

лаис физиологически активных веществ смещается в сторону увеличения ауксинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белмуш Г. Т., Кириллова Э. Н., Клец Ф. И. Тез. докл. Всесоюз. конф. «Проблемы физиол. и биох. древесных растений», 7, Красноярск, 1982.
2. Белозерский А. Н., Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений. 388, М., 1951.
3. Верзилов В. Ф. В сб.: Фитогормоны в процессах роста и развития растений. 3—20, М., 1974.
4. Верзилов В. Ф., Белянская Е. В. В сб.: Фитогормоны—регуляторы роста растений. 5—10, М., 1980.
5. Казарян В. О. Старение высших растений. 314, М., 1969.
6. Кефели В. И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны. 252, М., 1974.
7. Кефели В. И., Турецкая Р. Х. Методика определения регуляторов роста и гербицидов. 199, М., 1966.
8. Курсанов А. Л., Транспорт ассимилятов в растениях. 646, М., 1976.
9. Леопольд А. Рост и развитие растений. 494, М., 1968.
10. Лобода В. М., Плотникова И. В., Сливак И. М. В кн.: Применение физиологически активных веществ в садоводстве. 2, 170, М., 1974.
11. Маркосян Л. С. Изв. АН АрмССР, сер. биол. и с.-х. науки. 11, 12, 116—127, 1958.
12. Плотникова И. В., Верзилов В. Ф., Александрова В. С. В сб.: Фитогормоны и рост растений. 18—22, М., 1978.
13. Руденко И. С. В кн.: Физиология сельскохозяйственных растений. 10. 5—14, М., 1968.
14. Сергеева К. А. Физиологические и биохимические основы зимостойкости древесных растений. 172, М., 1971.
15. Туркин Н. И., Павлова В. В., Лисичкина С. В. В кн.: Биохимия и биофизика транспорта веществ у растений. 44—16, Горький, 1979.
16. Туркова Н. С. Основные этапы онтогенеза и развитие генеративных органов цветковых растений. 2, 407—466, М., 1967.
17. Филиппов Р. И. Автореф. канд. дисс., 23, Кншинев, 1967.
18. Хажакян Х. К., Чайлахян М. Х. Докл. АН СССР, 229, 2, 516, 1976.
19. Чайлахян М. Х., 25-е Тимирязевские чтения, 58, М., 1964.
20. Чайлахян М. Х., Хрянин В. И. Пол растений и его гормональная регуляция. 173, М., 1982.
21. Hah! Ishan. Pakistan J. Bot., 12, 2, 189—194, 1980.
22. Honda S. J. Plant physiol., 31, 1, 62—70, 1955.
23. Kazarlan V. O., Karapetian K. A. Biol. plantarum (Praha), 4, 4, 269—277, 1962.
24. Schöemle E. Arzneimittler—Forsch., 30, 112, 1970—1974, 1980.

Поступило 3.1 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 7, с. 555—563, 1986

УДК 547.466-543.8/9+577.152.1

НЕКОТОРЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В РАЗВИТИИ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА АМИНОКИСЛОТ

А. Л. СИМОНЯН, Г. Э. ХАЧАТРЯН, С. Ш. ТАТИКЯН, Ц. М. АВАКЯН

Ереванский физический институт ГКИАЭ СССР, лаборатория
радиационной биофизики

Аннотация—Рассмотрены основные методы, применяемые для анализа аминокислот. Приведена их сравнительная оценка, освещены эмпирические методы анализа, в частности, ферментные анализаторы. На основа-

ний сравнения достоинств и недостатков ферментных анализаторов, работающих с использованием разных классов ферментов, сделан вывод о целесообразности использования в подобных системах оксидаз. В качестве примера описан разработанный авторами ферментный анализатор для специфического определения концентрации L-лизина.

Անտադիա — Դիտարկված են ենթակյումն ամինաթթուների անալիզում կիրառվող հիմնական մեթոդները: Տրված է նրանց Համեմատական ցուցիչները, մահումատան լուսարանված են անալիզի ֆերմենտային մեթոդները, մասնավորապես ֆերմենտային անալիզատորները: Համեմատելով ֆերմենտների տարբեր խմբերի կիրառման հիման վրա արխուտող ֆերմենտային անալիզատորների առավելությունները և թերությունները, եզրակացություն է արված նման սխեմաներում օքսիդազների օգտագործման նպատակահարմարության մասին: Որպես օրինակ նշարագրված է Վեյնշանների կողմից մշակված L-լիզինի անալիզատորը:

Abstract — The basic methods for amino acid analysis applied nowadays are considered. The comparative appraisal of methods is represented. The enzymatic methods of analysis, particularly the enzyme analyzers are described in detail. Comparing the merits and deficiencies of enzyme analyzers operating on the basis of enzymes of different classes a conclusion has been made about the expediency of the utilization of oxidases in such systems. As an example an enzyme analyzer designed by the authors for specific determination of L-lysine concentration is described.

Ключевые слова: *методы анализа, аминокислоты, ферментные анализаторы, оксидазы аминокислот.*

Одной из актуальнейших проблем современной науки и технологии является проблема получения в больших количествах ряда аминокислот. Острота задачи определяется как огромным дефицитом белка, так и необходимостью получения сбалансированной по аминокислотному составу пищи путем соответствующих добавок. Известно также, какую важную роль играют аминокислоты в сельском хозяйстве и медицине [4], причем в медицинской практике требуются высокоочищенные аминокислоты, тогда как, например, в животноводстве это требование не является решающим.

На сегодняшний день применяются три основных способа получения аминокислот: микробиологический синтез, химический синтез рацемической смеси аминокислот и гидролиз природных белков, прямое потребление в пищу которых по тем или иным причинам невозможно.

По всей вероятности, наиболее перспективным является микробиологический синтез, как наиболее дешевый, производительный и наименее трудоемкий [5].

Понятно, что каким бы ни был способ получения той или иной аминокислоты, одним из основных моментов на всех стадиях производства и применения является ее количественное определение. Развитие таких методов в первую очередь актуально для микробиологического синтеза. Этот способ производства нуждается в оперативном контроле, а также в высокой селективности определения концентрации целевого продукта, поскольку культуральная жидкость представляет собой сложный, многокомпонентный раствор, содержащий наряду с сопутствующими аминокислотами также и целый ряд органических соединений.

Все разнообразие существующих в настоящее время методов определения аминокислот может быть сведено к спектроскопии, хроматографии и их сочетаниям. Тем не менее эти методы не всегда могут одновременно удовлетворять целому ряду требований, предъявляемых современной наукой и технологией. Это вынуждает обращаться к поиску новых методов. В последнее время методический арсенал анализа пополнился рядом энзиматических методов, что открыло определенные перспективы в анализе аминокислот. Достижения инженерной энзимологии позволили реализовать достоинства энзиматических методов при решении аналитических задач [2, 3].

Чтобы яснее представить себе место каждого метода в анализе аминокислот, рассмотрим преимущества и недостатки этих методов в отдельности.

На первый взгляд наиболее доступным и несложным является спектрофотометрический метод анализа аминокислот по прямому поглощению в УФ-области. Однако прямому определению поддается очень небольшое число их: фенилаланин, триптофан и тирозин. Кроме того, анализ возможен только в случае чистых растворов, содержащих соответствующие аминокислоты, что резко ограничивает области применения метода.

Одним из распространенных методов определения аминокислот является нингидриновый [16, 24]. Однако поскольку нингидрин взаимодействует с любым первичным и вторичным амином, этот метод в лучшем случае может быть применен только для оценки количества аминокислот в целом, да и то при условии отсутствия других аминов. В тех же многочисленных случаях, когда требуется определение индивидуальной аминокислоты, возникает необходимость либо предварительного разделения смеси, либо проведения специфических реакций, приводящих к образованию окрашенных продуктов, таких, например, как реакция Миллена на тирозин, Гопкинса-Коле—на триптофан и т. д. [8]. Однако эти реакции не обладают достаточной специфичностью для эффективного использования их при анализе сложных многокомпонентных смесей. Более приемлемым является предварительное разделение смеси аминокислот.

Одним из наиболее распространенных методов разделения является бумажная хроматография, позволяющая с удовлетворительной точностью определять практически все аминокислоты. Сочетание хроматографических методов со специфическим окрашиванием позволяет добиваться повышения специфичности определения. Однако в ряде случаев это сопровождается снижением точности, как, например, при определении пролина. Окрашивание хроматограммы изагином приводит к образованию специфической окраски пролина, однако полученное соединение плохо поддается количественной экстракции. Метод бумажной хроматографии требует больших затрат времени (до 20 ч), довольно трудоемок, при этом большинство используемых реактивов является токсичным.

Уменьшения времени анализа можно добиться использованием метода электрофореза на бумаге. Следует отметить, что как при бумаж-

ной хроматографии, так и при бумажном электрофорезе практически невозможно подобрать условия, при которых происходило бы эффективное разделение всех аминокислот одновременно. Если же речь идет об определении индивидуальной аминокислоты, то эти методы достаточно результативны.

Практически свободным от перечисленных недостатков является метод газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ), при применении которого точность определения возрастает до 1—4%, позволяя проводить количественное определение индивидуальных аминокислот [8]. Метод ГЖХ широко применяется во многих исследовательских и заводских лабораториях. К его недостаткам следует отнести сложность и дороговизну аппаратуры, дополнительную обработку образцов, необходимость в квалифицированных кадрах.

Другим современным подходом при анализе аминокислот является ионообменная хроматография. Ряд фирм («ЛКБ» Швеция, «Хита-чи» Япония и др.) выпускают аминокислотные анализаторы, работа которых основана на этом принципе. Использование аминокислотного анализатора позволяет с достаточной точностью (до 4%) и высокой чувствительностью анализировать смесь аминокислот за 1—2 ч, причем процесс является полностью автоматизированным. Некоторые модели позволяют без дополнительного вмешательства оператора анализировать несколько десятков проб подряд. Подготовка образцов сводится к освобождению от крупномолекулярных соединений (в основном белков и пептидов). Широкому применению на практике аминокислотных анализаторов препятствует, кроме дороговизны, ряд сложностей, связанных с эксплуатацией: необходимость применения высокоочищенного азота, сложная гидравлическая схема и т. д. Кроме того, точность и воспроизводимость результатов существенно зависят от температуры колонок, pH элюирующего буфера и скорости его протекания.

Все большую роль в современной аналитической практике начинают приобретать энзиматические методы. В основном это связано с высокой специфичностью ферментов к определяемому субстрату (или классу субстратов), а также с преимуществами, связанными с «мягкими» условиями проведения ферментативной реакции.

В литературе описан целый ряд методик для определения концентрации различных аминокислот с использованием ферментов. Эти методики в конечном итоге сводятся к определению выделяющихся и/или поглощаемых в ходе ферментативной реакции веществ [10, 18].

Несмотря на то, что применение ферментов при анализе позволяет резко повысить специфичность определения и в ряде случаев проводить анализ в многокомпонентных растворах без предварительного разделения компонентов, сократить время проведения анализа, многие недостатки, присущие в той или иной мере вышеописанным методам, не удается устранить. Так, например, необходимость окрашивания анализируемых веществ или их производных фактически не исключается и в этом случае. Это сохраняет вероятность возникновения таких же погрешностей, как, например, неспецифическое окрашивание, которые свойственны спектрофотометрическим методам. Кроме того, применению энзиматических методов препятствовали до последнего

времени высокая стоимость ферментов, нестабильность большинства из них в растворах, сложность их получения.

Фактически достоинства ферментативных методов чаще всего сводятся на нет из-за недостатков в методах регистрации параметров реакции. Для того, чтобы метод в целом не терял своих достоинств, необходимо иметь способы регистрации, не уступающие по своей специфичности самым энзиматическим реакциям. К числу таких методов регистрации можно отнести нонселективные и электрохимические.

Достижения инженерной энзимологии, получение сравнительно дешевых ферментов из бактериальных источников в сочетании с электрохимическими или нонселективными методами привели к созданию различных конструкций аналитических систем, которые можно объединить под общим термином «ферментные анализаторы». Появление таких анализаторов позволило в значительной степени обойти многие сложности в энзиматических методах анализа.

Рассмотрим, что представляет собой ферментный анализатор. Это конструктивно объединенные в единое целое иммобилизованный фермент и нонселективный или электрохимический датчик. Все разнообразие конструкций ферментных анализаторов можно разделить на две большие группы: ферментные электроды, в которых иммобилизованный фермент закрепляется непосредственно на поверхности датчика, и аналитические системы, в которых иммобилизованный фермент помещается в реактор, на выходе которого устанавливается регистрирующий датчик.

Методы иммобилизации могут быть самыми различными: физическими, химическими и механическими. При иммобилизации увеличивается стабильность, появляется возможность многократного использования фермента.

Начиная с семидесятых годов появилось большое число работ, посвященных способам анализа аминокислот на основе иммобилизованных ферментов. Существенный вклад в развитие подобных методов внес Гильбо с сотр., предложив для определения ряда аминокислот использовать соответственно оксидазу D- или L-аминокислот [12, 13]. Ими было создано несколько модификаций ферментных электродов на основе этих оксидаз, при этом производилась детекция различных компонентов ферментативной реакции, например, кислорода, ионов аммония. Хотя в этих работах была показана принципиальная возможность определения аминокислот подобным способом, определение целевой аминокислоты в смеси практически невозможно, поскольку оксидаза D- или L-аминокислот почти с одинаковой эффективностью окисляет большинство аминокислот.

При решении задачи по определению индивидуальных аминокислот следует проводить анализ ферментами, обладающими достаточно высокой селективностью к индивидуальным аминокислотам. Кроме того, целесообразно использование таких ферментативных реакций, в ходе которых изменяются концентрации относительно легко детектируемых электрохимическими или нонселективными методами веществ. Такими ферментами могут быть дезаминазы, декарбоксилазы, оксидазы

и оксигеназы соответствующих аминокислот. В принципе можно использовать и другие ферменты, но это приводит к необходимости опосредованной регистрации продуктов реакции через ряд химических или ферментативных процессов, что может снизить точность и достоверность определения.

Вслед за анализаторами на основе оксидаз D- и L-аминокислот были созданы ферментные электроды на аспарагин, с использованием аспарагиназы [12], на глютамин, с использованием глютаминазы [13], на тирозин, с использованием тирозиндекарбоксилазы [14] и т. д. Для иллюстрации «опосредованного определения» можно привести пример определения аргинина с помощью аргиназы, с дальнейшим разрушением образующейся в ходе аргиназной реакции мочевины уреазой и детекцией ионов аммония с помощью аммоний-селективного электрода [21].

Использование декарбоксилаз в таких системах предпочтительнее дезаминаз. Это связано с тем, что CO_2 -электрод обладает высокой селективностью, между тем как определению ионов аммония мешают ионы натрия, калия, водорода, от которых практически невозможно избавиться, и необходимо предпринимать специальные меры для уменьшения их влияния на электрод. Так или иначе, большее развитие нашли ферментные анализаторы на основе декарбоксилаз [9, 23]. Регистрация хода реакции при этом осуществляется CO_2 -электродом. Этим достигается определенная «универсальность» системы при определении различных аминокислот, так как можно иметь ряд декарбоксилаз и, не меняя аппаратного исполнения, проводить анализ различных аминокислот.

С нашей точки зрения, более перспективным является способ определения аминокислот, основанный на применении в ферментных анализаторах иммобилизованных оксидаз. Во-первых, этой группе ферментов свойственна та же универсальность, что и декарбоксилазам и дезаминазам: все реакции можно регистрировать с помощью мембранного кислородного электрода. Во-вторых, эта группа ферментов не менее многочисленна, нежели первые две. В-третьих, по своим эксплуатационным характеристикам кислородный электрод, с нашей точки зрения, превосходит как CO_2 -электрод, так и аммоний-селективный электрод.

Ферментные анализаторы на основе оксидаз реализованы для многих метаболитов [3]. Однако для анализа аминокислот подобных систем пока еще немного.

Здесь прежде всего следует отметить появившуюся в последнее десятилетие тенденцию к поиску новых оксидаз, в том числе оксидаз аминокислот [15, 20]. Нет оснований утверждать, что эта тенденция вызвана к жизни потребностями развивающегося энзиматического анализа, однако она оказалась весьма своевременной. Доказательством может служить пример открытой в конце 70-х годов японскими исследователями L-лизин- α -оксидазы [17] и последовавшего вслед за этим создания в кооперации с французскими исследователями ферментного анализатора на L-лизин [22].

Конечно, методы анализа, основанные на иммобилизованных ферментах, находятся на стадии становления. Однако уже сейчас можно оценить основные направления развития этих систем.

Вышеперечисленные недостатки аммоний-селективного электрода свидетельствуют о том, что он уступает CO_2 - и O_2 -электродам, и обращаться к нему с целью создания ферментных анализаторов следует лишь в случае крайней необходимости. С другой стороны, несмотря на то, что концентрация диоксида углерода в растворах обычно минимальна и на этом фоне его прирост легко зарегистрировать, сравнение CO_2 -электрода с кислородным выявляет ряд преимуществ последнего. Кислородный электрод прост в изготовлении и обращении, значительно более долговечен, не требует при работе частой калибровки, обладает большим быстроедействием.

Следует добавить, что практически все декарбоксилазы для своего функционирования требуют наличия кофермента пиридоксальфосфата, который в ходе ферментативной реакции утрачивается ферментом. В результате этого возникает необходимость периодического насыщения иммобилизованного фермента коферментом.

Что касается оксидаз, коферментом которых чаще всего являются ФАД и ФМН, то они свободны от этого недостатка, так как флавиновые коферменты не утрачиваются ферментом в ходе ферментативной реакции.

Резюмируя все вышесказанное, можно считать, что актуальнейшая проблема анализа аминокислот на сегодняшний день окончательно не решена. Это подтверждается появлением новых подходов, как, например, предложенный недавно для этой цели метод капиллярного изотаксифореза [19]. Необходимо признать отсутствие некоей универсальной методики, способной в разумных пределах удовлетворить все существующие на сегодняшний день потребности в анализе одновременно. Возможно, в этом и нет необходимости, поскольку каждая конкретная задача требует наиболее адекватного метода. Так, анализируя смесь аминокислот, целесообразнее использовать аминокислотный анализатор или ГЖХ, при определении же отдельных аминокислот в сложной многокомпонентной среде — ферментные анализаторы. Причем факты, приведенные при разборе достоинств и недостатков различных ферментных анализаторов, дают основание считать наиболее перспективными анализаторы, основанные на применении оксидаз аминокислот.

Нами уже была разработана аналитическая система для определения концентрации глюкозы в растворах [6]. На том же принципе функционирует и другая система — для определения концентрации мочевой кислоты, в которой использована уратоксидаза [7].

Опыт создания и эксплуатации таких систем позволил нам по достоинству оценить возможности, представляемые ферментными анализаторами, работа которых основана на использовании оксидаз. В настоящее время нами разработан на том же принципе новый ферментный анализатор для определения концентрации L-лизина в растворах. Диапазон определяемых концентраций — 5,5—33 мМ (1—6 г/л). В табл. 1 приведены данные по селективности ферментного анализатора на L-лизин. В табл. 2 даны сравнительные результаты количествен-

венного определения лизина непосредственно в культуральной жидкости.

Таблица 1. Селективность ферментного анализатора на L-лизин

Определяемая аминокислота	Величина сигнала кислородного электрода, %
L-Лизин	100
L-Орнитин	1
L-Аргинин	<1
L-β-Фенил-L-аланин	<1
L-Гистидин	<1
L-Глутамин	<1
L-Аспарагин	<1

Таблица 2. Сравнительные результаты количественного определения L-лизина в условиях промышленного производства

Объект анализа: пробы ферментационных сред	Методы анализа		
	ферментативный, г/л	ГЖХ, г/л	электрофорез на бумаге, г/л
Проба 1	15.0	17.5	20.0
Проба 2	16.5	18.2	22.5
Проба 3	16.0	17.0	23.7
Проба 4	20.5	22.4	22.8
Проба 5	14.0	14.3	21.7
Проба 6	26.0	28.6	29.4
Проба 7	28.5	26.5	28.0
Проба 8	20.5	21.0	20.4
Проба 9	12.8	12.0	15.2

Данные получены в условиях Обольского Биохимзавода (Бел. ССР). Авторы благодарят сотрудников ЦЗЛ и сектора ОТП НИТИА под руководством А. М. Босенко за содействие при проведении работ.

Как видно из приведенных данных, ферментный анализатор может быть с успехом применен при промышленном производстве L-лизина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Витт С. В., Пасконова Е. А., Сапоровская М. Б., Беликов В. М., Прикл. биохим. и микробиол., 19, 692, 1983.
2. Имобилизованные ферменты. М., 1976.
3. Кулис Ю. Ю. Аналитические системы на основе иммобилизованных ферментов. Вильнюс, 1981.
4. Лекарственные препараты, разрешенные к применению в СССР, М., 1979.
5. Матвеев В. Е. Биотехнология, 1, 6, 1985.
6. Симонян А. Л., Татикян С. Ш., Хачатрян Г. Э., Авакян Ц. М. Биолог. ж. Армении, 36, 575, 1983.
7. Симонян А. Л., Хачатрян Г. Э., Татикян С. Ш. Прикл. биохим. и микробиол., в печати.
8. Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Сизастьянова Г. А. Практикум по общей биохимии. М., 1975.
9. Calvo C., Berjonneau A. M., Gellf G., Thomas D. FEBS Lett., 59, 258, 1975.
10. Dickertman H. M., Carter M. L. Anal. Biochem., 3, 195, 1962.
11. Gullbault G. G., Hrabankova E. Anal. Chem., 42, 1779, 1970.
12. Gullbault G. G., Hrabankova E. Anal. Chem. Acta, 56, 285, 1971.
13. Gullbault G. G., Zhu F. R. Anal. Chem. Acta, 56, 333, 1971.

14. Gullbault G. G., Shu F. R. Anal. Chem., 44, 2161, 1972.
15. Hirokazu K. J. Biochem., 93, 1313, 1983.
16. Kalant H. Anal. Chem., 28, 265, 1956.
17. Kusakabe H., Kodama K., Kuninaka A., Yochiro M., Misono H. H., Soda K. J. Biol. Chem., 255, 976, 1980.
18. Lichtenberg L. A., Wellner D. Anal. Biochem., 26, 313, 1968.
19. Madajova V., Faniunsk D., Cizmarova E., Hudec M. J. Chromatogr., 320, 131, 1985.
20. Nosu S., Wicks F. D., Gholson R. K. J. Biol. Chem., 257, 626, 1982.
21. Neubecker T. A., Rechnitz G. A. Anal. Lett., 5, 653, 1972.
22. Romette J. L., Yang J. S., Kusakabe H., Thomas D. Biotechnical and Bioeng., 25, 2557, 1983.
23. White W. C., Gullbault C. G. Anal. Chem., 50, 1481, 1978.
24. Yening E. W., Cocking E. C. Analyst, 80, 209, 1955.

Поступило 15.XI 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 7, с. 563—567, 1986

УДК 582.47:635.925

ВЕГЕТАТИВНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ХВОЙНЫХ

В. Г. МИШНЕВ¹, Н. А. АРУТЮНЯН

Институт ботаники АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — Установлено, что основными определяющими факторами при укоренении являются возраст и размер черенка. Высокой укореняемостью отличаются черенки длиной 10—15 см, взятые с 3—4-летних побегов.

Անոտացիա — Հաստատված է, որ արմատակալման հիմնական որոշիչ գործոնները համարվում են կտրոնի խոշորությունը և հասակը՝ որքան մեծ է ըստ հասակի և խոշոր է կտրոնը, արեւան շուտ և լավ է արմատակալում և քիչ ժամանակ է պահանջում արմատակալած բույսի աճեցման համար:

Արմատակալման փրա նվազագույն ազդեցություն են ունենում կտրոնների աճի ժամկետը և մայրական բույսի հասակը:

Abstract — The main factors of root formation of grafts are the age and the size: the older and bigger are the grafts, the sooner and better takes place the root formation, little time is demanded to grow the rooted plants. The period of plantation of the grafts and the age of the motherhood plant have less influence on the root formation.

Ключевые слова: хвойные породы, вегетативное размножение.

Опыты по черенкованию хвойных проводились с 1980 года. Цель исследований состояла в разработке технологии укоренения хвойных древесно-кустарниковых пород. В этой связи изучалось влияние на корнеобразование срока посадки, возраста и размера черенков, возраста материнского дерева.

Материал и методика. Исследования по черенковому размножению вели в оранжерее Кироваканского ботанического сада: объектом служили хвойные в основном из семейства кипарисовых.

С целью установления оптимального срока черенкования опыты ставили осенью (конец ноября—начало декабря) и весной (конец апреля—начало мая). Черенки брали с 1—4-летних побегов длиной 5—10, 10—15 и 15—20 см. Укореняемость их в па-

