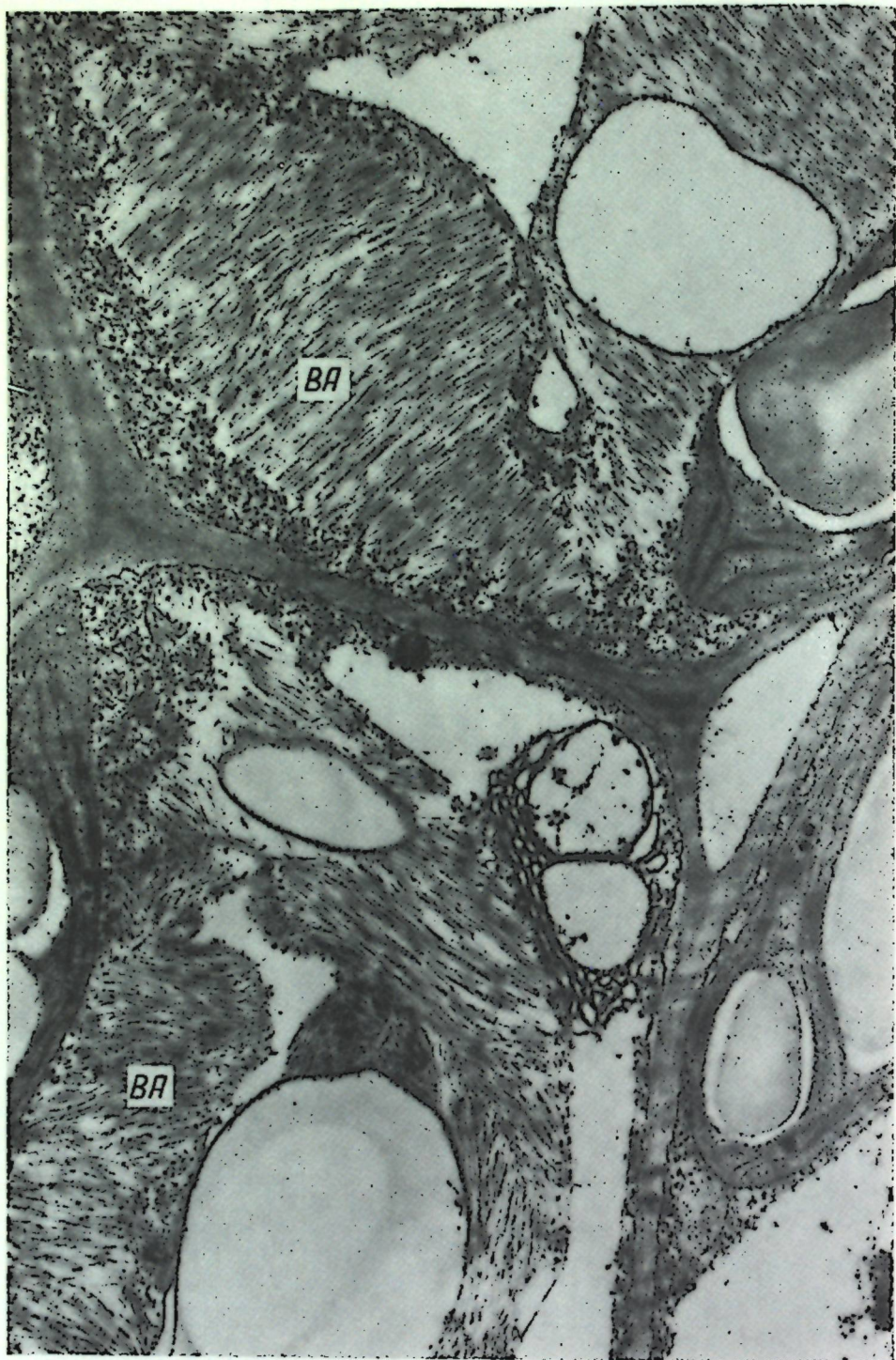


Рис. 2. Скопление рибосом вокруг вирусных агрегатов (BA) в цитоплазме клеток листа табака, пораженного московским штаммом ВТМ ( $\times 12\,000$ )

К стр. 33



Рис. 3. В клетке листа, пораженного московским штаммом ВТМ, просматриваются X-тела (Xt) ( $\times 11\,000$ )

К стр. 33

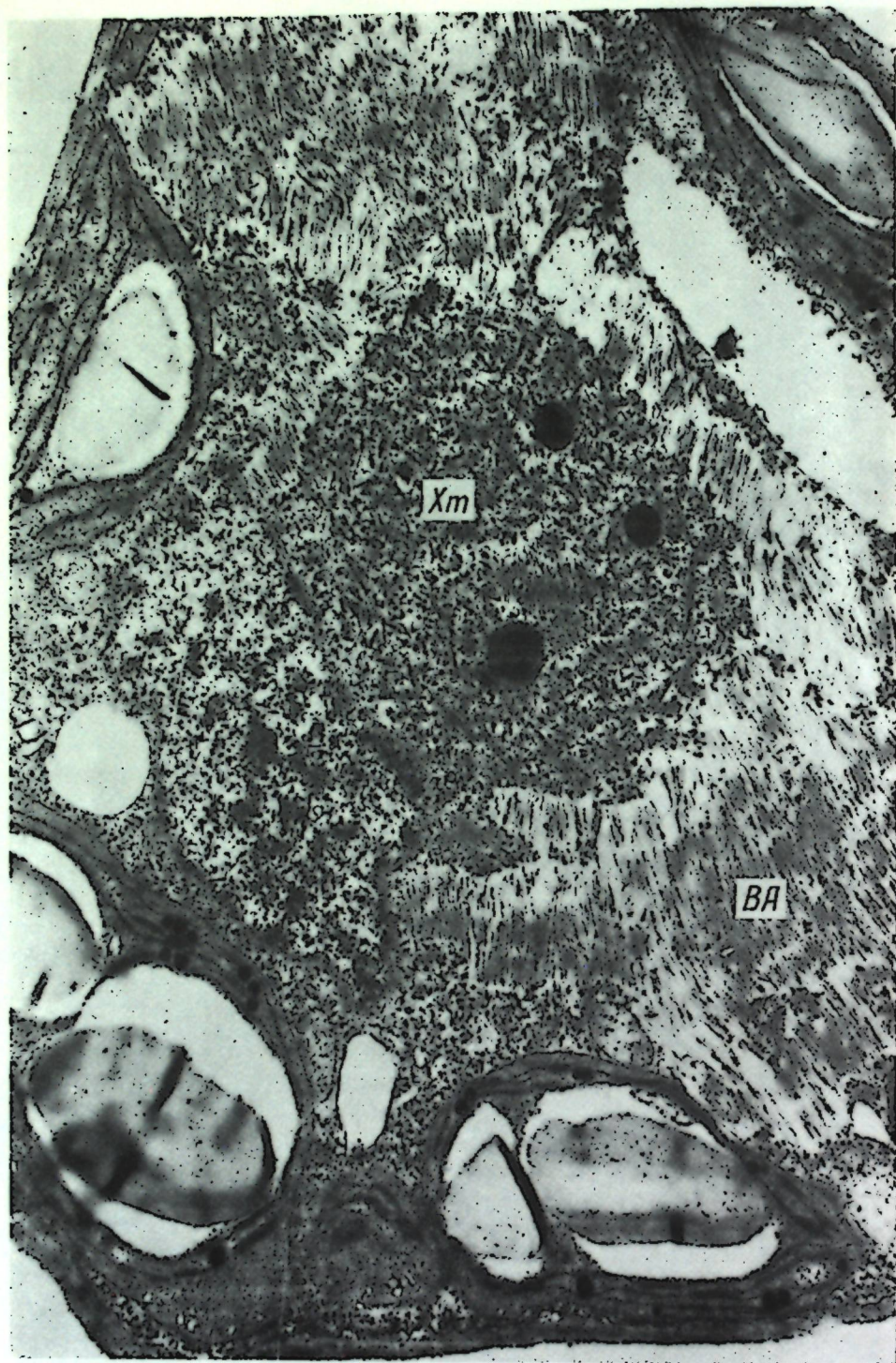


Рис. 4. Разрастающиеся при усилении заболевания вирусные агрегаты (BA) изменяют форму ядра (Я) ( $\times 19\,000$ )

К стр. 33

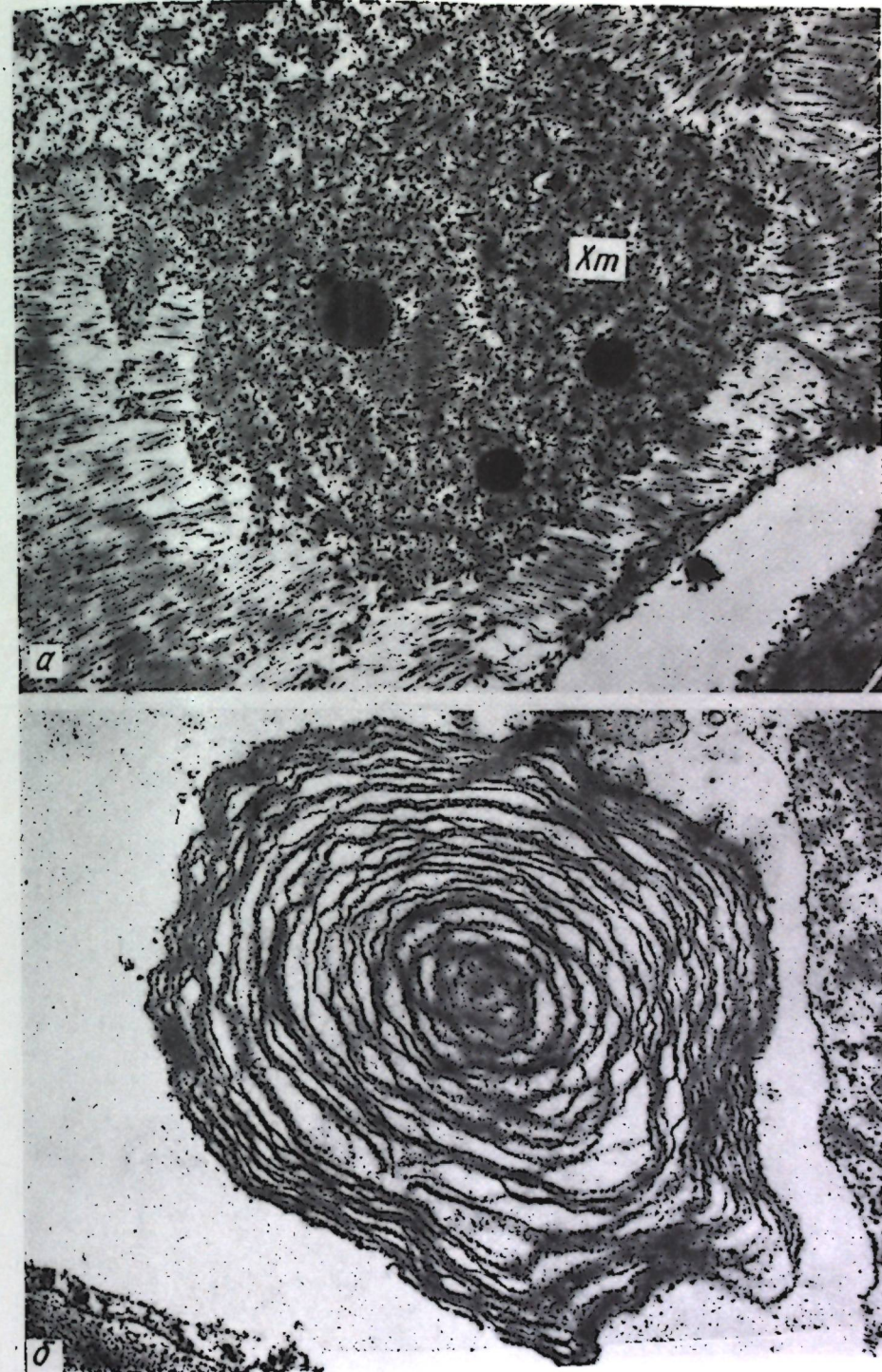


Рис. 5. X-тело (Xr) в пораженной клетке листа табака (a) ( $\times 18\,000$ ); миелиноподобная структура (б) в центральной вакуоле ( $\times 33\,000$ )

К стр. 33

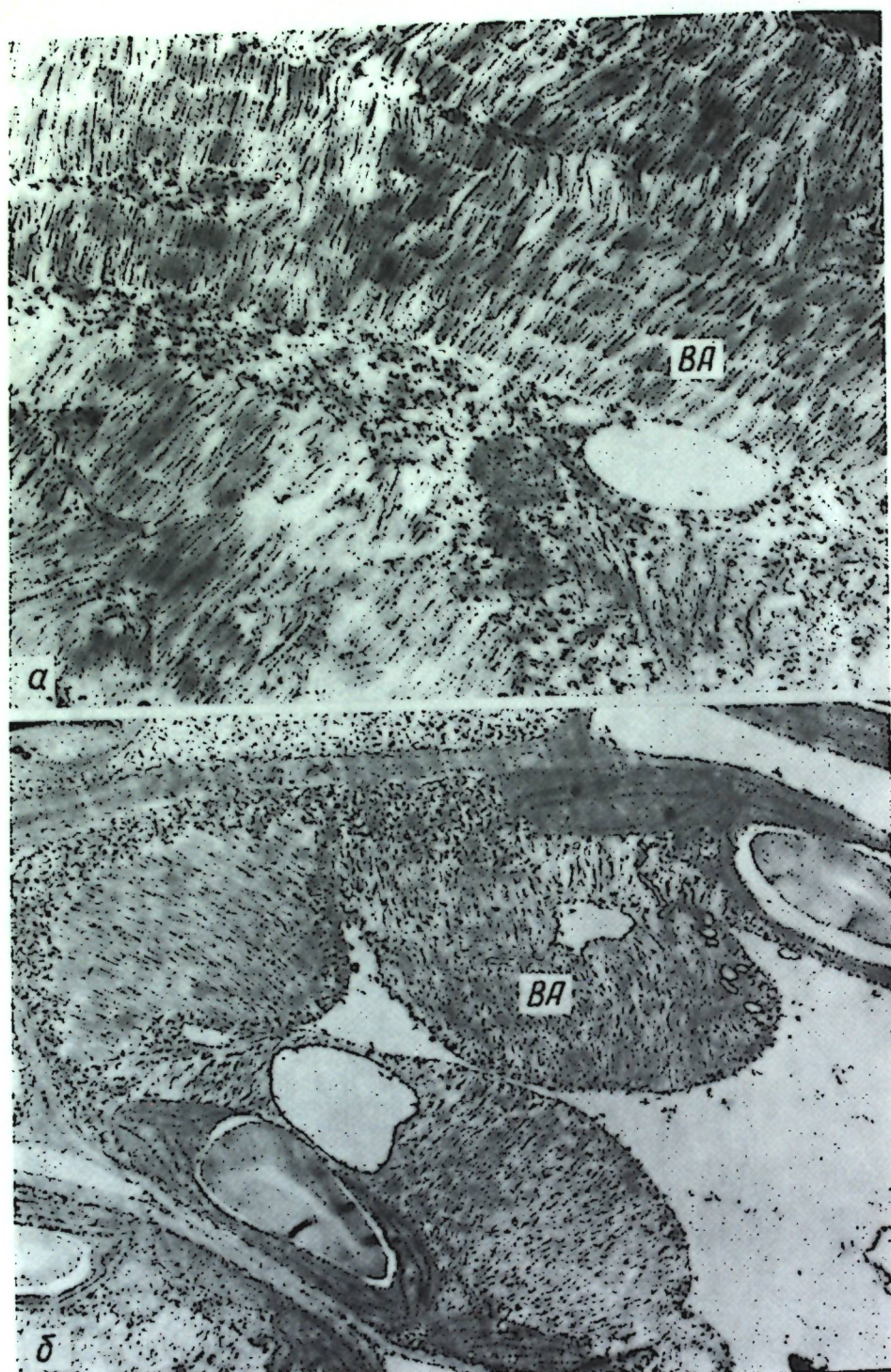


Рис. 6. Фрагменты клеток листа табака, пораженного московским штаммом ВТМ:  
 а — упорядоченная упаковка вирусных частиц в агрегаты ( $\times 22\,000$ ); б — увеличение вирусных агрегатов (ВА) в объеме и внедрение их в центральную вакуоль ( $\times 13\,000$ )

К стр. 33

был любезно предоставлен нам заведующим лабораторией биохимии вирусов МГУ профессором И. Г. Атабековым.

Внутриклеточное развитие вируса изучали в динамике заболевания. Пробы для электронно-микроскопических исследований брали через каждые 24 часа в первые 4 дня заражения, а последующие — через каждые 3—4 дня. Их фиксировали в 3% растворе глутарового альдегида с постфиксацией в 2% растворе осмиевой кислоты. После дегидратации этиловым спиртом и окислом пропилена материал заливали в эпоксидные смолы типа арадит и Эпон-812. Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме УМТП-3. Срезы контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца. Исследования проводили в электронных микроскопах Tesla-513 и ЭМВ100-Л.

### Результаты и их обсуждение

**Патологические изменения цитоплазмы.** Изучение ультраструктурной организации клеток листа табака, зараженного ВТМ, показало, что спустя 48 часов после заражения в различных участках цитоплазмы содержатся вирусные частицы, которые были сгруппированы в мелкие агрегаты, не имеющие окружающей мембраны. На более ранних фазах заражения вирусные частицы нами не были выявлены, хотя Milne [10] показал, что в палисадных клетках листа турецкого табака, зараженного обыкновенным штаммом ВТМ, частицы этого вируса обнаруживаются спустя 15 часов после инокуляции. По мере развития инфекции вирусные частицы в пораженной клетке обнаруживаются только в агрегатах. Форма их бывает прямолинейной, овальной или удлиненной (рис. 1, а, б, в — вкл.). С развитием болезни на 4—5-й день после заражения агрегаты увеличиваются в объеме, и в клетке их разделяют только узкие участки цитоплазмы, содержащие большое количество рибосом (рис. 1, а). Чаще всего вирусные агрегаты имеют топографические контакты с ядрами и пластидами (рис. 2—5 — вкл.). В одних случаях агрегаты примыкают непосредственно к оболочке ядра или хлоропластов, в других — они отделены от этих органелл цитоплазматическими мостиками. Вокруг агрегатов, где сохранились участки цитоплазмы, обнаружено массовое скопление рибосом, сгруппированных в полисомы.

Вирусные агрегаты, расположенные вблизи клеточной оболочки, разрастаясь, непосредственно примыкают к плазмалемме, придавая ей извилистый вид. Однако ни в одном случае разрывы плазмалеммы нами не обнаружены.

Локализация вирусных агрегатов в клетке зависит от характера расположения цитоплазмы. В более старых клетках, где цитоплазма имеет постенное расположение, агрегаты вируса обнаруживаются в этих местах. Разрастаясь в объеме, они внедряются в центральную вакуоль, образуя выпячивания. При этом тонопласт не разрывается. Он обволакивает агрегат и не дает возможности внедриться вирусу в центральную вакуоль (рис. 3, б, в — вкл.). Вирусные агрегаты мы обнаружили во всех типах клеток листа табака (эпидермисе, мезофилле, проводящих элементах листа).

Как показывают наши исследования, сосредоточение вирионов в агрегаты и структура последних зависят от штамма вируса. Так, при заражении листьев табака московским штаммом ВТМ большинство агрегатов состоит из чередующихся слоев, расположенных друг к другу параллельно (рис. 6, а). Молдавский штамм ВТМ вызывает обра-

зование агрегатов, в которых четкая упаковка отдельных вирусных частиц не выявляется. Они имеют вид рыхлых, волокнистых масс (рис. 1, в).

О влиянии штаммовых особенностей вируса на характер упаковки его вирионов в кристаллические тела сообщает также Shalla [12]. В исследованиях этого автора штамм  $U_5$  ВТМ вызывал образование вирусных агрегатов, состоящих из чередующихся слоев частиц, причем каждый слой был ориентирован на  $60^\circ$  по отношению к другому. Обыкновенный же штамм ВТМ образовывал моно- или многослойные кристаллы, большинство из которых имели гексагональную форму.

Причины упаковки вирусных частиц в агрегаты неизвестны. Предполагается, что этот процесс может происходить путем сборки вирионов за счет движения цитоплазмы. Milne считает, что сборка агрегатов, возможно, происходит в месте синтеза вирионов [10]. Наличие вирусных агрегатов в различных участках цитоплазмы и массовое сосредоточение вокруг них рибосом предполагает, что образование агрегатов происходит в тех местах цитоплазмы, где интенсивно синтезируются вирусные частицы.

Кроме кристаллических включений в цитоплазме пораженных клеток обнаруживаются Х-тела. Они встречаются довольно часто и обычно имеют округлую или вытянутую форму (см. рис. 3—5, а). В их состав входят эндоплазматическая сеть, рибосомы, митохондрии, вирусные частицы и электронно-плотные трубочки диаметром 250—280 Å [6, 10].

В наших исследованиях Х-тела выявлены в различных участках цитоплазмы, особенно часто они локализируются вблизи ядер и хлоропластов. Они состоят из множества электронно-плотных беспорядочно расположенных трубочек, рибосом, липидных капель, митохондрий и отдельных агрегатов вирусных частиц. Вокруг Х-тел ограничивающая мембрана не обнаружена (см. рис. 3—5, а).

Функция Х-тел окончательно не выяснена. Присутствие в Х-телах рибосом, сети эндоплазматического ретикулюма и диктиосом указывает на то, что они содержат необходимый для синтеза вируса материал [7]. Esau [6] считает, что в Х-телах осуществляется направленный синтез белка, включая полимеризацию белковых субъединиц вируса в частицы. Более подробная информация о структуре Х-тел и их функциях сообщается в работах [6, 9—11].

**Взаимодействие вируса с хлоропластами.** В литературе существуют противоречивые мнения о роли хлоропластов в репродукции вирусов. Одни авторы считают, что в хлоропласты вирусы попадают из цитоплазмы при их амёбовидных движениях [10, 11]. Другие придерживаются мнения, что местом синтеза вирионов являются хлоропласты [7, 12].

Honda и Matsui [8] показали, что в пропластидах этиолированных листьев табака, зараженных ВТМ и вирусом огуречной мозаики (ВОМ-1), обнаруживаются электронно-прозрачные участки, содержащие вирионы ВТМ, которые не ограничены мембраной. При этом совместное заражение табака этими вирусами усиливало образование в пластидах частиц ВТМ по сравнению с инокуляцией растений только одним ВТМ.

Позже в работах Shalla [12] было показано, что репродукция вирионов ВТМ в хлоропластах зависит от штамма вируса. Так, при заражении  $U_5$ -штаммом ВТМ вирионы располагались в строме хлоропластов параллельными рядами, образуя пучки агрегатов без окру-

жающей мембраны. В то же время обыкновенный штамм ВТМ не вызывал в хлоропластах образования вирусных агрегатов. Следовательно, хлоропласты не участвуют в размножении этого штамма вируса.

В наших исследованиях при заражении табака московским и молдавским штаммами ВТМ вирусные частицы в хлоропластах выявлялись в редких случаях и на более поздних стадиях заболевания, хотя вирусные агрегаты находились в непосредственном контакте с хлоропластами (см. рис. 4). При инфицировании табака московским штаммом ВТМ в строме хлоропластов выявлены электронно-плотные волокна, имеющие сходство с трубочками, содержащимися в Х-телах.

В пораженных клетках обнаруживаются хлоропласты на различных этапах дезинтеграции их структуры. В таких хлоропластах содержится большое количество электронно-прозрачных пузырьков, занимающих иногда значительную часть стромы. Тилакоидная система разрушается. Происходит лизис крахмала.

**Патология ядра.** Данные цитологических исследований показывают, что в ядрах зараженной клетки происходят заметные изменения. Вблизи ядра и в самом ядре в значительной мере повышается поглощение ультрафиолетовых лучей. В инфицированных клетках волосков табака ядерная оболочка становится довольно пористой. Микроавтографические исследования, проведенные с меченым урацилом, показали, что в ядрах зараженных клеток значительно повышается синтез РНК. Является ли эта РНК вирусной, пока не выяснено. Убедительные данные, доказывающие возможность размножения ВТМ в ядрах пораженных клеток растений-хозяев, отсутствуют.

Milne [10] сообщает, что в инфицированных клетках ядра остаются нормальными, в них не выявлены вирусные частицы. В эпидермальных и мезофилльных клетках этиолированных листьев табака, зараженных ВТМ и ВОМ-1, ядра имеют электронно-прозрачные участки, которые содержат палочкообразные частицы. При этом расположение вирионов в ядрах было неупорядоченным, в то время как в цитоплазме частицы были собраны в параллельные ряды. В то же время в этиолированных листьях табака, зараженных только ВТМ, ядра не содержали вирус [8].

Обнаружение вирусных частиц в ядрах инфицированных растений можно объяснить работами Esau и Gill [5]. Они показали, что при митозе клеток мезофилла листа табака, содержащих большое количество вирионов, мелкие пучки вирусов и рассеянные вирусные частицы случайно попадают в ядра дочерних клеток и хаотично располагаются в них. Большие вирусные агрегаты во время анафазы и телофазы остаются вне ядерной оболочки.

В наших исследованиях ни в одном случае не были обнаружены частицы ВТМ в ядрах. Вирусные частицы наблюдаются лишь вблизи ядер. При усилении инфекции агрегаты вирионов увеличиваются в объеме. Они вытесняют ядро, вызывают его деформацию. Ядро принимает лопастную форму (см. рис. 4, 5, а).

**Митохондрии.** На более поздних этапах патогенеза в некоторых клетках просматриваются митохондрии с нарушением их структуры. Такие органеллы принимают различные морфологические формы: удлиненную, гантелевидную, булавовидную и др. В них нарушена ориентация крист, образуются электронно-прозрачные участки. Иногда система крист становится аморфной (см. рис. 2—4).

**Вакуоль.** На ранних этапах заражения центральные вакуоли клеток выглядят нормальными. На 20—25-й день после заражения (период наиболее острого проявления заболевания) цитоплазма клеток бы-

вае сплошь заполнена вирусными агрегатами, которые выступают в вакуолярную полость в виде крупных образований, имеющих форму кармашков, окруженных тонопластом (см. рис. 6, б).

При разрыве тонопласта во время фиксации в цитоплазме появляется множество единично рассеянных вирусных частиц. Иногда в центральных вакуолях встречаются миелиноподобные структуры (рис. 5, б).

### Выводы

1. В различных местах цитоплазмы пораженных клеток листьев табака появляются агрегаты вирусов, имеющие прямоугольную, округлую форму. Упаковка вирусных частиц в агрегаты, по-видимому, происходит в местах первоначальной их сборки.

2. Структура агрегатов обуславливается штаммовыми особенностями вируса. Московский штамм ВТМ вызывает образование вирусных агрегатов, в которых вирионы располагаются упорядоченными рядами. Молдавский штамм ВТМ образует агрегаты, имеющие вид рыхлых, волокнистых масс.

3. Одновременно с кристаллической формой вируса в пораженных клетках обнаруживаются Х-тела. Они состоят из электронно-плотных трубочек, рибосом, митохондрий и мелких вирусных агрегатов.

4. В хлоропластах вирусные частицы встречаются редко, а в ядрах они не были выявлены. Структура хлоропластов больных клеток дезинтегрирует. В них появляется множество везикул.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Атабеков И. Г. Реализация генетической информации вирусных РНК. М., «Наука», 1972.
2. Гольдин М. И. Вирусные включения в растительной клетке. М., Изд-во АН СССР, 1954.
3. Гольдин М. И. Вирусные включения в растительной клетке и природа вирусов. М., Изд-во АН СССР, 1963.
4. Ивановский Д. И. Мозаичная болезнь табака.— Варшавские университетские изв., 1902, 5—6, с. 1—72.
5. Esau K., Gill K. Tobacco mosaic virus in dividing mesophyll cell of *Nicotiana*.— *Virology*, 1969, 38, p. 464—472.
6. Esau K. Viruses in plant hosts. Madison, Milwaukee and London, 1968.
7. Esau K., Cronshaw T. Relation of tobacco mosaic virus to the host cells.— *J. cell Biol.*, 1967, 33, p. 665—678.
8. Honda Y., Matsui C. Distribution of tobacco mosaic virus in etiolated tobacco leaf cell infected with two viruses.— *Phytopathology*, 1971, 61, 7, p. 759—762.
9. Kolenhainien Zech H., Wettstein D. The structure of cells during tobacco mosaic virus reproduction. Mesophyll cells containing virus crystals.— *J. cell Biol.*, 1965, 25, p. 77—85.
10. Milne R. G. Multiplication of tobacco mosaic virus in tobacco leaf palisade cells.— *Virology*, 1966, 28, p. 79—89.
11. Shalla T. A. Assembly and aggregation of the tobacco mosaic virus in tomato leaflets.— *J. cell Biol.*, 1964, 21, p. 253—264.
12. Shalla T. A. Virus particles in chloroplasts of plant infected with the  $U_5$  strain of tobacco mosaic virus.— *Virology*, 1968, 35, p. 194—203.

## МИКРОБИОЛОГИЯ

Т. П. ДВОРНИКОВА

### ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА 5-ИНДОЛГИДРОКСИЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ *ASPERGILLUS NIGER* 78

Широкое внедрение методов микробиологической трансформации в органическую химию и в производство биологически активных веществ позволяет использовать биохимическую активность микроорганизмов для изменения структуры индолов, в частности для получения 5-оксипроизводных. 5-Оксиндольные соединения являются физиологически высокоактивными веществами [1, 5, 9].

Ранее описана способность грибов рода *Aspergillus* и *Penicillium* образовывать 5-оксиндолил-3-уксусную кислоту (5-окси-ИУК) при окислении кристаллических индолил-3-уксусной кислоты и триптамина [4]. В настоящем сообщении представлены данные о влиянии концентрации субстрата, рН среды и различных источников азота в ней на степень 5-индолгидроксилазной активности *Aspergillus niger* 78.

### Материалы и методы

*Aspergillus niger* 78 выращивали в течение 48 часов в глубинных условиях на качалке (140—160 об/мин) при 28°C на среде Чапека-Докса, разлитой по 50 мл в колбы Эрленмейера объемом 250 мл. Изучая зависимость ферментативной активности от времени внесения субстрата, его концентрации, а также от источников азота в питательной среде, выросший 48-часовой мицелий отмывали дистиллированной водой и помещали в свежую порцию среды. Опыты по изучению влияния рН проводили в 0,5 М фосфатном буфере. Высокая концентрация буферного раствора выбрана для достижения большей буферной емкости.

Индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) и триптамин (ТА) вносили в виде спиртовых или водных стерильных растворов соответствующей концентрации. Через определенные промежутки времени культуру фильтровали через взвешенный бумажный фильтр. Мицелий на фильтре отмывали дистиллированной водой и сушили при 105°C для определения веса сухих веществ, а фильтрат использовали для анализа продуктов трансформации.

Об уровне 5-индолгидроксилазной активности судили по накоплению в культуральной жидкости 5-окси-ИУК, расходу ИУК и ТА.

Содержание 5-окси-ИУК определяли по реакции с  $\alpha$ -нитрозо- $\beta$ -нафтолом [8]. Количество ИУК, ТА и триптофола определяли спектрофотометрическим методом [6]. Для обнаружения индольных соединений использовали специфические реактивы: кислый раствор *n*-диметиламинобензальдегида, реактив Сальковского, реактив Прохазки, а также реакцию азосочетания.

### Результаты и их обсуждение

Для правильного учета энзиматической активности *Asp. niger 78* необходимо определить интервал времени для внесения субстрата. В условиях глубинного культивирования на среде Чапека-Докса фазы роста гриба несколько растянуты. Через 10—15 часов после посева начинается прорастание спор, к 48—50 часам активный рост мицелия заканчивается, культура переходит в стационарную фазу роста (рис. 1). За это время индольный субстрат, внесенный при посеве, полностью потребляется растущим микроорганизмом. Происходит интенсивный распад индольного ядра, о чем свидетельствует появление

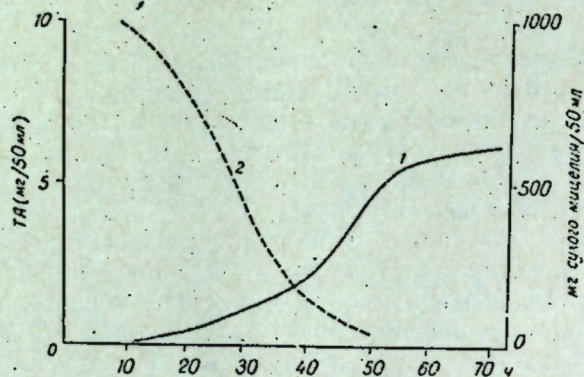


Рис. 1. Рост мицелия (1) *Aspergillus niger 78* и потребление триптамина (2)

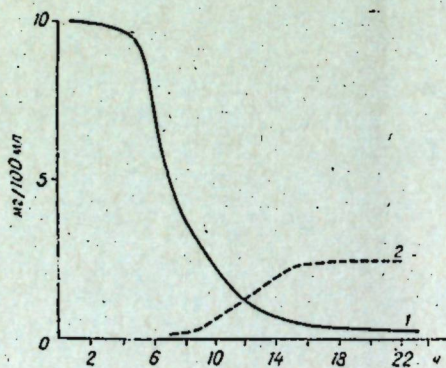


Рис. 2. Превращение ИУК *Aspergillus niger 78*:  
1 — ИУК; 2 — 5-окси-ИУК

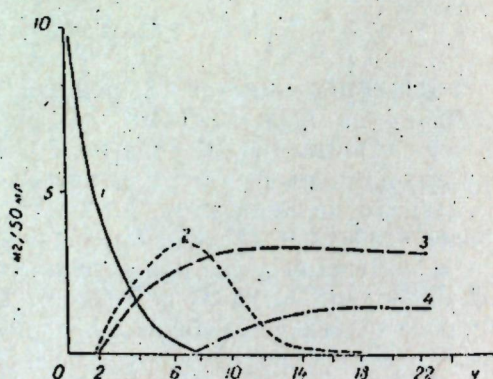


Рис. 3. Превращение триптамина *Aspergillus niger 78*:  
1 — ТА; 2 — ИУК; 3 — триптофол; 4 — 5-окси-ИУК

в культуральной жидкости антралиновой кислоты. Чтобы избежать потерь за счет потребления активно растущим мицелием, субстраты вносили в 48-часовую культуру.

На рис. 2 показан ход превращения синтетической ИУК. 5-Окси-ИУК появляется только через 8 часов после внесения субстрата, содержание ее достигает максимума к 16 часам и далее не изменяется. Из 10 мг ИУК, внесенной в колбу, за 24 часа инкубации образуется в среднем до 25% 5-оксипроизводного. Одновременно и в таком же количестве в культуральной жидкости накапливается индол, идентифицированный как 4-окси-ИУК [3].

*Asp. niger 78* активно превращает внесенный ТА, образуя четыре индольных метаболита (рис. 3). О быстроте превращения можно судить по тому, что уже через час в культуральной жидкости обнаружено присутствие ИУК и триптофола — продуктов реакции окислительного дезаминирования. Через 6 часов достигается максимальное содержание этих метаболитов, а ТА обнаруживается в следовых количествах. ИУК, образовавшаяся в результате действия моноаминоксидазы, служит далее субстратом гидроксилаз. Как и в случае с экзогенной ИУК, 5-оксипроизводное появляется через 8 часов инкубации. Видимо, действие ферментной системы, осуществляющей 5-гидроксилирование, носит индуктивный характер. Через 24 часа в культуральной жидкости найдены триптофол, 5-окси-ИУК, 4-окси-ИУК и следовые количества ИУК.

Опыты по определению оптимальной концентрации субстрата проводили с культурами *Asp. niger 78* и *Asp. niger 33* в течение 48 часов. Пробы культуральной жидкости отбирали через 6, 12, 24, 48 часов после внесения субстрата. Конечные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние концентрации субстрата на образование 5-окси-ИУК грибами *Aspergillus niger*

Культура	ТА, мг/л	5-Окси-ИУК		ИУК, мг/л	5-Окси-ИУК	
		мг/л	% от ТА		мг/л	% от ИУК
<i>Asp. niger 33</i>	100	8,34	8,34	50	11,82	23,64
	200	14,17	9,40	100	23,70	23,70
	300	13,00	6,50	200	20,11	15,12
	400	14,12	3,53	400	32,24	8,31
<i>Asp. niger 78</i>	100	8,01	8,01	50	12,05	24,10
	200	11,40	7,60	100	22,40	22,40
	300	13,41	6,70	200	28,44	14,22
	400	13,33	3,33	400	31,36	7,84

В культуральной жидкости грибов после 24—48 часов инкубации с триптамином накапливается 8—14 мг/л 5-окси-ИУК, что составляет 8—9% внесенного предшественника. Если же субстратом служит ИУК, то выход 5-оксипроизводного составляет 24%. Оптимальной концентрацией субстратов для осуществления процесса 5-гидроксилирования следует считать 100—200 мг/л ТА и 50—100 мг/л ИУК. Сравнительно небольшой выход 5-окси-ИУК не удалось компенсировать увеличением концентрации субстрата, так как в этом случае наблюдается явление субстратного ингибирования, и содержание гидроксилированного продукта прогрессивно уменьшается по отношению к внесенному индолу.

В опытах по изучению влияния pH на степень гидроксилазной активности *Asp. niger 78* субстратом служила ИУК. Измеряли pH до начала опыта и через 12—24 часа инкубации определяли концентрацию 5-окси-ИУК. Реакция среды в течение этого времени незначительно сдвигалась в кислую сторону, что не позволило с достаточной точностью установить оптимальное значение pH для процесса 5-гидроксилирования. В условиях нашего опыта мы приняли его в интервале 5,5—6 (рис. 4). На примере *Chromobacterium violaceum* установлено, что оптимум pH 5-гидроксилазы триптофана равен 6,0, выше этого значения процесс гидроксилирования прекращается [7]. Одновременно провели определение оптимального значения pH для реакции окислитель-



ного дезаминирования триптамина, учитывая накопление ИУК. Установлено, что моноаминоксидаза *Asp. niger* 78 осуществляет этот процесс при pH около 7,3—7,5 (см. рис. 4). Этот результат аналогичен сведениям относительно грибных аминоксидаз, оптимум pH которых лежит в пределах 7,2—7,8 [10].

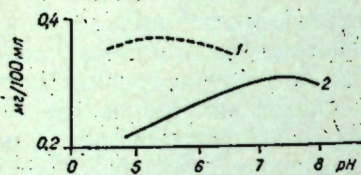


Рис. 4. Влияние pH на степень окисления ИУК и триптамина:

1 — накопление 5-окси-ИУК; 2 — накопление ИУК

Состав питательной среды определенным образом влияет на биосинтез ферментов в культурах микроорганизмов [2]. Так как индолы — азотсодержащие гетероциклические соединения, то представлялось интересным проверить, влияют ли форма и доступность азота питательной среды на рост мицелия *Asp. niger* 78 и его гидроксилазную активность. Гриб культивировали на среде Чапека-Докса, содержащей различные источники азотного питания (неорганические соли, мочевину, гидролизат казеина). Соли

и мочевину вносили в среду в количестве, эквивалентном азоту  $\text{NaNO}_3$ , обычного компонента этой среды. Количество гидролизата казеина (112 мг% аминного азота) также рассчитывали по этому эквиваленту. В 48-часовую культуру вносили триптамин (10 мг/50 мл) и через 24 часа после этого определяли содержание 5-оксипроизводного (табл. 2).

Таблица 2

Влияние азотсодержащих веществ на рост и 5-индолгидроксилазную активность *Aspergillus niger* 78

Источник азота	Концентрация, М/л	Вес сухих веществ, г/50 мл	5-Окси-ИУК, мг/50 мл
$\text{NaNO}_3$ (контроль)	$2,36 \cdot 10^{-2}$	0,38	1,24
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$1,18 \cdot 10^{-2}$	0,36	1,20
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$1,18 \cdot 10^{-2}$	0,41	1,21
Мочевина	$0,54 \cdot 10^{-2}$	0,33	1,18
Гидролизат казеина	2,94 г/л	0,97	0,65

Оказалось, что рост гриба *Asp. niger* 78 на средах с различными источниками азотного питания не сказывается определенным образом на его гидроксилазной активности. Исключение составляет среда с гидролизатом казеина. В этом случае отмечен низкий выход продуктов трансформации триптамина, в том числе и 5-окси-ИУК (вдвое меньше по сравнению с контролем). Видимо, это объясняется низкой аминоксидазной активностью гриба по отношению к триптину на среде, богатой аминным азотом. При трансформации на среде с гидролизатом казеина отсутствуют продукты окислительного распада индольных циклов, а экстракт культуральных жидкостей практически не содержит осмолвившихся веществ, что значительно упрощает очистку полученной 5-окси-ИУК.

Нами получены предварительные данные о специфичности 5-индолгидроксилазы *Asp. niger* 78. Проверка гидроксилирующей активности по отношению к кислотам: индолил-3-пропионовой, индолил-3-молочной, индолил-3-масляной, индолил-3-валериановой, индолил-3-капроновой, индолил-3-энантовой не дала положительных результатов, т. е.

5-оксипроизводные не обнаружены. Это свидетельствует о субстратной специфичности гидроксилирующей системы.

Таким образом, процесс 5-гидроксилирования индольной молекулы ИУК осуществляется в короткий срок (16—18 часов) на простых и сложных питательных средах, что позволяет использовать грибы *Asp. niger* для синтеза труднодоступных 5-оксиндолов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Громова Е. А. Серотонин и его роль в организме. М., «Медицина», 1966.
2. Егоров Н. С., Ушакова В. И., Аракелова В. А. Влияние различных источников азотного и углеродного питания на образование фибринолитических ферментов у *Actinomyces odorifer* и его мутантов.—Микробиология, 1972, 41, 1, с. 139.
3. Козловский А. Г., Коцеев К. А., Аринбасаров М. У., Скрябин Г. К. 4-Оксиндолил-3-уксусная кислота — продукт микробиологической трансформации индолил-3-уксусной кислоты.—Изв. АН СССР, Сер. хим., 1974, № 5, с. 1155.
4. Скрябин Г. К., Головлева Л. А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. М., «Наука», 1976, с. 269.
5. Шиврина А. Н. Биологически активные вещества высших грибов. М.—Л., «Наука», 1965, с. 116.
6. Harbo A., Aasheim T. A spectrophotometric method for the identification and assay tryptophol and other indolic derivate.—Physiol. plant., 1962, 15, 3, p. 546.
7. Mitoma C., Weissbach H., Udenfriend S. 5-Hydroxytryptophan formation and tryptophan metabolism in *Chromobacterium violaceum*.—Arch. Biochem. Biophys., 1956, 63, 1, p. 122.
8. Udenfriend S., Titus K., Weissbach H. The identification of 5-hydroxy-3-indoleacetic acid in normal urine and a method for its assay.—J. Biol. Chem., 1955, 216, 2, p. 499.
9. Udenfriend S., Lovenberg W., Sjoerdsma A. Physiologically active amines in common fruits and vegetables.—Arch. Biochem. Biophys., 1959, 85, 2, p. 487.
10. Yamada H., Adachi O., Ogata K. Formation of amine oxidase by fungi.—Agr. Biol. Chem., 1965, 29, 2, p. 117.

Л. Л. ЕФРЕМОВА, С. П. ИЛЬИНСКАЯ, Ф. Д. КОСТИК

## ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ПЕКТАРИЗИН Г10х

Ферментный препарат Пектаризин Г10х гриба *Rhizopus arrhizus* Fischer содержит комплекс ферментов, различающихся по субстратной специфичности. Препарат способен разрушать пектиновые вещества и мацерировать растительные ткани, что обусловлено присутствием в нем пектолитических ферментов.

Представляло интерес провести фракционирование ферментного препарата Пектаризин Г10х с целью отделения пектолитических ферментов от сопутствующих белков. Разделение проводили на сефадексе G-100, ДЭАЭ-целлюлозе (ДЭАЭЦ) и с помощью изоэлектрофокусирования.

## Материалы и методы

**Характеристика ферментного препарата Пектаризин Г10х.** Препарат получали из концентрированного фильтрата культуральной жидкости осаждением этиловым спиртом [2]. В нем определяли следующие ферментативные активности: пектолитическую (ПкАи) — интерферометрическим методом [5]; эндополигалактуроназную (субстрат — свекловичный пектин) — вискозиметрическим методом, экзополигалактуроназную — йодометрическим титрованием, пектинэстеразную — потенциометрическим титрованием [3, 4]; трансэлиминазу пектовой кислоты — спектрофотометрически [6, 8]; кислую протеазу — колориметрически (субстрат — гемоглобин). Белок в ферментном препарате определяли по Лоури [7]. В исследованиях использовался ферментный препарат с активностью 34 000 ед/г (ПкАи), содержание белка составляло 80 мг/г препарата.

Очистку ферментного препарата проводили тремя методами. Гель-фильтрация на колонке с сефадексом G-100 (2×100 см), уравновешенным 0,1 М ацетатным буфером (рН 5,0). 200 мг ферментного препарата растворяли в 2 мл буфера и наносили на колонку. Скорость элюирования 10 мл/ч, объем фракции 2—3 мл.

**Хроматография на ДЭАЭЦ.** Отдialизованный раствор ферментного препарата в 0,01 М ацетатном буфере (рН 5,0) наносили на колонку (3×25 см) с ДЭАЭЦ, находящейся в том же буфере. Сорбированный на колонке белок элюировали ацетатным буфером (рН 5,0), изменяя его концентрацию от 0,01 до 0,2 М.

**Изоэлектрофокусирование** проводили в смеси амфолинов (1%) с градиентом рН от 3 до 10 (градиент плотности сахарозы 0—40%). На колонку наносили 200 мг препарата. Длительность электрофокусирования составляла 36—40 часов, напряжение 600 В, температура +4°C. По окончании электрофокусирования содержимое колонки сливали, собирая фракции объемом 2 мл. Содержание белка в фракциях регистрировали спектрофотометрически при 280 нм. В каждой фракции элюата определяли ферментативную активность и значение рН. После анализа белковые фракции объединяли и определяли в них содержание белка.

## Результаты и их обсуждение

Ферментный препарат Пектаризин Г10х исследовали на наличие в нем пектолитических ферментов и кислой протениназы (см. таблицу).

## Характеристика ферментного препарата Пектаризин Г10х по активности ферментов

Ферменты	Активность, ед/г
Общая пектолитическая активность (ПкАи)	34000
Эндополигалактуроназа	17000
Экзополигалактуроназа	3068
Трансэлиминаза пектовой кислоты	1250
Пектинэстераза	0
Кислая протениназа	300

Данные показывают, что ферментный препарат гриба *Rh. arrhizus* представляет собой сложный комплекс пектолитических ферментов, включающих в себя эндо-, экзополигалактуроназы и трансэлиминазу, а также кислую протеазу. В отличие от других продуцентов пектолитических ферментов [1] гриб *Rh. arrhizus* не синтезирует пектинэстеразу.

При фракционировании препарата на сефадексе G-100 белок элюировался в виде трех пиков (рис. 1).

Основной белковый пик ферментативной активностью не обладал. Пектолитическая активность была сосредоточена на склоне первого пика (фракции 18—28) со сравнительно низким содержанием белка — 0,22 мг/мл. Удельная активность пектолитических ферментов после гельфильтрации на G-100 повышалась в 4 раза. Почти вся кислая протеаза содержалась во втором белковом пике. Однако этот метод не

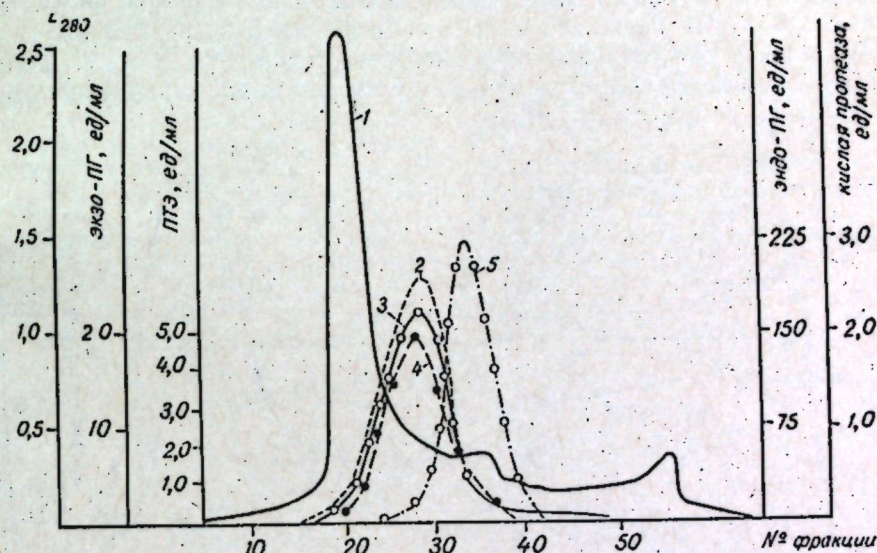


Рис. 1. Фракционирование ферментного препарата Пектаризин Г10х на колонке с сефадексом G-100:

1 — белок; 2 — экзо-ПГ; 3 — эндо-ПГ; 4 — пектат ТЭ; 5 — кислая протеаза

позволяет провести полное разделение пектолитических ферментов от кислой протеазы, очевидно, вследствие того, что их молекулярные веса достаточно близки.

Более эффективные результаты по разделению пектиназы от кислой протеазы были получены при использовании хроматографии ферментного препарата на ДЭАЭЦ (рис. 2). При элюировании 0,01 М буфером (фракции 4—9 с низким содержанием белка) вымывалась

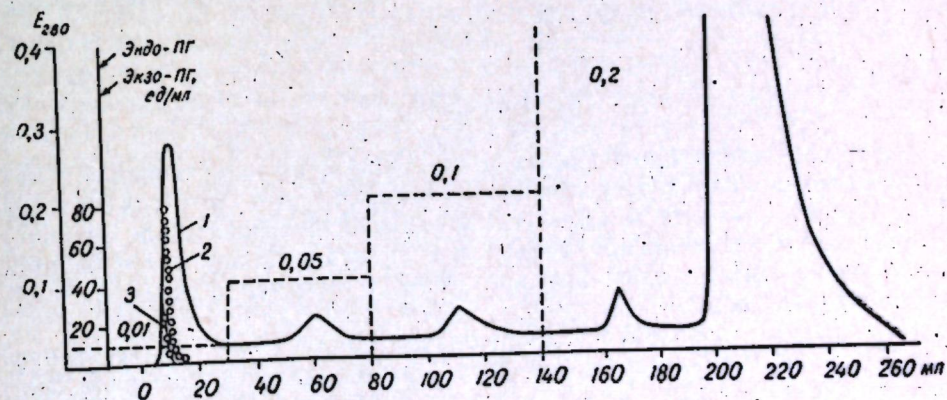


Рис. 2. Хроматография ферментного препарата Пектаризин Г10х на ДЭАЭ-целлюлозе:

1 — белок; 2 — эндо-ПГ; 3 — экзо-ПГ

основная часть пектолитической активности. В последующих элюатах от 0,05 до 0,2 М пектолитическая активность отсутствовала. В большом белковом пике элюата 0,2 М буфера (фракции 100—125) присутствовала кислая протеаза. Результаты хроматографирования на ДЭАЭЦ показали, что этот метод пригоден для полного отделения пектолитических ферментов от кислой протеазы. При этом достигается очистка в 3—4 раза. Так, если удельная активность исходного препарата составляла 340 ед/мг белка, то после очистки — 1140 ед/мг белка.

При электрофокусировании ферментного препарата (рис. 3) получены 5 белковых фракций, различающихся по изоэлектрическим точ-

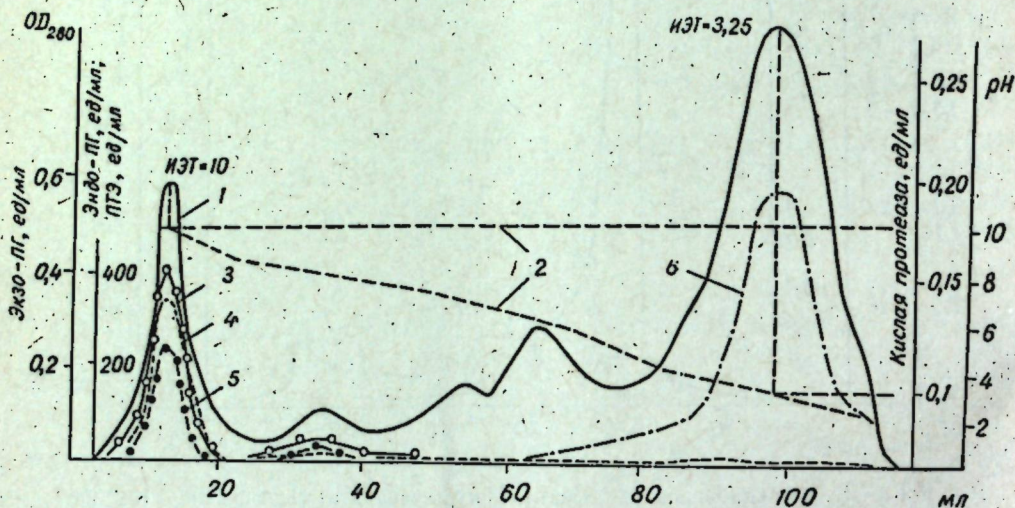


Рис. 3. Фракционирование ферментного препарата Пектаризин Г10х методом изоэлектрофокусирования:

1 — белок; 2 — градиент pH; 3 — экзо-ПГ; 4 — эндо-ПГ; 5 — пектат ТЭ; 6 — кислая протеаза.

кам (ИЭТ). В первом белковом пике с ИЭТ-10 сосредоточена основная часть пектолитической активности, в том числе эндо- и экзополигалактуроназы и трансэлиминаза. В остальных белковых пиках пектолитическая активность присутствовала в виде следов. В большом белковом пике с ИЭТ-3,25 нами обнаружена кислая протеаза, не содержащаяся в других пиках. Таким образом, этот метод позволяет отделить пектолитические ферменты от кислой протенназы.

### Выводы

1. В результате проведенных исследований было установлено, что ферментный препарат Пектаризин Г10х гриба *Rh. arrhizus* Fischer представляет сложный комплекс пектолитических ферментов, включающих экзо- и эндополигалактуроназу и трансэлиминазу пектовой кислоты. Кроме того, данный препарат характеризуется полным отсутствием пектинэстеразы.

2. Методом изоэлектрофокусирования определена изоэлектрическая точка пектолитических ферментов, находящаяся в щелочной зоне при pH около 10. Этот метод, а также хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе позволяют отделить пектолитические ферменты от кислой протенназы и повысить удельную пектолитическую активность в 3—4 раза.

### ЛИТЕРАТУРА

- Бравова Г. Б., Гребешова Р. Н., Калуняц К. А., Савокина М. И. Характеристика пектолитических ферментных препаратов и их использование в моче льна. — В сб.: Ферменты, получение и применение в народном хозяйстве, вып. 1. М., 1972, с. 254—264.
- Ефремова Л. Л., Ильинская С. П., Тэлэмбуц Н. Н., Костик Ф. Д. Условия выделения пектолитических ферментов гриба. — Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1976, № 6, с. 51—54.
- Лифшиц Д. Б. Унифицирование методов определения активности ферментных препаратов производственного значения. Киев, «Наукова думка», 1967.
- Лифшиц Д. Б. и др. Выделение пектинэстеразы и полигалактуроназы из пектолитических препаратов разного происхождения. — В сб.: Ферменты микроорганизмов: М., «Наука», 1973, с. 290—297.
- Рухляева А. П., Горляева М. Г., Листова З. А., Полягина Г. В., Чердиченко В. С. Об уточнении методов определения активности ферментных препаратов. — Тр. Всесоюз. НИИ спирт. и фермент. пром-сти, вып. 17, 1967, с. 107.
- Albercheim P., Neukom H., Deuel H. Bildung von ungesättigten Abbauprodukten durch ein pektinabbauendes Enzym. — Helv. Chim. Acta, 1960, 43, S. 1422—1426.
- Lowry O. N., Rosebrough T. N., Farr A. Z., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. — J. Biol. Chem., 1951, 193, 1, p. 265.
- Neukom H. Über Fabreaktionen von Uronsäuren mit Thiobarbiturssäure. — Chimia, 1960, 14, S. 165—167.

М. А. ЩЕРБАКОВ, Е. Е. ЕМНОВА, Н. И. ЗАЯЦ

### ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА БИОСИНТЕЗ ЦЕЛЛЮЛАЗ И КСИЛАНАЗ ГРИБОМ *FUSARIUM OXYSPORUM*

Состав питательной среды играет важную роль в регуляции биосинтеза ферментов [3, 6]. Настоящее сообщение посвящено подбору источника углерода для усиления биосинтеза целлюлаз и ксиланаз.

### Материалы и методы

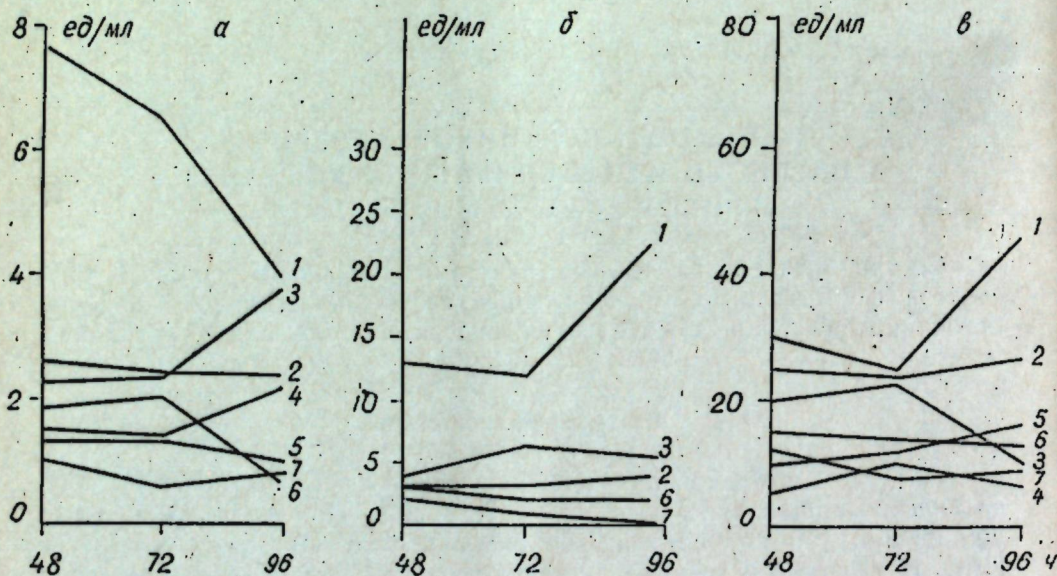
Объектом исследования служила культура гриба *Fusarium oxysporum*, выращенная в глубинных условиях (качалка КДМ-1, 180—200 об/мин) на полужидкой питательной среде [1] при температуре 30°C. В качестве источников углерода использовались фильтровальная бумага, солома озимой пшеницы, кукурузная кочерыжка, виноградные выжимки, древесные опилки, свекловичный жом, подсолнечная лузга и кукурузная цветочная пыль. Все среды, за исключением среды с фильтровальной бумагой, готовились следующим образом: 2 г источника углерода с 50 мл водопроводной воды стерилизовали при 1 атм. в течение 45 минут. Затем через сутки добавляли соли, кукурузный экстракт [1] из расчета на 100 мл жидкой фазы и стерилизовали повторно при 1 атм. в течение 30 минут. Среду с фильтровальной бумагой стерилизовали однократно в тех же условиях (pH среды 4,5).

Посевной материал выращивали глубинным способом в колбах Эрленмейера емкостью 250 мл с объемом среды 100 мл [1]. При этом источником углерода служила фильтровальная бумага. Посевные колбы засеивали 5—6-суточной культурой *F. oxysporum*, выращенной на косяке сушо-агара. Затем в опытные колбы вносили 10% суспензии, полученной через 48 часов культивирования гриба в глубинных условиях.

Культуральную жидкость (КЖ) отделяли от мицелия фильтрованием через капроновую ткань. В фильтрате определяли рН, содержание редуцирующих сахаров, а затем — активность  $C_1$ -фермента,  $C_x$ -фермента и ксиланаз [2] в динамике через 48, 72 и 96 часов. Все опыты проводили в 4—5 повторностях. Результаты опытов обрабатывали методами вариационной статистики [4, 5].

### Результаты и их обсуждение

Нами установлено, что из семи испытанных источников углерода наиболее благоприятными для синтеза целлюлаз и ксиланаз грибом *F. oxysporum* оказались фильтровальная бумага, солома озимой пшеницы и кукурузная кочерыжка (см. рисунок). Активность ферментов во многом определялась содержанием редуцирующих сахаров в исходной стерильной среде, что, в свою очередь, зависело от источника углерода и партии добавляемого кукурузного экстракта (табл. 1). Здесь же приведена динамика содержания редуцирующих сахаров в фильтрате КЖ.



Биосинтез  $C_1$ -фермента (а),  $C_x$ -фермента (б) и ксиланаз (в) в зависимости от источника углерода:

1 — фильтровальная бумага; 2 — солома озимой пшеницы; 3 — кукурузная кочерыжка; 4 — виноградные выжимки; 5 — древесные опилки; 6 — жом свекловичный; 7 — подсолнечная лузга

Таблица 1

### Содержание редуцирующих сахаров в питательной среде и ФКЖ гриба *Fusarium oxysporum*, мг/мл

Источник углерода	Редуцирующие сахара исходной среды	Время культивирования, часы		
		48	72	96
		$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Фильтровальная бумага	0,102	$0,193 \pm 0,017$	$0,156 \pm 0,010$	$0,162 \pm 0,012$
Кукурузная кочерыжка	0,290	$0,272 \pm 0,036$	$0,231 \pm 0,028$	$0,238 \pm 0,023$
Солома озимой пшеницы	0,770	$0,282 \pm 0,013$	$0,259 \pm 0,012$	$0,280 \pm 0,010$

Установлено, что в каждой определенной питательной среде грибок обеспечивает себе определенный постоянный уровень редуцирующих сахаров. Математическая обработка подтвердила, что разница в содержании редуцирующих сахаров в динамике статистически не достоверна ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, исходная питательная среда с фильтровальной бумагой не обеспечивает потребность гриба в легкоусвояемых сахарах. Среда с кукурузной кочерыжкой содержит необходимый минимум, а среда с соломой озимой пшеницы почти втрое большее количество редуцирующих сахаров, чем необходимо грибу для жизнедеятельности. С указанными соотношениями коррелирует активность  $C_1$ -фермента в ФКЖ гриба *F. oxysporum*.

Как и следовало ожидать, максимальное накопление  $C_1$ -фермента на среде с фильтровальной бумагой приходилось на начало роста, т. е. к 48 часам культивирования (табл. 2). До 72 часов сохранялся достигнутый уровень ( $t > t_{05}$ ), к 96 часам активность фермента снижалась ( $P < 0,05$ ).

Таблица 2

### Динамика активности $C_1$ -фермента грибом *Fusarium oxysporum*, ед/мл

Источник углерода	Время культивирования, часы		
	48	72	96
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Фильтровальная бумага	$7,90 \pm 0,67$	$6,94 \pm 0,52$	$4,19 \pm 0,90$
Кукурузная кочерыжка	$2,61 \pm 0,42$	$2,64 \pm 0,39$	$4,0 \pm 0,32$
Солома озимой пшеницы	$2,93 \pm 0,68$	$2,70 \pm 0,47$	$1,87 \pm 0,29$

На среде с кукурузной кочерыжкой максимум активности отмечен к 96 часам роста гриба, статистически достоверно отличающийся от уровня, достигаемого к 48 и 72 часам ( $P < 0,05$ ).

Среда с соломой озимой пшеницы не способствовала усиленному биосинтезу  $C_1$ -фермента. В течение четырех суток поддерживался низкий, не различающийся достоверно уровень ( $t < t_{05}$ ) активности данного фермента.

При сравнении максимально достигнутых уровней активности  $C_1$ -фермента на разных источниках углерода установлено, что активность данного фермента на среде с фильтровальной бумагой превышает значения, получаемые на средах с кукурузной кочерыжкой и соломой озимой пшеницы с достоверностью  $P < 0,01$ . Максимум активности  $C_x$ -фермента (табл. 3) на среде с фильт-

Таблица 3

### Динамика активности $C_x$ -фермента грибом *Fusarium oxysporum*, ед/мл

Источник углерода	Время культивирования, часы		
	48	72	96
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Фильтровальная бумага	$14,5 \pm 2,43$	$12,2 \pm 1,90$	$22,9 \pm 2,6$
Кукурузная кочерыжка	$4,53 \pm 1,02$	$7,20 \pm 2,57$	$6,14 \pm 0,69$
Солома озимой пшеницы	$3,62 \pm 0,41$	$3,34 \pm 0,66$	$4,47 \pm 0,69$

ральной бумагой наблюдался к 96 часам роста, достоверно отличающийся от уровня активности в 48 и 72 часа. Этот результат согласуется с данными по активности  $C_1$ -фермента и с общепринятой гипотезой о механизме действия целлюлазы [7]. В начале роста отмечен максимум активности  $C_1$ -фермента, позже происходит усиленный биосинтез  $C_x$ -фермента. На средах с кукурузной кочерыжкой и соломой пшеницы отчетливо выраженного максимума  $C_x$ -фермента в течение четырех суток роста не зафиксировано, разность значений не достоверна. Сравнение наивысших значений активности  $C_x$ -фермента на разных источниках углерода показало достоверное преимущество среды с фильтровальной бумагой.

Достоверный максимум ( $P < 0,05$ ) активности ксиланаз (табл. 4) получен к 96 часам роста на среде с фильтровальной бумагой, а на

Таблица 4  
Динамика активности ксиланаз грибом *Fusarium oxysporum*, ед/мл

Источник углерода	Время культивирования, часы		
	48	72	96
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Фильтровальная бумага	$30,4 \pm 3,36$	$26,6 \pm 3,64$	$46,1 \pm 5,78$
Кукурузная кочерыжка	$21,0 \pm 2,50$	$24,4 \pm 0,69$	$11,5 \pm 0,4$
Солома озимой пшеницы	$25,3 \pm 0,82$	$25,6 \pm 0,88$	$27 \pm 1,68$

среде с кукурузной кочерыжкой, напротив, к этому времени происходит снижение уровня биосинтеза ксиланаз, и на среде с соломой озимой пшеницы значения активности в течение суток не отличались достоверно. Среда с фильтровальной бумагой способствовала более высокому уровню биосинтеза ксиланаз по сравнению с другими источниками углерода ( $P < 0,01$ ).

При повторении опытов с новой партией кукурузного экстракта, используя среду с фильтровальной бумагой, мы получили исходную стерильную среду с повышенным содержанием редуцирующих сахаров — 0,640 мг/мл. Это внесло ряд интересных моментов при культивировании гриба *F. oxysporum*. Результаты опытов приведены в табл. 5.

Потребность гриба *F. oxysporum* в минимальном количестве редуцирующих сахаров в культуральной жидкости возросла. Отсюда и уровень активности всех ферментов выше по сравнению с предыдущим опытом. Вполне понятно, что в связи с более высоким содержанием сахара в исходной среде максимум активности  $C_1$ -фермента сместился на 72 часа роста, высокий уровень поддерживался и к 96 часам куль-

Таблица 5  
Активность ферментов гриба *Fusarium oxysporum* на среде с фильтровальной бумагой при повышенном содержании редуцирующих сахаров в исходной питательной среде, мг/мл

Продолжительность культивирования, часы	Редуцирующие сахара исходной среды, мг/мл	$C_1$		$C_x$	Ксиланазы
		$M \pm m$	$M \pm m$		
48	$0,313 \pm 0,033$	$4,46 \pm 1,32$	$16,32 \pm 2,9$	$30,9 \pm 4,5$	
72	$0,255 \pm 0,026$	$9,50 \pm 0,54$	$26,4 \pm 3,5$	$34,8 \pm 5,5$	
96	$0,282 \pm 0,018$	$7,82 \pm 0,91$	$27,1 \pm 3,3$	$86,9 \pm 9,34$	

тивирования. Для  $C_x$ -фермента установлен достоверно не отличающийся уровень активности от 48 до 96 часов роста гриба. Активность ксиланаз в новых условиях возросла приблизительно вдвое, причем максимальное ее образование происходит также к 96 часам.

Таким образом, нами выяснено, что фильтровальная бумага является наилучшим источником углерода для биосинтеза целлюлозолитических ферментов и ксиланаз грибом *F. oxysporum*. Установлена определенная закономерность в биосинтезе ферментов: уровень биосинтеза целлюлаз и ксиланаз можно регулировать исходным содержанием редуцирующих сахаров в среде.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зелтинь Р. П. Подбор питательной среды для биосинтеза целлюлозолитических ферментов *Aspergillus terreus* 17P с помощью метода крутого восхождения.— Микробиология, 1970, 39, 5, с. 832.
2. Исмаилова Д. Ю., Логинова Л. Г. Влияние некоторых веществ на биосинтез целлюлозы термотолерантного гриба *Aspergillus terreus* 17P.— Прикл. биохим. и микробиол., 1975, 11, 5, с. 676.
3. Коновалов С. А. Биосинтез ферментов микроорганизмами. М., «Пищевая промышленность», 1972, с. 4.
4. Плохинский А. Н. Биометрия. Новосибирск, Изд-во АН СССР, 1961, с. 117.
5. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М., Изд-во АН СССР, 1963, с. 201.
6. Фениксова Р. В. Гидролитические ферменты микроорганизмов и их применение в народном хозяйстве. М., «Наука», 1972, с. 4.
7. Фениксова Р. В. Целлюлаза микроорганизмов, ее свойства и практическое применение.— В кн.: Ферментативное расщепление целлюлозы. М., «Наука», 1967, с. 11.

В. И. САБЕЛЬНИКОВА, Г. А. БРУНЬ

#### БИОСИНТЕЗ РОСТОВЫХ ВЕЩЕСТВ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ ЛЮЦЕРНЫ (*RHIZOBIUM MELILOTI* FRANK)

Известно, что клубеньковые бактерии (КБ) оказывают положительное влияние на всхожесть семян, активизируют развитие растений [10]. Некоторые авторы объясняют это тем, что клубеньковые бактерии способны вырабатывать биогенные стимуляторы [7], среди которых отмечали органические кислоты [2], в том числе аминокислоты, витамины группы В [2, 4]. В последнее время появились сведения о способности КБ синтезировать ауксины и ауксиноподобные вещества [11]. Однако этот вопрос изучен недостаточно.

Цель настоящей работы — изучение способности клубеньковых бактерий люцерны *Rhizobium meliloti* Frank синтезировать ростовые вещества.

#### Материалы и методы

Объект исследования — 2 активных штамма КБ люцерны: штамм 425а из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии и штамм 7, выделенный микробиологами АН Узбекской ССР. КБ выращивали на жидкой бобовой среде в колбах Эрленмейера (объем

750 мл) на качалке (180—200 об/мин) при 27—28°C. В качестве предшественника индоллил-3-уксусной кислоты (ИУК) использовали триптофан. Сопоставление разных доз его внесения показало, что наиболее активный синтез ИУК наблюдался при добавлении 0,5—1 г на 1 л среды. Контролем служила незараженная бобовая среда с триптофаном и без него.

Накопление физиологически активных веществ изучали в динамике на 3, 5, 6, 7 и 10-й день.

Клетки КБ отделяли на центрифуге Т-24 при 15 000 об/мин в течение часа. Ростовые вещества из супернатанта и клеток КБ экстрагировали по методике [6]. Элюаты выпаривали досуха в токе холодного воздуха, сухой остаток растворяли в 2—3 мл 96° этанола. Экстракты наносили на хроматографическую бумагу марки FN-16 в количестве 0,1—0,2 мл и разгоняли нисходящим током в четырех системах растворителей: I — н-бутанол—уксусная кислота—вода (БУВ) в отношении 4:1:5; II — соляная кислота—уксусная кислота—вода (3:30:10); III — н-бутанол—аммиак—вода (10:1:1); IV — н-бутанол—уксусная кислота (15:85). Оптимальной оказалась I система, которую мы использовали в своих последующих исследованиях. Идентифицировали вещества по свечению пятен в УФ-свете, величине  $R_f$ , окрашиванию реактивами Сальковского и Паули, а также 1% раствором  $FeCl_3$  [6].

Количественное содержание ИУК определяли колориметрически с реактивом Сальковского [9]. Качественную пробу на фенолы проводили с реактивом Фолина—Чокальте [8]. Физиологическую активность выявленных веществ определяли методом колеоптилей [3].

### Результаты и их обсуждение

Хроматографическим методом установлено, что клубеньковые бактерии люцерны продуцируют ряд веществ. На 3-й день культивирования выявлено четыре соединения, на 5-й — пять, на 6—7-й — одиннадцать. На 10-й день нам не удалось провести хроматографическое разделение этих веществ, так как культуральная жидкость (КЖ) при добавлении экстрагентов превращалась в желеобразную массу, которую невозможно было разделить.

Были идентифицированы индоллил-3-уксусная кислота, индоллил-ацетонитрил (ИАН) и триптофан (табл. 1, 2).

Ростовая активность соединений, выявленных хроматографически, представлена в виде гистограмм (см. рисунок). Показано, что на 3-й день культивирования КБ люцерны образуют вещества, в основном ингибирующие рост колеоптилей, на 5-й и особенно на 6-й накоп-

Гистограммы физиологической активности ростовых веществ, синтезируемых клубеньковыми бактериями люцерны в разные сроки культивирования (дни): а — 3; б — 5; в — 6

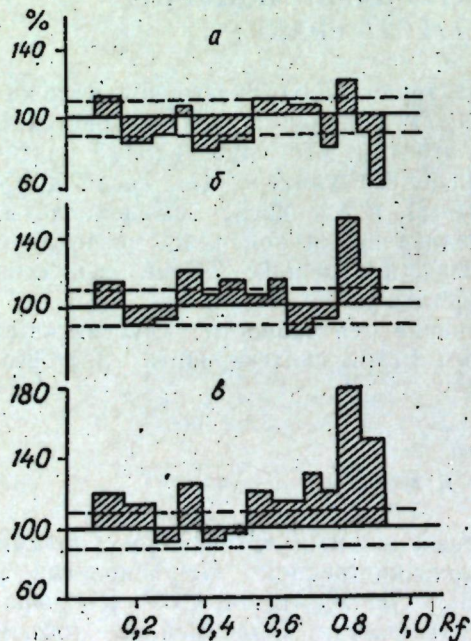


Таблица 1  
Физико-химические показатели соединений, выявленных методом бумажной хроматографии\* из КЖ при выращивании *Rhizobium meliloti* шт 441 в динамике

Свечение в УФ		$R_f$	Окраска с реагентами			Идентифицированное вещество
в воздухе	в $NH_3$		реактив Сальковского	1% $FeCl_3$	реактив Паули	
<b>3-суточная культура</b>						
Светло-голубое	Голубое	0,32—0,37	Оранжевая	Бурая	Бурая	Триптофан
Сине-фиолетовое	Фиолетовое	0,57—0,63	—	—	—	—
Голубовато-желтоватое	Усиление окраски	0,80—0,86	Розовая	Розовая	Желтая	ИУК
Фиолетовое	Фиолетовое	0,90—0,93	Зеленоватая	Светлорозовая	Желтая	ИАН
<b>5-суточная культура</b>						
Светло-голубое	Усиление окраски	0,26—0,30	—	—	—	—
Голубое	То же	0,30—0,35	Оранжевая	Бурая	Бурая	Триптофан
Синее	•	0,50—0,57	—	—	—	—
Фиолетовое	•	0,68—0,78	—	—	—	—
Голубовато-желтое	•	0,80—0,86	Розовая	Розовая	Желтая	ИУК
Фиолетовое	•	0,90—0,93	Зеленоватая	Светлорозовая	Желтая	ИАН
<b>6-суточная культура</b>						
Желтое	Желтое	0,08—0,16	—	—	—	—
Фиолетовое	Фиолетовое	0,16—0,24	—	—	—	—
Голубое	Ярко-голубое	0,25—0,32	—	—	—	—
Сине-фиолетовое	Фиолетовое	0,32—0,39	Оранжевая	Бурая	Бурая	Триптофан
Сине-голубое	Голубое	0,39—0,43	—	—	—	—
Голубое	Голубое	0,45—0,50	—	—	—	—
Синее	Синее	0,60—0,67	—	—	—	—
Фиолетовое	Фиолетовое	0,75—0,80	—	—	—	—
Голубовато-желтое	Голубое	0,80—0,84	Розовая	Розовая	Желтая	ИУК
Желто-бурое	Желтое	0,84—0,90	—	—	—	—
Фиолетовое	Фиолетовое	0,90—0,93	Зеленая	Светлорозовая	Желтая	ИАН

\* Растворитель БУВ (4:1:5).

ливается больше веществ ростстимулирующего действия. Физиологическая активность соединений из зон соответствующих ИУК и особенно ИАН значительно активизировалась на 6-й день, при этом прирост колеоптилей по сравнению с контролем достигал соответственно 180 и 150%.

Нами было проведено определение количественного содержания ИУК в клетках бактерий и в культуральной жидкости. При выращивании КБ на бобовой среде с триптофаном ИУК была выявлена уже на 3-й день, но в небольших количествах, на 5-й и особенно

Таблица 2  
Показатели  $R_f$  синтетических ИУК, ИАН и идентифицируемых веществ в различных системах растворителей

Сопоставляемые вещества	Система растворителей		
	I	III	IV
Синтетическая ИУК	0,87	0,16	0,87
Идентифицируемое вещество	0,86	0,14	0,87
Синтетический ИАН	0,91	0,81	0,91
Идентифицируемое вещество	0,92	0,79	0,90

на 6-й ее содержание значительно возросло. На 3-й день в КЖ при выращивании КБ люцерны шт 425а обнаружено 70 мкг ИУК в 100 мл среды, на 5-й — 260 мкг и на 6-й — 320 мкг и 74, 510, 1386 мкг соответственно в КЖ шт 7 (табл. 3). Следует отметить, что активный шт 7 в 2—4 раза синтезирует больше ИУК, чем шт 425а.

При культивировании КБ на среде без триптофана обнаружить ИУК в КЖ нам удалось только на 6-й день, и то в небольших количествах (см. табл. 3). Возможно, что ИУК не была обнаружена в КЖ на 3—5-й день только из-за незначительного ее содержания.

Известно, что при добавлении в среду, где выращиваются микроорганизмы, триптофана как предшественника ИУК усиливается синтез последней [5]. Нашими исследованиями это подтверждено на примере клубеньковых бактерий люцерны (см. табл. 3).

Вопрос о накоплении ИУК в клетках микроорганизмов изучен недостаточно, поскольку исследователи в основном ограничивались лишь определением свободной формы ИУК в культуральной жидкости и лишь некоторые из них изучали накопление ИУК в клетках [1]. Мы не обнаружили присутствие ИУК в клетках КБ шт 425а и шт 7, вероятно, потому, что она синтезируется в незначительных количествах. Не исключена также возможность вымывания части свободной ИУК из бактериальных клеток при подготовке препаратов.

КБ люцерны наряду с индольными соединениями синтезируют также фенольные. О наличии фенолов мы судили только по качественной пробе с реактивом Фолина—Чокальте, но этого, возможно, недостаточно для категоричного утверждения.

Таким образом, можно сделать вывод, что изученные штаммы *Rhizobium meliloti* активно продуцируют ряд ростовых веществ индольной природы, и в частности индолил-3-уксусную кислоту и индолил-ацетонитрил. Максимальное их количество накапливается в культуральной жидкости на 6—7-й день культивирования. Содержание ИУК в этот период составляет 320—1386 мкг в 100 мл среды. В бактериальных клетках ИУК нами выявлена не была.

Отмечена способность клубеньковых бактерий люцерны продуцировать и вещества фенольной природы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов О. Н. А. Сравнительное исследование  $\beta$ -индолилуксусной кислоты у систематически отдаленных растений. Автореф. канд. дис. Вильнюс, 1974.
2. Благоевский А. В., Петраченко У. А. Влияние обработки семян янтарной и фумаровой кислотами на некоторые физиологические процессы у растений.— Физиол. раст., 1959, 6, 1, с. 53.
3. Бояркин А. Н. Метод количественного определения активности ростовых веществ.— В сб.: Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., «Наука», 1966, с. 13.
4. Гаркавенко А. И. Изучение активных и малоактивных штаммов клубеньковых бактерий. Автореф. канд. дис. М., 1962.

5. Дракина Т. И., Кефели В. И. К проблеме иммунитета: взаимодействие индолилуксусной кислоты и фенольных соединений при индуцировании патологического роста грибами рода *Taphrina*.— Ж. общ. биол., 1967, 28, с. 93.
6. Кефели В. И., Турецкая Р. Х. Метод определения свободных ауксинов и ингибиторов в растительном материале.— В сб.: Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., «Наука», 1966, с. 20.
7. Красильников Н. А. Микроорганизмы и высшие растения. М., Изд-во АН СССР, 1958.
8. Ксандова Э. Н. Прием количественного определения фенольных соединений в растительных тканях.— Бюл. ВИЗР, 1971, 20, с. 55.
9. Полевой В. В. О химических методах определения ауксинов группы  $\beta$ -индолилуксусной кислоты.— В кн.: Ростовые вещества и их роль в процессе роста и развития растений. Л., Изд-во АН СССР, 1959, с. 97.
10. Самцевич С. А. Значение клубеньковых бактерий как симбионта бобовых растений.— В кн.: Роль микроорганизмов в питании растений и плодородии почвы. Минск, «Наука и техника», 1969.
11. Таркашвили Д. В. Синтез ростовых веществ типа ауксинов и гиббереллинов клубеньковыми бактериями различной эффективности.— Сообщ. АН ГССР, 1971, 64, 3, с. 713.

#### Готовится к выпуску в 1978 году в издательстве «Штиинца»

М. П. Филиппов. Инфракрасные спектры пектиновых веществ. На русском языке. 5 л., 75 коп.

Работа посвящена исследованию физиологически важных растительных полисахаридов — пектиновых веществ, находящих широкое применение в медицине и пищевой промышленности. Описана методика получения инфракрасных спектров пектиновых веществ, их расшифровка и особенности.

Книга заинтересует научных работников и специалистов-практиков, занимающихся проблемами идентификации пектиновых соединений.

Предварительные заказы просим направлять по адресу: 277001. Кишинев, ул. Пирогова, 28, «Академкнига».

## ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ

ВАЛЕНТИН КОВАРСКИЙ

### ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОРМЛЕНИЯ ЖИВОТНЫХ

Законы термодинамики имеют большое значение для понимания вопросов рационального кормления животных. Именно первый закон термодинамики — закон сохранения энергии — является основой для изучения баланса веществ и энергии, т.е. одного из важнейших методов оценки кормов и рационов [2]. По Пригожину, для растущих животных необходимо учитывать двойной масштаб времени [10, 11, 5]. При этом  $\tau$  — время естественного цикла роста животных, а  $T$  — период, необходимый для достижения взрослого возраста. Поскольку время  $\tau$  намного меньше периода  $T$

$$\tau \ll T, \quad (1)$$

то время прохождения цикла  $\tau$  по отношению к периоду  $T$  может рассматриваться как точка графика функции роста, в которой эта функция дифференцируема:

$$d\tau \approx \Delta t, \quad (2)$$

где  $t$  в единицах времени. Например, рост таких животных, как свиньи и крупный рогатый скот, продолжается соответственно 1,5—2 и более 3 лет, а продолжительность цикла роста приблизительно 10—12 дней [12].

Как было показано в наших предыдущих исследованиях, режим питания гомотермных животных может быть описан через термодинамические функции состояния открытой системы [6]. При постоянной температуре и давлении газов окружающей среды ( $T^0, p = \text{const}$ ) тепло-содержание системы «организм—среда» постоянно, а наблюдаемые изменения определяются функцией энтропии  $S$  или свободной энергией  $F$ :

$$\frac{dF}{dt} \equiv -T^0 \frac{dS}{dt} \quad (3)$$

При этом согласно второму закону термодинамики для открытой системы

$$\frac{dF}{dt} = \frac{dF_e}{dt} + \frac{dF_i}{dt} \leq 0, \quad (4)$$

где  $dF/dt$  — полное изменение свободной энергии системы. При одном и том же условии, что член  $\frac{dF_i}{dt}$ , описывающий изменение внутренней свободной энергии системы, всегда величина отрицательная:  $\frac{dF_i}{dt} < 0$ , член  $\frac{dF_e}{dt}$  может иметь различный знак. Однако для системы «живой организм—среда» величина  $\frac{dF_e}{dt}$  всегда положительная:

$\frac{dF_e}{dt} > 0$ . Здесь система как бы увеличивает абсолютную величину своей внутренней свободной энергии за счет притока свободной энергии внешней среды и этим поддерживает стационарность [11, 13]. Это состояние возможно только при условии, что по модулю член  $\frac{dF_i}{dt}$  больше либо равен члену  $\frac{dF_e}{dt}$ , т.е.

$$\left| \frac{dF_i}{dF_e} \right| \geq 1. \quad (5)$$

Основным источником свободной энергии для животных является реакция окисления органических веществ [8]. Как отмечает Линшиц [15], этот показатель для большинства углеводов (жиры, углеводы и т.п.) является величиной очень близкой к энтальпии  $H$  (табл. 1):

$$\Delta F \approx \Delta H. \quad (6)$$

Учитывая, что энтальпию экспериментально определяют по величине выделения или поглощения тепла ( $\Delta H = -\Delta Q$ ) в приближении Линшица, получаем удобные для измерения показатели:

$$\frac{dF_i}{dt} \equiv \frac{dQ_i}{dt}; \quad \frac{dF_e}{dt} \equiv -\frac{dQ_e}{dt}; \quad \left| \frac{dQ_i}{dQ_e} \right| \geq 1. \quad (7)$$

Здесь  $\frac{dQ_e}{dt}$  — скорость поступления в организм доступной для усвоения тепловой энергии пищи;  $\frac{dQ_i}{dt}$  — скорость производства тепла организмом животного.

Заметим, что эти положения дают возможность провести анализ некоторых практически важных отношений. В качестве примера приведем анализ эффективности использования энергии пищи для роста и откорма животных. По определению [2, 1] коэффициент продукции  $K$  — это отношение чистой энергии продукции  $Q_p$  к обменной энергии рациона  $Q_m$ :

$$K = \frac{\Delta Q_p}{\Delta Q_m}. \quad (8)$$

При испытании питательности рационов для свиней и крупного рогатого скота, согласно принятым методическим положениям, приращение этих величин берется за интервал времени не менее  $\Delta \tau = 12$  суток. В соответствии с законом сохранения энергии  $\Delta Q_m = \Delta Q_p + \Delta Q_i$ , где  $\Delta Q_i$  — общая теплопродукция организма. Используя это соотношение, имеем

$$K = \frac{1}{1 + \frac{\Delta Q_i}{\Delta Q_p}}. \quad (9)$$

Таблица 1

Свободная энергия и энтальпия реакции окисления некоторых питательных веществ при стандартных условиях\* ( $T = 298$  К, рН 7), ккал/моль

Вещество	Свободная энергия	Энтальпия
Глюкоза	-686	-674
Гликоген	-700	-688
Молочная кислота	-325	-326
Этиловый спирт	-109	-119
Пальметиновая кислота	-2335	-2376

\*Получено на основании справочников [8, 14].



Таким образом, величина  $K$  определяется соотношением

$$\alpha \equiv \frac{\Delta Q_I}{\Delta Q_R} \quad (10)$$

Назовем  $\alpha$  коэффициентом теплотворной ценности кормовой единицы, принимая, что корма оцениваются по чистой энергии (кормовая единица =  $\Delta Q_R$ ). В качестве примера приводим значение  $\alpha$  по данным опытов Жукова [4] и Демченко [3] (табл. 2). Принимая, что  $\Delta \tau \approx dt$ ;  $\Delta Q_e \approx \Delta Q_R$ , и комбинируя [7] и [10], получаем, что величина коэффициента  $\alpha$  не может быть меньше единицы:

$$\alpha \geq 1. \quad (11)$$

Таблица 2

Величина коэффициента  $\alpha$  для растущих свиней и крупного рогатого скота по данным опытов Жукова и Демченко

Свиньи				Крупный рогатый скот			
Возраст, мес.	Теплопродукция, ккал/сутки	Энергия отложенной, ккал/сутки	Коэффициент $\alpha$	Возраст, мес.	Теплопродукция, ккал/сутки	Энергия отложенной, ккал/сутки	Коэффициент $\alpha$
2	2 924	1 442	2,03	2-3	3 853	468	2,6
2	3 315	1 365	2,43	2-3	4 143	985	4,2
4	6 447	4 610	1,40	3-4	4 751	1 371	3,5
4	6 477	4 045	1,60	3-4	5 077	2 341	2,2
6	10 498	8 258	1,27	5-6	7 472	2 002	3,7
6	10 001	8 316	1,20	5-6	7 041	1 599	4,4
8	11 962	11 075	1,08	7-8	11 688	4 201	2,3
8	12 063	11 474	1,05	7-8	10 084	5 641	1,9

Соответственно [7] максимальная величина коэффициента продукции или эффективности использования обменной энергии для роста и откорма  $K$  не превышает 0,5:

$$K \leq 0,5. \quad (12)$$

В то же время очевидно, что при прочих равных условиях для животных лучшими рационами будут те, где величина  $\alpha$  минимальна. Для оценки отдельных кормов, составляющих рационы, полезно разложить этот коэффициент на два составляющих:

$$\alpha = \alpha_0 + \alpha_1 \geq 1. \quad (13)$$

Здесь  $\alpha_0$  соответствует основному обмену животных; по определению

$$\alpha_0 = \frac{\Delta Q_I}{\Delta Q_R} = 1. \quad (14)$$

Поскольку эта величина для данного животного постоянная ( $\alpha_0 = \text{const}$ ), то фактически изменение величины  $\alpha$  определяется только  $\alpha_1$ , которая всегда всегда положительна при изучении рационов, обеспечивающих рост или откорм животных ( $\alpha_1 \geq 0$ ).

При оценке кормов по дифференциальному методу минимальная величина  $\alpha_1$  соответствует наибольшей их удобоваримости, т.е. здесь требуются минимальные затраты тепла для производства продукции в теле животного, соответствующей кормовой единице чистой энергии. В качестве примера приводим оценку различных кормов для крупного рогатого скота (табл. 3) [9].

Таблица 3

Энергетическая питательность кормов для взрослого крупного рогатого скота на 1 кг сухого вещества

Корм	Содержание сухого вещества в корме, %	Питательные вещества				Энергия, Мкал				Коэффициент $\alpha$
		процент	сырой жир	сырая клетчатка	безазотистые экстрактивные вещества	валовая	перевариваемая	обменная	чистая	
Пастбищная трава	21	160	40	260	460	4,43	2,96	2,41	1,21	1,00
Подсолнечник	12	110	30	275	505	4,37	2,43	2,02	0,95	1,13
Солома ржаная	83	45	15	460	420	4,47	1,48	1,16	0,32	2,62
Солома пшеничная	83	45	20	445	425	4,46	1,60	1,28	0,34	2,77
Силос кукурузный	15	80	30	270	550	4,39	2,72	2,33	1,16	1,00
Сено викоовсяное	18	125	30	270	480	4,31	2,86	2,36	1,15	1,05
Сухой жом	88	90	6	175	675	4,15	2,94	2,39	1,39	0,82
Сахарная свекла	22	70	10	60	780	3,93	3,23	3,00	1,32	1,27
Кукуруза	86	110	45	25	805	4,56	3,81	3,33	1,95	0,71
Ячмень	86	125	20	70	755	4,39	3,57	3,16	1,97	0,61
Соевый шрот	86	460	10	60	400	4,55	4,11	3,13	1,74	0,8
Льняной шрот	86	333	10	115	480	4,47	3,30	2,71	1,73	0,57

Расчет проводился по соотношению:

$$\alpha_1 = \frac{\text{приращение обменной энергии} - \text{чистая энергия продукции}}{\text{чистая энергия продукции}} \quad (15)$$

Сравнивая корма с одинаковым содержанием чистой энергии, видим, что по удобоваримости в соответствии с различным значением коэффициента  $\alpha$ , они могут существенно различаться.

Принимая, что энергетическая ценность отдельных кормов является постоянной величиной в составе полноценного рациона, возможно использовать значение коэффициента  $\alpha$  для совершенствования удобоваримости рационов методами линейного программирования. Коэффициент  $\alpha$  должен использоваться в качестве функционала матрицы составления рациона, который стремится к минимуму.

Иными словами, для достижения максимальной величины коэффициента продукции животного необходимо кроме учета известных показателей полноценности рационов подбирать корма высокой удобоваримости по минимальной величине  $\alpha$ . С этой точки зрения, например, для взрослого крупного рогатого скота [9] льняной шрот имеет преимущество перед соевым, ячменная мука лучше кукурузной, в то время как по традиционному способу оценки в единицах чистой энергии они равноценны.

Таким образом, теоретический анализ коэффициентов эффективности использования обменной энергии различных кормов для роста и откорма животных показал, что с учетом особенностей энергетического (теплового) обмена существуют предельные возможности по трансформации обменной энергии кормов в чистую энергию отложений. Эти положения могут быть использованы при расчетах и планировании оптимальных рационов. Здесь важно подчеркнуть, что при умелом сочетании факторов внешней среды, рациональном кормлении и селекции животных достижение 50% эффективности использования обменной энергии рационов при росте и откорме ( $K=0,5$ ) хотя и трудно, но вполне возможно.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Денисов Н. И. Научные основы кормления коров. М., Сельхозиздат, 1960.
2. Дмитроченко А. П., Пшеничный П. Д. Кормление сельскохозяйственных животных. Л., «Колос», 1975.
3. Демченко П. В. Биологические закономерности повышения продуктивности животных. М., «Колос», 1972.
4. Жуков А. Р. Обмен веществ и энергии у свиней при скармливании им дрожжеванных кормов и микроэлементов.— В сб.: Кормление сельскохозяйственных животных, вып. 7. Под ред. А. П. Дмитроченко, М., «Колос», 1966, с. 204—213.
5. Зотин А. И. Термодинамический подход к проблемам развития, роста и старения. М., «Наука», 1973.
6. Коварский В. А. Применение теоремы Пригожина к оценке кормления растущих животных.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1974, № 2, с. 44—47.
7. Коварский В. А. Физиологические основы кормления свиней в промышленных комплексах.— Тез. докл. республиканской конф. «Новые методы разведения, кормления и содержания животных на промышленных комплексах Молдавии». Кишинев, изд. МолдНИИНТИ, 1975, с. 48—49.
8. Krebs G., Kornberg G. Превращение энергии в живых системах. М., ИЛ, 1959.
9. Олль Ю. О зоотехнической и экономической оценке кормов и рационов молочных коров.— В сб.: Кормление сельскохозяйственных животных, вып. 9. Под ред. А. П. Дмитроченко, 1971, с. 30—53.
10. Пригожин И. Проблема эволюции в термодинамике необратимых процессов.— В сб.: Возникновение жизни на земле.— Тр. Международного симпозиума, М., Изд-во АН СССР, 1957, с. 408—416.
11. Пригожин И. Введение в термодинамику необратимых процессов. М., ИЛ, 1974.
12. Федоров В. И. Рост, развитие и продуктивность животных. М., «Колос», 1973.
13. Шредингер Э. Что такое жизнь с точки зрения физики. М., ИЛ, 1947.
14. Rauen H. M. und andere. Biochemisches Taschenbuch. Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1956.
15. Linschitz H. The information content of a bacterial cell.— In: Information Theory in Biology, edd. by H. Qustler. Urbana, 1953, p. 251—262.

## ПАЗАРИТОЛОГИЯ

Н. С. ОКОПНЫЙ, А. А. СПАСКИЙ

РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ В СИСТЕМЕ ПАРАЗИТ—ХОЗЯИН  
ПРИ МЕЛОЙДОГИНОЗЕ

В основе трофических отношений между патогеном и растением лежат реакции обмена, контролируемые их генотипом и реализуемые посредством ферментных систем обоих партнеров. Изучение активности ферментов нематод и растений необходимо также для обоснования способов воздействия на растение для восстановления физиологического равновесия пораженного растения и изыскания новых способов воздействия на патоген. Это возможно при изучении патогенеза на тканевом и клеточном уровнях прежде всего у наиболее специализированных фитогельминтов (галловые нематоды и др.). С выяснением природы стимуляторов, способствующих аномальному росту пораженных клеток и образованию опухолевых тканей, связано понимание природы иммунитета растений к нематодам. Из имеющихся сведений о физиологии питания фитопаразитических нематод явствует, что единого мнения по этому вопросу нет, так как ни одна из выдвинутых гипотез, объясняющих механизм питания нематод, не получила всеобщего признания [5, 13].

Не выяснены также механизмы выделения ферментов нематодами. Между тем вопрос о том, выделяют ли фитопаразитические нематоды ферменты во внешнюю среду, представляется важным в силу того, что познание средств нападения паразита и ответных реакций на них растения дает предпосылки к выявлению и изучению у растений физиологических механизмов защитных реакций и соединений их обеспечивающих. С помощью количественного учета последних можно дать оценку растений в селекции на устойчивость к фитогельминтам. В настоящее время известно, что образование гигантских клеток при мелойдогенозе растений нельзя свести только к деятельности ферментов нематод.

В процессе галлообразования определенную роль играют окислительно-восстановительные ферменты и естественные регуляторы роста растений. Не исключено, что в этих процессах принимают участие также ингибиторы ферментов и вновь образующиеся метаболиты пораженных клеток. Настоящее сообщение посвящено исследованию активности ферментов седентарных фитонематод — южной галловой нематоды *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White, 1919) Chitwood, 1949, и влияния на их активность экстрактов, лишенных белков, из корней восприимчивых и устойчивых растений томатов, а также исследованию некоторых оксидаз пораженных органов растений при мелойдогенозе.

## Материалы и методы

Нематод из пораженных органов корней выделяли [11] и стерилизовали по Тараканову [9]. Гомогенат получали путем немедленного гомогенизирования простерилизованных нематод в 0,9% растворе хлористого натрия на холоду, затем его диализовали в течение 3—4 часов при 0—(+3)°С против 0,9% раствора хлористого натрия. Перед анализом гомогенат фильтровали через стеклянный микрофильтр. Для получения экссудатов отстерилизованных нематод переносили в звездчатый диализатор на 6—9 часов двумя объемами 0,9% стерильного раствора хлористого натрия. По окончании экстракции нематод отделяли фильтрованием через стеклянный микрофильтр. Экссудат сразу же использовали для анализа.

Активность катепсина в экссудатах и гомогенатах нематод определяли по Асатиани [1] и выражали в единицах оптической плотности продуктов ферментного гидролиза гемоглобина. Определение активности пепсина и трипсина в экссудатах и гомогенатах нематод проводили методом [1], основанным на способности их в определенных условиях расщеплять белковую молекулу гемоглобина с освобождением тирозина и триптофана. По концентрации последних судили об активности исследуемого субстрата.

Определение липазы в гомогенатах и экссудатах нематод проводили по предлагаемой нами прописи: 250 мкл воды, 300 мкл суспензии оливкового масла, 100 мкл фосфатного буфера и 100 мкл экссудата или гомогената перемешивали в микропробирке, после чего инкубировали 6 часов на водяной бане при 37°. Доливали 300 мкл 95% этанола и 40 мкл индикаторного раствора тимолфталена. Параллельно проводили слепую пробу, в которую добавляли 100 мкл экссудата или гомогената после инкубации и после прибавления этанола. Активность липазы выражали в количестве мкл 0,02 н. едкого натра, пошедшего на титрование.

Определение активности амилазы, пектиназы (полигалактуроназы), инвертазы и целлюлазы выполняли путем инкубации гомогенатов и экссудатов личинок и самок галловых нематод с соответствующими субстратами: для амилазы — 1% раствор крахмала, для пектиназы — 1% раствор свекловичного пектина, для инвертазы — 5% раствор свекловичного сахара, для целлюлазы — 1% раствор натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы [2]. Исследование активности ферментов в присутствии экстрактов, лишенных белков, из корней восприимчивых и устойчивых к галловым нематодам томатов проводили следующим образом: корни томатов гомогенизировали с бидистиллированной водой на холоду. Из полученного гомогената осаждали белки 100% насыщением сернокислого аммония. Затем надосадочную жидкость диализовали против дистиллированной воды до исчезновения ионов  $SO_4^{2-}$ . Полученные таким образом экстракты добавляли вместо воды в реакционные сосуды. Определение кислой рибонуклеазы и активности каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы проводили общепринятыми методами [1, 3].

## Результаты и их обсуждение

Результаты исследования активности ферментов в экссудатах и гомогенатах паразитических личинок и самок галловых нематод (табл. 1) показывают, что в гомогенатах личинок проявляют актив-

Таблица 1

Активность протеолитических ферментов и липазы в экссудатах и гомогенатах паразитических личинок и самок галловых нематод (единицы оптической плотности за вычетом контроля, липаза в мкл 0,02 н.-NaOH)

Вариант	Объем нематод, мкл	Объем экстракта, мкл	Липаза $M \pm m$	Катепсин pH 5,0 $M \pm m$	Пепсин pH 1,5 $M \pm m$	Трипсин pH 7,0 $M \pm m$
<i>Контроль</i>						
Гомогенат личинки	500	1500	$320 \pm 50$	$0,125 \pm 0,010$	$0,085 \pm 0,010$	$0,265 \pm 0,015$
самки	1000	2000	$40 \pm 5$	$0,095 \pm 0,010$	$0,146 \pm 0,010$	$0,040 \pm 0,005$
Экссудат личинки	500	1500	0 —	$0,025 \pm 0,005$	0 —	0 —
самки	1000	2000	0 —	0 —	0 —	0 —
<i>С вытяжкой из восприимчивых растений</i>						
Гомогенат личинки	500	1500	$315 \pm 50$	$0,245 \pm 0,015$	$0,085 \pm 0,010$	$0,275 \pm 0,010$
самки	1000	2000	$45 \pm 5$	$0,180 \pm 0,010$	$0,165 \pm 0,010$	$0,065 \pm 0,005$
Экссудат личинки	500	1500	0 —	$0,055 \pm 0,010$	0 —	0 —
самки	1000	2000	0 —	0 —	0 —	0 —
<i>С вытяжкой из устойчивых растений</i>						
Гомогенат личинки	500	1500	$320 \pm 50$	$0,100 \pm 0,010$	$0,085 \pm 0,010$	$0,180 \pm 0,010$
самки	1000	2000	$45 \pm 5$	$0,075 \pm 0,010$	$0,095 \pm 0,010$	$0,040 \pm 0,005$
Экссудат личинки	500	1500	0 —	$0,020 \pm 0,005$	0 —	0 —
самки	1000	2000	0 —	0 —	0 —	0 —

ность по отношению к соответствующему субстрату ферменты: катепсин, трипсин, пепсин и липаза. Активность пепсина в гомогенатах личинок ниже, чем у половозрелых самок. Активность других ферментов в гомогенатах выше у паразитических личинок. Это объясняется, видимо, более активной работой внутриклеточных систем именно у личинок в период их миграции в почве и передвижения по межклеточным пространствам растения. Последнее особенно хорошо иллюстрируется на примере липазы, активность которой у паразитических личинок в восемь раз выше по отношению к половозрелым самкам. Вероятно, это связано с расщеплением жировых запасов личинок, использованием высвобождающейся энергии для активной их деятельности в период отыскания растения-хозяина и продвижения в его тканях. При исследовании экссудатов галловых нематод нами обнаружено, что у паразитических личинок проявляет активность катепсина. В экссудатах самок он не выявлен. Таким образом, полученные данные указывают на присутствие катепсина в экссудатах личинок южной галловой нематоды.

Наличие протеолитических ферментов в гомогенатах нематод связано с их ролью во внутриклеточных метаболических процессах. Отсутствие протеолитических ферментов в экссудатах облигатного паразита — южной галловой нематоды — объясняется отрицательной ролью последних для живых растительных тканей. Биологически это выгодно для патогена, так как не приводит к преждевременной гибели хозяина. Известно, что из-за активной ферментативной деятельности, вызывающей гибель растительных клеток, среди микроорганизмов отсутствуют облигатные паразиты [4]. Приведенные результаты, а также факт, что галловых нематод почти не удается вырастить на искусственных

средах, подтверждают мнение [2], что половозрелые самки галловых нематод не обладают способностью внекишечного пищеварения.

Исследования влияния экстрактов, лишенных белков, из корней томатов на активность ферментов в гомогенатах и экссудатах галловых нематод (см. табл. 1) показали, что вытяжки из корней устойчивых томатов ингибировали активность катепсина и почти не снижали активности пепсина и трипсина. Эти данные еще раз подтверждают значение пепсина и трипсина лишь для внутриклеточного метаболизма галловых нематод. Вытяжки из корней восприимчивых томатов повышали активность катепсина почти в два раза, тогда как активность пепсина и трипсина почти не повышалась.

При исследовании активности карбогидраз в экссудатах и гомогенатах личинок и самок галловых нематод (табл. 2) обнаружено, что в гомогенатах проявляется активность пектиназы и инвертазы, тогда как активность амилазы и целлюлазы не выявляется. В экссудатах обнаружена активность лишь пектиназы, причем у личинок она намного выше, чем у взрослых самок. Этот фермент не токсичен для растительных клеток, а его наличие в срединной пластинке и во вторичных оболочках растительных клеток в присутствии этого фермента в выделениях нематод предполагает их синергическое действие. Последнее способствует проникновению личинок нематод в корни поражаемого растения [15]. Предполагается, что, выделяя слюну и вместе с ней пектолитический фермент, нематоды способствуют утончению клеточных оболочек, что приводит к повышению их проницаемости. Вследствие этого обеспечивается приток в места повреждения пластических веществ, вовлекающихся в образование гигантских клеток.

Полученные нами данные о влиянии экстрактов, лишенных белков, из корней устойчивых и восприимчивых томатов на активность

Таблица 2  
Активность карбогидраз в экссудатах и гомогенатах личинок и самок галловых нематод (единицы оптической плотности за вычетом контроля)

Вариант	Объем нематод, мкл	Объем экстракта, мкл	Амилаза рН 6 М±м	Пектиназа рН 5 М±м	Инвертаза рН 6 М±м	Целлюлаза рН 6 М±м
<i>Контроль</i>						
Гомогенат						
личинки	500	1500	0	0,195±0,015	0,120±0,010	0
самки	1000	2000	0	0,060±0,005	0,340±0,010	0
Экссудат						
личинки	500	1500	0	0,435±0,010	0	0
самки	1000	2000	0	0,280±0,010	0	0
<i>С вытяжкой из восприимчивых растений</i>						
Гомогенат						
личинки	500	1500	0	0,260±0,005	0,160±0,010	0
самки	1000	2000	0	0,120±0,005	0,295±0,010	0
Экссудат						
личинки	500	1500	0	0,560±0,015	0	0
самки	1000	2000	0	0,310±0,015	0	0
<i>С вытяжкой из устойчивых растений</i>						
Гомогенат						
личинки	500	1500	0	0,090±0,005	0,095±0,010	0
самки	1000	2000	0	0,045±0,005	0,135±0,010	0
Экссудат						
личинки	500	1500	0	0,125±0,010	0	0
самки	1000	2000	0	0,090±0,010	0	0

пектиназы показывают, что при добавлении вытяжки из устойчивых форм томатов активность пектиназы в экссудатах снижается. Возникает предположение, что в корнях устойчивых растений происходит быстрая инактивация пектиназы соединениями небелковой природы. Последнее существенно сказывается на скорости миграции личинок нематод по межклетникам поражаемого растения и на участии пектиназы в других реакциях пораженной клетки. Отсутствие активности других карбогидраз в экссудатах личинок и самок галловых нематод согласуется с общепринятыми соображениями об отрицательном действии таких ферментов на живые растительные клетки [2, 4, 15].

Данные предыдущих работ [6, 7, 14] показывают, что независимо от таксономической принадлежности растений при мелойдогнозе в галлах повышено содержание нуклеиновых кислот. При этом установлено, что процесс увеличения содержания ДНК и РНК в галлах различных растений характеризуется некоторой однотипностью [6]. В нуклеотидном составе РНК и ДНК опухолевых тканей при мелойдогнозе происходят количественные изменения пуриновых и пиримидиновых оснований [7]. Для выяснения причины этих изменений нами исследовалась активность кислой рибонуклеазы в экссудатах и гомогенатах галловых нематод (табл. 3). В экссудатах паразитических личинок и самок южной галловой нематоды обнаружена активность кислой рибонуклеазы (рН 5,0). Оказалось, что в экссудатах половозрелых самок она в четыре раза ниже, чем у паразитических личинок. Эти данные проливают свет на образование галлов у некоторых растений даже в том случае, если личинки галловых нематод питались на корне всего несколько часов [12]. Видимо, было достаточно кратковременного воздействия рибонуклеазы нематод на РНК, чтобы нарушить нормальный биосинтетический процесс и вызвать образование специфических белковых соединений, ведущих к морфологическим изменениям пораженной ткани.

В природе обычно наблюдается неравномерное образование галлов (по скорости, расположению на корнях, размерам, форме и т.д.). Это определяется многими факторами, в частности неодинаковой активностью окислительно-восстановительных процессов в пораженных клетках. Для выяснения роли оксидаз в механизме патогенеза при мелойдогнозе нами определялась активность каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы в галлах, образовавшихся под воздействием галловых нематод. Оказалось, что в галлах повышена активность этих ферментов (табл. 4).

Основная роль оксидаз определяется их участием в дыхательных процессах, разрушении перекисных соединений, окислении моно- и полифенолов. Ослабление пероксидазной активности способствовало бы снижению скорости окислительных процессов и привело бы к повышенному содержанию индолилуксусной кислоты. Вследствие этого усилился бы приток в зоны поражения пластических веществ, повлекший за собой дальнейшее разрастание тканей [10]. Следовательно, повышение активности оксидаз связано с усилением защитных функ-

Таблица 3  
Активность кислой рибонуклеазы галловых нематод

Вариант	Объем, мкл		Активность, усл. ед. в 1 г/1 мин
	нематод	экстракта	
<i>Паразитические личинки</i>			
Экссудат	500	1500	43
Гомогенат	500	1500	19
<i>Половозрелые самки</i>			
Экссудат	1000	2000	11
Гомогенат	1000	2000	21

ций тканей, пораженных галловыми нематодами. Некоторое изменение активности оксидаз наблюдается и в листьях мелойдогинозных растений (см. табл. 4). Это свидетельствует о патогенном воздействии мелойдогини не только на физиологию пораженного органа, но и на растение в целом в результате перераспределения воды, минеральных и органических веществ между пораженной и здоровой тканями, например, из-за образования закупорок на корнях в форме тилл и гелей [8].

Таблица 4

Активность окислительных ферментов в корнях и галлах растений, пораженных галловой нематодой (усл. ед. на 1 г сырой ткани, каталаза — в мл  $O_2$  на 1 г сырого веса за 3 мин)

Вариант	Каталаза M±m	% к конт- ролю	Пероксидаза M±m	% к конт- ролю	Полифенолок- сидаза M±m	% к конт- ролю
Томаты						
корни	126±12	100	4,2±0,2	100	6,2±0,2	100
галлы	285±16	226	8,3±0,3	197	7,4±0,3	119
Огурцы						
корни	106±8	100	2,4±0,2	100	3,6±0,4	100
галлы	185±9	174	6,6±0,3	275	4,3±0,2	133
Листья томатов						
здоровых	210±10	100	8,3±0,4	100	7,2±0,3	100
больных	225±14	107	9,4±0,6	113	6,8±0,4	94
Листья огурцов						
здоровых	118±8	100	4,2±0,3	100	5,2±0,2	100
больных	146±10	123	6,2±0,2	147	6,4±0,3	123

Роль полифенолоксидазы связана с превращением фенольных соединений, участвующих в некрозообразовании. Однако у восприимчивых растений в силу низкого содержания фенольных соединений и малой активности полифенолоксидазы некротические явления не развиваются. Поскольку окисление находится в центре обменных процессов клетки, то его защитная роль может проявляться и косвенно — путем усиления в пораженных клетках процессов биосинтеза.

### Выводы

1. Установлено, что личинки и самки галловой нематоды *M. incognita* выделяют во внешнюю среду пектолитический фермент полигалактуроназу, а также катепсин и рибонуклеазу. Оптимальное значение pH для действия этих ферментов составляет соответственно 5,0; 4,5; 5,0.

2. Пектиназа и рибонуклеаза играют определенную роль в патогенезе мелойдогиноза: пектиназа вызывает мацерацию межклетников поражаемых тканей растений и способствует закупорке проводящих сосудов корней; рибонуклеаза участвует в изменении нуклеотидного состава РНК, что приводит к нарушению процессов биосинтеза в пораженных клетках.

3. В присутствии экстрактов, лишенных белков, из корней устойчивых томатов активность исследуемых ферментов снижается и, наоборот, при добавлении таких экстрактов из корней восприимчивых томатов — повышается. Это свидетельствует о том, что в корнях устойчивых к галловым нематодам томатов имеются соединения небел-

ковой природы, способные ингибировать ферменты, выделяемые нематодами.

4. Активность каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы при мелойдогинозе в пораженных органах растений повышается. Усиление пероксидазной активности способствует повышению окислительных процессов в пораженных тканях и, видимо, выполняет защитную функцию.

5. Наблюдается также некоторое повышение активности оксидаз в листьях, что свидетельствует о патогенном воздействии нематод на физиологию не только пораженного органа, но и растения в целом.

6. Представляется существенным дальнейшее исследование у растений соединений, ингибирующих пектиназу, рибонуклеазу и катепсин нематод, а также изыскание эффективных химических и физических методов повышения у растений активности оксидаз, усиливающих защитные функции.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Асатиани В. С. Ферментные методы анализа. М., «Наука», 1969.
2. Бумбу И. В. Физиолого-биохимическое исследование взаимоотношений в системе паразит—хозяин при некоторых фитогельминтозах. Автореф. канд. дис. Кишинев, 1968.
3. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. И. и др. Методы биохимического исследования растений. Л., «Колос», 1972.
4. Вердеревский Д. Д. Иммуниетет растений к паразитарным болезням. М., Сельхозиздат, 1959.
5. Мюге С. Г. К физиологии питания галловой нематоды.— ДАН СССР, 1956, 108, 1, с. 164—165.
6. Окопный Н. С. Нуклеотидный состав ДНК и РНК опухолевых тканей растений, пораженных галловыми нематодами.— Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, 1975, № 4, с. 59—62.
7. Окопный Н. С. К вопросу о нуклеиновом обмене у растений, различных по устойчивости к мелойдогинозу. Материалы IX конференции молодых ученых Молдавии, Кишинев, «Штиинца», 1975, с. 177—178.
8. Покровская Т. В. К изучению мелойдогиноза как биоценологического процесса.— Тр. гельминтологической лаборатории, т. XX, М., «Наука», 1969.
9. Тараканов В. И. Стерилизация нематод на примере *Ditilenchus dipsaci*.— Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтологии, вып. 6, 1971, с. 93—97.
10. Bird A. F. The inducement of giant cells *Meloidogine javanica*.— Nematologica, 1962, 8, 1 p. 1—10.
11. Hussey R. S. A technique for obtaining quantities of living *Meloidogine jameles*.— J. Nematology, 3 1. 99—100, 1971.
12. Loewenberg J. R. et al. Call induction by *Meloidogyne incognita* by surface feeding and factors affecting the behavior pattern of the second stage larvs.— Phytopathology, 1960, 50, 4, p. 322—333.
13. Myers R. F., Krusberg L. R. Organic substances discharged by plant-parasitic nematodes.— Phytopathology, 1965, 55, 4, p. 429—437.
14. Owens R. G., Rubinstein I. H. Metabolic changes induced by root-knot nematodes in host tissues.— Contribs B. Thompson Inst, 1966, 23, 5, p. 181—189.
15. Wood R.K.S. Studies in the physiology of parasitismen pectic enzymes secreted by bacterium aroidae.— Ann. Botany, 1955, 19, p. 1—27.

## ПАЛЕОНТОЛОГИЯ

А. В. КАРЕЛИНА

### АЛГОРИТМ ПОСТРОЕНИЯ ФОРМАЛИЗОВАННЫХ ОПИСАНИЙ ПАЛЕОНТОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Проблема составления описаний, адекватно отражающих существенные черты объектов, является в палеонтологии традиционно трудной. Сам процесс выбора характеризующих объект признаков в принципе содержит элементы субъективности, которые неизбежно переходят в формализованные конструкции описаний. В особенности это относится к качественным признакам, которые принято ранжировать идеализированными эталонами типа: форма раковины «овальная», «яйцевидная», «круглая» и т. п. Использование подобных признаков чрезвычайно затрудняет решение таких практических задач, как безошибочная передача информации об объекте от одного специалиста к другому, идентификация описаний, определение таксономической принадлежности объекта.

Особенно остро проявляются эти трудности при решении перечисленных задач на ЭВМ, находящих все более широкое применение в палеонтологии. Вычислительные машины требуют точного и однозначного представления информации об исследуемых объектах, в противном случае правильное решение поставленной задачи не может быть гарантировано.

Таким образом, существует естественный субъективизм в выборе системы признаков для объекта, а также в описании некоторых из этих признаков. При использовании ЭВМ возникает двойной источник ошибок чисто методологического характера и в силу этого труднопреодолимых. К тому же палеонтологические объекты характеризуются большой сложностью и изменчивостью, что дополнительно затрудняет их описание.

Рассмотрим задачу построения формализованных описаний палеонтологических объектов (раковин ископаемой фауны) на основе идей распознавания образов [1]. Пусть исходная информация о палеонтологическом объекте задана рисунком или фотоснимком раковины. Будем рассматривать гладкостенные формы, считая, что основная диагностическая информация о них содержится в контуре раковины. Это ограничение может быть ослаблено.

Важным моментом для дальнейших рассуждений является выбор промежуточного описания, которое уже в значительной степени формализовано, но в то же время сохраняет детали исходного описания. Указанным требованиям соответствует так называемое мозаичное кодирование [2, 3], смысл которого иллюстрируется рис. 1. Оно сводится к проектированию рисунка объекта на прямоугольный растр (мозаику), состоящий из активных элементов. Клетки растра, содержащие микроэлементы изображения, кодируются единицами (на рисунке они зачернены). Остальным клеткам приписываются нули. В результате

получается мозаичное изображение объекта, причем требуемая детальность представления достигается выбором числа строк и столбцов растра.

Одно из достоинств выбранного способа описания заключается в его двоичной природе, которая естественно согласуется с внутренними языками вычислительных машин. Поэтому мозаичное изображение объекта легко записывается в ячейках памяти ЭВМ, занимая объем, равный  $n \times m$  бит ( $n$  — число строк,  $m$  — число столбцов растра).

Основная идея состоит в том, чтобы выделить в мозаичном изображении объекта замечательные точки контура и зафиксировать их координаты. К ним относятся, например, точки перегиба, совокупности которых содержат информацию о форме контура в целом. Кроме того, можно говорить о замечательных элементах контура. Тогда задача состоит в распознавании и фиксации переднего и заднего концов, участков наибольшей выпуклости, вогнутости и других фрагментов контура.

Техника распознавания заключается в следующем. Введем специальный скользящий оператор  $R_0$  с центральным элементом  $r_0$ , который представляет собой квадрат из клеток растра, показанный на рис. 1

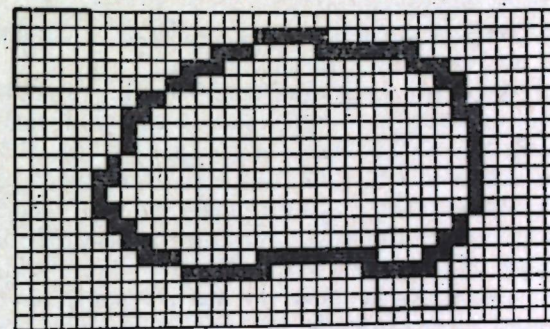


Рис. 1. Пример мозаичного кодирования контура раковины

утолщенными линиями. По ряду соображений лучше выбрать оператор  $3 \times 3$  или  $5 \times 5$  клеток. Оператор  $R_0$  просматривает рисунок, проходя по строке мозаики слева направо с шагом в одну клетку. Как только центральный элемент достигает конца строки, происходит переход на крайнюю левую клетку следующей строки и т. д. Все, что попадает на данном шаге  $k$  в поле оператора, назовем  $k$ -реализацией оператора. Заметим, что на каждом шаге автоматически вычисляются дискретные координаты  $(x_k, y_k)$  центрального элемента  $r_0$ .

Процедуры выделения замечательных точек контура поясним на примере поиска и фиксации точки наибольшей выпуклости переднего конца. Предварительно центральному элементу  $r_0$  присваивается единичное значение. Затем производится обход оператором растра до тех пор, пока единица оператора (центральный элемент) не совпадает с первой единицей изображения (самой верхней). Формально условие совпадения записывается следующим образом:

$$\bigwedge (x_k, y_k) [r_0] \oplus [a_k] = 0.$$

Здесь символом  $\bigwedge$  обозначена операция запоминания координат найденной точки,  $[a_k]$  — значение элемента растра,  $\oplus$  — символ логической операции сложения по модулю два ( $0 \oplus 1 = 1 \oplus 0 = 1$ ;  $0 \oplus 0 = 1 \oplus 1 = 0$ ).

$\oplus 1=0$ ). Аналогичные принципы положены в основу нахождения других замечательных точек контура.

Непосредственно к описанной задаче примыкает другая — автоматическое вычисление некоторых количественных признаков, таких как максимальная высота раковины, длина, высота переднего и заднего концов и т. п. Для этой цели используется набор несложных стандартных операторов.

В качестве примера кратко опишем действие оператора «Максимальная длина», который вычисляет наибольшую длину раковины. Этот оператор использует информацию о найденных замечательных точках контура. Он производит следующие операции:

1. Фиксирует координаты  $(x_0, y_0)$  точки максимального перегиба переднего конца раковины (крайняя левая единица изображения).
2. Для данного  $y_0$  определяет абсциссу  $x_1$  следующей правой в строке единицы (крайняя правая единица изображения).
3. Вычисляет разность  $Z_1 = x_1 - x_0$  абсцисс. Полученный результат запоминает.

4. В окрестности замечательной точки производит изменение ординаты в заданных пределах. Этапы 1—3 повторяет для  $y_0 \pm \Delta y$  и вычисляет разности  $Z_\Delta = x_\Delta - x_0$ .

5. Среди найденных результатов  $Z$  выбирает максимальный и запоминает в виде искомого результата.

Для оценки эффективности применения ЭВМ при автоматическом формировании количественных признаков был произведен эксперимент на машине БЭСМ-2М по программе, составленной Л. А. Малаховой (Институт математики с ВЦ АН СССР). Раковины двустворчатых моллюсков рода *Pseudounio* представлялись на растре размером  $100 \times 100$  клеток. Определялись следующие параметры: 1) замечательные точки контура (6 точек); 2) максимальная длина раковины; 3) максимальная высота раковины; 4) высота переднего конца; 5) высота заднего конца. Контрольная задача была решена машиной за 0,35 секунды.

Наиболее сложным является распознавание отдельных фрагментов контура, так как его чрезвычайно трудно свести к вычислениям. Введем понятие образа фрагмента как обобщенное изображение фрагмента (например, образом буквы «О» является окружность, а характерные черты печатного знака «Г» полностью представляются изображением соответственно ориентированного прямого угла). Разумеется, построить такие изображения нелегко, но в принципе возможно. В качестве носителя образа будем использовать растр, по размерности совпадающий с полем скользящего оператора. Конкретное изображение образа на растре удобно называть эталоном. Эти эталоны и представляют информацию о замечательных фрагментах рисунка. На рис. 2

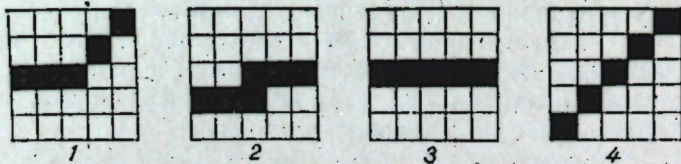


Рис. 2. Примеры эталонов для анализа мозаичного изображения контура раковины на рис. 1

показаны некоторые примеры эталонов, предназначенных для анализа изображений, представителем которых является раковина на рис. 1.

Эталон 1 — образ участка закругления контура, эталон 2 служит для распознавания фрагмента вогнутой части раковины и т. д. Разумеется, набор эталонов определяется многими обстоятельствами: сложностью объекта, требуемой точностью распознавания, особенностями постановки задачи.

Сам процесс распознавания происходит следующим образом. Запускается скользящий оператор и начинается направленный обход раstra. На каждом шаге  $k$ -оператор останавливается и его  $k$ -реализация последовательно сравнивается со всеми эталонами из заданного набора. Пусть мы хотим выделить в изображении участок закругления контура. Тогда из всего набора при сравнении должен срабатывать эталон 1. Позиция скользящего оператора, в которой это происходит, выделена утолщенными линиями на рис. 1 (внизу).

Формально совпадение регистрируется следующим образом:

$$[R_0] \wedge [R_1] = [R_1],$$

где  $[R_0]$  и  $[R_1]$  — реализация скользящего оператора и первого эталона соответственно,  $\wedge$  — символ операции логического умножения ( $1 \wedge 0 = 0 \wedge 1 = 0 \wedge 0 = 0$ ;  $1 \wedge 1 = 1$ ). Как видно из формулы, при правильном распознавании результат операции должен совпасть с эталоном. Одновременно, как уже говорилось выше, фиксируются координаты центрального элемента  $r_0$ .

С помощью описанного подхода можно эффективно решать ряд конкретных задач. Кратко остановимся на некоторых из них.

**Коррекция изображения объекта.** В процессе мозаичного кодирования возникает своеобразный «шум», заключающийся в появлении лишних единиц и вытекающем отсюда утолщении линий. Если растр выбран небольших размеров (как на рис. 1), «шум» может в той или иной степени исказить форму объекта.

Достаточно просто скорректировать изображение можно, заменив фрагменты контура их эталонами в процессе распознавания фрагментов. Как это делается, понятно из приведенного выше примера.

**Диагностика палеонтологических объектов.** Эта задача существенно сводится к определению степени близости между ними в смысле некоторого критерия. Рассмотрим два таких критерия.

1. Для сравниваемых объектов на основе распознавания фрагментов формируются записи следующего вида:

$$N(R_1), N(R_2), \dots, N(R_S),$$

где  $N(R_S)$  — число фрагментов типа  $S$ . Степень близости таких записей можно вычислять известными методами [2]. Заметим, что этот критерий пригоден только для раstra больших размеров.

2. Каждому из сравниваемых объектов ставится в соответствие запись:

$$(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_i, y_i), \quad (1)$$

где  $(x_i, y_i)$  — координаты центрального элемента  $r_0$ , зафиксированные при  $i$ -м сравнении. В отличие от предыдущего критерия здесь не фиксируются типы эталонов.

**Построение обобщенного «портрета» объекта.** Поскольку в процессе обхода раstra скользящим оператором получается упорядоченная последовательность координат замечательных точек и элементов контура, возможна обратная операция — по заданным координатам вывести изображение объекта из ЭВМ через графопостроитель или алфавитно-цифровое устройство. Качество выведенного «портрета» позволяет судить о правильности выбора эталонов и размеров раstra.

Еще более интересной является возможность построения так называемых обобщенных портретов таксонов. Предварительно координаты (1) усредняются на множестве представителей таксонов. Получившаяся последовательность координат представляет информацию, обобщающую изображение объекта.

В заключение отметим, что описанный подход к формированию палеонтологических описаний и их анализу ориентирован на применение вычислительных машин. Тем не менее он может оказаться полезным при построении «немашинных» систем кодирования, а также для сравнительного исследования различных числовых кодов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вычислительные машины и мышление. Под ред. Э. Фейгенбаума и Дж. Фельдмана. М., «Мир», 1967.
2. Печерский Ю. Н., Карелина А. В., Негадаев-Никонов К. Н. Математические методы в микропалеонтологии. Кишинев, «Штиинца», 1972.
3. Карелина А. В. Автоматическое формирование изображений с помощью ЭВМ.— В кн.: Основные направления применения математических методов в палеонтологии. Кишинев, «Тимпул», 1976.

## Готовится к выпуску в 1978 году в издательстве „Штиинца“

**Фауна позднего кайнозоя междуречья Днестр-Прут.** На русском языке. 6 л., 90 коп.

Описаны находки млекопитающих и наземных моллюсков по материалам археологических раскопок, а также фауна позвоночных, моллюсков и остракод антропогена междуречья Днестр-Прут. Проводится сопоставление с фауной аналогичных образований других районов СССР и стран европейского континента, показаны возможности эталонизации некоторых фаунистических комплексов для определенных районов и фаций.

Сборник рассчитан на широкий круг палеонтологов, биологов, геологов, археологов, географов, преподавателей и учащихся вузов и школ.

Предварительные заказы просим направлять по адресу: 277001. Кишинев, ул. Пирогова, 28, «Академкнига».

## ХИМИЯ

В. И. РУССУ, П. И. РУССУ, Г. В. СТРАТУЛАТ; В. М. РОПОТ

### КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МИНЕРАЛОВ В СМЕШАНОСЛОЙНЫХ ПРИРОДНЫХ ОБРАЗОВАНИЯХ

В природе встречаются месторождения чистых монтмориллонитов, слюдистых минералов, каолинитов. Однако чаще залежи природных сорбентов представляют собой смесь различных минералов. В изучении естественных и модифицированных различными способами силикатных минералов важным этапом является расшифровка рентгенограмм их кристаллических структур. Несмотря на сложность идентификации дифракционных рефлексов чистого минерала монтмориллонитовой, слюдистой, каолинитовой или хлоритовой групп глинистых минералов, имеется достаточное количество работ по данному вопросу. Гораздо сложнее расшифровать рентгенограммы смешанослойных структур типа монтмориллонит—гидрослюда или монтмориллонит—хлорит и более сложных возможных вариантов. Если слои смешанослойной структуры имеют одинаковые или близкие значения структурных факторов, для расшифровки их рентгенограмм может быть применен метод Мак-Эвана [8]. Дьяконов [3] дает несколько видоизмененный вариант расчета, рабочая формула которого исключает необходимость использования величины структурного фактора:

$$\varphi'(Z) = 1/\pi \int_0^{\infty} I(\mu) \cdot \cos \mu \cdot Z \cdot d\mu.$$

Следовательно, это уравнение может быть пригодно для расшифровки любой смешанослойной структуры.

Есть работы, в которых авторы используют метод Дьяконова для расшифровки смешанослойных структур в основном типа монтмориллонит—гидрослюда [4, 7]. Градусов [2] рассматривает некоторые особенности количественного определения монтмориллонитовых и слюдистых пакетов в смешанослойной структуре монтмориллонит—гидрослюда. При этом автор отмечает ряд трудностей, связанных в основном с появлением побочных максимумов интерференционной картины функции  $\varphi'(Z)$ , которые мешают точному определению высот главных максимумов, т. е. максимумов, обусловленных переслаивающимися пакетами слюды и смектита. Причина появления побочных ложных максимумов, по мнению многих авторов, заключается в том, что при таких расчетах практически всегда отсутствуют члены ряда высших порядков (члены с малоэффективными межплоскостными расстояниями), что, в свою очередь, приводит к обрыву косинусного ряда в уравнении.

Согласно уравнению нами была рассчитана функция  $\varphi'(Z)$  для чистого монтмориллонита, рентгеновские данные которого приводятся



в работе Михеева [6]\*. На графике функции  $\varphi'(Z)$  этого образца (рис. 1, а) отмечены главные максимумы, соответствующие монтмориллону: 15,2 Å, 30,8 и 46,4 Å. Следует отметить, что значения  $Z$ , соответствующие главным максимумам, несколько отличаются от ожидаемых, если принять значение  $d(\text{Å})$  001 рефлекса монтмориллона равным 15,3 Å (см. таблицу). Кроме того, на графике функции  $\varphi'(Z)$  имеется ряд ложных больших максимумов: 13,2 Å; 18; 25,4; 29,2; 36; 40,6; 58,6 Å и др., что затрудняет интерпретацию полученных результатов. Для исключения указанных ложных максимумов нами была рассчитана функция  $\varphi'(Z)$  монтмориллона с использованием при расчете только базальных рефлексов минерала (см. таблицу). Ее график для данного случая приведен на рис. 2, а. На нем имеются только главные максимумы, являющиеся теперь уже кратными значению

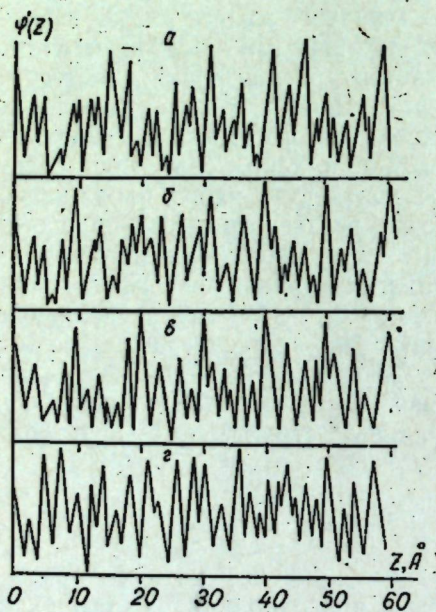


Рис. 1. Графики расчетов  $\varphi'(Z)$  функции для монтмориллона (а), мусковита-3Н (б), иллита триоктаэдрического (в) и каолинита (г) с использованием всех рефлексов соответствующих рентгенограмм

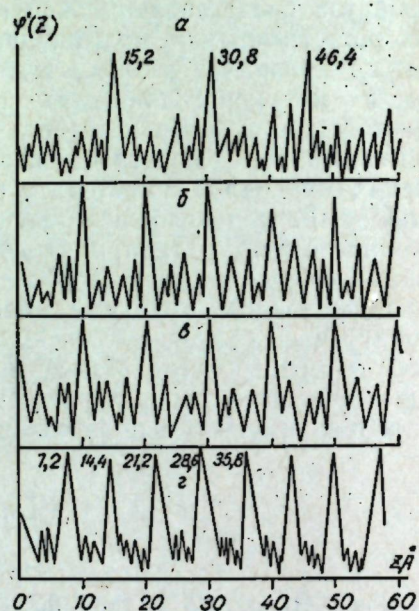


Рис. 2. Графики расчетов  $\varphi'(Z)$  функции для монтмориллона (а), иллита триоктаэдрического (б), мусковита-3Н (в) и каолинита (г) с использованием одних лишь базальных рефлексов соответствующих рентгенограмм

$d(001)$  монтмориллона — 15,3 Å, а вышеуказанные ложные максимумы сглаживаются с общим фоном.

Этот метод был проверен и на других глинистых минералах. Для этого мы выбрали мусковит-3Н, илит триоктаэдрический и каолинит, рентгеновские данные которых заимствованы из [1, 6] и приведены в таблице.

Как видно из рис. 1, б—г, графики функции  $\varphi'(Z)$ , рассчитанные с использованием всех рефлексов для мусковита, иллита и каолинита, представляют собой весьма сложную интерференционную картину. Наряду с главными максимумами, кратными 10 Å для слюдястых мине-

\* Расчет проводился на ЭВМ Минск-22.

Значения  $d/n$  рефлексов и их интенсивностей ( $I$ ) для различных глинистых минералов

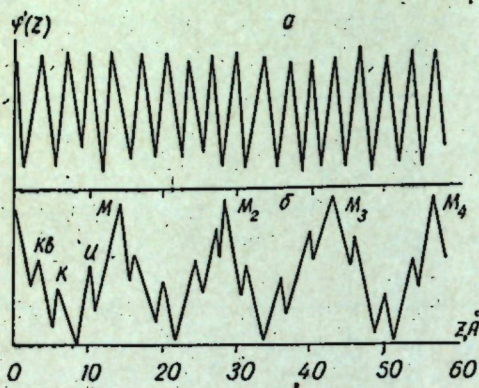
Монтмориллонит	базальные рефлексы		все рефлексы		Мусковит-3Н		Илит триоктаэдрический		Каолинит	
	$d/n$	$I$	$d/n$	$I$	$d/n$	$I$	$d/n$	$I$	$d/n$	$I$
	15,3	1000	9,97	1000	10,0	1000	10,0	1000	7,16	1000
	5,15	800	4,97	700	4,94	200	4,94	200	3,57	1000
	4,5	1000	4,47	600	4,47	900	3,32	900	2,38	600
	3,07	1000	4,29	100	2,55	700	2,50	100	1,78	400
	2,55	1000	3,86	400	1,99	800	1,98	100	1,50	800
	1,905	200	3,68	600	1,55	600	1,53	600	1,43	400
	1,50	1000	3,32	1000	1,53	600	1,53	600	1,43	800
			2,87	600			2,49	800		
			2,55	700			2,38	600		
			1,99	800			2,34	900		
			1,65	600			2,29	800		
			1,50	600			1,99	600		
							1,49	600		
							1,43	800		

ралов и  $7,16 \text{ \AA}$  для каолинового минерала, наблюдается ряд ложных, трудно поддающихся идентификации максимумов. Совершенно иная картина получается при расчете функции  $\varphi'(Z)$  для этих минералов с использованием одних только базальных рефлексов (рис. 2, б—г). В этих случаях (как и для монтмориллонита) исключительно все ложные пики сглаживаются с общим фоном и четко проявляются главные максимумы соответствующих минералов.

Метод расчета функции  $\varphi'(Z)$  по варианту Дьяконова был проверен и на неглинистых минералах. На рис. 3, а приводится график указанной функции для кварца, рентгеновские данные которого взяты из работы Брауна [1]. Этот график состоит только из главных максимумов, кратных  $3,34 \text{ \AA}$ .

Таким образом, расчеты функции  $\varphi'(Z)$  для монтмориллонитовых, слюдяных и каолиновых минералов по варианту, предложенному Дьяконовым, выявляют некоторые общие особенности.

Рис. 3. Графики расчетов  $\varphi'(Z)$  функции для кварца (а) и Ларгучского бентонита (б) с использованием одних лишь базальных рефлексов (Кв — кварц; К — каолинит; И — иллит; М — монтмориллонит)



Для четкого и правильного проявления главных максимумов на графике функции  $\varphi'(Z)$  необходимо брать для расчета значения одних только базальных рефлексов из соответствующих рентгенограмм. Необходимо учесть, что снятие рентгенограмм ориентированных препаратов, несмотря даже на то, что не все глинистые минералы в состоянии одинаково ориентироваться при их осаждении, уже обеспечивает более или менее удовлетворительный выбор базальных рефлексов. Другой особенностью графиков  $\varphi'(Z)$  функции соответствующих минералов является то, что главные максимумы, следующие один за другим согласно соответствующим  $d(001)$ , имеют относительно близкую по своей величине высоту.

Результаты указанных выше расчетов функции  $\varphi'(Z)$  для отдельных минералов, а также теоретически составленных смесей были проверены нами на бентоните Ларгучского месторождения МССР, микроновая фракция которого, по данным рентгеновского анализа, богата монтмориллонитом. В обменном комплексе последнего преобладают щелочноземельные катионы. Кроме монтмориллонита бентонит содержит определенные количества слюдяного минерала, каолинита и кварца. График  $\varphi'(Z)$  функции, рассчитанной по данным рентгеновского анализа бентонита, представлен на рис. 3, б, на котором максимумы монтмориллонита четкие. Максимумы слюдяного минерала развиваются из «остова» максимумов монтмориллонита. Соотношение высот максимумов слюдяного минерала и монтмориллонита показывает, что содержание последнего в бентоните значительно превышает содержание слюдяного минерала.

Расчет вероятности возможного чередования пакетов монтмориллонит: слюдяный минерал указывает на значение  $P_{\text{мн}}$  (вероятность следования пакетов монтмориллонита один за другим), равное 0,83.

Эта величина указывает на неупорядоченное чередование пакетов монтмориллонит—слюдяный минерал при определенной вероятности образования зональной структуры с тенденцией к обособлению кристаллитов данных минералов [1].

Отнесение максимумов графика функции  $\varphi'(Z)$  к тем или иным минералам изучаемого бентонита проводилось на основании сравнения их с максимумами  $\varphi'(Z)$  функции для каждого из минералов, входящих в наш объект исследования. В соответствии с этим на рис. 3, б монтмориллониту принадлежат максимумы, имеющие значения по оси абсцисс  $14,2 \text{ \AA}$ ;  $28,0$ ;  $43,0$  и  $56,8 \text{ \AA}$ . Они в основном кратны значению  $d(\text{ \AA})$  001 рефлекса монтмориллонита из соответствующей дифрактограммы. Слюдяному минералу соответствуют максимумы, значения  $Z$  которых по оси абсцисс кратны значению  $d(\text{ \AA})$  его базального рефлекса —  $10 \text{ \AA}$ . В отличие от указанных минералов кратность повторения максимумов у каолинита и кварца несколько иная. На рис. 3, б максимумы каолинита имеют значения  $Z$  по оси абсцисс  $7,0 \text{ \AA}$ ;  $36,0$  и  $49,0 \text{ \AA}$ , а кварца —  $3,4 \text{ \AA}$ ;  $16,6$ ;  $33,5$  и  $54,0 \text{ \AA}$ .

Количественное определение минералов проводилось с учетом особенностей, выявленных Градусовым [2], то есть высота пакетов учитывается, каким образом «развивается» тот или иной максимум. При этом из всех проявляющихся на графиках функции  $\varphi'(Z)$  максимумов (исходя из выявленных нами особенностей поведения таких функций для отдельных минералов) учитывались только те, которые возможны для данного минерала. Усреднение их величин дало возможность исключить влияние соседних максимумов.

Результаты количественного анализа бентонитов Ларгучского месторождения таковы: содержание монтмориллонита —  $71,2\%$ , слюдяного минерала —  $12,2$ , каолинита —  $10,63$  и кварца —  $5,9\%$ . Определение содержания монтмориллонита в данном образце по методике [5] дает величину, равную  $75\%$ . Количественное определение минералов, согласно методу Градусова [2], могло бы дать относительную ошибку в  $10$ — $15\%$ . Как видно из приведенных данных, в этом случае относительная ошибка в два раза меньше.

Таким образом, несколько иной подход к вопросу количественного определения каолиновых, слюдяных и монтмориллонитовых минералов в их природных смесях, как показали наши исследования, оправдывает себя при решении определенных практических проблем, в частности выявления постепенных изменений, происходящих в бентонитовых глинах при их модифицировании под воздействием температур или различных химических реагентов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Браун Г. Рентгеновские методы изучения и структура глинистых минералов. М., «Мир», 1965, с. 136, 275, 480, 535.
2. Градусов Б. П. Зависимость между значениями  $d/n$  базальных рефлексов и содержанием слюдяных пакетов в смешанослойных образованиях слюда—сметитового типа. — Литология и полезные ископаемые, 1971, № 6, 152—153.
3. Дьяконов Ю. С. О прямой расфировке рентгенограмм смешанослойных минералов при помощи методов преобразования Фурье. — Рентгенография минерального сырья, вып. 1. М., Госгеолтехиздат, 1962, с. 97—107.
4. Ероцев-Шак В. А., Градусов Б. П. Глинистые минералы в продуктах метаморфических пород кристаллического фундамента района Умерге Литовской ССР. — Литология и полезные ископаемые, 1972, № 3, с. 142—161.

5. Мдивнишвили О. М. К методике количественного определения монтмориллонита в бентонитовых глинах.—Тр. КИМСа, Сер. технол., вып. 8(10), 1969, с. 141—144.
6. Михеев В. И. Рентгенометрический определитель минералов, т. 1. М., Госгеолтехиздат, 1957.
7. Ратеев М. А., Градусов Б. П. Типы смешанослойных образований слюда—монтмориллонитового ряда в метабентонитах Силура-Ордовика Прибалтики.—Литология и полезные ископаемые, 1971, № 2, с. 74—93.
8. MacEwan D. M. C. Randomly stacked layer in clay minerals.—Nature, 1953, 171, 4353, p. 616—617.

М. И. ЖЕРУ, В. А. СМІРНОВА,  
Л. С. ВОДИЧАР, Н. Т. ОКОПНАЯ, Л. И. МОНАХОВА

### МИНЕРАЛОГИЯ ГИДРОСЛЮДИСТОЙ ГЛИНЫ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Глинистые минералы широко используются для поглощения белковых веществ из вин, соков [3, 7], для очистки ферментов и приготовления иммобилизованных ферментов [5], а также при получении гранулированных белковых кормов [8]. В связи с этим изучение минералогии, физико-химических свойств и адсорбционной способности по отношению к белкам различных типов глин имеет большое практическое значение. Особый интерес представляют гидрослюдистые глины, для которых, как было установлено нами раньше [9], характерна высокая величина адсорбции белка. Важно и то, что подобные глины широко распространены на территории Молдавии и доступны к эксплуатации открытым способом.

В данной работе приводятся результаты детального исследования глины из верхнесарматских отложений Припутья (скв. 10, глубина 36—40 м, г. Леово), представляющей собой тонкодисперсную зеленовато-серую породу со слабо выраженной слоистой текстурой.

По микроскопическим наблюдениям глина приблизительно на 80% состоит из спутанно-чешуйчатой бледно-зеленой массы ( $N_m = 1,572$ ), в которую включены мелкие зерна кальцита, кварца, реже полевого шпата, глауконита, биотита и др. По данным гранулометрического анализа глина совершенно лишена частиц крупнее 0,5 мм. Содержание тонкопсаммитовых частиц (0,5—0,1 мм) составляет всего лишь 0,02%, а грубоалевритовых (0,1—0,05 мм) — 0,16%. Количество тонкоалевритовых (0,05—0,01 мм), грубопелитовых (0,01—0,005 мм), среднепелитовых (0,005—0,001 мм) и тонкопелитовых (меньше 0,001 мм) частиц составляет соответственно 22,6 вес.%, 18,2; 22,3 и 36,6 вес.%; количество растворимых в HCl соединений (главным образом кальцита) составляет 18,8%, что позволяет отнести анализируемую глину к слабозвестковистым образованиям. Химический состав глины и ее тонкопелитовой фракции (дано в скобках) характеризуется следующими данными (вес.%):  $SiO_2$ —54,16 (50,78),  $TiO_2$ —0,92 (0,74);  $Al_2O_3$ —14,56 (19,74),  $Fe_2O_3$ —2,15 (2,66),  $FeO$ —2,30 (3,32),  $CaO$ —6,90 (2,19),  $MgO$ —3,23 (3,38),  $Na_2O$ —1,34 (0,42),  $K_2O$ —2,95 (3,76), п.п.п.—11,50 (12,50), сумма—100,01 (99,49). Повышенное содержание окиси кальция обусловлено присутствием существенных примесей кальцита и, возможно, гипса. Окислы титана, железа и магния (в сумме 9—10 вес.%) большей частью входят в состав хлоритовых минералов, окись натрия в состав плагиоклаза, монтмориллонита и водорастворимых

соединений и, наконец, окись калия — в состав гидрослюд. Разница в содержании кремнезема в породе и во фракции (~3%) отражает наличие кварца, разница в содержании окиси титана (~0,2%) — наличие малой примеси рутила или титаномагнетита.

По данным рентген-дифрактометрии суспензии (рис. 1, а), в глине содержатся щелочной и щелочноземельный монтмориллониты (широкий пик 11,0—12,6—14,0 Å), смешанослойный иллит-монтмориллонит, близкий к гидрослюде (пики 10,22 Å; 4,98 и 3,33 Å), хлорит (пики 7,20 и 3,53 Å). Этот минеральный состав подтвержден дифрактограммами насыщенных глицерином (рис. 1, б) и прокаленных при 600° (рис. 1, в) препаратов. Основные рентген-дифрактометрические характеристики глинистых фракций породы приведены в табл. 1.

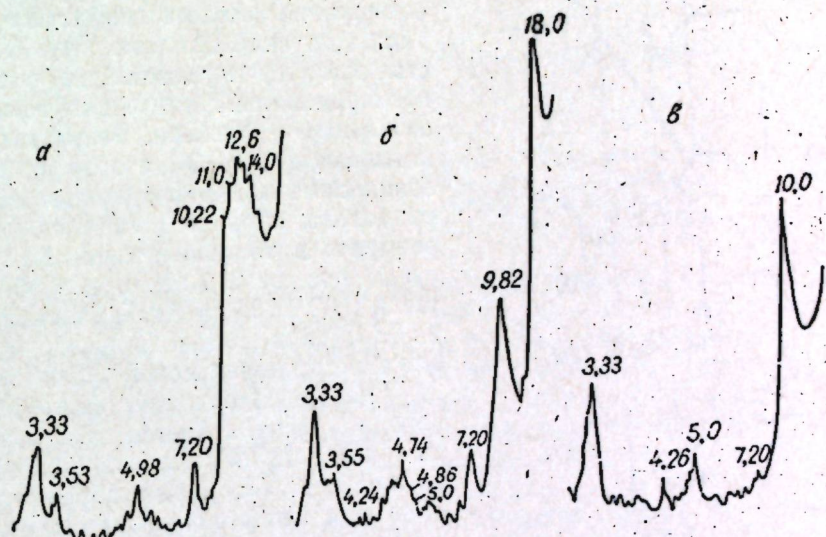


Рис. 1. Рентген-дифрактограмма хлоритово-гидрослюдистой глины: а — естественной; б — насыщенной глицерином; в — прокаленной при 600°С

Дериватогрaмма породы (рис. 2) характерна для гидрослюдисто-монтмориллонитовой смеси (эффекты при 120° и 530—575°), содержащей существенные примеси хлорита (эффекты при 700° и 900°) и каль-

Таблица 1  
Рентген-дифрактометрические характеристики\* леовской глины

Суспензия породы, мм	I, %			Монтмориллонит**		
	7 Å	10 Å	17,7 Å	(001) E, Å	(001) H, Å	%
0,001—0,05	11	38	51	11,0—14,0	18,0	33
0,001	14	39	47	14,0—15,2	17,7	30
0,001—0,005	35	51	14	14,0	17,7	12
0,005—0,01	38	62	0	—	—	0
0,01—0,05	37	63	0	—	—	0

\* I — интенсивность базальных отражений хлорита (7 Å), гидрослюды (10 Å) и монтмориллонита (17,7 Å), рассчитанная по высоте соответствующих пиков. Содержание монтмориллонита определено по интенсивности 17,7-ангстремного пика с помощью «внутренних стандартов».

\*\* E — естественные, H — насыщенные глицерином препараты.

цита (эффект при 800°). Обращает внимание аномально низкое значение отношения  $\Gamma_1 : \Gamma_3$  (1,7:4,1=0,41), что, вероятно, свидетельствует о специфической конституции слюдистых (и монтмориллонитовых) минералов рассматриваемой породы. Это подтверждается данными табл. 2, согласно которым отношение  $\Gamma_3 : \Gamma_4$  аномально уменьшается от более тонких к более грубым фракциям.

Эталоном «чистого» (100%) глинистого вещества может служить тонкопелитовая фракция с суммарными потерями водных фаз 11%. Используя его, можно определить количество глинистых частиц всех размерностей: тонкопелитовых — 36,6%, среднепелитовых — 14,5, грубопелитовых — 19,8 и тонкоалевритовых — 11,5%, в сумме — 82,4%. По табл. 1 и 2 определяли пофракционное содержание каждого глинистого минерала, допуская при этом, что количества хлорита и гидрослюды в смесях пропорциональны интенсивностям их базальных рефлексов. Результаты показывают (табл. 3), что во фракциях количественные соотношения монтмориллонита, хлорита и гидрослюды варьируют: в тонкопелитовой 1:2:3, в среднепелитовой 1:2:4, в грубопелитовой 0:2:3, в тонкоалевритовой 0:2:4, а в породе в целом 1:2:4 (как в среднепелитовой фракции).

Общее содержание минералов в породе распределяется так: монтмориллонита 12,7%, хлорита 23,7 и гидрослюды 46,0%. Таким образом, описываемая глина по количественно-минеральному составу является преимущественно гидрослюдистым образованием.

Адсорбцию альбумина из бычьей сыворотки (М.в. ≈ 65 000) на гидрослюдистой глине проводили в статических условиях из водных раство-

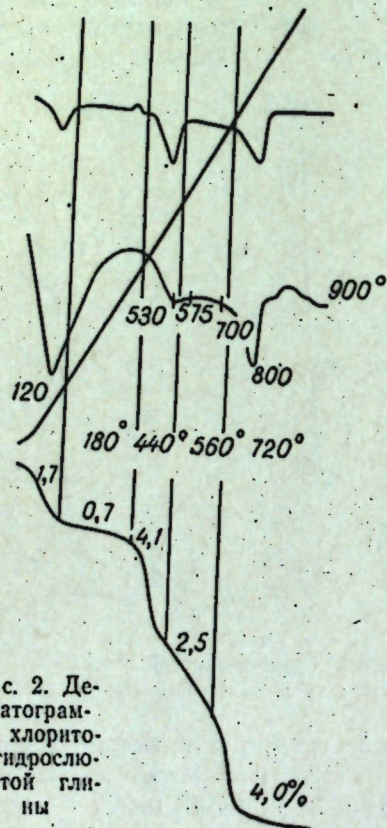


Рис. 2. Дегидратограмма хлоритово-гидрослюдистой глины

Таблица 2  
Термические характеристики\* леовской глины

Материал, мм	Потеря веса, %							$\Gamma_3 : \Gamma_4$
	$\Gamma_1$	$\Gamma_2$	$\Gamma_3$	$\Gamma_4$	$\Gamma_5$	$\Sigma$	Кальцит, %	
Порода	1,7	0,70	4,1	2,5	4,0	13,0	9,0	1,64
Фракция								
0,001	4,5	0,75	4,0	1,75	1,0	12,0	2,0	2,28
0,001—0,005	2,25	0,50	2,5	1,75	4,5	11,5	10,0	1,43
0,005—0,01	0,75	0,50	1,0	1,5	2,75	6,5	6,3	0,66
0,01—0,05	0,60	0,40	0,80	1,30	2,30	5,4	5,0	0,62

\* $\Gamma_1$  и  $\Gamma_2$  — сорбционная и слабосвязанная вода;  $\Gamma_3$  и  $\Gamma_4$  — конституционная вода;  $\Gamma_5$  — СО кальция.

ров 0,1—2% концентрации при 5°С и непрерывном перемешивании. Отношение раствор—адсорбент было постоянным (100 мл:1 г). Величины адсорбции определяли по изменению концентрации раствора белка методом Лоури [1].

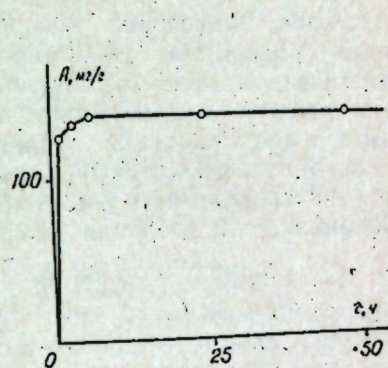


Рис. 3. Зависимость величины адсорбции (А) альбумина гидрослюдистой глиной от времени (τ)

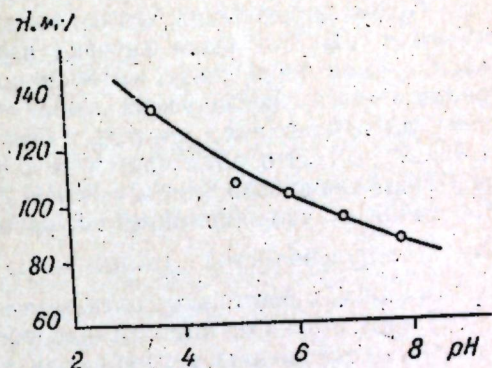


Рис. 4. Зависимость величины адсорбции (А) альбумина гидрослюдистой глиной от рН среды

Эффективность адсорбции высокомолекулярных соединений определяется химической природой полимера, его молекулярным весом, растворителем, типом адсорбента, а также правильным подбором условий, при которых осуществляется этот процесс. Поскольку время адсорбции полимеров может меняться в широком диапазоне [6], для получения достоверных результатов необходимо предварительное исследование кинетики адсорбции. На рис. 3 приведены кривые изменения величины адсорбции альбумина из его ~1,2% раствора на гидрослюде в зависимости от времени. Характер кривой показывает, что адсорбционное равновесие на исследуемых адсорбентах устанавливается в течение 6—7 часов. В дальнейшем все данные по равновесной адсорбции были получены после шести часов контакта адсорбента с раствором альбумина.

Таблица 3  
Пофракционный количественно-минералогический состав глинистого вещества, %

Фракция	Монтмориллонит	Хлорит	Гидрослюда
Тонкопелитовая	11,0	6,8	18,8
Среднепелитовая	1,7	5,1	7,7
Грубопелитовая	0,0	7,5	12,3
Тонкоалевритовая	0,0	4,3	7,2

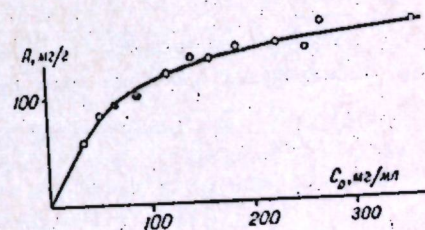


Рис. 5. Зависимость величины адсорбции (А) альбумина от равновесной концентрации ( $C_p$ ) его в растворе на гидрослюдистой глине

Поскольку белки являются амфолитами [2, 4], то величина их адсорбции зависит от рН среды. В щелочных растворах они будут адсорбироваться в виде анионов, а в кислой — как катионы. Растворы с различными значениями рН получали с помощью 0,005 М растворов ацетатных и фосфатных буферов. Нами изучено влияние рН на ад-

сорбцию альбумина из растворов с исходной концентрацией белка 234 мг/г адсорбента (рис. 4). Анализ этих данных показывает, что величина адсорбции альбумина на гидрослюдистой глине растет с увеличением кислотности среды и достигает максимального значения при pH 3,6.

После определения оптимальных условий проведения адсорбции ( $\tau=6$  ч, pH 3,6) была изучена изотерма адсорбции альбумина на исследуемом адсорбенте, которая представлена на рис. 5. Адсорбционная емкость исследуемой глины по отношению к альбумину выше, чем адсорбционная емкость бентонита месторождения Ларгуца (МССР) [9]. Это объясняется тем, что средний эффективный диаметр пор гидрослюдистой глины почти в два раза больше, чем у бентонита. По данным адсорбционно-структурного анализа\*, удельная поверхность гидрослюдистой глины равна 57 м<sup>2</sup>/г, диаметр пор 88 Å, в то время как для бентонита соответственно 198 м<sup>2</sup>/г и 38 Å.

Таким образом, высокая адсорбционная емкость гидрослюдистой глины по отношению к альбумину позволяет предположить, что эта порода перспективна для использования в процессах, связанных с поглощением белковых веществ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бейли Дж. Методы химии белков. М., «Мир», 1965.
2. Бреслер С. Е. Введение в молекулярную биологию. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1963.
3. Грим Р. Э. Минералогия и практическое использование глины. М., «Мир», 1967.
4. Ниргенсон Б. Природные органические макромолекулы. М., «Мир», 1965.
5. Кестнер А. И. Имобилизованные ферменты.—Успехи хим., 1974, 18, с. 1480.
6. Липатов Ю. С., Сергеева Л. И. Адсорбция полимеров. Киев, «Наукова думка», 1972.
7. Нилов В. И., Скурихин И. М. Химия виноделия. М., «Пищевая промышленность», 1967.
8. Ротэрмель З. А., Кирсанов Н. В. и др. Бентонитовые глины повышают привесы свиней.—Свиноводство, 1964, № 12.
9. Тарасевич Ю. И., Смирнова В. А. и др. Адсорбция альбумина на глинистых минералах.—Колл. ж., 1975, 37, 5, с. 912—917.
10. Тарасевич Ю. И., Овчаренко Ф. Д. Адсорбция на глинистых минералах. Киев, «Наукова думка», 1975.

\* Удельная поверхность определялась из изотермы сорбции-десорбции паров воды. Молекулярная площадка воды принималась равной  $W_{H_2O} = 10,8 \text{ \AA}$  [10].

## НАУКА—ПРОИЗВОДСТВУ

Ф. М. БАЗЕЛЮК

### ВЫВЕДЕНИЕ ГИБРИДОВ ТАБАКА, КОМПЛЕКСНО-УСТОЙЧИВЫХ К ЛОЖНОЙ МУЧНИСТОЙ РОСЕ И ВИРУСУ ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ

Известно, что культурные растения поражаются чаще всего не каким-либо одним патогеном, а комплексом заболеваний различной этиологии. Самыми вредоносными болезнями табака в условиях Молдавии являются ложная мучнистая роса (ЛМР), обыкновенная табачная мозаика, огуречная мозаика и бронзовость томатов на табаке. Наши исследования первоначально были направлены на изучение устойчивости исходного материала к ЛМР и вирусу табачной мозаики (ВТМ) с последующим использованием этого материала для создания гибридов, комплексно-устойчивых к данным патогенам. Испытания на устойчивость растений к ЛМР и ВТМ, проводимые в нашей стране и за рубежом, показали, что среди культивируемых сортов табака, невосприимчивых к ЛМР, не обнаружено [1—3, 6—8].

Clayton [8] указал на малую вероятность выведения устойчивых к ЛМР сортов табака методом межсортовой гибридизации. Поэтому основное внимание уделяется созданию устойчивых гибридов и сортов табака отдаленной гибридизацией. Таким путем Терновским уже были получены сорта табака, комплексно-устойчивые к вирусу табачной мозаики и мучнистой росе: Американ 287, Дюбек 566, Трапезонд 161 и др.

Устойчивость растений к инфекционным заболеваниям контролируется генетически, при этом она может быть обусловлена как одной, так и несколькими парами генов. Широко и подробно изучен вопрос об использовании генов устойчивости Терновским. Согласно его данным, у полученных сортов, константных по устойчивости к ВТМ, иммунитет обусловлен транслокацией хромосом с переносом гена устойчивости от дикого вида табака *Nicotiana glutinosa* L. [4].

Так как среди культивируемых сортов табака не обнаружено невосприимчивых к ЛМР форм, то в поисках генов устойчивости к данному заболеванию мы обратились к диким видам *Nicotiana*, географическое распространение которых совпадает с распространением гриба — возбудителя *Peronospora tabacina* Adam. При скрещивании иммунных или высокоустойчивых диких видов с культурными сортами табака доминирует устойчивость дикого вида [3]. Среди изученных нами 63 образцов диких видов *Nicotiana* было выявлено наличие абсолютно устойчивых, высокоустойчивых, среднеустойчивых и восприимчивых форм. Определялась устойчивость видов к ЛМР по шкале Терновского и Дашкеевой [5]. Особое внимание привлекают межвидовые гибриды с абсолютно устойчивым к ЛМР диким видом *Nicotiana debneyi*.

На устойчивость к ЛМР в условиях Молдавии нами были испытаны образцы, поступившие из Австралии и США. Эти формы, полу-

ченные в результате межвидовых скрещиваний с использованием диких видов, по своему качеству не могли быть внедрены в производство, но по устойчивости к ЛМР представляют интерес в селекционной работе.

К устойчивым австралийским формам отнесены *Hicks resistant*, S-390/1 (F-80), F-94, SO<sub>1</sub>, A-7. Из этой группы при скрещивании с отечественными сортами были использованы перспективные исходные формы *Hicks resistant*, SO<sub>1</sub> и A-7, имеющие устойчивость от дикого вида *N. debneyi*. Но менее восприимчивыми оказались американские гибридные формы Bel-61-9 и Bel-61-10, устойчивость которых к ложной мучнистой росе происходит также от *N. debneyi*. Bel-61-10 отличается иммунитетом и к ВТМ.

Наряду с австралийскими и американскими гибридами нами было испытано большое количество отечественных промышленных сортов: Американ 287, Переможец 83, Остролист 2747, Остролист иммунный 3000, Трапезонд 3072, Дюбек 44 и др. Некоторые из этих сортов, обладающие геном устойчивости к ВТМ, были использованы нами в качестве родительских форм в скрещиваниях с устойчивыми к ЛМР видами табака для получения комплексно-устойчивых сортов (табл. 1). При проведении работы по выведению комплексно-устойчивых гибридов мы применяли метод половой гибридизации (скрещивания). Впервые этот метод на табаке был применен и изучен Кельрейтером в 1761 г. при скрещивании табаков диких видов [цит. по 4].

Таблица 1

## Характеристика исходного материала

Гибрид	Донор гена устойчивости	Устойчивость	
		к ЛМР	к ВТМ
<i>Hicks resistant</i>	<i>N. debneyi</i>	+	-
SO <sub>1</sub>	.	+	-
A-7	.	+	-
Bel-61-9	.	+	-
Bel-61-10	.	+	+
Американ 287	<i>N. glutinosa</i>	-	+
Остролист иммунный 3000	.	-	+
Переможец 83	-	-	-

дов (Американ 287 × Bel-61-9) × Остролист иммунный 3000, проявивший во всех четырнадцати поколениях 100-процентную устойчивость к ЛМР и к ВТМ, в 1968 г. был насыщен пылью, взятой у абсолютно здорового на естественном инфекционном фоне растения сорта Переможец 83, отличающегося большим количеством крупных светлых листьев. Полученный гибрид типа Переможец 83 (Молдавский 17) в результате многолетних испытаний проявил высокую степень устойчивости к ЛМР и ВТМ и хозяйственно-ценные свойства. Такой же устойчивостью обладает и гибрид 97<sup>а</sup>, названный Молдавским 18. Он получен путем сложного скрещивания сорта Американ 287, иммунного к ВТМ и к мучнистой росе, австралийской гибридной формы A-7, устойчивой к ЛМР от *N. debneyi*, с Остролистом иммунным 3000 и насыщенным пылью гибрида Иммунного 29 (Американ 287 × Bel-61-9 × Остролист иммунный 3000).

Для выявления устойчивых форм мы использовали метод искусственного заражения. Растения, подлежащие испытанию на устойчивость, высаживали в поле делянками по 200—300, а перспективные

При подборе родительских форм кроме устойчивости к изучаемым заболеваниям мы учитывали и ряд других важных показателей, таких как урожайность, скороспелость, качество продукции, процент содержания никотина и др.

В результате сложных скрещиваний был получен ряд перспективных гибридов. Так, гибрид Иммунный 29, полученный при скрещивании других гибри-

Таблица 2

## Устойчивость гибридов и контрольных сортов к ЛМР и ВТМ, %

Гибрид	1969 г.		1970 г.		1971 г.		1972 г.		1973 г.		1974 г.		1975 г.	
	ЛМР	ВТМ	ЛМР	ВТМ	ЛМР	ВТМ	ЛМР	ВТМ	ЛМР	ВТМ	ЛМР	ВТМ	ЛМР	ВТМ
Иммунный 29	99,2	100	93,8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	95,0
Молдавский 17	99,3	100	100	90,0	87,6	100	95,0	98,0	100	100	97,5	95,0	97,0	96,5
Молдавский 18	98,6	100	98,5	95,0	98,9	100	97,9	100	100	100	95,0	97,0	100	100
Переможец 83	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
Bel-61-9	98,0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Родительская пара	Американ 287 × Bel-61-9 × Остролист иммунный 3000 Американ 287 × Bel-61-9 × Остролист иммунный 3000 × Переможец 83 Американ 287 × A-7 × Остролист иммунный 3000 × Иммунный 29 Контроль восприимчивости к ЛМР Контроль устойчивости к ЛМР													

гибриды — по 1000—2000 растений. Через каждые 10—15 рядков высаживали контрольные, восприимчивые и устойчивые к ЛМР и ВТМ сорта. Ежегодно проводили по 4 искусственных заражения суспензией конидий гриба *Peronospora tabacina* Adam и по два заражения инфекционным соком ВТМ. После проявления ЛМР двукратно учитывали устойчивость растений по пятибалльной шкале [5]. При учете реакции видов на заражение ВТМ применяли шкалу, разработанную Терновским [4].

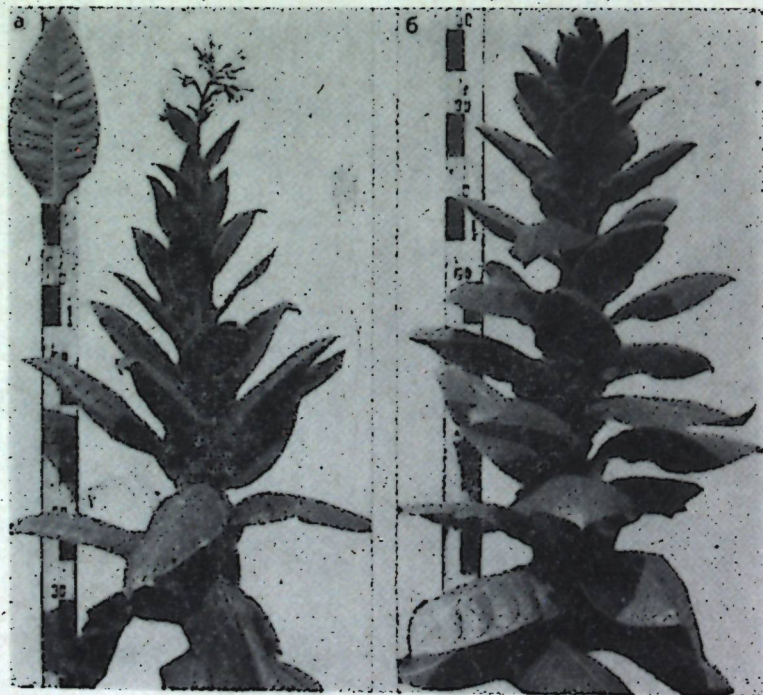
Данные по устойчивости к ложной мучнистой росе и вирусу табачной мозаики испытуемых нами гибридов табака приводятся в табл. 2.

Тщательный индивидуальный отбор на фоне массово зараженных растений был главным и ведущим в выявлении ценных и перспективных форм растений табака. Отобранные и изолированные растения перспективных устойчивых и контрольных восприимчивых сортов подвергались биометрическим измерениям (табл. 3). Листья всех гибридов светло-зеленые.

Таблица 3

Биометрические показатели перспективных гибридов табака (в среднем за 5 лет)

Гибрид	Высота растений, см	Количество листьев	Длина листа, см	Ширина листа, см
Иммунный 29	186,5	27	44,6	24,7
Молдавский 17	179,7	30	43,6	21,1
Молдавский 18	174,8	31	42,8	22,3
П-83 (контроль)	160,0	26	37,6	16,6



Гибриды:

а — Молдавский 17; б — Молдавский 18

Гибриды Молдавский 17 и Молдавский 18 представляют особый интерес как по устойчивости к заболеваниям, так и по морфологическим признакам и являются перспективными по всем показателям.

**Морфологические признаки гибрида Молдавский 17.** Рассада светло-зеленого цвета с быстрым характером роста на первых фазах. Растения овальной формы. Положение листа на стебле горизонтально-приподнятое. Лист светло-зеленый, сидячий, овально-вытянутый со среднезаостренной верхушкой и слегка волнистыми краями, поверхность гладкая. Соцветие щитковидное, цветки бледно-розовые. Средняя высота растений до 180 см, число листьев 30, размер листа 44×21 см.

**Морфологические признаки гибрида Молдавский 18.** Рассада зеленого цвета. Форма растения эллипсоидальная. Положение листа на стебле горизонтально-приподнятое. Лист сидячий, светло-зеленый, овально-вытянутый со среднезаостренной верхушкой и слегка волнистыми краями, поверхность мелкоиспученная. Соцветие щитковидное, цветки бледно-розовые, со звездой. Средняя высота растений до 175 см, число листьев 31, размер листа 43×22 см.

Одним из основных показателей хозяйственной ценности сортов сельскохозяйственных растений является их урожайность. По данным станционного испытания (1971—1975 гг.), урожай листа гибридов табака в среднем за 5 лет составляет: Молдавский 17—41,9 ц/га; Молдавский 18—42,2; Переможец 83 (контроль)—37,7 ц/га. Таким образом, урожайность Молдавского 17 на 4,2 ц/га, а Молдавского 18—на 4,5 ц/га выше районированного контрольного сорта Переможец 83.

Полученные нами гибриды — результат сложной межвидовой и межсортовой гибридизации. Они имеют обогащенную наследственную основу и высокую пластичность. В настоящее время гибриды Молдавский 17 и Молдавский 18 проходят конкурсное сортоиспытание на нескольких сортоучастках страны.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Клейтон Е. Гены, обуславливающие более высокое качество табака.— В кн.: Болезни растений. М., ИЛ, 1956, с. 519—524.
2. Космодемьянский В. Н. Результаты работ по селекции сортов табака, устойчивых к ложной мучнистой росе.— В кн.: Пероноспороз табака. Кишинев, «Карта Молдовеняскэ», 1964, с. 51—62.
3. Терновский М. Ф. Состояние работ по иммунитету табака к инфекционным заболеваниям и вредителям.— Тез. докл. IV Всесоюз. совещ. по иммунитету с.-х. растений. Кишинев, 1965, с. 83—101.
4. Терновский М. Ф. Отдаленная гибридизация как метод создания устойчивых к болезням сортов табака.— С.-х. биология, 1969, 4, 6, с. 813—821.
5. Терновский М. Ф., Дашкеева К. Н. Устойчивость видов табака к ложной мучнистой росе.— В кн.: Пероноспороз табака. Кишинев, «Карта Молдовеняскэ», 1964, с. 40—50.
6. Терновский М. Ф., Дашкеева К. Н., Попушой И. С. Результаты изучения видов и сортов табака на устойчивость к ложной мучнистой росе.— В сб.: Инфекционные заболевания культурных растений Молдавии, вып. 4. Кишинев, «Карта Молдовеняскэ», 1965, с. 15—28.
7. Angell H. R., Hill A. V. Downy mildew of tobacco in Australia.— Conn. Sci. ind. Res. Bul., 1932, 65, p. 30.
8. Clayton E. E. Development of a blue mildew resistant cigar wrapper variety.— Tobacco N. J., 1967, 165, 7, p. 28—31.

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

А. С. КОРНЕСКУ

### ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ТУР НА ВОДНЫЙ РЕЖИМ И РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ ЯБЛОНИ

В садоводстве все большее внимание уделяется применению физиологически активных веществ, регулирующих процессы роста и плодообразования. В нашей стране и за рубежом опубликовано большое число работ, в которых отражено влияние этих веществ на ограничение размеров кроны плодовых деревьев, ускорение плодоношения, преодоление его периодичности и повышение морозостойкости.

Средки регуляторов роста, применяемых в растениеводстве, получили распространение ретарданты, в частности хлорхлорид (ССС). Однако вопрос о влиянии этого препарата на плодовые растения изучен недостаточно. Известные данные по этому вопросу противоречивы. Так, некоторые авторы считают, что препарат СССР вызывает задержку роста и усиливает формирование цветковых почек [1—3]. Другие свидетельствуют о том, что под действием СССР у яблони активизируются ростовые процессы и снижается морозостойкость [5, 6].

Важнейшей задачей садоводства в Молдавии является повышение засухоустойчивости плодовых растений в условиях богары и продуктивности использования поливной воды при орошении. В этом плане определенный интерес представляют физиологически активные вещества группы ретардантов, из которых более перспективным представляется препарат ТУР (аналог хлорхлорид).

Учитывая большое значение физиологически активных веществ в интенсификации плодового садоводства, следует изучать влияние регуляторов роста не только на продуктивность возделываемых культур, но и на устойчивость их к экстремальным условиям среды.

В настоящем сообщении приводятся результаты по изучению влияния синтетического регулятора роста ТУР на водный режим, ростовые процессы и заложение плодовых образований у растений яблони.

Опыты проводились в орошаемом межколхозном саду «Память Ильичу» Слободзейского района Молдавской ССР на опытах, заложенных Б. Д. Епифановым, и в условиях вегетационного домика Института физиологии и биохимии растений АН МССР. В качестве опытных объектов в первом случае были взяты растения яблони типа спур сортов Голден спур и Старкримсон, привитые на карликовом подвое. Площадь питания  $4 \times 1,5$  м<sup>2</sup>. Количество учетных деревьев в варианте 12.

В вегетационном опыте изучались саженцы яблони сорта Слава победителям, привитые на полукарликовом подвое. Влажность почвы поддерживалась на уровне 70% от полевой влагоемкости (ПВ). Опыт был заложен в 1975 г. Повторность опыта восьмикратная.

Варианты опытов следующие: I — без опрыскивания (контроль); II — опрыскивание растений 0,5—0,6% раствором препарата ТУР. За вегетационный период проводилось двукратное опрыскивание — через 10 дней после цветения (повторно через две недели). Обработку проводили до полного смачивания листьев.

По нашим данным, для опытных растений характерна тенденция к увеличению оводненности тканей листьев в сравнении с контролем. У растений, обработанных ростингибирующим веществом, оводненность тканей листьев выше на 1—3%.

Рострегулирующее вещество отечественного производства ТУР оказывало значительное влияние на процессы роста растений яблони. Если до опрыскивания саженцев регулятором роста суммарный прирост одного растения был почти одинаковым, то после двукратного опрыскивания (вариант 70% от ПВ+ТУР) они намного отставали в росте в сравнении с контрольными. Близкие данные были получены и в условиях сада (см. таблицу).

Наряду с ограничением ростовых процессов ТУР оказывал значительное влияние на генеративные процессы у молодых плодовых деревьев. При значительном торможении роста побегов обнаружено некоторое уменьшение ассимилирующей поверхности. Так, средняя площадь листа опрысканных растений, произраставших в кон-

тролируемых условиях, составляла 17,6 см<sup>2</sup>, а у контрольных — 19,2 см<sup>2</sup>. В саду у опытных растений сорта Голден спур площадь листа была на 16% меньше в сравнении с растениями контрольного варианта.

Анализ результатов показывает, что водоудерживающие силы находятся в определенной зависимости от интенсивности ростовых процессов. Чем она ниже, тем выше водоудерживающие силы листа, о чем можно судить по меньшей потере воды при завядании. Так, в июле потеря воды у контрольных растений составляла 14% от исходного ее содержания, а у обработанных раствором ТУР 12%. За этот период по сорту Старкримсон разница незначительна. Потеря воды листьями яблони сорта Слава победителям, произраставшей в условиях вегетационного домика, 29 июня была 35%, у опытных растений 32%. Следовательно, листья опытных растений характеризовались повышенными величинами водоудерживающих сил.

Считаем нужным заметить, что в предыдущих наших работах [4] получены данные, показывающие, что двойная доза фосфора на фоне азота и калия приводила к торможению роста побегов в сравнении с удобренными растениями (NPK) в соотношении элементов 1:1:1. При этом водоудерживающие силы листьев последних были ниже, чем у тех, под которые была внесена двойная доза фосфора в полной питательной смеси.

При двукратном опрыскивании саженцев сорта Слава победителям препарат ТУР оказался токсичным, вызывал хлороз, ожоги и опадение листьев. В условиях сада на сорте Голден спур опрыскивание дало положительные результаты. Вероятно, следует иметь в виду, что препарат ТУР недостаточно универсален и его действие зависит от биологических особенностей сортов. Рострегулирующим веществом ТУР можно направленно воздействовать на водный режим, процессы роста и развития растений яблони.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Агафонов Н. В., Иванушкин А. И., Пастухов А. А., Соловей Э. П. Влияние препарата СССР и гибберелина на рост и плодоношение некоторых плодово-ягодных культур. — Тез. докл. научно-коорд. совещ. по проблеме «Химические регуляторы в растениеводстве». М., 1974, с. 59—60.
2. Блиновский И. К., Рабей Л. А. Применение препарата СССР в интенсивном плодородстве. — Тез. докл. научно-коорд. совещ. по проблеме «Химические регуляторы в растениеводстве». М., 1974, с. 55.
3. Колесников В. А., Агафонов Н. В., Иванушкин А. И. Изменения размера и структуры кроны молодых деревьев яблони под действием ретарданта ТУР. — Докл. ВАСХНИЛ, т. 7, 1973, с. 7—8.
4. Кушниренко М. Д., Курчатова Г. П. и др. Физиология орошаемых яблони и персика. Кишинев, «Штиинца», 1976, с. 166—208.
5. Проценко Д. Ф., Капля А. В., Мороз Т. А. Влияние хлорхлорид на морозостойкость плодовых растений. — Применение физиологически активных веществ в садоводстве, вып. 2, 1974, с. 52—58.
6. Петерсон Э. К., Сполитис А. К. Влияние синтетических ретардантов на рост и физиологические процессы клоновых яблонь М-1. — В кн.: Регуляция роста и питание растений. Рига, «Зинатне», 1976, с. 54—60.

Величина однолетнего прироста и количество плодовых образований на одном дереве. Сорт Голден спур

Вариант опыта	Средний прирост побега, см	$t^*$	Количество плодовых образований на одном дереве	$t^*$
Контроль	27,7	5,3	166	34,5
ТУР	22,4		255	

\*  $t$  — значение критерия существенности для 5% уровня значимости в сравнении с контролем.



Т. Н. РАКОВА, Л. П. КОВАЛЬЧУК,  
Е. Я. КАЧАЛОВА, В. И. ЯДОВИНА

### АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ *ACTINOMYCES GRISEUS 15* — ПРОДУЦЕНТА ГРИЗИНА

В настоящее время в животноводстве все более широкое применение находит кормогризин как один из немногих антибиотиков, не применяемых в медицине.

Не вызывают сомнения высокая лечебно-профилактическая эффективность препарата, а также его ростстимулирующее действие. Объяснить последнее наличием только антибиотика в кормовой смеси невозможно, так как практически одинаковый эффект дают партии кормогризина с высокой и низкой антибиотической активностью.

Установлено, что биологическая активность кормового препарата гризина обусловлена присутствием не только антибиотика, но и различных физиологически активных соединений, входящих в препарат. По данным Ковальчук [2], *Actinomyces griseus 15* способен синтезировать витамины: тиамин до 600 мкг/л, пиридоксин до 300, биотин до 8, рибофлавин до 450, никотиновой кислоты до 1400 и витамина B<sub>12</sub> до 120 мкг/л. В мицелии *Act. griseus 15* накапливаются также липиды, содержащие биологически активное вещество стерина природы [3].

Биологическая ценность мицелия различных грибов в значительной мере определяется качественным содержанием и количественным соотношением аминокислот.

Бондаревская и Асеева [1] изучали в динамике роста гриба состав белка биомассы и внутриклеточной фракции свободных аминокислот в культуре *Act. aurigineus* — продуцента кормарина, который так же, как и кормогризин, применяется в животноводстве и является антибиотиком немедицинского назначения. В составе суммарного белка обнаружено 18—20 аминокислот, в том числе незаменимые, количество которых составляло 20—30%. Лизин и метионин содержатся в относительно небольшом количестве (4—6%). Авторы отмечают, что в процессе роста культуры происходят изменения в количественном содержании белка в биомассе и в соотношении отдельных аминокислот в белке. Последнее может быть обусловлено изменением либо качественного состава самих белков в процессе развития культуры, либо соотношением белковых фракций, а возможно, и того и другого. Наибольшее содержание аминокислот наблюдалось на 6-й день роста, что свидетельствует об активном синтезе белка в этот период.

Интересно было исследовать в таком же плане и кормогризин. В связи с этим мы изучали аминокислотный состав мицелия *Act. griseus 15*. Был проведен кислотный гидролиз мицелия с последующим исследованием его на аминокислотном анализаторе марки H1200E (Чехословакия).

#### Содержание аминокислот в мицелии *Actinomyces griseus 15*, мг/г

Аминокислота	Содержание
Лизин	8,66
Гистидин	1,87
Аргинин	12,60
Аспарагиновая	1,03
Треонин	7,77
Серин	8,04
Глутаминовая	31,07
Пролин	6,20
Глицин	9,98
Аланин	16,27
Цистин	—
Валин	19,26
Метионин	0,54
Изолейцин	13,71
Лейцин	26,41
Тирозин	1,90
Фенилаланин	4,01

Культура *Act. griseus 15* выращивалась в течение 72 часов на среде сложного состава (%): кукурузная мука — 2; аммиачная селитра — 0,5; хлористый натрий — 0,2; мел — 0,5; водопроводная вода — 1 л (рН среды 7—7,2). По окончании ферментации мицелий отделяли фильтрованием, высушивали при температуре 20—30°C и размалывали. Подготовка образцов к определению аминокислот проводилась методом кислотного гидролиза.

В составе мицелия *Act. griseus 15* обнаружено 17 аминокислот, в том числе незаменимые: лейцин, изолейцин, валин, треонин, фенилаланин и другие (см. таблицу).

Как видно из таблицы, в наибольшем количестве содержится глутаминовая кислота (31,07% от общего содержания аминокислот), которой принадлежит исключительно важная роль в азотистом обмене.

Наши данные согласуются с результатами Бондаревской и Асеевой [1], обнаруживших преобладающее количество глутаминовой кислоты в *Act. aurigineus*.

В значительном количестве содержится лейцин (15,52% от общего содержания аминокислот в мицелии). В достаточном количестве встречаются аргинин и глицин, которые в других актиномицетах обнаружены в единичных случаях. Метионин составляет всего 0,32% суммы аминокислот. По литературным данным, метионин у многих грибов не обнаружен или содержится в относительно небольшом количестве. Цистин и триптофан указанными методами в составе мицелия *Act. griseus 15* не выявлены.

Таким образом, в мицелии *Act. griseus 15* определено 17 аминокислот, в том числе некоторые незаменимые.

Значительное количество глутаминовой кислоты, достаточный набор других аминокислот, включая незаменимые, указывают на обусловленную их присутствием биологическую активность *Act. griseus 15* и в известной степени объясняют механизм ростового действия кормового гризина.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаревская Ф. Г., Асеева И. В. Аминокислотный состав *Act. aurigineus* — продуцента кормарина. — Прикл. биохимия и микробиол., 1971, 7, 5, с. 544.
2. Ковальчук Л. П. Биологически активные вещества *Act. griseus 15*, *Act. aureoverticillatus 1306* и *Act. aurigineus 237*. Автореф. канд. дис. Саратов, 1970.
3. Разумовский П. Н., Айзина А. Ф., Перепелица Э. Д. Получение и изучение липидных фракций актиномицетов. — Тез. докл. I конф. «Биосинтез липидов микроорганизмами». М., 1971, с. 17.

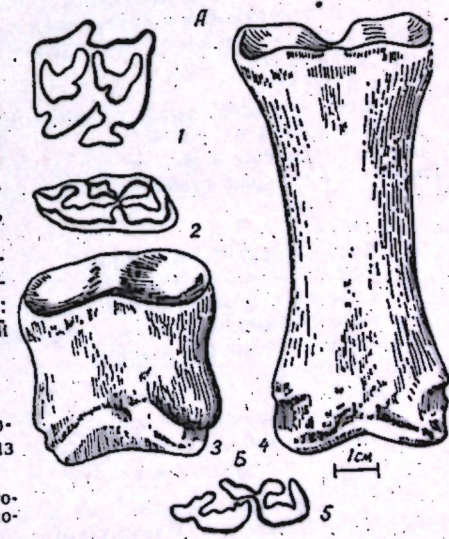
А. И. ДАВИД

### НОВЫЕ ДАННЫЕ О РАСПРОСТРАНЕНИИ ИСКОПАЕМОГО ЕВРОПЕЙСКОГО ОСЛА В ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЕ

В последней сводке о четвертичных млекопитающих Европы [5] отмечено, что находки скелетных остатков европейского осла *Equus (Asinus) hydruntinus* Regalia в Восточной Европе относятся исключительно к крайнему югу (Крым и Кавказ) и наиболее поздние из них датируются мезолитическим временем (начало голоцена). Исследования остатков млекопитающих из четвертичных отложений Молдавии позволяют уточнить эти сведения. Здесь в нескольких местах обнаружены ископаемые остатки скелета европейского осла.

Наибольшее количество скелетных остатков, среди которых верхние и нижние коренные зубы, резцы, дистальные части большой берцовой и метаподиальных костей, астралаги и фаланги, найдено в среднеашельских (тейжский комплекс) слоях на стоянке в гроте у с. Дуруитор Рышканского района. Нижние коренные зубы и резцы обнаружены в позднеашельском слое палеолитической стоянки в гроте близ с. Выхватинцы Рыбницкого района и в мустьерском (зубчатое мустье) слое в гроте «Буздужаны I» Единецкого района, а на неолитическом поселении буго-днестровской культуры у с. Селиште Оргеевского района — несколько нижних коренных зубов, одна первая фаланга, фрагменты других костей.

Найденные остатки принадлежат европейскому ослу. Об этом свидетельствует ряд признаков строения зубов и костей (см. рисунок): короткий протокол, проникновение наружной



Остатки европейского осла, найденные на территории Молдавии у с. Дуруитор (А) и близ с. Селиште (Б):

1 — верхний моляр; 2 — нижний премоляр; 3 — вторая фаланга; 4 — первая фаланга; 5 — нижний моляр

долины нижних моляров внутрь шейки двойной петли до соприкосновения со стенкой внутренней выемки, последняя узкая и заостренная; мелкие зубы, сравнительно тонкие метаподии с высоким индексом выступания гребня нижнего суставного валика и присутствие в нижней части их задней поверхности глубокой срединной впадины с гребешками по бокам, иногда разделенной срединным гребнем; стройные первые и вторые фаланги; хорошо выраженные на задней поверхности первой фаланги треугольная, суживающаяся вниз ниже середины кости, возвышенная площадка и треугольное углубление под верхней частью поверхности и т. д. [3—5].

Находки остатков европейского осла на территории Молдавии отодвигают к западу границу его распространения в Восточной Европе. Кроме того, находка у с. Селиште свидетельствует о том, что на крайнем юго-западе Восточной Европы\*, как и в ряде стран Центральной Европы [6, 7], рассматриваемый вид исчез позднее, чем считалось до сих пор.

#### Размеры и пропорции некоторых зубов и костей конечностей ископаемого европейского осла (Молдавия)

Промер (мм) и индекс (%)	n	Средний плейстоцен (ашель, мустье)		Средний голоцен (неолит)
		Z	M	
<i>P<sub>3-4</sub></i>				
длина	2	25,0; 25,2	—	—
ширина	2	24,0	—	—
длина протокона	2	8,2; 8,4	—	—
индекс протокона	2	32,8; 33,3	—	—
<i>M<sub>1-2</sub></i>				
длина	1	23,0	—	—
ширина	1	23,0	—	—
длина протокона	1	7,9	—	—
индекс протокона	1	34,3	—	—
<i>P<sub>3-1</sub></i>				
длина	1	25,0	—	—
ширина	1	16,6	—	—
<i>M<sub>1-2</sub></i>				
длина	1	27,5	—	26,0; 27,5
ширина	1	12,0	—	12,4; 13,3
Ширина нижнего эпифиза большой берцовой кости	1	63,0	—	—
Астрагал				
внутренняя длина	1	51,5	—	—
наибольшая ширина	1	50,5	—	—
ширина нижней суставной поверхности	1	43,0	—	—
отношение ширины нижней суставной поверхности к внутренней длине	1	83,5	—	—
Ширина нижнего эпифиза метаподиальных костей в буграх	6	40,2—43,0	41,3	—
То же в суставе	6	38,7—40,5	39,7	—
Поперечник нижнего эпифиза метаподиальных костей на гребне	6	27,6—31,0	27,9	—
То же в медиальном отделе	6	25,2—27,2	26,5	—
Индекс выступания гребня	6	86,0—91,3	89,1	—
Первая фаланга				
длина	1	80,2	—	79,6
ширина верхнего эпифиза	1	40,2	—	40,0
ширина нижнего эпифиза	1	34,5	—	36,1
ширина в середине кости	1	24,7	—	24,5
индекс ширины верхнего эпифиза	1	50,1	—	50,2
индекс срединной ширины	1	30,0	—	30,7
Вторая фаланга				
длина	1	39,7	—	—
ширина верхнего эпифиза	1	38,0	—	—
ширина нижнего эпифиза	1	36,3	—	—
ширина в середине кости	1	33,5	—	—

\* Остатки европейского осла в последнее время найдены также в позднеэнеолитском поселении у с. Маяки Одесской обл. на Украине [2].

В уточнении нуждается и вопрос о появлении в Восточной Европе этих животных. Громова пишет, что «...как на западе, так и на востоке *A. hidruntinus* оформился в одно и то же время примерно к концу ресс-юрма» [5]. Исследования последних лет позволяют считать, что в Восточной Европе, в частности на Кавказе [1] и в Молдавии, *Equus (Asinus) hidruntinus* появился значительно раньше — в раннем плейстоцене (миндель, миндель-ресс).

Размеры отдельных костей европейского осла в Молдавии сравнительно крупные (см. таблицу). Привлекает внимание большая ширина нижнего эпифиза метаподиальных костей (по имеющимся остаткам трудно отличить пястные кости от плюсневых). У экземпляров, найденных на территории Молдавии, наибольший показатель этого промера составляет 40,2—43,0 мм (среднее из 6 измерений 41,3 мм), у бинагадинского осла [3] 31,8—38,0 мм (среднее из 21 измерения 34,7 мм) для пястной кости и 32,0—38,0 мм (среднее из 30 измерений 33,5 мм) для плюсневой кости, а у крымского осла из Староселья (данные Н. К. Верещагина, Зоологический институт АН СССР) 36,0—39,0 мм (среднее из 21 измерения 37,5 мм) для пястной кости и 32,0—39,0 мм (среднее из 7 измерений 36,7 мм) для плюсневой кости. Массивными оказались также нижняя часть большой берцовой кости и астрагал (надпяточная кость). Их широтные промеры выходят из пределов соответствующих промеров ископаемых кавказского и крымского ослов и близки к промерам костей кулана.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев С. Д. Фауна Азыжской палеолитической стоянки. Автореф. канд. дис. Баку, 1969, с. 26.
2. Бибилова В. И. Костные остатки льва из энеолитических поселений северо-западного Причерноморья. — Вестник зоологии, 1973, № 1, с. 57.
3. Гаджиев В. Г. Бинагадинский ископаемый осел *Equus cf. hidruntinus* Reg. — Тр. Естественноисторич. музея АН АзССР, вып. VI. Баку, 1951, с. 5, № 149.
4. Громова В. И. История лошадей (рода *Equus*) в Старом Свете. — Тр. Палеонтолог. ин-та АН СССР, т. 1. М., Изд-во АН СССР, 1949, с. 197—215.
5. Громова В. И. Краткий обзор четвертичных млекопитающих Европы. М., «Наука», 1965, с. 71—76.
6. Bökönyi S. Die frühalluviale Wirbeltierfauna Ungarns (von Neolithikum bis zur La Tene-Zeit). — Acta archaeol. Acad. Scienc. Hungar., II, 1959.
7. Necracov O., Ştirbu M., Iacob M. Răspîndirea unor mamifere sălbatice la începutul holocenului (neolitic) pe teritoriul României. — An. ştiinţ. Universit. Iaşi, 1967, sec. II a, t. 13, fasc. 2, p. 311—320.

## РЕФЕРАТЫ

УДК 581.1

Интенсивность транспирации в различных ярусах кроны дуба пушистого и дуба скального в засушливых условиях произрастания. *Витко К. Р., Черных Р. В.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 5—11.

Приводятся данные по сезонной и дневной динамике интенсивности транспирации в связи с анатомическими особенностями строения листьев и динамикой открытости устьиц у двух видов дуба (субсредиземноморского *Quercus pubescens* Willd. и среднеевропейского *Q. petraea* Liebl.) при их совместном произрастании в ксероморфных комплексах фрагментов фитоценозов Молдавии. Сравниваются эти показатели у верхних и нижних листьев. Установлено, что в разреженных ксероморфных сообществах у дуба пушистого и скального различия между верхними и нижними листьями как по анатомическим параметрам, так и по интенсивности транспирации меньше, чем у древесных пород в высокополнотных древостоях, в отличие от которых в ксероморфных лесах интенсивнее транспирируют нижние листья. Число устьиц варьирует незначительно.

Табл. 1, библиогр. 15, ил. 2.

УДК 547.458:631.836.3

Влияние условий вегетации на содержание полисахаридов в виноградной ягоде. *Гранатская Т. А., Зинченко В. И.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 12—13.

В ягодах технических сортов винограда определено содержание полисахаридов и их фракций в разные годы вегетации. Методом дисперсионного анализа установлена достоверность различий в содержании этих веществ в зависимости от метеорологических условий года и в значительной степени — от сортовых особенностей винограда.

Табл. 1, библиогр. 4.

УДК 581.192

Фракционирование белков созревающих семян кукурузы и исследование их солерастворимой фракции хромато-электрофоретическими методами. *Рева В. А., Клименко В. Г.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 14—22.

В обезжиренной муке созревающих семян двух сортов кукурузы — Молдавской оранжевой и Тираспольской скороспелой 33 было определено содержание форм азота и белковых фракций, а в суммарном белковом экстракте семян было изучено хромато-электрофоретическое поведение суммарных альбуминов и суммарных глобулинов. Установлено, что семена самых ранних стадий созревания содержат сравнительно много экстрактивного небелкового азота и мало белкового азота. По мере

созревания в семенах снижается содержание небелкового и увеличивается содержание белкового азота. На ранних стадиях созревания выявлено очень малое количество зеннов и глютелинов, но много глобулинов. По мере созревания происходит нарастание содержания зеннов и глютелинов и соответствующее снижение содержания глобулинов. Высказано соображение, что биосинтез белковых фракций семян происходит не за счет превращения одних белков в другие, а носит самостоятельный характер. Белки солерастворимых комплексов семян сопровождаются значительными количествами нуклеиновых кислот и углеводов, содержание которых в хроматографических фракциях семян полной спелости по сравнению с семенами ранних стадий созревания уменьшается. По мере созревания семян происходит в них нарастание содержания белков хроматографических фракций, элюирующихся высокими концентрациями буфера. На качественный состав белков хроматографических фракций кукурузы оказывает влияние как сорт, так и стадия созревания.

Табл. 2, библиогр. 7, ил. 4.

УДК 575.2:576.851.155

Изменение стрептомицино- и фагорезистентности у трансформантов клубеньковых бактерий люцерны. *Бойко Л. А., Зарецкая А. Н.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 23—26.

Изучено влияние трансформирующей ДНК на стрептомицино- и фагорезистентность у трансформантов *Rhizobium meliloti* люцерны. Частота возникновения стрептомицинорезистентных трансформантов составляет в среднем 1:1, 9·10<sup>5</sup>. Установлено изменение фагоустойчивости у стрептомицинорезистентных мутантов и у трансформантов.

Табл. 3, библиогр. 8.

УДК 577.158.1:581.134.5:581.2.951

Влияние вертициллеза на активность окислительных ферментов устойчивого и восприимчивого сортов перцев. *Дешкова А. Д., Попшой И. С., Плачинта Т. В.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 27—32.

Излагаются результаты изучения изменений активности пероксидазы и полифенолоксидазы устойчивого и восприимчивого сортов перцев при вертициллезе. Установлены различия в ответных реакциях растений, различающихся устойчивостью к вертициллезу — степень и скорость активирования ПО в пораженных растениях устойчивого сорта выше по сравнению с восприимчивыми растениями, у которых этот процесс замедлен. В отношении ПФО была обнаружена обратная картина.

Библиогр. 12, ил. 6.

УДК 632.38 + 581.17

Внутриклеточное развитие вируса табачной мозаики (*Nicotiana virus 1*). *Бужоряну В. В., Молдован М. Я.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 32—36.

В результате проведенных исследований установлено, что вирус табачной мозаики в клетках пораженных листьев табака образует два типа включений: кристаллические и аморфные. Оба типа выявлены в основном в цитоплазме. В хлоропластах они встречаются редко, а в ядрах не обнаруживаются. Форма кристаллических агрегатов, упаковка вирусных частиц в них, а также действие вируса на отдельные органеллы клетки обуславливаются штаммовыми особенностями патогена. Х-тела состоят из электронно-плотных трубочек, рибосом, мелких вирусных агрегатов и митохондрий.

Библиогр. 12, ил. 6.

УДК 582.282:577.158

Влияние условий культивирования на 5-индолгидроксилазную активность *Aspergillus niger* 78. *Дворникова Т. П.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 37—41.

Приводятся данные о микробиологическом образовании 5-оксинидолил-3-уксусной кислоты из кристаллической индолил-3-уксусной кислоты и триптамина. Показано влияние концентрации субстрата, времени внесения его в культуру *Asp. niger* 78, влияние источников азотного питания, а также pH среды на процесс 5-гидроксилирования.

Табл. 2, библиогр. 10, ил. 4.

УДК:543—541

Фракционирование ферментного препарата Пектариин Г10х. *Ефремова Л. Л., Ильинская С. П., Костик Ф. Д.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 41—45.

Дана биохимическая характеристика ферментного препарата Пектариин Г10х гриба *Rhizopus arrhizus* Fischer. Установлено, что препарат содержит комплекс пектолитических ферментов, в состав которого входят: эндо- и экзополигалактуроназы, трансэлиминаза пектовой кислоты. Данный препарат характеризуется отсутствием пектинэстеразы. В нем обнаружена кислая протеаза. Подобраны условия для отделения пектолитических ферментов от кислой протеазы — фракционирование на ДЭАЭ-целлюлозе и изоэлектрофокусирование.

Табл. 1, библиогр. 8, ил. 3.

УДК. 577.15.152:576.8.095.3

Влияние источников углерода на биосинтез целлюлаз и ксиланаз грибом *Fusarium oxysporum*. *Щербаков М. А., Емнова Е. Е., Заяц Н. И.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 45—49.

Изучено влияние различных источников углерода на синтез целлюлаз (C<sub>1</sub>- и C<sub>x</sub>-фермента) и ксиланаз. Установлено, что их биосинтез до некоторой степени можно регулировать исходным содержанием редуцирующих сахаров в питательной среде.

Табл. 5, библиогр. 7, ил. 1.

УДК 631.811:576.85

Биосинтез ростовых веществ клубеньковыми бактериями люцерны (*Rhizobium meliloti* Frank). *Сабельникова В. И., Брунь Г. А.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 49—53.

Показано, что клубеньковые бактерии люцерны продуцируют ряд ростовых веществ индольной природы, среди которых идентифицированы индолил-3-уксусная кислота и индолацетонитрил. В культуральной жидкости обнаружено значительное количество ИУК.

Табл. 3, библиогр. 11, ил. 1.

УДК 591.53:536.76:636.084.1

Термодинамические аспекты кормления животных. *Коварский Валентин.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 54—58.

На основе положений термодинамики открытых систем рассмотрены энергетические взаимоотношения трансформации пищи в энергию отложений животного организма. Предложен метод повышения эффективности использования обменной энергии кормов на основе линейного программирования рационов максимальной удобоваримости.

Табл. 3, библиогр. 15.

УДК 632.651

Роль ферментов в системе паразит—хозяин при мелойдогнозе. *Окопный Н. С., Спаский А. А.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 59—65.

Излагаются данные о выделении галловыми нематодами ферментов при поражении органов овощных растений. Обсуждается роль ферментов нематод в патогенезе мелойдогноза. Установлена защитная роль оксидаз растений при поражении их галловыми нематодами. Выдвигается предположение, что галлы — это вынужденное образование у растений, выполняющее защитную функцию.

Табл. 4, библиогр. 15.

УДК 550.83/84

Алгоритм построения формализованных описаний палеонтологических объектов. *Карелина А. В.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 66—70.

Предлагается эвристический подход к автоматизации построения формализованных описаний палеонтологических объектов на основе идей распознавания образов. В качестве исходного представления информации об объекте используется мозаичное кодирование. Обсуждаются задачи формирования количественных признаков, диагностики объектов и получения их обобщенных характеристик. Приводится пример решения одной конкретной задачи на ЭВМ.

Библиогр. 3, ил. 2.

УДК 543.422.8

Количественное определение содержания различных минералов в смешанослойных природных образованиях. *Руссу В. И., Руссу П. И., Стратулат Г. В., Ропот В. М.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 71—76.

Использование одних только базальных рефлексов рентгенограмм соответствующих природных образований позволяет удалить ряд ложных максимумов на графиках интерференционных  $\varphi'(Z)$  функций, полученных методом преобразований Фурье. Это дает возможность количественно определять содержание минералов с большей точностью.

Табл. 1, библиогр. 8, ил. 3.

УДК 549.09.553.611.9

Минералогия гидрослюдистой глины и исследование возможности ее практического применения. *Жеру М. И., Смирнова В. А., Водинчар Л. С., Окопная Н. Т., Монахова Л. И.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 76—80.

Изучена минералогия гидрослюдистой глины и ее адсорбционная емкость по отношению к альбумину при адсорбции его из водных растворов при различных pH. Исследуемая глинистая порода по количественно-минеральному составу является хлоритово-гидрослюдистым образованием. Максимальная адсорбция альбумина наблюдается из кислых растворов (pH 3,6). Рассмотрено влияние размера пор сорбента на адсорбцию белка. Установлено, что высокая адсорбционная емкость исследуемого дисперсного минерала определяется его большим средним эффективным диаметром пор.

Табл. 3, библиогр. 10, ил. 5.

УДК 632938:633.71

Выведение гибридов табака, комплексно-устойчивых к ложной мучнистой росе и вирусу табачной мозаики. *Базелюк Ф. М.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 81—85.

Самыми вредоносными заболеваниями табака в условиях Молдавии являются ЛМР и табачная мозаика. В статье приводятся результаты работ по выведению гибридов табака, комплексно-устойчивых к данным заболеваниям. Гибриды Молдавский 17 и Молдавский 18 сочетают повышенную устойчивость к ЛМР и ВТМ, высокую урожайность и хорошее качество продукции.

Табл. 3, библиогр. 8, ил. 1.

УДК 581.192.7

Влияние препарата ТУР на водный режим и ростовые процессы яблони. *Корнеску А. С.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 86—87.

Изучалось влияние синтетического препарата ТУР на водный режим, плодообразование и ростовые процессы растений яблони. Показано, что рострегулирующим

веществом ТУР можно направленно воздействовать на водный режим, процессы роста и развития яблони. Отмечается, что действие препарата проявляется в зависимости от биологических особенностей сортов.

Табл. 1, библиогр. 6.

УДК 576.852.1

Аминокислотный состав *Actinomyces griseus 15* — продуцента гризина. Ракова Т. Н., Ковальчук Л. П., Качалова Е. Я., Ядовина В. Н. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 88—89.

В статье излагаются данные изучения аминокислотного состава мицелия *Act. griseus 15* — продуцента гризина. Выяснено, что культура способна синтезировать 17 аминокислот, в том числе незаменимые.

Табл. 1, библиогр. 3.

УДК 569.723(119:478.9)

Новые данные о распространении ископаемого европейского осла в Восточной Европе. Давид А. И. Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, 1977, № 4, с. 89—91.

Содержатся сведения о находках на территории Молдавии плейстоценовых и среднеголоценовых остатков осла. Этим самым отодвигается западная граница распространения этого вымершего вида и уточняется время его исчезновения в Восточной Европе.

Табл. 1, библиогр. 7, ил. 1.

## С 1 сентября проводится подписка на 1978 год на журнал

**ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР,**  
*Серия биологических и химических наук*

Публикуются результаты исследований по ботанике, гидробиологии, паразитологии, ихтиологии, биофизике, физиологии животных, микробиологии, микологии, вирусологии, палеонтологии, физиологии и биохимии, генетике и селекции растений, химии комплексных и природных соединений и др. Имеется рубрика «Наука — производству».

Журнал рассчитан на научных работников и специалистов, преподавателей и студентов вузов. Выходит шесть номеров в год, по 8,4 л. Подписная цена на год 2 р. 70 к. Журнал включен в центральный каталог в разделе «Молдавская ССР» под индексом 76961.