

МІНІСТЕРСТВО СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
І ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИЙ ІНСТИТУТ

НАУКОВІ ПРАЦІ

ТОМ 17

ПРОДУКТИВНІСТЬ І ЯКІСТЬ
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ
ПРОДУКЦІЇ



SCIENTIFIC ARTICLES

VOLUME 17

PRODUCTIVITY AND QUALITY
OF AGRICULTURAL
PRODUCE

Полтава — 1995

*САМОРОДОВ В.М., старший викладач кафедри
екології та ботаніки*

ШЛЯХОВИЙ АНАЛІЗ ОЗНАК, ЯКІ ВИЗНАЧАЮТЬ ЗАВ'ЯЗУВАННЯ ПАРТЕНОКАРПІЧНИХ ПЛОДІВ У ГРУШІ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗАПИЛЕННЯ ТА БЕЗ НЬОГО

За допомогою методу шляхових коефіцієнтів С. Райта досліджена доля впливу зав'язування партенокарпічних - безнасіньневих плодів у 20 сортів груші звичайної за умов природного самозапилення, за відсутністю запилення, а також висоти, діаметра дерева та обсягу його крони, числа листків у суцвітті на зав'язування партенокарпічних плодів при продньому перехресному запиленні та самозапиленні, а також за відсутністю запилення.

Зав'язування безнасіньневих плодів за умов природного перехресного запилення в значній мірі визначається долею автономної партенокарпії. Позитивний зв'язок партенокарпії встановлено з пірамідальною формою крони, що, можливо, визначається накопиченням ендогенних гібберелінів у рослин. Є певний зв'язок досліджуваної ознаки з кількістю листків у суцвітті.

Зав'язування партенокарпічних плодів за умов природного самозапилення також в значній мірі, залежить від схильності сорту до автономної партенокарпії. Прямий вплив на його прояв мають висота дерева, діаметр та обсяг його крони.

Коли ж запилення зовсім відсутнє, то на зав'язування плодів без насіння значно впливає лише діаметр крони дерева.

Решта досліджуваних факторів або не мають несуттєвий вплив (висота дерева), або зовсім його не мають (обсяг крони, число листків у суцвітті).

Накапування на квітці 0.01%-ого розчину гіббереліну (ГА(З)) за умов природного самозапилення або без усякого запилення значно змінює коефіцієнти шляхів - збільшує або зменшує їх.

Викладенні результати свідчать про те, що у основі зав'язування партенокарпічних плодів має місце схильність сорту до автономної партенокарпії. Її виразність, у свою чергу, залежить від гормональної рівноваги рослини, а саме: від кількісного та якісного складу фітогормонів. Зисвітлені матеріали мають сенс для практичного плідівництва і можуть бути корисними в селекційно - генетичному вивченні групи.

САМОРОДОВ В.М., старший викладач

ПОСПЕЛОВ С.В., асистент

БОНДАР П.І., кандидат біологічних наук, доцент
кафедри екології та ботаніки

ВПЛИВ ПАРА - АМІНОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ НА РОЗВИТОК ТА УРОЖАЙНІСТЬ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР

Останнім часом у землеробстві багатьох країн світу все ширшого використання набувають біологічно активні речовини. Це, перш за все, відбувається тоді, коли урожайність сільськогосподарських культур неможливо підвищити загальновідомими агротехнічними прийомами. При цьому перевага надається тим речовинам, які підвищують стійкість рослин при зміні факторів зовнішнього середовища і водночас не забруднюють його.

Саме до таких сполук належить пара - амінобензойна кислота /ПАБК/, яка, маючи репарагенні та модифікаційні властивості, входить до складу відомого вітаміну - фолієвої кислоти. Таким чином, ПАБК не являє собою отруйну речовину, а навпаки, є природною сполукою, яка синтезується рослинами та великою кількістю мікроорганізмів.

Генетична активність ПАБК було встановлено ще в 1938 році Рапопортом Й.А., але на протязі багатьох років майже не використовувалась. З 70-х років з'явилася ціла серія робіт, зміст яких довів перспективність використання цієї сполуки у різних галузях біології та сільському господарстві. Більшість із них узагальнена в монографії Билецького Ю.Д., (1993). Билецький Ю.Д. Пара - амінобензойная кислота - новое биологически активное соединение. - Ростов н/Д: 1993- 64с. При цьому зроблений висновок про те, що ПАБК - унікальна біологічно активна сполука, маюча властивості, які не притаманні жодній із подібних речовин.

Наші експерименти теж дають можливість вважати ПАБК цінною речовиною, зокрема при її застосуванні на різних сортах гороху та плантаціях цукрового буряка для підвищення його цукристості. В подальшому, крім цих згаданих культур, дію ПАБК вивчали на сої та сояшнику.

Досліди на сої проводилися в 1991 - 1992 роках на сорті Київська - 27 у Лубенському міжгосподарському підприємстві по виробництву насіння кормових культур як на дрібноділяночних, так і на виробничих посівах. У 1991 році вивчали дію ПАБК при обробці насіння в концентраціях 0,1; 0,01; 0,001; %. В лабораторних та дрібноділяночних дослідках обробку

насіння проводили вручну, а в польових - на протруювальній машині ПС - 10 з розрахунку: 10 т розчину на 1 т насіння. Для рівномірного прилипання розчину до нього додавали Na-КМЦ. Інокулювання насіння ризоторфіном не проводили.

Було встановлено, що ПАБК підвищує енергію проростання насіння бобів на 1,2 - 2,5%, лабораторну схожість на 2,15 - 3,4%, а польову схожість на 2,6 - 4,5%. При цьому найбільш результативним було використання ПАБК 0,1%-ної концентрації. Саме ця концентрація максимально стимулювала густоту сходів. При цьому ефективність її дії спостерігалась до фази повної стиглості бобів, перевищуючи контроль на 8,5%.

Цікаво й те, що ПАБК суттєво - на 20,7% підвищувала кількість продуктивних вузлів однієї рослини. В залежності від варіанту їх було майже вдвічі більше, ніж контрольних рослин. Одночасно з цим під дією ПАБК підвищувалась кількість бобів на одній рослині. В кращому варіанті з 0,1% концентрацією ПАБК перевищення контролю по цьому показнику склало 37,6%. Слід відмітити й те, що на дослідних варіантах рослини були дуже розгалуженими, чого в контролі майже не спостерігалось. Більша кількість пагонів, на яких були добре розвинуті боби, припала тому, що їх загальна кількість була вищою на варіантах з ПАБК.

Важливо й те, що зростання кількості бобів на дослідних варіантах пов'язано з більшою кількістю листя. Це, в свою чергу, привело до гармонійного розвитку як бобів, так і насіння в них. При цьому на дослідних варіантах при високому навантаженні рослин плодоелементами кількість насіння на один біб, а також маса 1000 насіння не зменшувалась порівняно з контролем.

Все зазначене привело до підвищення урожайності дослідних рослин. Вона була максимальною на варіанті з 0,1%-ною концентрацією ПАБК і становила 430,3 г кв.м, що на 71,1 г кв.м перевищувало контроль. Виробнича перевірка дії 0,1% ПАБК проводилась на площі 23,5 га. При цьому в контролі на аналогічній площі з гектара отримано 11 центнерів насіння, а у дослідному варіанті - 13,3 ц/га. Тобто надбавка від дії ПАБК становила 2,3 ц/га.

Підвищуючи урожайність зерна, ПАБК майже не змінювала його хімічного складу. Кількість протеїну та олії у насінні була практично однаковою на дослідному та контрольному варіантах.

Необхідно відмітити й те, що результати наших лабораторних та дрібноділяночних дослідів дуже близькі до даних літератури. Але у них різ-

ниці між контролем та варіантом з обробкою насіння ПАБК $10^{-3}\%$ - ще більш вагомінша та суттєва.

Дію ПАБК на ріст, розвиток та урожайність гороху ми вивчали на протязі 1991 - 1994 років у ряді господарств Полтавської області. При цьому методика їх проведення була аналогічна тій, яка викладена при характеристиці дії ПАБК на сої. Слід лише зазначити те, що в наших дослідках використані різні за генотипом сорти гороху: листкового типу - Уладовський ювілейний та Орловчанин, та безлисткового - НОРД.

Було встановлено, що обробка насіння підвищувала енергію його проростання на 3 - 5%, а лабораторну схожість -- на 4 - 6%. Польова схожість насіння перевищувалась на 3.4 - 4%. В свою чергу це стимулювало густоту стояння рослин. Так, у фазу повних сходів на дослідних варіантах було на 10 - 12 рослин більше на 1 кв. м. ніж у контролі, а у фазі повної стиглості бобів - на 6 - 8 рослин. При цьому майже по всіх показниках кращим був варіант з 0.01% концентрацією ПАБК. Від її дії в дрібноділяночних дослідках урожайність зерна зростала на 90 - 95 г / кв.м. При цьому підвищувалась кількість насіння в одному плоді та маса 1000 насіння.

Виходячи з цього, у виробничих дослідках була використана 0.01% концентрація ПАБК. Було встановлено, що в залежності від сорту та погодних умов вона підвищувала урожайність гороху на 3.5 - 11.46 ц / га. Максимальна надбавка урожаю була одержана на сорті Норд у дослідках на площі 3 га, проведених у Лубенському міжгосподарському підприємстві по виробництву насіння кормових культур у 1991 році. Слід зазначити й те, що досить істотні і сталі надбавки урожаю отримані і на сорті Орловчанин. Так, у 1994 році в КСП ім. Іваненка Миргородського району на площі 100 га надбавка урожаю становила 10 ц / га.

У літературі теж відмічена сортова реакція гороху на обробку насіння ПАБК. Найефективнішим було її застосування на сорті Норд, де надбавка урожаю в залежності від концентрації коливалась у межах 6.9 - 11.6 ц / га. Известия ТСХА, 1992.-вып.1.-С.85-91. Одночасно з цим, відмічено зростання симбіотичної активності гороху, за рахунок якої, на думку дослідників, і отримана така висока надбавка. При цьому ПАБК підвищувала вагу бульбочок та активність нітрогенази. Известия ТСХА, 1993.-вып.1.-С.102-109.

У наших дослідках ПАБК теж не тільки стимулювала урожайність гороху, а й позитивно впливала на активність його симбіозу з бульбочковими бактеріями. Так, у фазу 3 - 5 листочків на дослідних

варіантах їх кількість була у 4 рази більшою, ніж у контролі. Зазначена закономірність мала місце і у фазі бутонізація - цвітіння. А це, на нашу думку, не могло не вплинути на накопичення біологічного азоту, що, в свою чергу, має не тільки велике господарське, а й загальнобіологічне значення. Саме у цьому ми вбачаємо соціально - значущий ефект дії ПАБК, її велику перспективність для біологічного землеробства.

Ось чому в подальшому слід дуже ретельно на різних сортах гороху, та й взагалі, на різних видах бобових дослідити дію ПАБК на підвищення активності макро- і мікросимбіонтів. Адже вона вивчена лише на сорті Норд, який відноситься до безлисточкових, маючи відмінну від звичайних сортів генетичну природу, яка може й визначає особливу дію ПАБК на ньому.

На нашу думку, важливим є й те, що підвищення симбіотичної активності позначалось на накопиченні сирого протеїну в насінні гороху. Зокрема, у 1991 році насіння гороху Норд на дослідному варіанті мало його на 1,36% більше, ніж насіння контролю.

Досліди з соняшником проводились нами в 1991 - 1992 роках у колгоспі «Перебудова» Решетилівського району на сорті Самбред. При цьому використовувалась 0,01% концентрація ПАБК для обробки насіння на машині ПС - 10: з розрахунку 15 л розчину на 1 т насіння. Для рівномірного прилипання до розчину додавали Na-КМЦ. Зразу ж після обробки насіння висівали. Крім цього, дослідні рослини двічі за вегетацію оприскували 0,1% ПАБК з розрахунку 400 л на гектар. Перший раз у фазу 3 - 6 листків, а другий у фазу 6 - 8 листків.

Було встановлено, що обробка стимулювала посівні якості соняшника: енергія проростання підвищувалась на 2,1%, лабораторна схожість - на 5,6%, польова схожість - на 3,5%. Все це підвищувало густоту стояння рослин як на момент сходів, так і на момент збирання урожаю. Оприскування вегетуючих рослин сприяло збільшенню на них кількості листя, особливо верхівкового, від якого у значній мірі залежить закінчення олії. Позитивно й те, що із зміною зазначеного показника на варіанті з ПАБК підвищувалась кількість пігментів пластид листя. При цьому в першому відборі перевищення дослідного варіанту над контролем становило 9,33%, а в другому - 9,8%. Таким чином, можна зробити висновок про те, що на варіанті з ПАБК були забезпечені кращі умови для проходження фотосинтезу і накопичення асимілятів, ніж у контролі.

Все це привело до формування на варіанті з ПАБК більш розвинутого

на 1.45% ніж у контролі. В середньому за два роки надбавка урожаю становила 2.7 ц/га, коливаючись від 2.2 до 3.3 ц/га. Найбільш цікавим слід вважати й те, що обробка ПАБК підвищувала накопичення олії. На варіанті з ПАБК кількість олії у ядрі зросла на 1.3%, а у насінні на 1.45%, а це досить суттєва надбавка, яка приводить до підвищення загального збору олії.

Досліди з цукровим буряком ми проводили на протязі 1989 - 1994 років у ряді господарств Полтавської області на сорті Веселоподолянські одонасінні 29. Використовувалась ПАБК у дозах 1;2;3; 4 кг/га з розрахунку 500 л/га розчину при оприскуванні рослин за два тижні до збирання урожаю. При цьому було два контрольних варіанти. Один без обробки, а другий - з гідратом малеїнової кислоти ГМК - стимулятором цукронакопичення, який використовували у дозі 2.5 кг/га.

Було встановлено, що ПАБК у значній мірі стимулює урожайність коренеплодів. Порівняно з контролем - на 5 - 20 ц/га, залежно від дози препарату. Перевагу над ГМК у 9 ц/га мала лише доза ПАБК 4 кг/га. Але навіть такі невеликі надбавки урожаю на фоні підвищення цукристості коренеплодів слід вважати позитивним у дії ПАБК, бо це сприяло підвищенню збору цукру з гектара. Так, ПАБК, особливо у дозах 2 та 4 кг/га, у порівнянні з контролем підвищувала цукристість коренеплодів відповідно на 0.54 та 0.58%, тоді як при обробці ГМК - лише на 0.26%.

Все зазначене сприяло тому, що на варіанті з ПАБК додатковий збір цукру становив 1.61 - 4.31 ц/га, будучи максимальним на варіанті, де доза препарату становила 4 кг/га. На варіанті з ГМК він був меншим, досягаючи 2.22 ц/га. Слід відмінити й те, що, якщо ПАБК практично не змінювала кількість зібраної гички, то ГМК зменшувала її на 13 ц/га.

Виходячи з цього, можна рекомендувати ПАБК в дозі 4 кг/га як ефективний регулятор цукронакопичення, здатний замінити для цього ГМК. Між іншим, доцільність використання останнього для цієї мети з екологічної точки зору викликає занепокоєння і сумніви багатьох дослідників.

Таким чином, весь викладений матеріал дає підставу вважати ПАБК перспективною біологічно активною речовиною для регулювання росту, розвитку, урожайності та якості продукції у різних видів сільськогосподарських культур з різними генотипами. Слід більш активно використовувати цю речовину для одержання екологічно чистої продукції, вводити у технології вирощування сільськогосподарських культур.

*ПОСПЕЛОВ С.В., кандидат сельскохозяйственных наук, доктор философии по сельскому хозяйству, ассистент кафедры общего земледелия
САМОРОДОВ В.Н., старший преподаватель
кафедры экологии и ботаники*

ЛЕКТИНЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ: СТРАТЕГИЯ ПОИСКА, ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ И ВОЗМОЖНОЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Изучение лектинов растений имеет более чем столетнюю историю, однако, несмотря на это, интерес к ним постоянно растет. Об этом свидетельствует ежегодное проведение международных симпозиумов «Interlec», посвященных лектинам, а также создание Международного общества лектинологов.

Все это действительно оправдано, поскольку лектины являются уникальными природными соединениями. Будучи белками, они способны специфически и обратимо взаимодействовать с полисахаридами, гликопротеинами, гликолипидами и другими углеводсодержащими полимерами.

Кроме этого, установлено широкое распространение лектинов на всех уровнях организации органического мира и присутствие их практически во всех органах и тканях растений. Данные последних лет подтверждают их значительную роль в различных физиологических процессах: транспорте белков и углеводов, обеспечении специфичности межмолекулярных взаимодействий и межклеточном узнавании.

После установления противоопухолевых свойств ряда растительных лектинов и их способности повышать защитные силы организма, перспективность изучения медицинского применения лектинов стала очевидной и интенсивно развивается. В этой связи особое внимание исследователей привлекают лекарственные растения как объекты поиска новых источников фитоагглютининов, а также объяснения их действия на организм человека.

Однако данная работа ведется без должной целенаправленности и без связи с конкретными региональными флорами. Вот почему мы поставили перед собой задачу провести анализ флоры цветковых растений Украины на предмет содержания в них лектинов.

Оказалось, что они обнаружены у представителей 124 родов и 40 семейств как дикорастущих, так и культурных растений. Максимальное количество лектинсодержащих видов относится к семейству бобовые. Затем в порядке убывания идут мятликовые, астровые, тыквенные, яснотковые, пасленовые, сельдерейные, капустные, розанные, рутовые,

молочайные, лилейные. В перечисленных семействах видов, содержащих лектины, присуи от десяти до трех родов. У остальных 28 семейств таких родов насчитывается лишь от двух до одного. Все проанализированные нами виды содержат лектины, проявляющие специфичность к трем группам сахаров: маннозе, галактозе и фукозе. Не выявлено ни одного вида растений, лектины которого обладали бы специфичностью к сиаловой кислоте.

В дальнейшем весьма перспективным следует считать поиск видов, содержащих лектины с узкой специфичностью к углеводам и избирательно агглютинирующих или реагирующих с клетками человека и животных. Это прежде всего касается L-фукозоспецифичных лектинов. Они выявлены у люцерны, лядвенца, бобовника, мать-и-мачехи, тюльпана и лука. Весьма вероятно, что в генетически близким к ним родам можно найти аналогичные по специфичности лектины в количествах, представляющих интерес для их промышленного извлечения. Для этого по нашему мнению, к уже известным по содержанию лектинов видам и родам следует применить закон гомологических рядов в наследственной изменчивости Вавилова Н.И., что будет способствовать ускорению подобных исследований и их большей результативности.

Следует отметить, что среди культурных растений Украины обнаружены растения, лектины которых селективно агглютинируют лимфоциты, их отдельные популяции, а также клетки крови. Это прежде всего касается таких родов, как соя, зика, арахис. Виды этих родов с успехом возделываются в Украине, а то, что они накапливают агглютинины в семенах, может способствовать их форсированному выделению и очистке для создания клинических диагностикумов ряда заболеваний.

Таким образом, круг таксонов цветковых растений флоры Украины достаточно широк и разнообразен с точки зрения источников сырья для получения лектинов с разнообразными физиологическими свойствами.

В этой связи особый интерес представляют лекарственные растения. Среди них, по нашим данным, высокую активность лектинов имеют: облепиха крушиновидная, зверобой пронзеннолистный, крапива двудомная, подорожник большой, кукуруза обыкновенная, земляника лесная, репашок аптечный, липа сердцелистная, калина обыкновенная, бузина черная, тысячелистник обыкновенный и другие. Важно и то, что большинство указанных растений содержат лектины в разных частях и органах. При этом оно довольно неодинаковое. Об этом можно судить лишь проанализировав полученные нами данные по одному виду - облепихе крушиновидной.

Для анализа нами был использован сухой материал, собранный с разных частей женских особей, вступивших в фазу плодоношения. Экстрагирование проводили 0,9% NaCl в течение 2 ч. при соотношении навеска:экстрагент 1:10. Полученную вытяжку оценивали на гемагглютинирующую активность в иммунологических планшетах с эритроцитами 0(1) группы крови человека по общепринятой методике. С целью идентификации выделенные соединения подвергали нагреванию, действию протеолитического фермента, этанольному фракционированию.

В результате проведенных исследований лектины были обнаружены как в вегетативных, так и генеративных органах. Причем их активность в них была не одинаковой. Самая низкая выявлена в листьях (титр агглютинации 1:2-1:4). Несколько выше - в корнях и плодах (1:4-1:8), значительно выше в стеблях (1:16-1:64). Характерно, что высокой активностью характеризовались лектины, локализованные в клубеньках корней (1:64-1:128). Однако самой высокой гемагглютинирующей активностью отличались лектины семян. После первичной очистки двухэтапным этанольным низкотемпературным фракционированием титр их агглютинации в разведении 1 мг/мл достигал 1:131072. Это очень высокий показатель, и в известных нам литературных источниках не приходилось встречать характеристики фитолектинов с такой гемагглютинирующей активностью.

В ходе исследований выяснилось также, что активность лектинов в значительной степени зависит от условий экстракции, а именно от pH экстрагента. Для получения экстрагента с различным значением pH использовался фосфатно-цитратный буфер, на основе которого готовился 0,9% NaCl. Навеску измельченных семян экстрагировали в течение 2-х часов в соотношении 1:10 в диапазоне pH от 4.0 до 8.0 с интервалом pH 0.5 единицы. Полученную вытяжку оценивали на гемагглютинирующую активность. Оказалось, что максимальная активность лектинов была в диапазоне pH 5.0-6.0 с пиком при pH=5.5 (титр агглютинации составил 1:131072-1:524228). При других значениях pH активность составила 1:32768-1:65537. Этот факт очень важен для целей прикладного выделения лектина, а именно — увеличения его выхода и качества, что подтверждается выданным на данную разработку авторским свидетельством N1732998 «Способ получения лектина».

Аналогичная закономерность была обнаружена и для лектинов калины обыкновенной. Экстрагирование с различным значением pH по аналогичной методике показало, что активность была самой высокой в семенах при извлечении с pH=4.5-5.0 (титр составил 1:1024). В других вариантах активность достигала лишь 1:256-1:512.

Необходимо отметить, что калина, а особенно облепиха, издавна пользуются высокой популярностью в официальной и народной медицине. Облепиховое масло, получаемое из плодов, успешно применяется при лечении язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, ожогов, пролежней и трофических язв. Плоды и семена калины также являются хорошо известным и распространенным лекарственным средством от целого ряда болезней.

Весьма важным с точки зрения физиологической активности лектинов лекарственных растений является тот факт, что они могут в значительной степени менять свою активность в зависимости от pH среды. Этому были посвящены наши специальные исследования с рядом лекарственных растений, проведенные по следующей методике. Навеска сырья в соотношении 1:10 экстрагировалась 0,9% NaCl. Лектины из полученной вытяжки осаждали путем двухэтапного этанольного низкотемпературного фракционирования традиционным методом. Полученные таким образом препараты разводили 1 мл. физиологического раствора и использовали для анализа. Параллельно готовился фосфатно-цитратный буфер с pH от 4.0 до 8.0 с интервалом pH 0.5 единицы. В лунки иммунологического планшета вносили буфер с соответствующим значением pH, а затем препарат лектина с двукратным последующим разведением в восьми лунках дозатором. После добавления в каждую лунку 2%-ной суспензии эритроцитов человека 0(I) группы крови и инкубации определяли активность лектинов визуально по 5-ти балльной шкале в условных единицах. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1.

**ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕКТИНОВ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ pH СРЕДЫ (в усл.ед.)**

pH среды	т р а в а				цветки		семена
	Репя- шок аптеч- ный	Зверо- бой прон- зенно- лист- ный	Тимьян обыкно- венный	Шалфей лекар- ствен- ный	Липа сердце- лист- ная	Боярыш- ник крово- красный	Калина обыкно- венная
4.0	21.0	20.0	7.0	3.5	12.0	10.5	23.5
4.5	22.0	20.0	6.0	2.0	12.0	10.0	23.0
5.0	22.0	20.0	2.5	0.0	12.0	11.0	22.5
5.5	22.5	21.0	0.0	0.0	11.0	9.5	23.0
6.0	23.0	20.0	0.0	0.0	11.0	8.0	23.0
6.5	23.5	20.0	0.0	0.0	10.0	8.0	26.0
7.0	26.0	17.5	0.0	0.0	8.5	3.5	26.0
7.5	26.5	17.5	0.0	0.0	8.5	3.5	22.0
8.0	27.5	17.5	0.0	0.0	6.5	3.5	22.0

Приведенные данные свидетельствуют о том, что лектины существенно реагируют на кислотность среды и при этом в довольно широких пределах могут менять свою активность. Кроме того, лектины различных растений специфически взаимодействуют с эритроцитами. Динамика лектинов калины обыкновенной и зверобоя пронзеннолистного показывает высокую и стабильную их активность во всем изучаемом диапазоне pH (22.0-26.0 и 17.5-21.0 ед. соответственно). Совсем иная закономерность характерна для лектинов тимьяна обыкновенного, шалфея лекарственного, липы сердцелистной и боярышника кроваво-красного. У этих растений агглютинация значительно активнее происходила при кислой реакции среды. При увеличении pH они частично или полностью теряли свою активность. И, наконец, лектин репешка аптечного на фоне высокой общей активности несколько повышает ее в щелочной зоне: от 21.0 ед. при pH=4.0 до 27.5 ед при pH=8.0.

Учитывая указанную специфичность взаимодействия лектинов с мембранами форменных элементов крови человека, весьма обнадеживающим и перспективным направлением является их использование для диагностики физиологического состояния организма человека.

В связи с этим нами были проведены предварительные исследования возможности применения лектинов лекарственных растений для оценки физиологического состояния организма у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС. Всего было исследовано 58 ликвидаторов. Для получения эритроцитной массы форменные элементы крови, взятые у них из локтевой вены, отмывали от плазмы физиологическим раствором и готовили 2%-ную суспензию эритроцитов в том же растворе. Контрольную группу составили 33 донора, у которых отбор крови и приготовление образца проводили аналогично.

Экстракты лекарственных растений готовились путем 2-х часового настаивания сухого сырья (1:10) в 0.9% NaCl и последующей фильтрации и центрифугирования. Активность экстрактов определяли в иммунологических планшетах по общепринятой методике. Интенсивность агглютинации оценивали визуально в условных единицах.

Характер взаимодействия был исследован у двенадцати лекарственных растений. Наиболее существенные различия по активности агглютинации доноров и ликвидаторов отмечены для некоторых из них (контроль - доноры : 100 %).

Репешок аптечный, трава - 92.3%

Зверобой пронзеннолистный, трава - 78.4%

Липа сердцелистная, соцветия - 75.3%

Золототысячник малый, трава - 60.9%

Мать-и-мачеха, лист - 59.1%

Бузина черная, соцветия и листья - 52.0%

Следует отметить, что мембранная активность эритроцитов у ликвидаторов в среднем по всем лекарственным растениям на 69.4% ниже, чем у доноров. Особенно характерно это проявлялось при взаимодействии с лектинами земляники лесной (на 48%), мать-и-мачехи (на 40.9%), золототысячника малого (на 39.1%).

Полученные данные дают основание сделать вывод о том, что степень взаимодействия лектинов лекарственных растений с рецепторами мембран эритроцитов может служить показателем оценки физиологического состояния организма у ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Таким образом, в данном случае лектины выступают в роли биохимического зонда, чутко реагирующего на процессы, протекающие в организме человека. В этом наши данные полностью совпадают с данными Карповой И.С., Голынской Е.Л., Коренкой Н.В. и др. (см. Доклады Академии наук Украины, сер.математика...-N 1.-1994.-С.110-113) для биотеста из лектинов 24 лекарственных растений, при помощи которого были обследованы ликвидаторы аварии на ЧАЭС. Все это, видимо, не случайное совпадение, а закономерность, базирующаяся на избирательности взаимодействия лектинов с эритроцитами разных групп крови человека. В таблице 2 приведены данные, отображающую эту взаимосвязь для изучаемых нами растений.

Таблица 2.

ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛЕКТИНОВ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ С ЭРИТРОЦИТАМИ РАЗНЫХ ГРУПП
КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Лекарственные растения	Принадлежность эритроцитов к группам крови
Боярышник кроваво-красный, цветки	0(I)
Мать-и-мачеха, листья	0(I)
Бузина черная, цветки	более с 0(I), менее с A(II), B(III), AB(IV)
Сушеница топяная, трава	A(II)
Мята перечная, листья	более с A(II), менее с 0(I)
Пустырник сердечный, трава	B(III)
Земляника лесная, листья	более с B(III), AB(IV) менее с 0(I), A(II)
Эвкалипт шариковый, листья	более с AB(IV) менее с 0(I), A(II), B(III)
Ежевика, листья	0(I), A(II), B(III), AB(IV)
Зверобой пронзеннолистный, трава	0(I), A(II), B(III), AB(IV)

Как видно из таблицы 2, имеются лекарственные растения, которые взаимодействуют очень избирательно, как, например, дачи и чача преимущественно с эритроцитами 0(1) группы крови, сущина тобица А(II) и т.д. Другие же растения, такие как зверобой прощашноштин и ежевика, в равной степени взаимодействуют с эритроцитами всех четырех групп крови человека.

По нашему мнению, данное свойство лектинов лекарственных растений является важной теоретической предпосылкой дальнейших исследований по персонализации лекарственных растений больным. Так как лишь оно, как нам кажется, убедительно объясняет феномен терапевтического действия лекарственных растений, когда одно из них эффективно для лечения любого больного, а другое действует строго индивидуально.

Тот факт, что эритроциты человека имеют рецепторы для фитолектинов, и при отклонении организма от нормы блокируются или наоборот, повышают свою чувствительность, свидетельствует в пользу высказанного нами предположения.

Исходя из этого, можно предположить, что постоянное индивидуальное пополнение организма «нужными» лектинами лекарственных растений может быть важным элементом его иммунокоррекции. Все это приобретает первостепенное значение для лиц, живущих на территориях, подвергнутых воздействию аварии на ЧАЭС.

Кроме этого, создаются новые предпосылки для разработки теории более эффективного и рационального использования лекарственных растений, подтверждающие высказанную еще в 1984 году гипотезу Голынской Е.Л. о лектинах как действующем начале лекарственных растений (см. Первая республиканская конференция по медицинской ботанике: Тез. док-л.-К.:Наук.думка, 1984.-С.104-405.). Во всяком случае для онкологических больных это высказывание получило убедительное подтверждение (см. Ученые записки Тартуского университета- вып. 870.-том 2.-Тарту, 1989.- С. 208-222).

В заключение выражаем благодарность доценту Украинской медицинской стоматологической академии Дубинской Г.М. за оказанное содействие и помощь при проведении ряда исследований, изложенных в данной статье.

УГЛЕВОДНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЛЕКТИНОВ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ЕЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Способность лектинов обратимо и избирательно взаимодействовать с углеводами является одним из важнейших свойств этих органических соединений. По современным представлениям, именно оно определяет широкий спектр их физиологического действия на любом уровне организации живого.

Впервые способность моносахаридов подавлять гемагглютинирующую активность лектинов обнаружили Бойд У., Регуера Р. (1949) и Крюпе М. (1956). Они установили, что углеводы выступают в качестве гаптенных, блокируют активные центры лектинов. Более поздние исследования доказали, что лектины взаимодействуют как со свободными моно- и олигосахаридами, так и с остатками углеводов в составе гликопротеинов, полисахаридов и гликолипидов. В наиболее простой форме взаимодействие лектинов с углеводами проявляется в виде реакции гемагглютинации частиц и клеток, например, эритроцитов, или преципитации полисахаридов и гликопротеинов. Эти феномены объясняются тем, что в молекуле лектина находится, как правило, два или четыре центра связывания углеводов.

На основе имеющихся данных Мекела О. (1957) предложил классификацию лектинов, согласно которой их специфизм зависит от положения гидроксильных групп при третьем и четвертом атомах углерода и D- или L-формы пиранозного цикла углевода. Исходя из этого, все углеводы были разделены на четыре группы.

I. 3,4-ОН цис, L-форма (L-фукоза, L-галактоза)

II. 3,4-ОН цис, D-форма (D-галактоза)

III. 3,4-ОН транс, D-форма (глюкоза, манноза)

IV. 3,4-ОН транс, L-форма (L-глюкоза, идоза, гулоза)

Данная классификация особенно полезна при подборе сахаров для изучения характеристики лектина неизвестной специфичности.

Углевод-белковое взаимодействие (процессы узнавания макромолекул и клеток) по современным представлениям является основой многих жизненно важных биологических процессов, среди которых:

- регуляция межклеточного взаимодействия на простейшем уровне организации организма;
- транспортировка и локализация углеводов в растительных объектах
- обеспечение специфичности взаимодействия между пылью и пестиком при опылении;

- узнавание микросимбионта на начальной стадии бобово-ризобияльного симбиоза;

- индукция или подавление реакций сверхчувствительности при проникновении паразита в хозяина и т.д.

Однако, несмотря на достаточно хорошую изученность содержания и локализации лектинов в различных объектах, зачастую отсутствует информация об их углеводной специфичности. Вот почему определение этой характеристики остается важнейшей задачей современной лектинологии.

Наиболее часто степень специфичности оценивают по минимальной угнетающей концентрации углевода. При этом чем ниже концентрация сахара, при которой происходит торможение агглютинации, тем выше специфичность лектина к данному углеводу.

Минимальная концентрация углевода определяется следующим образом. Фиксированные объемы лектина с постоянным титром (1:4) помещают в лунки иммунологического планшета с полукруглым дном и смешивают с равными объемами углеводов в серии их последовательного разведения, начиная с 0,6 М концентрации каждого сахара. Систему инкубируют один час при комнатной температуре. Затем в каждую лунку вводят равный исходному объему лектина объем 2%-ной суспензии эритроцитов и оставляют при комнатной температуре на 20-30 минут. В контроле вместо сахара в соответствующие лунки вводят тот же объем физиологического раствора. При специфическом взаимодействии углеводы блокируют активные центры лектинов и подавляют их способность вызывать гемагглютинацию. При отсутствии взаимодействия лектина с данным углеводом его гемагглютинирующая активность сохраняется. Оценка реакции гемагглютинации производится по наибольшему разведению сахара, полностью подавляющему агглютинацию эритроцитов с участием данного лектина, исходя из расчета, что в первой лунке конечное содержание углевода в смеси составляет 0,2 М.

Используя данную методику, нами было проведено определение углеводной специфичности лектинов пестиков длинно- и короткостолбчатых форм примулы (*Primula obconica* L.). Препарат был получен путем дробного этанольного фракционирования из экстракта сухого материала. Выделенные лектины испытывали на специфичность к шести простым углеводам: арабинозе, глюкозе, галактому, ксилозе, галактозе, фруктозе. Результаты опыта приведены в таблице 1.

УГЛЕВОДНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ПЕСТИКОВ ПРИМУЛЫ (в мкг. сахара)

Углеводы	Длинностолбчатая форма	Короткостолбчатая форма	tфакт	t01
Арабиноза	6.25	100.0	4.93	4.60
Глюкоза	12.5	-	-	4.60
Галактит	12.5	-	-	4.60
Ксилоза	12.5	25.0	0.72	4.60
Галактоза	12.5	25.0	0.72	4.60
Фруктоза	25.0	50.0	1.80	4.60

Приведенные данные свидетельствуют о том, что лектины длинностолбчатых форм примулы проявляют довольно высокое сродство ко всем углеводам, за исключением фруктозы (25.0 мкг). Лектины короткостолбчатых форм проявляют больший специфизм к ксилозе и галактозе (25.0 мкг), слабо взаимодействуют с арабинозой (100.0 мкг) и фруктозой (50.0 мкг) и не имеют сродства к глюкозе и галактиту.

Сравнивая углеводную специфичность лектинов длинно- и короткостолбчатых форм пестиков примулы между собой по t-критерию Стьюдента, следует отметить, что достоверные отличия выявлены только для арабинозы ($t \text{ факт} > t_{01}$). По остальным пяти углеводам различия были ниже t_{01} , т.е. несущественными.

При этом становится ясным, что данная методика несколько не совершенна. Применяемая оценка интенсивности торможения агглютинации в единицах концентрации углевода варьирует в широких пределах, что не дает возможности в некоторых случаях достоверно оценить полученные результаты, так как концентрация углевода меняется в большом диапазоне от 12.5 до 100 мкг, с очень большим интервалом между значениями (табл. 1).

Кроме того, как показывают данные таблицы 1, для лектинов короткостолбчатой формы отсутствует специфичность к глюкозе и галактиту, что не дает возможности оценить достоверность соответствующих параметров математически (в таблице 1 прочерки). Возможны также случаи, когда добавление сахаров-ингибиторов не приводит к полному подавлению гемагглютинирующей способности лектинов даже при высоких концентрациях углевода, что также снижает разрешающую способность метода.

Все это и побудило нас к усовершенствованию охарактеризованного способа, сделав оценку более точной и достоверной. Постановка реакции торможения агглютинации в нашей модификации осуществляется так же.

так в известной. Отличия заключаются в следующем. Оценка гемагглютинирующей способности лектинов, как взаимодействующих с сахаром, так и в контроле, проводится визуально на основе анализа характера распределения эритроцитов, самопроизвольно осевших на дно полукруглой лунки иммунологического планшета и выражается в баллах:

3 балла - резко выраженная агглютинация. Эритроциты в виде тонкой пленки распределены по всему дну лунки;

2 балла - умеренная агглютинация. Эритроциты расходятся по дну лунки и образуют кольцо с резко выраженной зернистостью по краям диаметром свыше 2 мм;

1 балл - слабая агглютинация. Эритроциты расходятся по дну лунки на расстояние менее 2-х мм, образуя кольцо 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.

На основании визуальной оценки в баллах определяют максимальную суммарную интенсивность агглютинации исходного раствора лектина ($S_{\text{макс.}}$), которая рассчитывается по интенсивности гемагглютинации в контроле без сахара-ингибитора. Для восьми лунок планшета эта величина в зависимости от активности препарата лектина может достигать 24 баллов.

Далее определяют суммарную действительную интенсивность агглютинации в смеси лектин-сахар ($S_{\text{д.}}$), которая устанавливается при добавлении к лектину индивидуального сахара в восьми последовательных разведениях.

После этого устанавливается суммарная интенсивность торможения агглютинации ($S_{\text{т.}}$), которая равна разности между $S_{\text{макс.}}$ и $S_{\text{д.}}$. При этом, чем выше значение $S_{\text{т.}}$, тем выше сродство углевода к лектину.

Таблица 2.

ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ПЕСТИКОВ ПРИМУЛЫ (в усл. баллах) ПО ПРЕДЛАГАЕМОЙ МЕТОДИКЕ

Углеводы	Длинностолбчатая форма			Короткостолбчатая форма			$t_{\text{факт}}$	t_{01}
	$S_{\text{макс}}$	$S_{\text{д}}$	$S_{\text{т}}$	$S_{\text{макс}}$	$S_{\text{д}}$	$S_{\text{т}}$		
Арабиноза	16.0	4.5	11.5	24.5	21.0	3.0	13.28	4.60
Глюкоза	16.0	11.0	5.0	16.0	16.0	0.0	8.77	4.60
Галактиг	16.0	11.0	5.0	6.0	15.5	0.5	4.93	4.60
Ксиллоза	16.0	11.0	5.0	16.0	5.5	10.5	8.59	4.60
Галактоза	16.0	12.5	3.5	16.0	9.0	7.0	5.47	4.60
Фруктоза	24.0	15.0	9.0	24.0	17.0	7.0	0.78	4.60

Для сравнения двух методов ранее испытанные препараты лектинов длинно- и короткостолбчатой форм пестиков примулы были оценены по предложенной нами методике (Таблица 2).

Полученные данные позволяют сделать вывод, что в обоих случаях подтверждается высокое сродство лектинов пестиков длинностолбчатых форм к арабинозе, и отсутствие такового у короткостолбчатых форм (tфакт. $> t_{01}$). В отличие от общепринятого метода, нам удалось оценить специфичность лектинов короткостолбчатой формы к глюкозе и галактиту и доказать существенную разницу между разными формами пестика примулы по сродству к этим двум углеводам ($8.77 > 4.60$ и $4.93 > 4.60$ соответственно). Выявлены также различия между специфичностью к ксилозе ($8.59 > 4.60$) и галактозе ($5.47 > 4.60$), чего ранее сделать мы не смогли (Таблица 1). Подавление реакции гемагглютинации высокими дозами фруктозы свидетельствует о низкой специфичности этого сахара к лектинам пестиков как длинно-, так и короткостолбчатой форм примулы (tфакт. $< t_{01}$).

Следовательно, сравнивая оценку углеводной специфичности по общепринятой и предлагаемой нами методике, можно сделать вывод, что оценка по усовершенствованной методике более точная, дает сравнимый цифровой материал, пригодный для дальнейшей статистической обработки, позволяет получить данные даже при минимальной реакции углевода с лектином. Предлагаемая методика признана изобретением и защищена авторским свидетельством N 1732276 как «Способ оценки физиологической активности лектина к сахарам».