

УДК 615.32:58+547.963

ЛЕКТИНЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ЭХИНАЦЕЯ (*ECHINACEA* MOENCH.). 3. ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ В ОНТОГЕНЕЗЕ *ECHINACEA PALLIDA* (NUTT.) NUTT.

© С.В. Поспелов

Полтавская государственная аграрная академия, ул. Сковороды, 1/3,
Полтава, 36003 (Украина), e-mail: serg_ps@mail.ru

Впервые изучена активность лектинов эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt) в онтогенезе. Установлено, что у растений прегенеративного периода онтогенеза активность фитолектинов в надземной и подземной частях наиболее высокая во второй половине вегетации: в листьях она была в два раза выше, чем в корневищах с корнями. В растениях генеративного периода онтогенеза агглютинирующая активность экстрактов была наивысшей во время цветения. Надземная масса рассматривается как важный сырьевой источник лектинов.

Ключевые слова: лектины, гемагглютинация, эхинацея бледная, сорт «Красуня Прэрий», онтогенез, *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt.

Введение

Эхинацея бледная (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt, сем. Сложноцветные – Asteraceae) перспективный вид рода *Echinacea* Moench, который в настоящее время всесторонне интенсивно изучается во всем мире [1]. Интерес фитохимиков объясняется уникальной композицией полисахаридов и фенольных соединений, в составе которых кроме традиционных производных гидроксикоричных кислот присутствует эхинакозид, что ставит этот вид на один уровень с эхинацеей узколистной [1–3]. В результате двадцатилетнего изучения биологии и агротехники эхинацеи бледной в Полтавской государственной аграрной академии впервые в мире выведен сорт «Красуня Прэрий», созданы производственные плантации в Украине [4–6]. Ее фитохимия детально исследована учеными Национального фармацевтического университета, что позволило им разработать препарат из корневищ с корнями эхинацеи бледной «Иммунозащита» [7]. Высокие адаптивные свойства указанного вида делают возможным его выращивание в более засушливых условиях по сравнению с эхинацеей пурпурной, что отмечалось в исследованиях, проведенных на юге Украины [8], в условиях Среднего Урала [9].

Вместе с тем белковый комплекс эхинацеи бледной изучен недостаточно, что и послужило основанием для изучения нами лектинов в ее образцах. Если для эхинацеи пурпурной имеются данные об их наличии [10], то для эхинацеи бледной мы таких сведений не обнаружили.

В этой связи целью настоящих исследований было изучение активности лектинов в разных частях и органах эхинацеи бледной на протяжении онтогенеза.

Материалы и методы

На протяжении 2003–2006 гг. нами изучалась активность лектинов в сухих образцах эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt) сорта «Красуня Прэрий». Для этого в условиях промышленных плантаций в Полтавской области (Украина) отбирали растения первого и второго годов вегетации, отделяли части

Оценку лектиновой активности экстрактов эхинацеи проводили путем постановки реакции гемагглютинации в иммунологических планшетах [11] в нашей модификации. Воздушно-сухое сырье измельчали и просеивали на ситах с диаметром отверстий 1,0 мм. Экстракцию проводили при соотношении сырье – физиологический раствор 1 : 20, настаивали 2 ч при комнатной температуре и фильтровали. В каждую лунку планшета добавляли по 0,05 мл физиологического раствора, забуференного фосфатно-цитратным буфером до pH=4,4, вносили по 0,05 мл экстракта и готовили серию последовательных двукратных разведений в восьми лунках планшета. Затем в них добавляли по 0,05 мл 2%-ной суспензии трижды отмытых эритроцитов крови человека и инкубировали при 25 °С 2 ч, после чего проводили визуальную оценку по пятибалльной шкале [12]: 3 балла: резко выраженная агглютинация – эритроциты в виде тонкой пленки более или менее равномерно распределяются по всему дну лунки; 2 балла – умеренная агглютинация: эритроциты расходятся по дну лунки на расстояние, превышающее в диаметре 2 мм, образуя кольцо с резко выраженной зернистостью по краям; 1 балл – слабая агглютинация: эритроциты расходятся по дну лунки на расстояние менее 2 мм, образуя колечко или диск; 0,5 балла – минимальная агглютинация: в центре совокупности эритроцитов, осевших на дно лунки, возникает небольшой просвет; 0 баллов – отсутствие агглютинации: эритроциты скапливаются в центре лунки. Результаты активности в каждой серии разведений в рамках образца суммировались.

Обсуждение результатов

На протяжении трех лет нами проводились систематические отборы образцов эхинацеи бледной первого года вегетации. Результаты их анализа приведены на рисунке 1. Оценка активности лектинов в листовых пластинках (рис. 1, II) показывает достаточно высокий уровень на протяжении всей вегетации. В молодых пластинках активность составляла в среднем 12,0 баллов, со временем она возрастала, и в октябре достигла 16,0 баллов. Аналогичная закономерность была характерна и для листовых черешков (рис. 1, III). В июльских отборах активность агглютинации была минимальной – 9,0 баллов, а концу вегетации возросла до 17,0 баллов. Определение активности в подземной части показало, что в молодых корневищах с корнями лектины не обнаруживались, и только в октябре их содержание оценивалось в 2,0 балла.

Для эхинацеи бледной переход в генеративный период онтогенеза, как правило, происходит на второй год вегетации [4]. Вместе с тем в условиях Полтавской области незначительное количество растений зацветало уже в конце первого года, в октябре. Их мы использовали для своих исследований. Следует заметить, что активность лектинов в стеблях и формирующихся соцветиях была сравнительно высокой – 12,5 баллов. Еще более высокий уровень отмечался нами у расцветших корзинок – 14,0 баллов (рис. 1).

Полученные данные позволяют сделать вывод, что у растений первого года вегетации листья выступают основным местом как синтеза, так и локализации лектинов в растении. Молодые корневища с корнями лишь в небольшой степени накапливают фитолектины в конце вегетации, в стебли и соцветия они, видимо, поступают вместе с другими необходимыми веществами, и в последующем там локализуются. Таким образом, надземная масса в конце вегетационного периода накапливает значительное количество лектинов и представляет интерес как сырьевой источник этих специфических белковых соединений.

Нами также определялось наличие лектинов в образцах эхинацеи бледной второго года вегетации. Изучение динамики их активности, проводившееся нами на протяжении трех лет, свидетельствует о более значительном их накоплении в надземной части по сравнению с корневищами и корнями. На рисунке 2 показано изменение активности лектинов в розеточных листьях эхинацеи бледной. В период отрастания – начало цветения (май – июнь) агглютинирующая активность экстрактов листовых пластинок составляла 5,5–6,0 баллов. В последующем она возрастала до 21,0–24,0 баллов. Подобным образом изменялась активность лектинов и в черешках. Если в майских отборах она была 7,0 баллов, то в июне – сентябре – на уровне 18,0–24,0 баллов. Это наводит на мысль, что в мае – июне в листьях активно синтезируются лектины и через черешки транспортируются в другие части растения. В последующем (июль – август) одновременно с синтезом идут процессы накопления агглютининов в листьях.

Аналогичные закономерности характерны и для стеблевых листьев (рис. 3). Весной во время отрастания активность лектинов составляла 9,5 баллов в листовых пластинках и 10,0 в черешках. С начала цветения и до конца вегетации агглютинирующая активность экстрактов возрастала с 18,0–19,5 баллов до 21,0–24 баллов. Известно, что характерной особенностью лектинов является свойство обратимо и специфически связываться с углеводными лигандами, что дает возможность перемещаться агглютинином по

растению [11, 13]. Весьма вероятно предположить, что полисахаридный комплекс эхинацеи может не только выполнять транспортную функцию по отношению к лектинам, но и связываться с ними, накапливаясь в частях и органах растения.

Для эхинацеи полисахаридный комплекс – важное звено комплекса биологически активных веществ. Считается, что гетероксилан, арабиногалактан, арабинорамногалактан, фруктозосодержащие полисахариды (инулин) и другие ответственны за иммуномодулирующее и противовоспалительные свойства эхинацеи. Заслуживают внимание работы Е.С. Васфиловой и Р.А. Багаудиновой [14], которые провели оригинальные исследования эхинацеи бледной на предмет содержания в ней фруктанов. Авторами было установлено, что подземная часть *E. pallida* содержит значительное количество олиго- и полифруктанов. В связи с недавно выделенными соединениями арабиногалактан-протеинами (AGPs) и их свойствами [15] изучение лектин-полисахаридных комплексов эхинацеи может получить новое развитие.

Агглютинирующая активность экстрактов стеблей обнаруживалась с момента их образования (рис. 4). В мае активность была минимальной (12,0 баллов), в последующем она возростала и в конце вегетации достигала своего максимума (20,0–21,0 баллов).

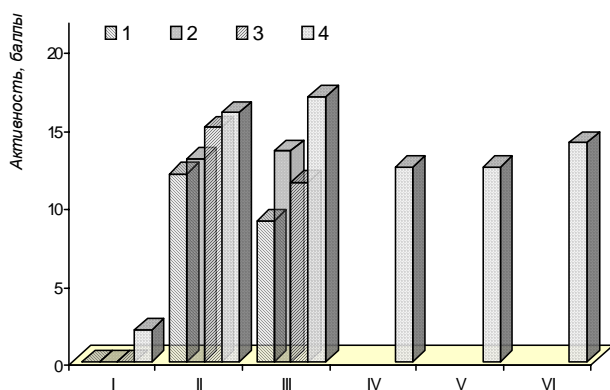


Рис. 1. Динамика активности лектинов эхинацеи бледной первого года вегетации (среднее за 2003–2005 гг.): I – корневая система; II – листовая пластинка; III – черешки листьев; IV – стебли; V – соцветия нерасцветшие; VI – цветущие соцветия; отборы: 1 – июль; 2 – август; 3 – сентябрь; 4 – октябрь

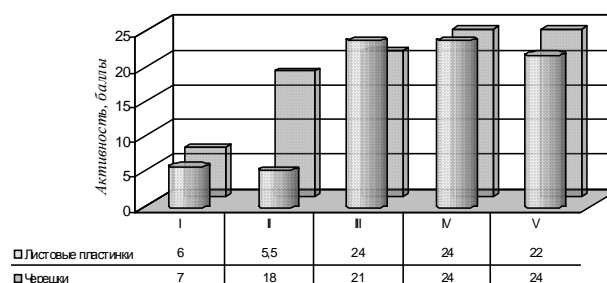


Рис. 2. Динамика активности лектинов в розеточных листьях эхинацеи бледной второго года вегетации (среднее за 2004–2006 гг.): отборы: 1 – отрастание; 2 – формирование соцветий; 3 – цветение; 4 – плодообразование; 5 – созревание плодов

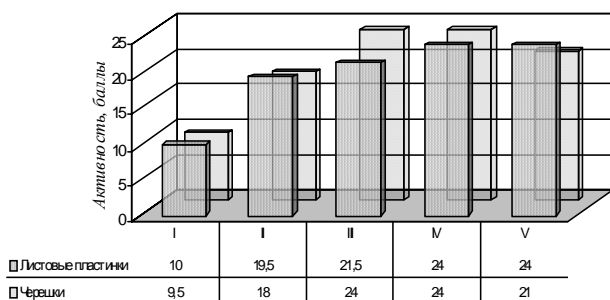


Рис. 3. Динамика активности лектинов в стеблевых листьях эхинацеи бледной второго года вегетации (среднее за 2004–2006 гг.): отборы: 1 – отрастание; 2 – формирование соцветий; 3 – цветение; 4 – плодообразование; 5 – созревание плодов

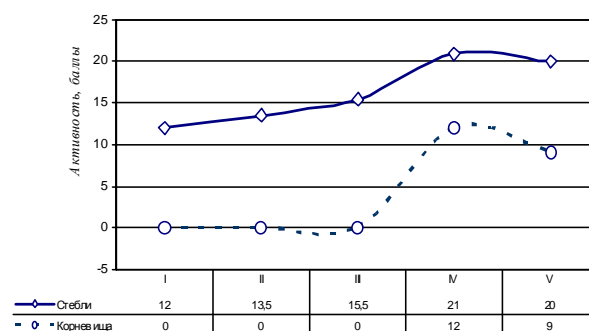


Рис. 4. Динамика активности лектинов в стеблях и корневищах эхинацеи бледной второго года вегетации (среднее за 2004–2006 гг.): отборы: 1 – отрастание; 2 – формирование соцветий; 3 – цветение; 4 – плодообразование; 5 – созревание плодов

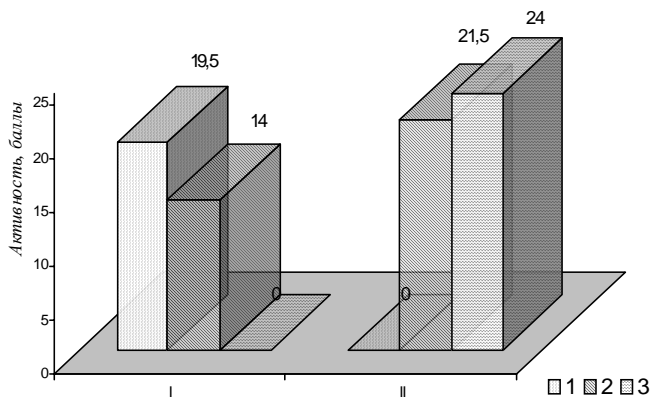


Рис. 5. Динамика активности лектинов в соцветиях эхинацеи бледной второго года вегетации (среднее за 2004–2006 гг.): I – соцветия нерасцветшие; II – цветущие соцветия

не обнаруживались, а активность лектинов в расцветших соцветиях (июль) составляла 21,5 балла. В период плодообразования (август) агглютинирующая активность достигала максимума – 24 балла. Следует отметить, что при определении активности фитолектинов в плодах, выделенных из корзинок в августе и сентябре, она не превышала 4,5 балла. Таким образом, пока не выясненной остается физиологическая роль лектинов в стеблях и соцветиях, когда максимальное их количество накапливается в конце вегетации, в то время как надземная масса фактически отмирает.

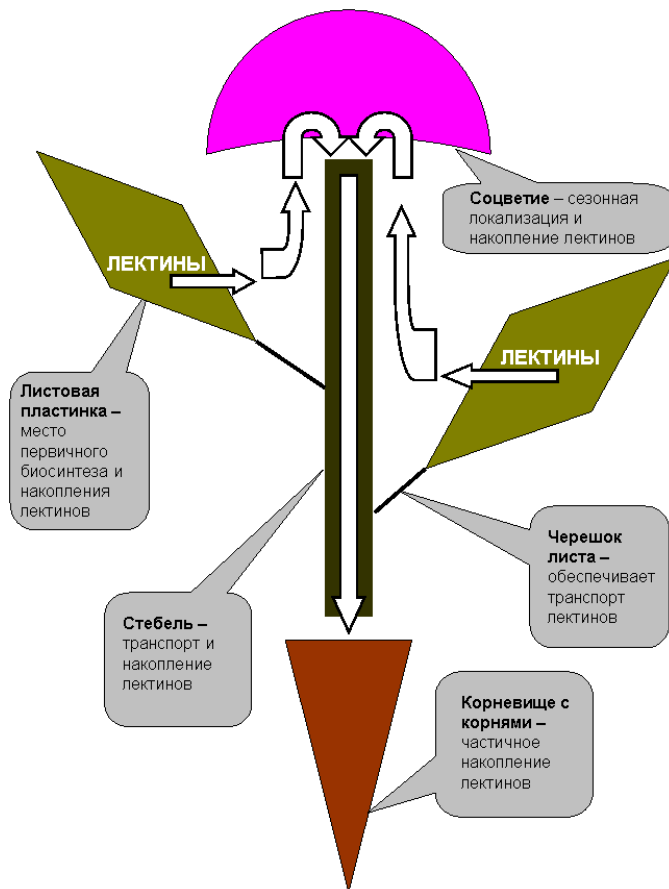


Рис. 6. Модель-схема транспорта и накопления лектинов в эхинацее бледной

Интересные закономерности выявлены при изучении динамики лектиновой активности соцветий (рис. 5). У эхинацеи первыми начинают зацветать соцветия, расположенные на главном побеге, а затем по мере образования – на боковых побегах. В условиях Украины *E. pallida* массово цветет в июне, но отдельные соцветия образуются до августа. Установлено, что активность лектинов в формирующихся корзинках в июне максимальна и составляет 19,5 баллов, в соцветиях, которые образовались в июле, – 14,0 баллов, а августе – не обнаруживались. Противоположная зависимость отмечалась нами при оценке уровня активности фитолектинов в цветущих соцветиях.

В корзинках, отобранных в июне, лектины не обнаруживались, а активность лектинов в расцветших соцветиях (июль) составляла 21,5 балла. В период плодообразования (август) агглютинирующая активность достигала максимума – 24 балла. Следует отметить, что при определении активности фитолектинов в плодах, выделенных из корзинок в августе и сентябре, она не превышала 4,5 балла. Таким образом, пока не выясненной остается физиологическая роль лектинов в стеблях и соцветиях, когда максимальное их количество накапливается в конце вегетации, в то время как надземная масса фактически отмирает.

Изучение корневищ с корнями эхинацеи бледной свидетельствует об отсутствии лектиновой активности в образцах, взятых в мае, июне и июле (рис. 4). Максимальная активность регистрировалась нами при отборе в августе (21,0 балл), меньшая – в сентябре (20,0 баллов).

На основании полученных данных нами построена гипотетическая модель накопления и передвижения лектинов в растении эхинацеи бледной (рис. 6). Основным местом синтеза, а затем и локализации лектинов следует считать розеточные и стеблевые листья. По мере образования и роста побега фитолектины транспортируются в стебли и формирующиеся соцветия, их количество достигает там максимума в период плодообразования. Затем часть лектинов (возможно, избыток) переносится в корневище с корнями и там накапливается. Можно допустить, что существенную роль при этом играют полисахариды эхинацеи бледной, которые способствуют как эффективному транспорту белков, так и накоплению их в различных частях и органах. Таким образом, главным депо лектинов выступает вся надземная часть растения, которая остается после уборки семян, и выделение из нее лектинов открывает возможность биоконверсии отходов.

Выводы

1. В результате многолетних исследований установлены определенные закономерности изменения активности лектинов в онтогенезе эхинацеи бледной. На первом году вегетации в молодых растениях активность низкая, по мере роста и развития увеличивалась в листьях до 16,0 баллов, генеративных стеблях – до 14,0 баллов. В корневищах с корнями фитолектины обнаруживаются к концу вегетационного периода.

2. На второй год вегетации, начиная с цветения, высокая активность лектинов характерна для розеточных (21,0–24,0 баллов) и стеблевых (18,0–24,0 баллов) листьев. Пик гемагглютинирующей активности экстрактов стеблей и соцветий приходился на конец вегетации (20,0–21,0 и 24,0 баллов соответственно), а корневищ с корнями на август – сентябрь (20,0–21,0 баллов).

3. Надземная часть эхинацеи бледной содержит значительное количество лектинов и может быть сырьевым источником этих уникальных белковых соединений, что открывает возможность биоконверсии отходов, которые образуются на семенных посевах и после ликвидации плантации.

Список литературы

1. Echinacea: the genus Echinacea / ed. S.C. Miller. CRC Press, 2004. 276 p.
2. Bauer R., Wagner H. *Echinacea*: handbuch für ärzte, apotheker und andere naturwissenschaftler. Stuttgart, 1990. 182 s.
3. Самородов В.Н., Поспелов С.В., Моисеева Г.Ф., Серeda А.В. Фитохимический состав представителей рода эхинацея (*Echinacea* Moench.) и его фармакологические свойства (обзор.) // Химико-фармацевтический журнал. 1996. Т. 30, №4. С. 32–37.
4. Самородов В.Н., Поспелов С.В. Эхинацея в Украине: полувековой опыт интродукции и возделывания. Полтава, 1999. 52 с.
5. Поспелов С.В., Самородов В.Н. Итоги изучения эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt.) в Полтавской государственной аграрной академии // Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень : матеріали Міжнародної наук. конференції, присвяченої 90-річчю Дослідної станції лікарських рослин УААН. Київ, 2006. С. 329–334.
6. Поспелов С.В., Самородов В.Н. Генотипы рода эхинацея (*Echinacea* Moench) и его использование для создания сортов полифункционального типа // Интродукция нетрадиционных и редких растений : матер. VIII Междунаучно-метод. конф. Мичуринск, 2008. Т. 2. С. 288–290.
7. Дьяконова Я.В. Фармакогностичне вивчення *Echinacea pallida* Nutt. : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. Киев, 2009. 22 с.
8. Деревинская Т.И., Левчук Л.В. Особенности индивидуального развития эхинацеи бледной при интродукции в ботанический сад г. Одессы // С эхинацеей в третье тысячелетие : матер. Междунар. науч. конф. Полтава, 2003. С. 36–40.
9. Васфилова Е.С. Интродукционное изучение эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt.) на Среднем Урале // Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2002. №1. С. 41–44.
10. Поспелов С.В. Оценка активности лектинсодержащих экстрактов эхинацеи пурпурной // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. 1998. №1. С. 15–17.
11. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. Львов, 1981. 156 с.
12. А.с. №1732276 (СССР). Способ оценки физиологической активности лектинов к сахарам / Е.Л. Гольнская, С.В. Поспелов, В.Н. Самородов / 07.05.1992.
13. Игнатов В.В. Углеводузнающие белки – лектины // Соросовский образовательный журнал. 1997. №2. С. 14–20.
14. Васфилова Е.С., Багаутдинова Р.А. Особенности роста и развития эхинацеи бледной сорта Красавица Прерий в условиях Среднего Урала // Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2011. №1. С. 31–35.
15. Showalter A.M. Arabinogalactan-proteins: structure, expression and function // Cell. Mol. Life Sci. 2001. Vol. 58. N10. Pp. 1399–1417.

Поступило в редакцию 27 июня 2011 г.

После переработки 21 июня 2012 г.

Pospelov S.V. LECTINS OF REPRESENTATIVES OF THE ECHINACEA GENUS (*ECHINACEA* MOENCH).
3. RESEARCH OF ACTIVITY IN ONTOGENESIS *ECHINACEA PALLIDA* (NUTT.) NUTT

Poltava State Agrarian Academy, st. Skovorody, 1/3, Poltava, 36003 (Ukraine), e-mail: serg_ps@mail.ru

For the first time research of dynamics of lectins activity of pale purple coneflower (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt) in ontogenesis. It has been established that on the first year of vegetation the highest level of phytolectins observed in herbs at the second part of vegetation (14,0–16,0 point). In the roots with rhizomes lectins were appears only at the end of vegetation (up to 2,0 point). In the second year in the genesic period some high activity was observed of leave's extracts at the flowering (18,0–24,0 points), of stems and inflorescences – at the end of vegetation (20,0–24,0 points), roots with rhizomes at August–September (20,0–21,0 points). *Echinacea's* overground mass considered as important raw materials of lectins.

Keywords: lectins, hemagglutination, pale purple coneflower, «Krasunya Prariy» breed, ontogenesis, *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt.

References

1. Echinacea: the genus Echinacea / ed. S.C. Miller. CRC Press, 2004. 276 p.
2. Bauer R., Wagner H. *Echinacea: handbuch für ärzte, apotheker und andere naturwissenschaftler*. Stuttgart, 1990. 182 s.
3. Samorodov V.N., Pospelov S.V., Moiseeva G.F., Sereda A.V. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 1996, vol. 30, no. 4, pp. 32–37. (in Russ.)
4. Samorodov V.N., Pospelov S.V. *Ekhinatseia v Ukraine: poluvekovoi opyt introduktsii i vzdelyvaniia*. [Echinacea in Ukraine: the fifty-year experience of the introduction and cultivation]. Poltava, 1999, 52 p. (in Russ.)
5. Pospelov S.V., Samorodov V.N. *Likars'ki roslyny: tradytsii' ta perspektyvy doslidzhen': materialy Mizhnarodnoy nauk. konfer. prysvjachenoj' 90-richchju Doslidnoi' stancii' likars'kyh roslyn UAAN*. [Medicinal plants: traditions and perspectives of research materials Mizhnarodnoy Sciences. conf. dedicated to the 90th anniversary of the Experimental Station of Medicinal Plants biochemistry]. Kiev, 2006, pp. 329–334. (in Russ.)
6. Pospelov S.V., Samorodov V.N. *Introduktsiia netraditsionnykh i redkikh rastenii: mater. VIII mezhd. nauchno-metod. konf.* [Introduktsiia netraditsionnykh i redkikh rastenii: materialy VIII Mezhdunarodnoi nauchno-metodicheskoi konferentsii]. Michurinsk, 2008. T. 2. C. 288–290. (in Russ.)
7. D'jakonova Ja.V. *Farmakognostychny vyvchennja Echinacea pallida Nutt.: avtoref. dys. ... kand. farmac. nauk*. [Pharmacognostic study of Echinacea pallida Nutt.: Abstract. dis. ... Candidate. Pharmacy. Science.]. Kiev, 2009, 22 p. (in Russ.)
8. Derevynskaja T.Y., Levchuk L.V. *S ehynaceej v tret'e tysjacheletje: mater. mezhdunar. nauch. konf.* [From Echinacea to the third millennium of the International Scientific Conference]. Poltava, 2003, pp. 36–40. (in Russ.)
9. Vasfilova E.S. *Visnyk Poltavs'koi' derzhavnoi' agrarnoi' akademii'*, 2002, no. 1, pp. 41–44. (in Russ.)
10. Pospelov S.V. *Visnyk Poltavs'kogo derzhavnogo sil'skogospodars'kogo instytutu*, 1998, no. 1, pp. 15–17. (in Russ.)
11. Lutsik M.D., Panasiuk E.N., Lutsik A.D. *Lektyny*. [Lectins]. L'vov, 1981, 156 p. (in Russ.)
12. Patent №1732276 (USSR). 07.05.1992. (in Russ.)
13. Ignatov V.V. *Sorosovskii obrazovatel'nyi zhurnal*, 1997, no. 2, pp. 14–20. (in Russ.)
14. Vasfilova E.S., Bagautdinova R.A. *Visnyk Poltavs'koi' derzhavnoi' agrarnoi' akademii'*, 2011, no. 1, pp. 31–35. (in Russ.)
15. Showalter A.M. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2001, vol. 58, no. 10, pp. 1399–1417.

Received June 27, 2011

Revised June 21, 2012