БУЛЕТИНУЛ АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ А РСС МОЛДОВЕНЕШТЬ

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ НАУК

6
1976

ИЗДАТЕЛЬСТВО „ШТИИНЦА" • КИШИНЕВ • 1976

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

6
1976

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ШТИИНЦА» • КИШИНЕВ • 1976

Центральная научная
библиотека

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Академики АН МССР *А. А. Спасский* (главный редактор), *Ю. С. Ляликов* (зам. главного редактора), *М. Ф. Ярошенко*, члены-корреспонденты АН МССР *Т. С. Гейдеман* (зам. главного редактора), *В. В. Арасимович*, доктора биологических наук *М. Д. Кушниренко*, *П. Н. Разумовский*, доктор сельскохозяйственных наук *В. Н. Лысиков*, доктор химических наук *Д. Г. Батыр*, кандидат биологических наук *А. И. Брынза* (ответственный секретарь)

© Издательство «Штиинца», 1976

СОДЕРЖАНИЕ

Ботаника

К. Р. Витко. О распространении птицемлечника двулопастного *Ornithogalum amphibolum* Zahar. *(Liliaceae)* 5

Н. А. Пинчук. Мелиоративные свойства противоэрозийных насаждений различного состава на среднесмытых почвах юга Молдавии 8

Физиология и биохимия растений

Г. А. Брунь, В. И. Сабельникова. Качественный состав и ростовая активность полифенолов в листьях сладкого перца при вертициллезе 11

Е. М. Пелях, В. И. Чобану, А. Г. Николаев, Нгуен Куанг Зунг. Состав терпеноидов межвидового гибрида мяты и его изменчивость в онтогенезе . . 16

В. В. Саянова. Выделение и идентификация основных глобулинов семян фасоли рисовой 23

Т. С. Муравицкая, Ф. С. Стаканов, В. Г. Клименко. Влияние удобрений, сроков посева и уборки на хромато-электрофоретическое поведение белковых комплексов семян фасоли 31

Микология и вирусология

А. И. Брынза, М. Н. Лазу, И. С. Попушой, Ш. М. Гринберг. Фитотоксичность грибов рода *Fusarium* на озимой пшенице в Молдавии 41

Г. Л. Шатрова, Л. Д. Буймистру. Значение микроэлементов, мочевины и хлористого калия в борьбе с вертициллезным вилтом баклажанов . . . 46

Микробиология

Л. Л. Ефремова, С. П. Ильинская, Н. Н. Тэлэмбуца, Ф. Д. Костик. Условия выделения пектолитических ферментов гриба *Rhizopus arrhizus* Fischer . 51

И. А. Терская, А. И. Гаркавенко, А. М. Духовная. Образование витаминов группы В актиномицетом № 2426 и *Actinomyces subflavus* 434 54

Т. В. Филиппова. Полисахариды актиномицетов желтой группы 56

Л. А. Бойко. Выделение бактериофагов клубеньковых бактерий из почвы и их характеристика 60

Зоология

М. В. Мельник. Изменение содержания углеводов в тканях чеснока и лука под воздействием стеблевой нематоды 66

Химия

А. Н. Пушняк, В. Л. Гуцану, П. К. Мигаль. Об изменении pH в системах анионит — раствор электролита 69

Наука — производству

М. Д. Кушниренко, Г. П. Курчатова, М. Н. Жулавская, А. С. Корнеску, Я. М. Чакир, В. Г. Быков, Я. Л. Барзах. Влияние синхронного импульсного дождевания на водный режим яблони 73

Л. М. Маньковская, Р. В. Брынза, В. С. Маньковский, И. Х. Киртока. Влияние различных штаммов дрожжей на содержание азотистых веществ вина . 79

Г. Г. Кутявин, А. А. Спасский. Влияние интенсификации животноводства на эпизоотологию эхинококкоза в Молдавской ССР 84

Краткие сообщения

Ж. Г. Простакова, Л. А. Маржина, Э. Ф. Хрипунова. Номенклатурные заметки об *Amerosporium atrum* (Fuck.) Höhn. 87
Л. Х. Шпилер. Оценка поражаемости сои бактериозом 89
М. П. Филиппов, Г. А. Школенко. Влияние состояния карбоксильных групп пектиновых веществ на полосы колебания пиранозных колец 90
Рефераты 92

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

Серия биологических и химических наук,
№ 6, 1976 г.

Редактор *И. И. Карякина*
Художественный редактор *Г. Н. Остапенко*
Технический редактор *Е. И. Попушой*
Корректоры *А. Л. Меламед, А. К. Дерманская*

Сдано в набор 5.X 1976 г. Подписано к печати 10.XII 1976 г. АБ06790. Формат 70×108¹/₁₆. Бумага офсетная № 1. Усл. печ. л. 8,4+0,175 вкл. Уч.-изд. л. 8,59+0,14 вкл. Тираж 585. Цена 45 коп. Заказ. 535.

Издательство «Штиинца», 277028, Кишинев, Академическая, 3

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

БОТАНИКА

УДК 582.58—581.9

К. Р. ВИТКО

О РАСПРОСТРАНЕНИИ ПТИЦЕМЛЕЧНИКА ДВУЛОПАСТНОГО *ORNITHOGALUM AMPHIBOLUM* ZAHAR. *(LILIACEAE)*

На основании гербарных сборов, проведенных на юге Днестровско-Прутского междуречья в 1925—1943 гг., Zahariadi [6] описал новый вид птицемлечника — *Ornithogalum amphibolum* Zahar. В качестве классического местонахождения указывается Чумай-Кагул. Кроме того, названы и другие точки, как, например, Этулия, Кислица-Прут, Болград, где этот вид встречается на сухих степных склонах. Позднее подробное описание *O. amphibolum* дано им в работе «Flora Republicii Socialiste România» (т. 11, 1966, с. 332). с указанием местонахождений на территории Румынии. Основной ареал вида находится на территории Добруджи, наиболее южной точкой является Меджидия, крайней западной — Фетешты, северной — район Галаца. Произрастает *O. amphibolum* на степных аридных склонах с лёссовидными и каменистыми почвами, а близ Истрии встречен на прибрежных песках. Указано общее распространение: Румыния и Молдавская ССР.

Однако подтвердить местонахождение *O. amphibolum* в Молдавии до сих пор не удавалось и образцов, собранных на территории СССР, в наших гербариях не было. Несмотря на тщательное обследование степных склонов близ совхоза «Чумай» в середине мая 1971 и 1976 гг., нам не удалось найти его в классическом местонахождении.

В середине мая 1976 г. *O. amphibolum* обнаружен нами в составе степных фитоценозов в Вулканештском районе на склонах коренного берега р. Прута, в окрестностях сс. Джурджулешты, Кислица-Прут, Слободзея-Маре. Согласно геоботаническому районированию Молдавской ССР [1], этот район отнесен к округу Буджакских ковыльно-разнотравных степей Понтической провинции Евразиатской степной области [4, 5].

Приводим краткое описание фитоценозов (по состоянию на 12—14 мая 1976 г.), в которых встречен *O. amphibolum*.

Средняя часть юго-восточного склона близ с. Джурджулешты. Степной участок среди посадок акации. Почва суглинистая, смытая, слабо гумусированная. Сообщество крестовниково-бородачевое. Общее проективное покрытие травостоя около 100%. Значительное задернение создает *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng. (обилие по Друде — cop_2, покрытие 30—40%). Пространство между дерновинами бородача, который только начал вегетировать, занимают в основном однолетники, создающие в это время аспект. Наиболее обильны *Senecio vernalis* Waldst. et Kit., *Valerianella coronata* (L.) DC., местами *Alyssum desertorum Stapf.* Рассеянно произрастают степные многолетники *Euphorbia stepposa* Zoz, *Achillea pannonica* Scheele, *A. coarctata* Poir. и др. *O. amphibolum* встречается единично (1—2 растения на 1 $м^2$). Это ге-

нативные экземпляры в разгаре цветения, высотой 12—14 см, с очень узкими листьями (до 2 *мм*).

В нижней части склона, под пологом акации и старых деревьев грецкого ореха, среди эфемерной растительности из *Veronica persica* Poir., *V. verna* L., *Lamium amplexicaule* L., также произрастают единичные растения *O. amphibolum*. Это более крупные, чем в степном фитоценозе, экземпляры, только начинающие зацветать.

Наиболее широко *O. amphibolum* распространен на степных склонах близ с. Кислица-Прут, где нам удалось его встретить в нескольких сообществах.

Чебрецово-бородачевый фитоценоз в верхней части западного склона, почва глинистая, смытая, без выраженного гумусового горизонта, проективное покрытие травостоя — 80%. Наиболее обильны *Bothriochloa ischaemum* (покрытие 25%) и *Thymus marschallianus* Willd., рассеянно встречаются *Festuca valesiaca* Schleich ex Gaudin, *Koeleria cristata* (L.) Pers., *Poa bulbosa* L. var. *vivipara* Koel., *Teucrium polium* L., *Medicago romanica* Prod., *Achillea pannonica, Euphorbia seguierana* Neck., *Linum tenuifolium* L., местами — *Astragalus albidus* Waldst. et Kit., *Asperula cynanchica* L., *Euphorbia stepposa, Plantago stepposa* Kuprian., *Veronica prostrata* L., *Potentilla astracanica* Jacq. Роль однолетников здесь второстепенная — рассеянно и единично произрастают *Senecio vernalis, Holosteum umbellatum* L., *Veronica verna*, из эфемероидов *Gagea taurica* Stev., *Hyacinthella* (C. Koch) Schur. *O. amphibolum* распространен в виде одиночных, генеративных экземпляров, высотой 12—15 *см*, с 6—14-ю цветками. Популяция в разгаре цветения. Луковицы средних размеров — 2,0—2,5 *см* высоты и 1,2—1,6 *см* ширины.

Рядом, в понижении с более мезофильной растительностью, под притенением небольших деревьев акации *O. amphibolum* отсутствует, но здесь произрастают два других вида птицемлечника — *O. boucheanum* (Kunth) Aschers. и *O. gussonei* Ten.

Ковыльно-чебрецовое сообщество. Аспект создают темно-сиреневые «латки» *Thymus marschallianus* (обилие — cop_2) и желтые — полукустарничкового *Astragalus albidus* (cop_1). Общее проективное покрытие — 80%. Кроме названных видов довольно обилен *Stipa capillata* L., рассеянно встречаются *Festuca valesiaca, Agropyron pectinatum* (Bieb.) Beauv., *Bothriochloa ischaemum, Euphorbia seguierana, E. stepposa, Linaria genistifolia* (L.) Mill., *Potentilla astracanica, Teucrium polium, Thymus latifolius* (Bess). *Andrz., Holosteum umbellatum*. В этом сообществе остепненных томилляров *O. amphibolum* распространен также единично, размеры его экземпляров сходны с таковыми в предыдущем фитоценозе.

Однако нам удалось встретить небольшой участок (20×6 *м*) с довольно разреженным травостоем (проективное покрытие — 20—30%), где *O. amphibolum* обилен (до 20 растений на 1 $м^2$) и создает аспект. Здесь рассеянно произрастают *Agropyron pectinatum, Festuca valesiaca, Koeleria cristata, Poa bulbosa* var. *vivipara, Achillea pannonica, Asperula cynanchica, Euphorbia seguierana, E. stepposa, Chamaecytisus lindemannii* (V. Krecz.) Klásková, *Goniolimon besseranum* (Schult.) Kuzn., *Kochia prostrata* (L.) Schrad., *Thymus marschallianus, Potentilla astracanica, Gagea taurica, Holosteum umbellatum, Veronica verna*.

Высота растений *O. amphibolum* 12—15 *см*, в соцветии — 7—8 цветков, некоторые отцвели.

Рядом в небольшой ложбинке с *Poa compressa* (обилие cop_3) *O. amphibolum* также довольно обилен и образует популяцию более мощных растений, высотой до 24 *см* и более широкими листьями (до 3 *мм*), в соцветиях — до 18 цветков, многие экземпляры только зацветают; луковицы крупные, до 3,0 *см* высоты и 2,5 *см* ширины, иногда с дочерними луковицами. Здесь же по склону обильно распространен *Ornithogalum gussonei* (до 40—50 экземпляров на 1 $м^2$).

Таким образом, степные склоны близ с. Кислица-Прут являются своеобразным рефугиумом в настоящее время редких видов птицемлечника. Интересна и растительность этого участка благодаря сочетанию фитоценозов бородачевых и ковыльных степей, а также остепненных томилляров. Кроме птицемлечников здесь произрастают и другие редкие виды флоры Молдавии: *Achillea coarctata, Chamaecytisus lindemannii, Ephedra distachya* L., *Goniolimon besseranum, Hyacinthella leucophaea, Gagea taurica* [2[. Этот участок следует заповедать несмотря на некоторую его нарушенность.

На степных склонах близ с. Слободзея-Маре преобладают бородачевые сообщества с довольно бедным видовым составом, где бородач местами создает почти сплошное задернение. Здесь на 1 $м^2$ встречается до 10 растений *O. amphibolum* с довольно мелкими луковицами (в среднем 2 *см* высоты), находящимися глубоко (на 12—14 *см*) от поверхности дернины бородача.

Местами на описываемых степных склонах общее проективное покрытие более низкое — 30—40%, бородач почти отсутствует, основную фитоценотическую роль играют полукустарнички *Astragalus albidus, Thymus marschallianus*. Растения *O. amphibolum* в этом сообществе заметно опережают в развитии экземпляры, находящиеся на том же склоне, но среди дерновин бородача. Видимо, последние отстают в развитии, так как весной долго пробиваются через плотную дернину бородача, к тому же почва под ветошью медленнее прогревается.

Таким образом, *O. amphibolum* встречается в степных фитоценозах и с разреженным травостоем, и при очень интенсивном задернении. Площадь сообществ с участием этого вида сравнительно небольшая, и лишь местами он обилен. Надо полагать, что в описанном регионе *O. amphibolum* находится на северном пределе ареала. Однако необходимы дальнейшие исследования по уточнению конфигурации ареала и подтверждение его местонахождений на юге Украины.

O. amphibolum включен в список редких видов МССР [2] и в «Красную книгу. Дикорастущие виды флоры СССР, нуждающиеся в охране» [3].

Приношу глубокую благодарность сотруднику Ботанического института АН СССР им. В. Л. Комарова Н. Д. Агаповой за проверку определения *O. amphibolum* и ценные советы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гейдеман Т. С.* Известия АН МССР, № 3, 33—51, 1964.
2. *Гейдеман Т. С., Николаева Л. П.* Сб.: Охрана природы Молдавии, вып. 13. Кишинев, «Штиинца», 1975, с. 75—81.
3. Красная книга. Дикорастущие виды флоры СССР, нуждающиеся в охране. Под ред. А. Л. Тахтаджана. Л., «Наука», 1975, с. 82.
4. *Лавренко Е. М.* Геоботаническое районирование СССР. М., Изд. АН СССР, 1947.
5. *Лавренко Е. М.* Бот. журн., № 5, 609—625, 1970.
6. *Zahariadi C.* Rev. Roum. Biol., Bot., 7, 1, 19, 1962.

УДК 634.0.265

Н. А. ПИНЧУК

МЕЛИОРАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПРОТИВОЭРОЗИОННЫХ НАСАЖДЕНИЙ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА НА СРЕДНЕСМЫТЫХ ПОЧВАХ ЮГА МОЛДАВИИ

Основная цель создания противоэрозионных насаждений на склоновых землях — повышение интенсивности и объема водопоглощения почвы. Известно, что в почве под лесом происходят качественные изменения, а степень влияния лесных насаждений на почву зависит от их состава и продуктивности. Исследованиями Соловьева [8, 9], Мустафаева [6, 7] и другими установлено, что под лесными насаждениями улучшается структура обыкновенных черноземов, увеличивается количество водопрочных агрегатов, повышается водопроницаемость и понижается уровень максимального скопления карбонатов, возрастает мощность гумусовых горизонтов. Наиболее благоприятное влияние оказывают дубовые насаждения.

Накопление гумуса в почве под лесными полосными насаждениями в Молдавии отмечали Заславский [4] и Зайцев [2, 3]. Однако влияние насаждений различного состава на физико-химические свойства эродированных почв в условиях юга Молдавии еще не исследовано.

Настоящую работу выполняли в противоэрозионных насаждениях, созданных на среднесмытых черноземах. Почвенные разрезы закладывали на пробных площадях, где предварительно изучали таксационные показатели древостоев. Контрольные разрезы заложены в нагорной части на расстоянии 20 *м* от лесной полосы, а для дуба скального — на прогалине в этих же насаждениях. Образцы почв для анализов брали по 10-сантиметровым слоям. Изучали: общий гумус, карбонаты, pH-водное, подвижные — азот, фосфор, калий; удельный вес, объемный вес и скважность почв. Возраст насаждений 16—23 года.

Полученные результаты показали, что под всеми насаждениями происходит увеличение содержания гумуса в почвенном профиле, за исключением насаждений дуба скального, где наблюдается незначительное (на 0,2—0,3%) его снижение относительно контрольного разреза. Из табл. 1 видно, что у дуба скального в 30-сантиметровом

Таблица 1

Содержание абсолютно сухих корней у древесных пород в верхнем 30-сантиметровом горизонте почвы на пробных площадях (*г* на 1 *м*²)

№ пробных площадей	Порода	Возраст, лет	Содержание корней	
			тоньше 1 *мм*	толще 1 *мм*
9	Дуб скальный	16	173,5	430,5
5	Ясень зеленый	19	370,2	1381,0
13	Акация белая	21	25,9	863,0
13	Ясень обыкновенный	21	74,8	1540,3
16	Вяз мелколистный	23	137,6	650,8
16	Берест	23	128,8	538,2

верхнем горизонте наименьшее содержание корней, и хотя активных (тоньше 1 *мм*) корней больше, чем у акации с ясенем (пробная площадь № 13), но корней толще 1 *мм* почти в пять раз меньше.

В лесной полосе из ясеня зеленого с подлеском из свидины содержание гумуса возросло от 0,75% в горизонте 0—10 *см* до 1,2% в горизонте 40—50 *см*. В акациевой лесополосе с ясенем обыкновенным и густым подлеском из аморфы наибольшая прибавка гумуса произошла в слое 0—10 *см* (1,07%) и 30—50 *см* (1,03%), то есть в зонах максимального размещения активных корней ясеня, аморфы и акации белой.

Корневые системы вяза и береста сосредоточены в наибольшем объеме в горизонте 0—20 *см*, где прибавка гумуса в почве составила 0,76—0,23%. Отличительной особенностью почв под лесными насаждениями является растянутость почвенного профиля с содержанием гумуса более 1% и постепенное его снижение по профилю. На контрольных же разрезах ясно выражен резкий переход между почвенными горизонтами.

Под насаждениями происходит снижение содержания общих карбонатов по всему изучаемому почвенному профилю. Однако исключение составляет лесная полоса из акации белой с ясенем обыкновенным и аморфой, где в горизонте 0—10 *см* накопление карбонатов составило 1,8% к контролю. Исследования, проведенные в Мариупольской лесной опытной станции, показали, что под ясенем имеет место накопление карбонатов. В данном случае, видимо, оказалось преобладание ясеня обыкновенного в составе насаждений. Но в горизонтах 10—15 *см* отмечено снижение содержания карбонатов на 2,2—4,8%. Лучшее мелиоративное влияние на снижение содержания карбонатов в почве оказывают насаждения дуба скального и ясеня зеленого.

Реакция почвенного раствора под лесной полосой из вяза мелколистного в горизонте 0—10 *см* становится более щелочная, а в горизонте 10—30 *см* щелочность уменьшается относительно контроля. Снижение щелочности наблюдается и под лесной полосой из ясеня зеленого с кустарниками. В акациевой лесной полосе в горизонте 0—10 *см* выражено слабое подкисление почвенного раствора, а в горизонте 10—50 *см* реакция нейтральная. Наиболее благоприятное влияние на реакцию почвенного раствора оказывают насаждения из дуба скального, где в верхних горизонтах она кислая, а с глубиной переходит в нейтральную и слабощелочную. Келеберда [5] установил, что устойчивые древесные породы в степи (дуб и клен остролистный) создают в своей ризосфере повышенную кислотность, что выщелачивает почву и повышает мобильность питательных элементов.

Накопление подвижных форм питательных веществ в почвах также находится в прямой зависимости от состава насаждений (табл. 2). Содержание подвижного азота увеличивается под вязовой лесной полосой, фосфора — под насаждениями дуба скального, а под лесной полосой из акации и ясеня зеленого содержание подвижного фосфора снижается.

Подвижный калий накапливается в верхнем 10-сантиметровом горизонте в небольшом количестве. По данным Адерихина [1], под лесными насаждениями происходит активизация жизнедеятельности почвенной микрофлоры, которая вызывает мобилизацию питательных веществ.

Объемный вес почв под лесной полосой из вяза мелколистного в верхнем 10-сантиметровом горизонте увеличивается, а в горизонте 10—30 *см* несколько уменьшается. Под лесной полосой из акации бе-

Таблица 2

Влияние состава насаждений на содержание подвижных форм азота, фосфора и калия (*мг* на 100 *г* абсолютно сухой почвы)

№ пробной площади и состав насаждений	Подвижные элементы	Содержание подвижных элементов по горизонтам									
		в насаждениях					на контроле				
		0–10	10–20	20–30	30–40	40–50	0–10	10–20	20–30	30–40	40–50
5. 10Яс (з) пдл. свид. Лесополоса	Азот	17,64	16,24	14,28	13,44	12,6	15,68	15,12	14,28	10,92	5,88
	Фосфор	3,44	3,19	3,24	3,41	2,65	15,81	4,45	3,86	2,94	2,94
	Калий	19,97	16,64	16,07	16,07	14,83	16,4	16,48	17,3	16,07	14,01
9. Балочные насаждения	Азот	14,28	11,76	11,48	8,96	—	12,6	11,76	10,64	9,8	—
	Фосфор	17,3	17,61	27,4	17,41	—	3,31	2,51	2,99	1,61	—
10 Дуба (ск)	Калий	32,55	24,31	21,42	16,73	—	29,4	30,24	26,04	21,63	—
13. Лесоп. 3, 6Ак (б) 4, 7Яс (об) 1, 7Кл (яс)	Азот	6,6	5,04	4,76	6,6	4,48	7,0	3,36	2,80	2,52	4,76
	Фосфор	3,69	2,22	1,92	2,39	1,98	8,17	4,56	1,73	1,88	2,54
	Калий	31,6	17,2	12,4	13,2	13,6	16,4	16,0	14,0	13,2	12,8
16. Лесополоса 3, 3Вз (м. л.) 1, 8Бер. 4, 9Кл (яс)	Азот	8,4	7,0	6,66	—	—	4,48	2,80	4,48	—	—
	Фосфор	4,2	4,21	3,02	—	—	2,46	2,15	1,88	—	—
	Калий	26,0	16,4	16,0	—	—	16,8	12,8	12,4	—	—

лой снижение объемного веса почвы происходит в верхнем 20-сантиметровом горизонте. Наилучшие показатели объемного веса имеют почвы под дубом и ясенем зеленым. Возрастает и скважность почв, и наиболее значительно под противоэрозионными насаждениями дуба скального.

Полученные данные свидетельствуют о значительном мелиорирующем влиянии насаждений из дуба скального, под которыми улучшаются физические свойства почв, являющиеся ведущим фактором в усилении мелиоративной роли противоэрозионных насаждений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Адерихин П. Г.* Изменение почв под влиянием лесных полос в Каменной степи. Преобразование природы Каменной степи. Россельхозиздат, 1970.
2. *Зайцев В. Т.* Земледелие и животноводство Молдавии, № 8, 1958.
3. *Зайцев В. Т.* Лесное хозяйство, № 12, 1959.
4. *Заславский М. Н.* Известия Молдавского филиала АН СССР. Кишинев, № 1 (4), 1951.
5. *Келеберда Т. Н.* Лесоводство и агролесомелиорация, вып. 15, 1968.
6. *Мустафаев Х. М.* Лесное хозяйство, № 11, 1955.
7. *Мустафаев Х. М.* Сб.: Эрозия почв и борьба с нею. М., 1957.
8. *Соловьев П. Е.* Вестник Московского университета, серия 6, Биология, почвоведение, № 1, 1960.
9. *Соловьев П. Е.* Научные доклады высшей школы. Биологические науки, № 2, 1961.
10. *Чони Л. И.* Тезисы докладов к научной конференции по лесному почвоведению. Красноярск, 1965.

Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г.

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 547.56:632.24

Г. А. БРУНЬ, В. И. САБЕЛЬНИКОВА

КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ И РОСТОВАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОВ В ЛИСТЬЯХ СЛАДКОГО ПЕРЦА ПРИ ВЕРТИЦИЛЛЕЗЕ

Изыскание эффективных мер борьбы с болезнями сельскохозяйственных культур может быть надежным только при расшифровке механизма действия фитопатогена, с одной стороны, и выяснении биохимических особенностей больного растения — с другой.

Из литературы известно, что поражение растений фитопатогенными грибами и бактериями сопровождается изменением в них общего метаболизма, и в том числе метаболизма эндогенных регуляторов роста, среди которых важное физиологическое значение имеют фенольные соединения, выполняющие в растении регуляторные и защитные функции [1, 3, 6]. Механизм их действия еще не выяснен, однако в ряде работ показано, что ростовой эффект фенолов связан с их влиянием на соединения, стимулирующие рост растений — ауксины, гиббереллины, цитокинины. Фенолы, являясь антагонистами или синергистами этих фитогормонов, изменяют их уровень в растениях [9, 11]. Кроме того, действие фенолов на интенсивность роста может осуществляться через их влияние на активность ферментов, на процессы, связанные с дыханием, образованием макроэргического фосфора и др. [12, 13].

Цель наших исследований — изучить качественный состав и ростовую активность фенольных соединений сладкого перца при поражении его грибом *Verticillium dahliae* Kleb.

Материал и методы

Исследовали листья здоровых и больных растений сладкого перца устойчивого сорта — Подарок Молдовы и восприимчивого — Молдова 118. Инфекционный фон создавали по методике, описанной нами ранее [7]. Пробы для анализов отбирали в момент отчетливого проявления внешних признаков заболевания. Извлечение фенолов и освобождение от пигментов проводили по методу Ксендзовой [4]. Их хроматографическое разделение проводили на Ленинградской средней бумаге в различных системах растворителей; наиболее подходящей оказалась н-бутанол-уксусная кислота-вода (40:12:28). Идентифицировали вещества на основании свечения их в УФ-свете, цветных реакций с рядом реагентов, гидролиза некоторых соединений и дополнительного хроматографирования их с соответствующими метчиками. Ряд соединений рехроматографировали и определяли их количественное содержание на СФ-4 [8].

Ростовую активность фенольных соединений определяли по Бояркину [2], используя в качестве биотеста пшеницу сорта Одесская 51.

Результаты, полученные на биотестах, обрабатывали статистически. Достоверными считали данные, превышающие 10% стимуляции или ингибирования по сравнению с контролем.

Результаты и обсуждение

Результаты хроматографического разделения этанольных экстрактов из листьев двух сортов сладкого перца с различной восприимчивостью к вертициллезному увяданию представлены на рис. 1. На хроматограммах обнаружен ряд веществ, видимых при дневном и УФ-свете. Полифенолы в листьях в основном представлены флавоноидными агликонами и их гликозидами, а также феноликислотами.

Установлено, что качественный состав фенолов в листьях здоровых и больных растений сорта Молдова 118 одинаков, однако величина некоторых пятен из экстрактов больных листьев больше, а интенсивность свечения ярче. На хроматограммах обнаружено 8 пятен, из которых 3 флавоноидной природы.

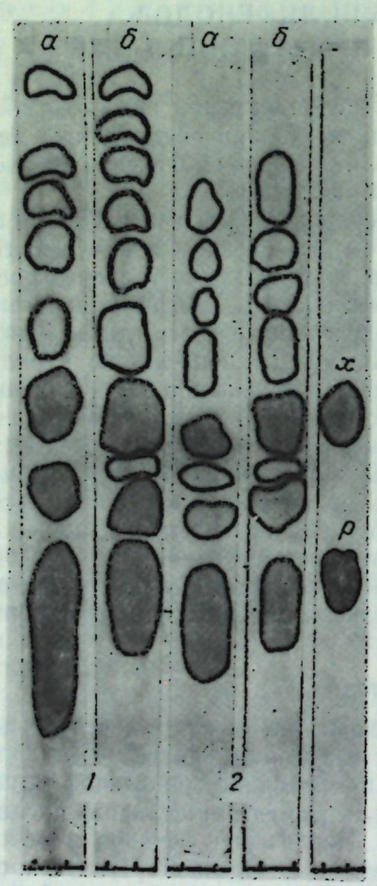


Рис. 1. Хроматограммы этанольных экстрактов из листьев сладкого перца сортов, различающихся по восприимчивости к вертициллезу:

1 — Подарок Молдовы; *2* — Молдова 118; *а* — здоровое растение; *б* — больное растение; *р* — рутин; *х* — хлорогеновая кислота

Листья больных растений сорта Подарок Молдовы отличались от здоровых по качественному составу. В экстрактах из здоровых листьев обнаружено 8 пятен, из больных—10. Два новых пятна имели Rf 0,63—0,65 и 0,88—0,90; размер их небольшой, но в УФ они светились ярко. В листьях этого сорта 4 пятна флавоноидной природы.

Первичная идентификация выявленных соединений показала, что они, в основном, имели фенольную природу. Однако в ряде случаев они стимулировали рост колеоптилей пшеницы, а некоторые из них не дали положительной реакции ни на фенолы, ни на индолы.

Качественные показатели веществ, выявленных на хроматограммах, представлены в табл. 1.

Ряд веществ нам удалось идентифицировать. Пятно с Rf 0,45—0,54 определено как рутин. Светилось оно в УФ темно-коричневым цветом, в парах аммиака — зеленым, от хлорного железа приобретало зеленоватую окраску, от реактива Паули — буро-оранжевую. Расхроматографирование этого вещества и сопоставление с метчиком в разных системах растворителей подтвердило его идентичность с рутином (табл. 2). Аналогичные Rf в этих же системах растворителей получил Gage с сотрудниками [9]. Гидролиз исследуемого вещества 20%-ной соляной кислотой дал положительную реакцию на сахара, что подтверждает гликозидную природу этого соединения.

Пятно с Rf 0,49—0,55 по свечению в УФ-свете, по окраске с реагентами, по Rf в разных системах растворителей дает нам основание предполагать, что это соединение — кверцетин.

Таблица 1

Некоторые физико-химические показатели соединений, хроматографически выделенных из листьев сладкого перца

Rf	Свечение в УФ		Окраска			
	в воздухе	в парах аммиака	$FeCl_3$	реактив Паули	реактив Сальковского
Сорт Молдова 118					
0,46—0,49	Коричневатое	Зелено-желтое	Зеленая	Оранжево-бурая	Светло-серая
0,49—0,58	Желтое	Ярко-желтое	Серо-зеленая	Оранжево-красноватая	—
0,58—0,65	Буро-желтое	Желтое	—	Оранжево-красноватая	—
0,65—0,71	Голубое	Голубовато-зеленое	—	Буро-красная	—
0,71—0,80	Голубое	Ярко-голубое	Зеленая	Фиолетово-красная	Зеленая
0,80—0,87	Бурое	Серо-зеленое	Серо-фиолетовая	Красная	—
0,87—0,90	Светло-синее	Голубое	—	Красная	—
0,90—0,95	Фиолетовое	Ярко-фиолетовое	Розовая	Желтая	—
Сорт Подарок Молдовы					
0,45—0,49	Коричневое	Зеленое	Зеленая	Оранжевая	Зеленая
0,49—0,55	Желтое	Желтое	Серо-зеленая	Оранжево-красная	—
0,55—0,63	Буро-желтое	Оливково-желтое	—	Оранжевая	—
0,63—0,65*	Бурое	Желтое	Зеленая	Оранжево-красная	—
0,65—0,74	Голубое	Голубовато-зеленое	—	Буро-красная	—
0,74—0,78	Ярко-голубое	Ярко-голубое	Зеленая	Красная	—
0,78—0,84	Бурое	Серо-зеленое	Серо-фиолетовая	Фиолетово-красная	Зеленая
0,84—0,88	Светло-синее	Голубое	—	Розовая	—
0,88—0,90*	Синее	Синее	Серая	Оранжевая	—
0,90—0,95	Фиолетовое	Ярко-фиолетовое	Розовая	Желтая	—

* Пятна, выявленные только в больной ткани.

Таблица 2

Значение Rf синтетического рутина и исследуемого вещества в разных системах растворителей

Сопоставляемые вещества	н-Бутанол: уксусная кислота: вода (4:1:5)	Этилацетат, насыщенный водой	Уксусная кислота: вода (15:85)	Уксусная кислота: вода (6:4)
Рутин (метчик)	0,66	0,15	0,62	0,75
Исследуемое вещество	0,65	0,13	0,60	0,75

Пятна, соответствующие рутину, полученные на хроматограммах из здоровых листьев, светились гораздо ярче, чем из больных, в то время как пятна, соответствующие кверцетину были ярче в больных листьях. Вероятно, в больных листьях под влиянием β-глюкозидазы, продуцируемой грибом *Verticillium dahliae,* происходит гидролиз гликозида с образованием соответствующего ему флавоноидного агликона.

Пятно с Rf 0,67—0,71 идентифицировано нами как хлорогеновая кислота; в УФ оно светилось ярко сине-голубым цветом, в парах аммиака — зелено-голубым, от хлорного железа приобретало серо-зеленую окраску, от реактива Паули — оранжево-красную. Хроматографирование этого вещества в разных системах растворителей (табл. 3) подтвердило его идентичность хлорогеновой кислоте. Анало-

Таблица 3

Значение Rf синтетической хлорогеновой кислоты и исследуемого вещества в разных системах растворителей

Сопоставляемые вещества	2%-ная уксусная кислота	15%-ная уксусная кислота	н-Бутанол: уксусная кислота: вода (4:1:5)	Изопропанол: гексан: вода (10:1:1)
Хлорогеновая кислота (метчик)	0,50	0,61	0,60	0,60
Исследуемое вещество	0,50	0,60	0,60	0,65

гичные показатели для этого соединения были получены Пустовойтовой [5] при изучении ростовых веществ абрикоса. В результате щелочного гидролиза вещества из зоны, соответствующей хлорогеновой кислоте, были получены хинная и кофейная кислоты, Rf которых совпадал с Rf соответствующих метчиков. Это также свидетельствует о том, что исследуемое соединение — хлорогеновая кислота, которая, как известно, является сложным эфиром хинной и кофейной кислот.

Пятно, соответствующее хлорогеновой кислоте, на хроматограммах из экстрактов больных листьев светилось в УФ значительно ярче и по размерам было больше, чем из здоровых. Остальные пятна нам пока идентифицировать не удалось.

Результаты испытания биологической активности выявленных веществ представлены в виде гистограмм (рис. 2). Сопоставление гистограмм показало, что в здоровых листьях устойчивого сорта Подарок Молдовы накапливается больше соединений ростстимулирующего действия, чем в листьях восприимчивого — Молдова 118. Пятна, соответствующие рутину и хлорогеновой кислоте, а также пятно с Rf 0,90—0,95 обладали ростстимулирующим действием, причем пятно с Rf 0,90—0,95 усиливало прирост колеоптилей пшеницы до 70%. У обоих

сортов в зоне Rf 0,84—0,90 обнаружен сильный ингибитор роста, подавляющий прирост колеоптилей пшеницы до 60%. Фенольные соединения, выявленные из экстрактов больных листьев, в основном ингибировали рост колеоптилей пшеницы. Их ростстимулирующая активность была выше у устойчивого роста. Пятна, соответствующие рутину и хлорогеновой кислоте из больных листьев, почти не обладали физиологической активностью, а пятно с Rf 0,90—0,95 оказывало стимулирующее действие гораздо слабее, чем в здоровых листьях. Два соединения, выявленные только в больных листьях сорта Подарок Молдовы, сильно ингибировали рост колеоптилей пшеницы.

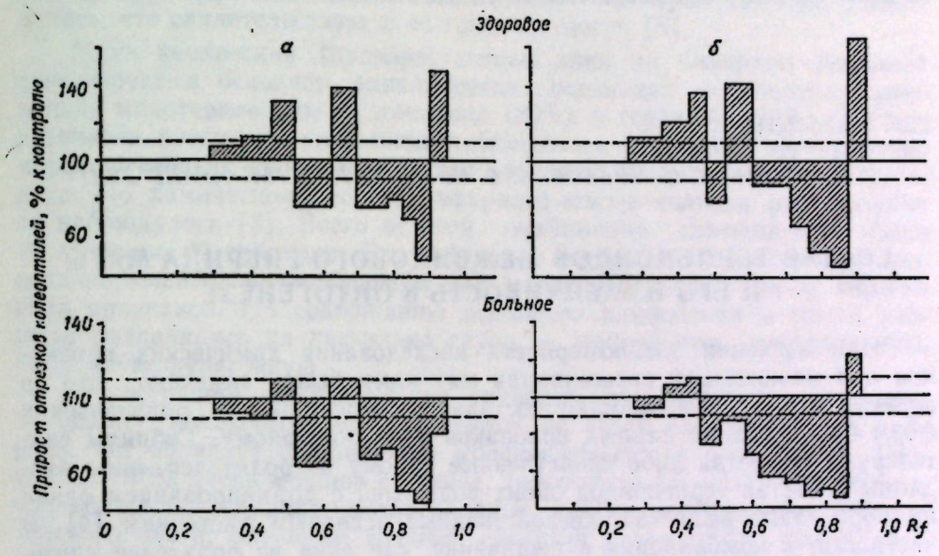


Рис. 2. Гистограммы фенольных соединений, выделенных из листьев сладкого перца: *а* — Подарок Молдовы; *б* — Молдова 118

На основании полученных данных следует отметить, что в экстрактах из листьев больных и здоровых растений сладкого перца обнаружены в основном одни и те же фенольные соединения, однако их физиологическая активность была разной и зависела от концентрации. Так, исследованиями установлено, что в здоровых листьях перца сорта Молдова 118 хлорогеновой кислоты содержалось 45 *мкг/г* сырого веса, тогда как в больных листьях ее обнаружено в два раза больше; в здоровых листьях сорта Подарок Молдовы — 50 *мкг/г,* а в больных — в 1,5 раза больше. Количество рутина в листьях больных растений снизилось в 1,5—2,0 раза по сравнению со здоровыми.

Проведенные исследования показывают, что при вертициллезном увядании сладкого перца значительно изменяется обмен фенольных соединений, при этом существенное влияние оказывает устойчивость сорта к фитопатогену.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бардинская М. С., Прусакова Л. Д., Шуберт Т. А.* Докл. АН СССР, т. 142, 222, 1962.
2. *Боярки н А. И.* Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., «Наука», 1966.

3. *Кефели В. И.* Природные регуляторы и рост растений. М., «Наука», 1971.
4. *Ксендзова Э. Н.* Бюллетень ВНИИЗР, № 20, 55, 1971.
5. *Пустовойтова Т. Н.* Засухоустойчивость и природные регуляторы роста плодовых растений, предпосевно закаленных к засухе. Автореф. канд. дис. М., 1972.
6. *Рубин Б. А., Озерецковская О. Л.* Биохимия и физиология иммунитета растений. М., «Высшая школа», 1968.
7. *Сабельникова В. И., Брунь Г. А.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 3, 33, 1975.
8. *Furua M., Galston A.* Physiol. plant., 194, 750, 1961.
9. *Gage T. G., Douglas C. D., Wender S. H.* Analit. Chem., 23, 1582, 1951.
10. *Johnson G., Schaal L. A.* Science, 115, 627, 1952.
11. *Kohler M., Lang G.* Plant. Physiol., 38, 565, 1963.
12. *Nagao M., Ohevaki I.* Sci. Repts. Tohoku Univ., 21, 96, 1955.
13. *Nitsch I. P.* Bull. Soc. Bot., Franse, № 11, 109, 113, 1962.

УДК 575.2:575.111

Е. М. ПЕЛЯХ, В. И. ЧОБАНУ, А. Г. НИКОЛАЕВ, НГУЕН КУАНГ ЗУНГ

СОСТАВ ТЕРПЕНОИДОВ МЕЖВИДОВОГО ГИБРИДА МЯТЫ И ЕГО ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ОНТОГЕНЕЗЕ

При изучении закономерности наследования химических признаков при межвидовом скрещивании мят нами было замечено, что в зависимости от особенностей состава терпеноидов у родительских форм наследование данных признаков идет по-разному. Гибриды синтезируют вещества либо свойственные одному из родителей, либо входящие в состав терпеноидов обоих родителей с доминированием одной из форм, либо вещества, несвойственные исходным растениям [4]. В частности, в комбинациях скрещивания, где один из родителей синтезировал ациклические монотерпеноиды, а второй — циклические, у гибридов доминировали терпеноиды циклического строения. При этом у гибридов наблюдалось перекомбинирование морфологических признаков.

По мнению американского генетика Murray [11], компонентный состав терпеноидов у растений регулируется специфическими генетическими факторами. Опыты по межвидовому скрещиванию мят показали, что доминантный ген препятствует образованию циклических терпеноидов, в силу чего у данных растений синтезируются только ациклические соединения.

В наших опытах доминирования ациклических соединений не наблюдалось. Только небольшая часть гибридов синтезировала преимущественно ациклические терпеноиды, как один из родителей. У отдаленных гибридов, судя по физическим константам эфирного масла, происходило промежуточное наследование ациклических и циклических терпеноидов. Исходя из этого, интересно было выяснить, какие химические структуры унаследовали эти гибриды и какие терпеноиды у них доминируют.

С этой целью в исследование был взят один гибрид первого поколения № 1575а от скрещивания мяты сахалинской (*Mentha sachalinensis* (Briq.) Kudo) и мяты кавказской (*M. caucasica* Briq.) Изучение этого гибрида представляло интерес и с другой точки зрения. Его листья, особенно в ранний период развития, издают необычный для мяты аромат, вызывающий аппетит.

Исходные виды относятся к разным секциям подрода *Menthastrum* и значительно отличаются друг от друга как по морфологическим признакам, так и по составу эфирного масла (табл. 1). Как показали цитологические исследования, у этих видов разные хромосомные числа — у мяты сахалинской 2n=96 и у мяты кавказской 2n=24.

В состав эфирного масла мяты сахалинской (произрастающей в диком виде на о. Сахалин) входят в качестве основных компонентов соединения пара-ментанового ряда с кислородной функцией при третьем атоме углерода — (—)-ментол (до 76%), (—)-ментон и (+)-пиперитон (до 12% в сумме). При семенном размножении мяты расщепления ни по морфологическим, ни по химическим признакам не наблюдалось, что свидетельствует о ее гомозиготности [5].

Мята кавказская (произрастающая дико на Северном Кавказе) синтезирует в основном ациклические соединения — кислородсодержащие монотерпеноиды — линалоол (80%) и гераниол (10%). У генеративного потомства этой мяты наблюдалось некоторое варьирование морфологических признаков, но эти различия не выходили за пределы вида. По химическому составу эфирного масла сеянцев расщепления не наблюдалось [3]. Всего от этой комбинации скрещивания было исследовано 80 гибридов. Все гибридное потомство характеризовалось исключительным разнообразием как морфологических, так и химических признаков. По содержанию основного компонента в масле гибриды разделились на несколько групп — ментольную, линалоольную, карвонную, пулегонную.

В настоящем сообщении мы приводим результаты исследования по одному, исключительно интересному по своей характеристике, гибриду. Он обладает смешанными морфологическими признаками. Гибрид № 1575а очень мощное растение, высотой до 1,5 *м*, хорошо облиственное; листья крупные, эллипсовидные, слегка морщинистые, светло-зеленого цвета; опушение среднее; соцветия длинные (до 25—30 *см*), прерывистомутовчатые. По мощности куста, характеру его строения, по форме листьев гибрид больше напоминает отцовское растение, а по форме соцветий — материнское. Хромосомное число гибрида № 1575а 2n=60.

Таблица 1

Физико-химическая характеристика масла исходных форм и гибрида № 1575а

Образец масла	Выход масла, %	α_D^{20}	n_D^{20}	λ_{max}, *ммк*	$E_{1/2}$, *В*	Содержание, %		
						спирты* I и II	спирты** третичные	кетоны***
♀	3,2	—37°	1,459	235	1,26	76	—	12
♂	1,9	+16°	1,460	—	—	10	80	0
№1575а	1,8	—71°	1,468	—	—	25	36	0,3

* Первичные (I) и вторичные (II) определены ацетилированием в пиридине [12].
** Определены газометрическим методом [1].
*** Определены гидроксиламиновым полумикрометодом [12].

Эфирное масло изучаемого гибрида, собранное в период массового цветения, характеризуется следующими физико-химическими показателями (табл. 1).

Цельное масло гибрида не обладает ни максимумом поглощения в УФ области, ни потенциалом восстановления на ртутно-капельном

электроде, что указывает на отсутствие в нем α-, β-ненасыщенных кетонов и других полярографирующихся веществ.

Для более детального изучения 25 *г* масла было расфракционировано в вакууме (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика фракций эфирного масла гибрида № 1575а

№ фракции	t° кипения	P *мм.* рт ст.	Количество фракции		α_D^{20}	n_D^{20}	d_{20}^{20}	λ_{max}, *ммк*	$E_{1/2}$, *В*
			вес	%					
1	70°	18	6,9	27,6	—120°	1,472	0,856	—	—
2	76°	10	8,6	34,4	+20°	1,476	0,905	234	—1,82
3	78°	4	7,9	31,6	—46°	1,489	0,975	234	—1,82

Как видно из таблицы, все показатели масла 1-й фракции близки к приведенным в литературе [2] характеристикам для (—)-лимонена (d_{20}^{20}=0,8448, n_D^{20}=1,4725, α_D^{20}=—126,3°). Хроматографический анализ показал, что эта фракция представлена в основном (около 95%) компонентом, по времени удерживания соответствующим лимонену. Присутствие его было также доказано спектральным анализом этой фракции в ИК области. Полосы поглощения — 760, 800, 895, 1060, 1160, 1380, 1450$^{-см}$ соответствуют спектру чистого лимонена.

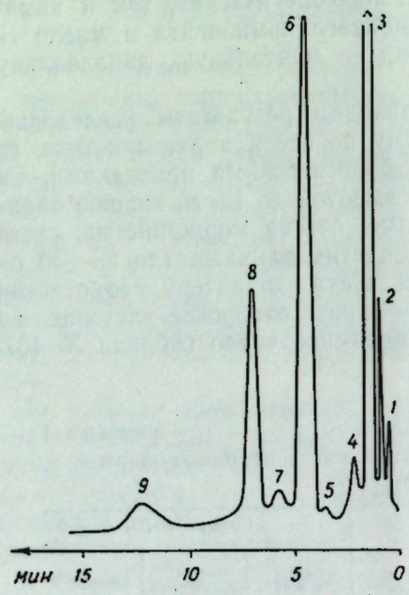


Рис. 1. Хроматограмма эфирного масла гибрида № 1575а:

1 — α-пинен, *2* — β-пинен, *3* — лимонен, *6* — линалоол, *7* — ментилацетат, *8* — ментол, *9* — пиперитон (колонка 2 *м*, внутренний диаметр колонки 4 *мм*, Т° кол. — 140°С, реоплекс 400 на целите, скорость потока гелия 40 *мл/мин*)

Приведенные в таблице данные по анализу 2-й фракции позволили предположить, что основным компонентом ее является третичный спирт линалоол; это было подтверждено газо-хроматографическим анализом (около 90%).

При сравнении спектра поглощения масла этой фракции в ИК области со спектром поглощения чистого линалоола обнаруживается их совпадение по основным полосам поглощения — 800, 845, 910, 980, 1130, 1380, 1410, 1460$^{-см}$, а полосы в области 3400$^{-см}$, характерны для гидроксильной фракции.

Эта фракция обладает максимумом поглощения в УФ области λ_{max}=234 и потенциалом восстановления на капельно-ртутном электроде $E^1/_2$=—1,82 *В*, что доказывает присутствие в ней пиперитона. Хроматографический анализ масла фракции 2 подтвердил содержание в ней пиперитона (до 6%).

Характеристики фракции 3 близки к таковым для ментола. Хроматографический анализ показал, что в масле присутствуют ментол (около 86%), ментилацетат (около 5%) и пиперитон (около 8%). Пиперитон доказывается максимумом поглощения в УФ области (λ_{max}=234) и потенциалом восстановления на ртутно-капельном электроде ($E^1/_2$=—1,82 *В*). Ментол из этой фракции был выделен вымораживанием, перекристаллизован и идентифицирован по температуре плавления ($t°_{пл}$=43°). Спектр поглощения его в ИК области выявил полосы 760, 850, 880, 920, 980, 1000, 1030, 1050, 1100, 1180, 1350$^{-см}$, а также в области 3400$^{-см}$, что характерно для ментола.

Приведенный анализ эфирного масла гибрида № 1575а показал (рис. 1), что в нем присутствуют следующие соединения (расчеты по хроматограмме): пик 1 — α-пинен (0,5%), пик 2 — β-пинен (1%), пик 3 — лимонен (27%), пики 4 и 5 не идентифицированы, пик 6 — линалоол (34%), пик 7 — ментилацетат (5,5%), пик 8 — ментол (24%), пик 9 — пиперитон (6%). Углеводороды α и β-пинены и лимонен являются общими для обоих родителей. Кислородсодержащие монотерпеноиды свойственны как отцовской форме — мяте кавказской (линалоол), так и материнской форме — мяте сахалинской (ментол, ментилацетат, пиперитон). Таким образом, наследование морфологических признаков обеих исходных форм сопровождалось наследованием качественного состава терпеноидов эфирных масел родителей, т. е. в результате гибридизации произошло смешение как морфологических, так и химических признаков.

У гибридов от скрещивания данных видов мяты, к числу которых относится и описываемый здесь гибрид, очень часто встречаются монотерпеноиды, отсутствующие у родителей, так называемые новообразования. В масле гибрида № 1575а в период массового цветения таких терпеноидов не обнаружено. Однако не исключено, что они синтезируются или на ранних, или на более поздних стадиях развития растений. В отношении терпеноидов имеются наблюдения, когда на ранних стадиях развития синтезируются одни вещества, а на следующих появляются соединения, отсутствующие в первый период развития [6]. Поэтому интересно было выяснить состав компонентов в динамике развития растений.

Проведение такого опыта представляло интерес и для выяснения потенциальных возможностей растений данного гибрида в отношении накопления эфирного масла, а главное — синтеза тех или иных веществ, в частности линалоола, ментола и пиперитона, а также их взаимного превращения.

В этих целях был проведен специальный опыт по изучению накопления монотерпеноидов в динамике развития растений. Пробы для анализа брали в период от рассады до конца цветения: I — в период рассады, II — перед бутонизацией, III — бутонизации, IV — массового цветения и V — конец цветения.

Таблица 3

Физико-химическая характеристика эфирного масла гибрида № 1575а в онтогенезе

Фаза развития	Выход масла, %	α_D^{20}	n_D^{20}	Содержание в масле, %			
				лимонена	ментола	линалоола	пиперитона
I	1,2	—60°	1,476	40	12	24	8
II	2,2	—71°	1,468	31	42	18	4
III	1,7	—71°	1,467	32	25	36	3
IV	1,9	—66°	1,467	27	24	34	6
V	2,4	—64°	1,467	27	22	34	5

Образцы эфирных масел получали методом гидродистилляции свежеубранных листьев и соцветий, сушили над прокаленным сульфитом натрия, затем анализировали. Данные выхода эфирного масла и его физико-химическая характеристика приведены в табл 3.

Содержание эфирных масел за вегетационный период изменялось от 1,2% в первый срок уборки — рассады до 2,4% в конце цветения. Причем отмечалось два максимума накопления — первый — перед бутонизацией, а второй — в конце цветения.

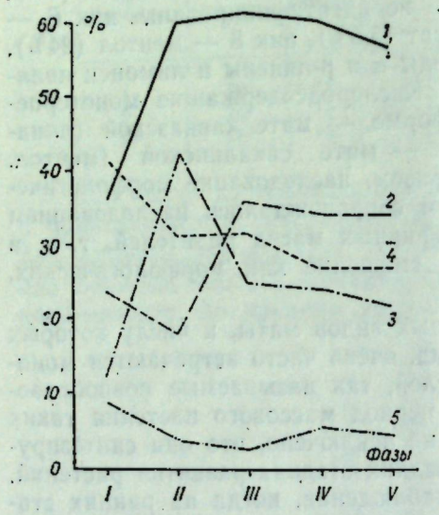


Рис. 2. Изменчивость содержания в масле общих спиртов (*1*), ментола (*2*), линалоола (*3*), лимонена (*4*), пиперитона (*5*) в онтогенезе гибрида № 1575а

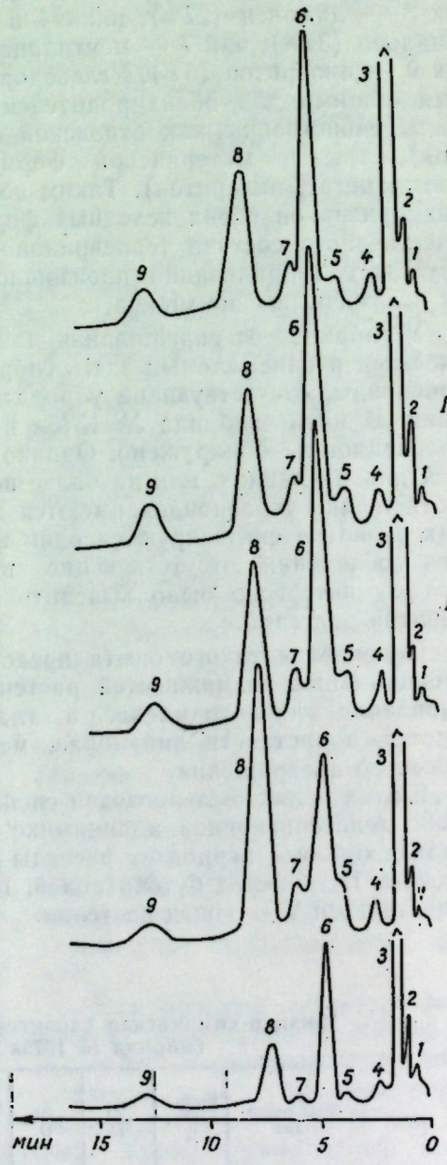


Рис. 3. Хроматограммы эфирных масел гибрида № 1575а по фазам развития (I — рассада, II — перед бутонизацией, III — бутонизация, IV — массовое цветение, V — конец цветения):

1 — α-пинен, *2* — β-пинен, *3* — лимонен, *6* — линалоол, *7* — ментил-ацетат, *8* — ментол, *9* — пиперитон, (колонка 2 *м*, внутр. диаметр 4 *мм*, Т° кол. — 140°С, реоплекс 400 на целите, скорость потока гелия 40 *мл/мин*)

Такое явление неоднократно наблюдал Charabot [7] у ряда растений, в том числе и у мяты. Исходя из этого, он высказал предположение, что эфирные масла расходуются как энергетический материал в процессе оплодотворения, а затем в период отцветания остатки их возвращаются в листья, чем и обусловливается второй максимум накопления его. По данным других исследователей, в листьях мяты наблюдался один максимум накопления или в период массового цветения или в период бутонизации.

Физические константы за период вегетации изменялись мало. Лишь оптическая активность несколько варьировала от —60° до —71°, что обусловлено изменением содержания лимонена — вещества, обладающего самой высокой оптической активностью (—125°).

Для выяснения изменчивости качественного состава компонентов и количественного их соотношения были сняты хроматограммы всех пяти образцов масел. Количественное содержание компонентов вычислялось по хроматограммам.

Прежде всего хроматограммы показывают идентичность в качественном составе компонентов. На всех фазах развития растений обнаруживались одни и те же пики (рис. 3). Не было обнаружено иных максимумов поглощения в УФ области и потенциалов восстановления на капельно-ртутном электроде. Все это подтверждает, что данный гибрид не синтезирует вещества, несвойственные родительским растениям. Вместе с тем не выявлены некоторые вещества, характерные для родительских растений. Отсутствуют такие вещества, как цинеол — характерный для обоих родителей, октанол-3, свойственный материнским растениям, и гераниол, свойственный отцовскому растению. У данного гибрида произошли качественные изменения в составе терпеноидов, поскольку он утратил способность синтезировать перечисленные вещества.

Коренные изменения произошли и по количественному соотношению компонентов. Особенно это относится к лимонену. Количество его в масле исходных форм не превышало 1—2%. В масле гибрида содержание лимонена удерживалось на более высоком уровне — 27—40%, т. е. он присутствует в качестве одного из трех основных компонентов (рис. 2, 3, табл. 3). Далее, если ментол в масле материнских растений присутствовал в количестве 76—80% (табл. 1), то в масле гибрида он составил всего лишь 12—42%. То же самое отмечается в отношении количества линалоола — в масле материнского растения его около 80%, а в масле гибрида — от 18 до 38%. В отношении этих двух спиртов наблюдалось примерно промежуточное наследование. Этого нельзя сказать в отношении лимонена и пиперитона. Последний вообще отсутствует у отцовского растения. Количество его у гибрида (4—8%) не превышало содержания в масле материноких растений. Выскажем некоторые соображения о генетических взаимоотношениях между перечисленными основными терпеноидами, прежде всего о лимонене. Этот терпеноид крайне редко накапливается у растений в ощутимых количествах, за исключением некоторых представителей хвойных, цитрусовых и других семейств. У видов мяты он присутствует всегда, но очень редко в качестве основного компонента. Видимо, поэтому, а главное, исходя из химических превращений лимонена в лабораторных опытах и из теоретических предположений, некоторые исследователи полагают, что у мяты лимонен является исходным продуктом для образования целого ряда монотерпеноидов циклического строения, в том числе и кислородсодержащих [8, 9, 10].

Кривые изменчивости количества лимонена, пиперитона и ментола в онтогенезе не дают основания делать такое заключение. Количество перечисленных компонентов увеличивалось или уменьшалось независимо друг от друга, поэтому можно полагать, что генетическая связь между ними отсутствует.

То же самое можно заключить в отношении линалоола, как возможного предшественника синтеза ментола и пиперитона (рис. 2, 3, табл. 3). В начале вегетации как будто отмечалась обратная корреляция между количеством линалоола и ментола — содержание линалоола падало, а количество ментола возрастало. Но в последний период наблюдалась обратная зависимость, а с фазы бутонизации до конца цветения кривые идут параллельно.

Следовательно, такие корреляции между основными компонентами, которые позволили бы делать суждения о генетических связях между ними, в нашем опыте отсутствовали. Однако мы не склонны считать, что, например, линалоол не является исходным веществом для синтеза пиперитона, ментола и лимонена. Химическая изменчивость в онтогенезе не является прямым доказательством путей биосинтеза не только терпеноидов, но и любых других веществ. Она имеет только косвенное значение.

В последние годы биогенетические превращения терпеноидов стали обсуждаться на основе генетических положений. Так, например, Murray и Lincoln [11] допускают, что... «эффект доминантного гена I на биогенез является значительным..., в результате чего накапливается линалоол. Рецессивный ген i дает возможность быстрого и почти полного превращения линалоола в циклические компоненты только с очень небольшими остаточными количествами — 0,1—0,8% линалоола».

У отцовского растения — мяты кавказской линалоол в эфирном масле преобладает (до 80%), поэтому можно предполагать присутствие у него доминантного гена I. По-видимому, у изучаемого гибрида № 1575а действие доминантного гена I и рецессивного i сбалансировано либо действуют какие-то другие факторы.

В заключение следует отметить, что изучаемый гибрид № 1575а представляет исключительный интерес. Впервые получен гибрид с таким оригинальным набором терпеноидов, никогда не встречающимся ранее не только у мяты, но и у других растений. Он содержит почти в равных количествах три вещества, обладающие специфическими вкусовыми и ароматическими свойствами: лимонен — с запахом плодов цитрусовых и лимонным вкусом, линалоол — с запахом ландыша и бергамота и пряным вкусом, ментол — с запахом перечной мяты и приятным освежающим и холодящим вкусом. Благоприятное сочетание этих веществ придает растению особые пряные свойства, которые вызывают аппетит и неповторимые вкусовые ощущения. Особенно сильно это выражено на самых ранних стадиях развития растений. Мы полагаем, что растения этого гибрида найдут использование в консервной промышленности, а его эфирное масло — для приготовления зубных паст.

Гибрид отличается и другими хозяйственно-полезными признаками. Он развивает как мощную надземную массу, так и обильные корневища, не поражается болезнями и характеризуется исключительной жизненностью.

Выводы

1. В составе эфирного масла гибрида (в фазе цветения) обнаружены α- и β-пинены, (—)-лимонен (27%), (+)-линалоол (34%), ментилацетат (5,5%), (—)-ментол (24%), пиперитон (6%).

2. Количество эфирного масла в онтогенезе растений колеблется от 1,2 до 2,4%. Содержание основных компонентов изменяется за период вегетации в относительно небольших пределах, а качественный состав терпеноидов вообще не изменяется.

3. Гибрид наследует терпеноиды обоих родителей, только в резко измененных количественных соотношениях — значительно увеличивается количество лимонена (до 27%), и уменьшается содержание ментола — материнский признак (с 76 до 25%), и линалоола — отцовский признак (с 80 до 34%). Произошли изменения и в качественном составе терпеноидов за счет утраты гибридом способности синтезировать некоторые родительские вещества — цинеол, гераниол и октанол-3.

4. Коррелятивные связи между обнаруженными терпеноидами, указывающие на их биогенетическую связь, не найдены.

5. Изучаемый гибрид может быть использован как пряное растение, а его эфирное масло — в парфюмерной промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гаттерман Л., Виланд Г.* Практические работы по органической химии. М.—Л., Изд-во. «ГХИ», 1948.
2. *Горяев М., Плива И.* Методы исследования эфирных масел. Алма-Ата, 1962.
3. *Кубрак М. Н.* Труды по химии природных соединений, вып. 5. Кишинев, КГУ, 1962.
4. *Николаев А. Г.*, Herba Hungarica, t. 5, N 1, 1966. Budapest.
5. *Николаев А. Г., Галанова Л. Н.* Труды по химии природных соединений, вып. 3. Кишинев, КГУ, 1960.
6. *Нилов В. И.* Известия АН СССР. Сер. биол., № 6, 1937.
7. *Charabot E., Laloue G.* Table des comptes rendus, v. 141, N 20, 1905.
8. *Fujita V.* Koryo, 58, 15—20, 1960.
9. *Fujita V.* Koryo, 61, 43—46, 1961.
10. *Hefendehl F. W.* Planta medica, v. 15, N 2, 121—131, 1967.
11. *Murray M. I., Lincoln D. E.* Genetics, v. 65, N 3, 1970.
12. *Verner Mottias.* Der Züchter, Bd. 23, N 6, 1953.

УДК 547.962

В. В. САЯНОВА

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОСНОВНЫХ ГЛОБУЛИНОВ СЕМЯН ФАСОЛИ РИСОВОЙ

Полученные нами ранее данные о свойствах белкового комплекса фасоли рисовой позволили приступить к выделению основных глобулинов — вицилиноподобного (ВПБ) и легуминоподобного (ЛПБ) или так называемых 7S и 11S белков. ВПБ в семенах фасоли является преобладающим и составляет примерно 50% от суммарного белка семян.

Целью настоящей работы было подобрать оптимальные условия для выделения ВПБ и ЛПБ, получить их в однородном виде и охарактеризовать по некоторым физико-химическим показателям.

Материал и методы

Для исследования были взяты семядоли фасоли рисовой (*Ph. calcaratus* Roxb. Pip.), выращенной на биологической станции Кишиневского Госуниверситета. Обработку семян и муки, получение суммар-

ного солерастворимого белка, высаливание, хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе (ДЭАЭЦ) и гидроксилапатите (ГА), градиентную экстракцию на колонке (ГЭК), электрофорез и ультрацентрифугирование проводили как и ранее [7—9]. N-концевые аминокислоты в белке определяли по методике, принятой в лаборатории химии белка Кишиневского университета [1].

Результаты и обсуждение

Основываясь на ранее полученных результатах [5], первоначальное разделение белков производили фракционированием сернокислым аммонием (СА). Согласно этим данным, ЛПБ и ВПБ высаливаются в пределах 30—60% (фракция 30—60) и 60—100% (фракция 60—100) насыщения СА соответственно.

Исследования полученных фракций на различных носителях показали, что градиентная экстракция на колонке является эффективным методом для разделения ВПБ и ЛПБ, а хроматография на ДЭАЭЦ и ГА дает возможность отделять минорные компоненты и НК.

Полученные результаты позволили наметить пути выделения и очистки указанных белков.

Выделение и оценка однородности ЛПБ

Согласно полученным экспериментальным данным, целесообразно было начинать очистку ЛПБ хроматографией на ГА. Опыты, проведенные нами по выделению ЛПБ других видов фасоли, показали, что их первоначальная очистка на ГА от посторонних примесей может быть осуществлена не в колонке, а вне ее, что в техническом отношении гораздо проще.

Для этого поступали следующим образом: раствор белка пропускали через колонку с сефадексом Г-25 и переводили в буфер той концентрации, при которой происходит минимальная адсорбция примесей

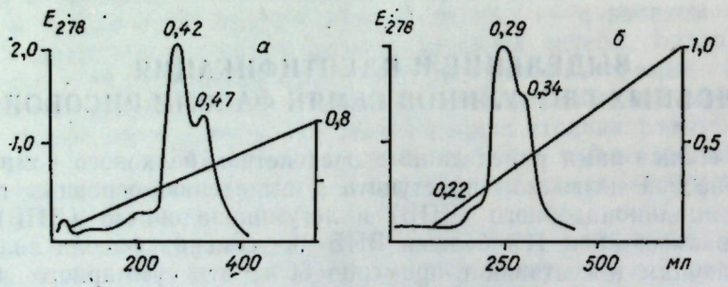


Рис. 1. Хроматограммы ЛПБ:
а — ГА, *б* — ДЭАЭЦ

на носителе и десорбция легуминоподобного белка (в данном случае применяли 0,15М фосфатный буфер), смешивали с ГА в буфере той же концентрации; суспензию перемешивали на механической мешалке в течение двух часов в холодильнике. Неадсорбировавшиеся вещества отмывали на воронке Бюхнера 0,15М буфером. Промывание прекращали при минимальной экстинкции (Е=40) вытекающего из воронки раствора. Содержимое воронки переносили в хроматографические колонки, заполняя их обычным способом, и проводили хроматографию в градиенте концентрации фосфатного буфера. Очистка белка, проведенная описанным способом, позволяет уже после однократной хроматографии на колонке (вместо обычно проводимых 3—4 очисток) получить белок, лишенный значительного количества примесей (рис. 1, *а*). Этот прием очистки эффективен и может быть рекомендован для выделения ЛПБ бобовых, которые обычно сопровождаются большим количеством примесей. ЛПБ вымывается двумя пиками. Для удобства обозначим белки, элюирующиеся в указанных пиках, белками 0,42 и 0,47.

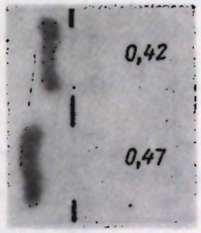


Рис. 2. Электрофорез на бумаге ЛПБ 0,42 и 0,47

Хроматография ЛПБ на ДЭАЭЦ показала, что он практически не содержит посторонних примесей, за исключением тех, которые элюируются в пике 0,22 (рис. 1, *б*). Однако при хроматографии на ДЭАЭЦ, как и на ГА, было обнаружено два пика, элюирующихся при различных, хотя и близких, значениях ионной силы буфера — 0,29μ и 0,34μ. Электрофорез на бумаге показал, что белки, элюирующиеся в этих пиках, имеют одинаковое направление, но различную скорость миграции. Наличие в ЛПБ более одного белкового компонента наблюдалось нами и ранее при исследовании ЛПБ фасоли азиатского происхождения, вигны и долихоса [2, 3, 10]. Однако неоднородность ЛПБ проявлялась лишь при электрофорезе в полиакриламидном геле (ПАГ). Здесь же это явление четко наблюдалось при хроматографии на ДЭАЭЦ и, что особенно интересно, на ГА. Мы попытались разделить эти белки, очистить и изучить их некоторые свойства.

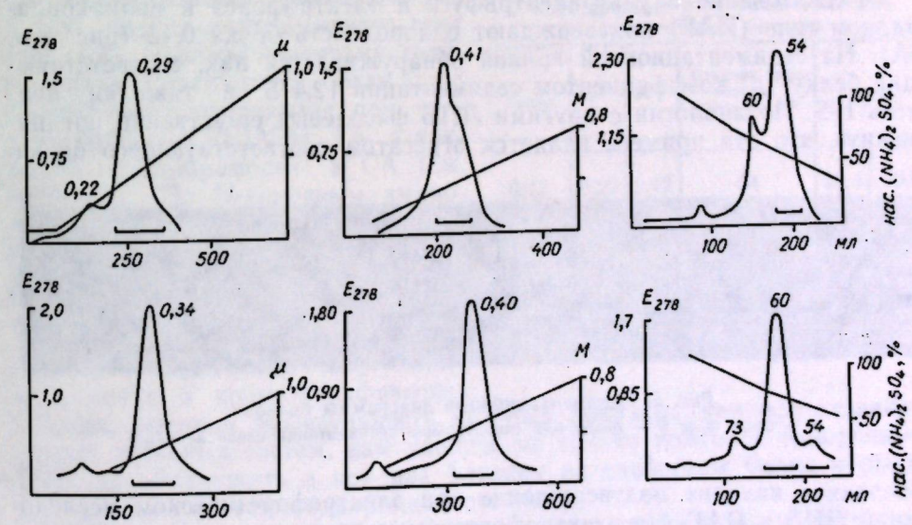


Рис. 3. Ход очистки белков 0,42 (*а, б, в*) и 0,47 (*г, д, е*)

Выделение и оценка однородности белка 0,42. Для разделения белков 0,42 и 0,47 элюаты, соответствующие этим пикам, собирали отдельно (на рис. 1, *а* они обозначены черточками, параллельными оси абсцисс) и осаждали белки СА.

Полученные белки последовательно хроматографировали на ДЭАЭЦ и ГА, а затем проводили ГЭК (рис. 3, *а—в*). Процесс очистки белка 0,42 приведен в схеме 1.

Как следует из хроматограмм и кривой растворимости, белок 0,42 получен в однородном виде (рис. 4, *а, б, в*).

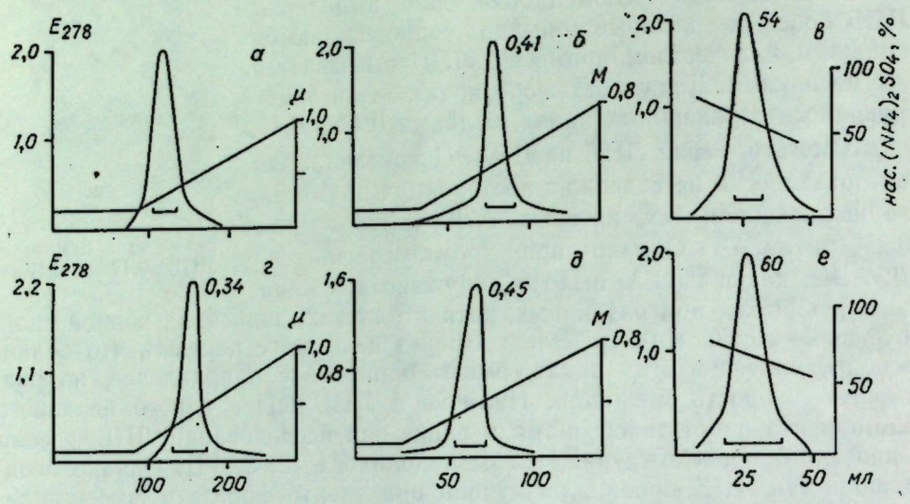


Рис. 4. Оценка однородности ЛПБ:
хроматография на ДЭАЭЦ белка 0,42 (*а*), белка 0,47 (*г*); на ГА — белка 0,42 (*б*), белка 0,47 (*д*); градиентная экстракция на колонке белка 0,42 (*в*) и 0,47 (*е*)

Исследование в ультрацентрифуге и электрофорез в полиакриламидном геле (ПАГ) подтверждают однородность белка 0,42 (рис. 5, *а*, 6А). На седиментационной кривой обнаруживается пик, соответствующий белку с коэффициентом седиментации 12,4 S и тяжелая примесь 19S. По аналогии с другими ЛПБ фасолевых естественно предположить, что эта примесь является агрегатом соответствующего белка.

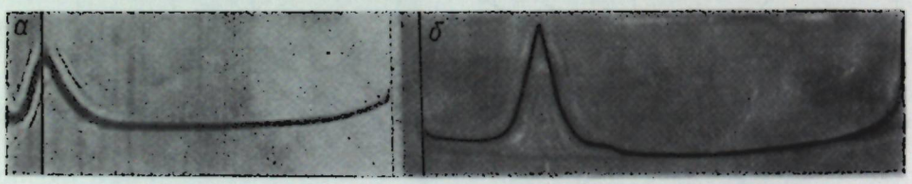


Рис. 5. Седиментационные диаграммы белков:
а — белок 0,38; *б* — белок 0,42 (направление седиментации слева направо)

Последнее находит подтверждение при электрофоретическом исследовании ЛПБ и ПАГ. На электрофореграмме кроме основной зоны, соответствующей 12,4 S белку, выявлена еще одна очень слабо окрашенная зона, подвижность которой в геле бо́льшей концентрации значительно замедляется по сравнению с основной, что указывает на ее агрегатный характер.

Таким образом, судя по приведенным данным, полученный белок 0,42 является однородным.

Выделение и оценка однородности белка 0,47. Выделение и очистку белка проводили так, как это описано для белка 0,42. Ход очистки показан на схеме 1, кривые приведены на рис. 3 (*г, д, е*). При хроматографии на ДЭАЭЦ белок 0,47 элюируется при более высоком значении ионной силы буфера, чем белок 0,42. Поскольку хроматографией ни на ДЭАЭЦ, ни на ГА не удается полностью освободить белок 0,47 от примеси ВПБ и белка 0,42, элюирующихся на левом склоне пика, его дальнейшую очистку проводили на целите. На кривой растворимости (рис. 3, *е*) обнаружено три пика, из которых основной, соответствующий белку 0,47, имеет вершину при 60% насыщения СА. В пике 73 элюируется примесь ВПБ, а в пике 54 — белок 0,42. От указанных примесей избавлялись, проводя двукратную градиентную экстракцию белка на колонке. Критерии однородности белка 0,47 те же, что и белка 0,42.

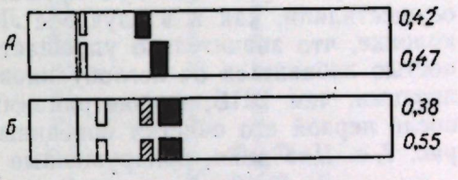


Рис. 6. Схемы электрофореграмм белковых препаратов в ПАГ:
А — ЛПБ в 7,5%-ном геле. Продолжительность опыта 30 мин. Сила тока 12 *А*, напряжение 340 *В*

Из данных, представленных на рис. 4 (*г, д, е*), очевидно, что белок 0,47 получен в однородном виде. Гомогенность белка подтверждается седиментационными исследованиями и электрофореграммой (рис. 6А), на которой присутствует интенсивно окрашенная зона и едва заметная, соответствующая агрегату белка 0,47. Коэффициент седиментации белка 0,47 равен 13,8 S, а тяжелой примеси — 15 S.

Полученные данные свидетельствуют о том, что белки 0,42 и 0,47 имеют хотя и близкие, но не идентичные свойства. Последнее особенно хорошо подтверждается результатами электрофореза, проведенного в одном блоке акриламидного геля (рис. 6А), и коэффициентами седиментации. Различаются белки и по константам элюирования при хроматографии на ДЭАЭЦ, ГА, а также по растворимости в СА (см. таблицу). По N-концевым аминокислотам различий между белками 0,42 и 0,47 не обнаружено. N-концевой анализ показал наличие в них глицина, лейцина и фенилаланина.

Константы элюирования и коэффициенты седиментации выделенных белков

Белки	μ*	M**	Степень насыщения $(NH_4)_2SO_4$***	$S_{20,w}$	
0,42	0,29	0,42	54	12,4	19,0
0,47	0,34	0,47	60	13,8	15,0
0,38	0,22	0,38	92	8,0	13,0
0,55	0,25	0,55	85	7,7	13,4

* Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе.
** Хроматография на гидроксилапатите.
*** Градиентная экстракция на колонке

Следовательно, благодаря применению градиентной экстракции на колонке и хроматографических методов, высокая эффективность которых показана при исследовании многих белковых систем, нам удалось не только получить однородный ЛПБ, но обнаружить в нем два близких по свойствам белка и выделить каждый из них в однородном состоянии.

Приведенные экспериментальные данные достаточно убедительно показывают, что в семенах фасоли рисовой присутствуют не менее двух ЛПБ, различающихся по хроматографическому поведению на ДЭАЭЦ, ГА, растворимости в СА, электрофоретической подвижности и коэффициентам седиментации. Аналогичное явление мы уже наблюдали при исследовании ЛПБ фасоли золотистой, мунго, угловатой вигны.

Выделение вицилиноподобного белка

ВПБ является основным запасным белком фасоли рисовой и, как было указано выше, сосредоточивается во фракции, высаливающейся в пределах 60—100% насыщения СА.

Исследование поведения этой фракции при хроматографии на различных носителях позволило разработать схему выделения ВПБ (схема 1). Первоначальную хроматографическую очистку ВПБ на ГА осуществляли, как и в случае с ЛПБ, на воронке Бюхнера, а не на колонке, что значительно упрощает процесс очистки и позволяет полностью избавиться от неглобулиновых примесей, элюирующихся более низкими, чем ВПБ, концентрациями буфера. Хроматограмма белка после первой его очистки описанным выше способом представлена на рис. 7, *а*. Два пика, обнаруженные на кривой, обусловлены вицилино-

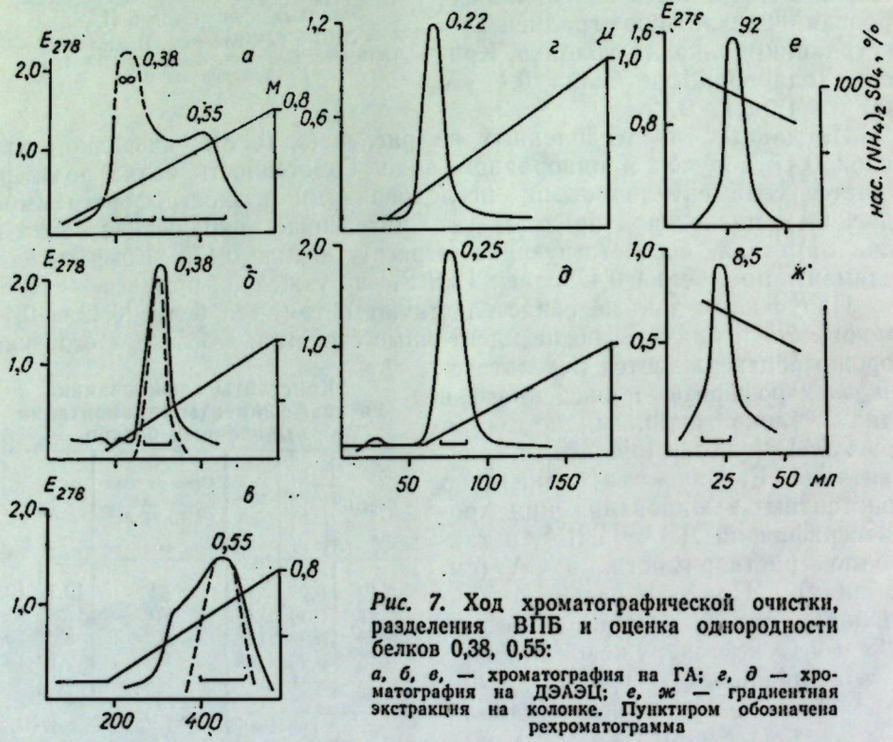


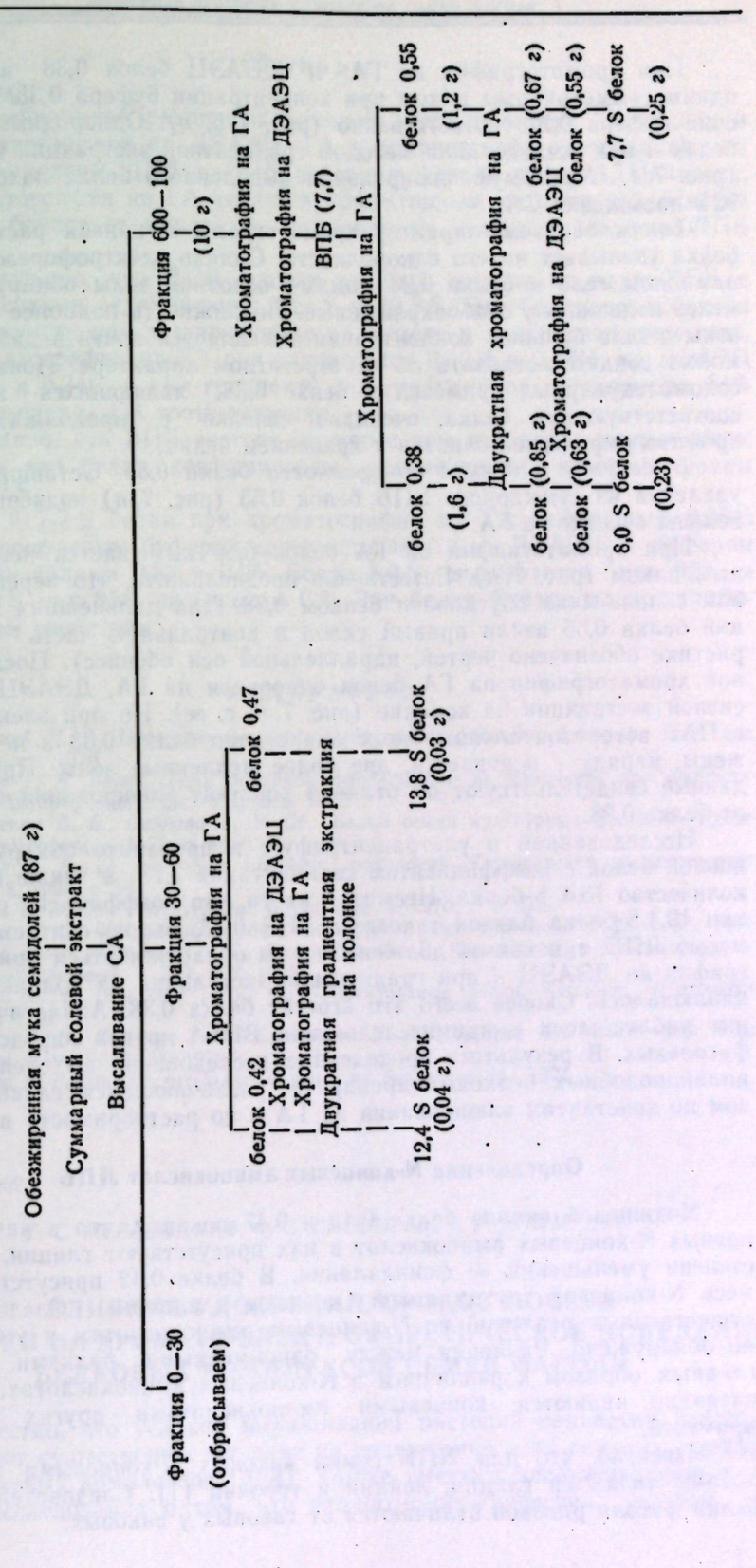
Рис. 7. Ход хроматографической очистки, разделения ВПБ и оценка однородности белков 0,38, 0,55:

а, б, в, — хроматография на ГА; *г, д* — хроматография на ДЭАЭЦ; *е, ж* — градиентная экстракция на колонке. Пунктиром обозначена рехроматограмма

подобными белками, различающимися по константам элюирования, что подтверждается и результатами электрофореза этих белков. Мы попытались разделить белки и выделить каждый в отдельности. Как и в случае ЛПБ, отбирали элюаты, соответствующие отдельным белкам, и проводили их очистку (см. схему).

Для удобства изложения обозначим белки цифрами, соответствующими молярности фосфатного буфера, при которой находятся их максимумы элюирования — белки 0,38 и 0,55.

Выделение и оценка однородности белка 0,38. Очистка белка 0,38 сводилась к очистке его от примесей белка 0,55. Для этого белок 0,38 дважды хроматографировали на ГА, а затем на ДЭАЭЦ. После этого проводили оценку однородности полученного белкового препарата.



При хроматографии на ГА и ДЭАЭЦ белок 0,38 вымывается одним симметричным пиком при концентрации буфера 0,38М и ионной силе буфера 0,22 соответственно (рис. 7, *б, г*). Однородным оказался белок и при исследовании методом градиентной экстракции на колонке (рис. 7, *е*). Максимум элюирования выделенного белка находится при 92% насыщения СА.

Таким образом, характер хроматограмм и кривой растворимости белка указывает на его однородность. Однако электрофорезом в акриламидном геле в белке 0,38 помимо основной зоны обнаружены две менее подвижные, слабоокрашенные. Подвижность наиболее медленной зоны в геле бо́льшей концентрации замедляется почти в два раза, что может свидетельствовать об ее агрегатном характере. Появление высокомолекулярных примесей в белке 0,38, являющихся агрегатами соответствующего белка, очевидно, связано с продолжительностью хроматографической очистки и хранением белка.

Выделение и оценка однородности белка 0,55. Оставшийся после удаления из суммарного ВПБ белок 0,55 (рис. 7, *а*) подвергали дальнейшей очистке на ГА.

При хроматографии на ГА белок 0,55 вымывается несимметричным пиком (рис. 7, *в*). Естественно предположить, что перегиб на левом склоне пика обусловлен белком 0,38. Для дальнейших исследований белка 0,55 взяли правый склон и центральную часть пика (на рисунке обозначено чертой, параллельной оси абсцисс). После повторной хроматографии на ГА белок однороден на ГА, ДЭАЭЦ и градиентной экстракции на колонке (рис. 7, *д, е, ж*). Но при электрофорезе в ПАГ в горизонтальном блоке аналогично белку 0,38 в нем обнаружены, наряду с основными, две более медленные зоны. Приведенные данные свидетельствуют об отличии констант элюирования белка 0,55 от белка 0,38.

Исследованием в ультрацентрифуге в препарате обнаружены основной белок с коэффициентом седиментации 7,7S, а также небольшое количество 13,4 S-белка. Несмотря на то, что коэффициент седиментации 13,4 S-белка близок таковому ЛПБ 0,47, мы не считаем его примесью ЛПБ, так как он должен был бы обнаруживаться при хроматографии на ДЭАЭЦ и при градиентной экстракции на колонке, чего не наблюдалось. Скорее всего это агрегат белка 0,38. Аналогичное явление наблюдалось и при исследовании ВПБ других представителей фасолевых. В результате проведенных исследований выделено два вицилиноподобных белковых препарата, различающихся главным образом по константам элюирования на ГА и по растворимости в СА.

Определение N-концевых аминокислот ЛПБ

N-концевой анализ белка 0,42 и 0,47 показал, что в качестве основных N-концевых аминокислот в них присутствуют глицин, затем по степени уменьшения — фенилаланин. В белке 0,42 присутствует примесь N-концевой глутаминовой кислоты и аланина. Следовательно, существенных различий по N-концевым аминокислотам у этих белков не обнаружено. Различия между одноименными белками сводятся главным образом к различиям в N-концевых аминокислотах, которые, очевидно, являются концевыми аминокислотами других белковых примесей.

Известно, что для ЛПБ семян виковых N-концевыми аминокислотами являются глицин, лейцин и треонин [1]. Следовательно, 11 S белки фасоли рисовой отличаются от таковых у виковых.

Выводы

1. Комбинацией различных методов: фракционным осаждением СА, хроматографией на ДЭАЭЦ, ГА и градиентной экстракцией на колонке выделены ЛПБ и ВПБ из семян фасоли рисовой. Показано, что хроматография на ГА является эффективным методом как очистки основных белков от минорных компонентов, так и разделения ЛПБ и ВПБ.

Обнаружено, что ЛПБ фасоли рисовой состоит из двух ЛПБ с коэффициентами седиментации 12,4 S и 13,8 S. Эти белки различаются по подвижности при электрофорезе на бумаге и в акриламидном геле. При хроматографии на ГА они элюируются 0,42М и 0,47М, на ДЭАЭЦ при 0,29μ и 0,34μ, а при градиентной экстракции на колонке при 54% и 60% насыщения СА соответственно.

Показано, что ВПБ состоит не менее чем из двух компонентов. Выделены два белка, коэффициенты седиментации которых равны 8,0 S и 7,7 S.

8,0 S и 7,7 S белки при хроматографии на ГА элюируются 0,38М и 0,55М фосфатным буфером соответственно, а на ДЭАЭЦ — буфером с ионными силами 0,22 и 0,25. Белок 8,0 S вымывается при 92%, а белок 7,7 S при 85% насыщения СА. Эти белки близки по электрофоретическим свойствам.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Вайнтрауб И. А.* Исследование глобулинов семян бобовых. Автореф. докт. дис. Кишинев, 1970.
2. *Высокос Т. Я.* Белки семян подтрибы фасолевых и их изменение при прорастании. Автореф. канд. дис. Кишинев, 1972.
3. *Кливанская В. В., Саянова В. В.* Сб.: Белки семян культурных растений. Кишинев, «Штиинца», 1973, с. 48.
4. *Саянова В. В.* Тр. по химии природн. соединений. Кишиневский госуниверситет, вып. 8, 1969, с. 14.
5. *Саянова В. В. Сб.:* Растительные белки, вып. 9, 1970, с. 5, 106.
6. *Саянова В. В.* Физиология и биохимия культурных растений, т. 2, с. 57, 1970.
7. *Саянова В. В., Славная Т. С., Суменкова В. В.* Физиология и биохимия культурных растений, т. 3, с. 202, 1971.
8. *Саянова В. В., Высокос Т. Я.* Сб.: Растительные белки. Кишинев, «Штиинца», 1972, с. 35.
9. *Саянова В. В., Славная Т. Я., Суменкова В. В.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 3, 36, 1973.
10. *Саянова В. В.* Сб.: Растительные белки и их биосинтез. М., 1974.

УДК 547.962

Т. С. МУРАВИЦКАЯ, Ф. С. СТАКАНОВ, В. Г. КЛИМЕНКО

ВЛИЯНИЕ УДОБРЕНИЙ, СРОКОВ ПОСЕВА И УБОРКИ НА ХРОМАТО-ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ СЕМЯН ФАСОЛИ

Известно, что условия выращивания растений семейства бобовых оказывают существенное влияние на содержание в их семенах суммарных белковых комплексов [3, 4]. Также имеются заслуживающие внимания исследования о том, что эколого-географические условия не

влияют на качественный состав белков семян некоторых представителей бобовых [1]. До настоящего времени остается неясным, какое влияние могут оказывать удобрения, сроки посева и уборки на количество белков в семенах бобовых и их качественный состав.

Целью настоящих исследований было изучение влияния удобрений, сроков посева и уборки на количественную и качественную изменчивость белковых комплексов семян двух сортов фасоли.

Материал и методы

Для исследования были взяты семена двух сортов фасоли — Молдавской белой улучшенной и Кишиневской штамбовой урожая 1974 г. Растения фасоли выращивали на карбонатном черноземе учебного хозяйства «Кетросы» Кишиневского сельскохозяйственного института имени М. В. Фрунзе. Сроки посевов и уборки приведены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние сроков посева, уборки и удобрений на содержание белка в семядолях фасоли (% на сухой вес)

Сорт	Сроки		% белка	Удобрения	% белка
	посева	уборки			
Молдавская белая улучшенная	16.IV	2.VIII	21,88	Контроль	28,88
	30.IV	4.VIII	22,88	Нитрагин	28,13
	21.V	12.VIII	26,88	NH_4NO_3	31,63
	30.V	6.VIII	27,45		
	30.V	10.VIII	24,06		
	30.V	16.VIII	22,75		
Кишиневская штамбовая	16.IV	2.VIII	24,82	Контроль	26,86
	30.IV	4.VIII	25,44	Нитрагин	26,87
	21.V	12.VIII	25,75	NH_4NO_3	31,56
	30.V	6.VIII	20,06		
	30.V	10.VIII	19,94		
	30.V	16.VIII	19,75		

Кроме этого, для выяснения влияния нитрагина семена фасоли намачивали (инокулировали) с нитрагином (штамм 676) и высевали в тот же день. В качестве азотных удобрений был взят азотнокислый аммоний 40 *кг/га* действующего начала. Семена высевали 7 мая, а уборку проводили 13 августа — в фазе подсыхания 50—60% бобов.

Семена полной спелости, взятые от урожая различных сроков посева, уборки и удобрений, тщательно освобождали от кожуры и осевой части зародыша, а полученные семядоли превращали в тончайшую муку, которую обезжиривали этиловым эфиром при 4—5°С. В обезжиренной муке определяли содержание общего азота [4] с последующим пересчетом его на белок. Для выявления качественных изменений в белковом комплексе из муки семядолей количественно извлекали белки 1М NaCl и полученный суммарный солерастворимый белковый экстракт изучали хроматографией на гидроксилапатите с последующим исследованием белков хроматографических фракций электрофорезом на бумаге [2, 5]. Кроме того, были определены отношения экстинкций E_{260}/E_{278} хроматографических фракций. По полученным при этом данным можно судить о возможности сопровождения белков хроматографических фракций небелковыми веществами, относящимися к нуклеиновым кислотам и углеводам.

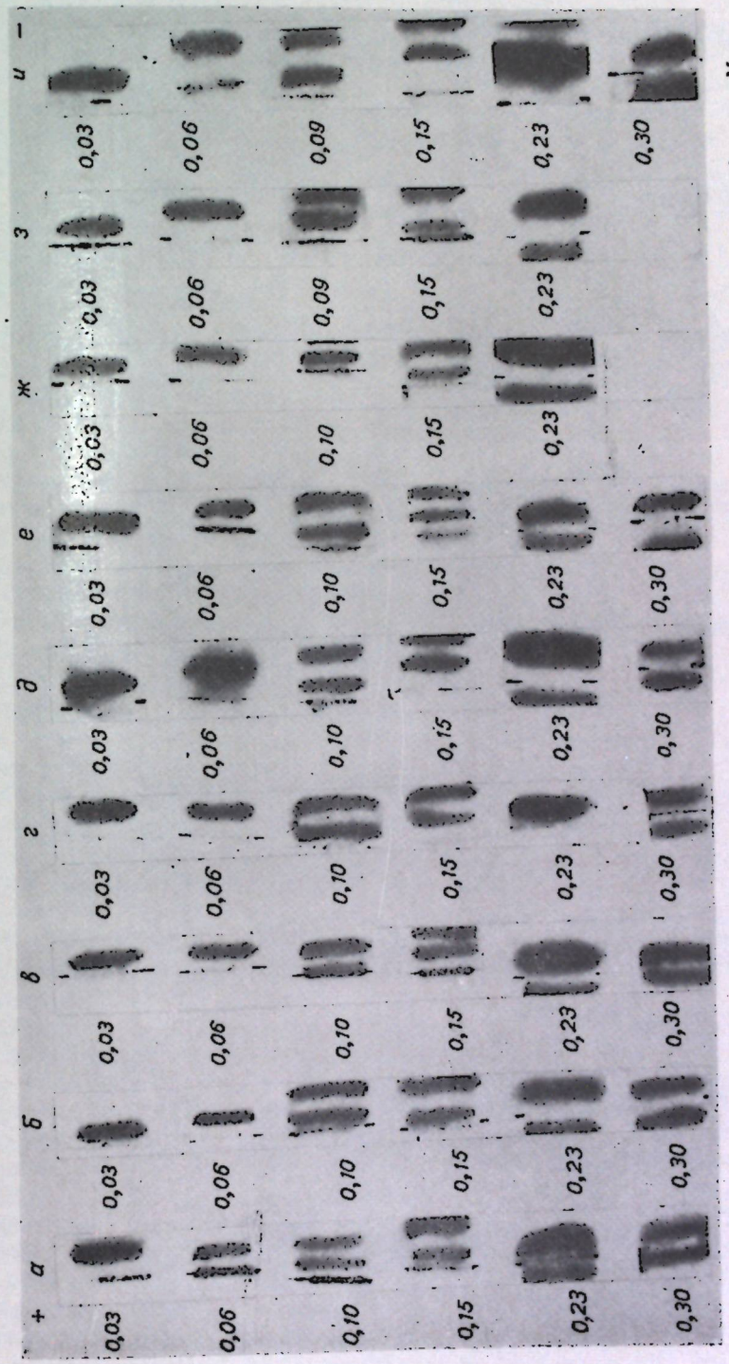


Рис. 4. Электрофореграммы белков хроматографических фракций суммарных белковых комплексов семян фасоли Молдавская белая улучшенная (Зависимость от сроков посева, уборки и удобрений).
На электрофореграммах слева — концентрации фосфатного буфера (М), при которых элюируются фракции. Над электрофореграммами сверху — обозначения те же, что приведены на хроматограммах

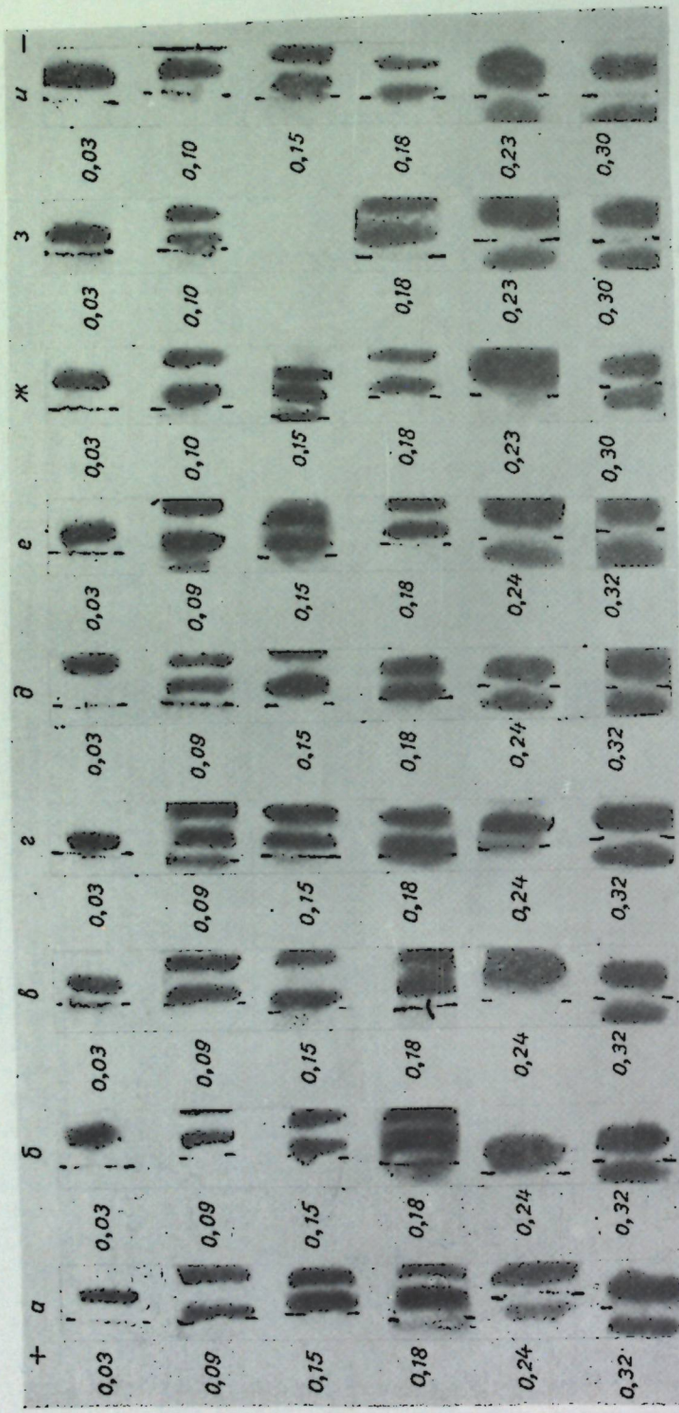


Рис. 8. Электрофореграммы белков хроматографических фракций белковых комплексов семядолей сорта Кишиневская штамбовая в зависимости от сроков посева, уборки и удобрений.
Остальные обозначения как на рис. 4

Результаты и обсуждение

Аналитические данные количественной изменчивости содержания суммарного белкового вещества в семядолях сортов фасоли в зависимости от сроков посева, уборки и удобрений приведены в табл. 1. Различные сроки посева семян Молдавской белой улучшенной оказали существенное влияние на содержание белка в семядолях. Минимальное количество белка содержат семена первого срока посева и максимальное количество — третьего срока посева. Аналогичные данные, хотя и слабо выраженные, обнаружены и по семядолям сорта Кишиневская штамбовая. Следовательно, можно сделать вывод о том, что более поздние сроки посева, независимо от сорта фасоли, дают семена, обогащенные белком. Представляет также значительный интерес и то, что сорт фасоли по-разному реагирует на сроки посева и уборки урожая. Содержание белка в семядолях Кишиневской штамбовой почти не менялось в зависимости от сроков уборки и посева, тогда как у Молдавской белой улучшенной заметны существенные изменения содержания белка в зависимости от сроков посева семян.

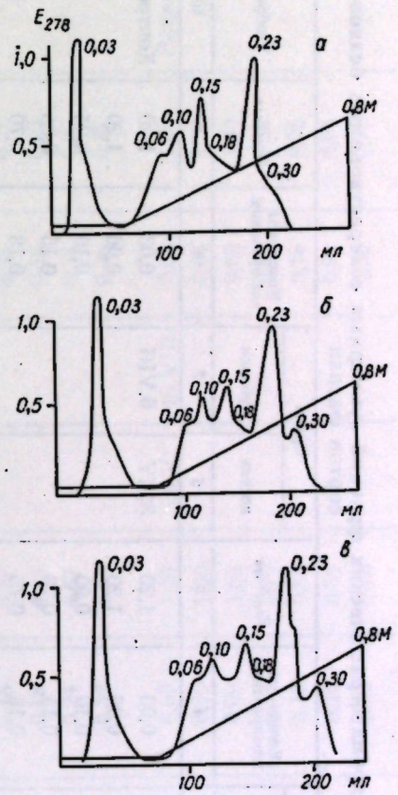


Рис. 1. Хроматограммы суммарных солерастворимых белковых комплексов семядолей фасоли сорта Молдавская белая улучшенная (Зависимость от сроков посева и уборки):

а — первый срок посева 16.IV и уборки 2.VIII, *б* — второй срок посева 30.IV и уборки 4.VIII, *в* — третий срок посева 21.V и уборки 12.VIII. На ординатах справа — концентрация фосфатного буфера (М), pH 7,6, исходный буфер 0,03 М

Интересные данные получены в отношении влияния сроков уборки, при условии одних и тех же сроков посева, а именно 30 мая. Семена первых сроков уборки содержали максимальное количество белка по сравнению с семядолями более поздних сроков уборки. Следовательно, сортовой признак оказывает существенное влияние на содержание белка в семядолях в зависимости от сроков уборки.

Изучение влияния удобрений на содержание белка в семядолях фасоли показало, что семена, обработанные нитрагином, содержали практически такое же количество белка, как и контрольные, хотя семядоли сорта Кишиневская штамбовая несколько обеднены белком по сравнению с семядолями сорта Молдавская белая улучшенная. Значительный положительный эффект оказывает азотнокислый аммоний, под влиянием которого содержание белка в семядолях увеличивается независимо от сорта фасоли. Сильнее реагирует на это удобрение сорт Кишиневская штамбовая по сравнению с Молдавской белой улучшенной. Следовательно, на содержание белка в семядолях фасоли оказывают влияние сроки посева, уборки и азотнокислый аммо-

Таблица 2

Отношение экстинкций E_{260}/E_{278} хроматографических фракций суммарных солерастворимых белковых комплексов семядолей сортов фасоли

Сорт	Сроки посева	Сроки уборки	Константы элюирования	E_{260}/E_{278}	Сроки посева	Сроки уборки	Константы элюирования	E_{260}/E_{278}	Удобрения	Константы элюирования	E_{260}/E_{278}
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Молдавская белая улучшенная	16.IV	2.VIII	0,03	1,20	30.IV	6.VIII	0,03	1,20	Контроль	0,03	1,20
			0,06	1,20			0,06	1,20		0,06	1,20
			0,10	0,90			0,10	0,95		0,10	0,95
			0,15	0,78			0,15	0,85		0,15	0,85
			0,18	0,76			0,18	0,70		0,18	0,70
			0,23	0,62			0,23	0,70		0,23	0,70
			0,30	0,63			0,32	0,65		0,30	0,66
	30.IV	4.VIII	0,03	1,20	30.IV	11.VIII	0,03	1,20	NH_4NO_3	0,03	1,20
			0,06	1,20			0,06	1,20		0,06	1,20
			0,10	0,95			0,10	0,96		0,09	1,20
			0,15	0,73			0,15	0,85		0,16	0,80
			0,18	0,76			0,18	0,70		—	—
			0,23	0,56			0,23	0,70		0,23	0,67
			0,30	0,61			0,32	0,65		0,30	0,73
	21.V	12.VIII	0,03	1,20	30.IV	16.VIII	0,03	1,20	Нитрагин	0,03	1,20
			0,06	1,20			0,06	1,20		0,06	1,00
			0,10	0,90			0,10	0,95		0,09	0,95
			0,15	0,73			0,15	0,87		0,16	0,70
			0,18	0,76			0,18	0,70		—	—
			0,23	0,60			0,23	0,70		0,23	0,70
			0,30	0,65			0,32	0,61		0,30	0,65

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Кишиневская штамбовая	16.IV	2.VIII	0,03	1,20	30.IV	6.VIII	0,03	1,20	Контроль	0,03	1,20
			0,06	1,10			0,06	1,10		0,06	1,10
			0,09	1,00			0,09	1,20		0,11	1,10
			0,14	0,77			0,15	0,78		0,18	0,90
			0,18	0,83			0,18	0,79		—	—
			0,24	0,64			0,24	0,70		0,23	0,70
			0,32	0,73			0,30	0,87		—	—
	30.IV	4.VIII	0,03	1,20	30.IV	16.VII	0,03	1,20	NH_4NO_3	0,03	1,20
			0,06	1,20			0,06	1,10		0,06	1,10
			0,09	1,16			0,09	1,10		0,10	1,00
			0,13	0,77			0,15	0,77		0,18	0,80
			0,18	0,85			0,18	0,83		—	—
			0,24	0,67			0,34	0,67		0,23	0,70
			0,32	0,75			0,30	0,87		0,30	0,70
	21.V	12.VIII	0,03	1,20	30.V	16.VIII	0,03	1,20	Нитрагин	0,03	1,20
			0,06	1,20			0,06	1,20		0,07	1,00
			0,09	1,00			0,09	1,00		0,10	1,00
			0,14	0,70			0,15	0,70		—	—
			0,18	0,85			0,18	0,75		0,18	0,67
			0,24	0,65			0,24	0,64		0,23	0,64
			0,32	0,76			0,30	0,75		—	—

ний как удобрение. Применение нитрагина не сказалось на содержании белка.

Если сроки посева, уборки и некоторые удобрения оказывают положительное влияние на количественную изменчивость белка в семядолях, то не меняется ли при этом качественный состав белковых компонентов, составляющих белковый комплекс семядолей? Качественную изменчивость можно выявить при разделении белкового комплекса хроматографией на гидроксилапатите и исследовании белков хроматографических фракций электрофорезом на бумаге.

Аналитические данные хроматографического разделения суммарных белковых экстрактов семядолей фасоли сорта Молдавская белая улучшенная в зависимости от сроков посева семян приведены на хроматограмме (рис. 1). Белковые комплексы семядолей независимо от сроков посева семян разделились не менее чем на шесть хроматографических фракций, из которых количественно основными оказались две: фракция элюирующаяся исходным буфером, и фракция 0,23. При электрофорезе белков хроматографических фракций (рис. 4, *а, б, в*) оказалось, что все они не являются однородными, так как их белки состоят из нескольких электрофоретических компонентов. При этом

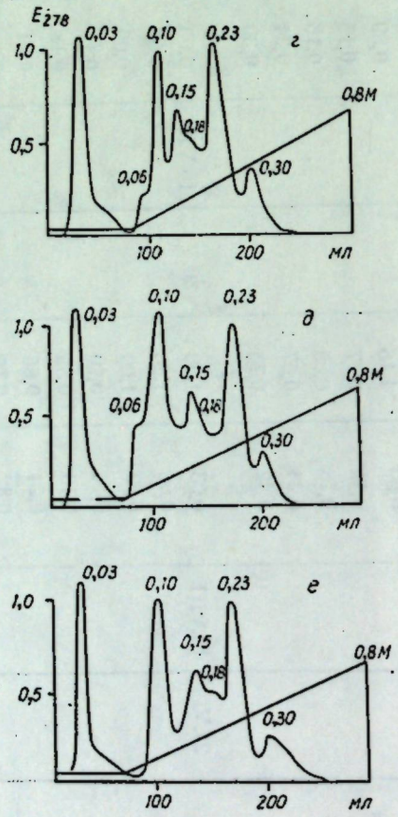


Рис. 2. Хроматограммы суммарных белковых комплексов семядолей того же сорта фасоли (Зависимость от сроков уборки).

Семена высеяны в один срок — 30.V, а убраны: *г* — 2.VIII, *д* — 11.VIII и *е* — 16.VIII. Остальные обозначения как на рис. 1

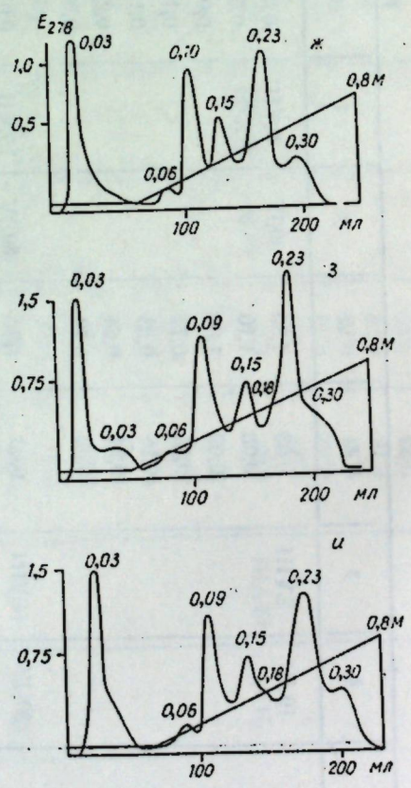


Рис. 3. Хроматограммы суммарных белковых комплексов семян фасоли того же сорта (Зависимость от удобрений):

ж — азотнокислый аммоний, *з* — семена, обработанные нитрагином, *и* — контроль. Остальные обозначения как на рис. 1

только во фракциях 0,23—0,30 элюируются белки, составляющие запасные вещества семядолей, тогда как при низких концентрациях элюирующего буфера элюируются не основные, по их количественному содержанию, а второстепенные белковые компоненты, значительная часть которых составляет основу физиологически активных веществ.

Принимая во внимание отношение экстинкций E_{260}/E_{278} хроматографических фракций (табл. 2), элюирующихся исходным буфером, и при его низких концентрациях, можно заключить, что эти фракции содержат белки, которые сопровождаются значительными количествами небелковых веществ, состоящих преимущественно из нуклеиновых кислот и углеводов, тогда как белки, элюирующиеся при высоких концентрациях буфера, оказались практически свободными от сопровождающих их небелковых веществ.

Таким образом, сроки посева не оказывают влияния не только на хроматографическое поведение суммарных белковых комплексов, но также и на электрофоретическое поведение белков хроматографических фракций. При этом нельзя обнаружить и значительных изменений сопровождающих белки веществ в соответствующих хроматографических фракциях. Все это указывает на то, что сроки посева не могут изменить качественного состава белкового комплекса семядолей.

На рис. 2 приведены хроматограммы суммарных белковых комплексов семядолей фасоли, которая была посеяна в один срок, а собрана в разные сроки (см. табл. 1). Как следует из хроматограмм, сроки уборки семян не оказывают влияния на хроматографическое поведение белковых комплексов семядолей. Полученные хроматограммы практически точно воспроизводят хроматограммы, представленные на рис. 1. Аналогичные данные получены и по электрофоретическому поведению белков хроматографических фракций (рис. 4, *г, д, е*), а также по отношениям экстинкций хроматографических фракций, указывающим на небелковые вещества, сопровождающие белки хроматографических фракций (рис. 4 и 8 см. на вкл.)

Незначительно отличаются от предыдущих хроматограмм белковых комплексов фасоли хроматограммы, полученные после применения удобрений (рис. 3, *ж, з, и*). За исключением хроматограммы белков семян, обработанных нитрагином, хроматограммы белков контрольных семян и полученных от урожая, выращенного после удобрения азотнокислым аммонием, оказались сходными с хроматограммами, приведенными на рис. 1, 2. На хроматограмме белков, полученных от урожая семян, обработанных нитрагином, до наложения градиента концентраций буфера элюировалась не одна, а две хроматографические фракции, которые отсутствовали на всех хроматограммах (рис. 1, 2, 3). В остальном все хроматограммы оказались сходными, а хроматографические фракции элюировались практически при одних и тех же концентрациях буфера. Очевидно, удобрения, влияющие на количественную изменчивость белка в семенах, не оказали никакого влияния на качественную изменчивость белковых комплексов семядолей фасоли.

Из данных, приведенных в табл. 1, следует, что белки изучаемых сортов фасоли по-разному реагируют на сроки посева и уборки. Возникает вопрос не могут ли белковые комплексы семядолей сорта Кишиневская штамбовая изменять качественный белковый состав под влиянием различных сроков посева, уборки и удобрений? Нами было предпринято хромато-хроматоэлектрофоретическое исследование белковых комплексов семядолей этого сорта фасоли.

Данные хроматографического разделения суммарных белковых комплексов семядолей сорта Кишиневская штамбовая, взятых от урожая различных сроков посева, приведены на хроматограмме (рис. 5). Отсюда видно, что белки состоят из шести-семи хроматографических фракций, элюирующихся практически при одних и тех же концентрациях буфера, что и белки семядолей сорта Молдавская белая улучшен-

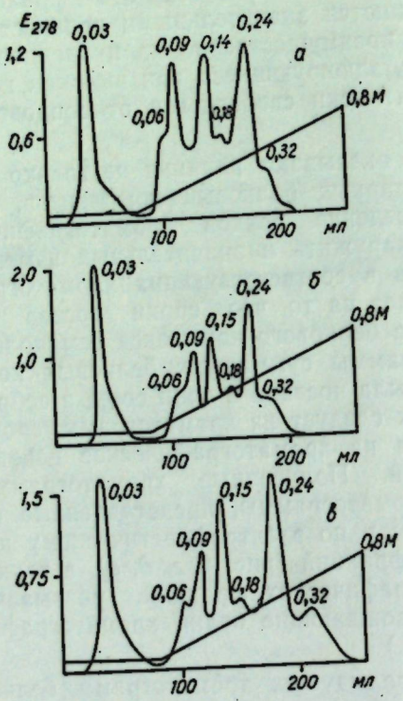


Рис. 5. Хроматограммы суммарных белковых комплексов семядолей фасоли сорта Кишиневская штамбовая.
Первые сроки посева и уборки как на рис. 1

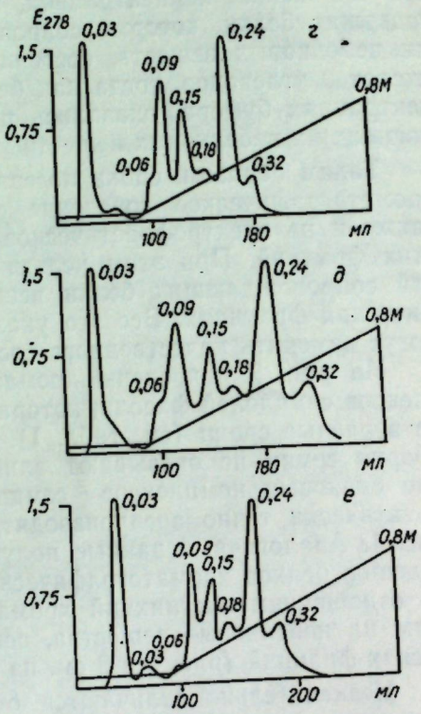


Рис. 6. Хроматограммы суммарных белковых комплексов фасоли того же сорта, высеянные в один срок, а убранные в разные сроки.
Остальные обозначения как на рис. 2

ная. В отличие от хроматограмм, приведенных на рис. 1, на которых фракция 0,18 проявляется еле заметным образом, на хроматограмме рис. 5 эта фракция выражена довольно отчетливо. Однако сроки посева не оказывают существенного влияния на качественный состав белковых комплексов. Это подтверждается и данными электрофоретического поведения белков хроматографических фракций (рис. 8, *а, б, в*).

На рис. 6 представлены хроматограммы белковых компонентов семядолей семян, высеянных в один день, а убранных в различные сроки. Из приведенных данных видно, что сроки уборки семян сорта Кишиневская штамбовая не влияют на качественный состав белковых комплексов семядолей. Эти белковые комплексы по хроматографическому поведению точно соответствуют белковым комплексам семядолей сорта Молдавская белая улучшенная тех же сроков уборки. Фракции 0,18 выражены более отчетливо, чем на хроматограмме, приведенной на рис. 2. Данные электрофоретического поведения белков хроматографических фракций (рис. 8, *г, д, е*) оказались сходными с данными, приведенными на электрофореграммах (рис. 4, *г, д, е*).

Следовательно, по хромато-электрофоретическому поведению белковых комплексов семядолей сортов фасоли не была выявлена межсортовая разница, а на поведение белков не оказывают влияния ни сроки посева, ни сроки уборки. Хроматограммы семядолей, обработанных нитрагином, содержат не одну, а две фракции, элюирующиеся исходным буфером, хотя вторая фракция выражена незначительными величинами (рис. 7).

Данные электрофореза белков хроматографических фракций не дают основания считать, что удобрения влияют на качественную изменчивость белков этого сорта (рис. *8, ж, з, и*).

Как было показано отношениями экстинкций хроматографических фракций белковых комплексов семядолей сорта Молдавская белая улучшенная, белки фракций, элюирующиеся при низких концентрациях буфера, сопровождаются значительными количествами небелковых веществ. Такого рода данные точно воспроизводятся и на аналогичных фракциях сорта Кишиневская штамбовая независимо от сроков посева, уборки и внесения удобрений (табл. 2).

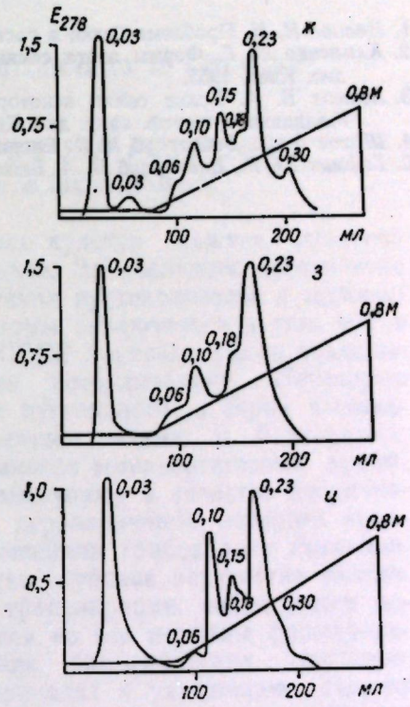


Рис. 7. Хроматограммы суммарных белковых комплексов семядолей того же сорта в зависимости от удобрений.
Остальные обозначения как на рис. 3

Таким образом, установлено, что минорные белковые компоненты сопровождаются значительными количествами небелковых веществ, относящихся в основном к нуклеиновым кислотам и углеводам, тогда как количественно основные глобулиновые компоненты семядолей практически лишены небелковых веществ.

Выводы

Для хромато-электрофоретического исследования были взяты суммарные солерастворимые белковые комплексы семядолей двух сортов фасоли: Молдавской белой улучшенной и Кишиневской штамбовой, которые были высеяны и убраны в различные сроки, а также подвергались подкормке некоторыми удобрениями. Установлено, что сроки посева, уборки и некоторые, особенно азотные, удобрения оказывают влияние на изменение количественного содержания суммарного белка в семядолях, но ни сорт, ни сроки его посева и уборки, а также удобрения не оказывают заметного влияния на качественный состав бел-

ковых компонентов суммарных белковых комплексов. Это доказано данными хромато-электрофоретического поведения суммарных белков и белков хроматографических фракций.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Иванов Н. Н.* Проблема белка в растениеводстве. М., 1947.
2. *Клименко В. Г.* Формы азота семян и белков семейства бобовых. Автореф. докт. дис. Киев, 1955.
3. *Азимов Б. А.* Белки семян некоторых бобовых, выращенных в Таджикистане и Молдавии. Автореф. канд. дис. Кишинев, 1972.
4. *Шутов А. Д., Вайнтрауб И. А.* Биохимия, т. 31, 726, 1966.
5. *Гофман Ю. Я., Вайнтрауб И. А.* Биохимия, т. 25, 1049, 1960.

Известия Академии наук Молдавской ССР,
Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г.

МИКОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

УДК 631.466:632.25

А. И. БРЫНЗА, М. Н. ЛАЗУ, И. С. ПОПУШОЙ, Ш. М. ГРИНБЕРГ

ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM* НА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЕ В МОЛДАВИИ

В повышении урожайности зерновых культур важное значение имеет борьба с болезнями хлебных злаков. За последнее десятилетие стало уделяться внимание изучению причин пустоколосости и щуплости зерна. Особенность изучаемой проблемы заключается в том, что в разных почвенно-климатических зонах СССР корневые гнили возделываемых злаков вызываются различными возбудителями. Некоторые исследователи [5, 10, 14] считают, что пустоколосость зерна вызывается как корневыми гнилями, так и фитонематодами и бактериями. При этом, по мнению этих авторов, многие микроорганизмы, принимающие участие в развитии болезни, выступают в качестве вторичного явления патологического процесса, первопричиной которого является паразитизм на растениях озимой пшеницы грибов рода *Fusarium*.

В пораженных растениях происходят глубокие нарушения азотного обмена, повышается интенсивность транспирации, наблюдается пониженное поступление в зерно углеводов во все периоды формирования и созревания зерна [10]. Изменения биохимических процессов, возникшие в результате поражения, приводят к ухудшению качества зерна: резко снижается вес зерна, содержание крахмала, повышается доля водорастворимой фракции белка, снижается содержание клейковинных белков [4, 8, 18, 19].

В Молдавской ССР посевы озимой пшеницы повсеместно поражаются этим заболеванием на протяжении последних пяти лет. Наиболее радикальным способом в борьбе с корневыми гнилями является введение в практику устойчивых сортов растений. Однако к настоящему времени такие сорта еще не выведены. Более того, корневыми гнилями стали поражаться такие высокопродуктивные сорта озимой пшеницы, как Безостая 1 и Мироновская 808 [3, 7]. В связи с этим не вызывает сомнения, что борьба с корневыми гнилями будет успешной при знании физиолого-биохимических особенностей возбудителя и токсических веществ, определяющих его патогенность.

Цель настоящей работы изучить фитотоксичность грибов рода *Fusarium*, выделенных с озимой пшеницы в фазе кущения и идентифицированных сотрудниками лаборатории микологии и вирусологии АН МССР.

Материал и методы

Объектом исследований служили одиннадцать культур грибов рода *Fusarium*. Грибы хранили на пивном сусле-агаре при 4°С. В качестве посевного материала использовали двухнедельные культуры

грибов. В каждую колбу вносили 235 000 спор. Грибы культивировали в стационарных условиях на среде Чапека в 250 *мл* колбах Эрленмейера при 25°С. Перед определением токсичности культуральную жидкость отделяли от мицелия фильтрованием. Для определения фитотоксической активности исследуемых культур грибов использовали биопробы на семенах растений озимой пшеницы сорта Кавказ и кукурузы сорта Краснодарский гибрид 303 [6]. О наличии в культуральной жидкости фитотоксинов судили по ростовым эффектам. Токсичными считали культуры, вызывающие угнетение роста проростков не менее чем на 30% по сравнению с контролем (стерильная среда Чапека). Токсичность культуральной жидкости определяли в динамике роста грибов на 3, 7, 11 и 14-й день. Полученные данные обрабатывали математически [16].

Результаты и обсуждение

Данные о влиянии продуктов метаболизма изучаемых грибов представлены в табл. 1, 2. Грибы рода *Fusarium* по-разному влияют на рост проростков озимой пшеницы (табл. 1). Одни из них в большой степени подавляют рост, другие этим свойством не обладают. На третьи сутки роста все виды *Fusarium* не оказывают влияния на длину проростков. На седьмые сутки наблюдается значительное ингибирование роста грибами *F. javanicum* шт. 1 и *F. geterosporum* шт. 3. У одиннадцатисуточных культур это действие усиливается и максимальное ингибирование дают *F. javanicum* шт. 2 (42,1%), *F. gibbosum* f. *bullatum* (47,8%) и *F. geterosporum* шт. 3 (30,1%). На четырнадцатые сутки подавление роста проростков озимой пшеницы продуктами метаболизма этих грибов несколько уменьшается, но усиливается у *F. solani* (44%). Усиление фитотоксичности грибов рода *Fusarium* с увеличением их возраста установлено также Пидопличко [15]. Можно предположить, что наблюдаемое в наших опытах наибольшее ингибирование связано с наличием максимальной концентрации токсинов. Действительно, Nummi с сотрудниками [17] показали, что замедление роста и развития проростков ячменя находится в прямой зависимости от концентрации Т—2 токсина (экокситрихотецин) грибов рода *Fusarium*.

В результате проведенной работы установлено также, что разные штаммы одного и того же вида *Fusarium* отличаются по фитотоксичности. Так, из трех штаммов *F. geterosporum* наибольшим фитотоксичным действием обладал третий штамм. Остальные два либо не оказывали никакого влияния (шт. 1), либо подавляли рост на незначительную величину (шт. 2). Аналогичное наблюдается и для штаммов *F. javanicum*. Из этого следует, что указанные штаммы обладают различными физиолого-биохимическими особенностями. Одной из возможных причин наблюдаемых различий в степени фитотоксичности могут быть условия питания грибов. Исследования, проведенные различными авторами на грибах рода *Fusarium*, подтверждают это предположение. Билай с сотрудниками [1] установила, что соотношение углерода и азота в питательных средах оказывает влияние на биосинтез никотиновой и фузариевой кислот у штамма *F. oxysporum* 100 109. В частности, образование фузариевой кислоты (токсина гриба) происходит на средах с высоким содержанием углерода и низким уровнем дыхания. В вегетационных опытах Палецкой с сотрудниками [3] показано, что внесение органического вещества в почву увеличивает количество сапрофитных, авирулентных форм гриба *F. oxysporum* f. *vasinfectum*.

Таблица 1

Влияние продуктов метаболизма грибов рода *Fusarium* на длину проростков озимой пшеницы (сорт Кавказ)

Грибы	Длина проростков									
	3-и сутки		7-е сутки		11-е сутки		14-е сутки			
	мм	% от контроля	*мм*	% от контроля	*мм*	% от контроля	*мм*	% от контроля		
F. javanicum шт. 1	78,4±1,9	85,3	54,0±3,7	67,6	62,1±1,7	77,0	63,7±2,2	80,9		
F. javanicum шт. 2	88,0±1,9	95,7	67,3±1,7	84,3	46,7±2,2	57,9	54,1±1,6	68,7		
F. gibbosum f. *bullatum*	87,5±1,9	95,2	58,8±1,9	73,6	42,1±2,4	52,2	49,6±2,1	63,0		
F. avenaceum шт. 1	90,5±1,7	98,4	71,2±1,8	89,6	77,4±2,2	96,0	57,0±2,2	72,4		
F. avenaceum шт. 2	89,8±2,0	97,7	79,3±2,2	99,3	72,2±2,5	89,5	64,4±2,5	81,8		
F. avenaceum шт. 3	82,6±2,0	89,8	71,7±1,6	89,8	84,9±2,4	105,3	78,9±2,0	100,2		
F. geterosporum шт. 1	91,3±1,9	99,3	80,2±1,8	100,5	87,0±2,9	107,9	74,1±2,1	94,1		
F. geterosporum шт. 2	97,9±1,5	106,5	64,0±1,8	80,2	83,1±2,7	103,1	70,7±1,7	89,8		
F. geterosporum шт. 3	79,1±2,6	86,0	53,4±2,4	66,9	56,4±2,8	69,9	60,3±2,0	76,6		
Контроль	91,9±2,2	100,0	79,8±2,8	100,0	80,6±4,0	100,0	78,7±2,7	100,0		
F. moniliforme	84,6±2,8	93,4	88,1±2,4	104,0	77,5±2,4	108,5	86,9±2,5	93,5		
F. solani	73,5±2,6	82,4	68,3±2,8	80,6	64,0±2,6	97,8	63,4±2,8	66,0		
Контроль*	90,5±3,2	100,0	84,7±3,6	100,0	65,4±3,4	100,0	96,0±3,3	100,0		

* Вторая серия опытов.

Таблица 2

Влияние продуктов метаболизма грибов рода *Fusarium* на длину проростков кукурузы (сорт Краснодарский гибрид 303)

Грибы		Длина проростков							
		3-и сутки		7-е сутки		11-е сутки		14-е сутки	
		мм	% от контроля	мм	% от контроля	мм	% от контроля	мм	% от контроля
F. javanicum	шт. 1	20,1±3,5	74,6	20,0±3,9	114,2	12,1±5,2	50,8	15,2±4,0	58,6
F. javanicum	шт. 2	24,3±3,5	90,6	17,6±3,4	100,0	9,3±3,4	39,0	5,7±4,7	22,0
F. gibbosum f. *bullatum*		24,7±4,2	90,7	14,5±3,8	82,9	5,2±4,2	21,8	5,6±3,8	21,5
F. avenaceum	шт. 1	20,2±3,7	82,0	16,3±3,6	93,1	4,6±4,1	19,3	10,1±3,2	38,5
F. avenaceum	шт. 2	29,0±4,4	108,2	23,5±4,4	134,2	14,5±4,7	60,0	14,1±6,6	54,4
F. avenaceum	шт. 3	30,1±3,5	112,7	22,4±3,9	128,0	13,5±4,5	56,0	22,7±4,0	87,2
F. geterosporum	шт. 1	26,3±3,8	98,1	23,2±3,9	132,5	13,3±4,9	55,8	24,2±3,7	93,4
F. geterosporum	шт. 2	21,3±3,8	79,1	21,3±4,0	121,7	18,6±4,2	78,1	17,9±3,6	61,9
E. geterosporum	шт. 3	30,1±4,7	112,3	19,8±4,6	113,1	15,3±4,4	64,2	22,2±4,4	85,7
Контроль		26,8±4,7	100,0	17,5±6,5	100,0	23,8±5,9	100,0	25,9±5,3	100,0
F. moniliforme		16,0±4,8	73,7	19,5±3,1	85,1	19,3±4,4	92,3	19,5±4,3	89,0
F. solani		16,2±5,0	74,6	14,8±3,6	64,1	15,4±4,5	74,5	19,5±3,9	89,0
Контроль		21,7±6,3	100,0	22,9±5,8	100,0	20,8±5,3	100,0	21,9±5,3	100,0

Напротив, недостаточное почвенное питание ведет к повышению агрессивности этого гриба, чем объясняется потеря устойчивости у новых сортов хлопчатника [9].

Представлялось интересным выяснить, сохраняются ли выявленные нами закономерности по токсичности грибов *Fusarium* на озимой пшенице по отношению к другим растительным объектам. С этой целью для первичного отбора грибов — продуцентов токсинов нами были выбраны проростки кукурузы. Полученные результаты приведены в табл. 2. Продукты метаболизма грибов *Fusarium* оказывают большее фитотоксичное действие на рост проростков кукурузы, чем у озимой пшеницы. Максимальное подавление роста проростков кукурузы, как и в случае с озимой пшеницей, проявляется на 11 и 14-е сутки роста. Исключение из этого составляет *F. solani,* у которого наибольшая ингибирующая способность наблюдается на 7-е сутки роста (35,9%). Самой большой фитотоксичностью обладали на 14-е сутки роста *F. javanicum* (78%), *F. gibbosum* f. *bullatum* (78,5%). Необходимо отметить, что почти все изучаемые грибы, за исключением *F. moniliforme,* вызывают подавление роста проростков кукурузы. Одной из возможных причин наблюдаемого явления может быть большая чувствительность кукурузы к токсинам грибов рода *Fusarium*. Изучая влияние различных доз дендродохина и фузарина — токсинов гриба *F. sporottrichiella* на всхожесть и рост проростков различных растений, Брюхина и Метейко [2] установили, что в концентрации 10—100 *мкг* фузарин оказывал стимулирующее действие на рост проростков пшеницы, в то время как эти же концентрации резко угнетают развитие проростков овса. Сысоенко [12] отмечает, что бобовые культуры более устойчивы к токсинам фузариума, чем растения крестоцветных, пасленовых, тыквенных.

Заключение

Многие годы пустоколосость и щуплость зерна хлебных злаков привлекают внимание ученых различных специальностей: микологов и фитопатологов, биохимиков и селекционеров, работников сельского хозяйства. Однако эта проблема не решена. Не разработаны радикальные меры борьбы с этим заболеванием, что является следствием недостаточной изученности этиологии самого заболевания и характера взаимодействия патогенов с растением-хозяином. Сказанное в полной мере относится и к территории Молдавии, где до настоящего времени эти вопросы остаются слабо изученными. Проведенная работа является первичным этапом отбора активных продуцентов фитотоксинов грибов рода *Fusarium,* выделенных с озимой пшеницы в фазу кущения. Разработка эффективных мер борьбы с заболеванием, вызывающим пустоколосость и щуплость зерна, требует детального изучения этиологии заболевания на всех фазах развития растений, а также выяснения физиолого-биохимических процессов, способствующих повышению устойчивости растений к заболеванию. Поэтому большой интерес представляет изучение роли энергетического обмена, каталитически активных белков и нукленновых кислот в системе растение—хозяин—патоген.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Билай В. И., Щербина С. М., Богомолова Л. Р., Проскурякова Н. С.* Микробиол. журн., 36, вып. 3, 293, 1974.
2. *Брюхина И. П., Метейко Т. Я.* Микробиол. журн., 33, вып. 2, 211, 1971.

3. *Ветров Ю. Ф., Коршунова А. Ф., Моршацкий А. А., Хохряков М. К., Чулкина В. А.* Микология и фитопатология, т. 5, вып. 2, 148, 1971.
4. *Дурынина Е. П., Великанов П. Л.* Биол. науки № 12, 74, 1974.
5. *Колодийчук В. Д.* Наук. праці. Укр. сільскогосподар. Акад. вып. 130, 154, 158, 1975.
6. Методы экспериментальной микологии. Киев, «Наукова думка», 1973.
7. *Младенов М.* «Растениеводни науки», 11, № 2, 153, 1974.
8. *Моршацкий А. А.* Зрощуване землеробство. Респ. Міжвід. темат. наук. зб. вып. 11, 28, 1971.
9. *Муратмухамедов Х. В.* В сб.: Изучение растительности Туркмении. Ашхабад, «Илым», 181, 1975.
10. *Мусатова Л. Н.* Наук. праці Укр. сільскогосподар. Акад. вып. 32, 132, 1971; там же, вып. 96, 136, 1973.
11. *Рогинский В. З., Пеккер Е. Г., Башмаков Р. А., Рогинская В. А.* Сибир. вестник с.-х. науки, № 6, 25, 1974.
12. *Сысоенко В. Г.* Изв. ТСХА, вып. 4, 143, 1972.
13. *Палецкая Л. Н., Кисилева Н. Т., Журавлева В. П., Горина Э. И., Сарнева А. Н.* Микология и фитопатология, т. 7, вып. № 6, 515, 1973.
14. *Пересыпкин В. Ф., Колодийчук В. Д.* Доклады ВАСХНИЛ, № 12, 5, 1969.
15. *Пидопличко В. М.* Микробиол. журн., т. 32, вып. 6, 700, 1970.
16. *Плохинский Н. А.* Биометрия. Изд-во МГУ, 1970.
17. *Nummi M., Niku-Palvola M. Z., Enari T. M.* Vermalzung-Bramvis-senshaff, 28, N 5, 130, 1975.
18. *Jovicevic B.* „Last bilga" 23, N 121, 305, 1972.
19. *Kiiked E.* „Novenyvedelm", 8, N 7, 289, 1972.

УДК 577.17.049:582.951.4.621

Г. Л. ШАТРОВА, Л. Д. БУИМИСТРУ

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ, МОЧЕВИНЫ И ХЛОРИСТОГО КАЛИЯ В БОРЬБЕ С ВЕРТИЦИЛЛЕЗНЫМ ВИЛТОМ БАКЛАЖАНОВ

Изучением вертициллезного вилта в Советском Союзе и за рубежом занимаются многие исследователи [3, 4, 7]. Однако многие вопросы проблемы вилта остаются и по сей день неразрешенными, а главное — рациональные средства борьбы с этим заболеванием еще не найдены. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что в системе мер борьбы с вилтом наиболее эффективным является правильно подобранный режим питания.

Многочисленными исследованиями показана возможность повышения устойчивости сельскохозяйственных культур к болезням, в том числе к вилту хлопчатника, путем применения микроэлементов [1, 2]. В условиях Узбекистана [5, 6] доказано положительное влияние мочевины, хлористого калия на повышение устойчивости хлопчатника к различным заболеваниям.

Однако многие вопросы этого направления требуют разработки с учетом конкретных особенностей овощеводческих зон Молдавии.

Нами проводились лабораторные и полевые опыты.

Методика

В лабораторных опытах основное внимание было направлено на выявление фунгицидных свойств испытываемых микроэлементов по отношению к грибу *Verticillium dahliae* Kleb. С этой целью возбудитель вилта выращивали на сусло-агаровой среде с добавлением 1 и 1,5% микроэлементов: Mn, B, Zn, мочевины, хлористого калия. Чтобы исключить воздействие каких-либо примесей, использовали бидистиллированную воду. Опыты проводили серийно в чашках Петри, в 5—6-кратной повторности. Гриб выращивали в термостате при температуре 25°С. Наблюдения за ростом и развитием гриба вели на 3-й, 5, 15 и 30-й дни после посева.

В полевых опытах изучалось влияние микроэлементов, мочевины, хлористого калия на рост, развитие и вилтоустойчивость баклажанов.

Объектом исследования служили баклажаны сорта Донской-14. Опыты проводили на площади 1 *га* по следующей схеме:

1. Контроль (без удобрений)
2. Контроль — фон — N_{200}, P_{150}, K_{75}
3. Фон+Mn 0,05
4. Фон+B 0,15
5. Фон+Zn 0,1
6. Фон+Zn 0,05
7. Фон+KCl 1,0
8. Фон+мочевина 1,5

Почва — чернозем обыкновенный, мощный, тяжелосуглинистый, на тяжелом суглинке. В полевых опытах растения опрыскивали растворами микроэлементов в концентрации 0,05; 0,1 и 1%-ной хлористого калия и 1,5%-ной мочевиной.

Обработка осуществлялась дважды в течение вегетации: в фазу 4—5 настоящих листьев из расчета 400 *л/га* и бутонизации из расчета 600 *л/га*.

При этом вели наблюдения за динамикой роста и развития растений, пораженностью, определяли сроки проявления заболевания, а также величину урожая. Баклажаны возделывали ленточным способом по схеме размещения 80×45×30 *см*.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных лабораторных исследований установлено:

1. Микроэлементы: марганец, бор, цинк в 1%-ной концентрации оказывают фунгицидное действие на гриб *V. dahliae*, полностью подавляя его рост и развитие (рис. 1, *а*);

2. На питательной среде, в число компонентов которой входили 1,5%-ная мочевина и 1%-ный хлористый калий, в конце опыта рост гриба *V. dahliae* замедлялся в сравнении с контролем (рис. 1, *б*).

Проверка в полевых условиях подтвердила эффективность микроэлементов, хлористого калия против вилта.

Таблица 1

Динамика развития заболевания баклажанов вилтом в зависимости от условий питания

Вариант опыта	Развитие болезни					Урожай, ц/га
	27. VII	13. VIII	24. VIII	10. IX	1. X	
Контроль—без удобрений	13	22	36	42	48	127
N_{200} P_{150} K_{75}—фон—контроль	10	15	25	30	32	129
Фон+$Mn_{0,05\%}$	3	10	16	21	24	134
Фон+$B_{0,15\%}$	5	12	19	23	26	133
Фон+$Zn_{0,05\%}$	11	32	40	45	48	126
Фон+$Zn_{0,1\%}$	7	14	23	27	30	130
Фон+$KCl_{1,0\%}$	4	11	18	24	28	130
Фон+Мочевина$_{1,5\%}$	7	15	26	30	36	129

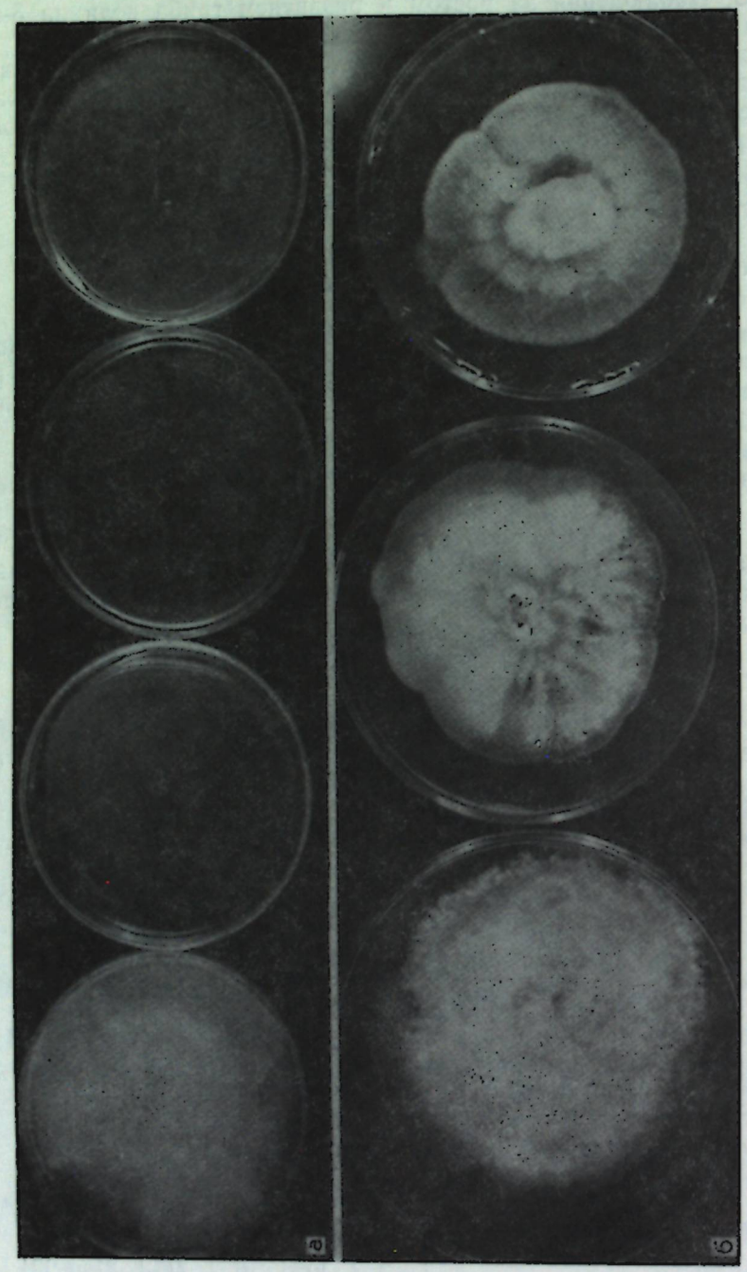


Рис. 1. Влияние микроэлементов, мочевины, хлористого калия на гриб *Verticillium dahliae* Kleb в чистой культуре:
а — микроэлементы — контроль, марганец, бор, цинк; *б* — контроль, мочевина, хлористый калий (слева направо)

При комбинированной подкормке растений микроэлементами в сочетании с азотом, фосфором, калием были получены определенные положительные результаты.

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что развитие вилта по вариантам опыта резко меняется и, в соответствии со степенью

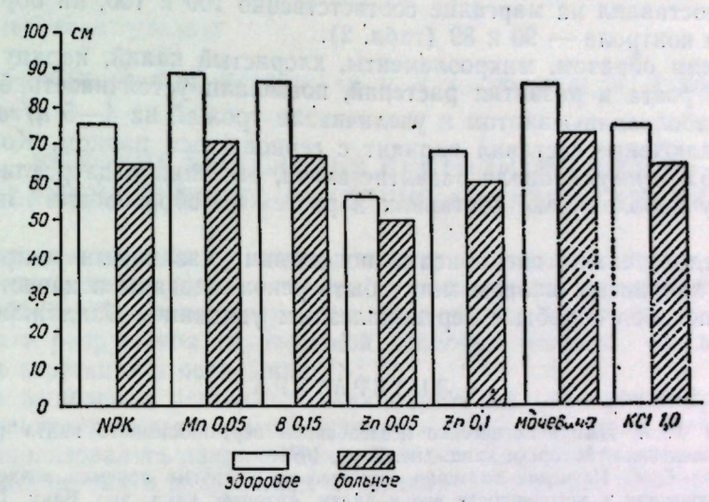


Рис. 2. Динамика высоты куста баклажанов в зависимости от условий питания

поражения, изменялась величина урожая баклажанов. При внекорневых подкормках марганцем, бором, хлористым калием развитие болезни снизилось до 24, 26 и 28% соответственно при 48% в контроле.

Следует отметить эффективность марганца, бора, хлористого калия. Так, по фону NPK при наименьшем проценте развития вилта получен наибольший урожай 134, 133 и 130 *ц/га* против 129 *ц/га* в контроле.

Применение марганца, бора, мочевины оказало положительное влияние на рост и развитие растений баклажанов. Высота куста в

Таблица 2

Влияние микроэлементов на цветение и плодообразование баклажанов

Вариант опыта	Состояние растения	Цветение					Плодообразование				
		Сроки отбора									
		27.VII	13.VIII	24.VIII	10.IX	1.X	27.VII	13.VIII	24.VIII	10.IX	1.X
Контроль—без удобрений	Здоровые	—	40	53	65	75	—	3	8	52	60
	Больные	—	30	45	55	65	—	0,5	4	45	52
N_{200} P_{150} K_{75}—фон	Здоровые	5	58	75	87	90	—	6	16	80	89
	Больные	—	50	70	78	85	—	3	10	70	82
Фон+$Mn_{0,05}$	Здоровые	10	71	92	100	100	3	10	29	90	100
	Больные	3	54	76	83	83	—	4	20	80	92
Фон+$B_{0,15}$	Здоровые	7	63	84	90	100	0,5	8	22	85	96
	Больные	—	50	73	80	90	—	5	15	74	90
Фон+$Zn_{0,05}$	Здоровые	—	45	60	76	88	—	4	17	70	80
	Больные	—	35	55	60	80	—	1,5	10	62	70
Фон+$Zn_{0,1}$	Здоровые	—	56	77	90	95	—	9	17	78	92
	Больные	—	44	65	79	88	—	5	13	67	86

варианте с марганцем — 88,2 *см*, с бором — 83,0 и мочевиной — 81,0, тогда как в контроле 68,0 *см* (рис. 2).

Наступление фаз цветения, плодообразования на контроле запаздывает на 2 недели по сравнению с вариантами, где вносили марганец и бор. Процент цветущих и плодообразующих растений к концу вегетации составлял на марганце соответственно 100 и 100, на боре — 100 и 96, на контроле — 90 и 89 (табл. 2).

Таким образом, микроэлементы, хлористый калий, наряду с улучшением роста и развития растений, повышали устойчивость баклажанов к заболеванию вилтом и увеличивали урожай на 4—5 *ц/га*.

Исключение составил вариант с сернокислым цинком. Концентрация 0,05% стимулировала развитие вилта, растения подвергались более раннему заболеванию, отставали в росте и образовании плодоэлементов.

Следовательно, внекорневые подкормки указанными микроэлементами и хлористым калием могут быть рекомендованы в качестве одного из способов борьбы с вертициллезным увяданием баклажанов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабаев Ф. А.* Иммунологические исследования вертициллезного вилта (увядания) хлопчатника. Автореф. канд. дис. Баку, 1971.
2. *Бабиров Г. Г.* Изучение значения термических и других приемов воздействия на хлопчатник в устойчивости его к вилту. Автореф. канд. дис. Баку, 1970.
3. *Исаев Б.* Влияние условий корневого питания на устойчивость хлопчатника к заболеванию вертициллезным вилтом. Автореф. канд. дис. Ташкент, 1965.
4. *Рзаева С. И.* Физиологические показатели устойчивости хлопчатника к вилту при применении микроэлементов и полимикроудобрений. Автореф. канд. дис. Кировабад, 1971.
5. *Урунов И. С.* Тр. Ср. Аз. НИИ защиты растений, вып. 7. Ташкент, 1965.
6. *Урунов И. С.* В кн.: Вопросы улучшения организации защиты хлопчатника от вредителей и болезней. Ташкент, 1969.
7. *Roberts F. N.* The annales of applied biology, v. 30, N 4, 1943.

Известия Академии наук Молдавской ССР,
Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г.

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 633.154.2.065:577.154.35.07

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

УСЛОВИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ГРИБА *RHIZOPUS ARRHIZUS* FISCHER

Выделение ферментов осуществляется в основном путем осаждения органическими растворителями и высаливания неорганическими солями [1,6]. При этом осаждение ферментных белков происходит в результате разрушения гидрофобной оболочки молекул, что и приводит к их агрегации и осаждению [5].

Для выделения пектолитических ферментов из концентрированного фильтрата культуральной жидкости гриба *Rhizopus arrhizus Fischer* использовались широко применяемые как в отечественной промышленности, так и за рубежом осадители ферментов: этиловый спирт (ректификат), ацетон (х. ч.) и аммоний сернокислый (х. ч.) [1].

Целью настоящей работы является выбор наилучшего осадителя, установление его оптимальной температуры, фильтрата культуральной жидкости, времени контакта с осадителями, концентрации осадителя.

Методы исследования

Осаждение ферментов проводили из концентрированного фильтрата культуральной жидкости (ФКЖ) pH от 3,0 до 8,0 с использованием этилового спирта и ацетона (расход от 2 до 6 объемов на 1 объем ФКЖ при температуре осадителя от +20 до —8°С в течение 0,5—24 часов), а также $(NH_4)_2SO_4$ при полном насыщении. Осадки ферментов отделяли центрифугированием (10 000 *об/мин* в течение 20 мин), переносили на воронку Бюхнера, сушили спиртом и определяли в них пектолитическую активность [2, 3] и белок [4]. Фермент, осажденный сернокислым аммонием, растворяли в минимальном объеме ацетатного буфера (0,1М, pH 4,5) и после диализа анализировали.

Результаты исследований

При выборе осадителя расход спирта и ацетона составлял 5 объемов на 1 объем концентрированного ФКЖ, а сернокислого аммония — до полного насыщения. Данные табл. 1 показывают, что максимальный выход активности пектолитических ферментов (до 95%), в том числе и экзополигалактуроназы, наблюдается при осаждении концентрированного ФКЖ гриба *Rh. arrhizus* Fischer сернокислым аммонием. Однако при этом осадок фермента плохо сохнет, содержит много соли и трудно растворим в воде. Из органических растворителей лучшим осадителем пектолитических ферментов оказался этиловый спирт. В этом случае осадок получается легкий белого цвета, хорошо растворимый в воде.

Таблица 1

Выделение пектолитических ферментов из ФКЖ гриба *Rh. arrhizus* Fischer различными осадителями (ПкАи исходного концентрата ФКЖ 1070 *ед/мл*)

Осадитель	Выход препарата, *г/л*	Содержание белка, *мг/г*	ПкАи		Экзо-ПГ ПГА/А		Выход фермента по белку, %
			ед/г	% от исходного	*ед/г*	% от исходной	
Этиловый спирт	29	75	31214	84,6	1380	76	35
Ацетон	29	95	21420	59,2	1340	55	40
$(NH_4)_2SO_4$	12 *мл*	11 *мг/мл*	2117 *ед/мл*	95,0	102 *ед/мл*	93	88

В последующей работе использовался этиловый спирт. В связи с этим подбирались оптимальные условия осаждения пектолитических ферментов ФКЖ гриба *Rh. arrhizus* Fischer этиловым спиртом.

Таблица 2

Влияние температуры этилового спирта на пектолитическую активность ферментного препарата из ФКЖ гриба *Rh.arrhizus* Fischer (ПкАи исходного концентрата ФКЖ 475 *ед/мл*)

Температура этилового спирта, °С	Выход препарата, *г/л*	Пектолитическая активность (ПкАи), *ед/г*	Выход по активности, % от исходной
+20	31	9 860	68
+5	34	11 819	84
+1	30	12 900	82
—8	34	7 820	56

В табл. 2 приведены данные по изучению зависимости выхода и активности ферментного препарата от температуры осадителя (расход спирта — 5:1).

При осаждении фермента из концентрированного ФКЖ максимальный выход пектолитической активности наблюдается при температуре этилового спирта от +1 до +5°С. При этом осадок хорошо отделяется от супернатанта и быстро сохнет в отличие от осадка фермента, полученного при температуре —8°С.

Как показали исследования, на выход и активность ферментного препарата при осаждении оказывает влияние pH концентрированного ФКЖ (табл. 3). Максимальный выход ферментного препарата по активности наблюдается при pH 3,0. При этом ферментный осадок получается белого цвета и быстро сохнет, в отличие от фермента, полученного из ФКЖ с pH 7—8.

Таблица 3

Влияние pH ФКЖ на осаждение пектолитических ферментов этиловым спиртом (ПкАи исходного концентрата ФКЖ 786 *ед/мл*)

pH ФКЖ	Выход препарата, *г/л*	Содержание белка, *мг/г*	ПкАи		Экзо/ПГ (ПГА/А)		Выход по белку, %
			ед/г	% от исходной	*ед/г*	% от исходной	
3	29	75	22 244	84	1 380	78	37
4	29	"	20 400	75	1 300	72	37
5	30	"	18 562	70	1 275	74	38
6	30	"	17 365	68	1 250	74	39
7	32	"	15 485	63	1 232	76	40
8	33	"	14 215	60	1 230	75	42

Зависимость выхода и активности ферментного препарата от времени контакта осадителя и ФКЖ отражена в табл. 4 (расход спирта — 5:1).

Из полученных данных следует, что время контакта ФКЖ с этиловым спиртом не оказывает влияния на пектолитическую активность

Таблица 4

Влияние времени контакта ФКЖ гриба *Rh. arrhizus* Fischer с этиловым спиртом на выход и активность ферментного препарата (ПкАи исходного концентрата ФКЖ 467 *ед/мл*)

Время контакта, *ч*	Выход препарата, *г/л*	Содержание белка, *мг/г*	ПкАи, *ед/г*	Выход по активности, %	Выход по белку, %	Удельная активность, *ед/мг* белка
0,5	31	50	12 000	80	32	239
1	31	50	"	"	32	239
16	31	55	"	"	38	218
24	31	62	"	"	45	195

ферментного препарата. С увеличением времени контакта до 24 часов содержание белка в ферментном препарате возрастает.

Кроме того, была установлена оптимальная концентрация этилового спирта при осаждении концентрированного ФКЖ гриба (табл. 5).

Таблица 5

Влияние концентрации этилового спирта при осаждении ферментного препарата из ФКЖ гриба *Rh. arrhizus* Fischer на выход пектолитической активности (ПкАи исходного концентрата ФКЖ 475 *ед/мл*)

Соотношение объемов спирта и ФКЖ	Концентрация этилового спирта, %	Выход препарата, *г/л*	Пектолитическая активность (ПкАи), *ед/г*	Выход по активности, % от исходной	Содержание белка, *мг/г*	Выход по белку, %	Расчетная концентрация этилового спирта, %
2:1	66	20	17 812	75	86	26	63
3:1	74	28	13 571	80	80	34	71
4:1	78	30	12 983	82	80	37	76
5:1	82	32	12 764	86	80	38	79
6:1	86	32	12 764	86	80	38	81

Максимальный выход ферментного препарата из упаренного ФКЖ гриба *Rh. arrhizus* Fischer наблюдается при осаждении этиловым спиртом в концентрации 78—82%, в то время как активность ферментного препарата с повышением концентрации спирта снижается.

Выводы

1. Максимальная пектолитическая активность наблюдается при осаждении ФКЖ гриба *Rh. arrhizus* Fischer сернокислым аммонием.
2. Из органических растворителей этиловый спирт оказался лучше ацетона.
3. Подобраны оптимальные условия осаждения этиловым спиртом: температура осадителя +1, +5°С; концентрация спирта 78% (4 объема на 1 объем ФКЖ); значение pH концентрированного ФКЖ при осаждении 3,0; время контакта — не имеет значения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Воронова Л. И., Херсонова Л. А., Яровенко В. Л., Двадцатова Е. А.* Ферментная и спиртовая пром-сть. № 2, 39, 1975.
2. *Лифшиц Д. Б.* Унифицирование методов определения активности ферментных препаратов производственного значения. Киев, 1967.
3. *Рухлядева А. П., Корчагина Г. Т.* Прикладная биохимия и микробиология, № 6, 922, 1973.
4. Современные методы в биохимии. М., «Медицина», 1964, с. 81.
5. *Шульман М. С.* Внедрение ферментных препаратов в народное хозяйство, ч. I. М., ЦИНТИпищепром, 1961.
6. *Шульман М. С.* Коллоидн. журн., т. 27, № 2, 284, 1965.

УДК 576.809.53

И. А. ТЕРСКАЯ, А. И. ГАРКАВЕНКО, А. М. ДУХОВНАЯ

ОБРАЗОВАНИЕ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В АКТИНОМИЦЕТОМ № 2426 и *ACTINOMYCES SUBFLAVUS* 434

Имеющиеся в литературе данные относительно биосинтеза витаминов культурами актиномицетов в связи с процессом их развития и условиями культивирования касаются, в основном, образования витамина B_{12} [6—8]. Биосинтез витаминов актиномицетами изучался и в связи с процессом антибиотикообразования [3, 4], а также в зависимости от эколого-географических условий обитания этих организмов [1].

Как показали наши предыдущие исследования, *Act. subflavus* 434 и актиномицет № 2426 при культивировании на комплексной питательной среде синтезируют в довольно большом количестве пигменты типа каротиноидов [5, 10].

По предварительным данным, кормовые препараты, изготовленные в лабораторных условиях на основе этих культур с наполнителем и добавленные в корм, повышают привесы цыплят на 9—10%. В отдельном опыте скармливание сырой биомассы актиномицета 434 не только увеличивает привес, но и в два раза повышает интенсивность желтой окраски жира и кожи цыплят при 100%-ном выходе тушек первой категории.

Не исключена возможность, что ростстимулирующий эффект препаратов зависит от комплекса биологически активных веществ, синтезируемых указанными культурами актиномицетов.

Изучаемый вопрос является продолжением серии проводившихся ранее исследований по выяснению биосинтетической способности указанных выше культур актиномицетов, которые, на наш взгляд, имеют перспективу практического использования.

В этом сообщении приводятся данные о накоплении витаминов группы В в мицелии и культуральной жидкости *Act. subflavus* 434 и актиномицета № 2426.

Культивирование актиномицетов осуществляли в колбах на качалке (180 *об/мин*) при 26—28° в течение 120 часов при освещении и в темноте на средах следующего состава (*г/л*): 1) *Act. subflavus* 434: кукурузная мука — 40; пептон — 2; дрожжи сухие — 1,5; NaCl — 5; $CaCO_3$ — 1,5. 2) Актиномицет № 2426: кукурузная мука — 20; пептон — 0,5; дрожжи сухие — 0,05, pH сред 6,8—7,0.

Определение витаминов проводили по общепринятым микробиологическим методам [2, 9].

В качестве индикаторных культур были использованы *Debariomyces disporus* — для определения тиамина и пиридоксина, *Candida tropicalis СК-4* — для биотина, *Fabospora fragilis* — для никотиновой кислоты, *Saccharomyces ludwigii* КМ — пантотеновой кислоты, *Bact. coli* 113-3 — для витамина B_{12}.

Полученные результаты приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Образование витаминов группы В *Act. subflavus* 434 (*мкг* на 1 *г* сухого мицелия)

Витамины	При освещении*				В темноте**			
	в культуральной жидкости	в мицелии	общий синтез	содержание витаминов в культуре, *мкг/л*	в культуральной жидкости	в мицелии	общий синтез	содержание витаминов в КЖ, *мкг/л*
B_1	0,11	1,65	1,86	27	0,15	8,75	8,9	133
B_3	47,4	39	86,4	1261	27,3	43,5	70,8	1062
B_6	1,4	4,4	5,8	84,7	1,2	3,0	4,2	63
H	0,7	2	2,7	39,5	0,4	2,4	2,8	42
B_{12}	—	0,3	0,3	4,7	—	0,3	0,3	4,5
PP	5,8	25	30,5	453	4,3	29	33,3	499
Сумма витаминов	55,5	72,5	128	1869	33,4	87	120,4	1803

* и ** Выход сухой биомассы—14,6 и 15 *г/л* соответственно

Как видно из данных табл. 1, *Act. subflavus* 434 синтезирует тиамин (B_1), пиридоксин (B_6), пантотеновую кислоту (B_3), биотин (H), никотиновую кислоту (PP) и витамин B_{12}. Необходимо отметить, что накопление витаминов как в мицелии, так и в культуральной жидкости (КЖ) не зависит от освещения культуры во время ферментации. Исключение составляет тиамин, общий синтез которого в темноте намного выше, чем при освещении (133 против 27 *мкг/л*).

Таблица 2

Образование витаминов группы В актиномицетом № 2426 (*мкг* на 1 *г* сухого мицелия)

Витамины	При освещении*				В темноте**			
	в культуральной жидкости	в мицелии	общий синтез	содержание витаминов в культуре, *мкг/л*	в культуральной жидкости	в мицелии	общий синтез	содержание витаминов в КЖ, *мкг/л*
B_1	0,6	7,0	7,6	83,6	1,3	9,0	10,3	124
B_3	36,2	25,0	61,2	673	43	47	90	1080
B_6	1,0	2,2	3,2	35	1,6	2,5	4,1	49,2
H	0,54	2,1	2,64	29	1,1	1,8	2,9	34,8
B_{12}	0,03	0,1	0,13	1,43	0,02	0,11	0,13	1,3
PP	8,9	40,0	48,9	440	8,2	50	58,2	600
Сумма витаминов	47,3	76,4	123,7	1262	55,2	110,4	165,6	1889

* и ** Выход сухой биомассы—11,0 и 12,0 *г/л* соответственно

Высокая биосинтетическая способность *Act. subflavus* 434 в условиях нашего опыта отмечена в отношении образования пантотеновой кислоты (1261—1062 *мкг/л*) и витамина РР (453—499 *мкг/л*). В процессе биосинтеза значительная часть витаминов накапливается в мицелии, в то время как выделяется в культуральную жидкость значительно меньше.

Аналогичная картина образования витаминов *Act. subflavus* 434 наблюдается и при выращивании культуры в темноте.

Проведенные исследования по изучению биосинтеза витаминов группы В актиномицетом № 2426 показали, что освещение культуры в процессе ферментации незначительно влияет на накопление этих веществ как в мицелии, так и в культуральной жидкости. Однако общее содержание витаминов в культуре больше при выращивании актиномицета в темноте (1889 *мкг* против 1262 *мкг/л* при освещении).

Как видно из табл. 2, тиамина, никотиновой кислоты и витамина B_{12} как при освещении, так и в темноте значительно больше накапливается в мицелии, чем выделяется в культуральную жидкость.

Таким образом, *Act. subflavus* 434 и актиномицет № 2426, наряду с накоплением большой биомассы (16—18 *г/л*) и высоким содержанием в ней каротиноидов (700—1300 *мкг/г*), синтезируют витамины группы В: тиамин, пиридоксин, пантотеновую кислоту, биотин, никотиновую кислоту и витамин B_{12}. Преобладают в количественном отношении пантотеновая кислота и витамин РР. Общая сумма витаминов достигает 1870—1890 *мкг/л* культуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Андреюк Е. И.* Актиномицеты почв юга Европейской части СССР и их биологическая активность. Киев, «Наукова думка», 1974.
2. *Верховцева Т. П., Сурикова Е. И.* Лабораторное дело, № 2, 1957.
3. *Гончарова Е. М., Забелькова К. И.* Известия АН БССР, Сер. биол. наук, № 3, 47, 1961.
4. *Гаркавенко А. И., Ковальчук Л. П.* Биологически активные вещества актиномицетов, используемых в животноводстве. Кишинев, «Штиинца», 1973.
5. *Духовная А. М., Гаркавенко А. И., Терская И. А.* Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 6, 44, 1975.
6. *Конова И. В., Борисова А. И.* Микробиология, т. 30, № 1, 27, 1961.
7. *Летунова С. В.* Микробиология, т. 27, № 4, 429, 1958.
8. *Макаревич В. Г., Верховцева Т. А., Лазникова Т. Н.* Микробиология, т. 27, № 1, 1958.
9. *Одинцова Е. Н.* Микробиологические методы определения витаминов. М., 1959.
10. *Терская И. А., Гаркавенко А. И., Духовная А. М.* Изв. АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 2, 1976.

УДК 576.852.1

Т. В. ФИЛИППОВА

ПОЛИСАХАРИДЫ АКТИНОМИЦЕТОВ ЖЕЛТОЙ ГРУППЫ

Одним из проявлений биологической активности полисахаридов микроорганизмов является их способность стимулировать естественный иммунитет. В связи с этим большое значение приобретают поиски микроорганизмов, продуцирующих биологически активные полисахариды. Задача нашей работы — изучение полисахаридных комплексов актиномицетов на примере представителей их желтой группы* с целью отыскания перспективных для последующих биологических испытаний.

Материал и методы

Для работы использовали мицелий *Act. subflavus* 434, выращенный на среде Дюлонэ, СР-1, крахмальной (К) и крахмало-аммиачной (КА), а также мицелий штаммов 265, 1125, 33, выращенный на среде Чапека с пептоном [1]. Извлечение полисахаридных комплексов проводили последовательной экстракцией 0,5 н. трихлоруксусной кислотой, 1 н. CH_3COOH, 2 н. NaOH. Кроме мицелиальных полисахаридов изучались и экзополисахариды перечисленных актиномицетов.

Для получения экзополисахаридов культуральную жидкость обрабатывали на холоду ацетоном в соотношении 1:3. Выпавший осадок отделяли, перерастворяли, диализовали 48 часов при 4°С против дистиллированной воды, диализат осаждали ацетоном (1:3). Высушенный ацетоном и серным эфиром осадок экзополисахарида обрабатывали 1 н. CH_3COOH 20 мин. при 100°. Полученный уксуснокислый экстракт подвергали диализу, диализат осаждали ацетоном, осадок сушили в вакуум-сушильном шкафу при 30°.

В полисахаридных комплексах определяли содержание углеводов, нуклеиновых кислот, общего фосфора и общего азота [2].

Спектральные характеристики экзополисахаридов сняты в интервале 400—3600 $см^{-1}$.

В табл. 1 приведены данные, свидетельствующие о той важной роли, которую играет состав питательной среды в накоплении углеводов мицелием актиномицета. Сравнение содержания углеводов в полисахаридных комплексах мицелия *Act. subflavus* 434, выращенного на четырех различных средах и экстрагированных одними и теми же растворителями, убедительно свидетельствует в пользу крахмало-аммиачной среды. Так, полисахарид, извлеченный трихлороуксусной кислотой, содержит 34% углеводов, а извлеченный 1 н. CH_3COOH — 17,6%, в то время как содержание углеводов в таком же препарате мицелия, выращенного на среде Дюлонэ, составляет соответственно 6,5 и 8,1%, а на крахмальной среде и СР-1 — еще меньше: для трихлоруксусной фракции 2—1,6%, а для уксуснокислой фракции — 5,8—4,0% соответственно. Вообще содержание углеводов в полисахаридных комплексах мицелия *Act. subflavus* 434, выращенного на СР-1 и крахмальной среде, почти одинаково во всех фракциях и значительно уступает полисахаридным препаратам, экстрагированным из того же мицелия, выращенного на среде Дюлонэ и крахмало-аммиачной среде.

Интересной особенностью *Act. subflavus* 434 является нарушение традиционного распределения содержания углеводов по фракциям, какое мы наблюдали у актиномицетов серой группы: максимальное содержание углеводов приходилось на щелочнорастворимую фракцию, несколько меньшее — на уксуснокислую и совсем незначительное — на трихлоруксуснокислую [3]. В данном случае самое высокое содержание углеводов приходится на уксуснокислую фракцию, а содержание углеводов в щелочнорастворимой фракции и ТХУ почти уравни-

* Автор приносит благодарность А. М. Духовной, И. А. Терской, Л. Ф. Савченко за любезно предоставленный материал.

Таблица 1

Химический состав полисахаридов комплексов актиномицетов желтой группы (% на воздушно-сухой вес препарата)

Среда, экстрагент	Углеводы	Нуклеиновые кислоты	Фосфор
Act. subflavus 434			
Среда Дюлонэ			
0,5 н. ТХУ	6,5	4,00	11,3
1 н. CH_3COOH	8,10	1,20	5,50
2 н. NaOH	6,10	3,90	8,80
Крахмало-аммиачная среда			
0,5 н. ТХУ	33,90	1,93	2,50
1 н. CH_3COOH	17,60	4,60	13,20
2 н. NaOH	8,3	2,80	7,40
Крахмальная среда			
0,5 н. ТХУ	2,00	0,30	0,90
1 н. CH_3COOH	5,80	2,04	15,0
2 н. NaOH	1,70	2,00	11,5
Среда 1			
0,5 н. ТХУ	1,60	2,97	0,25
1 н. CH_3COOH	4,90	2,30	0,11
2 н. NaOH	2,60	3,60	0,10
Шт. 265			
Среда Чапека с пептоном			
0,5 н. ТХУ	9,40	8,00	2,80
1 н. CH_3COOH	4,40	2,60	1,90
2 н. NaOH	7,50	3,73	2,35
Шт. 33			
Среда Чапека с пептоном			
0,5 н. ТХУ	4,80	2,94	7,16
1 н. CH_3COOH	25,1	4,64	3,55
2 н. NaOH	6,60	5,08	2,00
Шт. 1125			
Среда Чапека с пептоном			
0,5 н. ТХУ	7,50	6,52	2,35
1 н. CH_3COOH	1,80	5,95	2,28
2 н. NaOH	10,00	6,69	2,22

вается (за исключением фракций, извлеченных из мицелия, выращенного на крахмало-аммиачной среде).

В трех других штаммах актиномицетов — 265, 1125, 33, выращенных на среде Чапека с пептоном, не обнаруживается такого постоянства в содержании углеводов по фракциям. Химический состав экзополисахаридов культуральной жидкости исследованных нами актиномицетов имеет следующие особенности (табл. 2).

Таблица 2

Химический состав экзополисахаридов актиномицетов желтой группы (% на воздушно-сухой вес препарата)

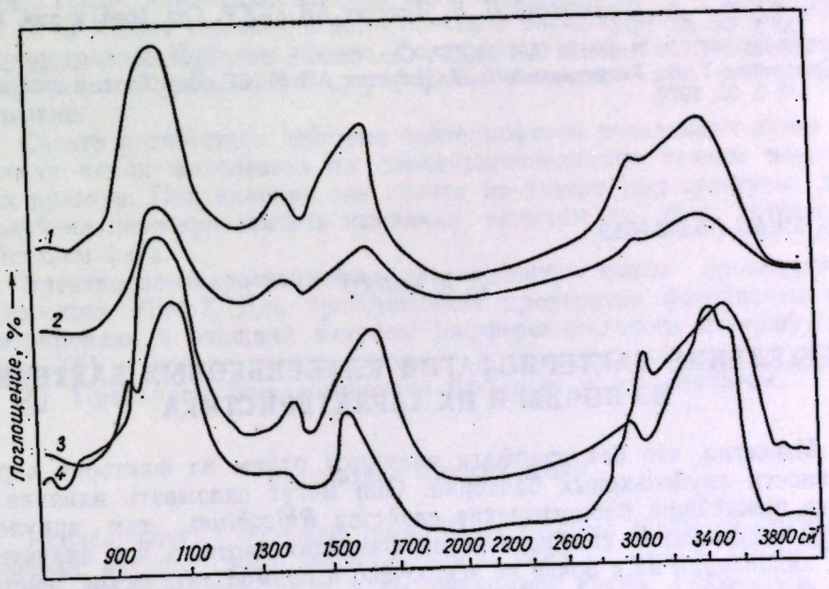
Штамм и среда	Углеводы	Нуклеиновые кислоты	Общий фосфор	Общий азот
Act. subflavus 434 Дюлонэ	1,48	0,4	0,11	2,17
Крахмало-аммиачная	2,26	0,00	0,13	1
СР-1	1,7	0,68	0,21	следы
Крахмальная	5,09	1,28	0,16	1,60
Среда Чапека с пептоном				
Шт. 265	6,6	0,62	0,13	2,38
Шт. 33	0,83	0,125	0,16	2,94
Шт. 1125	0,44	0,56	0,14	2,84

Полисахариды *Act. subflavus* 434, образующиеся в среде с крахмалом, содержат максимальное количество углеводов (5%), а в двух других средах — СР 1 и Дюлонэ поровну (1,4—1,7%). Здесь прослеживается обратная зависимость в накоплении углеводов мицелием и культуральной жидкостью. Мы отмечали наименьшее содержание углеводов во фракциях, извлеченных из мицелия, выращенного на среде с крахмалом.

Содержание нуклеиновых кислот и фосфора во всех экзополисахаридах *Act. subflavus* 434, за исключением образованных в крахмальной среде, составляет менее процента, содержание азота колеблется от следовых количеств до 2%. Экзополисахариды штаммов 265, 1125 и 33 незначительно различаются между собой по содержанию азота и фосфора.

Сравнивая мицелиальные полисахаридные комплексы с экзополисахаридными, можно отметить следующие особенности последних: сравнительно низкое содержание углеводов сочетается с незначительными примесями нуклеиновых кислот и других веществ азотистой природы. Эти достоинства в сочетании с хорошей растворимостью в воде делают их перспективными в качестве препаратов для испытания на животных.

Из мицелиальных полисахаридных комплексов для этой цели пригодны трихлоруксуснокислая и уксуснокислая фракции *Act. subflavus* 434, выращенного на крахмало-аммиачной среде.



ИК спектры экзополисахаридных комплексов актиномицетов:
1.1 — штамм 33; *1.2* — штамм 1125; *1.3* — штамм 265; *1.4* — *Act. subflavus* 434, крахмало-аммиачная среда

Полисахариды, обнаруженные в ростовой среде штаммов 33, 1125 и 265 (рис. *1.1; 1.2; 1.3*), представляют собой полисахаридно-белковые комплексы (частоты 1100 $см^{-1}$ и 1660 $см^{-1}$), близкие друг другу по структуре независимо от штамма, не содержащие существенных количеств нуклеиновых кислот (отсутствие полосы поглощения при 1250 $см^{-1}$). Экзополисахарид, полученный из культуральной жидкости

Act. subflavus 434, выращенного на крахмало-аммиачной среде, имеет некоторые отличия от предыдущих (см. рисунок). Полоса поглощения 1650 $см^{-1}$ может быть отнесена как к белку, так и к нуклеиновым кислотам. Но так как нет поглощения в области 1530—1550 $см^{-1}$, то ее нельзя рассматривать как доказательство наличия в этом веществе белка, а отсутствие частоты 1250 $см^{-1}$ свидетельствует о том, что в этом препарате нет нуклеиновых кислот. Характер поглощения при 3600 $см^{-1}$ позволяет предположить существование свободных гидроксилов, чего не наблюдалось в предыдущих образцах.

Итак, исходя из представленного спектра, можно допустить, что это — нейтральный полисахарид. ИК-спектр экзополисахарида, выделенного из культуральной жидкости *Act. subflavus* 434, выращенного на среде Дюлонэ, свидетельствует о том, что это полисахаридно-белковый комплекс (1100 $см^{-1}$, 1650 $см^{-1}$,1300 $см^{-1}$) с более прочной водородной связью, чем в первых двух случаях (3260 $см^{-1}$).

Из изложенного можно сделать вывод, что ИК-спектры, а следовательно, и сами экзополисахариды, различаются в зависимости от штамма актиномицета и от питательной среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гаркавенко А. И., Духовная А. М., Терская И. А.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 4, 30, 1974.
2. *Филиппова Т. В., Разумовский П. Н.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 3, 64—66, 1974.
3. *Филиппова Т. В.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 4, 25, 1972.
4. *Филиппова Т. В., Разумовский П. Н.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 3, 20, 1974.

УДК 576.851.155:576.858.9

Л. А. БОЙКО

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ПОЧВЫ И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА

Известно, что бактериофаги являются одним из факторов вариабельности клубеньковых бактерий. Они могут оказывать влияние на такие важнейшие биологические свойства *Rhizobium*, как вирулентность и активность симбиотической фиксации азота, а при значительном накоплении их в почве не исключено и прямое литическое действие на клубеньковые бактерии [1, 2, 7, 9].

Фаги клубеньковых бактерий, находящиеся в ризосфере бобовых растений, имеют различное происхождение. Большинство из них, вероятно, выделяются живущими в ризосфере бобовых растений лизогенными бактериями. Другие фаги существуют автономно, периодически размножаясь на чувствительных к ним культурах.

В задачу настоящей работы входило выделение фагов клубеньковых бактерий из почвы с целью выявления их распространения в различных почвенно-климатических условиях и изучение некоторых особенностей в сравнении с фагами, выделенными из лизогенных культур.

Материал и методы

Выделение фагов из почвы проводили двумя методами с обогащением и без обогащения. При использовании метода без обогащения 10 *г* исследуемой почвы вносили в колбы со 100 *мл* жидкой питательной среды. В опытах с обогащением в питательную среду одновременно с почвенной навеской вносили 1 *мл* 24-часовой культуры клубеньковых бактерий. В исследованиях были использованы следующие питательные среды: бобовый отвар, минерально-дрожжевая среда [2], модифицированная среда № 5 [11]. Колбы инкубировали на качалке при 28°. Через 24 и 48 часов содержимое колб фильтровали через бумажный фильтр. Фильтрат центрифугировали при 5000—6000 *об/мин* 20 минут. Супернатант сливали, обрабатывали хлороформом и хранили в холодильнике. Для длительного хранения его дополнительно фильтровали через бактериальный фильтр Зейца. О наличии бактериофагов судили по появлению на свежеприготовленном газоне индикаторной культуры зон отсутствия роста в местах нанесения супернатанта. Образцы, где были обнаружены зоны отсутствия или угнетения роста, рассевали для получения негативных колоний, из которых проводили выделение и очистку фагов путем нескольких последовательных пересевов.

Фаги размножали двуслойным методом на бобовом агаре или агаризованной среде № 79 [10]. В верхний слой вносили фаг и чувствительную культуру в соотношениях, способных обеспечить сплошной лизис. После инкубации верхний слой переносили в колбы со средой № 5. Колбы тщательно встряхивали и выдерживали 20—30 минут для экстракции фаговых частиц. Содержимое колб центрифугировали, супернатант обрабатывали хлороформом и хранили при +4° в холодильнике.

Спектр литического действия бактериофагов определяли путем нанесения капли фаголизата на свежеприготовленные газоны испытуемых культур. При наличии зон лизиса на газоне тест-культуры проверкой на перевариваемость выявляли, вызваны ли они литическим действием фага.

Электронно-микроскопическое исследование фагов проводили в микроскопе YEM-7. Для приготовления препаратов фаголизаты концентрировали и очищали методом дифференциального центрифугирования [6] и дополнительно очищали с помощью капельного диализа [8]. Препараты контрастировали 0,5%-ным уранилацетатом.

Результаты и обсуждение

Исследовано 11 образцов почв, 10 из которых взяты из ризосферы люцерны разного срока выращивания и один — из-под хлопчатника. Взятие образцов проводили в весенне-летнее время. Результаты опытов по выявлению фагов в изученных образцах представлены в табл. 1.

Полученные данные показывают, что фаги, активные против клубеньковых бактерий, обнаружены во всех почвенных образцах, взятых из-под люцерны. Они выявлены как при использовании метода с обогащением, так и без обогащения. При выделении фагов всегда возникает вопрос об их истинном происхождении. Так как большинство клубеньковых бактерий лизогенно и некоторые из них образуют вирулентные мутанты, то не исключено, что при выделении из почвы во многих опытах источником фагов являются лизогенные индикаторные

Таблица 1

Наличие фагов *Rhizobium* в исследованных почвенных образцах

Место взятия пробы	Почва	Культура	№ выделенных фагов
Таджикская ССР	Серозем окультуренный	Четырехлетняя люцерна	1
Киргизская ССР	Староорошаемый серозем	Трехлетняя люцерна	2,2а
»	»	Хлопчатник	—
Молдавская ССР	Обыкновенный чернозем	Трехлетняя люцерна	4
»	»	Двухлетняя люцерна	5
Узбекская ССР	Серозем орошаемый	Трехлетняя люцерна	6
Башкирская АССР	Чернозем выщелоченный	Трехлетняя люцерна	7
»	»	Однолетняя люцерна	8
Украинская ССР	Чернозем	Двухлетняя люцерна	9
Азербайджанская ССР	Светло-каштановая	Трехлетняя люцерна	10,10а
»	»	Однолетняя люцерна	11

культуры. Москаленко [5] при выделении фагов *Rhizobium* из почвенных образцов установила, что из девяти выделенных ею фагов три оказались вирулентными мутантами лизогенной индикаторной культуры. В связи с этим наиболее пригодным для использования в опытах по выделению фагов из почвы является делизогенизированный проф. Ковальским (Польша) штамм клубеньковых бактерий люцерны α 5—30, чувствительный к большинству изученных фагов лизогенных культур *Rh. meliloti* [3]. Использование этого штамма позволило избежать в фаголизате примеси фагов от индикаторной культуры.

Необходимым условием для выделения фагов из почвы является не только наличие чувствительных индикаторных культур, но и тщательный подбор сред. В проведенных опытах фаги были выделены при использовании всех вышеперечисленных сред. Однако наиболее пригодна для этой цели среда Калниньша, при росте на которой клубеньковые бактерии выделяют меньшее количество слизи.

В наших опытах фаги легко выделялись как из почвы под однолетней люцерной, так и из почвы под 3—4-летней люцерной, хотя, согласно литературным данным, фаги удается выделить только из клубеньков и ризосферы люцерны, произрастающей на одном участке не менее трех-четырех лет. Это свидетельствует о широком распространении фагов в исследованных почвенных образцах.

Спектр литического действия фагов, выделенных из почвы и размноженных на индикаторной культуре α 5—30, изучали на 192 штаммах клубеньковых бактерий разных видов из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Для изучения взято: *Rh. meliloti* — 65 штаммов (люцерны — 42; донника — 20; тригонеллы — 3); *Rh. leguminosarum* — 38 штаммов (кормовых бобов — 10; гороха — 17; вики — 7; чины — 3; чечевицы — 1); *Rh. trifolii* — 18 штаммов; *Rh. phaseoli* — 23 штамма; Rh. japonicum — 20 штаммов; Rh. lupini — 20 штаммов; *Rh. simplex* — 7 штаммов. Чувствительность культуры к фагу подтверждалась проверкой на перевиваемость в каждом отдельном случае.

Все изученные фаги лизировали, как правило, только клубеньковые бактерии *Rh. meliloti*. Из остальных культур *Rhizobium* чувствительными к фагам, выделенным из почвы, были только четыре культуры *Rh. leguminosarium*.

Известно, что по спектру литического действия умеренные фаги более специфичны по сравнению с вирулентными. Полученные данные о специфичности фагов *Rhizobium*, выделенных из почвы, позволяют предположить, что они по своему происхождению являются умеренными фагами соответствующих лизогенных культур, широко распространенных в ризосфере люцерны.

Культуры *Rh. meliloti* проявили разную степень чувствительности к фагам. Из клубеньковых бактерий люцерны наиболее чувствительными к ним оказались 17 культур, которые лизируются 9—11 фагами. 13 культур чувствительны к 7—8 фагам, 9 — к 4—6 фагам. Полностью резистентна ко всем фагам, выделенным из почвы, культура 401а. Следует подчеркнуть, что она устойчива также к действию всех ранее изученных фагов, выделенных из лизогенных культур клубеньковых бактерий люцерны и донника. Представляет интерес дальнейшее изучение свойств этой культуры. При высокой вирулентности и активности азотфиксации, культура 401а могла бы служить ценным производственным штаммом.

Таблица 2

Спектр литического действия фагов, выделенных из почвы на культуре *Rh. meliloti* α 5-30, по отношению к клубеньковым бактериям вида *Rh. meliloti*

Фаги	Количество чувствительных штаммов Rh. meliloti		
	люцерны (42)	донника (20)	тригонеллы (3)
№ 1	37	20	2
№ 2	15	2	0
№ 2а	38	12	1
№ 4	36	19	1
№ 5	27	7	1
№ 6	23	8	0
№ 7	25	9	0
№ 8	18	6	0
№ 9	35	18	0
№ 10	19	8	0
№ 10а	16	8	0
№ 11	37	20	3

Клубеньковые бактерии донника незначительно различались по чувствительности к фагам, выделенным из почвы. Большинство из них лизировалось семью-девятью фагами.

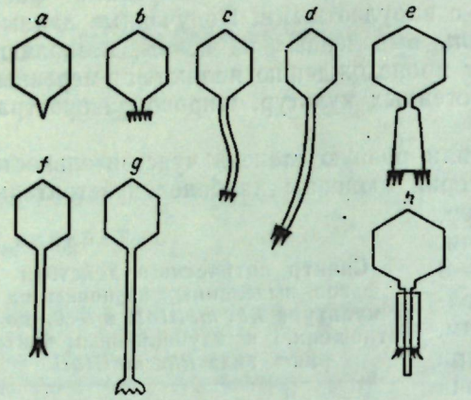
Изученные культуры клубеньковых бактерий тригонеллы мало чувствительны к этим фагам. Культура 851 лизировалась пятью фагами, культура 852 — 2, культура 853 — только 1 фагом.

Следует отметить, что культуры *Rh. meliloti*, наиболее чувствительные к фагам, выделенным из почвы, были чувствительными также к большинству фагов лизогенных культур *Rh. meliloti* (люцерны и донника). Таковы, например, культуры клубеньковых бактерий люцерны 445, 446, 449, 450 α 5—30 и культуры клубеньковых бактерий 281, 284, 285, 286, 289.

Фаги, выделенные из почвы, значительно различались между собой по спектру литического действия (табл. 2).

Наиболее широкий спектр литического действия имели фаги № 1, № 2, № 4, № 9 и № 11, которые лизировали 51—60 культур *Rh. meliloti*. Фаги № 5, № 6 активны против 31—35, № 2, № 8, № 10, № 11 — против 17—27 культур *Rh. meliloti*. Выделенные из одного почвенного образца фаги № 2 и № 2а резко отличались между собой по спектру литического действия. Они лизировали соответственно 17 и 51 культуру *Rh. meliloti*. Фаги № 10 и № 10а имели близкий, но не идентичный спектр литического действия.

Изучение морфологии негативных колоний проводили титрованием двуслойным методом на культуре *Rh. meliloti* α 5—30. Установлено, что фаги образуют негативные колонии, которые можно разделить на четыре морфологических типа: мелкие почти точечные прозрачные



Морфология частиц фагов *Rhizobium*

(фаг № 1); прозрачные с четкими краями диаметром 1,5—2 *мм* (фаги № 4, 5, 6, 8, 10, 11); с точечным прозрачным центром, окруженным зоной неполного лизиса (фаги № 2, 10а); с прозрачной центральной зоной неполного лизиса, которая в свою очередь ограничена узкой светлой зоной 0,2—0,2 *мм* (фаг. № 2а).

Электронно-микроскопическое изучение частиц фагов позволило выяснить среди них значительное морфологическое разнообразие (см. рисунок).

Частицы фагов № 2, 2а, 5 и 6 имеют одинаковые головки правильной гексагональной формы диаметром 530—600 Å, но резко различаются по строению отростков. У фагов № 2 и № 2а (рис. I,*а*) отростки очень короткие (130 Å) и имеют конусовидную форму. У фага № 6 отростки короткие, но снабжены сложной базальной пластинкой с зубцами (рис. 1, *в*). У фага № 5 (рис. 1, *с*) отростки длинные (2600×200 Å), чехол не сокращен и на нем четко выражена поперечная исчерченность, обусловленная спиральной упаковкой субъединиц. Частицы фага № 4 имеют (рис. 1, *е*) более крупную головку правильной гексагональной формы диаметром 750—800 Å и отросток длиной 1130 Å, который слегка расширен к дистальному концу и заканчивается плотной базальной структурой в виде муфты на конце отростка. Чехол отростков у фага № 4 не сокращен. Сходную морфологию частиц имеет фаг № 8, но в отличие от фага № 4, чехол отростка у него не способен к сокращению (рис. 1, *h*). В фаголизатах № 1 и 10а, несмотря на однородность негативных колоний, обнаружено по два типа фаговых частиц. Частицы одного типа фаголизита № 1 идентичны описанным выше частицам фага № 5, а частицы другого типа имеют продолговатую головку 1300×600 Å и отростки 2650×120 Å (рис. 1, *d*). В фаголизате № 10а одни частицы имеют головки правильной гексагональной формы 530—540 Å и тонкий отросток 1200×70 Å (рис. 1, *f*) с хорошо заметным каналом и базальной структурой, представляющей пучок из трех фибрилл. Другие частицы (рис. 1, *q*) имеют головки размером 550—600 Å и отростки 1500×40 Å с хорошо выраженной базальной пластинкой с зубцами. У обоих типов частиц чехол отростка не сокращен.

Сравнение фагов, специфичных для *Rh. meliloti*, выделенных из лизогенных культур клубеньковых бактерий люцерны [4] и из почвы, показывает, что последние по морфологии негативных колоний и по морфологии частиц более разнообразны. Из обнаруженных четырех типов негативных колоний фаги лизогенных культур образуют негативные колонии двух типов, фаги, выделенные из почвы — четырех. В почвенных образцах имелись фаговые частицы всех восьми выявленных типов, а фаги лизогенных культур принадлежали только к четырем морфологическим типам.

Выводы

1. Из 10 почвенных образцов, взятых из ризосферной почвы люцерны, выделено на культуре *Rh. meliloti* α 5—30 12 фагов.

2. Выделенные из почвы фаги узкоспецифичны и лизируют только клубеньковые бактерии вида *Rh. meliloti*, но различаются по спектру литического действия внутри данного вида.

3. По морфологии негативных колоний и по структуре частиц изученные фаги представляют собой весьма гетерогенную группу.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Динчев Д.* Известия НИИ почвоведения и агротехники, вып. 4, 187, 1962.
2. *Калниньш А. Д.* Труды Института микробиологии АН ЛатвССР, вып. 1, 47, 1952.
3. *Маранц Л. А., Москаленко Л. Н., Раутенштейн Я. И.* Известия АН СССР, Серия биол., № 5, 720, 1973.
4. *Маранц Л. А., Москаленко Л. Н., Раутенштейн Я. И.* Микробиология, т. 42, вып. 6, 1088, 1973.
5. *Москаленко Л. Н.* Бактериофагия клубеньковых бактерий. Автореф. канд. дис. М., 1970.
6. *Раутенштейн Я. И., Соловьева Н. Я., Москаленко Л. Н., Филатова А. Д.* Микробиология, 40, вып. 6, 1094, 1971.
7. *Тевелева М. К.* Тезисы IV науч. конф. молодых ученых по совр. пробл. биологии. Минск, 1970, с. 149.
8. *Тихоненко А. С.* Ультраструктура вирусов бактерий. М., «Наука», 1968.
9. *Kleczkowska J.* Plant and Soil, spec. vol., 47, 1971.
10. *Kowalski M.* Microbiol. Genetics Bull., N 22, 19, 1965.
11. *Laird D.* Arch. Microbiol., 3, N 2, 159, 1932.

ЗООЛОГИЯ

УДК 576.88

М. В. МЕЛЬНИК

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ В ТКАНЯХ ЧЕСНОКА И ЛУКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СТЕБЛЕВОЙ НЕМАТОДЫ

Стеблевые нематоды вследствие эндопаразитического образа жизни вызывают глубокие физиолого-биохимические изменения в поражаемых ими растениях. Сведения, касающиеся углеводного обмена дитиленхозных растений, весьма скудны. Известно, что в пораженных стеблевой нематодой клубнях картофеля наблюдается уменьшение воды и крахмала, увеличение количества сухого вещества, кетоглютаровой кислоты, а также моно- и дисахаров [2, 7]. В пораженных *Ditylenchus dipsaci* растениях лука, наоборот, увеличивается содержание воды, сахарозы и аскорбиновой кислоты и уменьшается количество сухого вещества [4, 9, 10].

В настоящей работе приведены результаты изучения влияния *D. dipsaci* на углеводный баланс в пораженных тканях растений чеснока и лука в период вегетации.

Материал и методы

Сумму углеводов и водорастворимые сахара определяли методом Ермакова [3]. Оптическую плотность окрашенных растворов измеряли на спектрофотометре при длине волны 610 *ммк*.

Для определения содержания некоторых кетокислот (α-кетоглютаровая и пировиноградная) пользовались методом Фридмена и Хауджена [11] с некоторыми модификациями [2]. Колориметрирование проводили на спектрофотометре СФ-4А с водородной лампой. Интенсивность окрашивания пировиноградной кислоты измеряли при длине волны 372 *ммк* и α-кетоглютаровой — при 380 *ммк*. Количественно кетокислоты определяли по калибровочным кривым.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований приведены в табл. 1, из которой видно, что при дитиленхозе чеснока и лука, в отличие от дитиленхоза картофеля, происходит увеличение содержания воды как в луковицах, так и в листьях. При этих заболеваниях нарушается углеводный баланс. Сумма углеводов и содержание растворимых сахаров в пораженной ткани луковиц и листьев чеснока и лука уменьшается в 1,5—3 раза. Что касается редуцирующих сахаров, то их количество при дитиленхозе исследуемых растений несколько возрастает.

Большую роль в обмене веществ организмов играют, как известно, кетокислоты. Являясь продуктами превращения углеводов, с одной стороны, и непосредственными предшественниками большинства аминокислот — с другой, кетокислоты выступают в качестве связующего звена углеводного и азотного обмена [5].

Таблица 1

Содержание углеводов в дитиленхозных и здоровых растениях чеснока и лука (% на сырое вещество)

Исследуемый материал	% сухого в-ва	Сумма углеводов	Растворимые	Редуцирующие сахара
Чеснок				
Луковицы пораженного растения	36,2	13,5	5,6	0,60
» здорового »	41,9	18,4	11,9	0,60
Листья пораженного »	16,5	1,8	0,9	0,83
» здорового »	18,8	2,4	1,7	0,78
Лук				
Луковицы пораженного растения	10,8	2,6	0,9	3,1
» здорового »	13,5	7,7	3,7	2,6
Листья пораженного »	6,8	2,4	0,7	1,8
» здорового »	7,4	3,8	2,0	1,3

Полученные нами данные показывают, что в пораженных растениях чеснока и лука по сравнению со здоровыми количество пировиноградной и α-кетоглютаровой кислот возрастает (табл. 2).

Таблица 2

Содержание кетокислот в дитиленхозных растениях чеснока и лука(*мкг/г* сырого вещества)

Исследуемый материал	Пировиноградная	Кетоглютаровая
Луковица пораженного чеснока	5,0	20,2
» здорового »	3,2	8,0
» пораженного лука	0,5	3,0
» здорового »	0,2	0,8

Так, в пораженной луковице чеснока количество пировиноградной кислоты увеличивается в 1,6 раза, а количество α-кетоглютаровой — в 2 раза по сравнению со здоровой тканью. В луке количество этих веществ при дитиленхозе возрастает почти в три раза.

Таким образом, при дитиленхозе чеснока и лука в период вегетации происходит уменьшение общего количества углеводов при некотором увеличении содержания редуцирующих сахаров. В больных растениях наблюдается также уменьшение сухого вещества. Наряду с уменьшением общего количества сахаров происходит увеличение содержания α-кетокислот.

Снижение содержания сахаров и сухого вещества в пораженных растениях лука ранее отмечали Устинов [9], Кирьянова [4], Шубина [10]. Бумбу [2] наблюдал возрастание количества кетокислот в пораженных *D. destructor* клубнях картофеля.

Подобного рода изменения, происходящие в дитиленхозных растениях чеснока и лука, по-видимому, связаны с характерной для высших растений при патологических состояниях интенсификацией процессов дыхания и в частности гликолиза. Это предположение подтверждается

повышенным содержанием в дитиленхозных растениях промежуточных продуктов распада сахаров — кетокислот.

На повышение интенсивности дыхания в пораженных различными фитонематодами растениях указывает ряд авторов [1, 6, 8, 12].

Уменьшению общего количества сахаров способствуют также сами нематоды, которые всасывают их в процессе питания из тканей растения-хозяина. Немаловажную роль в изменении количества углеводов пораженных растений играют также пектолические и целлюлолитические ферменты, найденные нами в выделениях нематод.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бодрова И. М.* Труды ВИЗР, вып. 16, 76—88, 1961.
2. *Бумбу И. В.* Автореф. канд. дис. Кишинев, 1968.
3. *Ермаков А. И.* и *др.* Методы биохимического исследования растений. Л., «Колос», 1972.
4. *Кирьянова Е. С.* Труды зоологич. ин-та АН СССР, т. 9, № 2, 512—553, 1951.
5. *Кретович В. Л.* Баховское чтение, т. 16. М., Изд-во АН СССР, 1961.
6. *Мюге С. Г.* Известия АН СССР, вып. 4, 1957.
7. *Сафьянов С. П., Беляева М. Г.* Зоологич. журн., т. 45, № 12, 1876—1877, 1966.
8. *Турлыгина Е. С.* Helmintologia, № 3—4, 177—188, 1960.
9. *Устинов А. А.* Защита растений от вредителей и болезней, № 6, 29—31, 1959.
10. *Шубина Л. В.* Тезисы докл. межреспубл. науч. конф. Самарканд, 1972.
11. *Friedemann T. E., Haugen G. E.* Journ. Biol. Chem., 147, 425, 1943.
12. *Owens R. G., Specht N.* Phytopathology, 50, p. 9, 1960.

Известия Академии наук Молдавской ССР,
Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г.

ХИМИЯ

УДК 543.544.6

А. Н. ПУШНЯК, В. Л. ГУЦАНУ, П. К. МИГАЛЬ

ОБ ИЗМЕНЕНИИ pH В СИСТЕМАХ АНИОНИТ — РАСТВОР ЭЛЕКТРОЛИТА

При сорбции катионов металлов анионитами из растворов, как правило, происходит изменение pH последних. Согласно предполагаемому механизму сорбции, это изменение может быть обусловлено следующими реакциями [3]:

$$\overline{nR_3NH^+} + nHOH \rightleftharpoons \overline{nR_3N...HOH} + nH^+ \quad (1)$$

$$\overline{nR_3N...HOH} + Me^{2+} \rightleftharpoons \overline{[(R_3N)nMe]^{2+}} + nHOH \quad (2)$$

(черта сверху указывает на фазу смолы). Из уравнений (1, 2) следует, что чем прочнее образующийся в фазе смолы комплекс металл — лигандные группы ионита, тем больше равновесие сдвигается в сторону подкисления раствора. Еще больше должны сдвигаться равновесия (1, 2) вправо при сорбции анионитами катионов в водно-органических растворах в связи с увеличением при этом устойчивости комплексов металл-анионит [4]. Наши данные [1, 2] показали, что pH водно-органических растворов $CuSO_4$, $CdSO_4$, $ZnSO_4$ ($C_{MeSO_4} = 1$ *мг·экв/л*) при контакте с анионитами АВ-16Г, ЭДЭ-10П, АН-2ФН в гидратно-солевой ($R_3N...HOH/R_3NH^+NO_3$) форме почти такой же, как и водных. Кроме того, было обнаружено, что pH растворов, содержащих Cu^{2+}, при контакте с анионитами понижался от 4,5 (исходный раствор) до 3,8, а pH растворов, содержащих Cd^{2+}, Zn^{2+} или их смесь, повышался до 5,8. Это вызвало необходимость более подробно изучить взаимосвязь изменения pH растворов с процессами сорбции как катионов, так и анионов на анионитах.

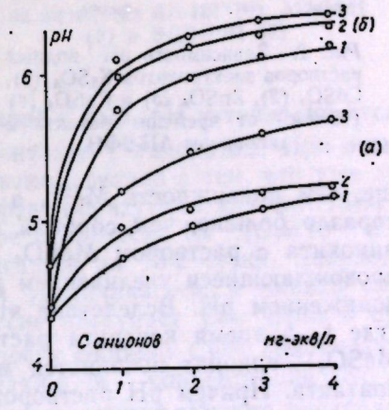


Рис. 1. Влияние концентрации анионов NO_3^- (*а*) и SO_4^{2-} (*б*) на pH водных растворах в присутствии анионитов ЭДЭ-10П (*1*), АВ-16Г (*2*) и АН-2ФН (*3*)

Для исследования использовали вышеуказанные аниониты в гидратно-солевой форме, подготовленной по методике [1]. Навеску смолы 0,05 *г* помещали в колбу с 300 *мл* соответствующего раствора, имеющего исходный pH 4,5.

Экспериментальные данные (рис. 1) показывают, что с увеличением концентрации NO_3^- (KNO_3) и SO_4^{2-} (K_2SO_4) в отсутствии катионов-комплексообразователей pH растворов, контактирующих с анио-

нитами, повышается. Причем при прочих равных условиях pH растворов сульфата становится выше, чем нитрата. Увеличение pH в этих системах можно объяснить тем, что часть аминогрупп анионита протонируется согласно уравнению (3):

$$\overline{2R_3N...HOH} + 2H^+ + SO_4^{2-} \rightleftarrows \overline{(R_3NH^+)_2SO_4^{2-}} + 2HOH. \quad (3)$$

При незначительном увеличении содержания ацетона или этанола в растворе соли K_2SO_4, контактирующей с анионитами, pH растет. При отсутствии соли pH изменяется незначительно. С увеличением же концентрации ацетона и этанола (до 50%) в растворах $CuSO_4$ в присутствии анионита pH остается почти постоянным. В последнем случае это объясняется тем, что наряду с поглощением аниона связывается в комплекс ионогенной группой и медь, то есть увеличение концентрации органического компонента в растворе положительно влияет на сорбцию Cu^{2+}, а также Cd^{2+} и Zn^{2+} анионитами [1, 2, 4], что, согласно уравнениям (1, 2), приводит к уменьшению pH раствора. Однако анион SO_4^{2-} соли $CuSO_4$ и H^+ (по уравнению 3) также сильно сорбируется анионитом [6]. В результате суммарного процесса происходит частичная нейтрализация, в связи с чем только незначительно изменяется и pH раствора. Причем при образовании более прочного комплекса (медь-анионит) доминируют процессы (1, 2). В системах же анионит — раствор $CdSO_4$ или $ZnSO_4$ доминирует процесс, описанный ур. 3, в результате чего наблюдается некоторое увеличение pH раствора.

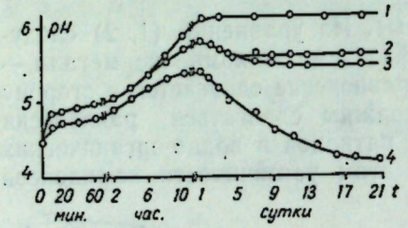


Рис. 2. Зависимость pH водных растворов электролитов K_2SO_4 (*1*), $CdSO_4$ (*2*), $ZnSO_4$ (*3*) и $CuSO_4$ (*4*) (10^{-3} н.) от времени контакта с анионитом АН-2ФН

Чем больше концентрация анионов в растворе и сродство R_3NH^+ к аниону, тем сильнее смещается равновесие (3) вправо и тем выше становится pH раствора. Если учесть, что подвижность H^+ больше, чем подвижность Me^{2+}, а также, что скорость анионного обмена гораздо больше, чем сорбция Me^{2+} анионитами [5], то при контакте анионита с раствором $MeSO_4$ ($Me=Cu^{2+}$, Cd^{2+}, Zn^{2+}) процессы, сопровождающиеся увеличением pH, протекают быстрее, чем процессы с понижением pH. Вследствие этого на графике зависимости $pH=f(t)$ (где t — время контакта раствора с ионитом) для системы раствор $MeSO_4$ — анионит появляется максимум (рис. 2) уже в первые сутки контакта. Причем pH растворов K_2SO_4 устанавливается в первые сутки, растворов $CdSO_4$ и $ZnSO_4$ — после 4—5 суток, а растворов $CuSO_4$ — на 19-е сутки контакта. При нарушении эстафетного механизма переноса H^+ (добавление органического растворителя) время, необходимое для установления pH растворов K_2SO_4, контактирующих с анионитами, увеличивается (рис. 3). В водно-органических растворах кроме того, что равновесие (3) смещается вправо, может протекать и следующий процесс:

$$\overline{R_3N...HOH} + 2H^+ + SO_4^{2-} \rightleftarrows \overline{(R_3NH^+)HSO_4^-} + HOH, \quad (4)$$

что приводит к еще большему увеличению pH, чем в водном растворе.

Кривые (*а*) рис. 3 показывают, что в случае контакта анионита АН-2ФН с раствором K_2SO_4 в 50%-ном ацетоне pH устанавливается на 9-е сутки. Увеличение концентрации K_2SO_4 приводит к некоторому снижению pH 50%-ного ацетонового раствора и незначительно влияет на время его установления. Это связано с тем, что в исходном растворе имеются HSO_4^--анионы и сорбция может протекать по схеме:

$$\overline{R_3N...HOH} + H^+ + HSO_4^- \rightleftarrows \overline{(R_3NH^+)HSO_4^-} + HOH. \quad (5)$$

При контакте же анионита с 50%-ным ацетоновым раствором $CuSO_4$ происходит обратное (рис. 3, кривые *б*): pH устанавливается гораздо быстрее, чем в водных растворах $CuSO_4$. С увеличением концентрации

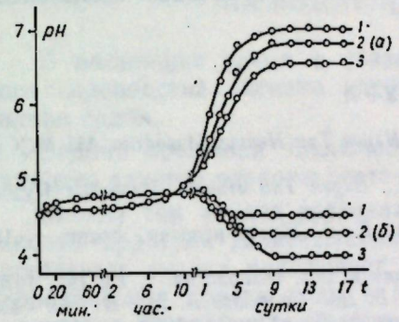


Рис. 3. Зависимость pH 50%-ных ацетоновых растворов электролитов от времени контакта с анионитом АН-2ФН:

а — растворы K_2SO_4: 1) 10^{-3} н., 2) $3\cdot10^{-3}$ н., 3) 10^{-2} н; *б* — растворы Cu^{2+} ($c=10^{-3}$ н.) в присутствии SO_4^{2-} (K_2SO_4). 1) $Cu^{2+}:SO_4^{2-}=1:10$; 2) $Cu^{2+}:SO_4^{2-}=1:3$; 3) $Cu^{2+}:SO_4^{2-}=1:1$

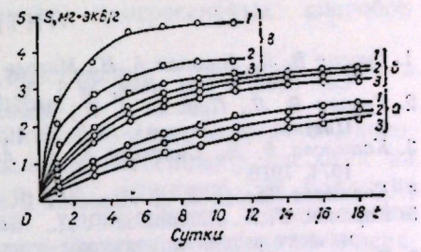


Рис. 4. Кинетика сорбции Cu^{2+} (10^{-3} н.) из водных растворов $CuSO_4$ (*а*), 50%-ных ацетоновых растворов $CuSO_4$ (*б*) и 50%-ных ацетоновых растворов $CuSO_4$, содержащих $Cu^{2+}:SO_4^{2-}=1:10$ (*в*) на анионитах АВ-16Г (*1*), АН-2ФН (*2*) и ЭДЭ-10П (*3*)

SO_4^{2-} (K_2SO_4) в водно-ацетоновом растворе $CuSO_4$ pH устанавливается еще быстрее (рис. 3) — на 4-е сутки контакта с анионитом. При этом pH изменяется незначительно, что, вероятно, связано с тем, что уже до контакта раствора с ионитом в жидкой фазе образуются анионы HSO_4^-.

На рис. 4 показано, что сорбционное равновесие Cu^{2+} ($C=10^{-3}$ н.) на анионитах в водном растворе достигается на 18-е сутки. Скорость процесса в ацетоновом растворе (50%) увеличивается, а именно при соотношении $Cu^{2+}:SO_4^{2-}=1:10$ равновесие наступает уже через 5 суток. Как было показано выше, на скорость сорбции Cu^{2+} анионитами влияет кроме концентрации Cu^{2+} также и концентрация SO_4^{2-} в растворе и диффузия H^+ из одной фазы в другую. Можно предположить, в соответствии с рассмотренными механизмами, что при контакте навески смолы со слабокислым раствором $CuSO_4$ (pH 4,5) ионы H^+ из жидкой фазы проникают в фазу анионита быстрее, чем Cu^{2+}. При этом образуются группы R_3NH^+, которые несколько тормозят проникновение в фазу смолы катионов металла. Конкурируют два процесса: сорбция H^+ и комплексообразование медь—анионит. С добавлением ацетона к растворам $CuSO_4$ растет устойчивость образующихся в фазе смолы комплексов медь—анионит, а скорость десорбции H^+ увеличивается. При сорбции из 50%-ного раствора ацетона, в котором $Cu^{2+}:SO_4^{2-}=1:10$, образование $[(R_3N)nCu]^{2+}SO_4^{2-}$ не ограни-

чивается концентрацией SO_4^{2-} в растворе. Благодаря избытку SO_4^{2-} в растворе устойчивость комплекса настолько растет, что Cu^{2+} легко вытесняет H^+ из R_3NH^+. Большая часть H^+, вытесненных из R_3NH^+ или R-OH-групп анионита, не выходит в жидкую фазу, а, образуя с SO_4^{2-} анионы HSO_2^-, входит в состав комплекса $[(R_3H)nCu]^{2+}(HSO_4^-)_2$. Этим можно объяснить тот факт, что постоянство pH в таких системах (рис. 3) устанавливается быстрее, чем сорбционное равновесие меди (рис. 4).

Можно предположить, что рост скорости сорбции меди анионитами в указанных системах обусловлен, главным образом, двумя факторами: 1) отсутствием или уменьшением количества H^+, диффундирующих из одной фазы в другую, и 2) образованием более устойчивых комплексов $[(R_3H)nCu]^{2+}SO_4^{2-}$, чем $(R_3NH^+)_2SO_4^{2-}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гуцану В. Л., Пушняк А. Н., Мигаль П. К., Нгуен Тхи Ньюнг.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 6, 79, 1973.
2. *Гуцану В. Л., Пушняк А. Н., Мигаль П. К., Нгуен Тхи Ньюнг.* Известия Вузов. Цветная металлургия, № 3, 33, 1974.
3. *Копылова В. Д., Салдадзе К. М., Асамбадзе Г. Д.* Журн. неорган. химии, т. 15, 1074, 1970.
4. *Копылова-Валова В. Д.* Известия Вузов. Химия и хим. технология, т. 13, 197, 1970.
5. *Карман, В. Б., Асамбадзе Г. Д., Копылова В. Д., Салдадзе К. М.* В сб.: Химически активные полимеры и их применение. Л., «Химия», 1969, с. 115.
6. *Толмачева Ю. Л., Давыдов А. Т., Муракаева А. И.* Известия Вузов. Химия и хим. технология, т. 13, 1733, 1970.

Известия Академии наук Молдавской ССР,
Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г.

НАУКА—ПРОИЗВОДСТВУ

УДК 634:11:631·548·3

М. Д. КУШНИРЕНКО, Г. П. КУРЧАТОВА, М. Н. ЖУЛАВСКАЯ, А. С. КОРНЕСКУ, Я. М. ЧАКИР, В. Г. БЫКОВ, Я. Л. БАРЗАХ

ВЛИЯНИЕ СИНХРОННОГО ИМПУЛЬСНОГО ДОЖДЕВАНИЯ НА ВОДНЫЙ РЕЖИМ ЯБЛОНИ

В настоящее время в связи с развитием в Молдавии интенсивного садоводства активно ведутся поиски прогрессивных способов полива садов.

Задача орошения заключается в обеспечении растений водой в наиболее важные периоды роста и развития.

Между тем анализ арсенала способов и средств полива в многовековой практике возделывания сельскохозяйственных растений на орошаемых землях показывает, что все они основаны на принципе периодической подачи воды в активный слой почвы, значительное количество которой в дальнейшем расходуется на транспирацию и испарение в межполивные периоды. Следовательно, проведение периодических поливов заранее предопределяет циклический, а во многих случаях и нежелательный характер изменения среды. Импульсное дождевание, осуществляемое с помощью стационарных, автоматически действующих дождевальных установок, которые могут работать непрерывно по заданной программе, решает эту проблему [8, 11]. Агрофизическое обоснование импульсного дождевания при возделывании ряда травянистых сельскохозяйственных растений и чая дано в работе Лебедева [7].

Орошение сельскохозяйственных культур импульсным дождеванием позволяет улучшить водно-физические свойства почвы, поддерживать ее влажность на оптимальном для растений уровне. Кроме того, при этом способе снижается расход поливной воды.

Результаты исследований

В 1972 г. в саду совхоза «Прут» Унгенского района МССР впервые на плодовых растениях было начато изучение физиологического состояния деревьев яблони, подвергнутых импульсному дождеванию.

Импульсные дождеватели работают по сигналам понижения давления в трубопроводной сети. Дождеватель «Коломна», установленный в саду совхоза, предназначен для полива в режиме «синхронного» импульсного дождевания, которое является новым прогрессивным технологическим способом полива, основанным на принципе непрерывного снабжения растений водой в соответствии с их водопотреблением [9]. В статье приводятся данные за 1973—1975 гг.

Варианты опыта были следующие: I — контроль (без полива); II — полив «обычным» дождеванием; III — полив «синхронным» им-

пульсным дождеванием. На поливных вариантах опыта была проведена осенняя и весенняя влагозарядка.

Водный режим определялся с использованием методик [1, 2, 4]. Определяли сравнительную продуктивность транспирации [6], а также ЭСТЛ — электрическое сопротивление тканей листьев [5].

На опытном участке на протяжении всего периода вегетации температура воздуха была ниже, а относительная его влажность — выше по сравнению с контролем (рис. 1). Влажность почвы была выше также при поливе синхронно-импульсным способом в сравнении с контрольным участком, и колебания ее в первом случае были меньше (рис. 2).

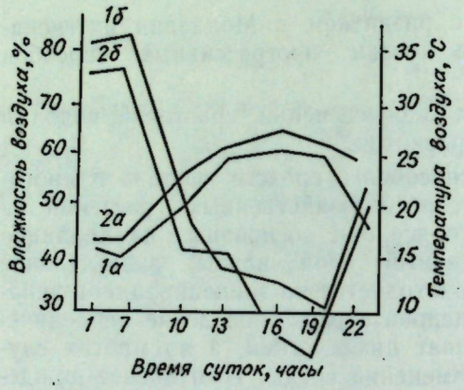


Рис. 1. Температура (*а*) и влажность воздуха (*б*) в саду:
1 — импульсное дождевание; *2* — контроль (без полива)

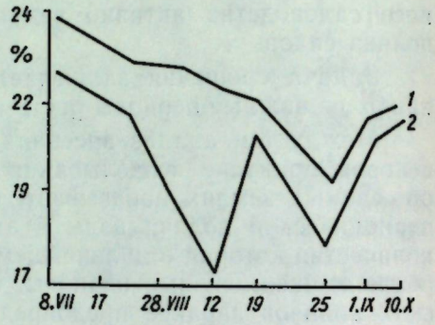


Рис. 2. Влажность почвы в яблоневом саду в слое от 0 до 100 *см* (1975 г.):
1 — импульсное дождевание; *2* — контроль (без полива)

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о том, что при поливе импульсным дождеванием листья более оводнены, чем при обычном, периодически проводимом орошении, и тем более в сравнении с неорошаемыми растениями (табл. 1). Близкие данные были получены и в 1972—1974 гг. В 1975 г. содержание воды в листьях спуровых растений и с формировкой кроны типа пальметты, политых импульсным дождеванием, в июле превысило контроль соответственно на 3,8 и 2,8%, в августе — на 3,9 и 3,5%.

Значительный дефицит воды в листьях отмечался у растений, выращенных на неорошаемом участке (рис. 3). Растения обоих сортов, поливаемые способом импульсного дождевания, характеризовались сравнительно высоким тургором листьев. Эта зависимость сохранилась до конца вегетационного периода. Снижение водного дефицита листьев яблони во всех вариантах опыта в конце июня — начале июля 1973 г. обусловлено значительным выпадением осадков.

При длительных межполивных периодах у поливных растений обнаруживается значительный водный дефицит. Это подтверждает вывод о том, что необходим постоянный контроль за физиологическим состоянием поливных растений, так как при несвоевременно проведенном поливе и длительных межполивных периодах орошаемые растения больше повреждаются засухой, чем неорошаемые. Последнее отрицательно сказывается на физиологическом состоянии растений и их продуктивности.

Величины ЭСТЛ на протяжении 1975 г. были низкие, исключая сентябрь и октябрь, что сопряжено со снижением количества выпадающих осадков в эти месяцы. Во всех случаях более высокие значения ЭСТЛ отмечались в контроле (табл. 2).

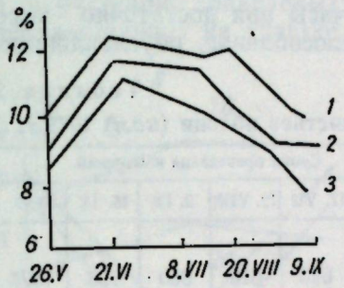


Рис. 3. Изменение водного дефицита листьев яблони сорта Вагнера призовое в течение вегетационного периода в зависимости от способа полива:
1 — контроль (без полива); *2* — обычное дождевание; *3* — синхронное импульсное дождевание

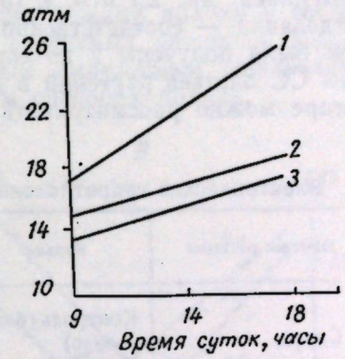


Рис. 4. Изменение сосущей силы клеточного сока листьев яблони сорта Банан зимний в зависимости от способа полива и времени суток (4.VII 1974 г.)
Обозначения те же, что на рис. 3

Известно, что сосущая сила определяет поступление воды в растения и рассматривается как интегральный показатель состояния их водного режима. Наибольшая величина сосущей силы (СС) клеточного сока листьев была у растений, выращиваемых без полива, они отличались и низким тургором (рис. 4). При непрерывно проводимом поливе импульсным дождеванием величина сосущей силы клеточного сока растений была несколько меньше в сравнении с растениями, поливаемыми обычным дождеванием, и намного меньше в сравнении с неорошаемыми растениями. В листьях растений сорта Банан зимний,

Таблица 1

Содержание воды в листьях яблони в зависимости от способов орошения (*г* на 100 *г* сырого вещества), 1973 г.

Сорт	Вариант опыта	Сроки отбора				
		4. VII	8. VIII	27. VIII	3. IX	24. IX
		M±m	M±m	M±m	M±m	M±m
Банан зимний	Контроль (без полива)	60,0±0,02	58,3±0,03	—	57,0±0,02	54,8±0,04
	Обычное дождевание	61,0±0,04	58,3±0,02	58,8±0,04	57,3±0,07	55,6±0,06
	Импульсное дождевание	63,2±0,09	59,1±0,04	60,6±0,01	59,6±0,06	56,5±0,10
Вагнера призовое	Контроль (без полива)	59,7±0,01	56,5±0,07	55,2±0,02	54,9±0,06	53,3±0,08
	Обычное дождевание	60,8±0,02	58,8±0,11	57,5±0,03	56,1±0,03	54,5±0,05
	Импульсное дождевание	60,1±0,03	60,2±0,10	62,9±0,04	57,0±0,01	54,6±0,01

выращиваемых в неорошаемых условиях, величина СС к 14 часам возрастала в сравнении с утренней на 4,9 *атм*, а к 18 часам — на 9,8 *атм*. У орошаемых растений величина СС также увеличилась. У растений при обычном дождевании сосущая сила к 13 часам повысилась на 2,1 *атм*, к 18 часам — на 4,3 *атм*; при импульсном дождевании — соответственно на 2,1 и 4,8 *атм*. Аналогичные результаты были получены и по сорту Вагнера призовое. Повышение величины СС листьев растений в дневные часы при достаточно высоком тургоре можно рассматривать как приспособление, обусловленное повышением напряженности метеорологических условий — повышением температуры воздуха и снижением его относительной влажности. Увеличение сосущей силы клеточного сока листьев является также следствием нарушения водного баланса, что и наблюдается в варианте «без полива».

Таблица 2

Электрическое сопротивление тканей листьев яблони (*ком*) 1975 г.

Опытное растение	Вариант	Сроки проведения измерений					
		8. VII	17. VII	12. VIII	2. IX	15. IX	16. X
Спуры	Контроль (без полива)	590	643	610	800	798	1175
	Импульсное дождевание	565	523	570	720	776	1065
Пальметта	Контроль (без полива)	602	762	775	780	835	1092
	Импульсное дождевание	585	505	650	760	805	944

У политых растений, особенно импульсным дождеванием, увеличивается относительная активность воды (ОАВ) в клетках листа, что обусловливает увеличение интенсивности транспирации. Данные по определению ОАВ в листьях изучаемых сортов яблони в течение 1973—1974 гг. приведены в табл. 3.

Таблица 3

Относительная активность воды в листьях пальметтной яблони в зависимости от способа полива

Способ полива	1973 г.	1974 г.		
	20. VI	11. VI	10. VII	19. VII
Банан зимний				
Контроль (без полива)	0,21	0,40	0,57	0,73
Обычное дождевание	0,26	0,49	0,69	0,77
Импульсное дождевание	0,28	0,53	0,79	0,80
Вагнера призовое				
Контроль (без полива)	0,25	0,49	0,78	0,48
Обычное дождевание	0,28	0,58	0,79	0,60
Импульсное дождевание	0,30	0,68	0,86	0,73

Сходные результаты были получены и в 1975 г. в опытах с яблоней сорта Голденспур и пальметтой сорта Старкримсон (рис. 5).

Следовательно, растения яблони при импульсном дождевании характеризовались бо́льшими величинами оводненности, тургора

листьев, ОАВ, а ЭСТЛ, сосущая сила и водный дефицит были ниже, чем при обычном дождевании и в контроле. Это позволяет считать, что водный баланс растений при импульсном дождевании складывается более благоприятно, чем при обычном дождевании, и тем более в условиях богары.

Определение некоторых сторон водного режима яблони в течение дня показало различную интенсивность изучаемых процессов водообмена у растений, поливаемых синхронным импульсным дождеванием и произрастающих на участке с обычным способом полива.

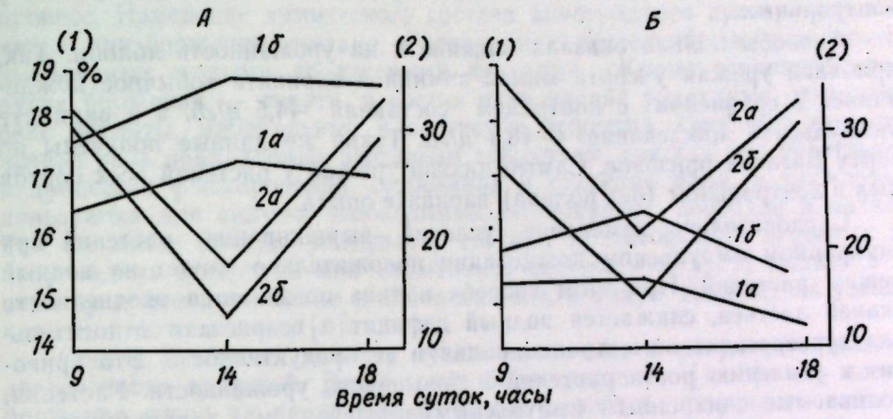


Рис. 5. Водный дефицит (*1*) и относительная активность воды (*2*) листьев яблони в течение дня (25.VI 1975 г.).
А — спуры; *Б* — пальметта:
а — импульсное дождевание; *б* — контроль (без полива)

Наиболее низким водным дефицитом характеризуются растения яблони типа спур и пальметты в утренние часы (рис. 5), с повышением температуры воздуха возрастает водный дефицит и снижается относительная активность воды в листьях. Более полно восстановление тургоресцентности листьев в вечерние часы происходит у растений при синхронном импульсном дождевании. У этих растений в сравнении с контрольными в течение всего дня водный дефицит листьев значительно ниже, а относительная активность воды и интенсивность транспирации больше. У деревьев яблони независимо от способа полива слабая интенсивность транспирации наблюдается в ночное время и в ранние утренние часы. В дальнейшем, с повышением температуры воздуха, интенсивность ее возрастает. Снижение интенсивности транспирации в жаркое время дня (13—15 час), очевидно, связано с увеличением водного дефицита и снижением относительной активности воды в листьях в этот период (рис. 5, 6).

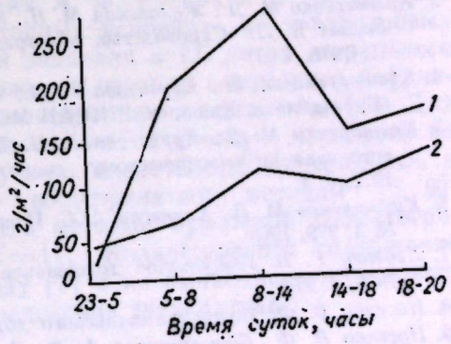


Рис. 6. Интенсивность транспирации листьев яблони в течение суток (25—26.VI 1975 г.):
1 — импульсное дождевание; *2* — контроль (без полива)

У растений яблони типа спур и пальметты при синхронном импульсном дождевании в утренние и вечерние часы накапливается больше сухих веществ, чем у контрольных. Так, с 4 до 8 часов утра накопление сухих веществ у первых составляло 1,33, а у контрольных — 0,63 *г/м²* в час. В полуденные часы отмечалось почти одинаковое накопление сухих веществ — соответственно 0,62 и 0,66 *г/м²* в час, что, возможно, связано с большим оттоком их в осевые органы у растений, подвергнутых синхронному импульсному дождеванию. У последних продуктивность транспирации в утренние часы выше, чем у контрольных.

Способы полива оказали влияние и на урожайность яблони. Так, прибавка урожая у сорта Банан зимний в варианте «обычное дождевание» в сравнении с контролем составила 44,5 *ц/га*, а в варианте «импульсное дождевание» — 46,4 *ц/га*. Такие же данные получены по сорту Вагнера призовое. Самый низкий урожай у растений всех сортов был в контрольном (без полива) варианте опыта.

Следовательно, изменение условий выращивания растений при синхронном импульсном дождевании положительно влияет на водный режим растений. При этом способе полива повышается оводненность тканей листьев, снижается водный дефицит и возрастают относительная тургоресцентность, транспирация и ее продуктивность. Это приводит к усилению роста растений и повышению урожайности. Растения, поливаемые синхронным импульсным дождеванием, характеризуются благоприятным водным балансом не только в сравнении с неорошаемыми растениями, но и с поливаемыми периодически обычным дождеванием.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабушкин Л. Н.* Труды МНИИОЗиО, т. 4, вып. 1, 1962, с. 69—73.
2. *Вальтер О. А., Пиневич Л. М., Варасова Н. Н.* Практикум по физиологии растений с основами биохимии. М., «Сельхозгиз», 1957, с. 340.
3. *Кушниренко М. Д., Жулавская М. Н., Курчатова Г. П., Быков В. Г., Чакир Я. М., Барзах Я. Л.* «Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии», № 8, 8—11, 1975.
4. *Кушниренко М. Д., Курчатова Г. П., Бондарь Е. М., Гончарова Э. А.* Водный обмен яблони. Кишинев, РИО АН МССР, 1970.
5. *Кушниренко М. Д., Курчатова Г. П.* Диагностика потребности в поливе яблоневого сада по электрическому сопротивлению тканей листьев. М., «Наука», 1972, с. 4.
6. *Кушниренко М. Д., Корнеску А. С.* Известия АН МССР, Серия биол. и хим. наук, № 4, 279, 1969.
7. *Лебедев Г. В.* Импульсное дождевание и водный обмен растений. М., «Наука», 1969, с. 279.
8. *Носенко В. Ф.* Техника импульсного дождевания. М., «Колос», 1973, с. 109.
9. *Носенко В. Ф., Боровенников А. В., Ян Г., Гречихин Н. И.* Импульсный дождевальный аппарат «Коломна». Изд. ВНИИМиТП, 1974, с. 2.
10. *Сулейманов И. Г.* В сб.: Роль компонентов протоплазмы в водообмене растений. Казань, Изд. КГУ, 1972, с. 30—37.
11. *Шумаков Б. Б., Носенко В. Ф., Шлейкин Г. Ю.* «Гидротехника и мелиорация», № 7, 100—110, 1975.

УДК 633.12.582.282.23

Л. М. МАНЬКОВСКАЯ, Р. В. БРЫНЗА, В. С. МАНЬКОВСКИЙ, И. Х. КИРТОКА

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ НА СОДЕРЖАНИЕ АЗОТИСТЫХ ВЕЩЕСТВ ВИНА

Спиртовое брожение представляет собой сложный биохимический процесс. Изменение химического состава виноградного сусла, происходящее при брожении, связано, в основном, с деятельностью ферментов, выделяемых живыми дрожжевыми клетками. Кроме основного продукта брожения — спирта, в состав вина входят различные органические кислоты, минеральные и азотистые вещества. Особенно существенная роль принадлежит азотистым веществам, так как они участвуют в процессах формирования, созревания и старения вина, а также используются для синтеза необходимых аминокислот, пептидов и белка. Тем не менее следует учитывать, что при приготовлении игристых и полусладких десертных вин избыточное содержание азота делает эти вина предрасположенными к заболеваниям, а также снижает их устойчивость к помутнениям [4].

Состав азотистых веществ сусла изменяется в результате жизнедеятельности дрожжей. Ранее нами было показано [1, 8], что после брожения сусла на различных штаммах дрожжей получалось вино с неодинаковым содержанием азотистых веществ. В образовавшихся осадочных дрожжах находилось разное количество азота.

Цель данных исследований — изучить роль отдельных штаммов дрожжей в создании баланса азотистых веществ вина.

Материал и методы

Объектами исследований служили вино и осадочные дрожжи. Для брожения сусла использовали штаммы дрожжей группы: 1) «киллер»-Р-3-21, С-11-15; 2) нейтральные — Бессарабский-50, Р-3-Х-1; 3) чувствительные — Бордо-20, Ленинградский. Штаммы Ленинградский, Бордо-20 и Бессарабский-50 были взяты из коллекции НПО «Кодру»; штаммы Р-3-Х-1, Р-3-21, С-11-15 — выделены из сусла в сезон виноделия 1973 г. сотрудниками А. Ф. Руснак и Ф. Я. Кайсын.

Брожение проводили в лабораторных условиях в трехлитровых бутылях. 2%-ную разводку дрожжей задавали в 1,5 литра стерильного сусла сорта Фетяска. Динамику брожения изучали с помощью рефрактометра и построения кривых с использованием номограммы [3]. Для выявления роста массы дрожжей измеряли оптическую плотность на ФЭК-М (λ=536 *нм*). Спирт, титруемую кислотность, минеральные и азотистые вещества определяли по общепринятым методам [6, 9]. Аминокислотный состав вина изучали методом бумажной хроматографии (марки немецкой быстрой FN=1). Количественное содержание аминокислот подсчитывали по методу [7] и на аминокислотном анализаторе типа 6020А. Повторность определения трехкратная.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что интенсивность процесса сбраживания сахара зависит от штамма дрожжей (рис. 1). Дрожжи «киллеры» Р-3-21 и С-11-15 на четвертый день от начала брожения

использовали 69 и 66% сахара сусла соответственно, тогда как нейтральные — Бессарабский-50 и Р-3-Х-1 — 61 и 55%, а чувствительные — Ленинградский и Бордо-20 — 40 и 38%. Брожение сусла с использованием дрожжей первой группы и штамма Бессарабский-50 закончилось на седьмой, штамма Р-3-Х-1 — на восьмой, Бордо-20 — на девятый и Ленинградского на 11-й день.

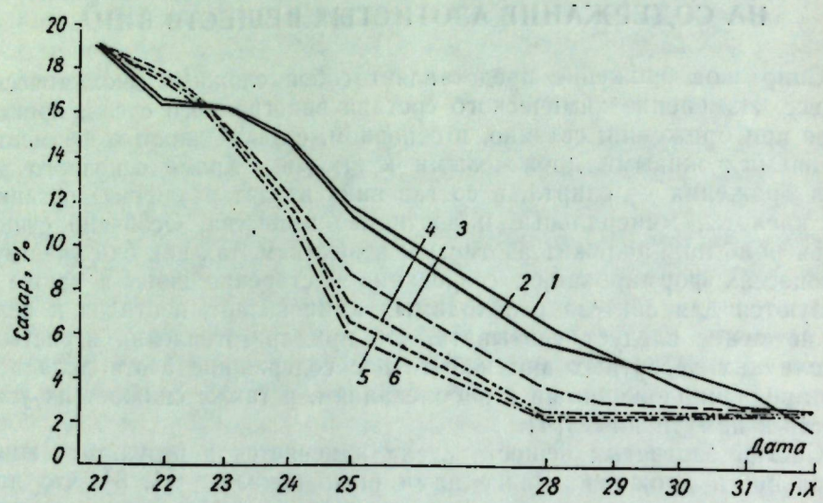


Рис. 1. Динамика сбраживания сахара. Октябрь 1974 г. Сахар, сброженный штаммами:
1 — Бордо-20; *2* — Ленинградский; *3* — Р-3-Х-1; *4* — Бессарабский-50; *5* — С-11-15; *6* — Р-3-21

Существенные различия отмечались нами и по количеству образовавшихся дрожжей. Сбраживание 69 и 66% сахара на четвертый день от начала брожения проводилось меньшим количеством дрожжей штамма С-11-15. Однако количество дрожжевых клеток штамма Р-3-21

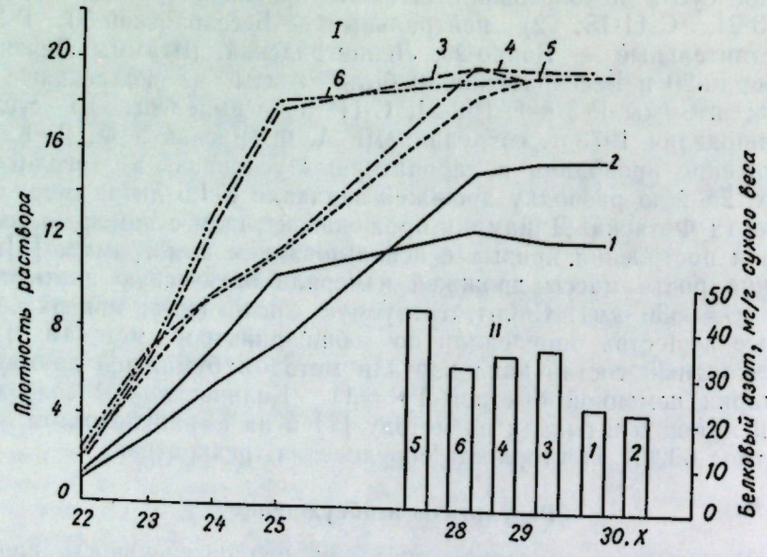


Рис. 2. Влияние содержания белкового азота на рост массы дрожжей:
I — масса дрожжей; *II* — белковый азот (*мг/г* сухого веса). Обозначения те же, что на рис. 1

было больше в 1,6 раза по сравнению со штаммом С-11-15. Штамм Р-3-Х-1 накапливал дрожжевую массу так же активно, как и Р-3-21. Из данных рис. 1 и 2 видно, что при использовании штамма Р-3-Х-1, несмотря на большую массу дрожжей, процесс сбраживания сахара проходил медленно, так же как и на Бессарабском-20 и группе чувствительных штаммов.

По содержанию белкового азота в дрожжах штаммов группы «киллеры» и чувствительные значительно различаются (рис. 2). Активность брожения указанных групп соответствует содержанию белкового азота в дрожжах. У нейтральных (Р-3-Х-1 и Бессарабский-50) — накапливалась большая масса при сравнительно высоком содержании в дрожжах белкового азота, что приводило к значительному обогащению вина азотом, в том числе белковым.

Таблица 1

Химический состав вина

Штамм дрожжей	Вино				
	сахар, %	спирт, об%	pH	титруемая кислотность, *г/л*	минеральные вещества, *мг/л*
Сусло „Фетяска"	18,9	–	3,23	10,89	336
„Киллеры"					
С-11-15	—	10,01	3,16	11,16	168
Р-3-21	—	10,01	3,16	10,49	165
Нейтральные					
Р-3-Х-1	—	9,92	3,20	9,02	176
Бессарабский-50	—	9,76	3,18	9,56	169
Чувствительные					
Бордо-20	—	10,42	3,19	9,11	180
Ленинградский	—	10,26	3,15	10,09	194

В табл. 1 приведены данные химического состава вина. Вина, полученные на штаммах Бордо-20 и Ленинградский, содержат несколько больше спирта (в среднем 4—5%), чем вина, полученные на дрожжах «киллеры» и нейтральные. Титруемая кислотность после брожения остается на высоком уровне в вине, полученном на первой группе дрожжей. В вине по сравнению с суслом минеральных веществ содержалось в среднем меньше на 164, 170 и 149 *мг/л* — соответственно группам дрожжей.

Таблица 2

Содержание азота в вине и дрожжах

Штамм дрожжей	Вино, *мг/л*			Дрожжи, *мг/г* сухого веса		
	общий	белковый	небелковый	общий	белковый	небелковый
„Киллеры"						
С-11-15	910	67,5	842,5	54,8	44,6	10,2
Р-3-21	917	51,8	858,9	37,7	32,5	5,2
Нейтральные						
Бессарабский-50	903	65,5	837,5	44,6	34,8	9,8
Р-3-Х-1	980	72,8	907,2	42,1	36,4	5,7
Чувствительные						
Бордо-20	924	39,7	884,3	29,5	24.4	5,1
Ленинградский	882	22,4	859,6	26,7	22,9	3,8

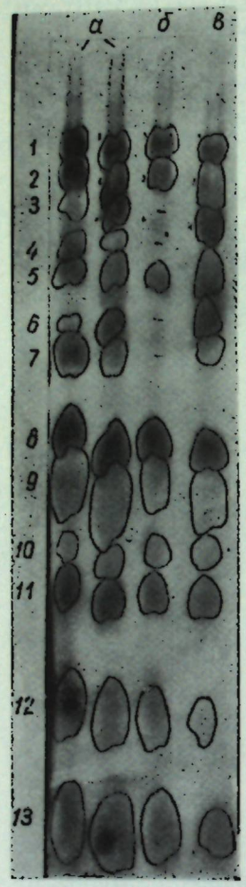


Рис. 3. Хроматография аминокислот вина, полученного при сбраживании сусла различными штаммами дрожжей:

а — «киллеры» — С-11-15; Р-3-21; *б* — нейтральные — Бессарабский-50; *в* — чувствительные — Бордо-20. *1* — Лизин+гистидин; *2* — аргинин; *3* — аспарагиновая кислота; *4* — серин; *5* — глицин; *6* — глутаминовая кислота; *7* — треонин; *8* — аланин; *9* — пролин; *10* — тирозин; *11* — метионин +валин; *12* — фенилаланин; *13* — изолейцин+ +лейцин

Известно, что деятельность дрожжей в бродильном субстрате лимитируется в основном запасом азотистых веществ в среде [2, 5, 10].

Из полученных данных следует, что поглощение дрожжами при размножении значительной части исходного азота сусла приводит к изменениям содержания азотистых веществ вина (табл. 2). Так, если в сусле было 1293 *мг/л* азота, то после брожения вина, полученные на штаммах Ленинградский, Бессарабский-50 и С-11-15, содержали меньше азота (соответственно на 411, 390 и 383 *мг/л*).

Установлено, что в зависимости от условий брожения дрожжи выделяют разнообразные азотистые вещества, основными из которых являются аминокислоты [2].

Изучаемые группы дрожжей неодинаково обогащали вино азотом, в том числе белковым. Содержание общего азота в полученных образцах вина колебалось в пределах 882—980 *мг/г*, из которого белковый азот составлял 2,5—7%. В винах, полученных на дрожжах, обладающих фактором «киллер» (С-11-15 и Р-3-21), наблюдалось повышенное количество белкового азота (до 203%) по сравнению с таковым, приготовленным на штаммах чувствительных (Бордо-20 и Ленинградский).

Установлено также, что дрожжи первой группы в одном грамме сухого вещества имели белкового азота на 14,8 *мг/г* больше, чем дрожжи группы чувствительных. В дрожжах «киллеры» (С-11-15) содержалось общего азота 54,8 *мг* в грамме сухого веса, а в дрожжах Р-3-21 — 37,7 *мг/г*. Вследствие этого вино, полученное на штамме С-11-15, имело в своем составе на 16% белкового азота больше, чем на Р-3-21, хотя по общему азоту оно почти не отличалось. Дрожжи нейтральные по содержанию общего, в том числе белкового, азота занимали промежуточное место среди изучаемых групп. Однако в винах на штаммах Бессарабский-50 и Р-3-Х-1 в среднем белкового азота было на 7 и 38 *мг/л* больше, чем в винах, полученных на дрожжах «киллеры» и чувствительных соответственно. В результате брожения на штамме Р-3-Х-1 получилось вино, содержащее самый высокий процент общего и белкового азота, по-видимому, вследствие того, что этот штамм дрожжей в начале брожения накапливал значительно бо́льшую массу, чем остальные (рис. 2).

Основную часть азотистых веществ дрожжей составляет белковый азот (70—85%).

Под влиянием изучаемых штаммов дрожжей изменяется количественный и качественный состав свободных аминокислот вина (табл. 3). Наибольшее содержание как отдельных, так и суммы аминокислот, наблюдалось в винах, полученных на штаммах «киллеры» и нейтральные (рис. 3). В отдельных винах обнаружены лишь следы некоторых

Таблица 3

Аминокислотный состав вина (*мг/л*), полученного при сбраживании сусла различными штаммами дрожжей

Аминокислота	Штаммы дрожжей					
	чувствительные		нейтральные		«Киллеры»	
	Ленинградский	Бордо-20	Бессарабский-50	Р-3-Х-1	Р-3-21	С-11-15
Лизин+гистидин	18,32	38,7	48,5	56,62	70,4	52,8
Аргинин	15,55	62,9	52,4	36,75	141,5	90,0
Аспарагиновая кислота	22,95	33,8	5,0	23,51	17,7	20,4
Серин	13,3	—	—	19,2	7,7	3,3
Глицин	11,15	43,5	34,8	21,32	60,9	60,9
Глутаминовая кислота	24,6	13,6	—	33,3	5,8	11,7
Треонин	6,45	5,5	—	12,06	20,3	8,3
Аланин	26,45	19,6	22,3	47,39	26,2	24,9
Пролин	197,9	159,1	88,4	246,44	138,4	219,0
Тирозин	16,3	9,6	27,2	17,37	5,3	12,0
Метионин+валин	37,5	21,2	46,7	46,64	63,7	47,8
Фенилаланин	24,15	19,2	24,7	44,95	30,2	33,0
Изолейцин+лейцин	40,45	33,2	52,2	57,26	61,7	104,5
Сумма аминокислот	474,85	309,9	378,2	642,43	590,8	688,6

аминокислот (серин, треонин, глутаминовая кислота). Значительно меньшее количество ароматических аминокислот — фенилаланина и тирозина содержалось в вине на Ленинградском штамме по сравнению с образцами, полученными на штамме Р-3-Х-1.

Lafon-Lafourcade, Reynaud [11] отмечали, что при брожении сусла пролин потребляется дрожжами лишь на 20—30%.

Образцы вин в нашем опыте сильно различались по содержанию пролина, что может свидетельствовать о различной усвояемости этой аминокислоты исследуемыми штаммами дрожжей.

Таким образом, специфика азотного питания дрожжей обусловливает особенности химического состава вин. Изучаемые штаммы дрожжей различаются по способности обогащать вина азотистыми веществами.

Следовательно, наряду с подбором сусла с оптимальным содержанием азотистых веществ для приготовления определенных типов вин необходим выбор соответствующих штаммов дрожжей, что обеспечит более точное регулирование баланса азотистых веществ вина.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Брынза Р. В., Маньковская Л. М., Кирияк Л. Г.* Биология дрожжей и дрожжеподобных грибов Молдавии. Кишинев, «Штиинца», 1976.
2. *Валуйко Г. Г., Нилов В. И.* Виноделие. Труды ВНИИВиВ «Магарач», т. VII, 1959, с. 72—109.
3. *Вечер В. С.* Виноделие и виноградарство СССР, № 8, 27—28, 1950.
4. *Зинченко В. И.* Труды ВНИИВиВ «Магарач», т. XV, 136—152, 1967.
5. *Коновалов С. А.* Биохимия дрожжей. М., Пищепромиздат, 1962.
6. *Короткевич А. В., Рыкова Л. И.* Руководство по химии вина. Кишинев, «Картя Молдовеняскэ», 1960.
7. *Пасхина Т. С.* Современные методы биохимии. М., 1964.
8. *Попушой И. С., Маньковская Л. М., Брынза Р. В., Руснак А. Ф., Кайсын Ф. Я.* Известия АН МССР, Сер. биол. и хим. наук, № 6, 71—77, 1975.
9. *Фролов-Багреев А. М., Агабальянц Г. П.* Химия виноделия. М., Пищепромиздат, 1951.
10. *Шандерль Г.* Микробиология соков и вин. М., «Пищевая промышленность», 1967.
11. *Lafon-Lafourcade S., Reynaud E.* Vitis, Bd., 2, 45, 1959.

УДК 576.895

Г. Г. КУТЯВИН, А. А. СПАССКИЙ

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА НА ЭПИЗООТОЛОГИЮ ЭХИНОКОККОЗА В МОЛДАВСКОЙ ССР

Интенсификация животноводства вносит свои коррективы не только в сферу деятельности человека, но существенно изменяет основные звенья эпизоотологической цепи при инфекциях и инвазиях. Эти изменения не могут не отразиться на экстенсивности и интенсивности эхинококкоза домашних животных. Так, концентрация сельскохозяйственных животных по видам в крупных животноводческих комплексах при одновременном уменьшении площади выпаса способствовала установлению стабильных связей между звеньями эпизоотической цепи этого гельминтоза. По данным обследований животных, проведенных на мясокомбинате в 1970—1973 гг., экстенсивность заражения крупного рогатого скота в Центральной зоне Молдавии равнялась 18—19%. При этом амплитуда колебания степени инвазии за эти 4 года составляла всего 1%. Тогда как в 1961—1969 гг., то есть до создания комплексов, степень инвазии изменялась в пределах 10—40%, что объяснялось разнообразием организационных форм ведения производства и условий содержания животных в различных хозяйствах.

Группирование скота и ограничение площади выпаса сказываются благоприятно на снижении экстенсивности эхинококкоза. Но тем не менее зараженность КРС этими гельминтами остается еще на довольно высоком уровне. Для выяснения причин столь высокой интенсивности инвазии, когда действуют факторы, способствующие разрыву эпизоотической цепи данного гельминтоза, необходимо вернуться к рассмотрению биологических особенностей эхинококка.

Первая особенность. Полный цикл развития паразита осуществляется в двух хозяевах. Повторения цикла развития эхинококка при участии той же особи промежуточного хозяина (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи) не происходит, так как животное забивается и лярвоцисты следующего поколения развиваются уже в других особях промежуточного хозяина.

Вторая особенность — возможность смены популяций или даже вида промежуточного хозяина у особей разных поколений эхинококка. Это явление зачастую наблюдается и в том случае, если не происходит смены особей дефинитивного хозяина, т. е. цестоды разных поколений могут достигать половой зрелости в кишечнике одного и того же окончательного хозяина (собаки). Включение в цикл развития эхинококка различных видов промежуточных хозяев ведет к повышению жизненности паразита. Один из многочисленных возможных вариантов этой цепи можно изобразить так: окончательный хозяин (собака) — промежуточный хозяин (овца) — окончательный хозяин (собака) — промежуточный хозяин (свинья) — окончательный хозяин (собака) — промежуточный хозяин (КРС) и т. д. Концентрация животных по видам продукции практически устраняет возможность смены видов промежуточных хозяев, поэтому вторая особенность эхинококка в животноводческих комплексах не реализуется.

Третья особенность — возможность смены видов дефинитивного хозяина (волк—собака—шакал и т. д.) у эхинококка разных поколений.

Перечисленные особенности, видимо, способствовали выживанию эхинококка в ходе его довольно длительной эволюции. В Молдавии ранее, несомненно, происходила смена и промежуточных, и дефинитивных хозяев, но теперь условия его существования сильно изменились. Если в сравнительно недалеком прошлом в условиях индивидуального хозяйства и на колхозных фермах сохранялась возможность периодической смены промежуточных (а в ряде случаев и дефинитивных) хозяев, то в специализированном хозяйстве может иметь место лишь смена особей промежуточного хозяина одного и того же вида (КРС или свинья). Весь скот из этих хозяйств поступает на мясокомбинат, где эхинококковые пузыри, если они образовались, полностью обезвреживаются и выпадают из круговорота инвазии. Следовательно, заражение новых партий скота в таком хозяйстве современного типа может произойти только от собак индивидуального пользования, получивших инвазию от животных частного сектора при подворном забое скота без соблюдения санитарных правил или от бродячих собак, зарази вшихся эхинококком при поедании мясных отбросов или трупов диких копытных. Совершенно очевидно, что эхинококкозные животные этих хозяйств заразились, проглатывая инвазионные яйца эхинококка, которые могли быть занесены на территорию хозяйства. Наиболее вероятны два пути проникновения инвазии: или инвазионные яйца заносились с кормом и водой, или же на территорию хозяйства допускались недегельминтизированные эхинококкозные собаки (бродячие или принадлежащие обслуживающему персоналу). И происходит это, судя по высокой зараженности крупного рогатого скота, довольно часто.

Такое нарушение ветеринарно-санитарных правил в условиях интенсивного хозяйства с высокой концентрацией животных особенно опасно, так как в этом случае одна собака заражает одновременно большое количество голов скота. Руководителям хозяйств и обслуживающему персоналу на это следует обратить особое внимание.

Для наружной охраны хозяйства и отпугивания бродячих собак могут быть использованы лишь специально подготовленные сторожевые собаки, а именно кастрированные самцы, регулярно (один раз в квартал) подвергаемые дегельминтизации под руководством опытного ветеринарного специалиста.

Очень высокий процент зараженности овец (до 33—40%, а в некоторых хозяйствах и более) объясняется тем, что еще не ликвидированы бродячие собаки, а собаки чабанов нерегулярно дегельминтизируются, что приводит к постоянному заражению пастбищ и водопоя.

Следует подчеркнуть, что в жаркое и сухое время года заражение овец эхинококком многими другими геогельминтами происходит преимущественно на водопое. Яйца смываются дождевыми потоками в ручьи, пруды, различные углубления и временные небольшие водоемы, в частности лужи, которые служат местом водопоя для овец. Кроме того, по берегам постоянных и временных водоемов, во влажных местах создаются благоприятные условия для выживания инвазионных яиц и личинок гельминтов. В связи с этим для успешной борьбы с эхинококком и другими гельминтами целесообразно организовывать водопой таким образом, чтобы животные снабжались заведомо чистой водой, которую можно завозить и на пастбище. При этом необходимо тщательно следить за чистотой поилок и емкостей для хранения и перевозки питьевой воды.

Невысокий, но еще ощутимый процент заражения эхинококкозом свиней (4—5%) объясняется проникновением на свинофермы инвазированных собак или попадания яиц эхинококка с кормом. Для устранения этих эпизоотологических факторов необходимо организовать охрану выгульных площадок, кормокухонь, складов и мест заготовки фуража от проникновения бродячих собак — возможных носителей эхинококка.

Известия Академии наук Молдавской ССР,
Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 582.288

Ж. Г. ПРОСТАКОВА, Л. А. МАРЖИНА, Э. Ф. ХРИПУНОВА

НОМЕНКЛАТУРНЫЕ ЗАМЕТКИ ОБ *AMEROSPORIUM ATRUM* (FUCK.) HOHN. *(FUNGI IMPERFECTI)*

Среди выявленных нами в Молдавии микромицетов, обитающих на культурных растениях, обнаружен интересный представитель семейства *Excipulaceae* — *Amerosporium atrum* (Fuck.) Höhn.

Первоначально этот гриб обозначался *Chaetomella atra* Fuck. Fuckel установил род *Chaetomella* в 1869 г., основываясь на двух видах — *C. oblonga* и *C. atra* со следующей характеристикой: «perithecia superficialia, brevissima pedicellata, astoma, ubique sparse setosa. Asci nulli. Stylosporae in sporophorum ramosum apicibus, simplices, cylindraceae vel subfusiformes, subcurvatae, quendoque coloratae». Причем у *C. oblonga* конидии бесцветные, а у *C. atra* — в массе оливковые. Höhnel [2] в 1915 г. отнес последний вид к роду *Amerosporium* Speg., считая только *C. oblonga* типом рода *Chaetomella*. Подробно вопросы таксономии этих грибов рассмотрены в статье Stolk. [4].

Род *Amerosporium* характеризуется пикнидами, окруженными септированными щетинками, вначале полностью закрытыми, без устьица, вскоре раскрывающимися вверху. Конидиеносцы расположены плотным слоем только в основании пикнид. Конидии слегка окрашены в зеленоватый цвет, но в массе оливковые.

Роды *Chaetomella* и *Amerosporium* часто смешивают, так как они очень близки как по внешнему виду, так и по строению. Но отличаются тем, что у рода *Chaetomella* конидии совершенно бесцветные, а на верхней поверхности пикнид всегда имеется «шов» (*raphe*), который состоит из продольного ряда тонкостенных клеток, окаймленных толстостенными темноокрашенными клетками. При разрыве по этому тонкому ряду он функционирует как устьице.

Приводим описание выявленного нами гриба *Amerosporium atrum* (Fuck.) Höhn. (syn. *Chaetomella atra* Fuck).

Пикниды 180—320 *мк* в диаметре, шаровидные или приплюснуто-шаровидные, поверхностные, сначала полностью закрытые, без устьица, черные, в проходящем свете — темно-зеленые. Стенки пикниды тонкие, около 10—15 *мк* толщиной, состоят из темно-оливковых толстостенных клеток, расположенных радиальными линиями, в основании пикниды они переходят в очень толстостенную псевдопаренхиматическую ткань около 40 *мк* толщиной, образующую базальный слой, на котором располагается слой конидиеносцев. На поверхности пикнид ближе к основанию имеются прямые жесткие, шиловидные, септированные, темно-зеленые щетинки до 100 *мк* длины. Конидиеносцы разветвленные, 30—60 *мк* длины. Конидии образуются апикально на конидиеносцах, веретеновидные, слегка притупленные с одного конца, без перегородок, бледно-зеленоватые, в массе — темно-оливковые, 11—17 × 1,7—3,2 *мк*.

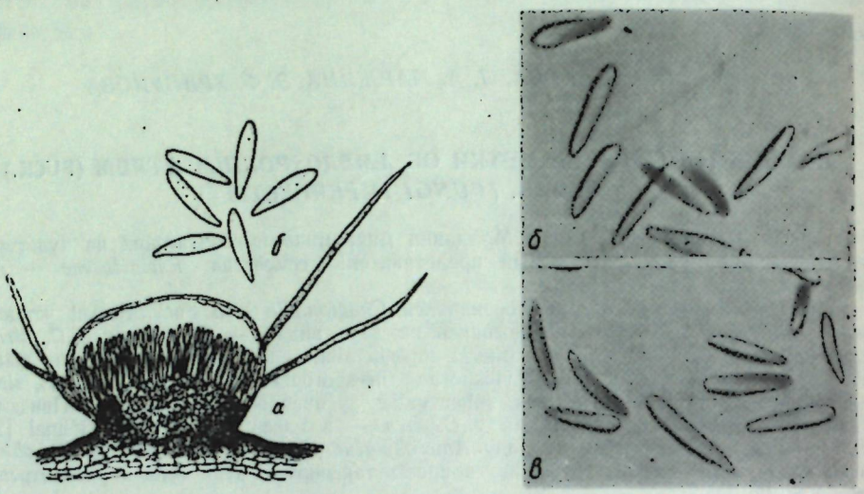
Гриб найден на побегах, усиках, черешках листьев, опавших ягодах винограда, стеблях малины, мяты, шалфея, лаванды, на тонких веточках и древесине белой акации, эфиромасличной розы, грецкого ореха, а также на надплодниках последнего.

Следует отметить, что интенсивность развития его на указанных породах различна. Он встречается преимущественно на более мягких субстратах, таких как виноград, малина, мята, шалфей, лаванда. Отмечен весной и осенью, в основном в Центральной зоне республики.

В СССР этот вид и род до сих пор не отмечались. Но в 1968 г. И. П. Фроловым в Туркмении описан род *Thyriochaetum* с двумя видами, весьма напоминающими найденный нами гриб. При сравнении с нашими образцами гербарного материала типового вида *T. ficinum* Frol. с древесины *Ficus carica* L. оказалось, что он идентичен выявленному нами *Amerosporium atrum*, описание которого приведено выше (см. рисунок.). В типичном материале плодовые тела представляют собой также пикниды без устьиц, раскрывающиеся от центра, с характерным радиальным расположением клеток, темно-зеленые, со щетинками, расположенными ближе к основанию. Разветвленные конидиеносцы собраны на утолщенном основании пикниды.

Конидии веретеновидные, одноклеточные. В описании рода И. П. Фроловым указывается, что конидии бесцветные. Однако при характеристике обоих видов указано: «споры оливковые или бесцветные, в массе зеленоватого цвета».

Следует заметить, что у *Amerosporium* первоначально конидии были описаны автором рода как бесцветные, но Petrak и Sydow [3] при проверке типа рода *A. polynematoides* Speg. установили, что споры его имеют бледно-оливковую окраску, в массе оливково-бурую.



Плодовое тело и конидии гриба:
а — пикнида *Amerosporium atrum; б* — конидии *A. atrum; в* — конидии *Thyriochaetum ficium*

Таким образом, изучение голотипа *F. ficinium,* который является типом рода *Thyriochaetum,* показало, что данный гриб является *A. atrum.* Второй вид этого рода *F. vitis* Frol. описан одновременно с первым на сухой коре *Vitis vinifera* L. Сопоставление основных признаков этих видов на основании диагноза автора и изучения типового материала показало, что морфологические отличия между ними несущественны и условия местообитания сходны, что позволяет считать эти два вида тождественными.

Поэтому род *Thyriochaetum* Frol., описанный в 1968 г., является синонимом рода *Amerosporium* Speg., описанного в 1882 г.

Amerosporium Speg. Anales de la Sociedad cientifica argentina. Buenos Aires, 13:11—25 (1882).

Syn. *Thyriochaetum Frol.* Новости систематики низших растений. Л., 190—192 (1968).

Виды *T. ficinum* Frol. и *T. vitis* Frol. следует считать синонимами вида *A. atrum* (Fuck) Höhn.

Amerosporium atrum (Fuck.) Höhn. S. B. Akad. Wiss. Wien., Adt., 1, 124:114 (1915).

Syn. *Thyriochaetum ficinum* Frol. Новости систематики низших растений. Л., 190—192 (1968).

T. vitis Frol. Новости систематики низших растений. Л., 190—192 (1968).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Фролов И. П.* Новые несовершенные грибы из Туркмении. Новости систематики низших раст., 1968, с. 179—192.
2. *Höhnel F.* Uber Chaetomella atra Fuck. S. B. Akad. Wiss Wien. (Math. — Nat. Kl., Abb. 1), 124, 1915, 114.
3. *Petrak F., Sydow H.* Ann. mycol., Berl., 35, 332—338, 1937.
4. *Stolk A. C.* Trans. Brit. mycol Soc., 46 (3) 409—425, 1965.

УДК 632.35

Л. Х. ШПИЛЕР

ОЦЕНКА ПОРАЖАЕМОСТИ СОИ БАКТЕРИОЗОМ

Соя поражается рядом грибных, бактериальных и вирусных болезней. Из бактериальных заболеваний наибольшее распространение в условиях Молдавии получил ржаво-бурый бактериоз, вызываемый возбудителем *Xanthomonas phaseoli* var. *sojensis.* Болезнь поражает семядоли, листья, стебли, бобы и семена. Наиболее часто заражаются листья, на которых сначала возникают желтовато-зеленые пятна, в центре каждого из них образуется вздутие, затем пятна сливаются в крупные участки отмершей ткани с желтоватой каймой. Это является отличительным признаком данного вида бактериоза.

Возбудители заболевания сохраняются в растительных не перегнивших остатках и в семенах. Весной бактериоз появляется на семядолях, затем на первых настоящих листьях. Впоследствии интенсивное нарастание его происходит в момент образования бобов — цветения и продолжается до конца вегетации. На развитие болезни определенное влияние оказывают температура воздуха, влажность и осадки.

Резкое снижение среднесуточной температуры воздуха, которое иногда имеет место во второй половине мая — начале июня, когда уже есть всходы сои, приводит к ослаблению растений и возникновению массовой вспышки бактериоза на первых настоящих листьях. Аналогично и действие высоких летних температур, которые также способствуют ослаблению растений и массовому развитию бактериоза в этот период.

Повышенная влажность воздуха в связи с частыми дождями способствует сильному распространению болезни.

Ржаво-бурый бактериоз сои — вредоносное заболевание. В результате поражения им листьев резко снижается фотосинтез, снижается содержание белка, жира, фосфора и калия.

Принимая во внимание характер развития болезни на растениях, основным показателем при определении пораженности служит степень поражения листьев, которая устанавливается по шкале: О — поражения нет; 01 — следы поражения или до 1/20 поверхности листа поражено; 1 — поражено до 1/10 части листа; балл 2 — до 1/4 поверхности; 3 — до 1/2 и 4 — более 1/2 поверхности покрыто бактериальными пятнами.

Баллы 01 и 1 означают слабую пораженность; 2 — умеренную; 3 и 4 — сильную.

Учеты пораженности проводили на 5 листьях 10—20 растений во всех повторениях. (Конкурсное и предварительное сортоиспытания, контрольные питомники). В остальных, более мелких опытах (селекционные и гибридные питомники), где нет возможности оценить селекционный материал по вышеизложенной методике, осуществляют визуальные наблюдения с установлением максимального балла поражения.

Например, при осмотре делянки выяснилось, что большинство растений имеет балл поражения листьев 2, а меньшинство — балл 1. Тогда степень поражения записывается: «2—1». Это значит, что листья в большинстве своем поражены умеренно, но встречаются и со слабой степенью поражения.

Следует также отметить, что для окончательной характеристики степени устойчивости или восприимчивости пользуются «биологическими стандартами», то есть сопоставляют степень поражения исследуемого образца со степенью поражения сорта-стандарта, устойчивость которого известна заранее.

Таким стандартом может служить районированный сорт или другой возделываемый долгое время сорт. Желательно иметь несколько сортов-стандартов, контрольных по устойчивости. В качестве сорта-стандарта в испытании мы использовали умеренно поражаемый сорт Днепровская 12.

Учеты поражаемости растений проводили в течение вегетации несколько раз, приурочив каждый из них к определенной фазе развития растений. Так, первый учет проводили при появлении первых настоящих листьев, затем — в период закладки бутонов до цветения. Третий учет вели при образовании бобов — налива семян.

При первом учете оценивали пораженность семядолей, первых настоящих листьев нижнего яруса. При втором — пораженность среднего яруса и при третьем — поражения листьев верхнего яруса растений.

Проведенные исследования показали, что в характере проявления болезни и в ее развитии между сортами наблюдаются различия. У одной группы сортов сои заболевание весьма слабо распространено в течение всей вегетации и лишь к концу созревания отмечается нарастание болезни. Такое замедленное развитие болезни не

причиняет сколько-нибудь значительного вреда, так как урожай к этому времени уже сформировался. Кроме того, пораженность листьев в этот период не может также служить источником заражения других сортов.

У некоторых сортов болезнь развивается более интенсивно. При этом листья средних и верхних ярусов растений, возможно и нижнего яруса, могут быть поражены от слабой до умеренной степени. Однако следует отметить, что интенсивное развитие болезни наблюдается у них уже после цветения.

Кроме того, есть сорта, у которых заболевание развивается в сильной степени в течение всего вегетационного периода. При этом бактериоз приносит значительный вред, снижая их продуктивность и урожайность.

Такие различия в проявлении болезни и ее развитии у разных сортов, видимо, и обусловливают наличие у них полевой устойчивости к поражению болезнью.

В результате проведенных в этом направлении исследований было установлено, что признак полевой устойчивости, по-видимому, отражает наследственную реакцию этих сортов по отношению к патогену.

На основании проведенных оценок устойчивости сои по данной системе удалось разделить исследуемые сорта на несколько групп.

В первую группу были отнесены сорта с высоким типом полевой устойчивости: Кишиневская 5 и Мэрит. К сортам умеренной полевой устойчивости относятся Днепровская 12, Днепровская 17, Кубанская 33. Восприимчивыми сортами оказались Викинг, Бируница 12, Скороспелка.

Использование в селекции сортов с полевой устойчивостью к болезни, несомненно, будет способствовать созданию устойчивых к бактериозу сортов сои и значительному сокращению потерь, причиняемых этим заболеванием.

УДК 547·458·88:543·42·4

М. П. ФИЛИППОВ, Г. А. ШКОЛЕНКО

ВЛИЯНИЕ СОСТОЯНИЯ КАРБОКСИЛЬНЫХ ГРУПП ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПОЛОСЫ КОЛЕБАНИЯ ПИРАНОЗНЫХ КОЛЕЦ

Состояние карбоксильных групп пектиновых веществ (ПВ) в значительной мере влияет на конформацию макромолекул и определяет их поведение при межмолекулярных взаимодействиях. Неионизированные карбоксилы взаимодействуют между собой, что приводит к образованию конгломератов макромолекул ПВ. При ионизации карбоксильных групп пектина эти конгломераты распадаются. Межкарбоксильные взаимодействия в низкометоксилированных пектиновых кислотах способствуют образованию прочных пленок, в то время как высокометоксилированные ПВ или их соли щелочных металлов образуют весьма непрочные пленки, легко подвергающиеся механическому разрушению.

Метод инфракрасной спектроскопии позволяет оценить соотношение метоксилированных, ионизированных и неионизированных карбоксилов в пектинах [1]. Так как концентрацию ПВ в пленке определить нельзя, то для количественных расчетов удобнее всего воспользоваться полосой-стандартом. Введение в пектиновую пленку какой-либо соли в качестве внешнего стандарта из-за ионного обмена со свободной карбоксильной группой приводит к искажению результатов. Определение по измерению соотношения оптических плотностей в максимумах ν_{as} (COO−) и ν (C=O) [4] в случае, если пектин содержит примеси белка, значительно усложняет методику. Поэтому удобнее всего выбрать в качестве внутреннего стандарта полосу, не зависящую от состояния карбоксильной группы. Внутренним стандартом может служить слабо зависящая от состояния карбоксильной группы полоса колебания пиранозного кольца в области 1020 $см^{-1}$. Хотя положение ее максимума и пиковая интенсивность для пектата кальция (Са—ПК), пектовой кислоты (Н—ПК) и полностью метилированного пектина (CH_3—ПВ) изменяются (см. рисунок), все три кривые в пределах ошибки измерения оптической плотности (±3%) имеют общую точку пересечения. Оптическая плотность в этой точке и будет внутренним стандартом, не зависящим от состояния карбоксильной группы ПВ.

Нами исследовались спектры 120 образцов ПВ, полученных фракционной экстракцией [3] из плодов айвы, яблока, груши, персика, абрикоса, сливы, алычи, терна, вишни и черешни. Параметры этих пектинов колебались в широких пределах:

уронидная часть — 20—85%,
молекулярный вес — $2 \cdot 10^3$—$75 \cdot 10^3$,
содержание белка — 0,1—10%,
степень ацетилирования — 0,01—0,1.

Для всех этих образцов наблюдалась высокая стабильность в положении максимумов полос поглощения.

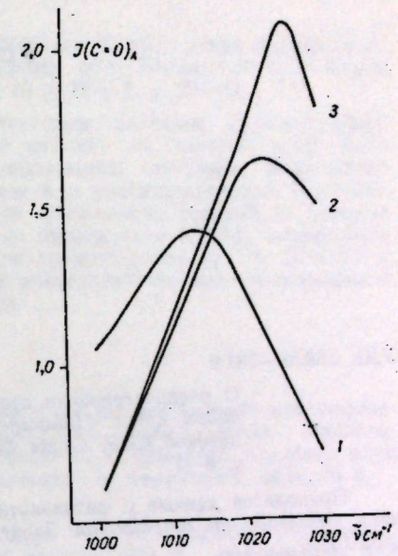
Для пектатов кальция полоса внутреннего стандарта лежит в пределах ν(Са—ПК) = =1013±3 $см^{-1}$, а неионизированного карбоксила — ν_{as}(COO−) =1615±5 $см^{-1}$.

Для пектовых кислот — ν(Н—ПК) =1023± ±3 $см^{-1}$ и неонизированного карбоксила — $\nu(C=O)_A$=1740±5 $см^{-1}$.

Волновое число пересечения кривых в точке, используемой в качестве внутреннего стандарта, определяется соотношением:

$$\nu \text{ станд.} = \nu(\text{Са—ПК}) + 1/3\,[\nu(\text{Н—ПК}) - \nu(\text{Са—ПК})].$$

Методика определения состояния карбоксильных групп в ПВ не отличается от предложенной ранее [1], только в качестве внутреннего стандарта применяется оптическая плотность не в максимуме полосы пиранозного кольца (область 1020 $см$), а в точке пересечения этих полос для Са — ПК и Н — ПК.



Полосы поглощения света, относящиеся к колебаниям пиранозных колец Са-ПК (*1*), Н-ПК (*2*) и CH_3-ПВ (*3*). Поглощение выражено в единицах интенсивности ν $(C=O)_A$ [2] неионизированного карбоксила

ЛИТЕРАТУРА

1. *Филиппов М. П.* Журн. аналит. химии, 28, 1030, 1973.
2. *Филиппов М. П.* Прикладная биохимия и микробиология, 12, 126, 1976.
3. *Филиппов М. П., Школенко Г. А.* Прикладная биохимия и микробиология, 12, 203, 1976.
4. *Filippov M. P., Kohn R.* Chem. Zvesti, 29, 88, 1975.

РЕФЕРАТЫ

УДК 582.58—581.9

О распространении птицемлечника двулопастного *Ornithogalum amphibolum* Zahar. *(Liliaceae). Витко К. Р.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 5—7.

Приводятся данные о фитоценотической роли редкого в СССР вида птицемлечника *Ornithogalum amphibolum* Zahar. в степных сообществах на юге Молдавской ССР.

Библиографий 6.

УДК 634.0.265

Мелиоративные свойства противоэрозионных насаждений различного состава на среднесмытых почвах юга Молдавии. *Пинчук Н. А.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук. № 6, 1976, г., с. 8—10.

Приводятся данные по изучению влияния противоэрозионных насаждений с главными породами из ясеня зеленого, дуба скального, акации белой, вяза мелколистного на некоторые химические и физические свойства почв в горизонте 0—50 *см*. Установлено, что состав насаждений является ведущим фактором в изменении среды произрастания. Выявлено, что наилучшее мелиоративное влияние оказывают насаждения из дуба скального.

Таблиц 2, библиографий 10.

УДК 547.56:632.24

Качественный состав и ростовая активность полифенолов в листьях сладкого перца при вертициллезе. *Брунь Г. А., Сабельникова В. И.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 11—16.

Приводятся данные об изменении качественного состава и ростовой активности фенольных соединений сладкого перца при вертициллезе. Показано, что фенольные соединения из больных листьев в большей степени ингибировали ростовые процессы, чем из здоровых.

Таблиц 3, рисунков 2, библиографий 13.

УДК 575.2:575.111

Состав терпеноидов межвидового гибрида мяты и его изменчивость в онтогенезе. *Пелях Е. М., Чобану В. И., Николаев А. Г., Нгуен Куанг Зунг.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 16—23.

Установлен состав терпеноидов эфирного масла межвидового гибрида, полученного от скрещивания мяты сахалинской (ментольная) и мяты кавказской (линалоольная). В результате гибридизации произошло смешение морфологических и химических признаков родительских форм. В онтогенезе на всех стадиях развития состав терпеноидов постоянен, однако количественные соотношения основных компонентов (лимонена, линалоола, ментола) варьируют в широких пределах.

Рисунков 3, таблиц 3, библиографий 12.

УДК 547.962

Выделение и идентификация основных глобулинов семян фасоли рисовой. *Саянова В. В.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 23—31.

Методами фракционного высаливания сернокислым аммонием, хроматографией на ГА и ДЭАЭЦ и градиентной экстракции на колонке из обезжиренной муки семян фасоли рисовой выделены основные по содержанию глобулины. Исследовано их поведение при хроматографии и электрофорезе и в ультрацентрифуге. Показано, что ВПБ и ЛПБ состоят не менее, чем из двух компонентов, каждый из которых выделен в однородном виде и охарактеризован по подвижности в ПАГ, коэффициентам седиментации и константам элюирования, при хроматографии на ГА, ДЭАЭЦ, и градиентной экстракции на колонке. Высказано предположение, что неоднородность глобулинов обусловлена генетическими факторами.

Таблиц 1, рисунков 7, библиографий 10.

УДК 547.962

Влияние удобрений, сроков посева и уборки на хромато-электрофоретическое поведение белковых комплексов семян фасоли. *Муравицкая Т. С., Стаканов Ф. С., Клименко В. Г.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 31—40.

Для исследования были взяты семядоли двух сортов фасоли: Молдавской белой улучшенной и Кишиневской штамбовой урожая 1974 г., полученного при различных сроках посева, уборки и внесении удобрений. В обезжиренной муке семядолей было определено содержание общего белка и количественно извлечены суммарные белковые комплексы, которые исследовали хроматографией на гидроксилапатите, а белки хроматографических фракций изучали электрофорезом на бумаге.

Установлено, что сроки посева, уборки и удобрения оказывают влияние на количественное содержание суммарного белка, но не влияют на хромато-электрофоретическое поведение белковых комплексов семядолей, т. е. условия выращивания не оказывают влияния на качественный состав белковых комплексов. На качественную изменчивость не влияют и сортовые признаки фасоли.

Рисунков 8, таблиц 2, библиографий 5.

УДК 631.466:632.25

Фитотоксичность грибов рода *Fusarium* на озимой пшенице в Молдавии. *Брынза А. И., Лазу М. Н., Попушой И. С., Гринберг Ш. М.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 41—46.

Проведен первичный отбор продуцентов фитотоксинов одиннадцати видов грибов рода *Fusarium*. Наибольшее фитотоксичное действие на рост проростков озимой пшеницы и кукурузы оказывали *F. javanicum* шт. 2, *F. gibbosum* f. *bullatum*, *F. geterosporum* шт. 3, *F. solani*. С увеличением возраста грибов фитотоксическое действие продуктов их метаболизма увеличивается.

Таблиц 2, библиографий 19.

УДК 577.17.049:582.951.4.621

Значение микроэлементов, мочевины и хлористого калия в борьбе с вертициллезным вилтом баклажанов. *Шатрова Г. Л., Буймистру Л. Д.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 46—50.

Приводятся результаты изучения влияния внекорневых подкормок микроэлементами: марганцем, бором, цинком, хлористым калием, мочевиной с целью повышения вилтоустойчивости баклажанов.

Установлено, что подкормки марганцем, бором, хлористым калием повышают вилтоустойчивость и урожайность баклажанов.

Таблиц 2, рисунков 2, библиографий 7.

УДК 663.154.2.065:577.154.35.07

Условия выделения пектолитических ферментов гриба *Rhizopus arrhizus* Fischer. *Ефремова Л. Л., Ильинская С. П., Тэлэмбуца Н. Н., Костик Ф. Д.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 51—54.

Отработаны оптимальные условия выделения пектолитических ферментов из концентрированного фильтрата культуральной жидкости гриба *Rhizopus arrhizus* Fischer: осадитель — этиловый спирт; температура осадителя +1, +5°С; концентрация спирта — 78—80%; pH ФКЖ — 3,0; время контакта с растворителем существенного влияния на активность препарата не оказывает.

Таблиц 5, библиографий 6.

УДК 576.809.53

Образование витаминов группы В актиномицетом № 2426 и *Actinomyces subflavus* 434. *Терская И. А., Гаркавенко А. И., Духовная А. М.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 54—56.

Приводятся данные о биосинтезе витаминов группы В (никотиновой кислоты, тиамина, пиридоксина, биотина, пантотеновой кислоты, витамина B_{12}) *Act. subflavus* 434 и актиномицетом № 2426 при культивировании на комплексной органической среде.

Установлено, что *Act. subflavus* 434 и актиномицет № 2426, наряду с накоплением большой биомассы (16—18 *г/л*) и высоким содержанием в ней каротиноидов (700—1300 *мкг/г*), синтезируют витамины группы В. Преобладают в количественном отношении пантотеновая кислота и витамин РР. Общая сумма витаминов достигает 1870—1890 *мкг/л* культуры.

Таблиц 2, библиографий 10.

УДК 576.852.1

Полисахариды актиномицетов желтой группы. *Филиппова Т. В.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 56—60.

Приводятся данные химического состава мицелиальных полисахаридных и экзополисахаридных комплексов. Обсуждаются особенности их фракционного состава в зависимости от среды выращивания.

Таблиц 2, библиографий 4.

УДК 576.851.155:576.858.9

Выделение бактериофагов клубеньковых бактерий из почв и их характеристика. *Бойко Л. А.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 60—65.

В работе представлены результаты изучения распространения бактериофагов клубеньковых бактерий в различных почвенно-климатических условиях, а также исследования некоторых их свойств. Фаги обнаружены во всех почвенных образцах, взятых из ризосферной почвы люцерны разного срока выращивания, что свидетельствует о широком распространении их в почвах. Всего выделено и изучено 12 фагов. Показано, что по спектру литического действия они специфичны и лизируют (за небольшим исключением) только *Rh. meliloti*. Культуры *Rh. meliloti* значительно различаются по чувствительности к фагам. Это необходимо принимать во внимание при отборе штаммов для инокуляции бобовых растений. По морфологии негативных колоний и, особенно, по структуре частиц исследованные фаги представляют собой весьма гетерогенную группу. Всего обнаружено 8 морфологических типов частиц.

Таблиц 2, рисунков 1, библиографий 11.

УДК 576.88

Изменение содержания углеводов в тканях чеснока и лука под воздействием стеблевой нематоды. *Мельник М. В.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 66—68.

Приводятся данные об изменении содержания углеводов в пораженных стеблевой нематодой растениях чеснока и лука.

Отмечено, что содержание суммарных и растворимых сахаров в дитиленхозных луковицах и листьях чеснока уменьшается в 1,5—3 раза по сравнению с контрольными. Что касается редуцирующих сахаров, то их количество в исследуемых растениях несколько увеличивается.

Наряду с уменьшением общего количества сахара наблюдается увеличение содержания кетоглютаровой и пировиноградной кислот.

Таблиц 2, библиографий 12.

УДК 543.544.6

Об изменении pH в системах анионит—раствор электролита. *Пушняк А. Н., Гуцану В. Л., Мигаль П. К.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г. с. 69—72.

Показано, что сорбция Cu^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} анионитами АВ-16Г, АН-2ФН и ЭДЭ-10П в гидратно-солевой (HOH/NO_3^-) форме сопровождается понижением, а сорбция анионов (NO_3^-, SO_4^{2-}) — повышением pH растворов. Величина pH растворов, контактирующих с анионитами, зависит от природы и концентрации анионов и органического компонента (ацетона, этанола). Делается попытка найти связь между процессом изменения pH растворов электролитов, контактирующих с анионитами, и кинетикой сорбции катионов металлов. Найдено, что добавление ацетона и избытка SO_4^{2-} (K_2SO_4) к растворам $CuSO_4$ (10^{-3}н.) приводит не только к росту сорбции Cu^{2+} анионитами, но и к улучшению кинетики процесса. Так, сорбционное равновесие Cu^{2+} анионитами в водном растворе устанавливается на 19-е сутки, а в 50%-ном ацетоновом растворе $CuSO_4$ (Cu^{2+}:SO_4^{2-} =1:10) — на 5-е сутки.

Рисунков 4, библиографий 6.

УДК 634:11:631.548.3

Влияние синхронного импульсного дождевания на водный режим яблони. *Кушниренко М. Д., Курчатова Г. П., Жулавская М. Н., Корнеску А. С., Чакир Я. М., Быков В. Г., Барзах Я. Л.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 73—78.

Изучалось влияние синхронного импульсного дождевания на водный режим яблони с формировкой кроны типа пальметты и спур. Показано, что изменение микроклиматических условий выращивания растений при синхронном импульсном дождевании положительно влияет на водный режим растений. Повышается оводненность тканей листьев, снижается водный дефицит, возрастают относительная тургоресцентность, транспирация, что приводит к повышению урожайности.

Таблиц 3, рисунков 6, библиографий 11.

УДК 663.12.582.282.23

Влияние различных штаммов дрожжей на азотистые вещества вина. *Маньковская А. М., Брынза Р. В., Маньковский В. С., Киртока И. Х.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 79—83.

Специфика азотного питания дрожжей обусловливает особенности химического состава вин. Изучаемые штаммы дрожжей различаются по способности обогащать вина азотистыми веществами.

Показано, что наряду с подбором сусла с оптимальным содержанием азотистых веществ для приготовления определенных типов вин необходим выбор соответствующих штаммов дрожжей с целью обеспечения регулирования баланса азотистых веществ вина.

Таблиц 3, рисунков 3, библиографий 11.

УДК 576.895

Влияние интенсификации животноводства на эпизоотологию эхинококкоза в Молдавской ССР. *Кутявин Г. Г., Спасский А. А.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 84—86.

За последние годы экстенсивность эхинококкоза крупного рогатого скота и свиней в центральной зоне Молдавской ССР снизилась в несколько раз, чему способствовала интенсификация животноводства. В условиях животноводческих комплексов существенно изменились эпизоотологические факторы. Весь скот из этих хозяйств поступает на мясокомбинаты, где эхинококковые пузыри обезвреживаются и выпадают из круговорота инвазии. Заражение животных может происходить от собак индивидуального пользования, или же от непосредственного попадания яиц эхинококка вместе с кормом и водой.

УДК 582.288

Номенклатурные заметки об *Amerosporium atrum* (Fuck.) Hohn. *Простакова Ж. Г., Маржина Л. А., Хрипунова Э. Ф.* Известия Академии

наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 87—88.

Сообщается о нахождении на ряде культурных растений Молдавии гриба *Amerosporium atrum* (Fuck.) Hohn. Приводятся его характерные признаки и отличия от близких родов. Предлагается род *Thyriochaetum*, описанный в 1968 г. И. П. Фроловым, перевести в синоним рода *Amerosporium*.

Рисунков 1, библиографий 4.

УДК 632.35

Оценка поражаемости сои бактериозом. *Шпилер Л. Х.* Известия Академии наук Молдавской ССР. Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 89—90.

Приведены данные по поражению сои бактериозом в Молдавии; указаны симптомы проявления болезни, описаны методы оценки поражаемости растений. На основании проведенных исследований сделан вывод о наличии полевой устойчивости сои к бактериозу. Указаны сорта, имеющие такую устойчивость.

УДК 547.458.88:543.42.4

Влияние состояния карбоксильных групп пектиновых веществ на полосы колебания пиранозных колец. *Филиппов М. П., Школенко Г. А.* Известия Академии наук Молдавской ССР, Серия биологических и химических наук, № 6, 1976 г., с. 90—91.

Для пектовой кислоты и ее производных исследованы ИК спектры в области колебаний пиранозных колец (1000—1100 $см^{-1}$) и карбоксильной группы (1600—1800 $см^{-1}$). Частоты колебаний пиранозного цикла одинаковы для одних и тех же производных пектовых кислот, полученных из различных растений, но изменяются в зависимости от природы заместителя водорода в карбоксильной группе.

Библиографий 4.