

Биологические основы кормопроизводства

УДК 636.086.2/.3:577.112(476)

doi: 10.15389/agrobiology.2013.6.105rus

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОТИПОВ ГАЛЕГИ ВОСТОЧНОЙ (*Galega orientalis* Lam.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ*

В.И. ДОМАШ, В.Н. ПРОХОРОВ, О.Л. КАНДЕЛИНСКАЯ, Т.П. ШАРПИО,
С.А. ЗАБРЕЙКО, Е.Р. ГРИЩЕНКО

Галега восточная (*Galega orientalis* Lam.) — кормовая культура с комплексом ценных свойств, включая раннее отрастание, быстрый рост, высокую продуктивность и питательную ценность. Активная симбиотическая азотфиксация позволяет снизить нормы минерального азота, вносимого в почву, и содержание в кормах нитратов, негативно влияющих на продуктивность и качество животноводческой продукции. Ингибиторы протеиназ и лектины способны отрицательно повлиять на биологическую ценность кормов, выступая в качестве антипитательных факторов. Однако распределение и активность компонентов системы протеолиза и лектинов в органах и тканях галеги восточной остаются недостаточно изученными. Мы провели биохимические исследования листьев и семян у 19 сортов и образцов галеги (в основном, восточно-европейского происхождения) с разными сроками весеннего отрастания, оценив активность нейтральных и щелочных протеиназ, ингибиторов трипсина, фитогеагглютинирующую активность (ФГА) лектинов, содержание, состав и переваримость белков. В целом показатели у сортов значительно варьировали. Установлена высокая кормовая ценность культуры. Для галеги восточной характерно высокое содержание белка и незаменимых аминокислот. У образцов выявлены представляющие интерес показатели по сочетанию аминокислот, важных для развития молодняка, и особенности электрофоретических спектров белков семян. Показано, что для культуры характерно незначительное количество антипитательных веществ — ингибиторов трипсина (ИТ) и лектинов (активность ИТ выше при позднем сроке начала вегетации, ФГА — у образов с ранним и средним сроком).

Ключевые слова: галега восточная, козлятник восточный, ингибиторы трипсина, лектины, белки, аминокислоты

Галега восточная (*Galega orientalis* Lam.) — многолетняя кормовая культура семейства Бобовые (*Fabaceae*), которая обладает комплексом ценных свойств: зимостойкостью, засухоустойчивостью, высокой эффективностью использования весенних запасов влаги; ранним отрастанием весной и быстрым ростом, значительной облистенностью (60-70 %) и стабильностью семеноводства (урожайность семян до 6 ц/га и более); долголетием (10-15 лет и более); высокой продуктивностью (за 2 укоса можно получить зеленой массы до 60-70, сена — 10-15 т/га) и питательной ценностью (в 1 корм. ед. содержится 150-270 переваримого протеина), сочетающейся с низкой себестоимостью кормовой единицы и высокой переваримостью корма. Активная симбиотическая азотфиксация позволяет снизить нормы минерального азота, вносимые в почву, и содержание в кормах нитратов, оказывающих негативное влияние на продуктивность и качество животноводческой продукции (1-3).

По основным биохимическим показателям галега восточная не уступает клеверу и люцерне. Она характеризуется высоким содержанием белка, сбалансированного по аминокислотному составу, с полным набором незаменимых аминокислот. В цветках содержатся флавоноиды, в семенах — сахароза, стахиоза, стериоиды, сапонины, алкалоиды, масла и высшие жирные кислоты (пальмитиновая, стеариновая, линоленовая). В листьях обнаружены дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты, витамин С, гале-

* Работа выполнена при финансовой поддержке ГПОФИ «Ресурсы растительного и животного мира», задание 20/3.

гин, пеганин, рутин, каротин, танин, горькие вещества, свободные сахара, а также пектини (4-8).

Вместе с тем остаются недостаточно изученными распределение и активность в органах и тканях галеги восточной компонентов системы протеолиза и лектинов, принимающих участие в регуляции метаболизма в целом, в том числе в механизмах конститтивной и индуцированной устойчивости растений. Система протеолиза, функционирование которой обеспечивается согласованным взаимодействием ингибиторов и протеолитических ферментов, участвует в процессах обмена белков (9, 10). Следует указать и на присутствие в галеге белков лектинов (гемагглютининов), которые избирательно и обратимо взаимодействуют как с углеводами в составе полисахаридов, гликолипидов и гликопротеидов, так и со свободными моно- и олигосахаридами, включая рецепторы плазматических мембран, что обеспечивает их участие в регуляции интегральных процессов в растительных клетках (11).

Ингибиторы протеиназ и лектины способны отрицательно влиять на биологическую ценность кормовой продукции, выступая в качестве антипитательных факторов, что необходимо учитывать при составлении сбалансированного рациона для сельскохозяйственных животных (12). Большую ценность для исследования функционального состояния протеиназно-ингибиторной системы и метаболизма лектинов приобретают сведения, полученные при анализе электрофоретического спектра этих белков, которые позволяют выявлять маркеры высокопродуктивных и устойчивых форм в процессе селекции.

Целью настоящей работы стала биохимическая характеристика сортов и форм галеги восточной разных сроков весеннего отрастания.

Методика. Объектом исследований были сорта и образцы галеги восточной, собранные в различных эколого-географических зонах. Коллекция заложена в 2004 году на полевом стационаре РУП «НПЦ НАН Беларусь по земледелию» (г. Жодино). Почва участка — дерново-подзолистая легкосуглинистая, средне окультуренная (степень насыщенности основаниями 52,3-59,5 %), развивающаяся на легком песчанистом суглинке, подстилаемом с глубины 30-50 см рыхлым песком. Содержание гумуса в пахотном слое 2,2-2,4 %, фосфора и калия — соответственно 183-190 и 210-220 мг/кг почвы, pH 6,0-6,2. Гидролитическая кислотность составляла 1,68-1,85, сумма поглощенных оснований — 10,0 мг-экв/100 г почвы.

Для биохимического анализа использовали семена и листья сортов и образцов галеги восточной, различающихся по срокам начала весеннего отрастания. Группу ранних сроков составляли сорта Widmantai, Магистр, образец № 5 (отобран из популяции сорта Гале в Минской области), Спутник, Ялгинский, Еля-ты, Горноалтайский; средних — БГСХА 3, Гале, Донецкий 90, Нестерка, образец № 2 (из популяции сорта Гале в Ленинградской области), образец № 4 (из популяции сорта Гале на территории Центрального ботанического сада НАН Беларусь), Полесская, Салют; поздних — Нальчик 2, Нальчик 3, Кавказ. Кроме того, в группу позднеспелых был включен образец галеги лекарственной к-24864, полученный из коллекции Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР, г. Санкт-Петербург).

Активность белков — ингибиторов трипсина определяли по уменьшению скорости гидролиза субстрата ферментом (трипсином) в их присутствии (13). В качестве субстрата использовали БАПА (Na -бензоил-DL-аргинин-4-нитроанилид). Активность нейтральных протеиназ оценивали по методу Ансона (14). За единицу активности принимали количество фер-

мента, вызывающего образование 1 мкмоль тирозина за 1 мин инкубации. Активность БАПАазы определяли по методу Эрлангера (15).

Общую фракцию лектинов выделяли посредством экстракции этанолом (16). Тестирование полученных препаратов лектинов выполняли с помощью реакции агглютинации эритроцитов человека I(0), Rh⁺ (17). Фитогемагглютинирующую активность (ФГА) лектинов определяли посредством микротитрования на иммунологических планшетах с U-образными лунками с последующим добавлением в них 2,5 % суспензии эритроцитов. Реакцию проводили при комнатной температуре, гемагглютинацию регистрировали через 2 ч после начала титрования. Активность лектинов выражали в величинах, обратных минимальной концентрации белка (мкг белка/мл), при которой отмечали реакцию гемагглютинации, и переводили в Ед/г сырой массы.

Переваримость белка оценивали *in vitro* с использованием фермента панкреатина (18). Содержание белка определяли по методу Кельдаля и методу Бредфорда (19). В последнем случае в качестве стандарта служил бычий сывороточный альбумин. Электрофорез белков из семян галеги проводили на приборе S-250 («Amercham Bioscience», Великобритания). Белки экстрагировали буфером Трис-HCl (рН 7,0), содержащим сахарозу, EDTA и 0,01 % аскорбат. Электрофорез осуществляли в 15 % ПААГ в денатурирующих условиях по методу U.K. Laemmli (20). В качестве метчиков использовали β-галактозидазу (молекулярная масса 116 кД), альбумин бычий (66 кД), овальбумин (45 кД), лактатдегидрогеназу (35 кД), РНКазу (25 кД), β-лактатглобулин (18,4 кД), лизоцим (14,4 кД). Гели фиксировали 20 % ТХУ. Электрофорограммы обрабатывали с использованием компьютерной программы LAB, Control Centre v. 2.1. Аминокислотный состав белков определяли на автоматическом анализаторе Т339 (Чехия).

Опыты проводили в 2 биологических и 3-4 аналитических повторностях. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

Результаты. Активность нейтральных протеиназ (в расчете на абсолютно сухую массу) у исследуемых сортов и форм находилась в пределах

1. Активность протеиназ и ингибиторов трипсина в листьях у галеги восточной *Galega orientalis* Lam. разных сроков весеннего отрастания в fazу цветения ($\bar{X} \pm x$, полевой стационар РУП «НПЦ НАН Беларусь по земледелию», г. Жодино, 2009-2010 годы)

Сорт, образец	Нейтральные протеиназы, ЕА/г		Щелочная протеиназа (БАПАаза), ЕА/г		Ингибиторы трипсина, ИЕ/г	
	с.м.	абс.с.м	с.м.	абс.с.м	с.м.	абс.с.м
Р а н и е						
Образец № 5	5,62±0,00	21,86±0,12	18,52±0,01	72,04±0,38	1,07±0,00	4,16±0,00
Спутник	5,96±0,00	24,22±0,00	20,84±0,01	84,68±0,25	0,85±0,00	3,48±0,00
Widmantai	7,46±0,00	25,15±0,13	18,60±0,00	72,20±0,00	1,04±0,00	4,05±0,00
Магистр	7,50±0,00	30,12±0,00	21,36±0,00	85,44±0,17	0,84±0,00	3,36±0,00
С р е д н и е						
Донецкий 90	5,45±0,00	25,70±0,17	18,24±0,01	86,00±0,41	1,34±0,00	5,32±0,00
БГСХА 3	5,47±0,00	25,79±0,15	21,60±0,00	93,42±0,21	0,73±0,00	3,17±0,00
Образец № 2	5,93±0,00	22,54±0,12	18,68±0,00	71,00±0,22	1,34±0,00	5,09±0,00
Нестерка	6,58±0,00	27,42±0,01	19,54±0,00	81,42±0,18	0,74±0,00	3,10±0,00
Гале	7,34±0,00	28,68±0,20	21,00±0,00	82,06±0,17	0,73±0,00	2,86±0,01
Салют	7,65±0,00	30,38±0,00	21,60±0,00	93,42±0,00	0,82±0,01	3,26±0,00
П о з д н и е						
Нальчик 2	6,68±0,00	26,00±0,22	18,72±0,00	72,87±0,00	1,07±0,00	4,16±0,00
Кавказ	5,22±0,01	25,82±0,32	18,00±0,15	88,99±0,75	1,08±0,01	5,36±0,00
к-24864	6,58±0,00	25,54±0,05	18,06±0,19	70,16±0,19	1,34±0,00	5,19±0,00

П р и м е ч а н и е. БАПА — Nα-бензоил-DL-аргинин-4-нитроанилид, с.м. — сырая масса, абс.с.м. — абсолютно сухая масса.

21,86-30,38 ЕА/г, щелочной протеиназы — 70,16-93,42 ЕА/г, ингибиторов

трипсина — 2,9-5,3 ИЕ/г (табл. 1). При этом наибольшие значения активности нейтральных и щелочных протеиназ были характерны для растений средних сроков весеннего отрастания, ингибиторов трипсина — для представителей группы поздних сроков. Тесная корреляционная связь была обнаружена между активностью нейтральных протеиназ и ингибиторов трипсина в листьях у галеги среднего срока начала весеннего отрастания ($r = -0,71$), а также между активностью БАПАазы и ингибиторов трипсина ($r = -0,85$). Содержание ингибиторов трипсина в листьях оказалось незначительным и составляло 0,3-0,5 мг/г абсолютно сухой массы, то есть ниже предельно допустимого количества (5 мг/г абсолютно сухой массы), что свидетельствует о высокой кормовой ценности этой культуры.

Известно, что протеолитические ферменты играют важную роль не только в обмене белков в прорастающих семенах, но и в реутилизации азотистых соединений из вегетативных органов в репродуктивные (21). Белки-ингибиторы протеиназ — биологически активные вещества, образующие с ферментами неактивные (обратимые) комплексы, в которых ферменты лишены каталитической активности. Эти белки выполняют функции регуляторов активности протеолитических ферментов, а также принимают участие в формировании защитных механизмов при действии фитопатогенов и насекомых-вредителей (22). Активность ингибиторов трипсина в зрелых семенах галеги разных сроков вегетации составляла около 7 ИЕ (0,65 мг/г абсолютно сухой массы).

Наши исследования продемонстрировали наличие в листьях галеги восточной фитогемагглютинирующей активности (ФГА) (рис. 1). Величина ФГА лектинов в листьях у изученных образцов значительно варьировала. Установлено, что у форм с ранним сроком начала весеннего отрастания показатель ФГА (Ед/г сырой массы) находился в пределах от 4,9 (образец № 5) до 16,4 (сорт Спутник), у среднеспелых сортообразцов — от 0,4 (образец № 2) до 9,9 (сорт Гале), у представителей поздних сроков вегетации — изменялся от 0,8 (сортобразец К-24864) до 33,0 (сорт Кавказ).

В семенах активность лектинов варьировала от 149,2 (сорт Ялгинский) до 297,0 Ед/г сырой массы (сорт Магистр) у представителей ранних сроков весеннего отрастания и от 168,0 (сорт Горноалтайский) до 320,0 Ед/г сырой массы (сортобразец № 2) у генотипов средних сроков. По-видимому, аккумуляция лектинов в галеге восточной осуществляется в большей степени в семенах, как это свойственно бобовым растениям (17).

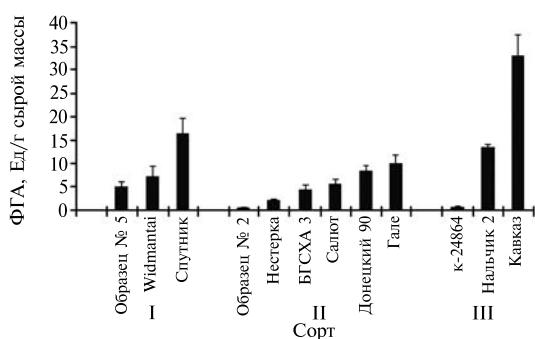


Рис. 1. Фитогемагглютинирующая активность (ФГА) лектинов в листьях у сортов галеги восточной *Galega orientalis* Lam. с ранним (I), средним (II) и поздним (III) сроком весеннего отрастания (РУП «НПЦ НАН Беларусь по земледелию», г. Жодино, 2009-2010 годы).

Максимальные значения фитогемагглютинирующей активности лектинов в листьях отмечали у растений ранних и средних сроков вегетации, однако значения этого показателя были невысокими. В доступной литературе мы не обнаружили данных о предельно допустимых количествах лектинов и их активности в кormах для сельскохозяйственных животных, поэтому делать какие-либо выводы об антипитательности лектинов галеги преждевременно.

В листьях галеги восточной содержалось от 15,37 (сорт Гале) до 19,79 % (образец № 5) белка. Показатель переваримости белка *in vitro* варьировал от 43 до 55 % (табл. 2).

Содержание белка у образцов галеги ранних сроков отрастания составляло в среднем 18,1 %, у представителей группы со средним сроком — 16,4 %; переваримость белка — соответственно 55,1 и 48,1 %. В 1 кг сухой массы у образцов галеги с ранним сроком отрастания содержалось 91 г, со средним сроком — 79 г переваримого белка, что согласуется с данными других авторов (2).

2. Содержание белка в листьях у образцов галеги восточной *Galega orientalis*

Lam. разных сроков весеннего отрастания в фазу цветения и его переваримость ($\bar{X} \pm x$, РУП «НПЦ НАН Беларусь по земледелию», г. Жодино, 2009–2010 годы)

Сорт, образец	Содержание белка в расчете на абсолютно сухую массу, %	Переваримость белка, %
	Р а н н и е	
Магистр	17,10±0,01	47,37±0,34
Спутник	18,90±0,01	52,44±0,69
Widmantai	16,50±0,01	47,03±0,16
Образец № 5	19,79±0,01	55,27±0,26
	С р е д н и е	
Гале	15,37±0,01	50,00±0,58
БГСХА 3	15,51±0,01	49,59±0,28
Нестерка	17,20±0,16	43,61±0,78
к-24864	15,42±0,01	46,91±0,26
Салют	17,39±0,01	49,16±0,34
Донецкий 90	17,68±0,16	49,23±0,42

У исследуемых образцов галеги было установлено высокое содержание незаменимых аминокислот (табл. 3).

3. Аминокислотный состав (мг/100 мг белка) в листьях у галеги восточной *Galega orientalis* Lam. (РУП «НПЦ НАН Беларусь по земледелию», г. Жодино, 2009–2010 годы)

Аминокислота	Сорт, образец								
	№ 5	Widmantai	Спутник	Нестерка	Гале	Донецкий	Салют	БГСХА	к-24864
Незаменимые аминокислоты:									
Вал	5,13	4,89	4,95	4,94	4,90	5,02	5,05	4,84	4,98
Иле	3,85	3,62	3,69	3,65	3,56	3,68	3,78	3,62	3,71
Лей	8,56	8,23	8,47	8,39	8,17	8,61	8,50	8,28	8,54
Лиз	5,79	6,23	5,97	6,16	5,90	6,05	6,14	6,20	6,04
Мет	1,14	1,03	1,10	1,09	1,04	0,94	1,07	1,12	1,14
Тре	5,20	4,69	4,72	4,85	4,70	4,78	4,56	4,52	4,89
Фен	5,59	5,96	5,71	5,66	5,56	5,65	5,62	5,91	5,79
Заменимые аминокислоты:									
Глу	2,42	12,00	12,13	12,35	12,08	12,34	12,34	11,83	12,58
Арг	5,76	5,89	5,91	5,94	5,65	5,74	5,59	5,57	6,07
Сер	5,14	4,93	5,14	5,03	5,30	5,14	4,90	5,15	5,01
Про	6,60	5,54	6,58	6,21	6,83	6,13	7,02	6,65	5,69
Цис	0,51	0,72	0,74	0,74	0,62	0,61	0,74	0,65	0,76
Гли	5,06	5,19	5,23	5,15	5,23	5,28	5,16	4,86	5,17
Ала	6,27	6,27	6,03	6,20	5,97	6,11	6,04	5,63	6,20
Тир	5,15	5,71	5,01	5,31	5,22	5,46	5,02	5,29	5,28
Гис	3,01	3,56	2,99	3,32	3,02	3,09	3,17	3,39	3,03
Сумма:									
общая	95,33	94,91	95,00	95,16	95,03	94,94	94,95	94,37	95,06
незаменимых аминокислот	35,26	34,65	34,61	34,74	33,83	34,73	34,72	34,49	35,09
Арг + Гис	8,77	9,45	8,90	9,26	8,67	8,83	8,76	8,96	9,10
Мет + Цис	1,65	1,75	1,84	1,83	1,66	1,55	1,81	1,77	1,90
Фен + Тир	10,74	11,67	10,72	10,79	10,78	11,11	10,64	11,20	11,07

В группах с ранним и средним сроком весеннего отрастания сумма незаменимых аминокислот варьировала незначительно. Заслуживает внимания вариабельность содержания аминокислот пролина и цистеина, принимающих участие в формировании неспецифической устойчивости рас-

тений. Так, наиболее высокие значения этого показателя отмечались у сортов Гале и Салют со средним сроком начала вегетации. Представляются интересными интегральные показатели суммы аминокислот аргинина и гистидина, серосодержащих аминокислот метионина и цистеина, фенилаланина и тирозина, имеющих значение для молодняка сельскохозяйственных животных (23). Сорт Widmantai характеризовался наибольшими значениями суммы по аргинину и гистидину, а также фенилаланину и тирозину.

Электрофоретический спектр белков семян у галеги восточной был представлен 18-26 компонентами, основная часть которых оказалась со-средоточенной в области молекулярных масс 35-124 кДа. Сорт Нальчик 2 характеризовался отсутствием ярко выраженного полипептида в области

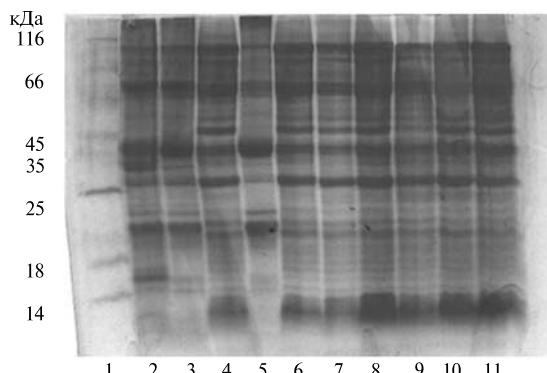


Рис. 2. Электрофоретический спектр белков семян у галеги восточной *Galega orientalis* Lam. с разным сроком весеннего отрастания: 1 — белки-маркеры; 2 — Нальчик 3; 3 — Нальчик 2; 4 — Полесская; 5 — Нестерка; 6 — Донецкий 90; 7 — Ялгинский; 8 — образец № 4; 9 — Горнолтайский; 10 — Магистр; 11 — Еля-ты (РУП «НПЦ НАН Беларусь по земледелию», г. Жодино, 2009-2010 годы).

нокислотного состава белка в связи со сроками весеннего отрастания. Из образцов с ранним сроком наиболее перспективными по содержанию белка оказались сорт Спутник и образец № 5, со средним — сорта Салют и Донецкий 90. Культура содержит незначительное количество антипитательных белков — ингибиторов трипсина и лектинов.

ГНУ Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларусь,
220072 Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27,
e-mail: domash@biobel.bas-net.by, valdomash@mail.ru, bot277@biobel.bas-net.by

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2013, № 6, pp. 105-111

Поступила в редакцию
6 февраля 2012 года

BIOCHEMICAL PECULIARITIES OF *Galega orientalis* Lam. GENOTYPES IN BELORUSSIA

V.I. Domash, V.N. Prokhorov, O.L. Kandelinskaya, T.P. Sharpio,
S.A. Zabreiko, E.R. Grischenko

V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belorussia, 27, ul. Akademicheskaya, Minsk, 220072 Belarus Republic, e-mail domash@biobel.bas-net.by, valdomash@mail.ru, bot277@biobel.bas-net.by
Received February 6, 2012
doi: 10.15389/agrobiology.2013.6.105eng

Acknowledgements:

Supported by State Program for Fundamental Research

Abstract

Galega orientalis Lam. is a fodder crop with a number of important traits, including the early beginning of vegetation, fast growth, high productivity and nutritiveness. For its cultivation, the doses of mineral N are reduced due to active symbiotic N-fixation, resulting in the decrease of nitrogen content in the fodder and livestock production. Lectins and proteinase inhibitors, as anti-

nutrients, affect the fodder quality negatively. But the distribution and activity of proteolytic factors and lectins in *Galega orientalis* are not still clarified enough. We conducted the chemical investigation of leaves and seeds in 19 varieties and samples of *Galega orientalis*, originated mainly from the Eastern Europe. The activity of neutral and alkaline proteinases, trypsin inhibitors, lectin phytohemagglutination (PHA), as well as the protein content, composition and digestibility were examined. In total, the parameters varied significantly. The tested *Galega* varieties are the highly valuable fodder crop. Particularly, the content of proteins and essential amino acids in plants was high. The amino acid composition, necessary for the young growing animals, was revealed. In contrary, the content of trypsin inhibitors and lectins was not sufficient. The inhibitors were more active in the plants which began their vegetation later, and PHA was higher in the plants with early and intermediate beginning of vegetation. The characteristic electrophoretic patterns of seed proteins were also shown.

Keywords: goat's rue, galega, fodder galega, eastern galega, trypsin inhibitors, lectins, proteins, aminoacids.

R E F E R E N C E S

1. Laman N.A., Prokhorov V.N., Morozova I.M., Sakovskaya A.G. *Galega vostochnaya — mnogoletnyaya vysokobelkovaya kormovaya kul'tura: biologicheskie osobennosti, tekhnologiya vozdel'yanija, khozyaistvennoe ispol'zovanie* [Galega orientalis, a perennial high-protein forage crop: biology, cultivation technology, practical use]. Minsk, 2008.
2. Yaroshevich M.I., Kukhareva L.V., Boreisha N.S. *Galega vostochnaya — perspektivnaya kormovaya kul'tura. Biologiya, kormovaya tsennost', trebovaniya k usloviyam proizrastaniya, osobennosti vozdel'yanija* [Galega orientalis as a promising fodder crop. Biology, nutritive value, particular requirements to growth conditions, and cultivation technology]. Minsk, 1991.
3. Kshnikatkina A.N., Gushchina V.A., Galiullin A.A. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2003, 2: 101-107.
4. Strel'tsina S.A., Yudcevich E.V., Zhukova M.A., Konarev A.V., Dzyubenko N.I. *Agrarnaya Rossiya*, 2006, 6: 46-52.
5. Tokar' N.A. *Novye i malorasprostrannennye kormosilosnye rasteniya* [New and rare fodder crops]. Kiev, 1969: 149-152.
6. Zevakhina Yu.A., Ofitserov E.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2003, 2: 33-38.
7. Strel'tsina S.A., Zhukova M.A., Chachko E.V., Dzyubenko N.I., Konarev A.V. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2001, 5: 37-47.
8. Sagirova R.A. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2009, 4: 75-80.
9. Mosolov V.V., Grigor'eva L.I., Valueva T.A. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2001, 37(7): 131-140.
10. Domash V.I., Sharpio T.P., Zabreiko S.A., Sosnovskaya T.F. *Bioorganicheskaya khimiya*, 2008, 34(3): 353-357.
11. Shakirova F.M., Bezrukova M.V. *Zhurnal obshchei biologii*, 2007, 68(2): 109-125.
12. Ponomarenko Yu.A. *Pitatel'nye i antipitatel'nye veshchestva v kormakh* [Nutritive and anti-nutritive components in forage]. Minsk, 2007.
13. Gofman Yu.Ya., Vaisblai I.M. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1975, 11(5): 777-787.
14. Anson M.Z. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Genet. Physiol.*, 1938, 22: 79-89.
15. Erlanger F., Kokowsky N., Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1961, 96: 271-278.
16. Sytnikov D.M., Kots' S.Ya., Malichenko S.M. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii*, 2006, 38, 1: 53-60.
17. Babosha A.V., Ladygina M.E. *Fiziologo-biokhimicheskie i biofizicheskie metody diagnostiki stepeni ustoichivosti rastenii k patogenam i drugim faktoram* /Pod reaktsiei M.E. Ladyginoi [Physiobiochemical and biophysical methods for diagnostics of plant resistance to pathogens and other factors. M.E. Ladynina (ed.)]. Moscow, 1992: 43-52.
18. Levitskii A.P., Pokhomenko L.I., Vovchuk S.V. *Biokhimicheskii metod opredeleniya perevarimosti zernovykh belkov: Metodocheskie rekomendatsii* [Biochemical estimation of grain proteins digestibility]. Odessa, 1985.
19. Bradford M.M. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 1976, 8: 248-254.
20. Laemmli U.K. Cleavage of structure protein during the assembly of the head of bacteriophage. *Nature*, 1970, 227(5259): 680-685.
21. Lokshina L.A. *Molekulyarnaya biologiya*, 1979, 13(6): 1205-1229.
22. Mosolov V.V., Valueva T.A. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2005, 41(3): 261-283.
23. Lenindzher A. *Osnovy biokhimii. Tom 2* [Principles of biochemistry]. Moscow, 1985, Vol. 2: 653-681.