

УДК 581.19:582.594

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ *DACTYLORHIZA MACULATA* (L.) SOÓ (ORCHIDACEAE)

© *Е.Н. Сечин*¹, *О.А. Маракаев*^{1*}, *Г.Б. Гаврилов*²

¹ Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова,
ул. Советская, 14, Ярославль, 150000 (Россия), e-mail: marakaev@uniyar.ac.ru

² Ярославский государственный институт качества сырья и пищевых
продуктов, Московский проспект, 76а, Ярославль, 150030 (Россия)

Методом зонного капиллярного электрофореза выявлен аминокислотный состав надземных и подземных вегетативных органов тубероидного вида орхидных, произрастающего в природных условиях центра Европейской России, – пальчатокоренника пятнистого *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae). Установлено наличие в растительном материале 15 аминокислот, из которых девять являются «незаменимыми» (лизин, фенилаланин, гистидин, лейцин, изолейцин, метионин, валин, треонин, триптофан). Наибольшее суммарное содержание аминокислот характерно для листьев, наименьшее – для старых (зимовавших) стеблекорневых тубероидов. Из выявленных аминокислот в растительном материале *D. maculata* максимальным суммарным содержанием отличается лейцин, минимальным – триптофан и метионин. Вегетативные органы также богаты аланином, аргинином, валином и фенилаланином. Суммарное содержание аминокислот в молодых стеблекорневых тубероидах на 38% превышает таковое в старых запасающих органах. Эти различия наиболее выражены для аргинина, что, вероятно, связано с запасной функцией этой аминокислоты, содержащей более 30% азота. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований аминокислотного состава *D. maculata* и могут характеризовать этот вид как источник ценных в лекарственном отношении веществ с широким спектром фармакологической активности.

Ключевые слова: Orchidaceae, *Dactylorhiza maculata*, аминокислотный состав, капиллярный электрофорез.

Введение

Растения семейства *Orchidaceae* с давних пор применяются в лекарственных целях. Порошок из высушенных клубней тубероидных орхидных, известный под названием «салеп», был включен как препарат в 7, 8 и 9 издания государственной фармакопей [1–3], в более поздних изданиях, в том числе в 13 издании фармакопей (2015), клубни салепа (tuber salep) упоминаются как лекарственное растительное сырье/препарат при описании процедуры отбора проб лекарственных средств и методик их анализа [4]. Салеп применяли как обволакивающее, противовоспалительное, обезболивающее, общеукрепляющее и тонизирующее средство. Его использовали также при заболеваниях дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, нервной системы и психических расстройствах. Обладая высокой энергетической ценностью, салеп рекомендовался ослабленным больным как питательное средство для стимуляции жизнедеятельности и иммунитета [5, 6]. Химический состав салепа изучен недостаточно. Известно, что подземные органы тубероидных орхидных содержат большое количество углеводов (глюкоманнаны, крахмал, пентозаны, сахароза), эфирное масло, алкалоиды, азотсодержащие соединения (мочевина) и др. [6]. Показано различное накопление углеводов и фенольных соединений в стеблекорневых тубероидах *D. maculata* в зависимости от характера процессов роста и развития, а также ряда экологических факторов [7–9]. Кроме того, в растительном материале орхидных умеренного климата северного полушария установлено наличие кверцетина, кемпферола, хлорогеновой кислоты, что свидетельствует о высоком потенциале его применения в фармакологии

Сечин Евгений Николаевич – аспирант,
e-mail: like.unknownpleasures@gmail.com

Маракаев Олег Анатольевич – кандидат биологических наук, доцент, декан факультета биологии и экологии,
e-mail: marakaev@uniyar.ac.ru

Гаврилов Гавриил Борисович – директор,
e-mail: milkyar@mail.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

[10]. Однако эти перспективы ограничиваются редкостью большинства видов орхидных и необходимостью их охраны в природных местообитаниях [11]. Например, вид *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó включен в Европейский список краснокнижных сосудистых растений (LC категория), в Приложение II к конвенции СИТЕС, а также в некоторые региональные Красные книги [12–14]. Способствовать решению проблемы использования орхидных в лекарственных целях и получению растительного материала редких видов должно применение биотехнологических методов выращивания их тканей и органов, а также целых растений из семян в искусственных системах, в том числе в культуре *in vitro* [5, 15, 16].

Высшие растения могут синтезировать все известные в настоящее время аминокислоты, в том числе протеиногенные, девять из которых – лизин, фенилаланин, гистидин, лейцин, изолейцин, метионин, валин, треонин, триптофан – являются «незаменимыми». В настоящее время для многих ценных в лекарственном и пищевом отношении видов растений активно проводятся исследования содержания аминокислот [17–20]. Аминокислоты обладают широким спектром фармакологического действия, могут придавать другим веществам легкоусвояемую и безвредную форму, одновременно усиливая их эффект. Они повышают перспективность использования растительного сырья для создания новых лекарственных средств, применения в пищевой промышленности и в качестве биологически активных добавок. Аминокислоты являются важнейшими соединениями, выполняют каталитические, регуляторные, запасные, структурные, транспортные, защитные и другие функции [21, 22]. Так, триптофан является предшественником гетероауксина в метаболизме растений при триптофанзависимом синтезе, а метионин – фитогормона этилена. Содержание аминокислот – важный биохимический показатель, применяемый для оценки состояния растительного организма, направлений и интенсивности процессов жизнедеятельности. Накопление аминокислот может характеризовать жизнедеятельность растений в разных условиях, в том числе в стрессовых. Известно, что стресс-зависимая аккумуляция пролина является универсальной ответной реакцией растений на неблагоприятные воздействия [23].

Работы по исследованию аминокислотного состава у орхидных немногочисленны. Так, изучение листьев восьми видов тропических и субтропических орхидных выявило существенные различия аминокислотного состава между видами отдельных родов и близость внутри рода [24]. Работа с сортами *Phalaenopsis* в оранжерейной культуре демонстрирует обратно пропорциональную зависимость между содержанием аминокислот в листе и цветоносе в процессе роста и развития [25]. Для наземной орхидеи умеренного климата северного полушария – *D. maculata* установлена способность накапливать триптофан и связанные формы аспарагиновой и глутаминовой кислот по сравнению с их свободными формами в формирующихся запасющих органах [26]. В тубероидах *Gymnadenia conopsea* выявлена новая непротеиногенная уреидозамещенная аминокислота, описана ее химическая структура [27]. Для этого же вида установлено наличие взаимосвязи между аминокислотным составом нектара, уровнем плодоношения и показателями опыления [28]. Имеющиеся данные позволяют характеризовать сродство изучаемых видов растений, участие аминокислот в регуляции процессов метаболизма, роста и развития, но не формируют целостной картины об аминокислотном составе редких видов орхидных. Исследования в этом направлении актуальны также для поиска новых источников биологически активных веществ растительного происхождения с перспективой разработки отечественных фитопрепаратов.

В связи с вышеизложенным целью исследования было определение аминокислотного состава надземных и подземных вегетативных органов тубероидного вида орхидных, произрастающего в природных условиях центра Европейской России, – пальчатокоренника пятнистого *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae).

Экспериментальная часть

Объектом исследования являлись генеративные особи пальчатокоренника пятнистого *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó – многолетнего растения с ежегодно замещающимся подземным запасующим органом стеблекорневого происхождения – тубероидом (клубнем) [11]. *D. maculata* является наиболее многочисленным и широко распространенным на территории Ярославской области видом орхидных [29]. Его стеблекорневой тубероид представляет ценность как продукт для получения лекарственного растительного сырья – «салепа» [6]. В России встречается в лесной зоне от Кольского полуострова до Среднего Поволжья, на Урале, в Западной и Средней Сибири (включая Красноярский край) [11]. В северной половине лесной зоны европейской части России *D. maculata* довольно обычен, южнее встречается значительно реже. Исследуемые растения произрастали в естественных условиях Центрально-Европейской России (Ярославская область) на

неохраняемой природной территории в осоково-разнотравном фитоценозе на дерново-подзолистой почве. Растительный материал собирали в фазу бутонизации (июнь 2017 г.), высушивали при температуре 120 °С в течение 40 мин и при температуре 80 °С до постоянной массы [30]. У генеративных особей отбирали небольшие фрагменты надземных вегетативных органов (листьев и стеблей), а отдельные придаточные корни и части стеблекорневых тубероидов получали путем аккуратного подкапывания растений. Средняя биологическая проба включала образцы от 15 особей. Проведенный сбор растительного материала *D. maculata* является щадящим и не может нанести ущерба ценопопуляции, поскольку она отличалась высокой численностью (более 200 особей) и плотностью (в скоплениях до 20 особей на 1 м²), была представлена разновозрастными растениями. Известно, что однократное сенокосение не является критическим для популяций луговых тубероидных орхидных [31], а надрезы их тубероидов могут инициировать ризореституционное размножение, приводящее к образованию нескольких молодых запасающих органов [32].

Анализ содержания аминокислот проводили на базе Ярославского государственного института качества сырья и пищевых продуктов методом зонного капиллярного электрофореза с помощью системы Agilent G7100A (США) с диодно-матричным детектором. Для определения белковых (протеиногенных) аминокислот растительный материал подвергали кислотному гидролизу (6 М соляная кислота) при температуре 110 °С в течение 16 ч, гидролизат фильтровали и проводили дериватизацию фенилизотиоционатом с целью получения *N*-фенилтиокарбамилпроизводных форм аминокислот. Вследствие разрушения триптофана при кислотном гидролизе для его определения использовали щелочной гидролиз, который разрушает большую часть других протеиногенных аминокислот. В связи с этим гидролиз проводили с использованием насыщенного водного раствора гидроксида бария при температуре 110 °С в течение 16 ч. Гидролизат нейтрализовали серной кислотой, центрифугировали для осаждения хлопьев сульфата бария. В связи со способностью триптофана флуоресцировать под воздействием УФ-света стадия дериватизации исключалась из проподготовки. В качестве электролита использовали раствор тетраборнокислого натрия с добавлением β-циклодекстрина (при определении триптофана β-циклодекстрина не добавляли). Регистрацию сигнала проводили в УФ-области спектра. Соединения идентифицировали по времени миграции и методом добавки, содержание рассчитывали по площадям пиков методом внешнего стандарта [33, 34].

Обсуждение результатов

Результаты разделения аминокислот листьев *D. maculata* при использовании кислотного гидролиза представлены на электрофореграмме (рис. 1). Необходимо отметить хорошее разделение пиков 14 аминокислот при введении в фоновый электролит β-циклодекстрина, что обусловлено образованием с аналитами комплексов включения и, как следствие, дополнительной дифференциацией свойств образуемых комплексов. Время миграции исследуемых аминокислот находится в диапазоне с 17 по 34 мин, порядок выхода обусловлен их химической природой и, соответственно, разной электрофоретической подвижностью. Так, аргинин и лизин, находящиеся в катионной форме, детектируются в первую очередь, остальные, представленные анионами, – позднее (рис. 1). Отсутствие на электрофореграмме аспарагиновой, глутаминовой кислот и цистеина связано, по-видимому, с их низкой электрофоретической подвижностью. Возможность определения этих аминокислот потребует в дальнейшем модификации методики.

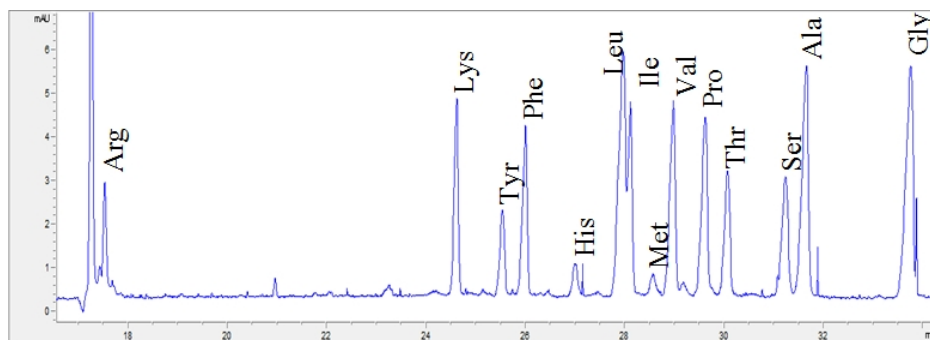


Рис. 1. Электрофореграмма аминокислот листьев *D. maculata*: кислотный гидролиз

Для определения триптофана в связи с частичным его разрушением под действием кислот проводили щелочной гидролиз растительного материала. Пик искомой аминокислоты при использованных условиях выходит на 16-й минуте анализа, что отражено на электрофореграмме (рис. 2). На рисунке одновременно присутствуют пики других соединений, по-видимому, также являющихся аминокислотами, но их разрушение при щелочном гидролизе не позволяет провести полноценный количественный анализ этих веществ в выбранных экспериментальных условиях.

Всего в результате исследования в вегетативных органах *D. maculata* выявлено 15 аминокислот (табл.). Среди них отмечено 9 «незаменимых» – лизин, фенилаланин, гистидин, лейцин, изолейцин, метионин, валин, треонин и триптофан. Обнаруженные аминокислоты можно разделить на три функциональные группы – алифатические, ароматические и гетероциклические. Алифатические кислоты представлены пятью моноаминомонокарбоновыми (лейцин, изолейцин, валин, аланин, глицин), двумя оксимоноаминокарбоновыми (треонин, серин), двумя диаминомонокарбоновыми (аргинин, лизин) и одной серосодержащей (метионин). Из ароматических аминокислот выявлены тирозин и фенилаланин. Гетероциклические кислоты представлены гистидином, пролином и триптофаном.

Установлено, что из выявленных аминокислот в растительном материале *D. maculata* максимальным суммарным содержанием отличается лейцин (42.8 мг/г сухой массы (рис. 3)). К группе аминокислот с высоким общим уровнем относятся аланин (29.0 мг/г сухой массы), аргинин (27.5 мг/г сухой массы), валин (26.0 мг/г сухой массы), фенилаланин (25.4 мг/г сухой массы). Повышенное суммарное содержание в исследованном материале характерно для глицина (23.5 мг/г сухой массы), серина (23.2 мг/г сухой массы), пролина (21.3 мг/г сухой массы), треонина (20.1 мг/г сухой массы), изолейцина (20,0 мг/г сухой массы). Пониженное количественное содержание выявлено для лизина (16.2 мг/г сухой массы), тирозина (15.7 мг/г сухой массы), гистидина (13.0 мг/г сухой массы), минимальное для триптофана (6.4 мг/г сухой массы) и метионина (4.7 мг/г сухой массы (рис. 3)).

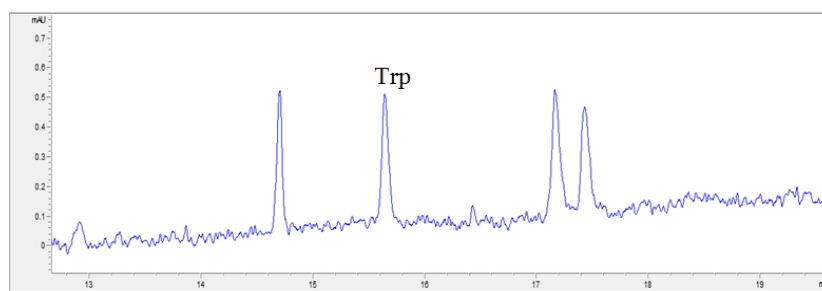


Рис. 2. Электрофореграмма аминокислот листьев *D. maculata*: щелочной гидролиз

Содержание (мг/г сухой массы) и относительное соотношение (%) аминокислот в вегетативных органах *D. maculata*

№	Аминокислоты		Листья		Стебель		Придаточные корни		Тубероиды			
			мг/г	%	мг/г	%	мг/г	%	Молодые		Старые	
			мг/г	%	мг/г	%	мг/г	%	мг/г	%	мг/г	%
1	Аргинин	Arg	9.54	8.2	3.49	6.8	6.23	8.1	7.05	16.5	1,15	4,3
2	Лизин	Lys	5.85	5.0	2.77	5.4	2.27	3.0	3.06	7.1	2,20	8,3
3	Тирозин	Tyr	5.97	5.1	2.63	5.1	3.77	4.9	1.99	4.7	1,31	4,9
4	Фенилаланин	Phe	10.77	9.2	4.04	7.9	6.13	8.0	2.63	6.1	1,78	6,7
5	Гистидин	His	3.32	2.8	2.24	4.3	2.94	3.8	2.61	6.1	1,90	7,1
6	Лейцин	Leu	17.17	14.1	7.15	13.9	10.32	13.5	4.85	10.5	3,29	12,2
7	Изолейцин	Ile	7.72	7.2	3.52	6.8	5.09	6.6	2.08	5.7	1,55	6,0
8	Метионин	Met	1.43	1.2	0.82	1.6	0.97	1.3	1.04	2.4	0,42	1,6
9	Валин	Val	9.75	8.3	4.26	8.3	6.52	8.5	3.11	7.3	2,31	8,7
10	Пролин	Pro	8.68	7.4	3.77	7.3	5.14	6.7	1.91	4.5	1,78	6,7
11	Треонин	Thr	7.45	6.4	3.44	6.7	4.66	6.1	2.64	6.2	1,90	7,1
12	Серин	Ser	7.55	6.5	3.43	6.7	7.46	9.7	2.77	6.5	1,94	7,3
13	Аланин	Ala	10.45	8.9	4.84	9.4	7.71	10.0	3.63	8.5	2,36	8,9
14	Глицин	Gly	8.67	7.4	3.92	7.6	6.18	8.1	2.60	6.1	2,08	7,8
15	Триптофан	Trp	2.51	2.2	1.20	2.3	1.31	1.7	0.82	1.9	0,59	2,2
	Σ		116,9	100	51.5	100	76.7	100	42.8	100	26.6	100

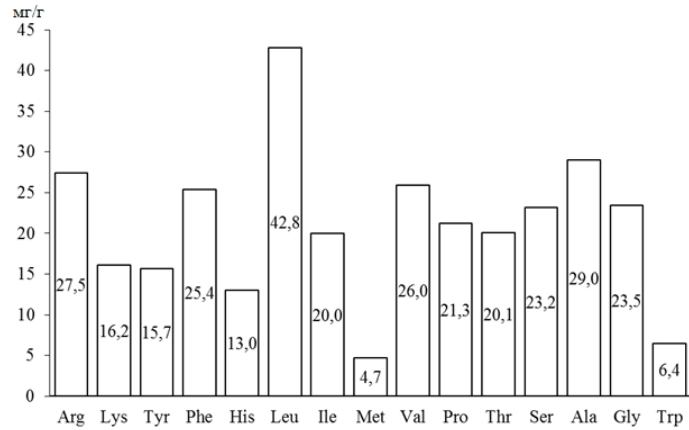


Рис. 3. Суммарное содержание аминокислот в растительном материале *D. maculata* (мг/г сухой массы)

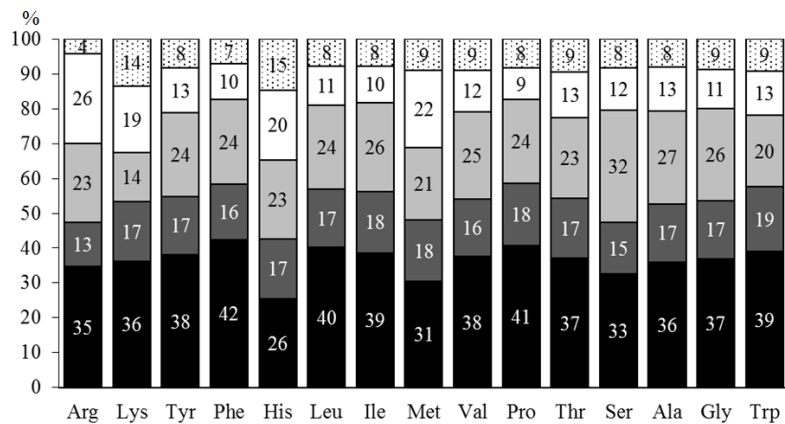
Исследуемые органы *D. maculata* по уменьшению суммарного содержания аминокислот располагаются следующим образом: листья (116.9 мг/г сухой массы) – придаточные корни (76.7) – стебли (51.5) – молодые тубероиды (42.8) – старые тубероиды (26.6) (табл.). Вклад отдельных аминокислот в их суммарное содержание существенно различается. Например, доля метионина в листьях составляет 1.2%, а лейцина – 14.1%. Во всех вегетативных органах за исключением молодых тубероидов преобладает содержание лейцина, которое варьирует от 3.3 мг/г сухой массы в старых тубероидах до 17.2 мг/г сухой массы в листьях (табл.). В молодых тубероидах содержание лейцина (4.9 мг/г сухой массы) находится на втором месте после аргинина (7.1 мг/г сухой массы). При этом листья также характеризуются повышенным содержанием фенилаланина, аланина, аргинина, валина, пролина и глицина; стебель – аланина, валина, фенилаланина и глицина; придаточные корни – аланина, серина, валина, аргинина и глицина (табл.).

Подземная сфера *D. maculata* представлена двумя стеблекорневыми тубероидами: молодым (формирующимся в течение сезонного развития), активно накапливающим запасные вещества, и старым (зимовавшим), пластические вещества которого используются в текущем вегетационном периоде. Установлено, что суммарное содержание аминокислот в молодых тубероидах на 38% превышает таковое в старых запасающих органах (табл.). Эти различия наиболее выражены для аргинина (в 6 раз), что, вероятно, связано с запасной функцией этой аминокислоты, содержащей более 30% азота.

Что касается относительного распределения аминокислот по вегетативным органам, то для всех них характерно наибольшее содержание в листьях *D. maculata* (рис. 4), что, очевидно, обусловлено спецификой синтезирующихся белков. Для разных аминокислот этот показатель варьирует от 26% (гистидин) до 42% (фенилаланин). В подземных органах соотношение аминокислот, как правило, оказывается в пользу придаточных корней (тирозин, фенилаланин, лейцин, изолейцин, валин, пролин, тирозин, серин, аланин, глицин). Эти значения меняются в пределах от 23% (тирозин) до 32% (серин). Однако пять аминокислот (аргинин, лизин, гистидин, метионин, триптофан) по количественному соотношению преобладают в системе запасающих органов с преимущественным накоплением в молодом тубероиде (рис. 4).

Рис. 4. Распределение аминокислот по вегетативным органам *D. maculata* (%):

- – листья, ■ – стебель,
- – придаточные корни,
- – молодые тубероиды,
- ▨ – старые тубероиды



Выводы

Впервые получены данные для надземных и подземных вегетативных органов *D. maculata* о содержании и соотношении аминокислот – соединений с широким спектром фармакологического действия. Выявлено 15 аминокислот, из которых 9 являются незаменимыми (лизин, фенилаланин, гистидин, лейцин, изолейцин, метионин, валин, треонин, триптофан). Наибольшее суммарное содержание аминокислот характерно для листьев, наименьшее – для старых (зимовавших) тубероидов. Уровень аминокислот в молодых тубероидах на 38% превышает таковой в старых запасающих органах. Из выявленных аминокислот в растительном материале *D. maculata* максимальным суммарным содержанием отличается лейцин, минимальным – триптофан и метионин. Вегетативные органы также богаты аланином, аргинином, валином и фенилаланином. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований аминокислотного состава данного вида и могут характеризовать его как источник ценных в лекарственном отношении веществ с широким спектром фармакологической активности.

Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР (VII издание). М., 1934. 536 с.
2. Государственная фармакопея СССР (VIII издание). М., 1952. 822 с.
3. Государственная фармакопея СССР (IX издание). М., 1961. 914 с.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации (XIII издание). М., 2015. 1469 с.
5. Широков А.И., Коломейцева Г.Л., Буров А.В., Каменева Е.В. Культивирование орхидей Европейской России. Нижний Новгород, 2005. 64 с.
6. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: цветковые растения, их химический состав, использование. Сем. Butomaceae – Turphaceae. СПб., 1994. 271 с.
7. Маракаев О.А., Николаева Т.Н., Алявина А.К., Загоскина Н.В. Содержание фенольных соединений и состояние микосимбионта в вегетативных органах зимующей орхидеи // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2007. №4. С. 20–27.
8. Маракаев О.А., Титова О.В. Динамика содержания углеводов в вегетативных органах *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae) разных возрастных состояний в зависимости от погодных условий // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. 2009. Т. 114. №4. С. 20–26.
9. Маракаев О.А., Целебровский М.В., Николаева Т.Н., Загоскина Н.В. Некоторые аспекты роста подземных органов пальчатокоренника пятнистого и накопления в них фенольных соединений на генеративном этапе онтогенеза // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2013. №3. С. 315–323. DOI: 10.7868/S0002332913030065.
10. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шрегер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3 т. М.: Наука, 2001. Т. 1. 350 с.; Т. 2. 764 с.; Т. 3. 216 с.
11. Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Татаренко И.В. Орхидные России (биология, экология и охрана). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 475 с.
12. Bilz M., Kell S.P., Maxted N., Lansdown R.V. European Red List of Vascular Plants. Luxembourg, Publications Office of the European Union, 2011. 130 p.
13. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Appendices I, II and III valid from 12 June 2013. International Environment House. Switzerland, Geneva, 45.
14. Маракаев О.А. Семейство Орхидные – Orchidaceae // Красная книга Ярославской области. Ярославль, 2015. С. 114–138.
15. Куликов П.В., Филиппов Е.Г. О методах размножения орхидных умеренной зоны в культуре *in vitro* // Бюллетень Главного ботанического сада. 1998. Вып. 176. С. 125–131.
16. Коломейцева Г.Л., Антипина В.А., Широков А.И., Хомутовский М.И., Бабоша А.В., Рябченко А.С. Семена орхидей: развитие, структура, прорастание. М.: Геос, 2012. 352 с.
17. Алиева М.И., Бездудная О.А., Володина С.О., Филиппова В.Н., Потапова Г.П., Володин В.В. Сравнительный аминокислотный состав растений – продуцентов экистероидов // Химия растительного сырья. 2002. №1. С. 63–68.
18. Кочиян А.Т., Кочиян В.Т., Топчян А.В. Аминокислотный состав некоторых пищевых и лекарственных растений флоры Армении // Медицинская наука Армении НАН РА. 2011. №3. С. 119–131.
19. Рудниченко Е.С., Коренман Я.И., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И. Аминокислотный и углеводный составы молочно-растительного экстракта якона // Химия растительного сырья. 2008. №4. С. 79–82.
20. Тринеева О.В., Синкевич А.В., Сливкин А.И. Исследование аминокислотного состава извлечений из растительных объектов // Химия растительного сырья. 2015. №2. С. 141–148.
21. Измайлов С.Ф. Азотный обмен в растениях. М., 1986. 320 с.
22. Кретович В.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений. М., 1987. 486 с.
23. Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Кузнецов В.В. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата // Физиология растений. 2008. Т. 55. №5. С. 721–730.

24. Косаковская И.В., Шмиговская В.В., Чернядьев И.И., Доман Н.Г. Сравнительное изучение аминокислотного состава и карбоксилазной активности рибулозодифосфаткарбоксилазы некоторых видов семейства Orchidaceae // Охрана и культивирование орхидей. Тезисы докладов II Всесоюзного совещания. Киев, 1983. С. 77–79.
25. Корнеева Г.И., Гетко Н.В. Распределение пула аминокислот в вегетативных и генеративных органах гибридов *Phalaenopsis* Blume в период завершения цветения в условиях оранжерей // Охрана и культивирование орхидей: материалы X Международной научно-практической конференции. Минск, 2015. С. 105–109.
26. Маракаев О.А., Титова О.В. О возможном участии аминокислот в биосинтезе ауксинов у *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae) // Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях: тезисы докладов VI Международной конференции. М., 2001. С. 49.
27. Lin Peng-Cheng, Yao Jing, Wu Jiang, Tian Jin, Bao Yi, Lin Sheng. A new ureidosubstituted amino acid from the tubers of *Gymnadenia conopsea* // Chinese Chemical Letters, 2017. N28. Pp. 257–259. DOI: 10.1016/j.ccl.2016.08.005.
28. Gijbels P., Ceulemans T., Van den Ende W., Honnay O. Experimental fertilization increases amino acid content in floral nectar, fruit set and degree of selfing in the orchid *Gymnadenia conopsea* // Oecologia, 2015. N179. Pp. 785–795. DOI: 10.1007/s00442-015-3381-8.
29. Маракаев О.А. Орхидные Ярославской области: перспективы сохранения. Ярославль, 2013. 94 с.
30. Ермакова А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И., Ярош Н.П., Луковникова Г.А. Методы биохимического исследования растений. Л., 1972. 456 с.
31. Татаренко И.В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. М., 1996. 207 с.
32. Собко В.Т. Ризореституционное размножение вегетативных малолетников семейства орхидных // Охрана и культивирование орхидей. Таллин, 1980. С. 82–87.
33. ГОСТ Р 55569-2013. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение протеиногенных аминокислот методом капиллярного электрофореза. М., 2014. 18 с.
34. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». СПб., 2006. 212 с.

Поступила в редакцию 9 сентября 2018 г.

После переработки 11 декабря 2018 г.

Принята к публикации 23 января 2019 г.

Для цитирования: Сечин Е.Н., Маракаев О.А., Гаврилов Г.Б. Аминокислотный состав вегетативных органов *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae) // Химия растительного сырья. 2019. №2. С. 135–143. DOI: 10.14258/jcprm.2019024364.

Sechin E.N.¹, Marakaev O.A.^{1}, Gavrilov G.B.² AMINO ACID COMPOSITION OF VEGETATIVE ORGANS DACTYLORHIZA MACULATA (L.) SOÓ (ORCHIDACEAE)*

¹ Yaroslavl State University. P.G. Demidov, ul. Sovetskaya, 14, Yaroslavl, 150000 (Russia),

e-mail: marakaev@uniyar.ac.ru

² Yaroslavl State Institute of the Quality of Raw Materials and Food, Moskovsky Prospekt, 76a, Yaroslavl, 150030 (Russia)

Amino acid composition of aboveground and underground vegetative organs of *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae), one of the representatives of the tuberoid species of orchids growing under the natural conditions of the center of European Russia, was detected using the method of zone capillary electrophoresis. The presence of 15 amino acids in the plant material, nine of them are «essential» (lysine, phenylalanine, histidine, leucine, isoleucine, methionine, valine, threonine, tryptophan) was established. The highest total amino acid content is characteristic of the leaves, the smallest for the old (wintered) caulorrhizous tuberoids. Among the identified amino acids in the plant material of *D. maculata*, the maximum total content is of leucine, the minimum are of tryptophan and methionine. The vegetative organs are also rich in alanine, arginine, valine and phenylalanine. The total content of amino acids in young caulorrhizous tuberoids is 38% higher than that in old storage organs. These differences are most pronounced for arginine, which is probably due to the spare function of this amino acid, containing more than 30% nitrogen. The got data indicate the promise of further studies of the amino acid composition of *D. maculata* and can characterize this species as a source of medicinal valuable substances with a broad spectrum of pharmacological activity.

Keywords: Orchidaceae, *Dactylorhiza maculata*, amino acid composition, capillary electrophoresis.

References

1. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR (VII izdaniye)*. [State Pharmacopoeia of the USSR (VII edition)]. Moscow, 1934, 536 p. (in Russ.).
2. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR (VIII izdaniye)*. [State Pharmacopoeia of the USSR (VIII edition)]. Moscow, 1952, 822 p. (in Russ.).
3. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR (IX izdaniye)*. [State Pharmacopoeia of the USSR (IX edition)]. Moscow, 1961, 914 p. (in Russ.).
4. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii (XIII izdaniye)*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation (XIII edition)]. Moscow, 2015, 1469 p. (in Russ.).
5. Shirokov A.I., Kolomeytseva G.L., Burov A.V., Kameneva Ye.V. *Kul'tivirovaniye orkhidey Yevropeyskoy Rossii*. [Cultivation of orchids in European Russia]. Nizhniy Novgorod, 2005, 64 p. (in Russ.).
6. *Rastitel'nyye resursy Rossii i sopredel'nykh gosudarstv: tsvetkovyye rasteniya, ikh khimicheskiy sostav, ispol'zovaniye. Sem. Butomaceae – Typhaceae*. [Plant resources of Russia and neighboring states: flowering plants, their chemical composition, use. Sem. Butomaceae – Typhaceae]. St. Petersburg, 1994, 271 p. (in Russ.).
7. Marakayev O.A., Nikolayeva T.N., Alyavina A.K., Zagoskina N.V. *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya i ekologiya*, 2007, no. 4, pp. 20–27. (in Russ.).
8. Marakayev O.A., Titova O.V. *Byulleten' Moskovskogo obshchestva ispytateley prirody. Otdel biologicheskoy*, 2009, no. 114, no. 4, pp. 20–26. (in Russ.).
9. Marakayev O.A., Tselebrovskiy M.V., Nikolayeva T.N., Zagoskina N.V. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya biologicheskaya*, 2013, no. 3, pp. 315–323, DOI: 10.7868/S0002332913030065. (in Russ.).
10. Golovkin B.N., Rudenskaya R.N., Trofimova I.A., Shreter A.I. *Biologicheski aktivnyye veshchestva rastitel'nogo proiskhozhdeniya. V 3-kh tomakh*. [Biologically active substances of plant origin. In 3 volumes]. Moscow, 2001, vol. 1, 350 p.; vol. 2, 764 p.; vol. 3, 216 p. (in Russ.).
11. Vakhrameyeva M.G., Varlygina T.I., Tatarenko I.V. *Orkhidnyye Rossii (biologiya, ekologiya i okhrana)*. [Orchid Russia (biology, ecology and protection)]. Moscow, 2014, 475 p. (in Russ.).
12. Bilz M., Kell S.P., Maxted N., Lansdown R.V. *European Red List of Vascular Plants*. Luxembourg, Publications Office of the European Union, 2011, 130 p.
13. *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*. Appendices I, II and III valid from 12 June 2013. International Environment House. Switzerland, Geneva, 45.
14. Marakayev O.A. *Krasnaya kniga Yaroslavskoy oblasti*. [The Red Book of the Yaroslavl Region]. Yaroslavl, 2015, pp. 114–138. (in Russ.).
15. Kulikov P.V., Filippov Ye.G. *Byullyuten' Glavnogo botanicheskogo sada*, 1998, vol. 176, pp. 125–131. (in Russ.).
16. Kolomeytseva G.L., Antipina V.A., Shirokov A.I., Khomutovskiy M.I., Babosha A.V., Ryabchenko A.S. *Semena orkhidey: razvitiye, struktura, prorastaniye*. [Orchid seeds: development, structure, germination]. Moscow, 2012, 352 p. (in Russ.).
17. Aliyeva M.I., Bezdudnaya O.A., Volodina S.O., Filippova V.N., Potapova G.P., Volodin V.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2002, no. 1, pp. 63–68. (in Russ.).
18. Kochikyan A.T., Kochikyan V.T., Topchyan A.V. *Meditsinskaya nauka Armenii NAN RA*, 2011, no. 3, pp. 119–131. (in Russ.).
19. Rudnichenko Ye.S., Korenman YA.I., Mel'nikova Ye.I., Niftaliyev S.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2008, no. 4, pp. 79–82. (in Russ.).
20. Trineyeva O.V., Sinkevich A.V., Slivkin A.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2015, no. 2, pp. 141–148. (in Russ.).

* Corresponding author.

21. Izmaylov S.F. *Azotnyy obmen v rasteniyakh*. [Nitrogen metabolism in plants]. Moscow, 1986, 320 p. (in Russ.).
22. Kretovich V.L. *Usvoeniye i metabolizm azota u rasteniy*. [The assimilation and metabolism of nitrogen in plants]. Moscow, 1987, 486 p. (in Russ.).
23. Radyukina N.L., Shashukova A.V., Kuznetsov V.V. *Fiziologiya rasteniy*, 2008, vol. 55, no. 5, pp. 721–730. (in Russ.).
24. Kosakovskaya I.V., Shmigovskaya V.V., Chernyad'yev I.I., Doman N.G. *Okhrana i kul'tivirovaniye orkhidey. Tezisy dokladov II Vsesoyuznogo soveshchaniya*. [Protection and cultivation of orchids. Theses of reports of the II All-Union meeting]. Kiyev, 1983, pp. 77–79. (in Russ.).
25. Korneyeva G.I., Getko N.V. *Okhrana i kul'tivirovaniye orkhidey. Materialy X Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. [Protection and cultivation of orchids. Materials of the X International Scientific and Practical Conference]. Minsk, 2015, pp. 105–109. (in Russ.).
26. Marakayev O.A., Titova O.V. *Regulyatory rosta i razvitiya rasteniy v biotekhnologiyakh. Tezisy dokladov VI Mezhdunarodnoy konferentsii*. [Regulators of plant growth and development in biotechnology. Abstracts of the VI International Conference]. Moscow, 2001, p. 49. (in Russ.).
27. Lin Peng-Cheng, Yao Jing, Wu Jiang, Tian Jin, Bao Yi, Lin Sheng. *Chinese Chemical Letters*, 2017, no. 28, pp. 257–259, DOI: 10.1016/j.ccl.2016.08.005.
28. Gijbels P., Ceulemans T., Van den Ende W., Honnay O. *Oecologia*, 2015, no. 179, pp. 785–795, DOI: 10.1007/s00442-015-3381-8.
29. Marakayev O.A. *Orkhidnyye Yaroslavskoy oblasti: perspektivy sokhraneniya*. [Orchids of the Yaroslavl region: conservation prospects]. Yaroslavl', 2013, 94 p. (in Russ.).
30. Yermakova A.I., Arasimovich V.V., Smirnova-Ikonnikova M.I., Yarosh N.P., Lukovnikova G.A. *Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy*. [Methods of biochemical studies of plants]. Leningrad, 1972, 456 p. (in Russ.).
31. Tatarenko I.V. *Orkhidnyye Rossii: zhiznennyye formy, biologiya, voprosy okhrany*. [Orchid Russia: life forms, biology, protection issues]. Moscow, 1996, 207 p. (in Russ.).
32. Sobko V.T. *Okhrana i kul'tivirovaniye orkhidey*. [Protection and cultivation of orchids]. Tallin, 1980, pp. 82–87. (in Russ.).
33. *GOST R 55569-2013. Korma, kombikorma, kombikormovoye syr'ye. Opredeleniye proteinogennykh aminokislot metodom kapillyarnogo elektroforeza*. [GOST R 55569-2013. Feed, feed, feed raw materials. Determination of proteinogenic amino acids by capillary electrophoresis]. Moscow, 2014, 18 p. (in Russ.).
34. Komarova H.B., Kamentsev Ya.S. *Prakticheskoye rukovodstvo po ispol'zovaniyu sistem kapillyarnogo elektroforeza «Kapel'»*. [A practical guide to the use of systems of capillary electrophoresis "Capel"]. St. Petersburg, 2006, 212 p. (in Russ.).

Received September 9, 2018

Revised December 11, 2018

Accepted January 23, 2019

For citing: Sechin E.N., Marakayev O.A., Gavrilov G.B. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 2, pp. 135–143. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019024364.

