

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE VĚD
ACADEMIA SCIENTIARUM BOHEMOSLOVENICA

FOLIA BIOLOGICA

TOMUS II
FASCICULUS 2



Fol. biol. (Praha)

Tom. 2 - Fasc. 2

Praha 30. 5. 1956

F O L I A B I O L O G I C A (P R A H A)

Международное издание журналов Československá biologie и Československá mikrobiologie

Р е д а к ц и о н н а я к о л л е г и я :

Академик И. Малек (главный редактор), В. Вршанский, М. Гашек, чл.-корр. ЧСАН Ф. Герчик, академик О. Ировец, Ю. Мацура, академик С. Праг, Б. Росицкий (секр. ред. коллегии), Л. Черный, Я. Штерцль.

Переводы на русский язык: доц. д-р Широва, на английский язык: д-р Ридесова, на немецкий язык: д-р Файгль

Издается Биологическим институтом Чехословацкой Академии наук в Издательстве ЧСАН. Выходит 6 раз в год. Подписная цена на 1 год Kčs 60.—, цена одного номера Kčs 10.—. Адрес редакции: Биологический институт ЧСАН, На цвицишти 2, Прага XIX. Заказы: Артия, Смечки 30, Прага II, Чехословакия.

F O L I A B I O L O G I C A (P R A H A)

International Edition of the Journals Československá biologie and Československá mikrobiologie

E d i t o r i a l B o a r d :

Academician I. Málek (Chief Editor), L. Černý, M. Hašek, Corresponding Member of the Czechoslovak Academy of Science F. Herčík, Academician O. Jirovec, J. Macura, Academician S. Prát, B. Rosický (Editorial Secretary), J. Šterzl, V. Vršanský.

Translations into Russian: Dr Schierová, into English: Dr Ridesová, into German: Dr Feigel.

Issued by Biologický ústav Československé akademie věd at Nakladatelství Čs. akademie věd. Yearly subscription (6 numbers) Kčs 60. Single number Kčs 10. Address: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha XIX. Orders: Artia, Smečky 30, Praha II, Czechoslovakia.

F O L I A B I O L O G I C A (P R A H A)

Internationale Ausgabe der Zeitschriften Československá biologie und Československá mikrobiologie

R e d a k t i o n s r a t :

Akademiemitglied I. Málek (leitender Redakteur), L. Černý, M. Hašek, korresp. Mitgl. d. Čs. Akademie d. Wiss. F. Herčík, Akademiemitglied O. Jirovec, J. Macura, Akademiemitglied S. Prát, B. Rosický (Redaktions-Sekretär), J. Šterzl, V. Vršanský.

Die Übersetzungen besorgt Doz. Dr A. Schierová für die russischen, Dr A. Ridesová für die englischen und Dr T. Feigel für die deutschen Artikel.

Herausgeber: Biologický ústav Československé akademie věd durch Vermittlung des Nakladatelství Čs. akademie věd. 6 Lieferungen jährlich. Abonnementpreis 60 Kčs, Preis der Einzelnummer 10 Kčs. Anschrift der Redaktion: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha XIX. Zu beziehen durch: Artia, Smečky 30, Praha II, Československo.

FOLIA BIOLOGICA

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Die Frage der Spezifität und Variabilität der Coccidien
bei verschiedenen Wirten

B. RYŠAVÝ

Biologisches Institut der Tschsl. Akademie der Wissenschaften, Parasitologie, Praha

Eingelangt am 26. 1. 1956

Die Coccidiosen gehören zu den wichtigsten Protozoen-Erkrankungen bei domestizierten und in Freiheit lebenden Tieren. Beim Studium der Coccidien begegnen wir sehr oft dem Problem der Spezifität dieser Parasiten für verschiedene Wirte. Noch vor kurzer Zeit bestand die geläufige Praxis darin, dass bei jeder Art des Wirtsorganismus besondere Coccidien-Arten beschrieben wurden. Die Frage der Systematik von Coccidien stand völlig unter dem Einfluss der Anschauung von dem sog. phylogenetischen Determinismus, die hauptsächlich von Kellog, Fuhrmann (1908, 1932) und Metcalf vertreten wurde. In der UdSSR waren Rubcov und andere Autoren Anhänger dieser Anschauung. Danach leiten sich die entwicklungsmässigen Beziehungen der Wirte von der Systematik ihrer ständigen Parasiten ab, sodass die phylogenetische Entwicklung des Wirts von der Organisation seiner ständigen Parasiten abgeleitet werden kann (Eichler 1940). Mit anderen Worten gesagt, die Entwicklung des Wirts verläuft parallel mit der Entwicklung seiner Parasiten ohne Rücksicht auf ökologische Faktoren, z. B. auf den Einfluss des Milieus. Die Verfechter des phylogenetischen Determinismus erachten in der Parallelentwicklung von Wirt und Parasiten den einzigen, entscheidenden und allmächtigen Faktor bei der Entstehung und Entwicklung parasitischer Arten. Fragen, welche mit dem Einfluss des Milieus verbunden sind und besonders bei der Entstehung parasitischer Arten unbedingt eine grosse Rolle spielen, werden von diesen Forschern gänzlich ausser acht gelassen.

Der Anschauung vom phylogenetischen Determinismus bei Entstehung parasitischer Arten entspricht auch die Regel von Fuhrmann (1908, 1932), die zwar ursprünglich für parasitische Würmer bei Vögeln formuliert war, später aber oft unkritisch auf alle Parasiten, besonders auf Endoparasiten ausgedehnt wurde. Nach dieser Regel ist „jede Ordnung der Vögel durch seine spezifische Helminthofauna charakterisiert, deren Vertreter bei anderen Vögel-Ordnungen nicht schmarotzen können“. Die Regel hat zwar eine ungefähr allgemeine Gültigkeit, doch kennt sie so viele Ausnahmen, dass schliesslich ihr Wert ziemlich problematisch wird. Ein Helmintholog, der sich nach ihr richten würde, muss sich notwendigerweise auf Abwegen befinden. Gegen diese Regel spricht eine grosse Zahl von Tatsachen, die in der Weltliteratur angeführt wurden. Auch uns gelang im Jahre 1955 ein Fund, der ihr vollkommen widerspricht. Bei der Turteltaube (*Streptopelia decaocto* Friv.) stellten wir im Magen den Wurm *Amidostomum anseris* fest. Nach der Fuhrmannschen Regel sollten alle 13 Arten der Gattung *Amidostomum* nur bei den Ordnungen *Anseriformes*, *Charadriiformes* und *Ralliformes* schmarotzen. Unser Befund bei einem Vertreter der Ordnung *Columbiformes* steht also in völligem Widerspruch zu dieser Regel und beweist, dass hier noch andere Faktoren als die Parallelität in der Entwicklung von Wirt und Parasiten (Ryšavý, Michálek u. Fiedler 1955) wirksam sind. Gegen die Konzeption des phylogenetischen Determinismus trat Dogel (1936, 1948) auf und wies darauf hin, dass die Zusammensetzung jeder Parasitofauna von einer Reihe von Faktoren abhängt. Zu diesen gehört selbstverständlich auch die Phylogenese des Wirts, nur spielt sie bei Entstehung der Parasitofauna keine entscheidende Rolle. Einer der wichtigsten Faktoren ist die Nahrungszusammensetzung. Eine übereinstimmende Nahrung der Wirtsorganismen, auch wenn sie etwa phylogenetisch ziemlich voneinander entfernt sind, zieht als Folge eine

übereinstimmende Zusammensetzung der Parasitofauna nach sich. Umgekehrt bewirkt eine unterschiedliche Nahrung auch bei phylogenetisch nahen Wirten eine unterschiedliche Zusammensetzung ihrer Parasitofauna.

Bei den Coccidien, wo bisher die ganze Systematik nur auf der morphologischen Gestaltung der Oocysten aufgebaut ist und sich nur teilweise auch an die Bildung endogener Stadien anlehnt, ist die Frage der Spezifität einzelner Arten für bestimmte Wirte und die Frage der morphologischen Variabilität der Oocysten besonders wichtig. Die grosse Ähnlichkeit der Oocysten und die grossen Schwierigkeiten bei ihrer Determination führten bei einer grossen Zahl der Fälle nur auf Grund ihrer Feststellung bei einem neuen Wirt zu Beschreibungen neuer Arten. Unter dem Einfluss des phylogenetischen Determinismus wurde auf diese Weise eine grosse Menge von Arten beschrieben, die zwar zu einem bestimmten Teil in Synonyme überführt wurden, aber noch vielfach weiter bestehen. Ein grosser Mangel in der Systematik der Coccidien besteht darin, dass die Arten meistens auf Grund eines einzigen Fundes beschrieben wurden, ohne jede Beurteilung anderer Faktoren, wie z. B. die Möglichkeit einer Formenänderung der Oocysten bei verschiedenen Wirten, die Möglichkeit eines Wechsels des Parasiten zwischen verschiedenen Wirten u. ä.

In den letzten Jahren befassten wir uns genauer mit den Fragen der Coccidien, und zwar nicht nur in systematischer Hinsicht, sondern auch von ökologischen Gesichtspunkten. In einer Reihe von Fällen konnten wir gegenseitige Zusammenhänge von Coccidieninvasionen bei verschiedenen Wirten verfolgen und auf Grund einiger festgestellten Tatsachen manche bisher unrichtige Ansichten über die Spezifität der Coccidien berichtigen.

Bei Beobachtung der gegenseitigen Beziehungen zwischen den Parasitofaunen von Schafen, Rehen und Hirschen wurde festgestellt, dass unter gewissen, genau bestimmbaren Bedingungen die Coccidien von Schafen auf Rehe und Hirsche übergehen können. Leben die beiden letzteren Tiergruppen in einem durch Terrain- und Kommunikationsverhältnisse begrenzten Raum derart, dass sie gezwungen sind, auf der Schafweide zu äsen, so übernehmen sie alle Coccidien-Arten, auch wenn sie für diese einen ungewohnten Wirt vorstellen (Ryšavý 1953). Auf Grund zahlreicher Untersuchungen wurde des weiteren festgestellt, dass bei uns folgende Coccidien-Arten auf Rehe und Hirsche übergehen: *Eimeria arloingi* Marotel, 1905, *Eimeria crandallis* Honess, 1942, *Eimeria faurei* Moussu et Marotel, 1901, *Eimeria ninae-kohl-yakimovi* Yakimoff et Rastegajewa, 1930, *Eimeria parva* Kotlán, Moczy et Vajda, 1929, *Eimeria intricata* Spiegl, 1925. Alle diese Arten werden in der Weltliteratur als spezifisch für Schafe oder Ziegen angesehen. Unsere Beobachtungen zeigen aber, dass sie unter bestimmten ökologischen Bedingungen (gegenseitige Berührung von Haustieren und Wild) auch geläufige Parasiten bei Wiederkäuern der Unterfamilie *Cervinae* werden können. Dabei sind die morphologischen Veränderungen der Oocysten sehr gering. Eine Ausnahme bildet die Art *Eimeria intricata*, bei der die Oocysten aus dem Reh (*Capreolus capreolus*) wesentlich kleiner sind (die normale Grösse der Oocysten aus Schafen beträgt $0,0432$ bis $0,0586 \times 0,0306$ bis $0,0376$ mm, bei Oocysten aus dem Reh $0,036$ bis $0,048 \times 0,0306$ bis $0,036$ mm). Die Polarkappe auf der Mikropyle ist gleichfalls wesentlich kleiner und völlig undeutlich. An Orten, wo eine Berührung von Schafen und Wild nicht möglich war, wurden Schaf-Coccidien beim Wild nicht sichergestellt.

Eingehender befassten wir uns mit der Frage nach der Spezifität der Art *Isospora lacazei*, die zu den Arten mit einem weiten Wirtenkreis gehören. Nach Boughton (1938) schmarotzt sie bei 171 Arten von Vögeln, die 130 Gattungen, 40 Familien und 8 Ordnungen angehören. Die Mehrzahl der Wirtsvögel gehört zur Ordnung der *Passeriformes* (147 Arten), ferner zur Ordnung der *Piciformes* (6 Arten), *Coraci-*

formes (4 Arten), *Micropodiformes* (1 Art), *Strigiformes* (3 Arten), *Charadriiformes* (2 Arten), *Galliformes* (2 Arten) und *Falconiformes* (6 Arten). Bei allen diesen Vögeln schmarotzt eine einzige Art, die *Isospora lacazei* Labbé, 1893. Von verschiedenen Autoren wurden zwar weitere 7 Arten beschrieben (*Isospora lyruri* Galli-Valerio, 1931 aus *Tetrao urogallus* und *Lyrurus tetrax*; *Isospora buteonis* Henry, 1932 aus *Accipiter cooperi*, *Buteo borealis*, *Buteo swainsoni*, *Falco sparverinus*, *Asio flammeus* und *Bubo virginianus pallescens*; *Isospora strigis* Yakimoff et Matschoulsky, 1937 aus *Asio flammeus leucopsis*; *Isospora nucifragae* Galli-Valerio, 1933 aus *Nucifraga caryocatactes*; *Isospora volki* Boughton, 1937 aus *Parolia larvesi*; *Isospora monedulae* Yakimoff et Matschoulsky, 1936 aus *Corvus monedula*; *Isospora henryi* Boughton, 1938 aus *Bubo bubo*), wobei ihr einziges Unterscheidungsmerkmal in der Grösse der Oocysten und in der Verschiedenheit des Wirts bestand. Also ein Merkmal, das bei einer nur halbwegs kritischen Analyse nicht bestehen kann. Nach Henry (1932) besteht die sehr begründete Vermutung, dass auch diese Arten zur Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 gehören und ihre Namen daher nur Synonyme sind.

Für diese Ansicht spricht schliesslich auch der Umstand, dass die Art *Isospora lacazei* bei einer grossen Zahl von Wirten aus verschiedenen Ordnungen festgestellt wurde. Es besteht kein Grund, warum gerade diese wenigen weiteren Arten, deren Oocysten sich mit ihrer Grösse vollauf der Variationsbreite der Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 anpassen, selbständige Arten sein sollten. Die Autoren standen hier offenbar gänzlich unter dem Einfluss des phylogenetischen Determinismus und beschrieben die neuen Arten nicht auf Grund morphologischer Merkmale oder einer Analyse ökologischer Faktoren, sondern nur auf Grund von Oocystenbefunden bei einem in der Literatur bisher nicht angeführten Wirt.

Um die Ansicht von Henry zu unterstützen, verfolgten wir einerseits in der Natur die Grösse der Oocysten der Art *Isospora lacazei* bei Vögeln, die mit dieser Art infiziert waren, andererseits bei Vögeln, die im Laboratorium gehalten und einer künstlichen Invasion ausgesetzt wurden, und verglichen die Grösse der Oocysten bei den einzelnen Wirten.

Die Tafel I. zeigt einen Vergleich der charakteristischen Merkmale von Oocysten der Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 bei Wirten mit natürlicher Invasion aus zwei Ordnungen — *Passeriformes* und *Galliformes*. Aus ihr ist ersichtlich, dass die Grösse der Oocysten und ihre Form genügend deutlich schwankt, sodass schon bei diesen wenigen Fällen weitere neue Arten beschrieben werden können, wenn lediglich die Grösse der Oocysten als Kriterium angesehen würde. Die Tafel zeigt auch, dass diese überwiegend von Insekten lebenden Vögel wesentlich kleinere Oocysten haben als vorwiegend Samen oder Pflanzen fressende Vögel. Hier ist also der Einfluss eines ökologischen Faktors offenbar, der in der abweichenden Nahrungszusammensetzung besteht und wahrscheinlich einen unterschiedlichen Chemismus des Verdauungstrakts bewirkt. Der Einfluss auf den Parasiten ist so stark, dass er sich in einer Abweichung der morphologischen Merkmale bemerkbar macht.

Bei Beobachtung der morphologischen Veränderungen während einer künstlichen Invasion verwendeten wir als Ausgangsstamm der Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 ausgereifte Oocysten aus dem Haussperling (*Passer passer dom.*). Ihre durchschnittliche Grösse betrug $0,0234 \times 0,0232$ mm, wobei runde Formen vorherrschten. Diese Oocysten wurde mit einer Sonde in den Grünfink (*Chloris chloris*) eingeführt. Nach drei Tagen zeigten sich in den Fäkalien der Finken Oocysten von überwiegend runder Form und in der Grösse von $0,0198$ bis $0,0248 \times 0,192$ bis $0,0238$ mm. Wir liessen diese Oocysten ausreifen und übertrugen sie in diesem Zustand auf die Kohlmeise (*Parus major*), bei der in den Fäkalien vorwiegend subsphärische, $0,0172$ bis $0,0106 \times 0,0168$ bis $0,0198$ mm grosse Oocysten erschienen, also wesentlich kleinere als beim Finken.

Tafel I. Vergleich der Grösse von Oocysten der Coccidien-Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 aus verschiedenen Wirtsorganismen bei natürlicher Invasion
Die gewonnenen Grössen ergaben sich aus Messungen von je 100 Oocysten

| Wirt | Vorherrschende Art der Ernährung | Grösse der Oocysten | Durchschnitt | Vorherrschende Form |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------|------------------------|
| <i>Passer domesticus</i> | pflanzenfressend | 0,0194—0,0234 × 0,0188—0,0232 mm | 0,0222 × 0,0218 mm | rund |
| <i>Chloris chloris</i> | pflanzenfressend | 0,0198—0,0243 × 0,0189—0,0238 mm | 0,0224 × 0,0220 mm | rund oder subsphärisch |
| <i>Fringilla coelebs</i> | pflanzenfressend | 0,0172—0,0224 × 0,0170—0,0222 mm | 0,0198 × 0,021 mm | rund oder subsphärisch |
| <i>Fringilla montifringilla</i> | pflanzenfressend | 0,022 —0,0243 × 0,0198—0,0221 mm | 0,0224 × 0,0199 mm | rund oder subsphärisch |
| <i>Phasianus reevesi</i> | pflanzenfressend | 0,0238—0,0275 × 0,0238—0,0255 mm | 0,0257 × 0,0247 mm | rund |
| <i>Gallus gallus dom.</i> | pflanzenfressend | 0,0198—0,0256 × 0,0198—0,0243 mm | 0,0233 × 0,0222 mm | rund |
| <i>Turdus merula</i> | insektenfressend | 0,0144—0,0212 × 0,0144—0,0189 mm | 0,0184 × 0,0172 mm | subsphärisch oder oval |
| <i>Turdus musicus</i> | insektenfressend | 0,0146—0,0202 × 0,0144—0,0198 mm | 0,0189 × 0,0184 mm | subsphärisch |
| <i>Parus major</i> | insektenfressend | 0,0174—0,0104 × 0,0168—0,0196 mm | 0,0188 × 0,0174 mm | oval |
| <i>Sitta europaea</i> | insektenfressend | 0,0164—0,0232 × 0,0162—0,0203 mm | 0,0200 × 0,0174 mm | unregelmässig |

Tafel II. Vergleich der Grösse von Oocysten der Coccidien-Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 aus verschiedenen Wirten bei experimentaler Invasion

| Passage — Wirt | Grösse der Oocysten | Durchschnitt | Vorherrschende Form |
|--|----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| Ausgangswirt <i>Passer domesticus</i> | 0,0198—0,0143 × 0,0188—0,0232 mm | 0,0234 × 0,0232 mm | rund |
| I. Passage in <i>Chloris chloris</i> | 0,0198—0,0248 × 0,0192—0,0238 mm | 0,0232 × 0,0226 mm | rund |
| II. Passage in <i>Parus major</i> | 0,0172—0,0206 × 0,0168—0,0198 mm | 0,098 × 0,088 mm | subsphärisch |
| III. Passage in <i>Fringilla montifringilla</i> | 0,0274—0,0336 × 0,0268—0,0324 mm | 0,0298 × 0,0296 mm | rund oder schwach subsphärisch |
| IV. Passage in <i>Turdus merula</i> | 0,0144—0,0212 × 0,0144—0,0198 mm | 0,0186 × 0,0175 mm | subsphärisch oder schwach oval |
| V. Passage in <i>Sitta europaea</i> | 0,0162—0,0234 × 0,0144—0,0234 mm | 0,0193 × 0,0186 mm | oval, eiförmig oder unregelmässig |

Die weitere Passage der reifen Oocysten aus *Parus major* wurde am Bergfink (*Fringilla montifringilla*) durchgeführt, in dessen Fäkalien nach drei Tagen vorwiegend runde oder schwach subsphärische Oocysten in der Grösse von 0,0274 bis 0,0336 × 0,0268 bis 0,0324 mm festgestellt wurden, also wesentlich grössere als bei der Kohlmeise und den anderen Wirten. In den beiden letzten Passagen wurde eine Invasion bei der Schwarzamsel (*Turdus merula*) und bei der Spechtmeise (*Sitta europaea*) vorgenommen. Bei der Amsel wurden überwiegend subsphärische oder ovale, 0,0144 bis 0,0212 × 0,0144 bis 0,0198 mm grosse Oocysten gefunden. Bei der Meise erreichten die Oocysten eine Grösse von 0,0162 bis 0,234 × 0,0144 bis 0,0234 mm, wobei das Aussehen der Oocysten sehr veränderlich war und runde, ovale, eiförmige oder gänzlich asymmetrische Formen umfasste. Eine ähnliche Form der Oocysten konnte auch bei Meisen mit einer natürlichen Invasion festgestellt werden. Eine Versuchsübersicht bringt die Tafel II.

Unser Versuch bestätigte neuerlich, dass Form und Grösse der Oocysten von der Nahrungszusammensetzung abhängen. Auch hier zeigte sich, dass die Oocysten bei insektenfressenden Vogelarten kleiner sind als bei den pflanzenfressenden Arten. Ebenso unterscheidet sich die Form der Oocysten bei den meisten insektenfressenden Vögeln von jener bei den pflanzenfressenden; besonders auffallend ist dieser Unterschied bei dem typischsten Insektenfresser, bei der Spechtmeise. Interessant ist auch das Vorkommen von auffällig grossen Oocysten bei dem Fink *Fringilla montifringilla*. So grosse Oocysten bilden normalerweise bei der Art *Isospora lacazei* eine Ausnahme; ihre Grösse ist von den veränderten Bedingungen bewirkt, unter welchen der Wirt in der Gefangenschaft gehalten wurde, und wahrscheinlich ebenfalls auf den Nahrungseinfluss zurückzuführen. Wir konnten leider unsere Versuche nicht fortsetzen, da einige Vogelarten in der Gefangenschaft nur sehr schwer am Leben erhalten werden können.

Der Einfluss der Nahrung auf die Coccidieninvasion machte sich auch in einem weiteren Falle bemerkbar. Bei Beobachtung von Coccidiosen an Hühnervögeln stellten wir in den Fäkalien des Königsfasans (*Phasianus reevesi*) im Gehege Břeska bei Velké Popovice Oocysten der Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 fest. Dieser Befund überraschte deshalb, weil die Art *Isospora lacazei* Labbé bisher bei Fasanen nicht angeführt wurde. Ein weiteres Vorkommen dieser Parasiten bei Hühnervögeln stellten wir im Biologischen Institut der Tschsl. Akademie d. Wissenschaften in Prag fest. Bei Nachforschungen nach dem Ursprung dieser ungewöhnlichen Invasion ergab sich, dass Fasane und Hühner in einem nahen Kontakt mit Singvögeln standen, die zu einem hohen Prozentsatz mit der Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 infiziert waren. Bei den Fasanen im Gehege Břeska bildeten Amseln, bei den Hühnern im Biologischen Institut Sperlinge die Invasionsquelle. Genauer konnten wir den Invasionsverlauf bei den Hühnern in Prag beobachten, wo diese in einer Umzäunung auf dem Hof des Instituts gehalten wurden und Sperlinge freien Zutritt hatten. Bei Untersuchung von Sperlingen aus der Umgebung wurde festgestellt, dass 90 % stark von der Art *Isospora lacazei* Labbé, 1893 befallen waren. Sperlinge und Hühner befanden sich ständig in nahem Kontakt, die Sperlinge frassen ausschliesslich mit den Hühnern und verunreinigten mit ihrem Kot die Nahrung der Hühner. Die gleiche Nahrung wirkte sich im Verdauungstrakt der Sperlinge und Hühner so aus, dass bei beiden Vogelarten gleiche, für die Entwicklung der Parasiten günstige Bedingungen im Verdauungstrakt entstanden. Dieser Umstand ermöglichte zusammen mit dem ständigen Zustrom von Coccidienkeimen den Übergang des Parasiten auf einen bisher völlig ungewohnten Wirt.

Während eines Studienaufenthaltes in China im Sommer 1955 konnte diese Tatsache nochmals nachgeprüft werden. Bei Untersuchung von Hühnern in Peking und Lan-dschou konnte ich überall eine ziemlich starke Invasion der Art

Isoospora lacazei feststellen. An beiden Orten hatten Sperlinge, die gleichfalls von der Art *Isoospora lacazei* Labbé, 1893 befallen waren, freien Zutritt zu den Hühnern.

An Hand dieser Fälle kann von neuem die grosse Bedeutung der ökologischen Faktoren für Coccidieninvasionen gezeigt und auf die Notwendigkeit ihrer Beobachtung auch in der systematischen Arbeit verwiesen werden.

Diskussion

Die ganze Systematik der Coccidien stützt sich bisher nur auf die Morphologie der Oocysten und steht gänzlich unter dem Einfluss des phylogenetischen Determinismus. Die Vertreter der phylogenetischen Anschauung in der Parasitologie erhöhten den parallelen phylogenetischen Entwicklungsverlauf bei Parasiten und ihren Wirten zu dem einzig entscheidenden Faktor bei der Entstehung und Entwicklung parasitischer Arten. Auswirkungen dieser Anschauung waren und sind noch die Beschreibungen neuer Coccidien-Arten, die durchwegs auf Grund isolierter, oft zufälliger Befunde ohne Berücksichtigung weiterer ökologischer und biologischer Faktoren erfolgten. Bei Zusammenstellung dieser Arten galt allgemein die Regel, dass in verschiedenen Wirten verschiedene Coccidien-Arten vorhanden sein müssen. Dieser Grundsatz führte zu einer Menge von Beschreibungen neuer Arten, die, wenn ausser der Entwicklungsparallelität von Wirt und Parasiten auch andere Faktoren in Betracht gezogen werden, nicht als neue Arten gelten können. Die morphologischen Merkmale der Oocysten von Coccidien sind in bedeutendem Masse vom äusseren Milieu des Parasiten beeinflusst, d. i. von physikalischen und chemischen Bedingungen im Verdauungstrakt des Wirtsorganismus. Unter geeigneten ökologischen Bedingungen kann der Wechsel des Parasiten von einem Wirt auf einen zweiten, wenn auch völlig ungewohnten Wirt ermöglicht werden. Es müssen daher bei Beschreibung neuer Arten immer auch diese Faktoren berücksichtigt werden. Gleichzeitig sind die Möglichkeiten auszuschneiden, dass es sich um Arten handelt, die infolge dieser Faktoren auf einen anderen Wirt übergegangen sind oder unter dem Einfluss des neuen Milieus im neuen Wirt ihre morphologischen Eigenschaften verändert haben.

Zusammenfassung

In der Arbeit werden die Fragen der Spezifität und morphologischen Variabilität der Oocysten von Coccidien bei verschiedenen Wirten untersucht. Es wird festgestellt, dass einige Coccidien-Arten unter bestimmten ökologischen Bedingungen von einem Wirt auf einen anderen übergehen können, auch wenn beide Wirte phylogenetisch ziemlich weit voneinander entfernt sind. So können z. B. unter geeigneten Bedingungen Coccidien-Arten, die bei Schafen typisch sind, auf Rehe und Hirsche unter der Voraussetzung übergehen, dass zwischen den Schafen und diesen freilebenden Wiederkäuern ein enger Kontakt besteht. Auf ähnliche Weise kann die Art *Isoospora lacazei* Labbé, 1893 von Singvögeln auf Hühnervögel übergehen, wenn beide Gruppen in enger Berührung leben und sich von der gleichen Nahrung ernähren.

Es wurde ferner die Variabilität bei Oocysten der Art *Isoospora lacazei* im Verlauf einer künstlichen Invasion bei verschiedenen Wirten beobachtet und festgestellt, dass die Oocysten ihre Grösse unter dem Einfluss der Nahrung ändern, was gerade bei dieser Art zur Beschreibung von 7 weiteren Arten führte. Die neuen Arten bilden aber nur ökomorphe Erscheinungen bei verschiedenen Wirten und können daher nicht als selbständige Arten angesehen werden. In der Systematik der Coccidien müssen bei den Beschreibungen neuer Arten neben morphologischen Charakteri-

stiken immer auch ökologische Faktoren berücksichtigt werden (Möglichkeit des Übergangs der beschriebenen Art auf einen anderen Wirt, Einfluss der Nahrung auf Form und Grösse der Oocysten, Lebensweise des Wirts u. ähnl.).

Literatur

- Boughton, D. C.: Notes on Coccidiosis in Sparrows and Poultry, Poultry Sci., 8:184, 1929.
Boughton, D. C.: Avian Hosts of the Genus *Isospora* (Coccidia). Ohio Poultry Sci., 37:149, 1938.
Eichler, W.: Korrelationen in der Stammentwicklung von Wirten und Parasiten. Zschr. Parasitenk. 12:1, 1940.
Fuhrmann, O.: Die Cestoden der Vögel. Zool. Jahrb. Suppl. 10, 1908.
Fuhrmann, O.: Les ténies des oiseaux. Paris 1932.
Galli-Valerio, B.: Notes de parasitologie. Cbl. Bakter. I. Orig. 120:98, 1931.
Henry, D. P.: *Isospora buteonis* nov. sp. from the Hawk and Owl and Notes on *Isospora lacazei* (Labbé) in Birds. Univ. Calif. Publ. Zool. 37:291, 1932.
Ryšavý, B.: Spárkatá zvěř jako zdroj onemocnění ovcí. Ekologické podmínky vzájemné výměny cizopasníků ovcí a spárkaté zvěře. Zool. a entomol. listy 2:138, 1953.
Ryšavý, B.: Příspěvek k poznání kokciidií našich i dovezených obratlovců. Čs. parasitologie 1:131, 1954.
Ryšavý, B., Michálek, J. und Fiedler, V.: Zur Frage der Möglichkeit einer Adaptation des in Gänsen parasitierenden Wurmes *Amidostomum anseris* (Zeder, 1800), Railliet und Henry, 1909 an Wirtsvögel anderer Ordnungen. Fol. biol. (Praha) 1:276, 1955.
Догель, В. А.: Курс общей паразитологии. Ленинград 1947.
Марков, Г. С.: Против антидарвинистических теорий в паразитологии. Усп. совр. биол. 26:269, 1948.

К вопросу специфичности и изменчивости кокцидий у различных хозяев

Б. РЫШАВЫЙ

Резюме

В работе исследовались вопросы специфичности и морфологической изменчивости ооцист кокцидий у различных видов хозяев. Было установлено, что некоторые виды кокцидий при известных экологических условиях переходят с одного хозяина на другого, даже филогенетически довольно отдаленного, напр., типичные овечьи виды кокцидий переходят на оленей и косуль, — при условии тесного (хотя бы и временного) контакта между овцами и этими дикоживущими жвачными. У вида *Eimeria intricata* Spiegl, 1925 наблюдаются при этом морфологические изменения ооцист. Равным образом вид *Isospora lacazei* Labbé, 1893 может с певчих птиц перейти на куриных, напр., с воробьев (*Passer passer* L.) и черных дроздов (*Turdus merula* L.) на цыплят. Но и здесь необходимым условием является тесный контакт. Вид *Isospora lacazei* был найден также у фазанов (*Phasianus reevesi*). У вида *Isospora lacazei* изучалась также изменчивость ооцист в течение искусственной инвазии у различных хозяев. Эта кокцидия, полученная от воробьев, прошла последовательными пассажами через зеленушку обыкновенную (*Chloris chloris*), большую синицу (*Parus maior*), вьюрка (*Fringilla montifringilla*), черного дрозда (*Turdus merula*) и северного поползня (*Sitta europaea*). Было установлено, что форма и размеры ооцист у отдельных хозяев меняются, что у хозяев преимущественно насекомоядных размеры ооцист бывают в среднем меньше. У поползня были отмечены цисты совершенно неправильной формы. Здесь очевидно влияние пищи хозяина на морфологию ооцист. У вида *Isospora lacazei* оно проявляется очень заметно, что привело к описанию 7 различных видов рода *Isospora* у птиц. Однако их можно расценивать только как экоморфы у различных хозяев, а не как самостоятельные виды.

FOLIA BIOLOGICA

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Proteolytic Enzymes of *Streptomyces griseus*. II.

The Influence of the Nature and Concentration of Nitrogen on the Secretion of Protease

J. CHALOUPKA

Institute of Biology of the Czechoslovak Academy of Science, Department of Microbiology, Praha

Received January 24, 1956

The problem of the influence of the composition of the nutrient medium, and chiefly of the nature and concentration of its nitrogen component, on the secretion of microbial proteases, is still obscure. Sporulating bacteria form proteases mainly in the presence of high concentrations of nitrogen (Hoogerheide and Lanhery 1951, Imskyšeneckij and Kasatkina 1954), and anaerobic clostridia even require protein that has not been broken down (Mantejfel 1941). Fungi form proteases only on organically bound nitrogen, Actinomycetes form them also on nitrates and ammonium salts (Dion 1950). A high concentration of nitrogen in the medium, which some authors consider to be essential for the formation and secretion of proteases, is not an advantage according to others (Güntelberg 1954). According to some research workers, the presence of a sugar component in the medium slows down the formation of proteases by the sporulating micro-organisms (Hoogerheide and Lanhery 1951), according to others it only slows down secretion (Chopra 1945), while according to others yet again it is necessary (Fukumoto and Yamamoto 1952, Dion 1950). In the present work a study was made of the conditions—particularly the influence of nitrogen nutrients—under which secretion of the enzyme into the medium takes place.

Methods and Material

Culture. The work was carried out with the industrial strain of *Streptomyces griseus*. Cultures (fifth generation) maintained on potato agar slants in a refrigerator were used.

Nutrient Media. The Actinomycetes were cultured on a Waksman medium (WB), containing peptone and glucose, which varied in proportion in the individual experiments.

The source of the nitrogen was peptone, ammonium phosphate, gelatine, enzymatic hydrolysates of gelatine and amino acids produced by the hydrolysis of the enzymatic hydrolysate of gelatine by sulphuric acid.

Analytical Methods. Proteolytic activity was determined by the method of Anson (Anson 1938) on a casein substrate in the manner described in a previous communication (Chaloupka 1955a). An attempt to demonstrate the presence of the enzymogen in the fluid medium was not successful (Chaloupka 1955b). The activity measured may therefore be regarded as being directly proportional to the concentration of protease, if the determination is carried out at the pH optimal for the activity of the enzyme and as long as the activity of the specimens investigated does not, after appropriate dilution, exceed the value of $7-8 \cdot 10^{-3}$ milliequivalents of tyrosine (Chaloupka 1955a).

Dry weight was determined in 5.0 ml. of culture fluid. After centrifuging, the mycelia were washed with water and dried for 48 hours at 105° C. In some experiments, instead of determining the dry weight, the protein content was determined, using the method of Stickland (1951).

Working Methods. The experimental media, prepared by modifying the individual components of the Waksman medium (WB) were poured in amounts of 100 ml. into 500 ml. Sial flasks. These were then sterilized twice at 115° C. In all experiments, every variant of the nutrient medium was always prepared in two parallel flasks.

The flasks were inoculated with spores or with a 48-hour-old-vegetative inoculum grown in WB-medium in shake culture. In practice, the results were the same. After inoculation, the flasks were incubated on a shaker (96 deflections/min., length 9.8 cms.) at 26—27° C.

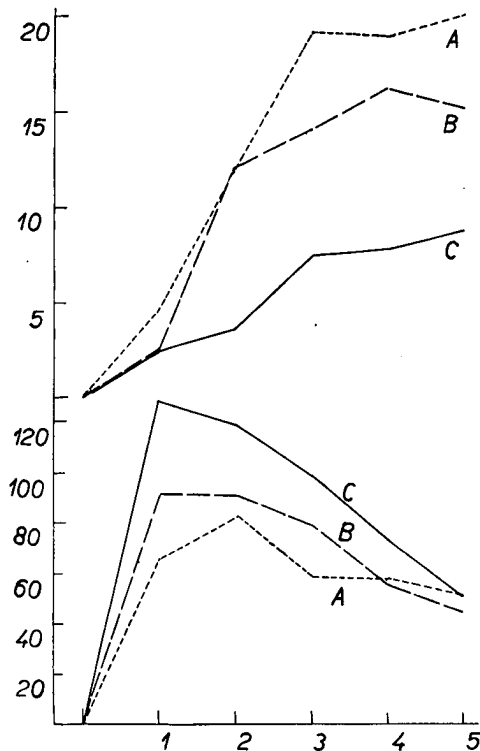
At 24-hour intervals 6—7 ml. nutrient medium was collected. Dry weight (or protein) was determined in 5.0 ml.; 2.0 ml. supernatant fluid was diluted with a borate buffer solution of pH 8.3 and proteolytic activity was determined. In the residue of the supernatant fluid pH was determined.

The values of proteolytic activity are the average of four determinations, the values of dry weight and protein are the average of two specimens.

The results represent typical values from a series of reproduced experiments.

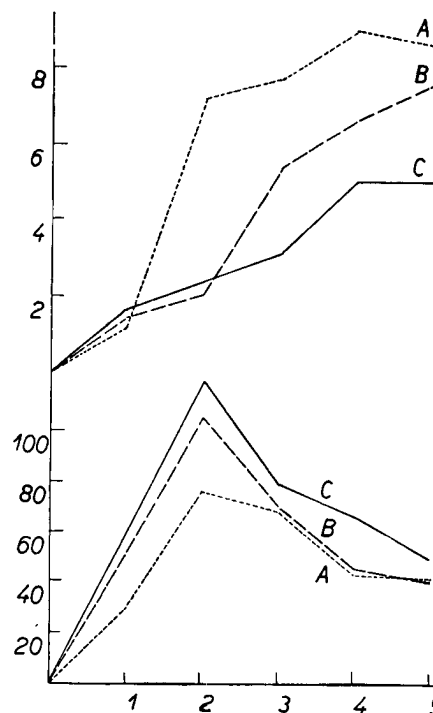
Results

The first experiments were carried out on peptone media with a concentration of peptone from 0.2% to 2.0%. In all the experiments, the highest proteolytic activity was found in media with a low nitrogen content; it was always lowest on media with 2% peptone, even though on these media growth was greatest. The results of a typical experiment are shown in graph 1.



Graph 1. Influence of Concentration of Peptone on Secretion of Protease. % of peptone: A = 0.5, B = 1.0, C = 2.0. Concentration of glucose = 1.5%.

x axis: days of culturing, y axis: below — dry weight in mg./10 ml. culture fluid, above proteolytic activity in a. 10^{-3} milliequ. of tyrosine/ 1.0 ml. culture fluid.



Graph 2. Influence of Concentration of Gelatine Hydrolysate on Secretion of Protease. % of hydrolysate: A = 0.5, B = 1.0, C = 2.0. Concentration of glucose = 1.5%.

Low activity on media with a high concentration of peptone may be due to inhibition of the enzyme by some inhibitor, to more rapid inactivation or to a decrease in secretion of the enzyme. The presence of substances reducing proteolytic

activity was not demonstrated either in the peptone or the gelatine culture media, either at the commencement of culturing or at the end. Nor was the second possibility confirmed; the increase in the activity of the enzyme was 2—4 times greater on a low concentration of N, the stability of protease, however, was only 1.2 to 1.5 times greater.

On media with a low content of nitrogen, therefore, greater secretion of protease probably occurs.

An attempt was further made to ascertain whether increased secretion of the enzyme in media with a low content on nitrogen could be explained as a Gale compensation reaction, in view of the unfavourable pH (Gale and Epps 1942, Gale 1952). When the Actinomycete was grown on a medium with 1.5% glucose and 0.2—0.5% peptone, there was a considerable decrease in pH in the first two days, even to as low as below 6.0. Since the optimal pH of protease is alkaline (7.5—8.6) its "actual" activity in the medium was lower than its "absolute" activity at optimal pH. The possibility of a compensation reaction was therefore investigated for the experiment in hand; tab. 1 shows proteolytic activity from the experiment depicted in graph 1, giving both the "absolute" value, i.e. at optimal pH, and also the "actual" value, i.e. the activity shown by the enzyme when determinations were made at the actual pH of the culture fluid.

Table 1 makes it clear that increased secretion of protease in a medium with a low content of peptone cannot be interpreted as being due to a compensation reaction to pH. Even the "actual" proteolytic activity was highest on media which were poor in nitrogen.

In the further work an investigation was made as to whether the relationship ascertained also applied if other sources of nitrogen were used. Enzymatic hydrolysate of gelatine, gelatine (containing 0.025% hydrolysate of gelatine as the initial source of nitrogen) and inorganic bound nitrogen— $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ —were used. In all

Table 1. % peptone

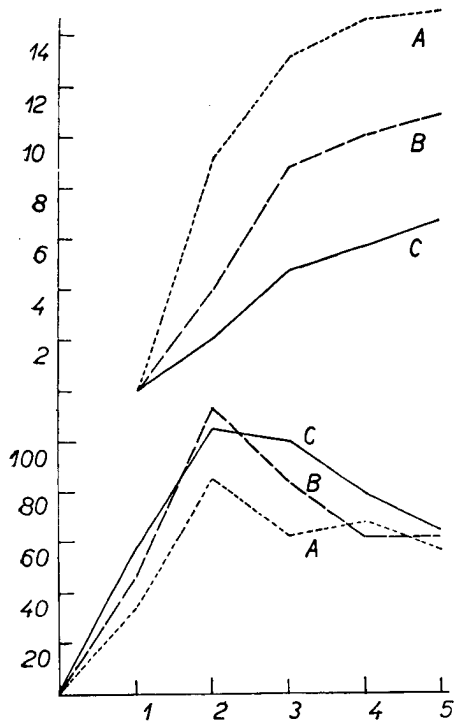
| Day | 0.5 | | 1.0 | | 2.0 | |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | actual activity | absol. activity | actual activity | absol. activity | actual activity | absol. activity |
| 1 | 31.5 | 45.3 | 22.9 | 26.1 | 22.5 | 22.5 |
| 2 | 81.9 | 116.5 | 88.3 | 118.5 | 30.6 | 33.5 |
| 3 | 171.9 | 191.0 | 132.8 | 132.8 | 72.8 | 72.8 |
| 4 | 184.3 | 184.3 | 154.0 | 154.0 | 74.1 | 74.1 |
| 5 | 200.0 | 200.0 | 144.5 | 144.5 | 87.0 | 87.0 |

Table 2.

| % | P/PR | P/DW | GH/DW | G/DW | GL/DW | GL/DW |
|-----|------|------|-------|------|-------|-------|
| 0.2 | 4.40 | | | | | |
| 0.5 | 2.19 | 2.40 | 1.17 | 1.75 | 1.76 | 0.57 |
| 1.0 | 1.73 | 1.72 | 0.72 | 0.96 | 2.26 | 1.18 |
| 2.0 | 1.18 | 0.68 | 0.42 | 0.65 | 1.88 | 1.45 |

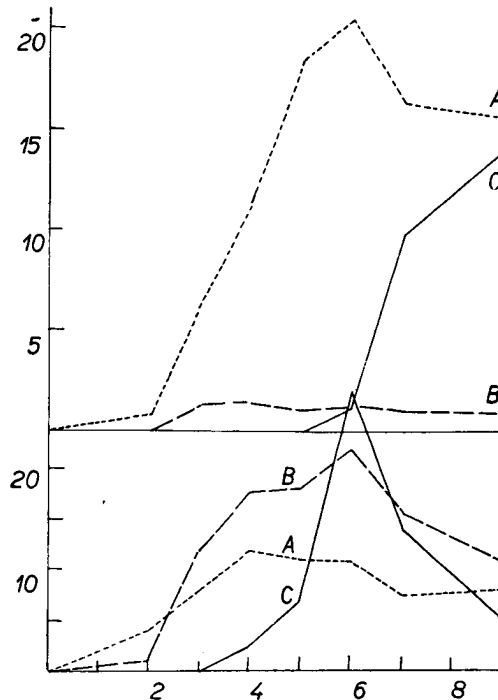
P = peptone, GH = gelatine hydrolysate, G = gelatine, GL = glucose, PR = protein, DW = dry weight.

the experiments streptomycetes secreted most protease on media with a low concentration of the source of nitrogen, as shown in graphs 2, 3 and 4. The relatively lowest secretion of protease was obtained on media with gelatine and hydrolysate of



Graph 3. Influence of Concentration of Gelatine on Secretion of Protease. % of gelatine: A = 0.5, B = 1.0, C = 2.0. Concentration of glucose = 1.5%.

x axis: days of culturing, y axis: below — dry weight in mg./10 ml. culture fluid above. — proteolytic activity in a. 10^{-3} milliequ. of tyrosine/1.0 ml. culture fluid.



Graph 4. Influence of Concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ on Secretion of Protease. % of ammonium phosphate: A = 0.15, B = 0.6, C = 1.5. Concentration of glucose = 1.5%.

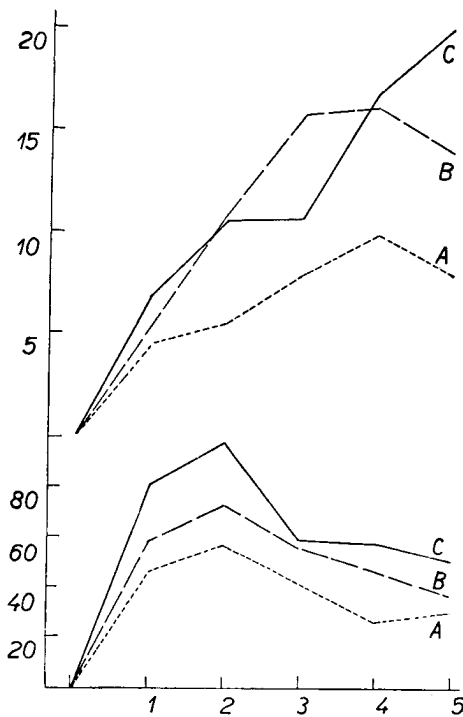
gelatine, where quite considerable submerged sporulation also took place, in contrast to the peptone media, on which fragmentation and autolysis of the mycelia took place.

It was confirmed experimentally that the lower values of proteolytic activity measured on gelatine media are not caused by the presence of the gelatine as a further substrate competing with the casein for the enzyme.

Further experiments were carried out to ascertain whether secretion of protease occurs as a result of nitrogen deficiency, or whether it is due to the exhaustion of any of the supplies of nutrients, the concentration of which has become critical. The concentration of glucose was therefore changed in the same way as the source of nitrogen was changed in the preceding experiments. The result of one of these experiments is shown in graph 5. In these experiments, the over-all picture was the reverse of that in the previous experiments. The greatest secretion of protease occurred in the medium with the highest concentration of glucose; here also the greatest growth was found. This is shown even more clearly in table 2, in which the results of several experiments are compared. Maximal activity of the enzyme

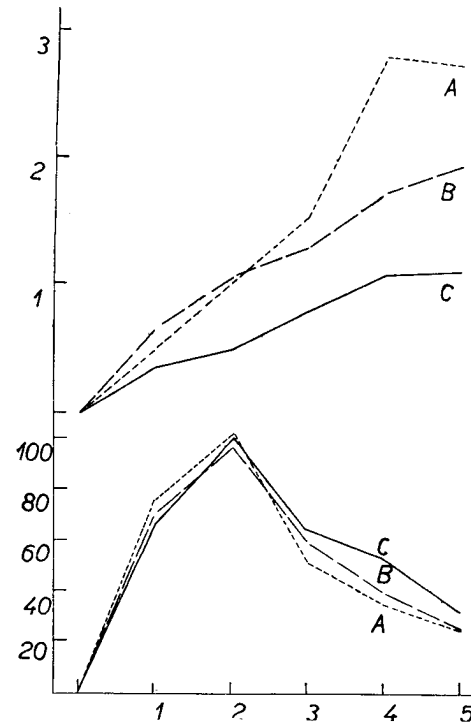
reached in the experiment was divided by the maximal dry weight (or amount of protein) and in this way a picture of the connection between the size of the secretion and the growth of the culture was obtained.

The experiments must therefore be evaluated as showing that a specific reaction of the organism takes place on a medium with a poor supply of nitrogen, which is manifested in increased secretion of protease.



Graph 5. Influence of Concentration of Glucose on Secretion of Protease. % of glucose: A = 0.5, B = 1.0, C = 2.0. Concentration of peptone = 1 %, proteolytic activity in a. 10^{-3} milliequ.

x axis: days of culturing, y axis: below — dry weight in mg./10 ml. culture fluid, above — proteolytic activity in milliequ. of tyrosine/1.0 ml. culture fluid.



Graph 6. Influence of Gelatine Grafts of Various Lengths on Secretion of Protease. A = short grafts, B = long grafts, C = protein, proteolytic activity in a. 10^{-2} milliequ.

In the final part of the work, the influence of the nature of the source of nitrogen (protein, peptides, amino acids) on the growth and secretion of protease was ascertained.

In the course of culturing, the largest secretion of protease took place in a medium with amino acids, secretion in a medium with peptides was smaller, while the smallest secretion occurred in a medium with protein (gelatine, graph 6). This order was confirmed repeatedly. The growth of the culture and the course of pH were approximately the same in all cases; only in the medium with gelatine the fall in dry weight was somewhat slower. The microscopic picture, however, was completely different. In the course of culturing on the medium with gelatine, tremendous submerged sporulation took place as early as on the second day, on the medium with enzymatic hydrolysate of gelatine sporulation was smaller, while on the medium with acid hydrolysate sporulation did not occur at all, but fragmentation and autolysis of the mycelium took place (v. photograph).

Summary

According to the results of our experiments, the secretion of protease is primarily dependent on, or influenced by, the following two factors: 1. An insufficient supply of nitrogen. 2. The second group of factors is less clearly definable. It may be said, however, that certain conditions or factors which accelerate or induce autolysis increase secretion of the enzyme.

A deficiency in the supply of nitrogen or a disproportion of $C > N$ is manifested in the secretion of a large amount of protease, the level of which in the culture fluid exceeds the level of the enzyme in media rich in nitrogen, not only relatively (i. e., in proportion to the amount of dry weight), but also, in the majority of cases, absolutely. This applies in the case of all sources of nitrogen studied by us—peptone, gelatine, enzymatic hydrolysate of gelatine and ammonium phosphate. Secretion takes place on nitrogen-deficient media even at acid pH, during the growth of the culture; on rich media—chiefly at the time of autolysis of the mycelium and at an alkaline pH.

Increased secretion of protease on media poor in nitrogen is perhaps the specific reaction of the organism to a low concentration in the supply of nitrogen. This property may be of great significance for micro-organisms such as sporulating bacilli and Actinomycetes, which participate actively in the breaking-down of residual protein in nature. The secretion of protease in the presence of an insufficiency of free amino acids and peptides could result in the breaking down of waste protein which may be present and in an increase in the inflow of assimilable nitrogen nutrients. This would permit the growth of these micro-organisms.

The secretion of protease by *Streptomyces griseus* can also be induced or increased by substances or conditions which accelerate autolysis. This is evident from experiments in which the influence of gelatine peptides of various lengths on secretion of the enzyme was studied. The smallest secretion of the enzyme repeatedly took place in the presence of protein and the largest in the presence of amino acids. The lowest level of the enzyme in the environment was accompanied by submerged sporulation, the highest level by autolysis of the mycelium.

(Plates XIII, XIV)

Literature

- A n s o n, M. L.: Estimation of Pepsin, Trypsin, Papain and Cathepsin with Hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 22 : 79, 1938.
- D i o n, W. M.: The Proteolytic Enzymes of Microorganisms. II. Factors Affecting the Production of Proteases in Submerged Culture. *Can. J. Research* 28C : 586, 1950.
- F u k u m o t o, J., Y a m a m o t o, T.: Mechanism of Protease Production by Bacteria and Crystallisation of Bacterial Protease. *Symp. on Enzyme Chem. (Japan)* 7, 8, 1952. *C. A.* 46 : 8160 f.
- G a l e, E. F.: The Chemical Activities of Bacteria. New York 1952.
- G a l e, E. F.; E p p s, J.: *Biochem. J.* 36 : 609, 1942. Cited by Gale 1952.
- G ü n t e l b e r g, A. V.: Method for the Production of the Plackalbumin-forming proteinase from *Bacillus subtilis*. *Compt. rend. trav. Lab. Carlsberg, Sér. Chim.* 29 : 27, 1954.
- H o o g e r h e i d e, J. C., L a n g h e r y, J. C.: Enzymes. U. S. Patent 2, 549, 465, Apr. 17, 1951. *C. A.* 5238 h.
- C h a l o u p k a, J.: Proteolytické enzymy aktinomycety *Streptomyces griseus*. *Čs. biologie* 4 : 206, 1955a.
- C h a l o u p k a, J.: Tvorba a vylučování proteasy aktinomycetou *Streptomyces griseus*. *Disertační práce*, Praha 1955b.
- C h o p r a, N. N.: Carbohydrates and Microbial Proteinases. *Proc. Ind. Acad. Sci.* 22B, 323, 1945. *C. A.* 40, 3497³.
- S t i c k l a n d, L. H.: The Determination of Small Quantities of Bacteria by Means of the Biuret Reaction. *J. Gen. Microbiol.* 5 : 698, 1951.
- W a k s m a n, S. A.: *The Actinomycetes*. Waltham 1950.

- И м ш е н е ц к и й, А. А., К а с а т к и н а, И. Д.: Активность гидролитических ферментов и изменчивость *Bac. mesentericus*. Микробиология 23 : 649, 1954.
- М а н т е й ф е л ь, А. Я.: Autolysis of *Acetobutyl Bacteria*. Микробиология 10 : 273, 1941. С. А. 37, 2409^о.
- Х а л о у п к а, Ю.: Протеолитические энзимы актиномицета *Streptomyces griseus*. *Fol. Biol. (Praha)* 1 : 144, 1955.

Протеолитические энзимы актиномицета *Streptomyces griseus*

II. Влияние характера и концентрации азота на выделение протеазы

Ю. ХАЛОУПКА

Резюме

Мы изучали влияние культивационной среды на выделение протеазы у актиномицета *Streptomyces griseus*. Судя по результатам наших опытов, выделение энзима обуславливается, или по крайней мере зависит, прежде всего от следующих двух факторов:

1. во-первых, от недостатка источника азота;

2. вторая группа факторов менее определена. Однако можно сказать, что при известных условиях факторы, которые вызывают или ускоряют автолиз, усиливают и выделение энзима.

Недостаток источника азота или диспропорция $C > N$ проявляется выделением большого количества протеазы, уровень которой в культивационной жидкости превышает уровень энзима в богатых азотом средах не только относительно (т. е. в пересчете на количество сухого вещества), но в большинстве случаев и абсолютно. Эта закономерность распространяется на все изучавшиеся нами источники азота: пептон, желатин, энзиматический гидролизат желатина и фосфорнокислый аммоний. В бедных азотом средах выделение происходит и при кислом рН в течение роста культуры, а в богатых азотом средах — прежде всего в период автолиза мицелия и при алкалическом рН.

Повышенная продукция протеазы в бедных азотом средах представляет, вероятно, специфическую реакцию организма на низкую концентрацию источника азота. Эта способность может иметь большое значение для таких организмов, как спорообразующие бациллы и актиномицеты, принимающие активное участие в разложении белковых остатков в природе. При недостатке свободных аминокислот или пептидов, в результате выделения протеазы могут подвергаться разложению попадающиеся в среде отходы белков и этим повышаться приток ассимилируемых азотных питательных веществ, что делает возможным рост и размножение микроорганизмов.

Выделение протеазы актиномицетами *S. griseus* может вызываться или усиливаться также под действием веществ или условий, ускоряющих автолиз. Это вытекает из результатов опытов, при которых мы исследовали влияние на выделение энзима продуктов расщепления гидролизатов желатина с различной длиной молекулы: наименьшее выделение энзима наблюдалось опять-таки в присутствии белков, а наибольшее — в присутствии аминокислот. Спорообразование при глубокой культивации соответствовало наиболее низкому уровню энзима в среде, а автолиз мицелия — наиболее высокому.

(Табл. XIII, XIV)

FOLIA BIOLOGICA

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Титрация вируса гриппа в тканевых культурах

Я. САНТО

Вирусологический институт ЧСАН, Братислава

Поступило в редакцию 19 I 1956

Факт размножения вируса гриппа в тканевых культурах может быть доказан или путем титрации инфекционного материала из культур на развивающихся куриных зародышах или на чувствительных животных, — или же путем реакции гемагглютинации. Для исследования путем гемагглютинации мы прибавляем эритроциты к вирусу, вымытому из ткани, к аллантоической или амниотической жидкости, или же к культивационной среде. Последний способ несложен и удобен в качестве контроля степени размножения вируса. Мы избрали эту гемагглютинационную пробу для определений титра вируса в тканевых культурах. Результаты приводятся в настоящей статье.

Материал и методы

Для опытов мы пользовались вирусом гриппа типа А, штамм PR8, адаптированным на аллантоис куриного зародыша. Тканевые культуры хорионаллантоисных оболочек 10—16-дневных куриных зародышей мы закладывали в колбы Эрленмайера и вращающиеся пробирки.

Взвешенные тканевые культуры в колбах Эрленмайера. Хорионаллантоисные оболочки прополаскивались в нескольких физиологических растворах и разрезались на мелкие кусочки. В каждую колбу Эрленмайера, ёмкостью в 25—30 мл, мы накапывали по 3—5 капель приблизительно 50 % взвеси ткани и 3 мл питательной смеси, состоявшей из 3 частей раствора Hanks-a и одной части лошадиной сыворотки.

Мы делали ряд десятикратных разведений зараженной аллантоисной жидкости в растворе Hanks-a и от каждого разведения прибавляли всегда по 0,1 мл в 4 колбы. 4—6-дневная инкубация производилась при 35° Ц.

Тканевые культуры во вращающихся пробирках. Мы размазывали 3—5 капель плазмы петуха по нижней трети внутренней стенки пробирки и клали в пробирку приблизительно 30 кусочков разрезанной хорионаллантоисной оболочки. Жидкая питательная среда состояла из 1,5 мл раствора Сеу-я. Зараженная аллантоисная жидкость при каждом разведении прибавлялась в количестве 0,1 мл на 1 пробирку. (Она разводилась раствором Сеу-я.) Для каждого разведения мы ставили опыт в 4 пробирках. Инкубация во вращающемся барабане при 36° Ц продолжалась 72 часа.

Титрация вируса на куриных зародышах. Титрацию зараженной аллантоисной жидкости, которой мы пользовались для опытов с тканевыми культурами, мы производили также на яйцах. Для каждого разведения мы брали по 4 яйца. Вирус впрыскивался в аллантоис в количестве 0,1 мл (от каждого разведения зараженной аллантоисной жидкости). 48-часовая инкубация производилась при 35,5° Ц.

Доказательство размножения вируса. К 0,5 мл культивационной или аллантоисной жидкости мы прибавляли 0,5 мл 0,5 % взвеси эритроцитов петуха. Инфекционный титр вируса вычислялся по Reed-Muench-у (Блашкович с сотрудниками 1954).

Результаты

Титрация вируса гриппа во взвешенных тканевых культурах в колбах Эрленмайера. Мы производили одновременно титрацию вируса гриппа в тканевых культурах и на яйцах. Для каждого разведения бралось по 4 культуры или по 4 яйца. Для культивации брались хорион-

аллантоисные оболочки 10—11 -дневных куриных зародышей. Вирус гриппа прибавлялся в количестве 0,1 мл от каждого разведения зараженной аллантоисной жидкости. Такое же количество вируса прививалось куриным зародышам. Культуры инкубировались в течение 5 дней, яйца — в течение 48 час. При одном опыте инфекционный титр вируса, определявшийся с помощью тканевых культур, был $10^{-5,50}$, при другом — $10^{-4,50}$. Путем титрации инфекционной аллантоисной жидкости на куриных зародышах были получены инфекционные титры вируса $10^{-7,0}$ и $10^{-6,45}$ (таб. 1).

Таб. 1. Инфекционные титры вируса гриппа при титрации во взвешенных тканевых культурах и на развивающихся куриных зародышах

| | I опыт | II опыт |
|--|--------------|--------------|
| Возраст хорионаллантоисных оболочек в тканевых культурах | 10 дней | 11 дней |
| Возраст куриных зародышей во время титрации | 10 дней | 11 дней |
| Количество привитого заразного начала | 0,1 мл | 0,1 мл |
| Продолжительность инкубации привитых куриных зародышей | 48 час. | 48 час. |
| Продолжительность инкубации зараженных тканевых культур | 5 дней | 5 дней |
| Инфекционный титр на куриных зародышах | $10^{-7,0}$ | $10^{-6,45}$ |
| Инфекционный титр в тканевых культурах | $10^{-5,50}$ | $10^{-4,50}$ |

В тканевых культурах нами был получен несколько более низкий инфекционный титр вируса, чем при титрации на яйцах. Гемагглютинация в культивационной жидкости достаточно выразительна, и результаты ее вполне поддаются учету. Количества яиц и тканевых культур, в которых были найдены гемагглютинины, приводятся в таб. 2.

Несмотря на то, что инфекционный титр вируса при титрации во взвешенных тканевых культурах бывает ниже, чем при титрации на яйцах, этот метод обладает некоторыми преимуществами.

Таб. 2. В числителе: количество положительных результатов из общего числа прививок. В знаменателе: количество прививок для каждого разведения. Первый столбец: результаты на куриных зародышах; второй столбец: результаты титрации на тканевых культурах.

| Разведение вируса | Куриные зародыши | Тканевые культуры |
|-------------------|------------------|-------------------|
| 10^{-1} | 3/4 | 4/4 |
| 10^{-2} | 3/4 | 4/4 |
| 10^{-3} | 4/4 | 4/4 |
| 10^{-4} | 3/4 | 4/4 |
| 10^{-5} | 3/4 | 0/4 |
| 10^{-6} | 3/4 | 0/4 |
| 10^{-7} | 3/4 | 0/4 |
| 10^{-8} | 1/4 | 0/4 |
| 10^{-9} | 0/4 | 0/4 |
| Инфекционный титр | $10^{-6,45}$ | $10^{-4,50}$ |

Техника культивации взвешенных тканевых культур очень проста, а инкубация зараженных культур в колбах Эрленмайера не требует специального инкубатора. На титрацию вируса в тканевых культурах расходуется мало материала: из 3 хорионаллантоисных оболочек можно поставить опыт с 32 культурами.

Титрация вируса гриппа в тканевых культурах во вращающихся пробирках. Для сравнения мы производили титрацию вирусов гриппа в тканевых культурах во вращающихся пробирках. Результаты титрации по этому методу и на яйцах приводятся в таб. 3.

Для титрации вируса гриппа в тканевых культурах во вращающихся пробирках мы пользовались хорионаллантоисными оболочками 10—16-дневных куриных зародышей, так как в этом возрасте они пригодны для титрации вируса в культурах.

Во вращающихся пробирках вирус гриппа обладал более высокими инфекционными титрами, чем во взвешенных культурах. Для точного определения разницы между ними мы производили одновременно титрацию одной и той же аллантоисной жидкости в обоих видах тканевых культур. Во вращающихся пробирках инфекционный титр вируса был $10^{-6,50}$, а во взвешенных культурах $10^{-5,50}$. При другом опыте титрация по первому методу дала инфекционный титр вируса $10^{-7,0}$, а по второму методу $10^{-5,50}$.

Таб. 3. Инфекционные титры вируса гриппа при титрации в тканевых культурах во вращающихся пробирках и на развивающихся куриных эмбрионах

| | I опыт | II опыт |
|--|--------------|--------------|
| Возраст хорионаллантоисных оболочек в тканевых культурах | 13 дней | 10 дней |
| Возраст куриных зародышей во время титрации | 12 дней | 10 дней |
| Количество привитого заразного начала | 0,1 мл | 0,1 мл |
| Продолжительность инкубации привитых куриных зародышей | 48 час. | 48 час. |
| Продолжительность инкубации зараженных тканевых культур | 72 часа | 72 часа |
| Инфекционный титр на куриных зародышах | $10^{-8,39}$ | $10^{-8,16}$ |
| Инфекционный титр в тканевых культурах | $10^{-6,20}$ | $10^{-6,33}$ |

Однако разница между инфекционными титрами при определении с помощью тканевых культур во вращающихся пробирках и с помощью яиц, бывала очень непостоянна: мы получили различные инфекционные титры вируса во вращающихся пробирках даже при титрации одной и той же аллантоисной жидкости.

В общем, инфекционные титры вируса гриппа в тканевых культурах во вращающихся пробирках бывают всегда выше, чем во взвешенных тканевых культурах.

Дискуссия

Факт размножения вируса гриппа в тканевых культурах нетрудно доказать с помощью реакции гемагглютинации с жидкой фазой культур. Этим методом пользовались впервые Weller и Enders (1948) для доказательства размножения в тканевых культурах вируса гриппа и эпидемического паротита. Гемагглютинины можно найти в тканевых культурах хорионаллантоисных оболочек и всех тканей куриного зародыша. Гемагглютинационные титры, получаемые во всех видах тканевых культур, оказываются низкими в сравнении с гемагглютинационными титрами того же вируса гриппа в аллантоисной жидкости (Санто 1955).

Гемагглютинационную способность жидкой фазы тканевых культур, зараженных вирусом гриппа, можно использовать для титрации этого вируса в тканевых культурах. При титрации вируса гриппа во взвешенных тканевых культурах получается более низкий инфекционный титр, чем при титрации на куриных зародышах. Эти наши результаты находят подтверждение и в опытах Gajdusek-a (1953), который тоже получал более низкие инфекционные титры вируса гриппа при титрации во взвешенных культурах, чем на яйцах. Wunder и др. (1954) производили титрацию вируса гриппа в тканевых культурах, состоявших из одного куса хорионаллантоисной оболочки. Одну хорионаллантоисную оболочку они разделяли на 16 культур в пробирках, которые не вращались. При титрации в этих культурах вирус обладал более низким инфекционным титром, чем на куриных зародышах.

Степень размножения вируса гриппа во взвешенных тканевых культурах зависит от количества ткани: при небольшом количестве клеток вирус не размножается, при слишком большом количестве ткани вирус тоже плохо размножается (Magill и Francis 1936). Womack и Kass (1953) установили, что размножение вируса гриппа во взвешенных тканевых культурах зависит от количества ткани и от количества посеянного заразного начала. Witt и др. (1954) не добились размножения вируса гриппа, используя влажную ткань весом в 10 мг. В тка-

негой культуре влажной хорионаллантоисной оболочки весом от 100 до 250 мг вирус размножается приблизительно в одинаковой мере.

После прививки в аллантоис куриного зародыша вирус гриппа размножается в энтодермальных клетках аллантоисной оболочки. В тканевых культурах вирус гриппа может размножаться в клетках всех трех зародышевых листов хорионаллантоисной оболочки (Henle 1953). Tamm и Tyrrell (1954) установили, что и аллантоисная, и хорионная поверхности хорионаллантоисной оболочки адсорбируют и образуют одинаковое количество вируса гриппа.

Метод титрации вируса гриппа в тканевых культурах во вращающихся пробирках оказывается более чувствительным, чем метод титрации вируса во взвешенных тканевых культурах, но менее чувствительным, чем титрация на куриных зародышах. Снижение чувствительности может быть обусловлено тонким слоем плазмы, мешающей проникновению вирусных частиц в клетки, в особенности если вирус прибавляется к культуре в незначительном количестве. Тонкий слой плазмы может воспрепятствовать равномерному проникновению частиц вируса полиомиелита в клетки тканевых культур (Klöne 1954).

Для титрации вируса гриппа в тканевых культурах во вращающихся пробирках мы пользовались хорионаллантоисными оболочками 10—16-дневных куриных зародышей. Мы установили, что тканевые культуры оболочек этого возраста пригодны для титрации вируса гриппа. Наши наблюдения подтверждают результаты опытов Fulton-a и Armitage (цит. по Burr-у и др. 1954), которые отметили, что хорионаллантоисные оболочки 9—16-дневных куриных зародышей образуют одинаковое количество вируса. Burr и др. (1954) считают наиболее подходящими 9-дневные оболочки куриных зародышей, в которых образуется наибольшее количество вируса гриппа, тогда как с возрастом продукция вируса хорионаллантоисными оболочками падает.

Главное преимущество титрации вируса гриппа в тканевых культурах заключается в экономии материала. Нескольких хорионаллантоисных оболочек достаточно для большого количества тканевых культур. Техника закладывания взвеси тканей в колбы Эрленмайера для культивации необыкновенно проста. Культивация во вращающихся пробирках уже сложнее. Инкубация культур в колбах Эрленмайера может производиться в обыкновенном термостате и не требует специального инкубатора, как при титрации вируса на яйцах. Неудобство титрации вируса гриппа в тканевых культурах в том, что чувствительность этого метода меньше, так что инфекционные титры получаются при титрации вируса в тканевых культурах ниже, чем при титрации на яйцах.

Мы производили опыты с лабораторным штаммом PR8 вируса гриппа. Необходимо будет поставить опыты и со свежеизолированными штаммами, что увеличит практическое значение этих опытов. Результаты настоящей работы уточняют на модели штамма PR8 данные относительно биологических особенностей вируса гриппа и отношений между вирусом и клеткой.

Резюме

В работе приводятся результаты титрации вируса гриппа в тканевых культурах. Факт размножения вируса гриппа в тканевых культурах мы устанавливали путем наличия гемагглютининов в жидкой культивационной среде.

При титрации во взвешенных тканевых культурах вирус гриппа обладает более низким инфекционным титром, чем при титрации на развивающихся куриных зародышах. Более высокие титры были нами получены в тканевых культурах во вращающихся пробирках, но и эти инфекционные титры бывали ниже, чем при титрации на куриных зародышах.

Для титрации вируса гриппа в тканевых культурах во вращающихся пробирках мы пользовались хорионаллантоисными оболочками 10—16-дневных куриных зародышей.

Преимуществом титрации вируса гриппа в тканевых культурах является экономия материала.

Литература

- Burr, M. M., Campbell, M. E., Morgan, J. F., Nagler, F. P.: Studies on the Propagation of Influenza and Mumps Viruses in Tissue Culture with Chemically-defined Media. *Canad. J. Microbiol.* 1 : 158, 1954.
- Fulton, F., Armitage, P.: cit. Burr, M. M. et al.: *Canad. J. Microbiol.* 1:158, 1954.
- Gajdusek, D. C.: Suspended Cell Tissue Cultures for Study Virus Growth Kinetics. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)* 83 : 621, 1953.
- Henle, W.: Multiplication of Influenza Virus in the Entodermal Cells of the Allantois of the Chick Embryo. Cit. Smith, K. M., Lauffer, M. A.: *Advances in Virus Research*. New York 1953.
- Klönne, W.: Der Nachweis des Poliomyelitis Virus in Stuhlproben mittels der Gewebekultur. *Z. Hyg. Infektkr.* 140 : 58, 1954.
- Magill, T. P., Francis, T.: Studies with Human Influenza Virus Cultivated in Artificial Medium. *J. Exp. Med.* 63 : 803, 1936.
- Reed, L. J., Muench, H.: cit. Blaškovič, D. et al.: *Laboratorne metódy vo virológii*. Bratislava 1954.
- Szántó, J.: Dlhodobá kultivácia vírusu chrípky v tkaninových kultúrach v otáčavých skúmavkách. *Biológia* 10 : 584, 1955.
- Tamm, I., Tyrrell, D. A. J.: Influenza Virus Multiplication in the Chorionallantoic Membrane in vitro: Kinetic Aspects of Inhibition by 5,6-Dichloro-1- β -D-ribofuranosyl-benzimidazole. *J. Exp. Med.* 100 : 541, 1954.
- Weller, T. H., Enders, J. F.: Production of Hemagglutinin by Mumps and Influenza A Viruses in Suspended Cell Tissue Cultures. *Proc. Soc. Exp. Med.* 69 : 124, 1948.
- Womack, C. R., Kass, E. H.: Influenza Virus in Allantoic Sac Tissue Culture. Quantitative Studies on Nucleic Acid Content during Growth and in the Presence of Cortisone. *J. Immunol.* 71 : 152, 1953.
- Wunder, Ch. C., Brandon, F. B., Brinton, Ch. C.: Essay of Influenza Virus Infectivity with Chicken Embryonic Membranes. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)* 86 : 561, 1954-

Titration of the Influenza Virus in Tissue Cultures

J. SZÁNTÓ

Summary

The communication deals with results of titration of the influenza virus type A, strain PR 8, in tissue cultures of the chorio-allantoic membranes of chick embryos. Suspended tissue cultures in Erlenmeyer flasks and tissue cultures with plasma in roller tubes were used. Proliferation of the influenza virus in the tissue cultures was ascertained by the demonstration of haemagglutinins in the fluid environment of the cultures.

The influenza virus has a lower infection titre on titration in suspended tissue cultures than on titration in developing chick embryos. The infection titre of the virus, ascertained by means of tissue cultures, was $10^{-5.50}$ and $10^{-4.50}$, whereas on the eggs it was $10^{-7.0}$ and $10^{-6.45}$. Higher infection titre values were obtained by titration of the virus in tissue cultures in roller tubes, but the infection titres were lower than on titration of the virus in chick embryos. The infection titre of the virus ascertained by means of tissue cultures in roller tubes was $10^{-6.20}$ and $10^{-6.33}$, whereas on the eggs it was $10^{-8.39}$ and $10^{-8.16}$.

For titration of the influenza virus in the tissue cultures in roller tubes, chorio-allantoic membranes from 10—16-day-old chick embryos were used. The advantage of titration of the influenza virus in tissue cultures is the saving of material.

FOLIA BIOLOGICA

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Отдаленное половое скрещивание цесарки (*Numida meleagris* ♀)
с петухом (*Gallus domesticus* ♂)

М. ВОЙТИШКОВА и Б. КНИЖЕ

Биологический институт ЧСАН, экспериментальная биология и генетика, Прага

Поступило в редакцию 29 III 1956

Отдаленная гибридизация высших животных часто изучается у птиц, — повидимому, потому, что исходный опытный материал здесь сравнительно доступен, а также потому, что и при значительной систематической отдаленности здесь часто наблюдаются случаи спаривания. Кроме того здесь имеются методологические предпосылки для искусственного осеменения.

Из доступной нам литературы нам известны 3 автора, которые занимались скрещиванием цесарки с петухом. Так Guyer (1907) описал 5 гибридов, которых он не сам скрещивал, а приобрел уже взрослыми. Оба других автора (Marchlewski 1937 и Owen 1941) получили гибридов путем осеменения цесарок живчиками петуха и добились 11% и 8% оплодотворения и 0% и 6% выклёвываемости.

Экспериментальная часть и результаты

В период с мая по сентябрь 1955 г. 2 цесарки искусственно обсеменялись живчиками петухов породы леггорн. Спермии получались путем массажа, а инсеминация производилась с промежутками в 5—6 дней (Vigrows и Quinn 1939, Seiden 1947). Среднее количество эякулята бывало 0,43 мл. Снесенные яйца помещались 2 раза в неделю в столовый инкубатор (температура 39,5° Ц). Просвечивание производилось тоже 2 раза в неделю. Неоплодотворенные яйца и яйца с отмершими зародышами разбивались для макроскопического контроля зародыша. Оплодотворенными считались только яйца с развитым терминальным синусом. Яйца, зародышевый диск которых по форме напоминал раннюю стадию бластодиска, не считались оплодотворенными ввиду возможности девственного дробления (Kossin 1945, Shaklee, Knox 1954).

Мы получили в общем 96 яиц. Оплодотворенных было 20 (20%), вылупилось 3 цыпленка (15%). Остальных 17 зародышей погибло во время инкубации (таб. 1).

Таб. 1. Результаты искусственной инсеминации

| Количество обсемененных цесарок | Яйца | | Количество вылупившихся цыплят | Погибло во время инкубации | % оплодотворенных | % вылупившихся |
|---------------------------------|-------------|-----------------|--------------------------------|--|-------------------|----------------|
| | насижен-ные | оплодотворенные | | | | |
| 2 | 96 | 20 | 3 | 13 до 4—5-го дня 1 на 15-ый день 1 на 16—17-ый день 1 на 20—21-ый день 1 на 22-ой день | 20 | 15 |

Три вылупившихся цыпленка были почти совсем белые, только с отдельными черными пятнышками, особенно на спинке. Окраска ног была бледнооранжевая. По своей конституции эти цыплята приближались скорее к цесарке: у них было короткое туловище, маленькие глаза, короткий, загнутый клюв (рис. 1). Роговица левого глаза у одного из гибридов была непрозрачная. Этот гибрид был вялый, большей частью спал. У других 2 гибридов внешне не проявлялись никакие патологические изменения: они были живые, подвижные, питались сами. Вес у всех был нормальный (21—30 г.). Все гибриды погибли на 3—5-ый день после выхода из яйца.

Зародыши, погибшие в течение последних дней инкубации, отличались многочисленными мальформациями: отсутствие одного или обоих глазных яблок, различные уродства головы, микро- или макроцефалия, рудиментарная верхняя или нижняя челюсть, короткий, загнутый как у попугая клюв, скошенные челюсти, отеки, — в особенности шеи, — уродства грудной кости, диспропорции пальцев, в особенности среднего. Оперение, поскольку оно уже развилось, бывало белое с отдельными черными пятнышками на спинке.

Дискуссия

Наиболее выразительно наши результаты отличаются от результатов, полученных цитируемыми нами авторами, по сравнительной высоте процента оплодотворения и выклевываемости (таб. 2). Кроме того у нас иначе распределялась смертность в течение инкубации. У Owen-a (1941) и Marchlewski (1937) зародыши погибали в течение всего периода инкубации, у нас до 65% всех зародышей погибло до 4—5-го дня инкубации, а остальные только в поздней стадии инкубации (таб. 1). Уродства бывали того же характера, какие описывали цитируемые авторы.

Таб. 2. Сравнение результатов эксперимента

| Автор | Количество насиженных яиц | Количество оплодотворенных яиц | Количество вылупившихся цыплят | % оплодотворения | % выклевываемости |
|-------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------|-------------------|
| Marchlewski | 89 | 10 | 0 | 11,2 | 0 |
| Owen | 201 | 16 | 1 | 8 | 6 |
| Войтишкова, Книже | 96 | 20 | 3 | 20 | 15 |

В общем малоуспешные результаты отдаленного скрещивания у животных вызывают попытки произвести предварительное сближение скрещиваемого материала, т. е. использовать методы, аналогичные мичуринскому методу предварительного вегетативного сближения при отдаленной гибридизации растений. Поэтому мы поставили себе вопрос, не может ли иммунологическое сближение птиц двух видов, вызываемое путем введения в зародыш клеток другого вида (Гашек 1954, Brent 1955, Simonsen 1955) повлиять на возможность полового скрещивания этих видов. Simonsen (1955) поставил себе тот же вопрос.

Результаты наших предварительных опытов осеменения двух цесарок живчиками петуха племени Леггорн, которому в зародышевом состоянии было на 13-ый день инкубации впрыснуто в хорионаллантоисный сосуд 0,2 мл крови цесарки, отличались от контрольных (таб. 1) по проценту оплодотворения:

из 30 насиженных яиц было 16 оплодотворенных (53%). Процент выклёвываемости был ниже, чем в контроле: вылупился 1 цыпленок, т. е. 6%. Однако при оценке этих результатов не следует забывать, что мы пользовались только петухами, получавшими внутрizarодышевые инъекции, но не курами.

Иммунологический анализ кур, сближавшихся путем внутривенных впрыскиваний крови цесарки (а также индюка) в зародыш, показал однако, что уже в возрасте 10 недель у этих особей не наблюдается снижения способности к образованию антител, которое доказывало бы наличие иммунологического сближения (Граба и др. 1955). Итак, одно только иммунологическое сближение между цесаркой и курицей при помощи впрыскивания крови оказывается слишком слабым. Необходимо будет поэтому исследовать возможности полового скрещивания парабионтов, у которых, бесспорно, можно добиться несравненно более сильной степени сближения, чем при однократном впрыскивании. Разницу в эффективности этих двух методов сближения показывает ряд исследований межвидового сближения, произведенных в нашей лаборатории (обзор этих наблюдений в виде таблицы приводит Гашек, 1956). Свои дальнейшие усилия мы направим на половое скрещивание межвидовых парабионтов.

Резюме

1. При отдаленной половой гибридизации цесарки (*Numida meleagris* ♀) с петухом (*Gallus domesticus* ♂) при помощи искусственного осеменения было получено 20% оплодотворенных яиц и 15% выклёвываемости.

2. Обсуждается значение отдаленной гибридизации и возможность использования иммунологического сближения в половом процессе.

Л и т е р а т у р а

- Г а ш е к, М.: Проявления вегетативного сближения в адаптации высших животных на чужеродные антигены. Чсл. Биология 3 : 344, 1954.
- B r e n t, L.: Some Consequences of Parabiosis in Chick Embryos. Summaries of the Int. Embryol. Conference, Brussel 1955.
- B u r r o w s, W. H., Q u i n n, J. P.: Artificial Insemination of Chicken and Turkeys. Circular 525, 1939.
- G u y e r, M. F.: Atavism in Guinea-chicken Hybrids. J. Exp. Zool. 7, 1907.
- H a š e k, M.: Projevy vegetativního sblíživání v adaptaci vyššího živočicha na cizorodé antigeny. Čs. biologie 3 : 327, 1954.
- H a š e k, M.: Vliv intraembryonálních injekcí cizodruhové krve na tvorbu protilátek. II. Sledování reaktivity u kachen, hus a perliček. Čs. biologie 5 : 5, 1956.
- The Influence of Intra-embryonal Injections of Foreign Blood on the Formation of Antibodies. II. Observation of Reactivity in Ducks, Geese and Guinea-Fowl. Fol. biol. (Praha) 1 : 48, 1956.
- H r a b a, T., H a š k o v á, V., L e n g e r o v á, A., V o j t í š k o v á, M.: Vliv intraembryonálních injekcí cizodruhové krve na tvorbu protilátek. I. Sledování reaktivity u slepic. Čs. biologie 5 : 1, 1956.
- The Influence of Intra-embryonal Injections of Foreign Blood on the Formation of Antibodies. I. Observation of Reactivity in Hens. Fol. biol. (Praha) 1 : 43, 1956.
- K o s i n, J. L.: Abortive Parthenogenesis in the Domestic Chicken. Anat. Record, 91, 1945. Cit. Shaklee, Knox 1954.
- M a r c h l e w s k i, J. H.: Guinea Fowl and Common Fowl Hybrids Obtained by Means of Artificial Insemination. Bulletin Inst. de l'Acad. Polonaise, Ser. B-II-Sciences Naturelles, 127, 131, 1937.
- O w e n, R. D.: Reciprocal Crosses Between the Guinea and the Domestic Fowl. J. Exp. Zool. 88 : 187, 1941.
- S e i d e n, R.: Poultry Handbook. New York 1947.
- S h a k l e e, W. E., K n o x, C. W.: Hybridisation of the Pheasant and Fowl. J. Hered. 45 : 183, 1954.
- S i m o n s e n, M.: Artificial Production of Immunological Tolerance. Induced Tolerance to Heterologous Cells and Induced Susceptibility to Virus. Nature 175 : 763, 1955.

Entfernte geschlechtliche Kreuzung von Perlhuhn (*Numida meleagris* ♀) und Hahn (*Gallus domesticus* ♂)

M. VOJTÍŠKOVÁ und B. KNÍŽE

Zusammenfassung

Durch künstliche Insemination zweier Perlhühner mit dem Sperma von Hähnen der Leghorn-Rasse (durchschnittliches Volumen des Ejakulats 0,43 ml einmal in 5—6 Tagen) wurden 96 Eier, darunter 20 befruchtete gewonnen. Mit Rücksicht auf die Möglichkeit einer parthenogenetischen Furchung wurden nur Eier mit entwickeltem terminalem Sinus als befruchtet angesehen. Es schlüpften 3 Hühner (15%), die übrigen 17 Keime gingen während der Inkubation ein. Die ausgeschlüpften 3 Hühner waren meistens völlig weiss und sporadisch, besonders am Rücken, schwarz gefleckt, die Läufe schwach gelbrot. Konstitutionsmässig näherten sich die Hühner mehr dem Perlhuhn und besaßen einen kurzen Rumpf, kleine Augen und gebogenen Schnabel. Bei einem Hybriden war die Hornhaut des linken Auges undurchsichtig. Während dieser Hybride matt war und meistens schlief, waren die beiden anderen ohne pathologische Veränderungen, munter, beweglich und nahmen die Nahrung spontan auf. Das Gewicht war bei allen Hühnern normal (21—30 g). Die Hybriden gingen 3 bis 5 Tage nach dem Ausschlüpfen ein.

Die während der späteren Inkubation eingegangenen Embryonen wiesen zahlreiche bereits in der Literatur beschriebene Missbildungen auf (Marchlewski 1937, Owen 1941).

Am ausdrucksvollsten unterscheiden sich unsere Ergebnisse von jenen der zitierten Autoren durch den hohen Prozentsatz, der sowohl bei der Befruchtung (20%) als auch bei der Ausbrütung (15%) erzielt wurde. Marchlewski (1937) erreichte eine 11%ige Befruchtung, ohne jedoch ein lebendes Individuum zu gewinnen, Owen erzielte 8% Befruchtungen und 6% Ausbrütungen.

Die im allgemeinen schlechten Ergebnisse der entfernten Kreuzung führen zu dem Bemühen, auch bei Tieren eine vorangehende Annäherung des Kreuzungsmaterials anzuwenden, also analog zur Mitschurinschen Methode der vorangehenden vegetativen Annäherung bei entfernter pflanzlicher Hybridation. Wir stellten uns daher die Frage, ob nicht die immunologische Annäherung von zwei Vogel-Arten durch experimentell bewirkten Eintritt artfremder Zellen in den Keim (Hašek 1954, Brent 1955, Simonsen 1955) die Möglichkeit einer geschlechtlichen Kreuzung zwischen Arten beeinflussen könnte. Dieselbe Frage hatte sich auch Simonsen (1955) vorgelegt.

Bei unseren Versuchen wurden 2 Perlhühner mit dem Sperma eines Hahnes der Leghorn-Rasse inseminiert, dem am 13. Tage der Inkubation 0,2 ml Perlhuhnblut in die Chorio-Allantois-Vene injiziert wurde. Die vorläufigen Versuchsergebnisse unterschieden sich von den Kontrollen im Prozentsatz der Befruchtung, die 53% betrug (von 30 angesetzten Eiern waren 16 befruchtet). Die Ausbrütung war niedriger als bei den Kontrollen; es schlüpfte nur 1 Huhn, d. i. 6%. Bei dem Vergleich dieser Ergebnisse ist allerdings in Betracht zu ziehen, dass nur mit embryonal injizierten Hähnen und nicht mit Hennen gearbeitet wurde.

Die immunologische Analyse der durch intravenöse Injektion von Perlhuhnblut (und ebenso von Truthahnblut) in den Keim angenäherten Hühner hat aber gezeigt, dass bei den injizierten Tieren bereits im Alter von 10 Wochen eine Verminderung der Bildung von Antikörpern nicht erfassbar ist, die auf das Vorhandensein einer immunologischen Annäherung hinweisen würde (Hraba et al. 1955). Da also die immunologische Annäherung von Perlhuhn und Henne durch Blutinjektion allein sehr schwach ist, wird es notwendig sein, die Möglichkeit einer geschlechtlichen Kreuzung zwischen den Parabionten zu verfolgen, wo ohne Zweifel eine unverhältnismässig stärkere Annäherung erwartet werden kann als nach einmaliger Injektion. Den Unterschied in der Wirkung dieser beiden Annäherungsmethoden zeigt eine Reihe von Beobachtungen, die in unserem Laboratorium bei Annäherung zwischen Arten gemacht wurden (eine Übersichtstabelle der Ergebnisse bringt Hašek 1956). Wir werden daher im weiteren Abschnitt unserer Arbeit das Hauptaugenmerk der geschlechtlichen Kreuzung von Parabionten verschiedener Arten zuwenden.

FOLIA BIOLOGICA

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Фотопериодические опыты с просом

Ф. ГОРЖАВКА, А. БОУЧКОВА-МАРТИНОВСКАЯ и Б. СТЕЙСКАЛ
Биологический институт ЧСАН, физиология растений, Прага и Госхоз, Сланый

Поступило в редакцию 27 V 1955

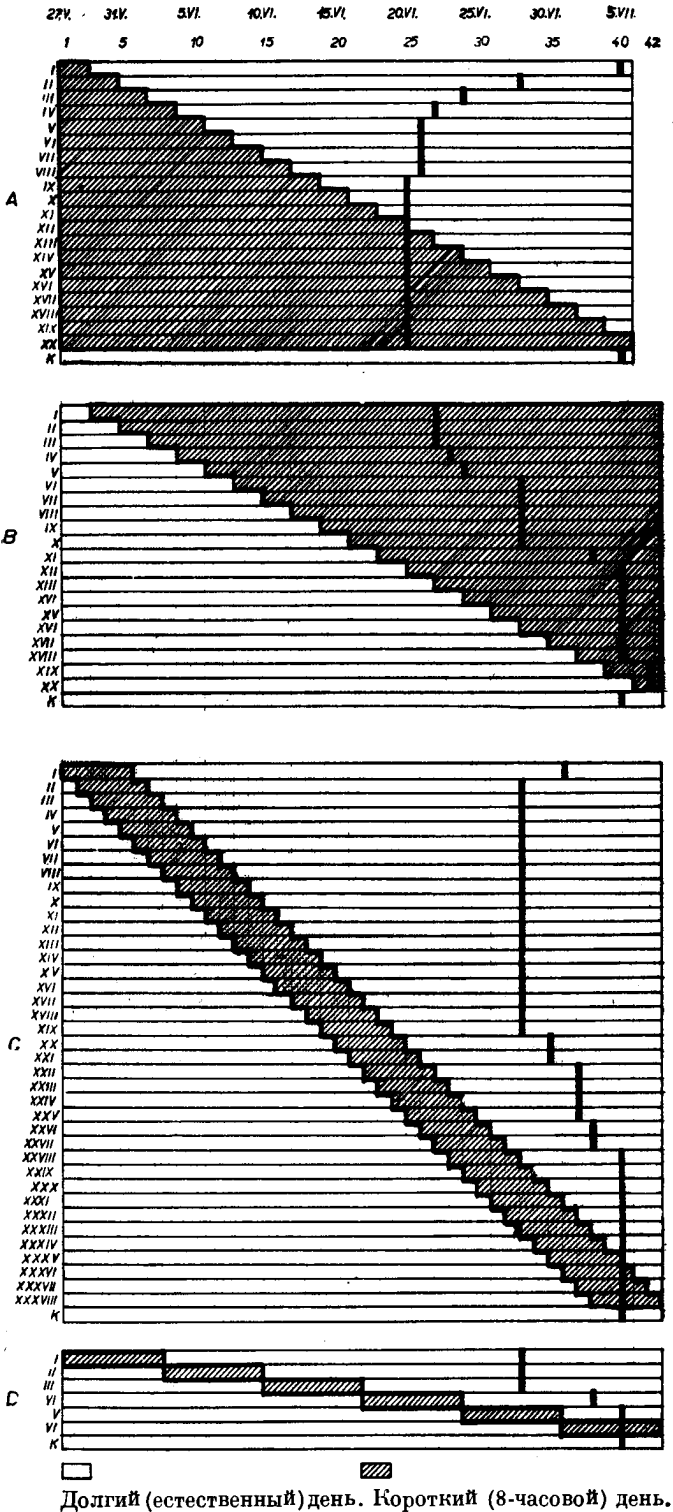
Теория стадийного развития в применении к разведению сельскохозяйственных растений стала надежной основой для преобразования характера растений. Для того, чтобы целенаправленно менять характер растения, необходимо его изучить. Для изучения требований растения в течение его развития служит стадийный анализ. Одним из методов стадийного анализа, в особенности определения световой стадии, является фотопериодический опыт. Путем определения световой стадии косвенно устанавливается конец, а тем самым в сущности и продолжительность стадии яровизации, а с другой стороны и начало следующей после световой стадии. Руководством для нас служили работы Лысенко (1954) в последнее время творчески развитые рядом советских исследователей.

На различных этапах своего развития растения требуют различных внешних условий для осуществления внутренних, строго последовательных качественных изменений, обуславливающих индивидуальное развитие растения, т. е. развитие от семени до семени. Одним из этапов его развития является световая стадия. В течение этой стадии решающее значение имеет продолжительность освещения. Световая стадия это только «одна из равноценных стадий развития растения, которой необходимо должна предшествовать более ранняя стадия — яровизация» (Корнилов 1952). По своим требованиям в течение световой стадии растения делятся на растения долгого дня и растения короткого дня. К растениям долгого дня следует отнести те растения, у которых световая стадия протекает быстрее при непрерывном освещении, а к растениям короткого дня те, развитие которых в этих условиях замедляется. Эта реакция растений на продолжительность светового дня прекращается по окончании световой стадии. На основании этого можно сделать следующее предположение: растения короткого дня, — к которым относится и просо (Эмих 1951, Корнилов 1954, Соколов 1948), — прикрывавшиеся только в течение стадии яровизации, колосятся одновременно с контрольными, развивавшимися при долгом дне, так как они не получили короткого дня в период, когда это имеет решающее значение для их развития. Растения, закрываемые и выращиваемые в условиях короткого дня в течение всей стадии яровизации и всей световой стадии, колосятся раньше всех, а именно одновременно со всеми остальными вариантами, прикрываемыми в течение всей световой стадии и далее, когда продолжительность дня перестает играть решающую роль. У растений, прикрываемых в течение части световой стадии, время до начала колошения где-то между наиболее длинным и наиболее коротким промежутками, — в зависимости от продолжительности той части световой стадии, которой касалось прикрытие.

Определение границ световой стадии сопряжено, — если необходимо добиться известной степени точности, — с некоторыми трудностями. Необходимо большое количество вариантов, а также большое количество покрывшек, что, разумеется, иногда делает невозможным практическое использование этого способа для целей селекции. Поэтому нашей задачей было произвести испытания, какой из менее накладных и применяемых нами до сих пор методов наиболее удобен для селекционерской практики в смысле точности и требующихся расходов.

Кроме обычных фенологических наблюдений мы исследовали у подопытных растений в течение опыта дифференциацию точек роста (Куперман и Ростовцева 1951, Заблуда 1951, Косткова 1955, Крекуле и Швахула 1955). Мы исходили из основного положения теории стадийного развития растений, утверждающего, что стадийные изменения совершаются в делящейся ткани точки роста. При стадийном анализе использование — в качестве показателя — этого микроморфологического метода

График 1. Схема фотопериодического опыта с просом. Римские цифры влево — отдельные варианты, К — контроль при долгом дне. Вверху — дата, под ней — количество дней с начала опыта. Жирные вертикальные линии — время колошения отдельных вариантов.



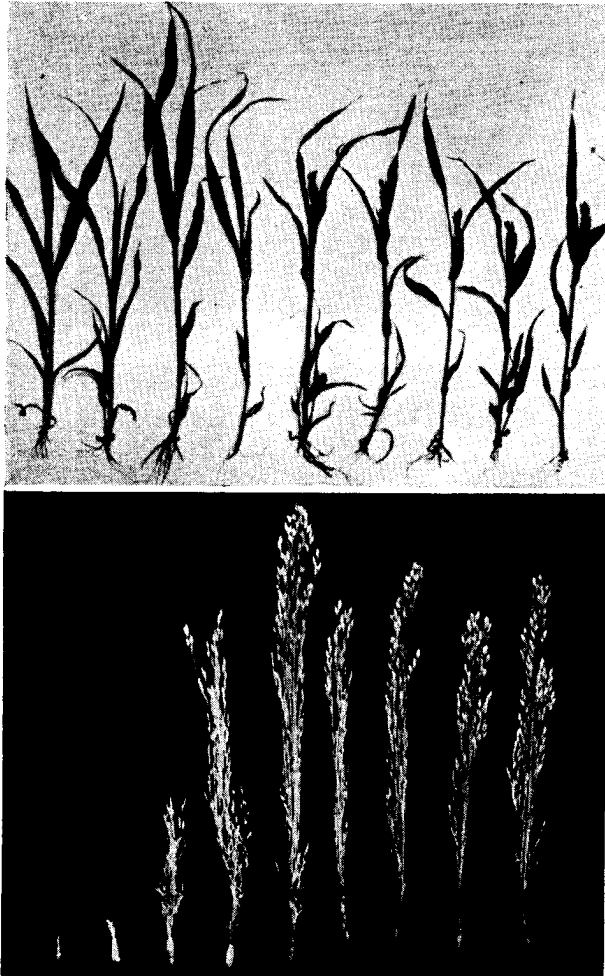


Рис. 7, 8. Растения (вверху) и отпрепарированные метелки (внизу) отдельных вариантов на 29-ый день после всходов при классическом способе.

собе необходимо столько вариантов, сколько раз 2 содержится в количестве дней от всходов до колошения, что у проса составляло 20 вариантов.

В. Дополнительный способ основан на аналогичном принципе: растения переводятся с неблагоприятного режима на благоприятный (в нашем случае просо с долгого дня постепенно переводилось на короткий с промежутками в 2 дня. Так была определена продолжительность световой стадии при долгом дне).

С. Постепенный способ, — воздействие короткого дня (в течение нескольких дней) в различные периоды онтогенеза. В нашем случае начало интервала пяти коротких дней для каждого варианта отодвигалось на 1 день в сравнении с предшествующим вариантом.

Д. Преемственный способ — опять-таки воздействие нескольких коротких дней, но закрывается только один вариант, а после окончания его прикрывания прикрывается следующий вариант. В этом случае мы пользовались интервалом в 7 коротких дней.

Просо для фотопериодического опыта было посеяно 13 мая 1954 г. на опытном участке Биологического института ЧСАН гнездовым способом по 8—10 семян на расстоянии 25 : 25 см. Вариант представляло 30—50 растений. Сразу после посева все варианты были политы. Просо всходило очень медленно, — вероятно, по вине низкой температуры воздуха, дохо-

имеет гораздо большее значение, чем простая фенология, где в качестве стадийного показателя применяется колошение. Начиная с конца световой стадии и до момента колошения на растение может влиять еще целый ряд факторов, не поддающихся контролю и относящихся к различным не исследованным пока этапам после окончания световой стадии (Новиков и Алексеенко 1952).

Методика

Как было уже сказано, нашей задачей было найти упрощенную методику приблизительного определения продолжительности световой стадии, более удобную, чем классический способ, и произвести стадийный анализ стандартного сорта проса «Ганацкая манна». Поэтому мы кроме классического способа произвели испытания трех других способов, предъявляющих не столь высокие требования в смысле материала и рабочего времени (график 1).

А. Классический способ, — переход от благоприятной к неблагоприятной продолжительности дня (у проса с короткого дня на долгий). После всходов день сокращается для всех вариантов. Потом постепенно, с промежутками в 2 дня, отдельные варианты с короткого дня переводятся на долгий. Таким образом определяется длина световой стадии в условиях короткого дня. Для определений с по крайней мере двухдневной точностью при классическом спо-

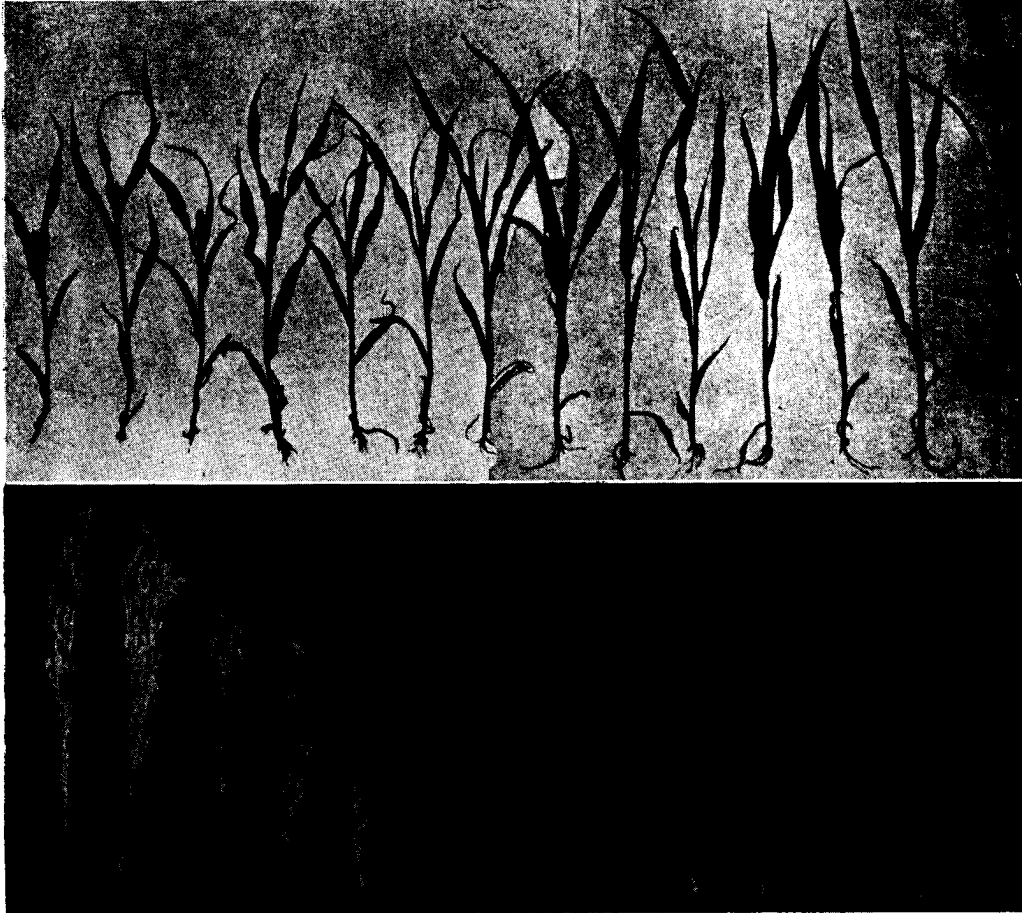


Рис. 9, 10. Растения (вверху) и отпрепарированные метелки (внизу) отдельных вариантов на 29-ый день роста при дополнительном способе.

дившей тогда до $-1,4^{\circ}\text{C}$. Первые растения взошли 25 мая 1954 г. Через 2 дня, когда к 27 мая взошло более 50% растений, мы начали прикрывать их с 15 до 7 час. покрывками. Применялись покрывки в 60 см в длину и ширину и 80 см в высоту, а также покрывки в 40 : 80 : 40 см, но всегда для отдельных опытов одинаковых размеров. Покрывки из деревянного каркаса, обитые черной материей внутри и белой снаружи, оказались наиболее подходящими, так как белый цвет уменьшает поглощение солнечных лучей и предупреждает излишнее перегревание воздуха под покрывной (Горжавка 1954). Разница температуры атмосферы и воздуха под такой покрывной бывает около 3°C . Мы следили непрерывно за климатическими условиями, которые в общем отвечали требованиям проса.

Результаты

Результаты микроморфологического анализа показывает серия снимков (рис. 1—6). При долгом дне точки роста с 5 по 11 июня остаются недифференцированными, тогда как при коротком дне уже 5 VI, т. е. на 11-ый день после всходов, начиналась дифференциация, свидетельствующая о том, что развитие у этих растений проходит быстрее. Гораздо более заметна разница на снимках

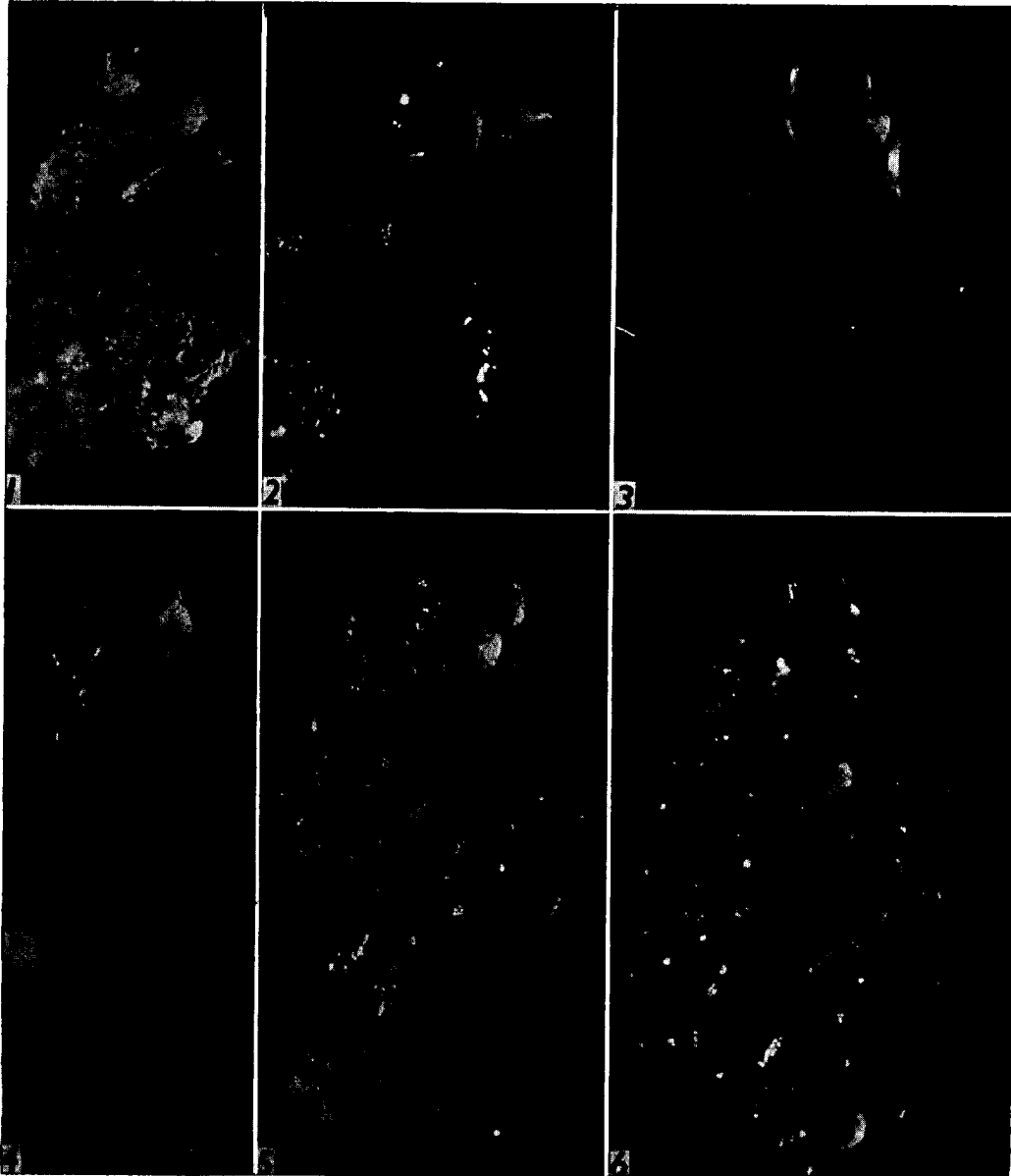


Рис. 1—6. Точки роста пшеницы. Вверху — точки роста растений, развивавшихся при долгом дне (естественном). Внизу — снимок, сделанный в тот же день: точки роста растений, развивавшихся при коротком дне. — Рис. 1 и 4 — на 11-ый день после всходов, рис. 2 и 5 — на 14-ый день после всходов, рис. 3 и 6 — на 17-ый день после всходов.

от 8 и 11 VI, т. е. на 14-й и 17-й день после всходов, когда точка роста уже полностью дифференцирована, заложены цветы и веточки метелки. Как стало очевидно позднее, в период колошения, — при коротком дне световая стадия протекала с первой недели после всходов приблизительно до 20-го дня, так что

развитие точек роста вариантов при коротком дне отвечает ходу световой стадии. При долгом дне у растений не наблюдалось никаких изменений, что свидетельствует о том, что развитие в этот период тормозилось длинным днем и протекало очень замедленно, не доходя до качественных изменений в точке роста.

Как показывают рис. 1—6, в течение световой стадии осуществляется быстрая дифференциация точки роста и закладываются основания метелки. Исходя из этого можно судить о потреблении питательных веществ в этот период и о способах их максимального использования для повышения урожая. Это наблюдение вполне отвечает исследованиями Авдонина (1954), который установил, что за 20 дней после всходов, т. е. приблизительно в течение световой стадии, растения проса лучше всего способны использовать имеющиеся в почве питательные вещества. Авдонин назвал это время периодом максимальной действенности. Подобным образом и Заблуда (1951) доказал для других растений, что подкормка в определенный период дифференциации точки роста может в сильной степени повлиять на урожай.

23 VI, т. е. на 29-й день после всходов, мы контролировали состояние точек роста. Рис. 7 показывает состояние отдельных вариантов при классическом способе, тогда как рис. 9 — при дополнительном способе. Степень развития отщепарированных нами метелок отвечает порядку, в котором колосились отдельные варианты (график 1 и таб. 1 и 2). Рис. 8 и 10 изображает общий вид растений соответственных вариантов.

Как было сказано, для определения продолжительности световой стадии служило время колошения, так как у нас было слишком мало микроморфологических данных. Рассмотрим сначала классический способ (А), при котором продолжительность световой стадии определялась при коротком дне. 20 VI первыми колосились одновременно варианты IX—XX (график 1 и таб. 1). Это значит, что эти варианты прикрывались (т. е. выращивались при благоприятной продолжительности освещения) в течение всей световой стадии и даже дольше. Тот вариант, из них, который получил наименьшее количество коротких дней (вариант № IX с 18 короткими днями), прикрывался только в течение световой

Таб. 1. Классический способ (А)

| Вариант (А) | Короткий день (в днях) | Дата колошения | Количество дней от всходов до колошения | Ускорение в сравнении с контролем при долгом дне (в днях) |
|---|------------------------|----------------|---|---|
| I | 3—5 | 5 VII | 41 | 0 |
| II | 3—7 | 28 VI | 34 | 7 |
| III | 3—9 | 24 VI | 30 | 11 |
| IV | 3—11 | 22 VI | 28 | 13 |
| V | 3—13 | 21 VI | 27 | 14 |
| VI | 3—15 | 21 VI | 27 | 14 |
| VII | 3—17 | 21 VI | 27 | 14 |
| VIII | 3—19 | 21 VI | 27 | 14 |
| IX | 3—21 | 20 VI | 26 | 15 |
| X | 3—23 | 20 VI | 26 | 15 |
| XI | 3—25 | 20 VI | 26 | 15 |
| XII | 3—27 | 20 VI | 26 | 15 |
| XIII | 3—29 | 20 VI | 26 | 15 |
| XIV | 3—31 | 20 VI | 26 | 15 |
| XV | 3—33 | 20 VI | 26 | 15 |
| XVI | 3—35 | 20 VI | 26 | 15 |
| XVII | 3—37 | 20 VI | 26 | 15 |
| XVIII | 3—39 | 20 VI | 26 | 15 |
| XIX | 3—41 | 20 VI | 26 | 15 |
| XX | 3—43 | 20 VI | 26 | 15 |
| К (растения, развивавшиеся при 8-часовом дне) | 3—45 | 20 VI | 26 | 15 |
| К (растения, развивавшиеся при долгом дне) | | 5 VII | 41 | 0 |

стадии (с точностью до 2 дней). Предшествовавший ему вариант (получивший только 16 коротких световых дней) уже прикрывался в течение не всей световой стадии, так как колосился позднее, чем те варианты, которые прикрывались в течение всей световой стадии. Вариант № 1, прикрывавшийся только в течение

| Вариант (В) | Короткий день (в днях) | Дата колосения | Количество дней от всхода до колосения | Ускорение в сравнении с контролем при долгом дне (в днях) |
|--|------------------------|----------------|--|---|
| I | 5—45 | 22 VI | 28 | 13 |
| II | 7—45 | 22 VI | 28 | 13 |
| III | 9—45 | 22 VI | 28 | 13 |
| IV | 11—45 | 23 VI | 29 | 12 |
| V | 13—45 | 24 VI | 30 | 11 |
| VI | 15—45 | 28 VI | 34 | 7 |
| VII | 17—45 | 28 VI | 34 | 7 |
| VIII | 19—45 | 28 VI | 34 | 7 |
| IX | 21—45 | 28 VI | 34 | 7 |
| X | 23—45 | 28 VI | 34 | 7 |
| XI | 25—45 | 3 VII | 39 | 2 |
| XII | 27—45 | 5 VII | 41 | — |
| XIII | 29—45 | 5 VII | 41 | — |
| XIV | 31—45 | 5 VII | 41 | — |
| XV | 33—45 | 5 VII | 41 | — |
| XVI | 35—45 | 5 VII | 41 | — |
| XVII | 37—45 | 5 VII | 41 | — |
| XVIII | 39—45 | 5 VII | 41 | — |
| XIX | 41—45 | 7 VII | 43 | Запоздание в 2 дня |
| XX | 43—45 | 7 VII | 43 | Запоздание в 2 дня |
| К (растения, развивавшиеся при долгом дне) | | 5 VII | 41 | — |

Таб. 2. Дополнительный способ (В)

2 дней, колосился одновременно с контролем. Это свидетельствует о том, что он прикрывался только до световой стадии, т. е. в стадии яровизации, когда продолжительность освещения не имеет существенного значения для скорости развития. Варианты II—VIII прикрывались в течение остатка стадии яровизации и части световой стадии: поэтому время их колосения находится между самым коротким и самым долгим интервалом. Здесь опять полностью подтверждается предположение, построенное на теории стадийного развития Лысенко. Из приведенных данных вытекает, что просо серое «Ганацкая Манна» в условиях нашего опыта оказалось фотопериодически чувствительным уже в первую неделю после всходов и что период фотопериодической чувствительности при 8-часовом дне продолжается приблизительно до 20-го дня роста.

В дополнительном к классическому опыте (В), где продолжительность световой стадии определялась при долгом дне, наши предположения опять-таки

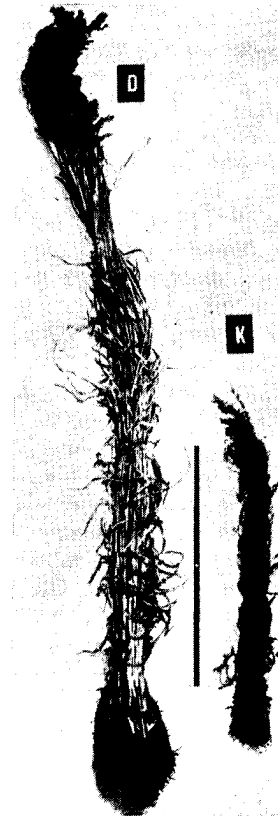


Рис. 11. Влево: растения при долгом дне (15—16 час.), вправо: растения при коротком дне (8-часовой день с 3-го по 45-й день после всходов).



Рис. 12. Растения при классическом способе (2—38 влево) и при дополнительном способе (2—38 вправо) после уборки. Цифры под снопиками у классического способа означают количество кратких дней перед переходом к длинному дню, у дополнительного способа — количество долгих дней перед переходом к короткому дню.

подтвердились. У растений, развившихся при коротком дне с начала световой стадии, время до начала колошения сократилось так же, как и при классическом способе прикрывания в течение всей световой стадии и далее. Начиная с XII варианта и дальше, растения, на которые короткий день действовал только с 26-го дня со дня всходов, колосились так же, как и контрольные, совсем не получавшие короткого дня. Из этого вытекает, что фотопериодическая чувствительность в условиях нашего опыта при долгом дне сохранялась у проса до 26-го дня после всходов.

Разница высоты растений была хорошо заметна при уборке (рис. 11 и 12): чем дольше был период короткого дня, чем короче был период ассимиляции, тем меньше были соответственные варианты.

С этими способами фотопериодических опытов мы сравнивали упрощенные и удешевленные способы фотопериодических опытов, когда различные количества коротких дней давались в различные периоды онтогенеза.

При постепенном способе (С) интервал пяти коротких дней действовал на растения, начиная с 3-го дня после всходов и вплоть до колошения. Результаты показывают, что этого количества коротких дней было достаточно для сокращения времени до начала колошения. У вариантов II—XIX это время сократилось больше всего, — на 34 дня со дня всходов. Световая стадия, определенная с помощью этого опыта, продолжалась до 26-го дня, т. е. до конца прикрывания XIX варианта. У тех вариантов, у которых короткий день коснулся только части световой стадии, период до начала колошения сократился меньше. Это вариант I, прикрывавшийся в начале световой стадии, и варианты XX—XXVII, прикрывавшиеся в конце световой стадии. Так как остальные варианты XXVIII—XXXVIII, включая контроль, колосились все в одно время, можно заключить, что на них короткий световой день действовал уже после окончания их световой стадии.

Следующий опыт (D) еще проще, чем вышеописанный: здесь интервал 7 ко-

Таб. 3. Постепенный способ (С)

| Вариант (С) | Короткий день (в днях) | Дата колошения | Количество дней от всходов до колошения | Ускорение в сравнении с контролем при долгом дне (в днях) |
|--|------------------------|----------------|---|---|
| I | 3—7 | 1 VII | 37 | 4 |
| II | 4—8 | 28 VI | 34 | 7 |
| III | 5—9 | 28 VI | 34 | 7 |
| IV | 6—10 | 28 VI | 34 | 7 |
| V | 7—11 | 28 VI | 34 | 7 |
| VI | 8—12 | 28 VI | 34 | 7 |
| VII | 9—13 | 28 VI | 34 | 7 |
| VIII | 10—14 | 28 VI | 34 | 7 |
| IX | 11—15 | 28 VI | 34 | 7 |
| X | 12—16 | 28 VI | 34 | 7 |
| XI | 13—17 | 28 VI | 34 | 7 |
| XII | 14—18 | 28 VI | 34 | 7 |
| XIII | 15—19 | 28 VI | 34 | 7 |
| XIV | 16—20 | 28 VI | 34 | 7 |
| XV | 17—21 | 28 VI | 34 | 7 |
| XVI | 18—22 | 28 VI | 34 | 7 |
| XVII | 19—23 | 28 VI | 34 | 7 |
| XVIII | 20—24 | 28 VI | 34 | 7 |
| XIX | 21—25 | 28 VI | 34 | 7 |
| XX | 22—26 | 30 VI | 36 | 5 |
| XXI | 23—27 | 30 VI | 36 | 5 |
| XXII | 24—28 | 2 VII | 38 | 3 |
| XXIII | 25—29 | 2 VII | 38 | 3 |
| XXIV | 26—30 | 2 VII | 38 | 3 |
| XXV | 27—31 | 2 VII | 38 | 3 |
| XXVI | 28—32 | 3 VII | 39 | 2 |
| XXVII | 29—33 | 3 VII | 39 | 2 |
| XXVIII | 30—34 | 5 VII | 41 | — |
| XXIX | 31—35 | 5 VII | 41 | — |
| XXX | 32—36 | 5 VII | 41 | — |
| XXXI | 33—37 | 5 VII | 41 | — |
| XXXII | 34—38 | 5 VII | 41 | — |
| XXXIII | 35—39 | 5 VII | 41 | — |
| XXXIV | 36—40 | 5 VII | 41 | — |
| XXXV | 37—41 | 5 VII | 41 | — |
| XXXVI | 38—42 | 5 VII | 41 | — |
| XXXVII | 39—43 | 5 VII | 41 | — |
| XXXVIII | 40—44 | 5 VII | 41 | — |
| К (растения, развивавшиеся при долгом дне) | | 5 VII | 41 | — |

в нашем случае снижается при постепенном способе с 20 до 5, а при преемственном способе даже до 1. С другой стороны у них есть и невыгоды, — главным образом, меньшая точность опыта Д. Разумеется, для различных растений, и даже для различных сортов, необходимо будет подбирать различное время действия короткого дня, — в зависимости от обычной длительности фазы от всходов до колошения. Если на растение с долгой световой стадией действовать небольшим количеством коротких дней, то время до начала колошения

ротких дней действовал в различные периоды онтогенеза. Нетрудно заметить, что у первых 3 вариантов время до начала колошения сократилось одинаково. Таким образом, опыт коснулся их световой стадии в одинаковой мере. Эти 3 варианта отвечают 3—23-му дням со дня всходов. У IV варианта, прикрывавшегося с 24-го по 30-ый день ускорение развития было уже меньше. Как и в предыдущем опыте, здесь можно заключить, что часть световой стадии у этого варианта уже не подвергалась воздействию короткого светового дня и что его световая стадия закончилась когда-то между 24-м и 30-м днями со дня всходов. Следующие варианты колосились уже одновременно с контролем. Это означает, что они получили короткий день только после окончания их световой стадии.

Сравнение всех испытанных нами способов показывает, что нами во всех случаях были получены аналогичные — в смысле продолжительности световой стадии при долгом дне — результаты: при способе В — до 26-го дня (с точностью до 2 дней), при способе С — до 26-го дня (с точностью до 1 дня) и при способе D — до 24—30-го дня (с точностью до 7 дней). Последние два способа гораздо менее трудоемки и требуют меньше материала: количество необходимых покрывок

не сократится с такой очевидностью. Напротив, при использовании слишком продолжительного периода коротких дней в опыте D нельзя добиться желаемой точности. Однако оба упрощенных способа, постепенный и преемственный, позволяют — при уместном применении — удовлетворить требования селекционеров по изучению стадийных особенностей исследуемых сортов.

Фотопериодический опыт — это наиболее надежный и, наряду с постепенными посевами, наиболее распространенный способ определения первых двух стадий развития растения. Если имеются 2 сорта с длинным вегетационным периодом и если известно, что один из них отличается продолжительной стадией яровизации и сравнительно короткой световой стадией, а второй, напротив, — краткой стадией яровизации и долгой световой стадией, то можно путем их целенаправленного скрещивания вывести сорт, который будет отличаться и короткой стадией яровизации, и короткой световой стадией, т. е. будет более скороспелым, чем его родители (Лысенко 1954).

Таб. 4. Преемственный способ (D)

| Вариант (D) | Короткий день (в днях) | Дата колошения | Количество дней от всходов до колошения | Ускорение в сравнении с контролем при долгом дне (в днях) |
|-------------|------------------------|----------------|---|---|
| I | 3—9 | 28 VI | 34 | 7 |
| II | 10—16 | 28 VI | 34 | 7 |
| III | 17—23 | 28 VI | 34 | 7 |
| IV | 24—30 | 3 VII | 39 | 2 |
| V | 31—37 | 5 VII | 41 | — |
| VI | 38—44 | 5 VII | 41 | — |
| K | | 5 VII | 41 | — |

Резюме

1. Мы испытали несколько способов фотопериодического опыта для разработки упрощенного и удешевленного метода определения световой стадии для целей селекции. Эти более простые методы мы сравнивали с классическим способом постановки фотопериодического опыта.

2. Мы определили продолжительность световой стадии стандартного сорта проса «Ганацкая Манна», которое реагирует на продолжительность освещения в условиях короткого дня уже с первой недели после всходов и приблизительно до 20-го дня со дня всходов. При долгом дне эта реакция продолжается приблизительно до 26-го дня.

3. Так мы косвенно определили продолжительность стадии яровизации, которая продолжается с момента пробуждения семени до начала фотопериодической реакции.

4. Оба упрощенных метода фотопериодического опыта, — постепенный и преемственный, — при уместном применении, в зависимости от вида и сорта растения, пригодны для определения световой стадии для целей селекции.

Л и т е р а т у р а

- А в д о н и н, Н. С.: Подкормка сельскохозяйственных растений. Москва 1954.
 З а б л у д а, Г. В.: О фазах формирования генеративных органов у овса и ячменя. ДАН СССР 76 (6) : 925, 1951.
 К о р н и л о в, А. А.: Световая стадия развития и фотопериодизм. Усп. совр. биол. 1951.
 К о р н и л о в, А. А.: О методике селекции проса на скороспелость. Земледелие 2 (2) : 93, 1954.

- Корчейнюк, Ю. Т.: Биология цветения и методика скрещивания проса. Сел. и сем. 19 (3) : 77, 1952.
- Куперман, Ф. М.: О развитии метелки у овса. ДАН СССР 72 (1) : 165, 1950.
- Куперман, Ф. М. и Ростовцева, З. П.: О формировании метелки у проса. Доклады ВАСХНИЛ 16 (3) : 16, 1951.
- Лысенко, Т. Д.: Стадийное развитие растений. Москва 1952.
- Новиков, В. А. и Алексеенко, Л. Н.: Критический период в отношении к интенсивности света у проса. ДАН СССР 83 (2) : 307, 1952.
- Соколов, А. А.: Просо. Москва 1948.
- Эмих, Т. А.: Критический период в отношении продолжительности освещения у просовых растений. ДАН СССР 79 (1) : 169, 1951.
- Hořavka, F.: Metodika zjišťování světelného stadia. Praha 1954. (Nepublikováno.)
- Kostková, H.: Vzrostné vrcholy. Zkušenosti s preparací vzrostných vrcholů některých zemědělských plodin. Vesmír 34 (5) : 173, 1955.
- Krekule, J., Švachula, V.: Vzrostné vrcholy rostlin. Vesmír 34 (5) : 172, 1955. Stadijní vývoj semenných rostlin. Sborník prací sovětských autorů. Praha 1952.

Photoperiodische Versuche mit Hirse

F. HOŘAVKA, A. BOUČKOVÁ-MARTINOVSKÁ und B. STEJSKAL

Zusammenfassung

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand in der Erprobung einer einfacheren Methodik bei der annähernden Bestimmung des Lichtstadiums als auf die bisher angewandte klassische Art, sowie in der Durchführung der Stadienanalyse bei der grauen Hirse Hanácká Mana. Es wurden nachstehende Methoden geprüft:

A. *Klassische Methode*: Überleitung von einer für die Entwicklung günstigen Tageslänge auf eine ungünstige (bei der Hirse vom kurzen auf den langen Tag). Im Verlaufe von zwei Tagen wurden die einzelnen Varianten allmählich vom kurzen auf den langen Tag umgestellt und auf diese Weise die Länge des Lichtstadiums unter den Bedingungen des kurzen Tages festgestellt.

B. *Ergänzungsmethode*: Überleitung von einer ungünstigen auf eine günstige Tageslänge. In unserem Falle wurde die Hirse während zweier Tage allmählich vom langen auf den kurzen Tag umgestellt und dadurch die Länge des Lichtstadiums am langen Tag bestimmt.

C. *Sukzessive Methode*: Applikation des kurzen Tages im mehrtägigen Intervall zu verschiedenen Zeitpunkten in der Ontogenese. In unserem Falle wurde der fünf-tägige Intervall des kurzen Tages bei jeder folgenden Variante gegenüber der vorangegangenen um einen Tag verschoben.

D. *Progressive Methode*: Applikation des kurzen Tages im mehrtägigen Intervall wie bei der sukzessiven Methode, doch wird nur eine Variante verdeckt. Erst nach Beendigung dieses Vorgangs bei einer Variante wird die nächste Variante verdeckt, wobei stets ein Intervall von 7 kurzen Tagen angewandt wird.

Die Versuchspflanzen wurden in Beeten gezüchtet und zur Verkürzung des Tages auf 8 Stunden Stoffabdeckungen verwendet. Es wurde hiebei von der Voraussetzung ausgegangen, dass die Pflanzen auf die Tageslänge während des Lichtstadiums reagieren. Daher verschossen Kurztagpflanzen, zu welchen auch die Hirse gehört, wenn sie nur während des Jarowisationsstadiums verdeckt werden, gleichzeitig mit den langtägigen Kontrollpflanzen, da sie den kurzen Tag nicht zu einer Zeit erhielten, in der dieser für den Verlauf der Entwicklungsprozesse von entscheidender Bedeutung ist. Pflanzen, die während des ganzen Jarowisationsstadiums sowie während des ganzen Lichtstadiums verdeckt sind, verschossen am frühesten und

gleichzeitig mit allen anderen Varianten, die durch das ganze Lichtstadium hindurch und noch darüber hinaus, wenn die Tageslänge aufhört massgebend zu sein, verdeckt werden. Bei Pflanzen, die im Zeitablauf des Lichtstadiums nur während eines Teiles desselben verdeckt sind, werden bis zum Schossen eine kürzere oder längere Zeit brauchen, je nachdem der betroffene Teil des Lichtstadiums gross ist.

Auf diese Weise wurde festgestellt, dass die graue Hirse Hanácká Mana auf die Länge der Belichtung unter den Bedingungen des kurzen Tages bereits in der ersten Woche nach dem Auflaufen reagierte, wobei diese Reaktion bis zum 20. Tage nach dem Auflaufen andauerte. Unter den Bedingungen des langen Tages dauerte diese Reaktion bei der Methode B bis zum 26. Tage (mit einer Genauigkeit auf 2 Tage), bei der Methode C ebenfalls bis zum 26. Tage (mit der Genauigkeit auf 1 Tag) und bei der Methode D bis zum 24. bzw. 30. Tage (mit einer Genauigkeit auf 7 Tage).

Bei einem Vergleich aller erprobten Methoden zur Feststellung des Verlaufs des Lichtstadiums am langen Tag ist ersichtlich, dass in allen Fällen (B, C, D) übereinstimmende Ergebnisse erzielt wurden. Die letzteren zwei Methoden stellen in arbeitsmässiger und materieller Hinsicht geringere Ansprüche. Diesen Vorteilen stehen andererseits Nachteile gegenüber, unter welchen die geringere Genauigkeit des Versuchs D der hauptsächlichste ist. Für verschiedene Früchte oder sogar Sorten wird eine unterschiedliche Länge der Einwirkung durch den kurzen Tag gewählt werden müssen, und zwar nach der gewöhnlichen Dauer der Phase von der Keimung bis zum Schossen. Die beiden vereinfachten Methoden, die sukzessive und progressive, gewähren aber hinreichende Möglichkeiten dafür, dass bei ihrer geeigneten Applikation die Anforderungen der Züchter hinsichtlich einer Feststellung der Stadieneigenschaften von überprüften Sorten befriedigt werden können.

FOLIA BIOLOGICA

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Оценка почвенной воды с помощью биологического метода кривых высыхания

М. ПЕНКА

Институт физиологии растений биологического факультета университета в Брно

Поступило в редакцию 14 XII 1955

Из вопросов водного режима почв большое внимание посвящается методам определения содержания в почве физиологически доступной воды (Briggs и Shantz 1912; Veihmeyer и Hendrickson 1928; Градманн 1929; Секера 1932; Кочерина 1948; Федоровский 1948; Смолик 1937, 1951 и др.). Для агробиологической практики важно знать оптимальные, а также минимальные количества физиологически доступной воды в почве, при которых растения способны еще давать максимальный урожай (Mitscherlich 1923, 1928; Widtsoe 1926; Максимов 1952 и др.).

В предлагаемом труде был разработан быстрый и надежный метод определения количественных и качественных особенностей почвенной влаги с биологической и прежде всего с физиологической точки зрения.

Материал и методика

В качестве подопытного материала использовались многочисленные образцы почв. В настоящей статье приводятся только те виды почв, которые или применялись при последующих опытах с порослями, или же служили для показа сделанных нами заключений. Это искусственно приготовленные почвы: Z_1 (чистый песок), Z_2 (суглинок — 2 части чистого песка и 1 часть садового перегноя), Z_3 (супесь — 1 часть чистого песка и 2 части садового перегноя) и Z_4 (садовый перегной). Далее использовались образцы естественных почв: P_1 (песчаная), P_2 (суглинистая) и P_3 (глинистая). У всех указанных видов почв их педологические и гидропедологические характеристики (таб. 1) определялись с помощью обычных методов (Клика, Новак с сотрудниками 1954 и др.).

Предлагаемый нами метод кривых высыхания почв в основном исходит из известных методов Градманна (1929) и Секеры (1932). Из подопытных образцов почв был приготовлен (при лабораторной температуре $18 \pm 2^\circ \text{C}$) воздушносухой мелкозем, который раскладывался в специальные стеклянные цилиндры диаметром в 3,0 см и высотой в 2,5 см. Верхние края цилиндра бывали притерты так, чтобы высота цилиндра была по всей окружности одинаковой; нижние его края бывали загнуты внутрь и поддерживали кружок фильтровальной бумаги, заменявший дно цилиндра (рис. 1). Тщательно наполненные мелкоземом цилиндры насыщались водой по методу Новака в течение 24 часов до максимальной капиллярной влагоемкости, после чего ставились точно на 2 часа на сложенную четверо фильтровальную бумагу для отсасывания некапиллярной (гравитационной) влаги. После этого цилиндры взвешивались и помещались в сушилку при 45°C . Продолжительность высыхания отдельных образцов бывала 26—48 час. В течение высыхания каждый цилиндр взвешивался с промежутками точно через час. После просушки определялся вес сухого вещества каждого цилиндра при 105°C (до постоянного веса). От каждого подопытного вида почвы бралось для просушки не менее 6 образцов.

Почасовая убыль воды в почве соотносилась с весом сухого вещества и с наибольшей капиллярной влагоемкостью. На основании всех полученных для данного образца числовых показателей определялось арифметическое среднее (таб. 2 и 3). Средние показатели влажности почвы выражались графически. Так были получены кривые высыхания почв (рис. 2—4).

Таб. 1. Педологические и гидропедологические характеристики подопытных образцов почв

| | | Z ₁ | Z ₂ | Z ₃ | Z ₄ | P ₁ | P ₂ | P ₃ |
|----|------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1. | I. | 4,60 | 12,29 | 19,98 | 27,66 | 15,94 | 41,48 | 62,36 |
| | II. | 0,46 | 8,87 | 17,28 | 25,70 | 6,30 | 18,80 | 22,86 |
| | III. | 1,00 | 4,00 | 7,00 | 10,00 | 5,20 | 11,22 | 5,92 |
| | IV. | 93,94 | 74,84 | 55,74 | 36,64 | 72,56 | 28,50 | 8,86 |
| 2. | | 0,21 | 1,83 | 3,45 | 5,09 | 0,67 | 3,19 | 2,60 |
| 3. | | 20 | 31 | 38 | 55 | 29 | 56 | 66 |
| 4. | | 1,85 | 2,89 | 3,92 | 4,94 | 1,01 | 6,53 | 8,61 |
| 5. | | 4,0 | 6,8 | 15,5 | 23,5 | 3,9 | 12,6 | 22,2 |
| 6. | | 7,0 | 13,0 | 17,0 | 25,0 | 5,0 | 16,0 | 21,0 |
| 7. | | 9,0 | 12,0 | 22,0 | 30,0 | 11,0 | 26,0 | 38,0 |
| 8. | | 5,0 | 8,5 | 16,7 | 25,5 | 6,0 | 20,3 | 31,8 |

Строка 1 — физический состав почв (I — глинистые частицы меньше 0,015 мм в диаметре в %, II — пыль 0,015—0,048 мм в %, III — мелкий песок 0,048—0,09 мм в %, IV — песок 0,09—2,0 мм в %). 2 — содержание прегноя в %. 3 — влажность почвы в % максимальной капиллярной влагоемкости в пересчете на сухое вещество. 4 — Н_у в % веса. 5 — точка завядания в % влажности почвы. 6 — критическое содержание влаги в почве в % влажности почвы по Секера. 7 — замедление роста растений в % влажности почвы. 8 — остановка роста растений в % влажности почвы.

Для контроля навески мелкозема по 500,0 г раскладывались в стеклянные или глиняные вазоны, насыщались водой до максимальной капиллярной влагоемкости по методу Новака и просушивались при комнатной температуре, причем взвешивались ежедневно в 12 час. в течение 26 дней. На основании числовых показателей, которые оказались такими же, как и у цилиндров, были также построены кривые высыхания почв.

Для того, чтобы можно было точно определять на кривых высыхания почв границы отдельных форм почвенной влаги, применялось вспомогательное графическое изображение числовых разниц почасовой убыли почвенной влаги при высыхании (рис. 5). Кроме того для точных биологических измерений был предложен и испытан метод замедления и прекращения роста растений в зависимости от степени влажности почвы. С этой целью мы приступили к экспериментальному изучению влияния понижающегося содержания в почве физиологически доступной (подвижной) воды на рост и развитие растений.

При этих опытах использовались естественные почвы P₁, P₂ и P₃, а в качестве подопытных растений — лен «Шумперский тонкий» (прядильный) и яровая пшеница «Подборжанка». Навески воздушносухого мелкозема по 500,0 г раскладывались в просушенные вазоны из обожженной глины и насыщались водой до оптимальной влажности в 60 %, которая поддерживалась в течение всего опыта. Одна часть горшков с песчаной почвой (P₁) засеивалась семенами льна, другая — яровой пшеницей. Подобным образом засеивались и почвы P₂ и P₃. В каждом вазоне вырастало по 5 растений. Опыт производился в садовой теплице при доступе солнечных лучей с востока и с запада. Начало опыта 17 VIII 1953, конец 12 XII 1953. Как только подопытные растения достигали типичных фаз развития, отбиралось всегда по 2 горшка со льном и пшеницей в почвах P₁, P₂ и P₃ для просушки. Высушивание почв с порослью льна производилось в фазе всходов, третьей пары листьев и в фазе быстрого роста; у пшеницы же — в фазе всходов, третьего листа, в начале и в конце фазы трубкования. Подвергавшиеся высыханию вазоны взвешивались регулярно каждый день в 11 ч. 30 м. Измерялась длина и величина растения и отмечался процесс завядания. Контролем служили определявшиеся нами показатели роста и фаз развития у растений, развивавшихся при постоянно оптимальной влажности почвы. Для льна высыхание почв и его влияние на рост и развитие растений определялись

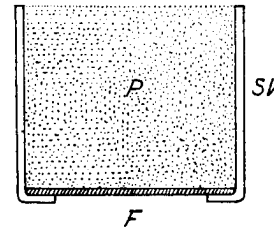


Рис. 1. Продольный разрез стеклянного цилиндра для просушки мелкозема. P — образец почвы (мелкозем), F — кружок фильтровальной бумаги, заменяющей дно цилиндра. SV — стенки цилиндра.

Таб. 2. Высыхание почвы Z₁

| 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
|----|-------|------|------|-----|----|----|
| 0 | 26,79 | 0,00 | 0,00 | 100 | 20 | 0 |
| 1 | 26,39 | 0,40 | 0,40 | 91 | 18 | 2 |
| 2 | 25,99 | 0,40 | 0,80 | 82 | 16 | 2 |
| 3 | 55,53 | 0,46 | 1,26 | 72 | 14 | 2 |
| 4 | 25,06 | 0,47 | 1,73 | 61 | 12 | 2 |
| 5 | 24,63 | 0,43 | 2,16 | 52 | 10 | 2 |
| 6 | 24,23 | 0,40 | 2,56 | 43 | 9 | 1 |
| 7 | 23,79 | 0,44 | 2,90 | 35 | 7 | 2 |
| 8 | 23,42 | 0,37 | 3,27 | 27 | 5 | 2 |
| 9 | 23,16 | 0,26 | 3,53 | 21 | 4 | 1 |
| 10 | 22,92 | 0,24 | 3,77 | 15 | 3 | 1 |
| 11 | 22,77 | 0,15 | 3,92 | 12 | 2 | 1 |
| 12 | 22,67 | 0,10 | 4,02 | 10 | 2 | 0 |
| 13 | 22,59 | 0,08 | 4,10 | 8 | 2 | 0 |
| 14 | 22,51 | 0,08 | 4,18 | 6 | 1 | 1 |
| 15 | 22,48 | 0,03 | 4,21 | 5 | 1 | 0 |
| 16 | 22,45 | 0,03 | 4,24 | 5 | 1 | 0 |
| 17 | 22,44 | 0,0 | 4,25 | 5 | 1 | 0 |
| 18 | 22,43 | 0,01 | 4,26 | 4 | 1 | 0 |
| 19 | 22,43 | 0,00 | 4,26 | 4 | 1 | 0 |
| 20 | 22,42 | 0,01 | 4,27 | 4 | 1 | 0 |
| 21 | 22,42 | 0,00 | 4,27 | 4 | 1 | 0 |
| 22 | 22,42 | 0,00 | 4,27 | 4 | 1 | 0 |
| 23 | 22,42 | 0,00 | 4,27 | 4 | 1 | 0 |
| 24 | 22,42 | 0,00 | 4,27 | 4 | 1 | 0 |
| 25 | 22,42 | 0,00 | 4,27 | 4 | 1 | 0 |
| 26 | 22,42 | 0,00 | 4,27 | 4 | 1 | 0 |

Таб. 3. Высыхание почвы P₂

| 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
|----|-------|------|------|-----|----|----|
| 0 | 28,59 | 0,00 | 0,00 | 100 | 56 | 0 |
| 1 | 28,27 | 0,32 | 0,32 | 96 | 54 | 2 |
| 2 | 27,78 | 0,45 | 0,77 | 90 | 51 | 3 |
| 3 | 27,33 | 0,45 | 1,22 | 85 | 48 | 3 |
| 4 | 26,83 | 0,50 | 1,72 | 78 | 44 | 4 |
| 5 | 26,41 | 0,42 | 2,14 | 73 | 41 | 3 |
| 6 | 25,97 | 0,44 | 2,58 | 68 | 38 | 3 |
| 7 | 25,59 | 0,38 | 2,96 | 63 | 36 | 2 |
| 8 | 25,08 | 0,51 | 3,47 | 57 | 32 | 4 |
| 9 | 24,63 | 0,45 | 3,92 | 51 | 29 | 3 |
| 10 | 24,29 | 0,34 | 4,26 | 47 | 27 | 2 |
| 11 | 23,90 | 0,39 | 4,65 | 42 | 24 | 3 |
| 12 | 23,59 | 0,31 | 4,96 | 38 | 22 | 2 |
| 13 | 23,20 | 0,39 | 5,35 | 34 | 19 | 3 |
| 14 | 23,04 | 0,16 | 5,51 | 31 | 18 | 1 |
| 15 | 22,77 | 0,27 | 5,78 | 28 | 16 | 2 |
| 16 | 22,55 | 0,22 | 6,00 | 26 | 15 | 1 |
| 17 | 22,36 | 0,19 | 6,19 | 23 | 13 | 2 |
| 18 | 22,13 | 0,23 | 6,42 | 20 | 12 | 1 |
| 19 | 21,96 | 0,17 | 6,69 | 17 | 10 | 2 |
| 20 | 21,81 | 0,15 | 6,84 | 15 | 9 | 1 |
| 21 | 21,67 | 0,14 | 6,98 | 13 | 8 | 1 |
| 22 | 21,51 | 0,16 | 7,14 | 11 | 7 | 1 |
| 23 | 21,39 | 0,12 | 7,26 | 10 | 6 | 1 |
| 24 | 21,27 | 0,12 | 7,38 | 8 | 5 | 1 |
| 25 | 21,19 | 0,08 | 7,46 | 7 | 5 | 0 |
| 26 | 21,13 | 0,06 | 7,52 | 7 | 4 | 1 |

Столбец 1 — время взвешивания в часах, 2 — вес мелкозема с сосудом (стеклянным цилиндром). 3 — почасовая убыль почвенной влаги в г. 4 — убыль влаги в почве с начала высыхания в г. 5 — содержание влаги в почве в % от максимальной капиллярной влагоемкости. 6 — содержание влаги в почве в % в пересчете на сухое вещество почвы, 7 — почасовая разница % влажности.

в фазе всходов с 20 VIII по 15 IX, в фазе третьего листа с 25 VIII по 20 IX и в фазе быстрого роста с 17 X по 12 XII 1953 г.; для яровой пшеницы — в фазе всходов с 20 VIII по 15 IX в фазе третьего листа с 31 VIII по 26 IX, в начале фазы трубкования с 17 IX по 13 X и в конце фазы трубкования с 17 X по 12 XII 1953 г. Замедление и остановка роста подопытных растений определялись на основании разницы продолжительности роста засыхавших и контрольных растений. Кроме того определялся коэффициент завядания этих растений по методу Смолика (1951). Во всех опытах учитывались изменения температуры и относительной влажности воздуха.

Результаты

Изменение водного режима подопытных образцов почв при высыхании было выражено в относительных числах (таб. 2 и 3). Графическое изображение дает 2 типа кривых, выражающих скорость движения и расходования почвенной влаги: первые изображают изменения влажности почвы (рис. 2 и 3). Их мы имеем в виду, говоря о кривых высыхания почв. Вторые являются вспомогательными (рис. 4).

Оба вида кривых отличаются тремя характерными фазами: начальной фазой, почти прямой линейной; второй, представляющей изгиб, и третьей, почти горизонтальной. Мы назвали первую фазу линейной, вторую — фазой изгиба, а третью — второй линейной (рис. 6).

Для различных образцов почв отдельные фазы кривых высыхания характеризуются различной длиной и наклоном (крутизной подъема, углом падения). Длина фазы выражает количество воды в почве (Севера 1932, 1938а, б), или же количество воздуха в почве, а наклон кривой — скорость движения (расходования) почвенной влаги.

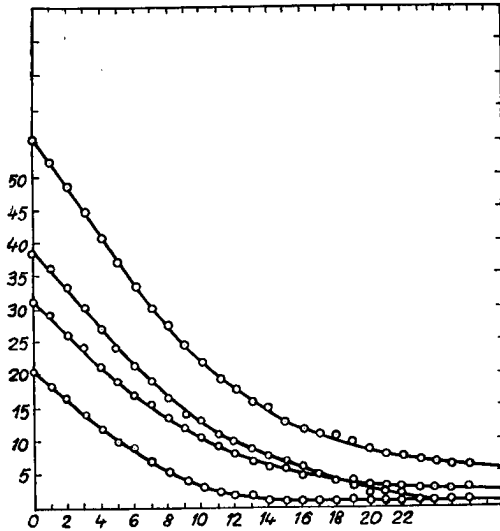


Рис. 2. Кривые высыхания искусственно приготовленных почв Z_1 , Z_2 , Z_3 и Z_4 , изображающие изменения степени влажности.

Ось X — время в часах, ось Y — влажность почвы в %.

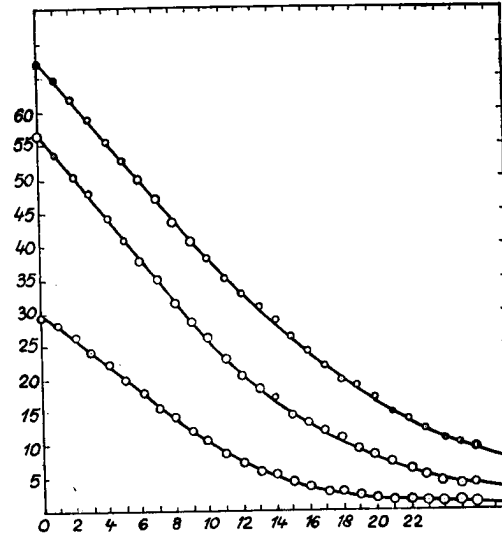


Рис. 3. Кривые высыхания естественных почв P_1 , P_2 и P_3 .

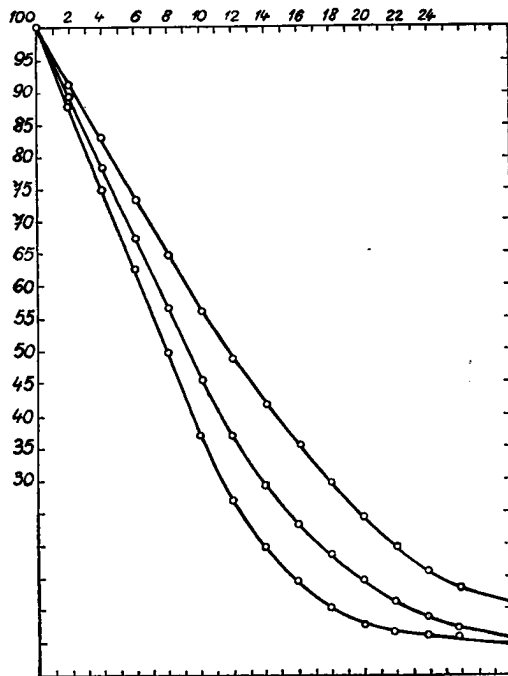


Рис. 4. Вспомогательные кривые высыхания естественных почв P_1 , P_2 и P_3 . Ось X — в часах, ось Y — содержание влаги в почве в %.

При сравнении хода кривых высыхания с физическим анализом мелкозема и с содержанием в нем перегноя (таб. 1—3, рис. 2—4) можно заметить, что длина и наклон отдельных фаз кривых высыхания зависят от содержания в почве органического вещества, в особенности перегноя. На переходы от одной фазы кривой к другой тоже оказывает влияние количество органического вещества и вообще коллоидных веществ в почве. У песчаных почв легкоподвижная капиллярная вода, представленная первой линейной фазой, резко переходит в малоподвижную сорбционную (капиллярную) воду оболочек, которую изображает фаза изгиба кривой, и наконец, в гигроскопическую воду, представленную второй линейной фазой кривых высыхания почв. Так как фаза изгиба очень непродолжительна и выразительна, то на кривых высыхания песчаных почв можно непосредственно определять моменты перехода от одной формы почвенной воды к другой. Напротив, у глинистых и у богатых перегноем почв переходы постепенные и невыразительные. Продолжительность фазы изгиба у этих почв очень велика, а расходование воды очень сложно. Для определения границ отдельных форм почвенной воды у этих почв приходится пользоваться более точными биологическими методами.

В таб. 4 приводятся приемы вычисления показателей замедления и остановки роста

подопытных растений, в таб. 5 и 6 — влажность почвы в % в момент замедления и остановки роста и устойчивого завядания подопытных растений, а на рис. 7, 8 и 9 — графическое изображение физиологических характеристик завядания растений при высыхании почв.

Наблюдая действие снижения содержания физиологически доступной (подвижной) влаги в почве на развитие льна и пшеницы, мы убедились, что процесс завядания оказывается специфическим для каждого растения. Тем не менее можно было заметить, что некоторые проявления завядания характерны для всех растений, страдающих от засухи: при падении содержания влаги в почве прежде всего проявлялся физиологический недостаток воды в растительном организме, часто макроскопически незаметный; потом наступало замедление роста, которое сопровождалось или за которым следовало довольно выразительное временное завядание; далее следовало полное прекращение роста, переходившее в устойчивое завядание и заканчивавшееся отмиранием и засыханием растений.

Так как определение границ временного увядания в большей или меньшей степени зависит от субъективной оценки, то главное внимание было нами направлено, кроме момента начала устойчивого завядания, — прежде всего на определение момента замедления и остановки роста.

В фазе всходов разница между точками завядания льна и яровой пшеницы бывала незначительна (таб. 6 и 7). В песчаной почве P_1 завядание льна и пшеницы наступало при одинаковых показателях. В суглинистой почве P_2 разница составляла 0,9%, а в глинистой P_3 — 0,8% от полной влагоемкости почвы. В фазе третьей пары листьев у льна и третьего листа у пшеницы разница возрастала и колебалась от 0,8 до 1,3%. В следующих фазах разница колебалась от 0,8 до 2,7%. Еще более значительная разница получалась при сравнении точки завядания льна и пшеницы в более поздних фазах развития (у пшеницы до 4%, а у льна даже до 5,4%). Итак, наиболее значительная разница у льна бывала в фазе быстрого роста, а у пшеницы в фазе трубкования.

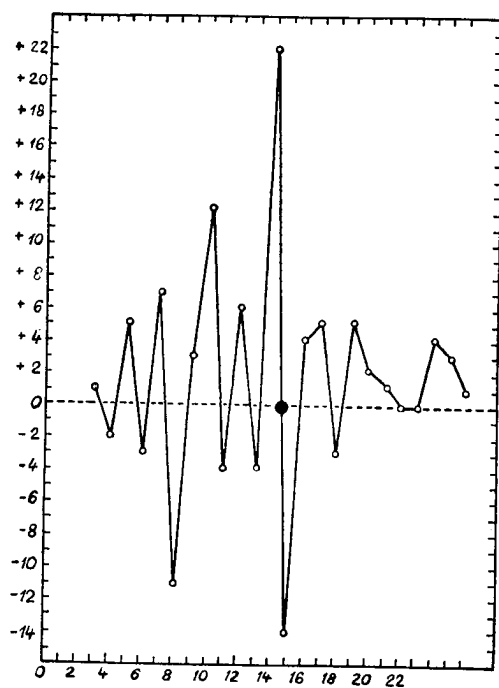


Рис. 5. Графическое изображение разниц почасовой убыли почвенной влаги при просушке почвы P_2 . Этим изображением можно пользоваться для определения на кривых высыхания переходов от одной фазы к другой. Ось X — время в часах, ось Y — положительные и отрицательные разницы последовательного ряда показателей почасовой убыли влажности почвы при высыхании.

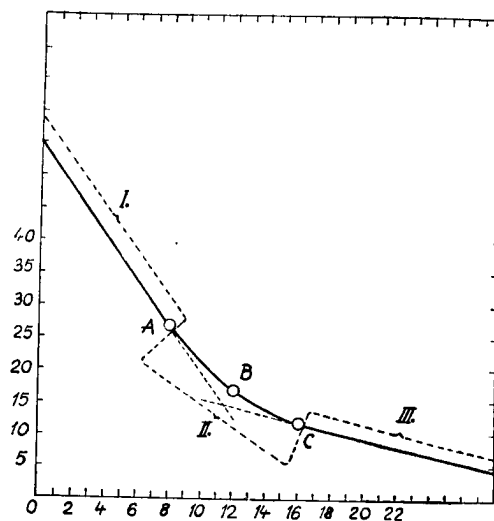
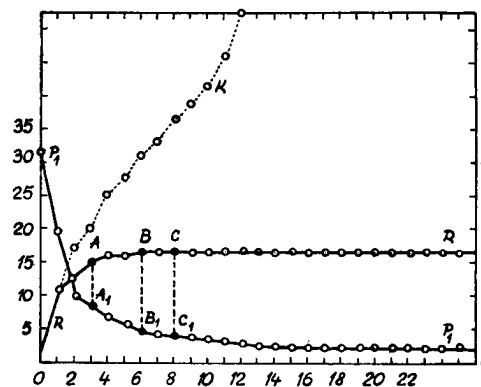


Рис. 6. Схема кривой высыхания почв (Z_4). Ось X — время в часах, ось Y — влажность почвы в %. I — первая линейная фаза, представляющая легкоподвижную капиллярную влагу, II — фаза изгиба, представляющая малоподвижную сорбционную влагу оболочек, III — вторая линейная фаза, представляющая влагу, удерживаемую гигроскопичностью почвы. A — замедление роста, B — остановка роста, C — точка устойчивого завядания.

Таб. 4. Вариационный размах высыхания почвы Z₁ и Z₄

| Час измерений | $\bar{x} \pm 3 \cdot \overline{s_x}; s$ % | |
|---------------|--|-----------------------|
| | Z ₁ | Z ₄ |
| 0 | 22,0 ± 3.0,835; 1,87 | 53,5 ± 3.3,979; 9,76 |
| 1 | 20,6 ± 3.0,921; 2,61 | 50,1 ± 3.3,784; 9,28 |
| 2 | 18,4 ± 3.1,741; 3,29 | 47,5 ± 3.4,959; 12,15 |
| 3 | 16,2 ± 3.2,075; 4,69 | 44,0 ± 3.2,139; 6,78 |
| 4 | 14,2 ± 3.1,209; 2,71 | 40,8 ± 3.3,642; 8,93 |
| 5 | 11,8 ± 3.1,645; 3,69 | 37,5 ± 3.2,827; 6,94 |
| 6 | 10,2 ± 3.2,525; 5,67 | 34,8 ± 3.4,128; 10,01 |
| 7 | 7,6 ± 3.2,591; 5,82 | 30,5 ± 3.2,825; 6,93 |
| 8 | 5,6 ± 3.1,471; 3,41 | 27,5 ± 3.1,710; 4,18 |
| 9 | 4,2 ± 3.0,759; 1,70 | 24,8 ± 3.1,511; 3,71 |
| 10 | 2,8 ± 3.0,313; 0,70 | 22,0 ± 3.1,143; 2,80 |
| 11 | 2,2 ± 3.0,089; 0,20 | 19,5 ± 3.0,732; 1,79 |
| 12 | 2,0 ± 3.0,223; 0,50 | 17,5 ± 3.0,246; 0,60 |
| 13 | 1,2 ± 3.0,089; 0,20 | 15,8 ± 3.0,232; 0,55 |
| 14 | 1,0 ± 3.0,223; 0,50 | 14,2 ± 3.0,059; 0,14 |
| 15 | 0,8 ± 3.0,018; 0,16 | 12,8 ± 3.0,059; 0,14 |
| 16 | 0,4 ± 3.0,847; 0,18 | 11,0 ± 3.0,163; 0,40 |
| 17 | 0,4 ± 3.0,847; 0,18 | 10,0 ± 3.0,163; 0,40 |
| 18 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 8,8 ± 3.0,225; 0,50 |
| 19 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 7,5 ± 3.0,082; 0,20 |
| 20 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 6,2 ± 3.0,232; 0,55 |
| 21 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 6,0 ± 3.0,163; 0,40 |
| 22 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 5,5 ± 3.0,163; 0,40 |
| 23 | 0,2 ± 4.0,042; 0,09 | 4,8 ± 3.0,082; 0,20 |
| 24 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 4,4 ± 3.0,082; 0,20 |
| 25 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 4,1 ± 3.0,059; 0,14 |
| 26 | 0,2 ± 3.0,042; 0,09 | 3,8 ± 3.0,059; 0,14 |

Рис. 7. Определение моментов замедления роста (А), остановки роста (В) и устойчивого завядания (С) в фазе всходов льна в песчаной почве P₁. Ось X — время в часах, ось Y — влажность почвы в % (влево) и рост растений в см (вправо). P₁ — высыхание почвы, R — скорость роста льна, K — скорость роста контрольных растений. А — замедление роста, В — остановка роста, С — устойчивое завядание льна. Точки A₁, B₁ и C₁ означают степень влажности почвы, при которой имели место эти физиологические характеристики.



С точки зрения отдельных видов почв наиболее значительная разница коэффициента завядания была отмечена у суглинистой и глинистой почв P₂ и P₃, а гораздо менее выразительная у песчаной P₁. Фаза изгиба кривых высыхания, в течение которой резко меняется напряжение отсоса и резко падает подвижность почвенной влаги, весьма непродолжительна у песчаной почвы P₁ и очень продолжительна у суглинистой и глинистой почв P₂ и P₃. Резкий

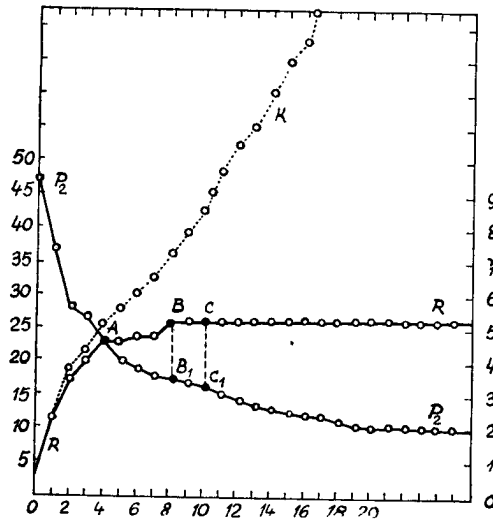


Рис. 8. Определения замедления роста (А), остановки роста (В) и устойчивого завядания (С) в фазе всходов льна в суглинистой почве P_2 . Ось X — время в часах, ось Y — влажность почвы в % (влево) и рост растений в см (вправо). Пояснения как у рис. 7.

переход от легкоподвижной капиллярной воды к прочно связанной воде оболочек и, наконец, к влаге, поглощенной в результате гигроскопичности песчаной почвы, не дает времени растениям в начальных фазах развития приспособиться и изменить напряжение десукции и осмотическое давление клеток корневой системы и органов транспирации. Поэтому коэффициент завядания у различных растений на песчаных почвах бывает почти одинаковый, — в отличие от более поздних фаз развития, когда корневая система и надземные части растений достигают значительных размеров, а в водном хозяйстве растений наблюдаются периодические изменения. Напротив, у суглинистых и глинистых почв, а также у почв, богатых гумусом и коллоидными веществами, переход от подвижной капиллярной влаги к прочно связанной воде оболочек бывает продолжительным, постепенным, что позволяет растениям приспособиться к сни-

Таб. 5. Влияние снижения влажности почвы на растения льна в фазе всходов

| 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
|----|------|-----|------|-----|------|-----|
| 0 | 29,9 | 0,3 | 56,3 | 0,4 | 66,1 | 0,5 |
| 1 | 19,6 | 2,2 | 37,9 | 2,3 | 44,2 | 2,6 |
| 2 | 10,2 | 2,5 | 28,1 | 3,5 | 44,0 | 3,0 |
| 3 | 8,7 | 3,0 | 26,6 | 4,0 | 42,8 | 3,5 |
| 4 | 6,6 | 3,2 | 23,4 | 4,5 | 39,6 | 3,9 |
| 5 | 5,8 | 3,2 | 20,0 | 4,5 | 36,7 | 4,0 |
| 6 | 4,6 | 3,3 | 19,3 | 4,7 | 35,0 | 4,8 |
| 7 | 4,4 | 3,3 | 17,9 | 4,7 | 33,6 | 4,8 |
| 8 | 4,2 | 3,3 | 17,4 | 5,2 | 31,1 | 5,2 |
| 9 | 4,0 | 3,3 | 16,7 | 5,2 | 31,8 | 5,3 |
| 10 | 3,8 | 3,3 | 16,1 | 5,2 | 30,8 | 5,3 |
| 11 | 3,3 | 3,3 | 15,2 | 5,2 | 30,2 | 5,3 |
| 12 | 2,9 | 3,3 | 14,3 | 5,2 | 28,4 | 5,3 |
| 13 | 2,7 | 3,3 | 13,4 | 5,2 | 27,6 | 5,3 |
| 14 | 2,5 | 3,3 | 12,7 | 5,2 | 26,4 | 5,3 |
| 15 | 2,5 | 3,3 | 12,2 | 5,2 | 25,5 | 5,3 |
| 16 | 2,4 | 3,3 | 12,0 | 5,2 | 25,0 | 5,3 |
| 17 | 2,4 | 3,3 | 12,0 | 5,2 | 23,8 | 5,3 |
| 18 | 2,4 | 3,3 | 11,1 | 5,2 | 22,9 | 5,3 |
| 19 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |
| 20 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |
| 21 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |
| 22 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |
| 23 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |
| 24 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |
| 25 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |
| 26 | 2,4 | 3,3 | 10,4 | 5,2 | 22,7 | 5,3 |

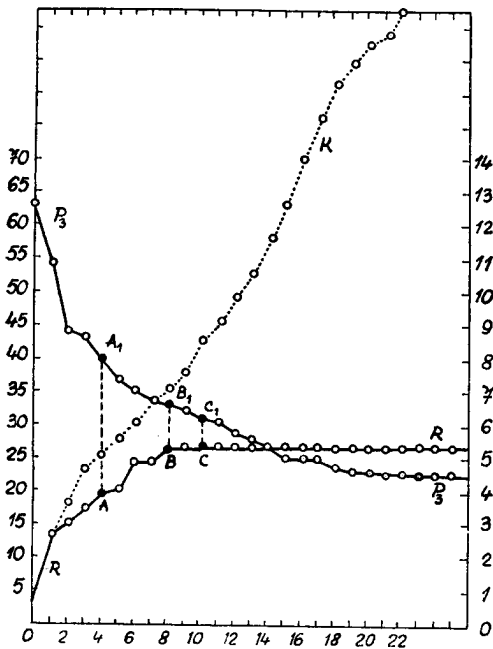


Рис. 9. Графическое изображение определений замедления роста (А), остановки роста (В) и устойчивого завядания (С) в фазе всходов льна в глинистой почве P_3 . Пояснения как на рис. 7.

Столбец: 1 — день высыхания, 2 — влажность почвы P_1 в %. 3 — рост льна в почве P_1 в см. 4 — влажность почвы P_2 в %. 5 — рост льна в почве P_2 в см. 6 — влажность почвы P_3 в %. 7 — рост льна в почве P_3 в см.

жению содержания воды в почве. Поэтому на таких почвах у различных растений уже в начальных фазах их развития наблюдается разница между точками завядания, которая еще увеличивается в более поздних фазах развития, напр., в фазе быстрого роста, трубкования и т. п.

Итак, полученные нами показатели завядания льна и яровой пшеницы противоречат представлениям Briggs-а и Shantz-а (1912) и соответствуют взглядам Caldwell-а (1913), Федоровского (1939, 1948) и др., которые учат, что коэффициент завядания зависит не только от особенностей почвы, но и от характера самого растения, — неодинакового для различных растений. Было также доказано, что разница во влажности завядания тем больше, чем длинее и постепеннее изгиб кривых высыхания, что бывает прежде всего у почв; богатых перегноем и коллоидными веществами. Необходимо однако признать и важность определения точки завядания (Briggs и Shantz 1912), на основании которой может быть найдена нижняя граница количества физиологически доступной воды в почве.

Как для точки завядания, так и при определении моментов замедления и остановки роста нами было доказано, что они наступают при неодинаковых показателях влажности почвы (таб. 5 и 6). Напр., в фазе всходов замедление роста у яровой пшеницы наблюдалось при большей влажности почвы, чем у льна, — независимо от вида почвы, на которой эти растения развивались. В дальнейших фазах развития льна и яровой пшеницы замедление роста наступало при более высоких показателях влажности почвы. Такие же результаты были получены и при определении остановки роста, — с той лишь разницей, что остановка роста наступает при более низких показателях влажности почвы, чем его замедление. Колебания показателей влажности почвы, при которых в течение различных фаз развития растений наблюдаются как замедление, так и остановка их роста, можно объяснить типичными изменениями водного хозяйства растений (Пенка 1953а, б) и изменениями физико-химического строения почвы (Shull 1916, Максимов 1952 и др.).

Было установлено, что при снижении содержания физиологически доступной воды в почве замедление роста растений приводит в дальнейшем развитии к нежелательной остановке их роста и к устойчивому завяданию. Даже если содержание воды в почве успевает повыситься, все же после периода замедления роста наблюдается снижение интенсивности всех процессов развития, что во всех случаях вызывает снижение урожая (Туманов 1929, Генкель 1946, Максимов 1952 и др.).

Так как замедление роста — это общее явление у всех растений, страдающих от недостатка воды в почве, то степень влажности почвы, при которой начинается замедление роста, можно считать крайней границей, ниже которой содержание воды в почве не должно падать, если оно не должно отразиться на снижении урожая.

Для того, чтобы можно было определить степень влажности почвы, при которой начинается замедление или остановка роста и устойчивое завядание, необходимо произвести анализ кривых высыхания, на которых нанесены показатели влажности почвы, отвечающие этим моментам (рис. 5). В результате многочисленных измерений можно было доказать, что

Таб. 6. Влажность почвы (в процентах), при которой проявлялись временное завядание, замедление роста, остановка роста и устойчивое завядание льна в начальных фазах развития.

| | Фаза развития льна | | |
|----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | всходы | третья пара листьев | фаза быстрого роста |
| Почва P ₁ | | | |
| Временное завядание | 8,7 | 5,3 | 8,4 |
| Замедление роста | 10,2 | 13,4 | 12,8 |
| Остановка роста | 4,6 | 4,4 | 5,8 |
| Устойчивое завядание | 4,4 | 4,1 | 5,1 |
| Почва P ₂ | | | |
| Временное завядание | 23,4 | 16,2 | 23,3 |
| Замедление роста | 19,8 | 20,3 | 23,4 |
| Остановка роста | 17,4 | 15,0 | 15,5 |
| Устойчивое завядание | 16,7 | 13,8 | 14,4 |
| Почва P ₃ | | | |
| Временное завядание | 39,6 | 36,1 | 44,5 |
| Замедление роста | 40,2 | 33,4 | 45,3 |
| Остановка роста | 31,8 | 31,0 | 27,1 |
| Устойчивое завядание | 30,8 | 29,2 | 25,4 |

Таб. 7. Влажность почвы (в %), при которой проявлялись временное завядание, замедление роста, остановка роста и устойчивое завядание яровой пшеницы в начальных фазах развития

| | Фазы развития яровой пшеницы | | | |
|------------------------|------------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------|
| | всходы | фаза третьего листа | начало фазы трубкования | конец фазы трубкования |
| Почва Р ₁ | | | | |
| Временное завядание | 7,7 | 12,5 | 8,3 | 13,8 |
| Замедление роста | 8,2 | 12,9 | 8,3 | 10,9 |
| Остановка роста | 5,4 | 5,4 | 4,2 | 9,4 |
| Устойчивое завядание | 4,4 | 4,9 | 3,8 | 7,8 |
| Почва 2 Р ₂ | | | | |
| Временное завядание | 18,4 | 21,8 | 21,8 | 21,6 |
| Замедление роста | 18,1 | 18,9 | 15,6 | 22,3 |
| Остановка роста | 17,3 | 15,8 | 12,5 | 12,4 |
| Устойчивое завядание | 15,8 | 15,1 | 12,5 | 12,0 |
| Почва Р ₃ | | | | |
| Временное завядание | 33,2 | 36,6 | 41,0 | 32,2 |
| Замедление роста | 30,1 | 30,4 | 30,8 | 32,0 |
| Остановка роста | 29,8 | 30,1 | 30,2 | 26,9 |
| Устойчивое завядание | 29,2 | 29,4 | 28,8 | 26,2 |

у льна и яровой пшеницы замедление роста во всех случаях начинается к концу первой линейной фазы, представляющей легкоподвижную капиллярно подпертую влагу. Полная остановка роста наступает только в фазе изгиба, в момент, когда значительно снижается скорость движения прочно связанной капиллярной воды оболочек (Градманн 1929, Секера 1932, 1938а, б). Устойчивое завядание наступает только к концу фазы изгиба, в момент, когда скорость движения и скорость десукции капиллярной воды оболочек становится незначительной, почти доходя до нуля. На схеме (рис. 2) замедление роста на кривой высыхания почвы Р₂ обозначено литерой А, остановка роста литерой В, а устойчивое завядание литерой С.

Эти результаты свидетельствуют о том, что для жизни растений наиболее важной формой влаги в почве является капиллярная вода, в особенности легкоподвижная капиллярная вода, которая может быстро отчерпываться и продуктивно использоваться растениями. Судя по результатам наших опытов, из малоподвижной капиллярной воды оболочек растениями может быть использована только часть, которая на кривых высыхания отвечает отрезку между замедлением роста (А) и остановкой роста (В). С этой точки зрения большое значение приобретает учение Вильямса (1940) о плодородии почвы; в основе плодородия почвы лежит комковатость ее структуры, зависящая от содержания в ней перегноя и обуславливающая благоприятные количественные и качественные изменения капиллярной воды в почве, в особенности повышение ее содержания и оптимальную скорость движения (расходования), — как можно убедиться на основании длины и наклона первой линейной фазы и фазы изгиба кривых высыхания почв.

Учитывая физиологические изменения растений, наступающие при понижении содержания физиологически доступной воды в почве, — напр., замедление роста (А), остановку роста (В), устойчивое завядание (С), — и полученный в конце концов урожай, можно разделить всю физиологически доступную воду в почве на продуктивную и непродуктивную (рис. 5). Физиологически продуктивная вода ограничивается максимальной водоподъемной способностью почвы (в качестве верхнего лимита) и остановкой роста (В) (в качестве нижнего лимита). Физиологически непродуктивная вода в почве определяется с одной стороны остановкой роста (В) (в качестве верхней границы), а с другой стороны точкой завядания (С) в качестве нижней границы). Физиологически продуктивная вода в почве практически может включать гравитационную влагу, легкоподвижную капиллярную воду и незначительную часть малоподвижной

капиллярной воды оболочек. К физиологически епродуктивной воде в почве может относиться только малоподвижная капиллярная вода оболочек («фильмовая», «лентокапиллярная», «фуникулярная», «пендуллярная» и т. п.). Физиологически продуктивную воду в почве можно было бы далее делить, учитывая замедление роста (А) и остановку роста растений (В).

Резюме

Автор предложил и проверил метод кривых высыхания, с помощью которого можно установить количество наиболее важных форм почвенной воды и скорость ее движения и расходования. Для точного определения количества отдельных категорий почвенной воды был разработан и проверен метод определения условий замедления и остановки роста растений. Замедление наступает при падении до минимума легкоподвижной капиллярной воды, остановка же роста — в момент, когда силы, удерживающие воду в почве, быстро возрастают, а подвижность связанной капиллярной воды оболочек резко снижается. Устойчивое завядание растений наблюдается, когда количество малоподвижной капиллярной воды оболочек доходит до минимума. Замедление роста, остановка роста и устойчивое завядание зависят и от свойств почвы и от особенностей самого растения и фаз его индивидуального развития. Наиболее типичным признаком, оповещающим снижение урожая и общим для всех растений при недостатке влаги в почве, является замедление роста.

Л и т е р а т у р а

- Вильямс, В. Р.: Почвоведение. Москва 1940.
 Генкель, П. А.: Устойчивость растений к засухе и пути ее повышения. Тр. инст. раст. им. Тимирязева АН СССР 5 (1) : 1, 1946.
 Долгов, С. И.: Исследования подвижности почвенной влаги и ее доступности для растений. Изд. АН СССР, Москва — Ленинград 1948.
 Кочерина, Е. И.: К вопросу о влажности завядания растений. Почвоведение 1, 1948.
 Лебедев, А. Ф.: Передвижение воды в почвах и грунтах. Известия Донского с.-х. ин-та т. з. Новочеркасск 1918.
 Максимов, Н. А.: Физиологические основы засухоустойчивости растений. Избранные работы по засухоустойчивости и зимостойкости растений. I. Москва 1952.
 Пенка, М.: Потребление воды злаками в течение их индивидуального развития. Чсл. Биология 2 : 183, 1953а.
 Пенка, М.: Засухоустойчивость льна, яровой пшеницы и проса в сравнении с потреблением ими воды в ходе их индивидуального развития. Чсл. Биология 2 : 372, 1953б.
 Роде, А. А.: Почвенная влага. Изд. АН СССР, Москва 1952.
 Туманов, И. И.: Завядание и засухоустойчивость. Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 22 : 107, 1929.
 Федоровский, Д. В.: Определение в почве воды, недоступной для растений. Почвоведение, № 4, 1939.
 Федоровский, Д. В.: Зависимость коэффициента завядания от вида растений и осмотического давления почвенного раствора. Почвоведение, № 10, 1948.
 Alten, F., Kurmis, S.: Das Verhalten des Wassers im Boden. Handbuch der Bodenlehre. I, 150, 1938.
 Bouyoucos, G. A., Mick, A. H.: An electrical resistance method for the continuous measurement of soil moisture under conditions. Michigan Agric. Exp. St. Technical Bulletin 172, 1940.
 Briggs, L. J., Shantz, H. L.: The Wilting Coefficient for Different Plants and its Indirect Determination. U. S. Depart. Agriculture. Bur. Plant. Industry Bull. 230, 1912.
 Caldwell, W. A.: The Relation of Environmental Conditions to the Phenomenon of Permanent Wilting in Plants. Physiol. Res. 1 : 1, 1913.
 Gössl (Kosil), V.: Půda jako zásobitelka rostlin vodou. Praha 1940.
 Gradmann, H.: Untersuchungen über die Wasserhältnisse des Bodens als Grundlage des Pflanzenwachstums. Jahrbuch wiss. Bot. 69 u. 71 : 702, 1929.
 Klika, J., Novák, V. a spoluprac.: Praktikum rostlinné sociologie. Praha 1941 a 1954.

- K o p e c k ý, J.: Bioklimatické úvahy ve vztahu k sytostnímu doplňku vlhkosti vzdušné. Praha 1916.
- L i w i n g s t o n, B. E.: The Relation of the Osmotic Pressure of the Sap in Plants to Arid Habitants. *Plant World*, 14 : 153, 1911.
- M i t s c h e r l i c h, E. A.: *Bodenkunde für Land- und Forstwirte*. Berlin 1923.
- M i t s c h e r l i c h, E. A., B e u t e l s p a c h e r, J.: Untersuchungen über den Wasserverbrauch verschiedener Kulturpflanzen *Bodenk. Pflanzenern.* 9—10 : 337, 1938.
- N o v á k, V.: Studie o hygroskopické vodě v půdě. *Zem. Arch.* 1918 : 254, 1918.
- N o v á k, V.: Příspěvek k poznání t. zv. přístupné vody v půdních typech na Moravě. *Sbor. ČAZ*, 19, 1945/46.
- S e k e r a, F.: Die Beurteilung der Wasserversorgung der Pflanze. *Zschr. Pflanzenern. Düng. Bodenk.* A 22 : 152, 1931.
- S e k e r a, F.: Die Nutzbarkeit des Bodenwassers für die Pflanze. *Zschr. Pflanzenern. Düng. Bodenk.*, Abt. A 26, 1, 1932.
- S e k e r a, F.: Die Strukturanalyse des Bodens. *Bodenk. Pflanzenern.* 6 : 259, 1938a.
- S e k e r a, F.: Statik und Dynamik des Bodenwassers. *Bodenk. Pflanzenern.* 6 : 288, 1938b.
- S h u l l, Ch. A.: Measurement of the Surface in Soils. *Bot. Gaz.* 62 : 1, 1916.
- S m o l í k, L.: K určování bodu vadnutí v půdách. *Sbor. ČAZ* 12 : 711, 1937.
- S m o l í k, L.: Bod vadnutí s ohledem na délkový růst ječmene. *Sbor. ČAZ* 24 : 349, 1951.
- V e i h m e y e r, F. J., H e n d r i c k s o n, A. H.: Soil Moisture at Permanent Wilting of Plants. *Plant Physiology* 3 : 355—357, 1928.
- V e i h m e y e r, F. J., H e n d r i c k s o n, A. G.: Waterholding Capacity of Soils and its Effect on Irrigation Practices. *Agricultural Engineering* 19 (11), 1938.
- W i d t s o e, J. A.: *The Principles of Irrigations Practice*. Washington 1926.

Die biologische Wertung des Bodenwassers mit der Methode der Austrocknungskurven

M. PENKA

Zusammenfassung

Es wurde der Wasserhaushalt der Böden studiert und hierbei die Methode der Austrocknungskurven geprüft und vorgeschlagen, mit der die Menge der wichtigsten Formen des Bodenwassers sowie der Grad ihrer Beweglichkeit und Ausgabe bestimmt werden kann.

Die Austrocknungskurven der Erden zeigen drei charakteristische Phasen auf, und zwar eine fast linear verlaufende Anfangsphase, welche das leicht bewegliche Kapillarwasser vorstellt, eine zweite, krummlinige Phase, die das schwer bewegliche Kapillarwasser (Filmwasser) umfasst und schliesslich eine dritte, ebenfalls fast lineare Phase mit der Darstellung des hygroskopischen Wassers. Die Länge der einzelnen Phasen in den Austrocknungskurven entspricht der Menge der Bodenwasserarten bzw. des Luftgehaltes im Boden. Die Neigung der Kurven in den einzelnen Phasen gibt den Grad der Beweglichkeit und Ausgabe des Bodenwassers an.

Länge und Neigung der Anfangs- und Krümmungsphase sind beeinflusst von der Anwesenheit und der Qualität organischer und kolloidaler Substanzen, vom Zustand der Mikro- und Makroaggregate der Böden, von der mineralogischen Zusammensetzung der dispersen Fraktion der Kolloidsubstanzen im Boden usw.

Zum Zwecke einer genauen Abgrenzung der einzelnen Formen und Kategorien des Bodenwassers wurde eine Methode zur Bestimmung von Verlangsamung und Stillstand des Pflanzenwachstums ausgearbeitet und überprüft.

Es wurde festgestellt, dass eine Verlangsamung des Pflanzenwachstums dann eintritt, wenn das leicht bewegliche Kapillarwasser im Boden unter die minimalen Werte sinkt. Das Wachstum der Pflanzen kommt in jenem Augenblick zum Stillstand, in dem die Kräfte, welche das Wasser im Boden festhalten, rapid anwachsen

und der Beweglichkeitsgrad des schwer beweglichen kapillaren Filmwassers jäh abnimmt. Ein dauerndes Welken (permanent wilting) der Pflanzen tritt ein, wenn die Menge des schwer beweglichen kapillaren Filmwassers minimale Werte erreicht. Es wurde auch festgestellt, dass die Verlangsamung und der Stillstand des Wachstums sowie das dauernde Welken der Pflanzen sowohl von den Eigenschaften der Böden als auch von den Eigenschaften und von der Art der Pflanze selbst abhängig sind und sich im Verlaufe der individuellen Pflanzenentwicklung ändern.

Es wurde ferner nachgewiesen, dass die typischste Erscheinung bei Pflanzen, welche einer durch Wassermangel im Boden bewirkten Ernteverminderung vorangeht, die für alle Pflanzenarten charakteristische Verlangsamung ihres Wachstums ist.

Die für das Leben der Pflanzen wichtigste Form des physiologisch zugänglichen Wassers im Boden ist nach unserer Feststellung das Kapillarwasser, besonders das leicht bewegliche Kapillarwasser.

Nach den Charakteristiken von Welken und Wachstum, welche die endgültige Fruchternte beeinflussen, kann das ganze physiologisch zugängliche Wasser im Boden in ein physiologisch produktives und in ein physiologisch unproduktives Wasser eingeteilt werden.

FOLIA BIOLOGICA

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Влияние радиоизотопов S^{35} и P^{32} на изменения биопотенциалов корня

Ф. ПОСПИШИЛ

Институт физиологии растений биологического факультета Карлова
университета, Прага

Поступило в редакцию 1 XII 1955

Радиобиология уже давно начала изучать вопросы влияния облучения на организмы, но существует сравнительно мало работ по вопросам влияния ионизирующего излучения радиоактивных изотопов, поступающих в организм в количествах, применяемых обычно в работах физиологов и биохимиков. Однако уже в начале работ с радиоактивными индикаторами Ржетовский (1939) писал о том, что Прат допускает возможность влияния естественных радиоизотопов на метаболизм организмов.

Только в последние годы некоторые работы указывают на возможность влияния ионизирующего излучения радиоизотопов на растительную клетку и ее метаболизм, напр., на изменения проницаемости (Kamen 1948), изменения обмена веществ (Kornberg 1949, Бутенко 1955). Особенно важны те изменения, которые небольшие дозы радиоизотопов вызывают у водоросли *Chlorella*, как показал целый ряд работ (Porter и Knauss 1954, Porter и Watson 1954), Martin и Scott Russel (1954) исследовали действие излучения радиофосфора на ячмень.

Биопотенциалы

Если погрузить корень какого-нибудь прорастающего растения в слабый раствор кислоты, то верхушка корня приобретает по отношению к окружающей среде отрицательный заряд. Различные пункты организма отличаются определенной разницей потенциалов. Зависимость биопотенциала от среды была нами показана в предыдущей работе (1955).

Введение в теорию потенциалов дают Lundegardh (1938—1939), Davson и Danielli (1952), MacAulay, Ford и Nore (1951), Nore (1951), Алешин и Ястребов (1949). О методах измерения потенциалов писали Curtis (1949), Seifriz (1937), Clark (1937), Поспишил (1955). Действие света на изменение потенциалов показал Schrank (1946). Backus и Schrank (1952) определили изменения потенциалов колеоптиле в результате облучения.

В 1951 г. вышла интересная работа, в которой Jones, Kivel и Bless приводят результаты измерений потенциалов семян в результате облучения лучами X. Они установили, что лучи X снижают потенциалы, а также и жизнеспособность семян кукурузы. Как было мною показано в предшествовавшей работе (1955), потенциалы изменяются под влиянием среды. Под действием ядов наблюдается снижение отрицательного потенциала корня. При погружении корня в раствор медного купороса наступает обмен ионами: ионы с поверхности корня замещаются ионами Cu^{++} . С прекращением метаболизма активное захватывание ионов нарушается и наступает снижение отрицательного потенциала корня. Результаты измерений доказывают правильность этих предположений (рис. 1).

Материал и методика

В нашем распоряжении были изотопы в форме $H_3P^{32}O_4$ и $Na_2S^{32}O_4$ без более подробных аналитических обозначений. Я пользовался проросшими семенами подсолнуха (урожая 1954 г.) и кукурузы «Вальтицкой» (урожая 1954 г.). Семена прорастали на фильтровальной бумаге в дистиллированной воде, споласкивались, переносились в питательный раствор Кнопа, после чего производились измерения.

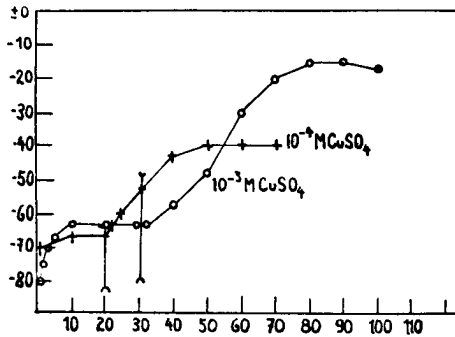


Рис. 1. Изменения потенциала под влиянием раствора меди. Потенциал корня кукурузы «Вальтицкая», измеренный в течение 30 мин. в питательном растворе Кнопа, а затем в питательном растворе с прибавлением $CuSO_4$ в концентрации 10^{-3} и 10^{-4} М. Ось X: время в мин., ось Y: потенциал в милливольтках.

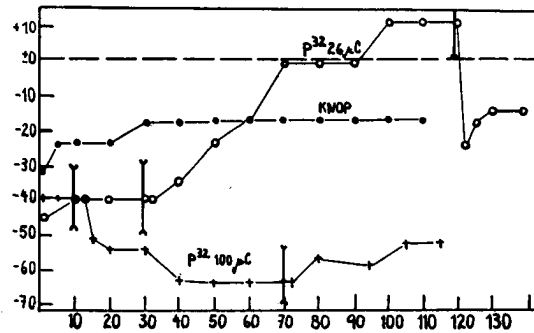


Рис. 2. Изменения потенциала корня подсолнуха, вызванные радиофосфором P^{32} . Стрелками обозначена замена питательного раствора раствором с радиофосфором. Контроль показывает ход измерений в питательном растворе Кнопа.

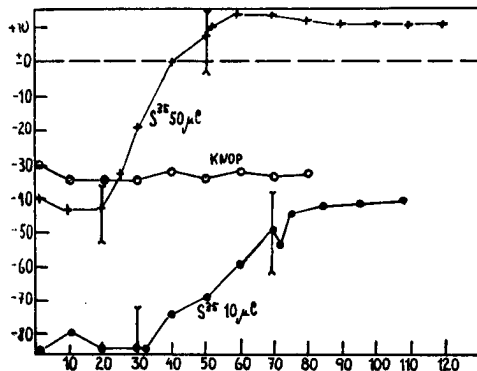


Рис. 3. Измерения влияния радиоизотопа S^{35} на потенциал корня кукурузы. Стрелками обозначена замена неактивного раствора активным. Ось X: время в мин., ось Y: потенциал в милливольтках.

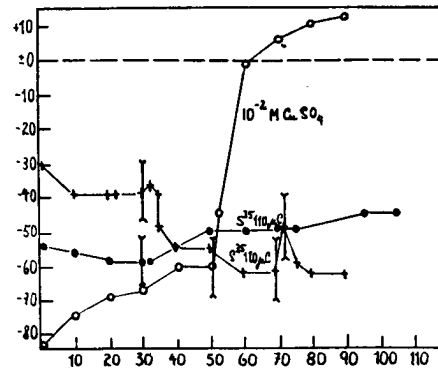


Рис. 4. Действие дозы в $100 \mu C$ на изменения потенциала корня кукурузы в сравнении с результатами измерений при концентрации 10^{-2} М $CuSO_4$.

Для измерений применялась аппаратура, описанная нами в прошлой работе (1955), или электрометр типа Lautenschläger (для подсолнуха), или ламповый потенциометр типа Vilnes № 507. Один электрод втыкался в мезокотиль или в гипокотиль.

Рабочие приемы. Я прибавлял P^{32} и S^{35} к питательному раствору Кнопа в соответственном разведении. В качестве контроля я пользовался питательным раствором Кнопа с прибавление такого же количества фосфорной кислоты или сернокислого натрия, сколько этих соединений с активными изотопами прибавлялось в исследуемый раствор. Так как прибавление раствора изотопа вызывает (в случае сернокислого натрия) смещение рН раствора Кнопа в щелоческую сторону, приходилось доводить рН до уровня контроля с помощью фосфатного буфера. Электропроводность обоих растворов, и активного, и неактивного, бывала одинаковой.

Измерения. Укрепив измерительные электроды на растении, я измерял потенциал в питательном растворе Кнопа. Через 10 мин. потенциал стабилизировался.

Это служило контролем. Перемена раствора Кнопа оказывает лишь незначительное влияние на изменения потенциала (около 5 mV). Через 10—40 мин., после того как потенциал стабилизировался, я заменял питательный раствор Кнопа питательным раствором с радиоактивной серой или фосфором. Наступали изменения потенциала, — при малых дозах меньше $100 \mu\text{C}$, — снижение отрицательного потенциала. Результаты измерений, которые повторялись нами несколько раз (каждый вариант 4 раза), показаны на рис. 2—4.

Для сравнения приводятся результаты измерений под влиянием яда — медного купороса в концентрации 10^{-2} , 10^{-3} и 10^{-4} М.

Дискуссия

Измерения показывают, что после прибавления радиоактивного изотопа S^{35} или P^{32} в количестве 8—50 μC на 10 мл раствора потенциал корня снижается, а при количестве около 100 μC — напротив, повышается или снижается лишь весьма незначительно. Механизм этого явления я не буду пока разбирать. Сравнение с действием ядов доказывает, что это снижение потенциалов не является, по видимому, результатом загрязнения. При столь значительном разведении (1 : 10.000) для того, чтобы проявилось действие загрязняющего вещества, оно должно было бы присутствовать в растворе изотопа в молярной концентрации. Конечно, до сих пор в нашем распоряжении не имеется точных анализов радиоактивных растворов. Их будет необходимо присоединять при биологическом применении радиоизотопов. Что касается высоких концентраций (около 100 μC), я предполагаю, что здесь концентрированный раствор сернокислого натрия или же фосфорной кислоты блокирует действие излучения изотопа. Другого объяснения у меня нет. Действие ядов и здесь не проявлялось. Важно отметить, что изменения потенциалов при радиофосфоре не наступали, если применялся старый, 2,5-месячный раствор изотопа P^{32} .

Результаты измерений доказывают, что и небольшие дозы изотопов (10 μC), применяющиеся обычно для изучения метаболизма и ассимиляции питательных веществ, не являются «инактивными» и вызывают в организме изменения.

Резюме

1. Я изучал действие растворов изотопов P^{32} и S^{35} на потенциалы корней. Результаты измерений показывают, что после прибавления изотопов отрицательный потенциал корня снижается.

2. Дозы около 100 μC повышают или лишь незначительно снижают потенциал. Так как эти результаты были мной получены несколько раз, я полагаю, что влияние изотопов до известной степени компенсируется влиянием концентрации прибавляемого изотопа: в моем распоряжении имелись изотопы с незначительной специфической активностью и кроме того проявлялось нефизиологическое влияние неактивного носителя радиоактивных элементов.

Л и т е р а т у р а

- А л е ш и н, С. Н. и Я с т р е б о в, М. Т.: Изменение потенциала корня проростков пшеницы в зависимости от среды. ДАН СССР 69 (1) : 85, 1949.
- Б у т е н к о, Р. Г.: К вопросу о действии ионизирующих излучений на растительные организмы. Физиология растений 1 (2) : 146, 1955.
- М а с А u l a y, A. L., F o r d, J. M., H o p e, A. B.: The Distribution of Electromotive Forces in the Neighbourhood of Apical Meristems. J. Exp. Biol. 28 : 320, 1951.
- В а с к у с, G. E., S c h r a n k, A. R.: Electrical and Curvature Response of the Avena Coleoptile to Unilateral Illumination. Plant Physiol. 27 : 251, 1952.
- C l a r k, W. G.: Electrical Polarity and Auxin Transport. Plant Physiol. 12 : 409, 1937.
- C u r t i s, H. J.: Bioelectric Measurements. Biophysical Research Methods. New York—London 1949.
- D a v s o n, M., D a n i e l i, J. F.: The Permeability of Natural Membrane. Cambridge 1952.
- H o p e, A. B.: Membrane Potential Differences in Bean Roots. Austral. J. Sci. Res. Ser. B. Biol. 4 (3) : 265, 1951.
- J o n e s, M. W., K i v e l, B., B l e s s, A. A.: The Bioelectric Potential of Seeds as a Function of Growth and X-Ray Dosage. Plant Physiol. 26 : 19, 1951.
- К а м е н, М.: Radioactive Tracers in Biology. New York 1948.
- К о р н б е р г, М. А.: Biochemical Effect of Ionizing Radiations. Radioisotopy in Biology. Tenth Annual Biology Colloquium 29—34, 1949.
- L u n d e g a r d h, H.: Ionenkonzentration und Ionenaustausch in der Grenzfläche Protoplasma-Lösung. Biochem. Zschr. 298 : 51, 1938.
- L u n d e g a r d h, H.: Über biologische Grenzflächenpotenziale. Biochemische Zschr. 300 : 167, 1939.
- M a r t i n, R. P., S c o t t R u s s e l, R.: Studies with Radioactive Tracers in Plant Nutrition. III. The Effect Radiation from Phosphorus P³² on the Growth and Phosphate Utilization of Barley Seedlings. J. Exp. Bot. 5 : 91, 1954.
- P o r t e r, J. W., K n a u s s, H. J.: Inhibition of Growth of Chlorella pyrenoidosa by Beta-Emitting Radioisotopes. Plant Physiol. 29 : 60, 1954.
- P o r t e r, J. W., W a t s o n, M. S.: Gross Effects of Growth-Inhibiting Levels of Tritium oxide on Chlorella pyrenoidosa. Am. Bot. 41 : 550, 1954.
- P o s p í š i l, F.: Měření potenciálů na rostlinách v závislosti na prostředí. Jubilejní sborník Karlovy university, Praha 1955.
- Ř e t o v s k ý, R.: Stimulace klíčení semen uranilnitrátem. Rozpravy II. tř. České Akademie 49 : 1, 1939.
- S e i f r i z, W.: Methods of Research of the Physical Properties of Protoplasm. Plant Physiol. 12 : 99, 1937.
- S c h r a n k, A. R.: The Effect of Light on the Electrical Polarity and the Rate of Elongation of the Avena Coleoptile. Plant Physiol. 21 : 467, 1946.
- V i r g i n, H. I., E h r e n b e r g, L.: Effect of α and β Rays on the Protoplasmic Viscosity of Helodea Cells. Physiologia Plantarum 6 : 159, 1953.

The Influence of Radioisotopes S³⁵ and P³² on Changes in the Biopotentials of Roots

F. POSPÍŠIL

Summary

An investigation was made on the effect of solutions of the isotopes P³⁵ and S³² on the biopotentials of roots. The results of the determinations show that after the addition of isotopes the negative potential of the root is decreased.

Doses of around 100 μ C increase or slightly decrease potential. Since these results were obtained several times and the author had at his disposal isotopes of low specific activity where the non-physiological effect of the non-active carrier was evident, it is concluded that the effect of the isotopes is, to a certain extent, compensated by the effect of the concentration of the given isotope.

F O L I A B I O L O G I C A

Tom. II. (1956) — Fasc. 2

Влияние потери крови на смертность мышей от рентгеновского облучения

М. СКАЛКА

Институт общей биологии медицинского факультета университета в Брно

Поступило в редакцию 12 XI 1955

При многих радиобиологических опытах, при которых осуществляется хирургическое вмешательство или взятие крови для различных исследований, возникает вопрос, не влияет ли потеря крови перед облучением на чувствительность лабораторных животных к облучению. Мы решили разработать этот вопрос, так как кроме значения для исследовательских опытов он может иметь значение и для осеещения некоторых вопросов действия ионизирующего облучения на кровеобразование.

Методика

Для опытов мы пользовались взрослыми белыми мышами штамма Н, самцами и самками. Мы поставили 8 серий опытов, в общем с 475 мышами.

В сериях I—VII мыши были разделены на 5 одинаковых групп. У мышей отдельных групп кровь бралась по одному разу в различных интервалах перед облучением:

| | |
|--------------------|---|
| у мышей I группы | за 7 дней до облучения |
| у мышей II группы | за 4 дня до облучения |
| у мышей III группы | за 2 дня до облучения |
| у мышей IV группы | за 5—7 часов до облучения |
| у мышей V группы | кровь не бралась (содержались они так же, как и остальные группы) |

В серии VIII мыши были разделены только на 2 группы: у мышей I группы кровь бралась за 20—60 мин. до облучения, у мышей II группы кровь не бралась.

Взятие крови. Кровь бралась из надрезанного хвоста. При взятии большого количества крови мы согревали хвост в теплой воде или помещали мышей за 5 мин. до взятия крови в термостат при 37 °C. Мышей контрольных групп мы также согревали. Потеря крови выражалась в процентах общего количества крови, причем за основу расчетов принималось количество 12,7 мл крови на 100 г веса, установленное для мышей Kaliss-ом и Pressman-ом (1950).

Количество взятой крови. В отдельных сериях мы брали следующие средние количества крови (в % к общему количеству крови):

| | | | | | | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII |
| 12,6 % | 12,4 % | 16,2 % | 17,0 % | 22,2 % | 22,6 % | 25,4 % | 22,4 % |

Последствия взятия крови. Более или менее значительные последствия проявлялись только при взятии около 25 % общего количества крови: у мышей наблюдалась сонливость, продолжавшаяся иногда до 3 часов, в 3 % случаев в этот период наступала смерть животного. По истечении этого периода дело шло на поправку, отмечалось только незначительное снижение веса животного.

Облучение. Мы производили общее облучение мышей с помощью аппарата Super-Sanax при 180 kV, 15 mA, фильтрации 1 мм Al и 0,5 мм Cu и при фокусном расстоянии в 40 см и при токе 75 г/мин. в течение 7 мин. 20 сек. или 7 мин. 35 сек. Общая доза облучения при измерении

Таб. 1.

| Серия | Количество мышей в группе | Крово-потеря | Облучение | Интервал между взятием крови и облучением | % выживающих | Среднее время выживания (в днях) |
|-------|---------------------------|--------------|-----------|---|--------------|----------------------------------|
| I. | 10 самок | 12,6 % | 570 г | 7 дней | 0 | 12,0 |
| | 10 самок | | | 4 дня | 0 | 11,8 |
| | 10 самок | | | 2 дня | 0 | 11,6 |
| | 10 самок | | | 6 часов | 10 | 12,0 |
| | 10 самок | | | (не бралась) | 10 | 11,8 |
| II. | 11 самцов | 12,4 % | 570 г | 7 дней | 0 | 11,3 |
| | 11 самцов | | | 4 дня | 0 | 11,4 |
| | 11 самцов | | | 2 дня | 0 | 11,0 |
| | 11 самцов | | | 6 часов | 9 | 11,4 |
| | 11 самцов | | | (не бралась) | 0 | 11,0 |
| III. | 10 самцов | 16,2 % | 550 г | 7 дней | 40 | 13,3 |
| | 10 самцов | | | 4 дня | 20 | 13,4 |
| | 10 самцов | | | 2 дня | 10 | 11,5 |
| | 10 самцов | | | 6 часов | 20 | 14,1 |
| | 10 самцов | | | (не бралась) | 20 | 12,7 |
| IV. | 10 самок | 17,0 % | 570 г | 7 дней | 20 | 12,1 |
| | 10 самок | | | 4 дня | 20 | 12,5 |
| | 10 самок | | | 2 дня | 0 | 10,6 |
| | 10 самок | | | 6 часов | 10 | 13,3 |
| | 10 самок | | | (не бралась) | 10 | 12,3 |
| V. | 14 самцов | 22,2 % | 550 г | 7 дней | 28 | 14,3 |
| | 14 самцов | | | 4 дня | 21 | 14,5 |
| | 14 самцов | | | 2 дня | 21 | 10,9 |
| | 14 самцов | | | 6 часов | 50 | 13,3 |
| | 14 самцов | | | (не бралась) | 21 | 12,4 |
| VI. | 14 самок | 22,6 % | 570 г | 7 дней | 21 | 12,0 |
| | 14 самок | | | 4 дня | 28 | 11,4 |
| | 14 самок | | | 2 дня | 0 | 9,8 |
| | 14 самок | | | 6 часов | 21 | 13,5 |
| | 14 самок | | | (не бралась) | 14 | 11,4 |
| VII. | 20 самцов | 25,4 % | 550 г | 7 дней | 45 | 13,5 |
| | 20 самцов | | | 4 дня | 35 | 14,0 |
| | 20 самцов | | | 2 дня | 20 | 12,2 |
| | 20 самцов | | | 6 часов | 20 | 12,7 |
| | 20 самцов | | | (не бралась) | 25 | 12,8 |

в воздухе с помощью дозиметра Мекарион составляла 550 г или же 570 г в центре тела. При облучении мыши помещались по 5 (по 1 из каждой группы) в чашку Петри, диаметром в 11 см, прикрытую марлей и укрепленную на вращающемся столике под рентгеновской лампой. Часть мышей всех подопытных групп не облучалась и служила в качестве контроля.

Все мыши были обозначены значками и взвешивались индивидуально 3 раза в неделю. Погибшие животные вскрывались. Все опыты продолжались в течение 30 дней со дня облучения.

Результаты

Серии опытов I—VII

Рассмотрим сперва результаты серий I—VII. В таб. 1 приводятся данные относительно смертности и времени выживания в отдельных сериях.

Среднее время выживания погибших животных. Наиболее короткое время выживания во всех сериях наблюдалось у тех мышей, у которых кровь бралась за 2 дня до облучения.

При небольшой потере крови эта разница бывала незначительна, при более значительной потере крови она увеличивалась, а в VI и VII опытах она находится на границе статистической значимости (при проверке с помощью t -теста $P = 4\%$). У мышей всех остальных групп (взятие крови за 6 час., за 4 и 7 дней до облучения) среднее время выживания бывало всегда больше, чем в контроле. Разница опять-таки бывала наименее значительной при небольшой потере крови. Различия в отдельных сериях не имеют статистического значения.

В таб. 2 приводятся общие показатели серий III—VII, т. е. мышей, которые после потери 16,2—25,4% общего количества крови облучались общим количеством в 550—570 г. Из таб. 2 вытекает, что потеря крови за 2 дня до облучения несколько (но статистически сигнификантно — t -тест) снижает устойчивость мышей по отношению к облучению, тогда как потеря крови в остальных использовавшихся в опыте интервалах повышает их устойчивость. Сходство результатов во всех сериях, даже если они не имеют статистической значимости, позволило нам сделать вышеприведенные выводы.

Смертность. Кривая смертности мышей в отдельных группах и сериях проходит — за незначительными исключениями — в общем параллельно со средней продолжительностью выживания. Более низкая смертность наблюдалась у групп, в которых кровь у мышей бралась за 6 час. и за 4 или 7 дней до облучения, а более высокая — у группы, где кровь бралась за 2 дня до облучения. Ни отдельные результаты, ни их сводка (таб. 2) не имеют статистического значения.

Вес и данные вскрытия. Снижение веса после облучения у различных групп мышей в отдельных сериях характеризовалось слишком незначительными, не поддающимися оценке различиями. Не было в общем разницы и между данными вскрытий мышей отдельных групп.

VIII серия опытов

Результаты этой серии опытов, при которых мы брали у мышей в среднем 22,4% общего количества крови за 20—60 минут до облучения общим количеством 550 г, приводятся в таб. 3. Для сравнения здесь приводится и часть опытов V серии, производившихся при таких же условиях.

При этом опыте мыши, у которых бралась кровь, значительно отличаются от контрольных

Таб. 2.

| Серия | Количество мышей в группе | Интервал между взятием крови и облучением | % выживающих | Среднее время выживания (в днях) | Значимость разницы среднего времени выживания в сравнении с контрольными мышами, у которых кровь не бралась |
|------------------|---------------------------|---|--------------|----------------------------------|---|
| III. --- VII. | 68 | 7 дней | 32 | 13,1 | $P < 2\%$ |
| | 68 | 4 дня | 26 | 13,1 | $P < 2\%$ |
| | 68 | 2 дня | 12 | 11,0 | $P < 1\%$ |
| | 68 | 6 часов | 25 | 13,2 | $P < 2\%$ |
| | 68 | (не бралась) | 19 | 12,3 | — |

Таб. 3.

| Серия | Крово-потеря | Облучение | Количество мышей в группе | Количество часов до взятия крови | % выживающих | Значимость разницы в смертности | Среднее время выживания (в днях) | Значимость разницы времени выживания |
|-------|--------------|-----------|---------------------------|----------------------------------|--------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| VIII. | 22,4 % | 550 г | 15 самцов | 1 | 53 | $P \approx 2\%$ | 14,2 | $P \approx 2,5\%$ |
| | | | 15 самцов (не бралась) | 13 | 12,0 | | | |
| V. | 22,2 % | 550 г | 14 самцов | 6 | 50 | $P > 10\%$ | 13,3 | $P > 5\%$ |
| | | | 14 самцов (не бралась) | 21 | 12,4 | | | |

по среднему времени выживания и по показателям смертности. Из сравнения с опытом V вытекает, что потеря крови за час до облучения оказывает, по всей вероятности, более сильное защитное действие, чем взятие крови за 6 час. до облучения.

Потеря в весе и данные вскрытия оказались в подопытной и в контрольной группах практически одинаковыми.

Дискуссия

Защитным влиянием анемии занимались Mottram и Eidinow (1932). Они установили, что у крыс чувствительность кожи и саркомы Jensen-a к облучению бета- и гамма-лучами снижается, если непосредственно перед облучением у них было взято 1—5 мл крови. Взятие крови после облучения действия не оказывает.

В последнее время Stohlman с сотрудниками (1955) исследовали с помощью Fe^{59} эритропоз у собак и крыс после облучения. Они подтвердили, что сублетальные дозы рентгеновских лучей угнетают образование красных кровяных телец, но одновременно установили, что потеря крови непосредственно перед облучением или после него, а также введение парааминопропиофенона непосредственно после облучения в значительной степени повышают эритропоз. Эти авторы полагают, что на эритропоэтическую функцию благоприятно действует гуморальный фактор, выделяющийся в период гипоксии.

Этим данным Mottram-a и Stohlman-a отвечают и результаты наших опытов, при которых мы брали кровь у мышей за час или за 6 часов до облучения.

Реакцию кроветворных тканей на облучение после потери крови изучали Jacobson с сотрудниками (1948, 1954). Они вызывали у кроликов регенеративную анемию, вводя им фенилгидразин или производя 3 дня подряд повторные пункции сердца, причем бралось всегда по 300 мл крови. Регенеративная анемия достигала максимума на второй день после последнего введения фенилгидразина или последнего взятия крови, когда кролики подвергались также облучению 800 г (LD 50/30 дней). Исследование крови и кроветворных органов показало, что облучение не повышает уже предварительно вызванной анемии. Костный мозг и селезенка бывали лучами нарушены меньше, так что в них оставались островки ненарушенной эритропоэтической ткани.

Подобным образом можно объяснять и результаты наших опытов. У мышей при взятии крови возникает регенеративная анемия; гиперпластическая кроветворная ткань, вероятно, оказывается менее чувствительной к облучению, что сказывается на несколько повышенной устойчивости по отношению к облучению у таких подопытных животных. Невыясненным остается вопрос снижения радиорезистентности у тех мышей, у которых кровь бралась за 2 дня до облучения. Этот вопрос нельзя решить без новых опытов. Тем не менее это наблюдение не противоречит опытам Jacobson-a, так как в его работах была создана анемия, возмущавшая при повторных взятиях крови. Кроме того максимум регенеративной анемии, а тем самым и устойчивости кроветворной ткани может у различных лабораторных животных наступать в различное время.

Комарова (1954) установила, что взятие 20% общего количества крови у кроликов за 15 час. до облучения ухудшает и удлиняет состояние анемии и лейкопении, вызванное облучением. Эти наблюдения свидетельствуют, повидимому, о существовании отрицательной фазы в радиорезистентности организма в результате потери крови, как было отмечено и нами у мышей, у которых кровь бралась за 2 дня до облучения.

Итак, при своих опытах мы убедились, что потеря крови перед облучением очень мало влияет на реакцию мышей на общее рентгеновское облучение. Незначительная потеря крови (около 12% общего количества) не меняет чувствительности к облучению. Более значительная потеря крови, — вплоть до 25% общего ее объема, что в условиях нашего опыта представляет максимальное

количество, при котором мыши могут еще выжить, — за час, 6 час., за 4 или 7 дней до облучения несколько повышает устойчивость мышей. Напротив, потеря крови за 2 дня до облучения их устойчивость несколько снижает.

Итак, на вопрос, который мы поставили себе в настоящей работе, можно ответить, что даже максимальная потеря крови перед облучением вызывает у мышей лишь очень незначительные изменения чувствительности по отношению к облучению.

Резюме

1. В различные сроки (за час, 6 час., 2, 4 и 7 дней до общего облучения дозой в 550—570 r при LD 80—90/30 дней) у мышей бралось 12—25% объема крови.

2. Взятие небольшого количества крови (приблизительно до 15%) не оказывает влияния на радиорезистентность мышей.

3. Взятие более значительных количеств (16—25%) несколько повышает радиорезистентность у мышей, если производится за час, 6 час., 4 или 7 дней до облучения.

4. Потеря большого количества крови (16—25%) несколько снижает радиорезистентность у мышей, если происходит за 2 дня до облучения.

5. Потеря крови за час до облучения оказывает более сильное защитное действие, чем потеря такого же количества крови за 6 час. до облучения.

Л и т е р а т у р а

- К о м а р о в а, О. И.: Влияние лучей рентгена на морфологический состав крови кроликов после кровопотери. ДАН СССР 96 : 1069, 1955.
- J a c o b s o n, L. O., M a r k s, E. K., G a s t o n, E. O., S i m m o n s, E. L., B l o c k, M. H.: Studies on Radiosensitivity of Cells. Science, 107 : 248, 1948.
- J a c o b s o n, L. O., M a r k s, E. K., G a s t o n, E. O., S i m m o n s, E. L., B l o c k, M. H.: Effects of Total-body X-irradiation on a Preexisting Induced Anaemia in Rabbits. I. Response of Animals with Anaemia Induced by Phenylhydrazine. II. Response of Animals with an Anaemia Induced by Bleeding. III. Histopathological Studies. Cit. Zirkle, R. E.: Biological Effects of External X and Gamma Rays 1., New York 1954.
- K a l i s s, N., P r e s s m a n, D.: Plasma and Blood Volumes of Mouse Organs, as Determined with Radioactive Iodoproteins. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75 : 16, 1950.
- M o t t r a m, J. C., E i d i n o w, A.: On the Effect of Anaemia on the Reactions of the Skin and of Tumours to Radium Exposure. Brit. J. Surg. 19 : 481, 1932.
- S t o h l m a n, F., C r o n k i t e, E. P., B r e c h e r, G.: Stimulation of Erythropoiesis in Irradiated Dogs and Rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 88 : 402, 1955.

The Influence of Loss of Blood on the Death Rate in Mice Following X-ray Irradiation

M. SKALKA

Summary

From 12—25% of the total blood volume was taken from mice at various times (one hour, six hours, two days, four days and seven days) before total-body X-irradiation with a dose of 550—570 r (LD 80—90/30 days).

The removal of a smaller amount of blood (up to about 15%) does not produce any changes in radioresistance in mice.

The removal of larger amounts (16—25%) tends to increase radioresistance when carried out one hour, six hours, four days or seven days before irradiation.

The removal of larger amounts (16—25%) tends to reduce radioresistance in mice when carried out two days before irradiation.

The removal of blood up to one hour before irradiation has a greater protective effect than the loss of the same amount of blood six hours before irradiation.

FOLIA BIOLOGICA

Том. II. (1956) — Fasc. 2

Влияние спирта на действие облучения у мышей

М. ПРАСЛИЧКА и И. ПЛЕШКО

Институт общей биологии медицинского факультета университета в Брно и Институт общей биологии медицинского факультета университета им. Коменского в Братиславе

Поступило в редакцию 12 VII 1955

Защитное действие низших спиртов, главным образом этанола, по отношению к облучению общеизвестно. Оно было отмечено у мышей (Paterson, Matthews 1951, Cole, Ellis 1952) и у микроорганизмов (Hollaender, Stapleton 1953). Мы сами наблюдали защитное действие растворов этанола, метанола и различных наркотических веществ в воде на облучаемых головастиков (Прасличка, Гавелка, Гелоня, Жижка 1955).

Нас интересовал вопрос, отличается ли защитное действие спирта от отношения к облучению от защитного действия, которое мы отметили у некоторых других наркотических веществ (Прасличка 1955). Мы производили опыты с бе-

Таблица 1

| Серия | Доза облучения | Группа | Количество животных в опыте | Количество переживающих в течение 30 дней после облучения | Средняя продолжительность переживания погибших |
|-------|----------------|--|-----------------------------|---|--|
| 1 | 630 г | I. Контрольная, 0,4 мл дест. воды внутрибрюшинно на 10 г веса за 10 мин. до облучения | 21 | 1 (19,45%) | — |
| | | II. Опытная, 0,4 мл 20% этанола в дест. воде внутрибрюшинно на 10 г веса за 10 мин. до облучения | 21 | 15 (71,43%) | — |
| 2 | 660 г | I. Контрольная, 0,4 мл физиологического раствора внутрибрюшинно на 10 г веса за 10 мин. до облучения | 33 | 0 | 10 дней 14 час. |
| | | II. 0,4 мл 25% этанола в физиологическом растворе внутрибрюшинно на 10 г веса за 10 мин. до облучения | 33 | 21 (63,64%) | — |
| | | III. 0,4 мл 10% этанола в физиологическом растворе внутрибрюшинно на 10 г веса за 10 мин. до облучения | 18 | 8 (45,45%) | — |
| | | IV. 0,4 мл 25% этанола в физиологическом растворе внутрибрюшинно на 20 г веса через 5 мин. после облучения | 15 | 0 | 7 дней 14 час. |

лыми мышами, — самцами и самками, разделенными на однородные группы по весу и полу. Мы облучали одновременно по 8—9 мышей в большой чашке Петри диаметром в 16 см, закрытой плотно марлей, так что движение животных было ограничено, а изменения расстояния от источника облучения до их кожи — полностью исключены. Мы обработали 2 серии подопытных животных.

Условия облучения в первой серии: 180 KV, 20 mA, ОК — 50 см, фильтр 1 мм Cu, мин. прилив 30 г (Victoreen), общая однократная доза 630 г. Во второй серии: 180 KV, 20 mA, ОК — 68 см, фильтр 3 мм Al, мин. прилив 53 г, общая однократная доза 660 г.

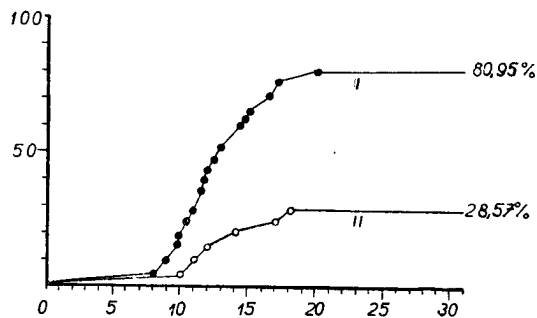


График 1. Ось X: количество дней после облучения, ось Y: % погибших.

Черные кружки (I) — контроль — 0,4 мл дест. воды внутрибрюшинно на 10 г веса за 10 мин. до облучения. Белые кружки (II) — 0,4 мл 20% спирта в дест. воде на 10 г веса внутрибрюшинно за 10 мин. до облучения.

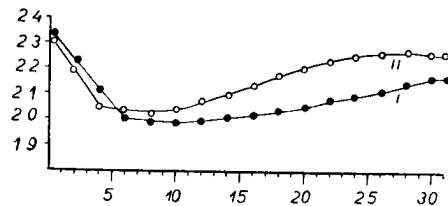


График 2. Ось X: количество дней после облучения, ось Y: средний вес в г.

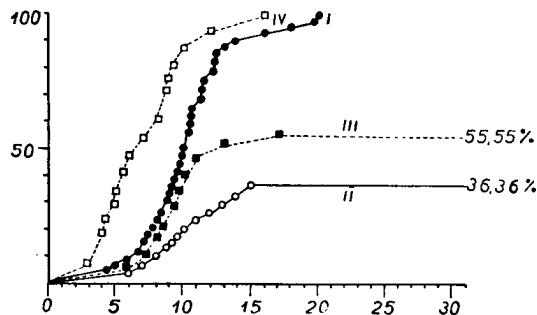


График 3. Ось X: количество дней после облучения, ось Y: % погибших.

Черные кружки (I) — контроль — 0,4 мл физиологического раствора на 10 г веса за 10 мин. до облучения. Белые кружки (II) — 0,4 мл 25% этанола в физиологическом растворе на 10 г веса внутрибрюшинно перед облучением. Черные квадратики (III) — 0,4 мл 10% этанола в физиологическом растворе на 10 г веса внутрибрюшинно за 10 мин. до облучения. Белые квадратики (IV) — 0,4 мл 25% этанола в физиологическом растворе на 10 г веса внутрибрюшинно через 5 мин. после облучения.

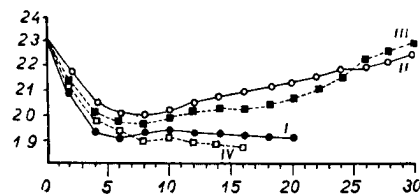


График 4. Ось X: количество дней после облучения, ось Y: средний вес в г.

После дозы 0,4 мл 10% спирта у мышей по большей части сохранялись постуральные рефлексы, после дозы 0,4 мл 20% спирта мыши спали 4—6 часов, но не погибали, после дозы 0,4 мл 25% алкоголя мыши в течение 6—7 час. оставались в состоянии глубокого наркоза и приблизительно 20% мышей погибало от отравления этанолом, так что они в дальнейшем не принимаются во внимание.

Введение этанола за 10 мин. до облучения имело значительное защитное действие по отношению к облучению, пропорциональное количеству применявшегося этанола. У подопытных животных защитное действие проявлялось снижением смертности до 30 дней после облучения и не столь резким снижением веса.

Применение спирта после облучения не оказывает защитного действия, — напротив, мыши погибали в среднем на 3 дня раньше, чем в контроле.

Результаты наших опытов отвечают данным других авторов (Paterson, Matthews 1951, Cole, Ellis 1952). Защитное действие этанола значительно выше, чем то, которое приводится для наркотических веществ, — даже и при таких дозах этанола, которые не вызывают наркоза.

Главным фактором в механизме защитного действия, вероятно, является то, что этанол в организме быстро окисляется, на что уходит определенное количество кислорода или токсических окислительных радикалов. Cole и Ellis (1952) говорят о возможности активизации под действием этанола каталазы.

В зависимости от глубины наркоза могут постепенно вступать в действие и факторы, которые мы отмечали у наркотических веществ: снижение поглощения кислорода, адреналиновый эффект, гипергликемия, гистотоксическая аноксия.

Л и т е р а т у р а

- П р а с л и ч к а, М., Г а в е л к а, Я., Г е л о н я, Ю., Ж и ж к а, Я.: Влияние одновременного действия рентгеновских лучей и некоторых анестетических и раздражающих веществ на смертность головастиков. *Fol. biol. (Praha)* 1 : 375, 1955.
- C o l e, J. L., E l l i s, M. E.: Decreased X-ray Sensitivity of Mice Following the Administration of Ethanol. *Am. J. Physiol.* 170 : 724, 1952.
- H o l l a e n d e r, A. S t e p l e t o n, G. K.: Fundamental Aspects of Radiation Protection from a Microbiological Point of View. *Physiol. Rev.* 33 : 77, 1953.
- P a t e r s o n, E., M a t t h e w s, J. J.: Protective Action of Ethyl Alcohol on Irradiated Mice. *Nature* 168 : 1126, 1951.
- P r a s l i č k a, M.: Príspevok k vplyvu chloroformovej a éterovej narkózy na účinok žiarenia. *Čs. biologie* 4 : 88, 1955.

The Influence of Ethanol on the Action of Irradiation in Mice

M. PRASLIČKA and I. PLEŠKO

Summary

Two series of mice were irradiated with doses of 630 and 660 r (Victoreen) respectively.

In the first series (630 r), out of the 21 experimental mice (0.4 ml. 20 % ethanol in distilled water administered prior to irradiation), 71.4 % survived for 30 days following irradiation. Of the 21 control mice (0.4 ml. distilled water administered 10 mins. prior to irradiation), only 19 % survived.

In the second series (660 r), out of 33 mice (0.4 ml. 25 % ethanol in physiological saline administered 10 mins. prior to irradiation), 63.6% survived for 30 days following irradiation. Of 18 mice (0.4 ml. 10 % ethanol in physiological saline administered 10 mins. prior to irradiation), 45.4 % survived. All the 33 control mice (0.4 ml. physiological saline administered 10 mins. prior to irradiation) died by the 11th day following irradiation; 15 mice which were given ethanol (0.4 ml. 25 % ethanol in physiological saline) following irradiation all died by the 8th day. The doses are calculated on the log. of the weight.

The results show that ethanol administered 10 mins. prior to irradiation provided a high degree of protection against irradiation, which corresponded to the amount of ethanol administered. In the experimental animals the protective effect was expressed by a low mortality rate up to 30 days following irradiation and by a smaller loss in weight.

Ethanol administered following irradiation gives no protection. On the contrary, these mice died on an average three days sooner than the control animals.

К вопросу роли клеток в процессе сближения

М. ГАШЕК, А. ЛЕНГЕРОВА, Я. МАЙЕР и Э. МАТЕРНОВА
Биологический институт ЧСАН, экспериментальная биология и генетика, Прага

Поступило в редакцию 21 IX 1955

Весьма важен вопрос, необходимо-ли для иммунологического сближения участие клеток, или достаточно подвергнуть зародыш только влиянию чужеродных антигенов, к которым его метаболизм приспосабливается. Иммунологическое сближение с помощью антигенов донора позволяло бы также изучение процессов адаптации метаболизма в течение постэмбриогенеза, — при помощи гаптенных, введение которых не вызывало бы реакции иммунитета даже в постэмбриональный период, а быть может, оказалось бы даже способным осуществлять реакцию адаптации метаболизма в направлении сближения донора и реципиента.

В настоящей части наших опытов мы пытались вызвать иммунологическое сближение с помощью промытых и несколько раз замораживавшихся эритроцитов. Мы впрыскивали промытые и разрушенные замораживанием кровяные тельца или куриным зародышам (внутривенно), или однодневным цыплятам, так как мы уже раньше показали, что в онтогенезе адаптивный этап не ограничивается строго периодом эмбриогенеза, и у значительного процента однодневных цыплят можно вызвать сближение путем впрыскивания антигенов донора.

Методика

Для впрыскиваний однодневным цыплятам кровь бралась путем пункций сердца от других однодневных цыплят в состоянии эфирного наркоза, в которое их следует вводить очень осторожно. При слишком большой дозе помогало искусственное дыхание, вызывавшееся путем легкого надавливания пальцами на грудную клетку. Для получения цитратной крови у цыпленка бралось от 0,4 до 1,00 мл крови. Для уколов зародышам применялась кровь более взрослых цыплят, у которых она бралась шприцом из вены крыла.

Приготовление замороженных кровяных телец. Цитратная кровь (1 мл цитрата, до 5 мл крови) освобождалась от плазмы путем центрифугирования и трижды промывалась в физиологическом растворе, охлажденном до +4 °С. Промытые тельца разводились физиологическим раствором 1 : 1, трижды замораживались при —23° С и размораживались в термостате при 37 °С. Производился цитологический контроль. Антигенный характер разрушенных эритроцитов проверялся путем иммунизации. Приготовленные таким образом кровяные тельца применялись для иммунизации другого животного и вызывали образование иммунных агглютининов.

Впрыскивания однодневным цыплятам. Однодневным цыплятам впрыскивались внутривенно промытые и разрушенные повторным замораживанием кровяные тельца в количестве 0,3 мл. Уколы производились при обезболивании тонкой иглой в вену крыла. Для подкожных впрыскиваний в количестве 0,4 мл игла вводилась через мышцу бедра под кожу на животе.

Внутривенные впрыскивания куриным зародышам. Мы впрыскивали при помощи волосной стеклянной трубочки или тонкой иглы обыкновенно по 0,2 мл эритроцитов в крупные хорионаллантоисные сосуды на 11-й—13-й день инкубации. Место укола заранее определялось путем просвечивания. По разветвлениям сосудов находилось направление тока крови (притоки входят в главный сосуд в направлении тока крови под более острым углом). В скорлупе над местом предполагаемого укола высверливалось окошечко размерами около 3 : 10 мм, скорлупка вынималась пинцетом, а пленка под ней прояснялась с помощью капли парафинового масла. Оболочка протыкалась коротким уколом иглы с туберклиновым шприцом.

и игла осторожно вводилась в сосуд. Положение иглы в сосуде можно контролировать или легкими движениями иглы вправо-влево, когда с ней смещается и сосуд, или можно наблюдать наполнение сосуда при впрыскивании. Ориентировка облегчается, если яйцо во время впрыскивания поместить на лампочку для просвечивания. Впрыскивание взвеси в сосуд следует производить неспеша. После удаления иглы обыкновенно наблюдается незначительное кровотечение. Высверленный кусочек скорлупы, или другой, заранее приготовленный стерильный кусочек скорлупы, прикладывается затем к отверстию и прикрепляется осторожно теплым парафином.

Пересадка кожи. Пересадка производилась 14-дневным цыплятам. Для укрепления пересаженного лоскута применялся коллодий. Для того, чтобы коллодий не коробился и сохранял необходимую эластичность, к раствору коллодия прибавляется камфора и касторовое масло (по Cannon-у и Longmire, 1952: 30 г касторового масла и 20 г камфоры на 1000 мл раствора коллодия). На теле реципиента пересаженные лоскуты кожи также покрывались большим количеством коллодия, который у мелких животных вполне заменяет швы. Его удобство заключается и в том, что плотный слой коллодия предупреждает развитие каннибализма у цыплят. Коллодий отваливается на 6—10-ый день после трансплантации. Приживление кожного гомотрансплантата расценивалось по степени оперения пересаженной кожи. В качестве доноров использовались цыплята другой породы и с другой окраской перьев, по которой можно было судить об оперении принявшегося трансплантата.

Результаты

Мы производили пересадку кожи в общем у 82 цыплят. Результаты уколов однодневным цыплятам приводятся в таб. 1. У 20 контрольных цыплят кожные трансплантаты никогда не выдерживали долго, тогда как у тех особей, которым на первый день после выклеывания из яйца впрыскивались промытые эритроциты, нормальное оперение наблюдалось в 8 случаях из 21. У 22 цыплят, которым впрыскивались разрушенные путем замораживания кровяные тельца, трансплантаты никогда долго не переживали и разрушались так же, как и у контрольных. Итак, при введении промытых кровяных телец (как внутривенно, так и подкожно) у части однодневных цыплят происходит сближение.

Такие же результаты были нами получены при внутриэмбриональных впрыскиваниях разрушенных путем замораживания промытых кровяных телец: у 19 цыплят, которым в зародышевом состоянии впрыскивались внутривенно разрушенные кровяные тельца, ни в одном случае не наблюдалось сближение и совместимость кожного трансплантата, взятого от того же донора в течение постэмбриогенеза.

Дискуссия

Впервые пример, свидетельствующий об адаптации зародыша к гомологичным клеткам, — в данном случае естественным путем, — у двузиготных близнецов домашнего скота, был описан Owen-ом (1945). Однако здесь взаимная передача кроветворных клеток между обоими зародышами и постоянная продукция также и кровяных телец чуждого антигенного характера, кроме телец, генетически присущих данной особи, соединяется с адаптацией зародыша по отношению к антигенам, так что даже в течение постэмбриогенеза обе особи не реагируют на эритроциты партнера в смысле иммунобиологического антагонизма. Самое доказательство этой адаптации было произведено путем определения наличия химер крови и у взрослых особей. Таким образом, сосуществование клеток обоих партнеров в каждом из них было необходимым условием открытия этого адаптивного процесса. Burnet (1949) сделал попытку отделить явление собственно адаптации, которое он, — в соответствии со своей гипотезой образования антител, — связывает с возникновением адаптивных ферментов, — от сохраняющихся у обеих особей клеток антигенного типа. Он изучал видоизменения иммунологической реакции в результате экспериментального вве-

Таб. 1.

| | Впрыскиваемое количество | Количество животных | Состояние кожных гомотрансплантатов, взятых от доноров кровяных телец | | |
|--|--------------------------|---------------------|--|--|------------------------------------|
| | | | На 10-ый день после трансплантации | На 15-ый день после трансплантации | На 18-ый день после трансплантации |
| Внутривенное впрыскивание промытых кровяных телец | 0,3 мл | 8 | 7 трансплантатов в хорошем состоянии 1 омнирайский трансплантат | 2 трансплантата оперяются 2 трансплантата без реакции 4 трансплантата погибли | 4 трансплантата оперяются |
| | 0,3 мл | 8 | 8 трансплантатов в хорошем состоянии | 8 трансплантатов погибли | |
| Подкожные впрыскивания промытых кровяных телец | 0,4 мл | 13 | 9 трансплантатов в хорошем состоянии 4 трансплантата с сильной воспалительной реакцией | 2 трансплантата оперяются 2 трансплантата без реакции 1 трансплантат с сильной воспалительной реакцией | 4 трансплантата оперяются |
| | 0,4 мл | 14 | 9 трансплантатов в хорошем состоянии 3 трансплантата с сильной воспалительной реакцией 2 нарушенных трансплантата | 2 трансплантата с сильной воспалительной реакцией 12 трансплантатов погибли | 14 трансплантатов погибли |
| Подкожные впрыскивания разрушенных путем замораживания промытых кровяных телец | — | 20 | 14 трансплантатов в хорошем состоянии 2 трансплантата с сильной воспалительной реакцией 4 нарушенных трансплантата | 2 трансплантата с сильной воспалительной реакцией 18 трансплантатов погибли | 20 трансплантатов погибли |
| | | | | | |

дения различных антигенов (в желточный мешок, в сосуды хорионаллантоис), но получил отрицательные результаты (Burnet, Stone и Edney 1950), — очевидно потому, что, как мы уже отметили (Френцль, Гашек, Гашкова, Граба 1955), он пользовался слишком отдаленными чужеродными клетками. Однако первые результаты наших опытов эмбрионального парабиоза (Гашек, Граба 1955) говорят о том, что в условиях экспериментального эмбрионального парабиоза куры могут отличаться от естественных парабионтов-телят в том, что у них не сохраняются кровяные химеры обоих партнеров, несмотря на потенциальное взаимное сближение. Однако Brent (1955) отмечал иногда у птичьих экспериментальных эмбриональных парабионтов более продолжительную циркуляцию кровяных телец партнера, — иногда даже в течение 6 месяцев.

Если бы удалось вызвать сближение путем впрыскивания предварительно разрушенных клеток, то это было бы прямым доказательством, которое исключало бы необходимость предполагать репопуляцию чужеродных кровяных клеток в сближаемых организмах. Наши результаты с замораживавшимися промытыми эритроцитами оказались негативными. Однако необходимо продолжать разрабатывать препаративную сторону вопроса разрушения клеток, прежде чем высказывать окончательное заключение.

Резюме

1. При впрыскиваниях однодневным цыплятам промытых кровяных телец другой особи подтвердилось сделанное нами ранее наблюдение (Гашек 1955), что и в начале постэмбриональной жизни цыплят часто бывает возможно вызвать у них иммунологическое сближение (приблизительно в 30—50% случаев).
2. Разрушенные путем замораживания промытые эритроциты ни при введении в зародыши, ни при впрыскивании на первый день после выклеывания из яйца не создают совместимости по отношению к кожному трансплантату от того же донора.

Л и т е р а т у р а

- Brent, L.: Some Consequences of Parabiosis in Chick Embryos. International Embryological Conference Brussels (Summaries), 1955.
- Burnet, F. M., Fennel, F.: The Production of Antibodies. Melbourne 1949.
- Burnet, F. M., Stone, J. D., Edney, M.: The Failure of Antibody Production in the Chick Embryo. Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 28 : 291, 1950.
- Cannon, J., Longmire, W.: Studies of Successful Skin Homografts in Chicken. Ann. Surgery 135 : 60, 1952.
- Frenzl, B., Hašek, M., Hašková, V. a Graba, T.: Imunologické vztahy u embryonálních parabiontů mezi kačnou a slepicí. I. Čs. biologie 4 : 1, 1955.
- Hašek, M.: Problém překonání neslučitelnosti tkání při homoplastických přenosech. Časopis lékařů českých 94 : 41, 1955.
- Hašek, M., Graba, T.: Immunological Effects of Experimental Embryonal Parabiosis. Nature 175 : 763, 1955.
- Owen, R. D.: Sci. 102 : 400, 1945 (cit. Owen 1946).
- Owen, R. D.: Erythrocyte Mosaics among Bovine Twins and Quadruplets. Genetics 31 : 227, 1946.

On the Role of Cells in the Process of Adaptation

M. HAŠEK, A. LENGEROVÁ, J. MAJER and E. MATERNOVÁ

Summary

The question of whether cells are necessary for producing immunological tolerance, or whether it is sufficient to "expose" the embryo to foreign antigens of a non-cellular character, is an important one. Blood cells were therefore destroyed, washed and injected into chick embryos and one-day-old chicks, since the adaptation described can also be produced in a large proportion of newborn chicks (Hašek 1955). The donors were day-old chicks, from which blood was collected by cardiac puncture, and older animals. The citrated blood was freed of plasma by centrifuging and washed three times with physiological saline (4° C). The washed cells were diluted with physiological saline in the ratio of 1 : 1, frozen three times at — 23° C and thawed at + 37° C. A cytological control was then made. The thawed blood cells, used for the immunisation of adult hens, led to the formation of immune agglutinins.

Skin transplants from the blood donors were always made on to 14-day-old animals. The taking of a skin graft was evaluated by the feathering on the transplanted skin (the donors were of a strain with different feather colouring). In the 20 controls the skin transplants were destroyed. In eight individuals of 21 which were injected with washed blood cells on the first day after hatching, the transplants are maintained and are growing feathers. In 22 animals injected on the first day with frozen, destroyed cells, the transplants were destroyed, as in the controls. It makes no difference whether the blood cells are injected into the day-old chicks intravenously or subcutaneously. In 19 chicks which were injected with destroyed cells intra-embryonically, in not a single case was adaptation to a skin transplant from the donor found.

If it should prove possible to evoke immunological adaptation by injecting destroyed blood cells beforehand, this would be direct evidence excluding the necessity of re-population with foreign blood cells. It will be necessary, however, to continue to study the preparatory aspect of the destruction of the cells before being able to give a definite reply to this question.

Вниманию читателей (исправление):

К статье Т. Граба и М. Гашек: *Гомотрансплантация кожи у однодневных цыплят, утят и индюшат* была по ошибке на стр. 63 приложена таблица, которая относится к статье М. Гашек, А. Ленгерова, Я. Майер и Э. Матернова: *К вопросу роли клеток в процессе сближения*.

Reparer T. Hrabá and M. Hašek:

The table on p. 63, appended to the communication of T. Hrabá and M. Hašek: *Skin Homotransplants in Day-old Chicks, Ducks and Turkeys* belongs to the communication of M. Hašek, A. Lengeroová, J. Majer and E. Maternová: *On the Role of Cells in the Process of Adaptation*.



Fig. 7. Submerged Sporulation of *Streptomyces griseus*. Preparation from 5-day-old culture grown on medium with 1% gelatine and 1.5% glucose. Stained with Gram, Magnification: 2000.
Fig. 8. Mycelium from 5-day-old culture of *S. griseus*, grown on medium with 1% gelatine peptides and 1.5% glucose. Stained with Gram, Magnification: 2000. Photograph: J. Fiala.

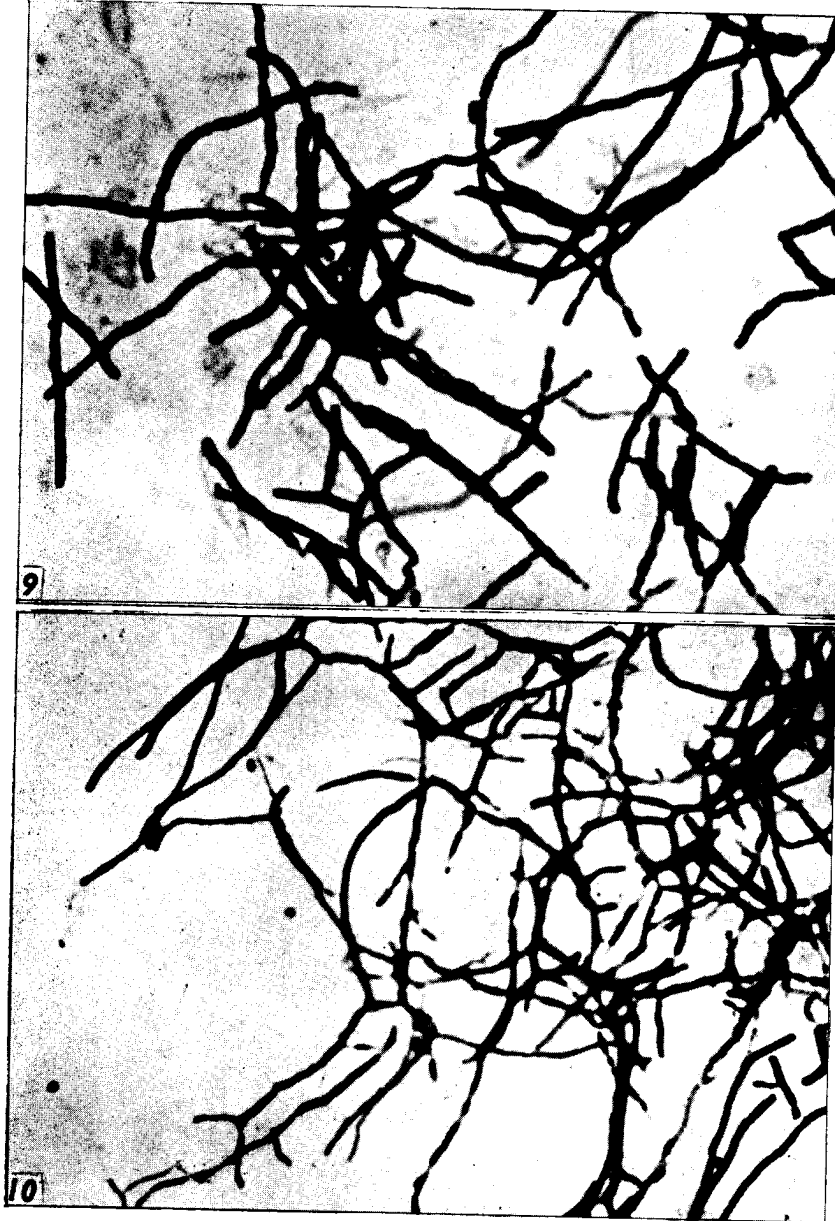


Fig. 9. Mycelium from 5-day-old culture of *S. griseus*, grown on medium with 1% gelatine amino acids and 1.5% glucose. Stained with Gram. Magnification: 2000.

Fig. 10. Mycelium from 4-day-old culture of *S. griseus*, grown on medium with 1% peptone and 1.5% glucose. Stained with Gram. Magnification: 1500. Photograph: J. Fiala.

СО Д Е Р Ж А Н И Е

C O N T E N T S

I N H A L T

| | |
|--|--|
| <p>Ryšavý, B.: Die Frage der Spezifität und Variabilität der Coccidien bei verschiedenen Wirten. (Рышавый, Б.: К вопросу специфичности и изменчивости кокцидий у различных хозяев)</p> <p>Chaloupka, J.: Proteolytic Enzymes of <i>Streptomyces griseus</i>. II. The Influence of the Nature and Concentration of Nitrogen on the Secretion of Protease. (Халоупка, Ю.: Протеолитические ферменты актиномицета <i>Streptomyces griseus</i>. II. Влияние характера и концентрации азота на выделение протеазы)</p> <p>Санто, Я.: Титрация вируса гриппа в тканевых культурах. (Szántó, J.: Titration of the Influenza Virus in Tissue Cultures)</p> <p>Войтишкова, М. и Книже, Б.: Отдаленное половое скрещивание цесарки (<i>Numida meleagris</i> ♀) с петухом (<i>Gallus domesticus</i> ♂). Vojtišková, M., und Kníže, B.: (Entferntgeschlechtliche Kreuzung von Perlhuhn (<i>Numida meleagris</i> ♀) und Hahn (<i>Gallus domesticus</i> ♂)</p> <p>Горжавка, Ф., Боучкова-Мартиновская, А. и Стейскал, В.: Фотопериодические опыты с просом. (Hořavka, F., Boučková-Martínovská, A. und Stejskal, B.: Photoperiodische Versuche mit Hirse)</p> <p>Пенка, М.: Оценка почвенной воды с помощью биологического метода кривых высыхания. (Pěnka, M.: Die biologische Wertung des Bodenwassers mit der Methode der Austrocknungskurven)</p> <p>Поспишил, Ф.: Влияние радиоизотопов S^{35} и P^{32} на изменения потенциалов корня. (Pospíšil, F.: The Influence of Radioisotopes S^{35} and P^{32} on Changes in the Biopotentials of Roots)</p> <p>Скалка, М.: Влияние потери крови на смертность мышей от рентгеновского облучения. (Skalka, M.: The Influence of Blood-Loss on the Death Rate in Mice Following X-ray Irradiation)</p> <p>Прасличка, М. и Пleshко, И.: Влияние спирта на действие облучения у мышей. (Praslička, M. and Pleško, I.: The Influence of Ethanol on the Action of Irradiation in Mice)</p> <p>Краткие сообщения</p> | <p>65</p> <p>72</p> <p>79</p> <p>84</p> <p>88</p> <p>100</p> <p>112</p> <p>116</p> <p>121</p> <p>123</p> |
|--|--|