

ГЛАВА VI

ВЛИЯНИЕ ВНЕКОРНЕВЫХ ПОДКОРМОК МОЛИБДЕНОМ И АЗОТОМ НА АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ СЕМЯН И ЛИСТЬЕВ СОИ

По вопросу о влиянии различных факторов на аминокислотный состав растений в литературе существуют различные точки зрения. Сейчас общезвестно, что удобрения резко влияют на содержание общего азота в растениях, в том числе и в сое (Грицун, 1952, 1958, 1958а, 1964, 1965; Куркаев и Голов, 1962; Новак, 1964; Плешков и др., 1964, 1964а; Беликов и Чуб, 1965; и др.). Но под влиянием удобрений может изменяться и количество аминокислот в них (Плешков и др., 1950, 1957, 1959а; Possingham и др., 1956, 1957).

Азотистые удобрения усиливают рост растений и повышают содержание белков и аминокислот в них. При недостатке азота количество белков и аминокислот в растениях всегда снижается. По данным Б. П. Плешкова и др. (1957, 1959, 1959а), азотные удобрения в наибольшей степени способствуют повышению содержания аспарагина, глутамина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аланина и аргинина. Подкормка растений молибденом также влияет на количество свободных аминокислот в листьях этих растений.

В опытах Поссингэма (Possingham, 1956, 1957) под влиянием микроэлементов наблюдалось изменение содержания свободных аминокислот в листьях томатов, особенно на первых фазах развития растения. Недостаточность молибдена, по его данным, сопровождалась отсутствием гистидина и накоплением аланина, которого не было в контрольных растениях. Под влиянием молибдена в листьях томатов накапливалось большое количество аминomásляной кислоты.

А. А. Собачкин (1958) установил, что недостаток молибдена снижает содержание амидов и аминокислот в листьях, и это снижение предшествует проявлению внешних признаков молибденовой недостаточности. Увеличение количества азота, амидов и аминокислот при внесении молибдена автор объясняет усилением синтеза этих соединений под влиянием молибденовых удобрений.

Е. И. Минина (1960) показала, что при подкормке молибденом в растениях повышается содержание глютаминовой кислоты, серина, аргинина и глютамина, а содержание глицина понижается.

Анке и Грун (Anke a. Gruhn, 1962) убедились, что внесение молибдена повышало содержание общего азота и чистого белка, нормализовало содержание амидного азота, повышало у бобовых общее количество аргинина, треонина, метионина, общего лейцина и фенилаланина, но уменьшало количество кислых аминокислот.

В опытах Стеварда и Марголиса (Steward a. Margolis, 1962) при подкормке растений томатов молибденом общее содержание аминокислот в листьях возрастало. В наибольшей степени изменилось содержание глютамина, глютаминовой кислоты, серина, аспарагиновой кислоты. Аспарагин появляется в листьях через 24 часа после внесения молибдена. В растениях, развивающихся при недостатке азота и молибдена, внесение в питательную смесь нитратного азота не вызывало повышения содержания аминокислот в листьях, при внесении нитратного азота и молибдена содержание аминокислот через 30 часов увеличивалось в 2,5 раза, при внесении аммонийного азота и молибдена — в 2 раза. После внесения аммиачного азота в небольшой степени увеличивалось содержание глютамина.

Аминокислотный состав корней отличался от такового листьев (например, в корнях было найдено большое количество аспарагина и аргинина). Названные исследователи считают, что молибден способствует восстановлению нитратного азота, но не оказывает влияния на синтез аминокислот и амидов из аммиака.

Я. В. Пейве (1963) сообщил, что уже через 4—5 часов после введения молибдена в питательный раствор в растениях повышается содержание некоторых аминокислот, в первую очередь аспарагиновой и глютаминовой.

Л. А. Люкова и В. А. Дудник (1964) установили, что повышение содержания аминного азота и свободных аминокислот объясняется повышением активности нитратредуктазы в присутствии молибдена. По их данным, повышение белкового и аминного азота сопровождается уменьшением нитратного и амидного.

М. Абдуталымов и А. Самедова (1964) доказали, что подкормка растений молибденом приводит к значительному увеличению общего количества аминокислот в листьях пшеницы (в фазе выхода в трубку) и фасоли (в фазе семи листьев и цветения) и накоплению глицина, аланина, цистина, аргинина и лизина.

На более поздних стадиях развития растений действие микроудобрений на содержание аминокислот не столь эффективно. Авторы объясняют это усилением оттока аминокислот из листьев в другие органы растений. По-видимому, при изучении состава

ва свободных аминокислот в листьях растений необходимо учитывать их возраст, ибо сравнение содержания аминокислот у растений разного возраста может привести к ошибочным выводам.

Гораздо менее сильно в зависимости от условий выращивания меняется количество аминокислот в белках. Мнение исследователей по этому вопросу тоже расходится. Одни считают, что условия питания растений существенно влияют на аминокислотный состав белков, при этом становится иным и содержание незаменимых аминокислот, что влечет за собой изменение питательной ценности белков (Луковяникова, 1955; Плешков и др., 1957; Лукашик и др., 1965); другие — не наблюдали изменчивости аминокислотного состава (Плешков, 1964; Стюард и Томпсон, 1958).

Б. П. Плешков в полевых и вегетационных опытах изучил влияние удобрений на состав белков пшеницы, ячменя, кукурузы, фасоли и картофеля и пришел к выводу, что резко различные условия питания не оказывают существенного влияния на аминокислотный состав белков листьев, хотя содержание белка в некоторых вариантах возросло на 60—75%.

Содержание белка в зерне фасоли и пшеницы возросло от применения азотных удобрений в полтора раза, но аминокислотный состав суммарных белков был постоянен, как и питательная ценность, рассчитанная по формуле Карпаццы, Линдера и Варга. Стабильным оказался и состав белков клубней картофеля. По мнению автора, действие удобрений очень сильно влияет на содержание свободных аминокислот. Аминокислотный состав белков растений отличается постоянством, не зависит от общего содержания азота в растениях. Фракция свободных аминокислот ни в какой степени не влияет на содержание аминокислот в белках растения, которое определяется, очевидно, его генетической природой.

Н. А. Лукашик с соавторами (1965), проанализировавшие большое число растений (88 образцов зерен злаков и бобовых, взятых из фондов сортоиспытания сельскохозяйственных культур, и несколько образцов кормовых трав), обнаружили, что аминокислотный состав белков семян значительно варьирует и зависит от сорта и места произрастания растения, в то время как одноименные травы, собранные в разные годы, существенно не различаются по аминокислотному составу. С прохождением фаз вегетации в кормовых травах злаковых и бобовых наблюдается некоторое снижение содержания аминокислот, в частности лизина.

Объясняет полученные результаты, возможно, то, что для анализа аминокислотного состава семян брали образцы, выращенные в резко различных условиях (например, в Иркутской, Минской области, Марийской АССР, Амурской и Ростовской об-

ластях и т. д.), в то время как все образцы трав взяты с полей ТСХА.

Таким образом, азотные и молибденовые удобрения влияют на содержание белка и свободных аминокислот в растениях. Качество белка, по-видимому, менее подвержено изменению, однако не исключено, что такие изменения можно было бы выявить, если бы для анализа использовались резко различающиеся по генетической природе сорта, выращенные в совершенно разных условиях.

Работы, показывающие действие молибдена и азота на качество белка растений сои, нам не известны.

Вопрос о влиянии удобрений на сою изучается уже давно, но закономерности действия удобрений на растение сои еще не вскрыты.

Соя — растение азотфиксатор. В связи с этим сложилось мнение, что во внесении азотных удобрений она не нуждается, а сама обогащает почву азотом. Ряд ученых отмечают ее слабую отзывчивость на азотные удобрения (Товарницкий, 1935; Лещенко, 1948; Шконде, 1957; Грицун, 1965).

Каттер и Хартвиг (Carter a. Hartwig, 1963) сравнили действие азотных удобрений на двух, близких по наследственности линиях сои, одна из которых обладала способностью развивать клубеньки при инокуляции, другая — нет. Урожай сои, образующей клубеньки, под влиянием азотных удобрений возрос на 1,3 ц/га, тогда как линия, не образующая клубеньков, дала прибавку 15,7 ц/га.

Авторы делают вывод, что внесение азота в почву снижает фиксацию атмосферного азота клубеньковыми бактериями. Часть исследователей считают, что вносить азотные удобрения под сою необходимо (Енкен, 1959; Новак, 1960; Беликов и Ткаченко, 1961; Куркаев и Курдин, 1961; Золотницкий, 1962; и т. д.).

И. В. Мосолов (1936) установил, что усиленное азотное питание, особенно в начале цветения, способствует повышенному накоплению белка в зерне. По мнению К. К. Малыша (1955), азотная подкормка наиболее эффективна в фазы цветения и налива зерна. Этой же точки зрения придерживаются И. Ф. Беликов (1952, 1955, 1955а), В. Б. Енкен (1959) и В. В. Бурлака с соавторами (1964, 1964а) и др.

А. Г. Новак (1960) отмечает, что, хотя соя и является фиксатором азота, вследствие специфичности химического состава зерна она и сильный потребитель растворимых форм его. Усвояемого клубеньковыми бактериями атмосферного азота ей недостаточно, поэтому необходимо вносить азотные удобрения. Это объясняется следующими причинами: 1) в первый период клубеньковые бактерии накапливают мало азота, и растения берут его из почвы в виде солей; 2) повышенная потребность в азоте в период цветения и налива зерна связана с интенсивным накоп-

лением белка в зерне; 3) кроме того, жизнедеятельность клубеньковых бактерий зависит от ряда условий: температуры, аэрации и влажности почвы, содержания в ней питательных веществ, реакции среды и других (при отсутствии необходимых условий она подавляется, и накопленного клубеньковыми бактериями атмосферного азота мало).

И. Ф. Беликов (1961) показал, что внесение азотных удобрений в период образования бобов может увеличить урожай даже на 70%. При этом сильно меняется химический состав семян. Объясняет это автор тем, что специфические почвенно-климатические условия края — повышенная кислотность, тяжелый механический состав буро-подзолистых почв Приморья и обилие осадков во второй половине лета — приводят к резкому снижению эффективности удобрений, вносимых перед посевом или при посеве. Большая часть их подвергается биологическому или химическому поглощению или вымывается в нижележащие горизонты, и соя к периоду формирования бобов испытывает недостаток в элементах питания, а потребность в них в это время максимальна.

Таким образом, большинство ученых приходит к выводу, что соя нуждается в подкормках азотом, особенно в период цветения и начала бобообразования (Беликов, 1952; Малыш, 1955; Енкен, 1959; Бурлака и др., 1964, 1964а).

В последнее время стало ясно, что азотное питание бобовых зависит от наличия в усвояемой форме элемента молибдена. Сами признаки молибденовой недостаточности у растений сходны с симптомами азотной. Листья таких растений приобретают бледную, иногда желто-зеленую окраску. Черешки листьев становятся красно-бурыми. Листья часто лишены тургора, что особенно хорошо заметно по краям листовой пластинки или у ее основания. Рост растений при этом замедляется или приостанавливается.

Б. А. Рубин (1961) объясняет появление желто-зеленой окраски листьев у растений с молибденовой недостаточностью, ослаблением фиксации атмосферного азота.

Еще в 1930 г. Г. Бортельс показал важную роль молибдена в фиксации атмосферного азота азотобактером. Предположение о том, что молибден необходим для восстановления нитратов при синтезе аминокислот и белков, впервые высказано Штейнбергом (Steinberg, 1937). Многочисленные опыты Мульдера (Mulder, 1948) доказали, что молибден участвует в восстановлении нитратов. При его отсутствии в листьях накапливаются нитраты, белкового азота не образуется.

Известно, что поглощение азота при корневом питании происходит в основном в нитратной форме. Если в почве мало молибдена в усвояемой форме, растение даже при избытке нитратного азота может испытывать азотное голодание.

По мнению Д. Арнона (1962), физиологическая роль молибдена интересна в отношении двух процессов: усвоения азота и фотосинтеза. Андерсон (Anderson, 1956) считает, что для всех процессов обмена в бобовом растении требуется значительно меньше молибдена, чем для симбиотической фиксации азота.

Несколько иной точки зрения придерживается Е. И. Ратнер (1964), который после своих опытов с горохом и соей пришел к выводу, что на кислых дерново-подзолистых почвах под влиянием молибдена активизируется жизнедеятельность уже имеющих в почве клубеньковых бактерий (например, азотобактера). Это ведет к повышению урожая бобовых растений и повышенному накоплению в них белка, независимо от инокуляции.

Дж. Спенс (1965) установил, что процесс фиксации атмосферного азота бобовыми растениями происходит в корневых клубеньках путем первичной адсорбции азота леглоглобином — крупной белковой молекулой, содержащей железо. Между газообразным азотом и этим белком образуется прочный комплекс. Роль молибдена в реакции заключается во взаимодействии со связанным азотом и превращении его в аммиак, который используется растением для синтеза аминокислот.

Участие молибдена в процессе усвоения атмосферного азота и в восстановлении нитратов показано в ряде работ (Steinberg, 1937; Mulder, 1948; Anderson, 1956). В результате этих исследований установлено, что молибден входит как постоянный компонент в состав фермента нитратредуктазы — металлофлавопротеина. Она катализирует перенос электронов с восстановленных пиридин-нуклеотидов ТПН-Н и ДПН-Н с образованием нитрата по следующему уравнению: $ТПН-Н (ДПН-Н) + H^+ + NO_3^- \rightarrow (ДПН') + NO_2^- + H_2O$. Молибден, очевидно, используется при синтезе белковой части молекулы фермента.

Гаральд и Эвенс (Harold a. Evans, 1956) считают, что флавин и молибден действуют как переносчики электронов с ТПН-Н на нитратредуктазу ($ТПН \rightarrow ФАД \rightarrow (ФМН) \rightarrow Mo \rightarrow NO_3^-$).

Флавин предшествует молибдену. Не содержащий молибдена фермент не может катализировать восстановление нитрата в нитрит при помощи ТПН-Н при восстановлении флавина. Но такой фермент может катализировать восстановление ФАД или ДМН при помощи ТПН-Н. Ферментативное окисление ФМН-Н молибденом в анаэробных условиях в отсутствие нитрата позволяет предполагать, что ион молибдена действует, как переносчик электронов. Но молибден необходим некоторым растениям и грибам не только при использовании ими нитратного азота, но и при питании их аммиачной формой азота. Усиление окислительных процессов под влиянием подкормки растений молибденом установлено многими исследователями (Пейве, 1955, 1960, 1961, 1963; Догис, 1956, Щуровская, 1960; Пейве и др., 1965; Авдонин и Аренис, 1966; и т. д.).

Р. Килер и Дж. Варнер (1965) отметили, что молибден входит в состав фермента ксантиноксидазы, катализирующей окисление ксантина и гипоксантина до мочево́й кислоты.

Положительное влияние подкормки молибденом на растения сои показано и в ряде других работ (Чемоданова, 1963; Parker a. Haggis, 1962; Куркаев и Голов, 1962; Lewy a. Barber, 1965; Pazzar, 1965; Прозуменщикова, 1967; и т. д.).

Интересна работа Э. И. Чемодановой (1962), изучавшей влияние молибдена на некоторые важнейшие процессы, происходящие в растениях сои, вики, конских бобов. Автор показала, что молибден ускоряет передвижение пероксидазы из прорастающих семян в листья и корни, в результате чего активность пероксидазы в листьях сои повышается в фазе одного листа более чем в 5 раз, в корнях — в 2 раза. Молибден увеличивает количество белкового азота в растениях. В фазу развития 4 листа содержание аминного азота в листьях опытных растений увеличилось почти в 2 раза. Белковый обмен смещался в сторону синтетических процессов.

Паркер и Гаррис (Parker a. Haggis, 1962) проводили опыты с соей на почвах с рН 5,6. Внесение молибдена в дозе 0,22 кг/га дало такую же прибавку урожая, как внесение 5 т извести на гектар. Прибавка урожая от молибдена без извести составила в среднем 46,2% при опрыскивании листьев и 55,1% при обработке семян. На фоне извести молибден влияния не оказал.

В. Т. Куркаев и В. И. Голов (1962) отмечают, что обработка семян молибденом и внекорневая подкормка в условиях Амурской области повысили урожай семян сои на 25—40%, содержание азота в зерне увеличилось на 0,45—0,98%. Вес клубеньков возрос в полтора—два раза.

Положительное влияние молибдена на растение сои отмечается А. Т. Грицуном и Л. С. Сазоновой (1963); хорошие результаты дала внекорневая подкормка растений сои в опытах П. К. Сидоренко (1966).

Обстоятельная работа по влиянию подкормок сои молибденом проведена Л. Т. Прозуменщиковой (1967). Ею определено влияние молибдена на сою в зависимости от содержания его в почве и способов внесения удобрений, рассмотрено действие различных доз вносимого молибдена. Она пришла к выводу, что все способы внесения молибдена повышают содержание белка как в корневой системе, так и в надземных органах сои, что сказывается на повышении количества белка в семенах. Содержание углеводов снижается, очевидно, вследствие использования для синтеза белковых веществ, а количество жира в семенах сои или остается неизменным, или понижается. Возрастает содержание хлорофилла, повышается интенсивность фотосинтеза и дыхания. Активность пероксидазы и полифенолоксидазы почти не изменяется. Автором установлено, что на лугово-бурых почвах клу-

беньковые бактерии без активации их деятельности молибденом не могут обеспечить в достаточной степени растения сои азотом. Л. Т. Прозуменщикова отмечает, что при выращивании сои на корм скоту не следует применять внекорневую подкормку, чтобы избежать накопления молибдена в количестве, токсичном для животных.

Следует отметить, что действие молибдена не ограничивается одним годом, а продолжается на следующий год.

По данным В. В. Яковлевой (1955), молибден, внесенный в почву, проявляет свое действие в течение 10 лет. Подкормка растений молибденом влияет на многие процессы, происходящие в них, и вследствие этого приводит к повышению урожая и повышенному накоплению белков в семенах и вегетативной массе. По-видимому, основной механизм действия молибдена заключается в его участии в восстановлении нитратов.

Бобовые культуры, в том числе и соя, хорошо отзываются на внесение молибдена. Так как нас интересовал вопрос о возможности повышения количества белка в сое и улучшении его качества, мы остановились на внекорневых подкормках растений сои в фазе начала бобообразования, поскольку именно в этот период соя испытывает недостаток в элементах питания, и внекорневые подкормки провести можно. По данным литературы и данным нашей лаборатории, они улучшают состав белков в сое. Однако при использовании белка и листьев сои, подкормленных молибденом, на корм скоту необходимо помнить, что количество молибдена в растениях сои после внекорневой подкормки может быть токсичным для животных. Необходимо определять содержание молибдена в испытываемой сенной муке.

Экспериментальная часть

Полевые опыты закладывались в 1964—1965 гг. на опытном поле Приморского сельскохозяйственного института (с. Воздвиженка Уссурийского района) сотрудниками Лаборатории биохимии Биолого-почвенного института и кафедры растениеводства Приморского сельскохозяйственного института (Сидоренко, 1966; Выхрестюк и Чуб, 1967). Высевали районированный в крае зерновой сорт сои Приморская 529 и наиболее распространенный кормовой сорт Уссурийская 154. Почвы лугово-бурые оподзоленные (Иванов, 1964). Характеристика пахотного горизонта такова: гумуса — 3,3—6,8%, суммы поглощенных оснований — 16—17 мг/экв., подвижных форм азота — 3,5—4,1 мг, фосфора — 2,2—3,1 мг, калия — 6,3—8,0 мг на 100 г почвы. Солевой рН — 4,8—5,5. До посевов в почву вносили $P_{45}K_{30}$ по действующему началу. Общая площадь делянок — 90 м², из которой 50 м² — учетная. Соблюдалась общепринятая агротехника возделывания сои в Приморском крае.

Растения подкармливали пылевидным суперфосфатом, аммиачной селитрой и мочевиной. Из микроудобрений использовали молибден в виде молибденовокислого аммония (Выхрестюк и Чуб, 1967). Подкормку проводили в период начала бобообразования. К этому моменту соя усиленно образует вегетативную массу и начинает формировать репродуктивные органы, поэтому потребность в элементах питания максимальна. Но обычная подкормка в августе затруднена вследствие того, что листья и корни растений сомкнуты, а почва часто переувлажнена. Условия для внекорневой подкормки, напротив, оптимальны, т. к. поглощение минеральных веществ листьями зависит от влажности воздуха (Ратнер и Баринов, 1959; Шереверя, 1956; Голубева, 1963). Влажность воздуха в районе проведения опытов в конце июля — начале августа максимальна.

Через две недели после подкормки растения соя кормового сорта убирали для приготовления сеной муки. Сою на зерно убирали в фазу полной спелости.

Вегетативную массу (после отделения стебля от корня) высушивали в сушильном шкафу при 80°, измельчали в мельнице типа «Пируэт», просеивали через сито 0,25 см и хранили в банках с притертыми пробками.

Перед анализами средние пробы очищенных и освобожденных от оболочки и зародышей семян грубо измельчали в кофейной мельнице и обезжиривали настаиванием с бензолом и петролейным эфиром при комнатной температуре. Полученную муку измельчали более тонко, дообезжиривали и после удаления растворителя растирали в агатовой ступке до состояния пудры, просеивали через капроновое сито с диаметром отверстий 0,1 мм. Хорошо перемешанный материал в таком виде использовали для анализов.

Выделенные белки характеризовались содержанием общего азота (по микро-Кьельдалю), фосфора, золы и спектрами поглощения в ультрафиолетовой области. Наличие углеводов проверяли реакцией Молиша и Бналя. В белках определяли содержание наиболее распространенных аминокислот методом количественной хроматографии на бумаге по объединенному способу Гирри (Giri et al., 1953) и Бодде (Bode, 1955) в модификации Г. Н. Зайцевой и Н. П. Тюленевой (1958), принятой на кафедре биохимии растений МГУ. Количество дикарбоновых кислот определяли по Фореману, метионина — по методу Мак-Карти и Салливан (Mc Carty a. Sullivan, 1941), цистина — по Фоллину и Марензи (Folin a. Margenzi, 1929), триптофана — по Спису и Чамберсу (Spies a. Chambers, 1949). Количество тирозина и триптофана определяли спектрофотометрическим методом (Бэйли, 1965), α -аминный азот — методом Починка и Бернштейна (1956).

Извлечение белков проводили по методу, предложенному В. Т. Клименко (1956). Ввиду того, что целью было определение

аминокислотного состава белков для установления их пищевой ценности, мы считали более рациональным не последовательное извлечение белков различными растворителями (которое все равно приводит к выделению не отдельных белков, а суммы их), а извлечение суммарного белка из обезжиренной соевой муки 0,1 н NaOH. Клименко установлено, что такая концентрация щелочи вполне достаточна для экстракции, но приводит к меньшим денатурирующим воздействиям, чем 0,2 н NaOH) на холоду.

Определение содержания аминокислот в белках сои методом количественной хроматографии на бумаге

В настоящее время лучший метод определения аминокислот — определение на колонках с ионообменными смолами по Муру и Штейну (Moore a. Stein, 1954) с помощью автоматического анализатора аминокислот. Мы избрали метод количественной хроматографии на бумаге, как наиболее доступный и позволяющий определить почти все аминокислоты, входящие в состав белков. Из очень большого количества самых разнообразных вариантов этого метода наше внимание привлек метод Гири с сотрудниками (Giri et al., 1953), которые разработали оптимальные условия количественного определения аминокислот. Авторы использовали способность синего комплекса, получаемого в результате взаимодействия аминокислот с нингидриновым реактивом, образовывать с раствором CuSO_4 более интенсивное красное окрашивание, чем с одним нингидрином. Они предложили после погружения хроматограммы в нингидриновый реактив высушить ее на воздухе до исчезновения запаха ацетона, а затем прогреть в шкафу 30 мин. при 65° . Эти условия, пожалуй, следует признать оптимальными, ибо при них достаточно хорошо развивается окраска аминокислот группы серина, а окраска аминокислот группы аланина разрушается лишь в незначительной степени. Но Гири проводил определение аминокислот на круговых хроматограммах. Для анализа белковых гидролизатов это не совсем удобно, т. к. в них содержится большое число аминокислот, которые на круговых хроматограммах разделяются не очень хорошо. В то же время при восходящей и нисходящей хроматографии пятна получаются не компактными, «хвостят». Поэтому для разделения мы решили использовать полосы бумаги такой формы, которая выгодно сочетает достоинства круговой хроматографии с достоинствами линейной (Reindal a. Норре, 1953).

Индийские ученые Рао и Вадхвани (Rao a. Wadhvani, 1953) показали, что, изменяя соотношение компонентов, можно добиться хорошего разделения всех аминокислот только в бутилово-уксусной смеси.

Мы применили в своей работе смесь *n*-бутанол-уксусная кислота — вода с соотношением компонентов 40:10:50 и 40:15:5. Пропуская эти смеси через каждую полосу бумаги 3—4 раза, мы получили хорошее разделение цистина, лизина, гистидина, аргинина, аланина, тирозина, метионина, валина, фенилаланина и лейцинов (часто лейцин и изолейцин тоже делятся) в смеси: 40:10:50 и аспарагиновой кислоты, серина, гликокола, глютаминовой кислоты и треонина в смеси: 40:15:5 (рис. 1 и 2).

По мнению Vode (1955), при элюировании нингидринового комплекса метанолом, содержащим HCL все аминокислоты да-

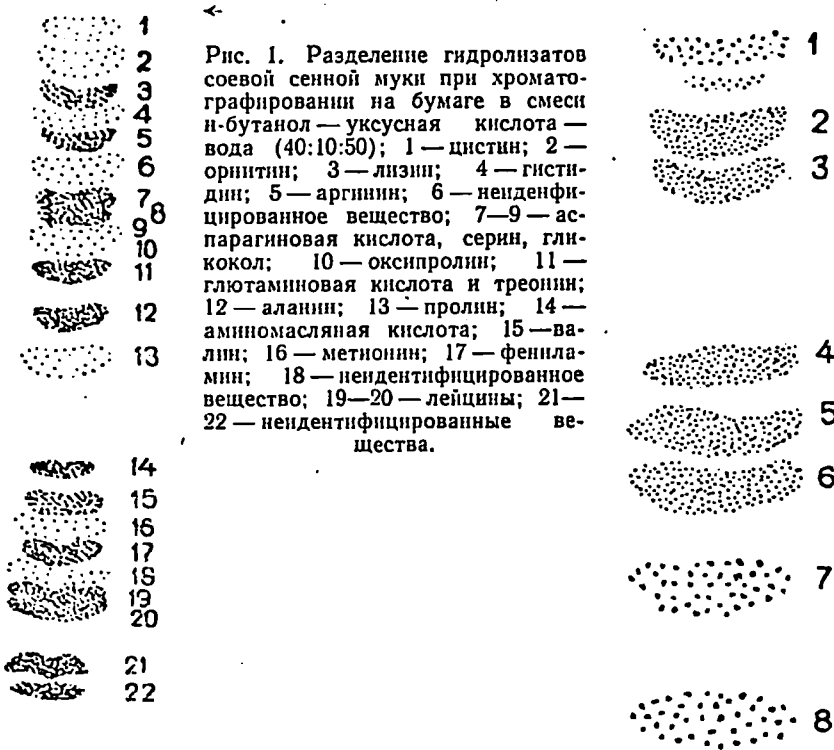


Рис. 1. Разделение гидролизатов соевой сенной муки при хроматографировании на бумаге в смеси *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (40:10:50); 1 — цистин; 2 — орнитин; 3 — лизин; 4 — гистидин; 5 — аргинин; 6 — неидентифицированное вещество; 7—9 — аспарагиновая кислота, серин, гликокол; 10 — оксипролин; 11 — глютаминовая кислота и треонин; 12 — аланин; 13 — пролин; 14 — аминокислотная кислота; 15 — валин; 16 — метионин; 17 — фенилаланин; 18 — неидентифицированное вещество; 19—20 — лейцины; 21—22 — неидентифицированные вещества.

Рис. 2. Разделение гидролизатов соевой сенной муки при хроматографировании на бумаге в смеси *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (40:15:5); 1 — цистин; 2 — лизин и гистидин; 3 — аргинин; 4 — аспарагиновая кислота; 5 — серин; 6 — гликокол; 7 — глютаминовая кислота; 8 — треонин; 9 — аланин.

ют одинаковый и более яркий оттенок окраски, и при правильном выполнении процедуры построение калибровочных графиков можно свести к построению только двух кривых. Это положение мы тоже использовали в своей работе. В результате родилась модификация метода, принятая на кафедре биохимии растений МГУ и изложенная Г. Н. Зайцевой совместно с нами в соответствующей работе (Зайцева, Тюленева, 1958). Во всех своих экспериментах мы пользовались этой модификацией, внося в нее лишь такие изменения, как двойное погружение хроматограммы в раствор нингидрина (хроматограмма протаскивается один раз, высушивается под тягой и затем протаскивается второй раз). Как показали эксперименты, это способствует получению воспроизводимых результатов, видимо, вследствие того, что при однократном проявлении бумага высыхает очень быстро и некоторые аминокислоты не успевают в достаточной степени прореагировать с нингидрином. Это особенно сказывается при высоких концентрациях аминокислот, когда площадь пятна мала. Кроме того, элюция окраски с бумаги производилась при периодическом встряхивании в течение 1 часа 30 мин. За этот период вся окраска полностью переходит в раствор.

Следует заметить, что успеху дела способствует полная стандартизация деталей процедуры и хорошее насыщение камеры, где проводится разделение парами соответствующего растворителя.

Идентификация аминокислот на хроматограммах проводилась с помощью использования показателя R_f аминокислот-свидетелей, а также с помощью специфических реакций на отдельные аминокислоты на бумаге (Магницкий и др., 1959) и многоцветным проявлением по методу А. Н. Бояркина (1956). Кроме того, пятна аминокислот на хроматограммах проверяли с помощью двумерной хроматографии.

В последнее время в адрес бумажной количественной хроматографии посыпались упреки. Метод действительно требует как можно больше полной стандартизации всех условий, в которых ведется определение.

Некоторые авторы считают, что на одном и том же листе с опытным раствором должен обязательно находиться контрольный вследствие невозможности получения воспроизводимых результатов при анализе разных партий. Это крайне нежелательно, так как сильно увеличивает объем и без того громоздкой работы, а кроме того, исключает применение бумаги с несплошной формой стартовой части, которая сильно улучшает разделение. Чтобы показать, что получение воспроизводимых результатов возможно, нам пришлось построить кривые несколько раз и статистически их обработать. Для их построения получены данные для четырех концентраций (для каждой концентрации 9—12—15 определений), пятая — точка 0, так как из прежних определений

и из литературы известно, что кривая идет через 0. Концентрация аминокислот взята такой, что она прямо пропорциональна коэффициенту экстинкции.

Проводили прямую по методу наименьших квадратов. Вычисляли среднюю квадратичную ошибку среднего для каждой кривой. Получили формулу $X=ay \pm \sigma$, по которой, не прибегая к графику, можно производить расчет количества аминокислоты в гидролизатах (где X — количество аминокислоты, a — тангенс угла наклона прямой к оси, y — коэффициент экстинкции).

После статистической обработки кривых оказалось, что ошибка воспроизводимости 2—5%. Ошибка при вычислении кривой особенно велика при низкой концентрации аминокислоты, дающей экстинкцию 0,02—0,03 ед. Поэтому для аминокислот, дающих слабое окрашивание с нингидрином, ставили самостоятельные хроматограммы с большой концентрацией вещества.

Сравнение калибровочных прямых, построенных в разные годы, показало, что в большинстве случаев они близки, исключение составляют лизин и тирозин. Определением азота в аминокислотах установлено, что расхождения зависят от степени очистки аминокислот. Данные для аспарагиновой кислоты представлены на рис. 3.

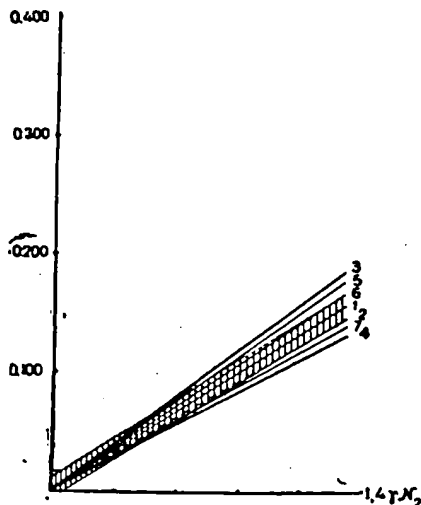


Рис. 3. Сравнение калибровочных графиков для аспарагиновой кислоты. 1—график, построенный по методу наименьших квадратов; графики: 2—1966 г., 3—1957 г., 4—1958 г., 5—1961 г., 6—1963 г., 7—1965 г.

По методике Бодэ определение всех аминокислот проводили по одному графику. Сравнение построенных нами калибровочных прямых показало, что интенсивность окраски с нингидрином для разных аминокислот различна, и все они по этому принципу могут быть разбиты на 3 группы (рис. 4). Самую низкую интенсивность окраски дают аминокислоты: аспарагиновая кислота, фенилаланин и цистин, а самую высокую — серин, треонин, глутаминовая

кислота, аргинин, аланин, тирозин. В промежуточную между ними группу входят остальные аминокислоты: гликокол, валин, метионин, лизин, гистидин, аспарагиновая кислота и лейцин. Внутри каждой группы совпадение калибровочных прямых зависит от степени очистки аминокислот и полной стандартизации всех условий построения графика (чистоты реактивов, температуры проявления, степени насыщения камеры при разделении аминокислот, времени проявления в сушильном шкафу и т. д.).

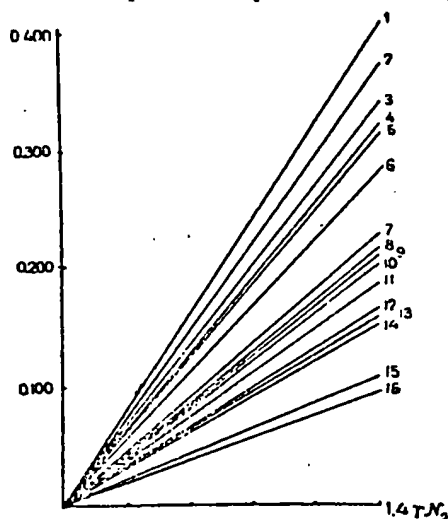


Рис. 4. Калибровочные графики для различных аминокислот, построенные по методу наименьших квадратов. 1 — тирозин, 2 — глутаминовая кислота, 3 — аланин, 4 — аргинин, 5 — серин, 6 — треонин, 7 — валин, 8 — лизин, 9 — лейцин, 10 — гликокол, 11 — гистидин, 12 — метионин, 13 — аспарагиновая кислота, 14 — цистин, 15 — фенилаланин, 16 — аминокислотная кислота.

Калибровочные прямые, построенные по методу наименьших квадратов (на графике обозначены цифрой 1) и просто по средним значениям, не всегда совпадают. Иногда прямая, построенная по средним значениям (обозначена на графике цифрой 2), выходит за пределы ошибки опыта (на графике область ошибки

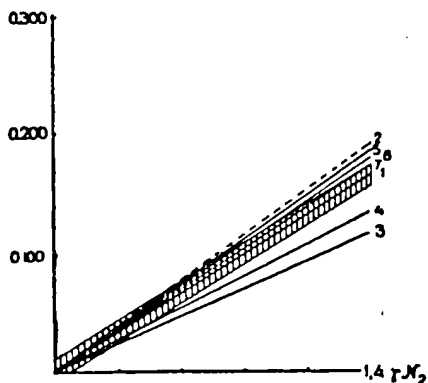


Рис. 5. Сравнение калибровочных графиков для метионина. 1 — график, построенный по методу наименьших квадратов; графики: 2 — 1966 г., 3 — 1957 г., 4 — 1958 г., 5 — 1961 г., 6 — 1963 г., 7 — 1965 г.

± 3m опыта заштрихована (рис. 5), что в наших опытах имело место для цистина, гликокола, метионина, гистидина, аланина и тирозина.

Построение графиков по методу наименьших квадратов, безусловно, более точное, но в несколько раз увеличивает объем работы. Статистическая обработка данных проведена по способу В. С. Асатиани (1965) для малого числа определений.

Определение аминокислотного состава сенной муки из листьев сои

Содержание аминокислот определяли непосредственно в сенной муке без выделения из нее белков. Сенную муку получали размалыванием зеленой массы листьев, черешков и молодых побегов растений сои кормового сорта Уссурийская 154, предварительно высушенных на воздухе под навесом и в сушильном шкафу.

Доли свободных аминокислот, коротких пептидов и аминокислот, входящих в состав белков, определяли отдельно. Для этого сенную муку пятикратно экстрагировали 80%-ным этиловым спиртом при помешивании на кипящей водяной бане. Экстракты концентрировались до определенного объема, половину подвергали гидролизу на тот случай, если там присутствуют короткие пептиды, затем проводили такую же обработку, как и для основных гидролизатов, и доводили до 2 мл. Экстракт же свободных аминокислот концентрировали до 1 мл после обессоливания. Определение проводили в 4 повторностях. Результаты показали, что свободные аминокислоты составляют ничтожный процент от общего аминокислотного состава листьев (1—1,5%). Для определения пищевой ценности белка это не имеет существенного значения, но в несколько раз увеличивает объем работы. Поэтому при анализе сои урожая 1965 г. мы проводили валовый гидролиз всей сенной муки, увеличив при этом до 3 число повторностей (гидролизом), чтобы можно было провести статистическую обработку материала.

Один грамм сенной муки гидролизовали 20 мл 20%-ной соляной кислоты 24 часа при слабом кипении над плиткой в колбе с обратным холодильником. После гидролиза раствор разбавляли в 3 раза и отфильтровывали от нерастворимых гуминов и остатка муки. Соляную кислоту удаляли многократным упариванием в фарфоровой чаше на водяной бане. Гидролизат трижды обессоливали 1%-ным солянокислым спиртом по методу Балига (Baliga et al., 1955). Следует иметь в виду, что при таком способе обессоливания происходят потери дикарбоновых кислот. После обессоливания гидролизат растворяли в 7—8 мл воды. Гидролиз сенной муки урожая 1964 г. проводили в двух повтор-

ностях, урожая 1965 г. — в трех. Определение аминокислот для каждого из гидролизатов проводили в 5—6 повторностях, разделение аминокислот — по методу, описанному выше.

Влияние внекорневых подкормок на содержание аминокислот в листьях и семенах растений сои

Так как ведение гидролиза в присутствии углеводов приводит к сильному образованию гуминов, нами проведено контрольное определение азота гуминов, потерь при обессоливании и азота, оставшегося в гидролизате (табл. 1).

Таблица 1
Баланс азотистых веществ при гидролизе сенной муки из листьев сои сорта Уссурийская 154 (1965 г.)

Вид подкормки	Общий азот в мл на абсолютно сухой вес						
	в навеске взятой на гидролиз	азот гуминов и потерь при обессоливан.	общий азот гидролизата	азот NH ₃ в гидролизате	сумма 2, 3, 4, 5	баланс 1—5	
Контроль	1	38,98	4,998	31,74	0,4704	37,208	+1,77
	2	37,45	5,946	30,87	0,5096	37,326	+0,12
	3	37,17	6,831	30,54	0,3360	37,707	-0,54
Селитра	1	45,04	5,082	39,01	0,3136	44,406	+0,63
	2	42,63	5,900	38,44	0,4704	44,810	-2,18
	3	42,59	5,862	34,73	0,5096	41,102	+1,49
Мочевина	1	48,00	4,692	39,42	0,1960	44,308	+3,60
	2	47,76	5,082	40,03	0,0980	45,210	+2,55
	3	48,32	5,712	41,48	0,1120	47,304	+1,01
Молибден	1	52,74	6,272	39,02	0,4480	45,740	+7,00
	2	53,25	5,096	39,18	0,6468	44,923	+3,38
	3	52,99	6,888	34,56	0,3360	41,984	+11,01

Анализируя данные табл. 1, мы видим, что процент гуминов и потерь при обессоливании в наших гидролизатах невысок. Сходимость по балансу азота достаточна. Результаты определения аминокислот представлены в табл. 2—7.

Из табл. 2 видно, что наибольшее действие на растения сои в 1964 г. оказала подкормка молибденом. При этом повысилось содержание почти всех аминокислот, за исключением серина, треонина, аланина, лейцина и пролина, количество которых осталось таким же, как и в контроле.

1964 г. характеризовался обильным выпадением осадков и переувлажнением почвы. В это время соя обычно испытывает острый недостаток элементов питания в доступной форме, поэтому подкормки должны давать хороший эффект. Во время переувлажнения обычно наблюдается резкая убыль нитратов в почве

Таблица 2

Содержание аминокислот в сеной муке из листьев сои сорта Уссурийская 154 урожая 1964 г. (в % на абсолютно сухой вес)

Аминокислота	Контроль	Молибден	Молибден с фосфор.	Мочевина	Селитра
Лизин	1,38	1,77	1,35	1,38	0,96
Гистидин	0,30	0,53	0,30	0,28	0,28
Аргинин	0,66	0,79	0,80	0,55	0,64
Аспарагиновая кислота	1,49	1,63	1,52	1,52	1,60
Серин	1,01	1,04	1,03	0,95	0,88
Гликокол	0,49	0,56	0,38	0,54	0,60
Глютаминная кислота	1,31	1,35	1,33	1,30	1,45
Треонин	1,10	1,10	1,08	1,03	1,10
Аланин	0,53	0,59	0,63	0,52	0,54
Аминомасляная кислота	0,65	0,59	0,77	0,77	0,57
Валин	1,99	2,40	2,32	1,97	2,30
Метионин	0,44	0,55	0,53	0,46	0,44
Фенилаланин	4,67	5,16	5,09	5,41	4,70
Лейцин	4,26	4,14	5,09	4,63	3,73
Тирозин	0,15	0,36	0,25	0,36	0,30
Пролин	0,37	0,41	0,39	0,35	0,36
Сумма	20,80	22,97	22,86	22,02	18,45

и неудивительно, что внесение молибдена оказалось эффективным. Снижение количества аминокислот при подкормке азотом, вероятно, объясняется погрешностями при проведении гидролиза, т. к. анализ табл. 3 и 4 дает несколько иную картину. В случае с аммиачной селитрой наблюдалось увеличение содержания дикарбоновых кислот в листьях сои. Возрастало содержание валина, но количество лейцинов и лизина снизилось. Подкормка молибденом привела к увеличению доли щелочных аминокислот, аспарагиновой кислоты и валина в белках листьев, в то время как внесение мочевины и молибдена с фосфором, видимо, оставляет белки листьев без изменения и влияет лишь на содержание азота в листьях.

При подкормках молибденом, мочевиной и селитрой доля белков в общем балансе азотистых веществ в листьях возрастает (табл. 2 и 3).

1965 г. характеризовался острым недостатком осадков в первую половину лета. При иссушении почвы тоже нарушается режим минерального питания, и соя опять-таки испытывает голодание. Кроме того, оптимальная температура для ее развития 22°. Среднемесячная температура в условиях Приморской опытной станции — 19°. В 1965 г. она была на 0,6° ниже нормы.

Опрыскивание фосфором привело лишь к увеличению содер-

Таблица 3

Содержание азота аминокислот в сеной муке из листьев сон
сорта Уссурийская 154 урожая 1964 г.

Аминокислота	В % от общего азота гидролизата				
	контроль	молибден	молибден с фосфор.	мочевина	селитра
Лизин	4,85	5,95	4,55	5,22	3,60
Гистидин	1,34	2,16	1,23	1,23	1,24
Аргинин	4,39	4,83	4,88	3,75	4,31
Аспарагиновая кислота	4,08	5,51	4,22	4,46	5,86
Серин	3,76	3,80	2,73	3,60	3,32
Гликокол	2,18	2,30	1,55	2,47	2,75
Глютаминовая кислота	1,66	1,63	1,54	1,62	3,22
Треонин	5,10	3,13	2,73	3,00	3,20
Аланин	2,00	2,02	2,18	2,02	2,05
Аминомасляная кислота	1,95	1,61	2,11	2,37	1,74
Тирозин	0,29	0,61	0,42	0,69	0,58
Метионин	1,97	2,25	2,18	2,15	2,00
Валин	5,74	6,36	6,14	5,84	6,75
Фенилаланин	10,09	10,09	10,10	12,06	10,40
Лейцин	10,87	9,70	12,00	12,20	9,76
Сумма	58,27	62,15	59,29	62,76	60,77

Таблица 4

Содержание α -аминного азота аминокислот в сеной муке из листьев
сон сорта Уссурийская 154 урожая 1964 г.

Аминокислота	В % от α -аминного азота гидролизата, принятого за 100%				
	контроль	молибден	молибден с фосфор.	мочевина	селитра
Лизин	4,82	6,27	4,82	4,92	3,61
Гистидин	0,89	1,60	0,87	0,78	0,82
Аргинин	2,19	2,54	2,59	1,79	2,14
Аспарагиновая кислота	8,06	11,51	8,95	8,37	11,66
Серин	7,47	7,98	5,80	6,84	6,62
Гликокол	4,32	4,83	3,30	4,65	5,47
Глютаминовая кислота	3,27	3,43	3,25	3,04	6,44
Треонин	6,15	6,57	5,87	5,58	6,36
Аланин	3,90	4,23	4,64	3,79	4,07
Аминомасляная кислота	3,87	3,37	4,49	4,46	3,47
Тирозин	0,57	1,30	0,88	1,29	1,15
Метионин	3,91	4,74	4,64	4,05	3,98
Валин	11,40	13,35	13,03	11,00	13,44
Фенилаланин	20,03	21,50	21,40	22,68	20,60
Лейцин	21,51	20,33	25,32	22,82	19,42
Сумма	102,36	113,55	109,85	106,06	109,25

жания аргинина, аминокислотной кислоты и лейцина, подкормка мочевиной — к увеличению количества фенилаланина в листьях сои. Селитра дала отрицательный эффект. Общее содержание аминокислот понизилось при опрыскивании ею с 20,80% до 18,45%.

Известно, что при недостатке тепла цветение и созревание сои запаздывает. В этих условиях действие удобрений, особенно молибдена, который в опытах ускорял развитие и созревание сои, должно быть эффективным. И действительно, из табл. 5—7 видно, что все удобрения, которыми подкармливали сою, дали эффект. Прежде всего, содержание аминокислот в листьях сои контрольного варианта было ниже в этом году, чем в 1964 г. (16,0 и 20,8 соответственно). При опрыскивании молибденом количество аминокислот возрастает до 24,0%, мочевиной — до 22,0% и селитрой — до 20,0%. Доля аминокислот в балансе азотистых веществ в листьях тоже возрастает под влиянием удобрений с 55,2% в контроле — до 75,0% в варианте с молибденом и 61,5% в варианте с селитрой.

Таблица 5

Таблица 5

Содержание аминокислот в сеной муке из листьев сои сорта Уссурийская 154 урожая 1965 г. (в % на абсолютно сухой вес)

Аминокислота	Контроль	Молибден	Мочевина	Селитра
Лизин	1,10±0,03	1,85±0,04	1,29±0,05	1,35±0,05
Гистидин	0,50±0,03	0,72±0,004	0,38±0,01	0,43±0,03
Аргинин	0,76±0,03	1,18±0,08	0,78±0,05	0,70±0,02
Аспарагиновая кислота	1,40±0,02	2,30±0,1	2,30±0,08	2,18±0,03
Серин	0,75±0,05	1,10±0,09	0,80±0,02	0,80±0,07
Гликокол	0,58±0,01	0,80±0,02	0,67±0,06	0,47±0,07
Глютаминовая кислота	0,90±0,02	1,12±0,02	1,04±0,03	1,06±0,03
Треонин	0,95±0,02	1,30±0,08	1,24±0,02	0,90±0,06
Аланин	0,50±0,05	1,00±0,02	0,60±0,03	0,66±0,003
Валин	1,60±0,10	2,25±0,04	2,29±0,14	2,97±0,06
Метонин	0,45±0,02	0,76±0,02	0,70±0,03	0,70±0,02
Фенилаланин	3,50±0,30	5,40±0,30	5,25±0,13	3,50±0,07
Лейцин	3,10±0,07	4,00±0,3	4,29±0,52	3,90±0,03
Тирозин	0,24±0,02	0,42±0,02	0,30±0,03	0,31±0,004
Сумма	16,00±0,80	24,00±0,1	22,00±1,0	20,0±0,5

В опыте с применением молибденового удобрения происходит достоверное повышение содержания следующих аминокислот (в пересчете на общий азот гидролизата): лизина, гистидина, аргинина, аспарагиновой кислоты, гликокола, метионина, лейцина. С достоверностью до 90% возрастает содержание серина и фенилаланина.

Таблица 6

Содержание азота аминокислот в сеной муке из листьев сои сорта Уссурийская 154 урожая 1965 г. (в % от общего азота гидролизата, принятого за 100%)

Аминокислота	Контроль	Молибден	Мочевина	Селитра
Лизин	4,8±0,24	6,7±0,13	4,4±0,18	5,0±0,15
Гистидин	2,1±0,14	3,1±0,01	1,6±0,03	2,0±0,11
Аргинин	4,9±0,36	7,5±0,11	5,0±0,35	4,8±0,21
Аспарагиновая кислота	4,6±0,10	5,8±0,24	5,6±0,17	6,0±0,20
Серин	2,6±0,22	3,5±0,37	2,6±0,12	2,5±0,09
Гликокол	2,4±0,22	3,6±0,10	2,9±0,21	2,4±0,08
Глютаминовая кислота	2,5±0,06	2,5±0,05	2,3±0,06	2,5±0,08
Треонин	2,8±0,27	3,5±0,23	3,3±0,02	3,2±0,12
Аланин	2,9±0,11	3,8±0,13	2,2±0,11	2,6±0,11
Аминомасляная кислота	—	0,9±0,07	0,9±0,03	1,4±0,02
Тирозин	0,7±0,07	0,8±0,04	0,6±0,05	0,6±0,03
Метионин	1,1±0,02	1,7±0,03	1,5±0,07	1,6±0,05
Валин	6,3±0,22	6,4±0,10	6,3±0,42	8,9±0,51
Фенилаланин	9,0±0,24	10,8±0,64	10,1±0,42	7,6±0,20
Лейцин	8,5±0,22	10,4±0,19	9,8±0,46	10,4±0,84
Сумма	55,2±2,49	75,0±2,44	59,0±2,68	61,5±2,80

Таблица 7

Содержание α-аминого азота в сеной муке из листьев сои сорта Уссурийская 154 урожая 1965 г. (в % от α-аминого азота гидролизата)

Аминокислота	Контроль	Молибден	Мочевина	Селитра
Лизин	4,7±0,23	5,5±0,10	4,2±0,02	4,8±0,14
Гистидин	1,4±0,08	1,7±0,05	1,0±0,01	1,2±0,09
Аргинин	2,5±0,16	2,9±0,25	2,3±0,14	2,2±0,17
Аспарагиновая кислота	9,5±0,58	9,5±0,09	10,4±0,29	11,2±0,18
Серин	5,7±0,45	5,8±0,60	4,8±0,10	5,0±0,14
Гликокол	5,7±0,19	5,9±0,18	5,5±0,36	4,6±0,13
Глютаминовая кислота	5,1±0,18	4,1±0,04	4,2±0,04	4,6±0,17
Треонин	5,8±0,47	5,7±0,24	6,2±0,22	4,8±0,34
Аланин	6,0±0,18	6,2±0,24	4,0±0,18	4,8±0,02
Аминомасляная кислота	—	1,6±0,06	—	2,7±0,05
Тирозин	1,4±0,18	1,3±0,07	1,1±0,13	1,1±0,01
Метионин	2,2±0,03	2,8±0,15	2,8±0,07	3,0±0,18
Валин	12,8±0,41	10,6±0,51	11,7±0,72	16,8±0,36
Фенилаланин	19,0±0,86	17,7±0,50	16,8±0,41	14,1±0,26
Лейцин	18,3±0,75	17,0±0,27	18,3±0,51	19,4±0,43
Сумма	100,1±4,75	98,3±3,35	95,3±3,20	100,3±2,67

При подкармливании мочевиной достоверно возрастает содержание аспарагиновой кислоты, метионина, фенилаланина, а количество гистидина и аланина падает. С достоверностью 90% повышается количество азота (в процентах к общему азоту гидролизата).

При воздействии на растение сои селитры возрастает количество азота аспарагиновой кислоты, валина, лейцина, а фенилаланина уменьшается.

Пересчитывая данные анализа на содержание аминного азота в гидролизате, мы получили следующие результаты: под влиянием молибдена растет содержание аминного азота гистидина, глутаминовой кислоты, метионина, валина; действие мочевины привело к увеличению количества метионина и снижению содержания гистидина, глутаминовой кислоты и аланина; опрыскивание растений сои увеличило количества аминного азота аргинина, метионина, валина, а гликокола, аланина и фенилаланина — снизило.

Таким образом, внекорневые подкормки азотом и молибденом повлияли в 1965 г. и на содержание азота, и на содержание аминокислот в листьях сои в более сильной степени, чем в 1964 г. Это лишний раз подтверждает, что растения сои хуже переносят засуху, чем переувлажнение.

Итак, внекорневые подкормки молибденом и азотом увеличивают содержание общего азота и аминокислот в листьях сои и могут служить таким агротехническим приемом, благодаря которому мы получим больше белка для сельского хозяйства. Влияние подкормок на содержание аминокислот в листьях сильнее сказалось в засушливый год, чем в год, когда почва была переувлажнена. Это лишний раз, по-видимому, подтверждает мнение тех исследователей, которые считают сою влаголюбивой культурой.

Влияние подкормок молибденом и азотом на белки семян сои и их аминокислотный состав

Характеристика выделенных белков представлена в табл. 8 и 9. Содержание азота в препаратах белка составляет 15,48—17,24%, что указывает на достаточную чистоту выделенных белков. Количество фосфора в белковых препаратах при подкормке растений сои молибденом возрастает. Следует отметить, что двойная подкормка сои молибденом не приводит к такому эффекту. В образцах белка семян урожая 1965 г. под влиянием подкормки молибденом несколько возросло количество цистина. Это очень интересный факт, указывающий на то, что под влиянием условий возделывания количество аминокислот, ограничивающих пищевую ценность соевого белка, может быть изменено. Правда, в 1964 г. подкормка молибденом не дала такого

эффекта. Содержание тирозина и триптофана при покармливания растений молибденом несколько падает. Содержание других аминокислот в белках остается примерно таким же (табл. 10 и 11). Сильно понижается лишь количество лейцинов.

Таблица 8
Влияние внекорневой подкормки молибденом на белки сои сорта Приморская 529

Год урожая	Вид подкормки	Содержание белка на абсолютно сухой вес, %					
		азота	фосфора	зола	цистина	тирозина	триптофана
1964	Контроль	17,24	0,46	0,41	1,31	5,14	2,76
	Внекорневая подкормка	16,58	0,53	0,85	1,35	4,28	2,58
	Внекорневая подкормка + обработка семян	16,09	0,23	1,00	1,24	4,44	2,23
	Контроль	16,25	0,37	1,30	1,00	5,49	3,28
1965	Обработка семян	15,48	0,43	0,71	1,17	5,07	2,69
	Внекорневая подкормка	16,52	0,60	1,07	1,21	4,48	2,58
	Внекорневая подкормка семян + обработка их	15,63	0,40	0,63	1,36	4,98	2,23

Таблица 9
Влияние подкормки молибденом и азотом на белки сои сорта Салют 216 урожая 1965 г.

Вид подкормки	Содержание белка на абсолютно сухой вес, %					
	азота	фосфора	зола	цистина	тирозина	триптофана
Контроль	15,77	0,44	0,78	1,11	5,01	2,99
Обработка семян молибденом	15,86	0,50	1,33	1,42	4,93	2,93
Внекорневая подкормка азотом	16,48	0,43	1,03	1,41	4,54	3,11

Подкормка азотом растений сои сорта Салют 216 привела к повышению содержания аргинина и аспарагиновой кислоты. Очевидно, эти аминокислоты — наиболее лабильны. Возможно, различия в содержании аминокислот в суммарных белках трудно выявить потому, что смешивание их нивелирует эти различия. Известно, что подкормка растений сои молибденом повышает со-

Таблица 10

Влияние подкормки молибденом на содержание аминокислот в белках семян сои сорга
Приморская 529 (в % на абсолютно сухой вес) при различных способах применения

Аминокислота	Контроль	Обработка семян Мо	Обработка и вне-корневая подкормка Мо	Контроль	Обработка Мо	Внекорневая подкормка Мо	Обработка семян и вне-корневая под-кормка Мо
Цистин	1,3±0,03	1,4±0,06	1,2±0,02	1,0±0,09	1,2±0,01	1,2±0,06	1,4±0,07
Лизин	5,4±0,08	6,5±0,07	6,4±0,08	5,6±0,20	6,5±0,10	6,4±0,10	6,8±0,06
Гистидин	2,1±0,07	2,4±0,07	2,5±0,06	2,1±0,06	2,4±0,09	2,5±0,08	2,5±0,09
Аргинин	8,1±0,08	8,5±0,10	8,9±0,09	8,5±0,08	8,9±0,10	8,7±0,06	9,0±0,07
Аспарагиновая к-та	10,0±0,20	8,8±0,20	8,4±0,09	9,6±0,20	8,7±0,10	8,5±0,10	8,5±0,10
Серин	4,2±0,06	4,0±0,10	4,2±0,04	3,6±0,10	3,9±0,04	4,1±0,02	4,2±0,04
Гликокол	4,1±0,06	3,8±0,05	4,2±0,07	4,2±0,06	3,9±0,07	4,1±0,06	4,1±0,06
Глютаминовая к-та	10,7±0,10	10,2±0,10	10,2±0,07	11,7±0,20	10,7±0,10	11,0±0,30	10,9±0,30
Треонин	5,1±0,07	5,0±0,06	5,0±0,20	5,0±0,20	5,1±0,20	5,2±0,04	5,1±0,20
Аланин	4,3±0,07	4,2±0,06	4,3±0,10	4,2±0,10	4,1±0,20	4,3±0,20	4,3±0,03
Валин	7,6±0,10	7,9±0,20	7,8±0,09	7,7±0,20	7,9±0,20	7,7±0,30	7,8±0,08
Фенилаланин	5,2±0,30	5,6±0,07	5,3±0,20	5,4±0,20	5,6±0,20	5,4±0,20	5,4±0,10
Лейцины	19,0±0,20	17,5±0,20	17,5±0,20	19,2±0,40	17,5±0,30	17,9±0,50	17,3±0,30
Тирозин	5,5±0,20	4,3±0,04	4,4±0,02	5,6±0,10	5,0±0,04	4,5±0,04	4,8±0,20
Триптофан	2,7±0,06	2,8±0,04	2,5±0,02	3,3±0,09	2,7±0,01	2,6±0,05	2,2±0,01
Метионин	1,8±0,04	2,0±0,05	2,0±0,04	1,7±0,04	1,9±0,03	1,6±0,02	2,0±0,03
Сумма	97,1±1,75	94,9±1,47	94,8±1,39	98,4±2,32	96,0±1,79	95,7±2,13	96,3±1,74

Таблица 11

Влияние обработки семян молибденом и подкормки азотом на содержание аминокислот в белках семян сои сорта Салют 216 урожая 1965 года
(в % на абсолютно сухой вес)

Аминокислота	Вид подкормки		
	контроль	обработка семян Мо	подкормка азотом
Цистин	1,11	1,41	1,41
Лизин + орнитин	8,20	8,40	8,56
Гистидин	2,46	2,00	2,32
Аргинин	6,84	5,97	8,31
Аспарагиновая кислота	7,64	7,31	8,31
Серин	3,20	3,44	3,49
Гликокол	3,85	3,03	3,21
Глютаминовая кислота	10,53	3,86	9,95
Треонин	4,60	4,75	4,81
Аланин	3,58	2,89	2,39
Тирозин	4,98	4,93	4,54
Метионин	2,43	2,29	2,10
Валин	7,74	7,53	7,09
Фенилаланин + + неидент. кислота	18,06	13,81	14,76
Лейцин	19,01	21,03	17,39
Триптофан	2,82	2,93	3,11
Пролин	4,00	3,95	3,36

держание белка в растениях. Уже только этот факт представляет интерес, потому что приводит к повышению питательной ценности.

Обработка растений сои молибденом приводит к повышению доли альбуминов среди белков (табл. 12 и 13) — наиболее ценной части соевых белков. Это повышение происходит за счет глобулинов, количество которых снижается почти на 10%. Правда, содержание глютелинов и азота остатка в опытах 1964 г. тоже несколько возросло, но в 1965 г. оно оставалось примерно на том же уровне. Обращает на себя внимание и то обстоятельство, что двойная обработка растений сои молибденом снижает эффективность его действия. Такая закономерность прослежена на всех изученных нами показателях.

Таким образом, внекорневая подкормка растений сои молибденом и азотом оказывает положительное действие на биологическую и пищевую ценность соевых белков. Аминокислотный состав их практически не меняется, но возрастает количество белка в семенах, а среди самих белков увеличивается доля наиболее ценных в пищевом отношении альбуминов. Кроме того, возможно, вследствие активизации ферментативных процессов растения

Таблица 12

Влияние подкормок молибденом на содержание различных форм азота в обезжиренной муке из семян сои сорта Приморская 529 (в % от общего азота)

Год урожая	Вид подкормки	Водорастворимый			Солерастворимый	Щелочерастворимый	Азот остатка	Сумма извлекаемого азота	Сумма извлекаемого азота + азот остат.
		общий	белковый	небелковый					
1964	Контроль	66,9	57,1	9,8	12,1	9,4	8,1	91,5	99,6
	Внекорневая подкормка	64,7	53,5	11,2	12,0	12,0	10,8	88,7	99,6
	Внекорневая подкормка и обработка семян	69,3	57,7	11,8	7,4	11,3	11,5	88,0	99,5
	Контроль	61,8	51,7	10,1	17,0	11,2	9,2	90,0	99,2
1965	Обработка семян	65,3	55,0	10,3	11,4	11,4	11,2	88,1	99,3
	Внекорневая подкормка	64,1	53,1	11,0	10,0	12,6	9,0	86,7	95,7
	Внекорневая подкормка семян и их обработка	64,2	54,4	9,8	12,2	10,4	11,5	86,8	98,3

Таблица 13

Влияние подкормок молибденом на содержание различных типов белков обезжиренной муки из семян сои сорта Приморская 529 (азот соответствующего белка в % от общего азота муки)

Год урожая	Вид подкормки	Солерастворимый азот			Азот глютелинов	Азот остатка	Сумма извлекаемого белка	Азот небелковый и потерн
		общий	альбуминов	глобулинов				
1964	Контроль	72,3	7,5	48,4	16,5	11,2	88,8	15,4
	Внекорневая подкормка	68,4	9,8	40,4	18,4	13,2	86,8	18,8
	Внекорневая подкормка и обработка семян	66,5	9,6	37,3	19,9	13,6	86,4	19,6
	Контроль	69,6	6,8	49,3	18,3	12,1	87,9	13,5
1965	Обработка семян	69,4	8,7	44,5	17,9	12,7	87,3	16,2
	Внекорневая подкормка	69,4	9,4	44,2	17,5	13,1	86,9	15,8
	Внекорневая подкормка и обработка семян	68,4	10,5	41,6	19,1	12,5	87,5	16,3

сои, подкормленные молибденом, быстрее заканчивают свой вегетационный период и успевают вызреть до заморозков. Это тоже способствует получению соевого зерна лучшего качества.

ЛИТЕРАТУРА

- Абуталымов М. и А. Самедова, 1964. Влияние микроэлементов на накопление аминокислот в листьях пшеницы и фасоли. В сб.: Теоретические основы регулирования минерального питания растений. М., Изд. «Наука».
- Авдонин А. С. и И. Г. Аренис, 1966. Влияние молибдена на биохимические процессы в растениях и на качество растительной продукции. «Агрехимия», № 3.
- Арнон Д., 1962. Роль микроэлементов в питании растений. В сб.: Микроэлементы. М., ИЛ.
- Бейли Дж., 1965. Методы химии белков. М., ИЛ.
- Беликов И. Ф., 1952. Влияние удобрений на урожай и химический состав зерна сои в условиях Приморского края. Труды ДВ филиала АН СССР, сер. растениевод., № 1.
- Беликов И. Ф., 1955. О движении и распределении продуктов фотосинтеза у сои в период вегетации. «Физиология раст.», т. 2, № 4.
- Беликов И. Ф., В. В. Ключкин, Л. М. Мойсейченко, 1968. Технологическая оценка семян сои в зависимости от степени их зрелости. «Маслободно-жировая промышленность», № 2.
- Беликов И. Ф., Е. Я. Неделько, 1953. Ход биохимических процессов в сое при послеуборочном дозревании в зависимости от сроков уборки. Сообщ. Прим. отд. ВХО им. Д. И. Менделеева, № 3.
- Беликов И. Ф. и Е. Я. Неделько, 1956. Биохимическая характеристика амурских сортов сои. «Маслободно-жировая промышленность», № 2.
- Беликов И. Ф. и Е. Я. Неделько, 1956а. Изменение химического состава семян сои при созревании в условиях Приморья. В сб.: Биохимия зерна, т. 4.
- Беликов И. Ф. и И. Г. Ткаченко, 1961. Соя в Приморском крае. Владивосток.
- Беликов И. Ф., А. И. Чуб, Л. А. Андреева, П. К. Сидоренко, 1965. Внекорневая подкормка сои. «Зернобобовые культуры», № 2.
- Бояркин А. Н., 1956. Разноцветное проявление аминокислот на бумажных хроматограммах. «Физиология раст.», т. 3, № 4.
- Бурлака В. В., 1964. Развитие клубеньков на корнях сои при различной влажности почвы. В сб.: Сельскохозяйственная информация научных учреждений Дальнего Востока.
- Бурлака В. В., В. П. Басистый, Н. А. Дейнецкая, 1964. Азотно-фосфорное питание и удобрение сои на переувлажненных почвах. В сб.: Сельскохозяйственная информация научных учреждений Дальнего Востока.
- Выхрестюк Н. П. и А. И. Чуб, 1967. Влияние молибдена на качество соевой сеной муки. В сб.: Рефераты Всесоюзного совещания по вопросам биологии и возделывания сои в Советском Союзе. Владивосток.
- Голубева С. Е., 1963. Влияние минерального удобрения и различной влажности на эффективность внекорневых подкормок кукурузы и картофеля. Труды Харьковского с.-х. ин-та, Киев.
- Грицун А. Т., 1952. Система удобрений в травопольных севооборотах Приморского края. Труды ДВ филиала АН СССР, сер. растениевод., 1.
- Грицун А. Т., 1958. К вопросу о потребностях сои в основных элементах питания и условиях эффективного использования минеральных удобрений. Бюллетень научно-технической информации ДВ НИИСХ, № 5.
- Грицун А. Т., 1958. Эффективность применения минеральных удобрений под сою. «Земледелие», № 4.

Грицун А. Т., 1964. Применение удобрений в Приморском крае. Владивосток.

Грицун А. Т., 1965. Соя в Приморском крае. Владивосток.

Грицун А. Т. и Л. С. Сазонова, 1963. Микроэлементы в сельском хозяйстве Приморья. Владивосток.

Добрикова А. Н., 1956. Аминокислотный состав семян сои Приморского края. В сб.: Биохимия зерна, т. 4.

Догис И. К., 1956. Исследования по изучению влияния микроэлементов на урожай некоторых сельскохозяйственных культур. В сб.: Микроэлементы в сельском хозяйстве и медицине. Рига.

Енкен В. Б., 1959. Соя. Сельхозгиз.

Зайцева Г. Н. и Н. П. Тюленева, 1958. Количественное определение аминокислот на хроматограммах посредством определения медных производных с нингидрином. «Лабораторное дело», № 3.

Золотницкий В. А., 1962. Соя на Дальнем Востоке. Хабаровск.

Иванов Г. И., 1954. Почвы Приморского края. Владивосток.

Иконникова М. И., 1965. Биохимическое изучение зерновых бобовых культур в связи с проблемой растительного белка. (автореферат на соиск. уч. степ. докт. биол. наук), Л.

Килер Р. и Д. Варнер, 1965. Обмен вольфрамата и молибдена у *Azotobacter*. В сб.: Микроэлементы. М., ИЛ.

Клименко В. Г., 1956. Формы азота и серы белка зерна бобовых растений. Ученые записки Кишин. Гос. ун-та, т. 23, № 3.

Клименко В. Г., 1964. О природе глютелинов семян бобовых и других растений. Тезисы докл. второй Всесоюзн. межвузов. отчетно-координац. конф. по химии прир. соединений, 36. Ташкент.

Клименко В. Г. и А. Д. Березовиков, 1963. Превращение белков и небелковых азотсодержащих веществ при созревании кормовых бобов (*Vicia faba*). «Биохимия», 28.

Клименко В. Г. и Г. В. Леонов, 1967. Влияние фазы созревания и растворителей на белки семян нута. ДАН СССР, 1.

Клименко В. Г. и Л. С. Павлова, 1965. Изменение содержания белков в органах некоторых видов чины в онтогенезе. Труды по химии прир. соед., т. 6. Кишинев.

Клименко В. Г. и Р. И. Пинегина, 1964. Изменчивость белков семян гороха при созревании. «Биохимия», т. 29, № 3.

Куркаев В. Г. и В. И. Голов, 1962. Методическое указание по применению молибдена под сою. Благовещенск.

Куркаев В. Т. и Д. А. Курдин, 1961. Удобрение сои. Благовещенск.

Лещенко А. К., В. В. Касаткин, М. И. Хотулев, 1948. Соя. Сельхозгиз.

Лукашик Н. А., Е. Е. Колодзеева, З. Ф. Табакова, Л. В. Григорьева, 1965. Аминокислотный состав протенина злаков, бобовых и некоторых кормовых трав. Изв. ТСХА, № 1.

Луковникова Г. А., 1955. Влияние минерального питания на содержание азотистых веществ и крахмала у картофеля. «Биохимия плодов и овощей», № 3.

Люкова А. А. и В. Л. Дудник, 1964. Влияние молибдена на азотистый обмен у кукурузы. В сб.: Теоретич. основы регулir. минер. питания. М., Изд. «Наука».

Магницкий К. П., Ю. А. Шугаров, В. К. Малков, 1959. Новые методы анализа растений и почв. М., Сельхозгиз.

Малыш А. К., 1955. Возделывание кормовой сои в Приамурье. В кн.: Вопросы развития сельского хозяйства Приамурья. Благовещенск.

Минина Е. И., 1960. К вопросу о физиологической роли молибдена в растениях. ДАН СССР, т. 130, № 2.

Мосолов И. В., 1936. Влияние азота, фосфора и калия на образование

белка, жира и углеводов в зерне сои. «Химизация социалистического земледелия», № 9.

Новак А. Г., Соя Дальнего Востока. Владивосток.

Новак А. Г., 1964. Возделывание сои. М.

Пейве Я. В., 1960. Микроэлементы и ферменты. Рига.

Пейве Я. В., 1955. Роль микроэлементов в питании растений и животных. М., Изд. АН СССР.

Пейве Я. В., 1961. Роль микроэлементов в обмене веществ и повышении продуктивности сельскохозяйственных культур. Изв. АН СССР, сер. биол., № 6.

Пейве Я. В., 1963. Руководство по применению микроудобрений. М.

Пейве Я. В., Г. Я. Жизневская, Б. А. Ягодин, П. И. Дуборова, 1965. Изучение активности дегидрогеназ в клубеньках кормовых бобов в связи с проблемой участия микроэлементов в азотофиксации. В сб.: Вторая биохим. конференция. Прибалт. респуб. и Белорусск. ССР. Рига. Изд. «Знание».

Плешков Б. П., 1964. О стабильности аминокислотного состава растительных белков. Докл. ТСХА, вып. 99.

Плешков Б. П., 1964. Удобрение и аминокислотный состав растительных белков. Вестник с.-х. науки, № 10.

Плешков Б. П., М. Иванко, Г. В. Антонова, 1957. Влияние условий питания на содержание свободных аминокислот в листьях фасоли. ДАН СССР. Т. 117, № 6.

Плешков Б. П., Л. Фоуден, 1959. Содержание свободных аминокислот и аминокислотный состав белков листьев ячменя в зависимости от условий минерального питания и возраста растений. Изв. ТСХА, № 5.

Плешков Б. П., Г. В. Шмырева, Ш. Иваненко, 1959. Изменение содержания свободных аминокислот в листьях и корнях кукурузы в зависимости от условий питания растений. «Физиология раст.», т. 6, № 6.

Починок Х. М., Б. И. Бернштейн, 1956. Колориметрический индигриновый метод определения аммиачного азота в растениях. Укр. биохим. ж., т. 28, № 3.

Прокуменщикова Л. Т., 1967. Влияние молибдена на физиолого-биохимические показатели и урожай сои на лугово-бурых почвах Приморского края. Автореферат на соиск. уч. степ. канд. биол. наук. Иркутск.

Ратнер Е. И., 1964. Молибден и проблема биологического азота в земледелии. Изв. АН СССР, сер. биол., № 2.

Ратнер Е. И., Г. В. Барнинов, 1959. Особенности поступления питательных веществ через листья при внекорневой подкормке растений. «Физиология растений», № 3.

Рубин Б. А., 1961. Физиология растений. М.

Сидоренко П. К., 1966. Некорневая подкормка сои в условиях Приморского края. Диссерт. на соиск. уч. степени канд. с.-х. наук, Уссурийск.

Смирнова-Иконникова М. И., 1952. Характеристика растительных ресурсов зерновых и бобовых культур по количественному и качественному составу белка. В сб.: Белки в промышленности и сельском хозяйстве. М.

Собачкин А. А., 1958. Влияние молибдена на синтез амидов и аминокислот в растениях. Докл. ТСХА, т. 34, № 55.

Спенс Дж., 1965. К изучению биологической роли молибдена в растениях. «Сельское хозяйство за рубежом», № 6.

Стюард и Дж. Томпсон, 1958. Белки и белковый обмен в растениях. В кн.: Белки, т. 3, ч. 1.

Товарицкий В. И., 1935. К вопросу о биохимических признаках сортов сои. В сб.: Труды ВНИИ зернобобовых культур, т. IV.

Чемоданова Э. И., 1962. Физиологическое значение молибдена для бобовых растений. В кн.: Сб. трудов, посвященный XX фармацевт. фак-та. Томского мединститута. Томск.

Шереверя Н. И., 1956. О взаимосвязи между внекорневым и корне-

вым питанием растений. Автореферат на соиск. уч. степ. канд. биол. наук, Харьков.

Шконде Э. И., 1957. Роль сои в накоплении азота почвы. «Удобрение и урожай», № 1.

Шуровская В. Я., 1960. Влияние молибдена на урожай и качество гороха в условиях Латвийской ССР. Автореферат на соиск. уч. степ. канд. биол. наук, Рига.

Яковлева В. В., 1955. О внекорневой подкормке растений бором. В кн.: Внекорневая подкормка сельскохозяйственных растений. М., Сельхозгиз.

Anderson A. A., 1956. Molybdenum Deficiencies in Legumes in Australia Soil Sci., 81, 3.

Anke M. a. K. Gruhn, 1962. Der Einfluss des Molibdans auf die Zusammen Setzung der Pflanzen. Z. landwirtsch. Versuchsund Untersuchungs-wesen, 8, 4, 321—330.

Baliga B. K., K. Krishnamurthy, 1955. A Simple Method for Desalting Biological Fluids for Chromatography. J. Ind. Inst. sci., 37.

Bode F., 1955. Eine Vereinfachung und Verbesserung der Methode zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren und Peptiden des Ninhydrin Kupfer Komplex. Biochem. Zeitschr. B. d. 326, 433.

Catter Y. a. C. Hartwig, 1963. The Soybeans. Acad. Press, US.

Mc Carty a. M. A. Sullivan, 1941. A New and Highly Specific Colorimetric Test for Methionine. J. Biol. Chem., 141, 871.

Folin O. a. A. Marenzi, 1929. Improved Colorimetric Method for the Determination of Cystine in Proteins. J. Biol. Chem, 83, 16, 163.

Giri K. V., A. N. Radhakrishnan a. C. S. Vaydianathan, 1953. The Quantitative Determination of Amino Acids. J. Ind. Inst. Sci., 35, 2, 145.

Lewy T. L. a. B. A. Barber, 1963. A Relationship Between the Yield Response of Soybean to Molybdenum Content of the Produce. Agron. J., 55, 2.

Moore S. a. W. H. Stein, 1954. Procedures for the Chromatographic Determination of Amino Acids on Four per cents Cross-Linked Sulfonated Polystyrene Resins. J. Biol. Chem., 211, 2, 893.

Mulder E. G., 1948. Importance of Molybdenum in the Nitrogen Metabolism of Microorganisms and Higher Plants. Plant a. Soil 1, 1, 368—415.

Parker M. B. a. H. B. Harris, 1962. Soybean Response to Molybdenum and Lime and the Relationship Between Yield and Chemical Composition. Agron. J., 54, 6, 480—483.

Possingham J. V., 1956. The Effect of Mineral Nutrition on the Free Amino Acids and Amides in Tomato Plants. 1. A Comparison of the Effects of Deficiencies of Copper, Zink, Manganese, Iron and Molybdenum. Austr. J. Biol. Sci., 9, 4.

Possingham J. V., 1957. The Effect of Mineral Nutrition on the Content of Free Amino Acids and Amides in Tomato Plants. 2. A Study of the Effect of Molybdenum Nutrition. Austr. J. Biol. Sci., 10, 1, 40—49.

Pozsar B., 1965. Effect of Molybdenum on the Synthesis of Nucleic Acid in Soybean Leaves. Acta Agron. Acad. Sci. Hung., 14, 3—4.

Rao N. A. N. a. T. K. Wadhvani, 1954. Resolution of Mixture of Amino Acids by Circular Paper Chromatography. Current Sci., 23, 11, 359.

Reindal F. a. W. Hoppe, 1953. Eine Verbesserung bei der Veränderung der Papierbreifenformen durch eine Papierchromatographie Methode. Naturwissenschaften, 40, 8, 245.

Spies J. a. D. Chambers, 1949. Chemical Determination of Tryptophan in Proteins. Anal. Chem., 21, 1249.

Steinberg R. A., 1937. Role of Molybdenum in the Utilisation of Ammonium and Nitrate Nitrogen by *Aspergillus niger*. J. Agric. Res., 55, 12.

Steward F. C. a. D. Margolis, 1962. The Effect of Molybdenum upon the Free Amino Acids and Amides of the Tomato Plants «Conbirs Boyce». Thompson Inst., 21, 6, 411—421.