

УДК 615.32:58+547.963

ЛЕКТИНЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ЭХИНАЦЕЯ (*ECHINACEA* MOENCH.). 2. ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ В ОНТОГЕНЕЗЕ *ECHINACEA PURPUREA* (L.) MOENCH

© С.В. Поспелов*, А.Д. Поспелова

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

Представлены данные многолетнего изучения динамики активности лектинов эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.) в онтогенезе. Впервые установлено, что на первом году вегетации наиболее высокий уровень гемагглютининов отмечался в августе – сентябре. При этом их активность была высокой в стеблях, цветущих соцветиях и корнях с корневищами. В генеративный период высокая активность отмечалась в корнях с корневищами и стеблях на протяжении вегетации, расцветших и формирующихся соцветиях. Установлено, что прикорневые листья играют большую роль в накоплении лектинов у эхинацеи.

Ключевые слова: лектины, гемагглютинация, эхинацея пурпурная, сорт «Зирка Мыколы Вавилова», онтогенез, *Echinacea purpurea* (L.) Moench.

Введение

Эхинацея пурпурная (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) – наиболее изученный вид среди рода Эхинацея (*Echinacea* Moench, сем. Сложноцветные – Asteraceae) благодаря широкому использованию препаратов и пищевых добавок из ее сырья для повышения иммунитета у человека и животных [1, 2]. На сегодняшний день считается, что ее уникальное влияние обусловлено комплексным действием алкиламинов, фенольных соединений и полисахаридов [3], однако этот вопрос до конца не изучен. В этой связи заслуживают внимание лектины – биологически активные соединения белковой природы. Их разнообразные свойства дали возможность разработать оригинальные методы диагностики заболеваний [4], использовать их в биохимии, гистохимии, создании медицинских препаратов [5].

Вместе с тем оценка эхинацеи как сырьевой базы фитолектинов не проводилась. Отсутствуют данные по таким важнейшим параметрам, как содержание белковых соединений в различных частях и органах, сроки заготовки сырья по максимумам накопления соединений и т.д. Если для многих лекарственных растений эти вопросы достаточно хорошо изучены [6], то для эхинацеи пурпурной нуждаются в детальной проработке.

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

Экспериментальная часть

С целью получения объективных данных нами на протяжении 2001–2004 гг. изучалась активность лектинов в сухих образцах эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) сорта «Зирка Мыколы

Вавилова». Для этого в условиях промышленных плантаций в Полтавской области (Украина) отбирали растения первого и второго годов вегетации, отделяли части и органы, высушивали до воздушно-сухого состояния. Заготовку материала для анализа проводили на протяжении вегетационного периода.

Поспелов Сергей Викторович – доцент кафедры земледелия и агрохимии им. В.И. Сазанова, кандидат сельскохозяйственных наук, e-mail: serg_ps@mail.ru

Поспелова Анна Дмитриевна – доцент кафедры экологии и ботаники, кандидат сельскохозяйственных наук, e-mail: serg_ps@mail.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

Оценку активности лектинов проводили путем постановки реакции гемагглютинации в иммунологических планшетах [5] в нашей модификации. Для этого воздушно-сухое сырье измельчали и просеивали на ситах с диаметром отверстий 1 мм. При экстрагировании одну часть сырья заливали 20 частями физиологического раствора (0,9% NaCl), 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 и инкубировали при 25 °C 2 ч, после чего проводили визуальную оценку по пятибалльной шкале [7]: 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.

Результаты и их обсуждение

Анализ доступной нам литературы показал, что, несмотря на установленный факт наличия лектинов в эхинацее пурпурной, многие аспекты остаются малоизученными. В таблице 1 нами обобщены данные об обнаружении лектинов в разных частях и органах эхинацеи и методика их оценки. Можно сделать вывод, что результаты исследований неоднозначны, причем авторы сами затрудняются в их интерпретации. Так, сотрудники Национального университета им. Т.Г. Шевченко (Киев) [8] установили, что лектины в экстрактах листьев, стеблей и семян не определяются с помощью эритроцитов человека, а корней и соцветий – дают положительную реакцию. В то же время, по данным [9], эритроциты человека не реагируют на лектины, содержащиеся в корневой системе эхинацеи. Аналогична ситуация по экстрактам семян: если в наших исследованиях лектиновая активность регистрировалась [10, 11], то по данным киевских авторов [8] не отмечалась.

Вместе с тем, прослеживаются некоторые закономерности. Благодаря наличию рецепторов определенного типа для изучения активности лектинов эхинацеи больше подходят эритроциты животных: крысы, мыши, кролика. Человеческие эритроциты более нестабильны и не всегда дают положительную реакцию, что, возможно, связано с методикой, условиями их хранения, подготовкой и качеством самого сырья и т.д. Следует отметить, авторы [12] и [8] однозначны в своем мнении, что эритроциты В(III) группы крови человека более специфично реагируют на лектины эхинацеи. Однако более детальное изучение углеводной специфичности [9] пока не дает нам права это утверждать окончательно.

Отсутствие системных данных по динамике накопления лектинов на разных этапах онтогенеза эхинацеи пурпурной побудило нас изучить данный вопрос. На рисунке 1 приведены данные оценки активности лектинов в экстрактах разных частей и органов эхинацеи пурпурной первого года вегетации. Отмечается общая тенденция высокого уровня гемагглютинирующей активности экстрактов расцветших соцветий, а также корневищ с корнями и стеблей (от 4 до 8 единиц). Средний уровень был характерен для черешков листьев и формирующихся соцветий (от 2 до 6 единиц), а в листовых пластинках уровень активности лектинов не превышал 0,5 единицы. В конце первого года вегетации отмечается некоторое снижение активности фитолектинов.

Обращает на себя внимание динамика активности лектинов в корневищах с корнями эхинацеи пурпурной (рис. 1, I). В начале онтогенеза она не превышала 3,0–3,5 балла, но в последующих отборах возрастала почти в два раза – до 6,0–6,5 балла. В конце первого года вегетации отмечалось небольшое снижение (5,0 баллов). Самая стабильно низкая активность лектинов была в экстрактах листовых пластинок (рис. 1, II), которая не превышала 0,5 баллов. Причем данные неизменно повторялись на протяжении всех лет исследования. Изучение ее в черешках листьев (рис. 1, III) показывает, что на начальных этапах онтогенеза лектинов накапливалось мало (0,5 балла), а в последующие отборы активность возрастала до 3,0–3,5 балла. В формирующихся соцветиях (рис. 1, V) гемагглютинирующая активность экстрактов в июле – августе была 2,0–3,0 балла, в последующие отборы возрастала до 4,5–6 баллов. Цветущие корзинки характеризовались еще более высоким уровнем активности лектинов, особенно в сентябре (8,0 баллов), однако в конце вегетационного периода активность снижалась (рис. 1, VI). С началом формирования генеративного побега

активность лектинов в стеблях была довольно высокой на протяжении всех отборов (рис. 1, IV). Если в июле, когда стебель только начинал образовываться на отдельных растениях, активность составляла 4,5 балла, то в последующие месяцы (август, сентябрь) она возрастала до 7,0 баллов и несколько снижалась в конце вегетации (6,0 баллов).

Более детальный анализ содержания лектинов в листьях позволил выявить определенные закономерности (рис. 2). Если в листовых пластинках всех изучаемых листьев активность лектинов была минимальной на протяжении всей вегетации (0,5 балла), то в черешках их уровень возрастал в несколько раз, особенно в розеточных листьях (3,0–4,5 балла). Это наводит на мысль, что листовая пластинка является основным местом биосинтеза лектинов, которые потом транспортируются через сосудистую систему черешков. Учитывая то, что эхинацея пурпурная содержит значительное количество полисахаридов [3], а также способность лектинов обратимо связываться с углеводами, транспорт лектин-полисахаридного комплекса вполне возможен.

Изучение динамики активности лектинов в частях и органах эхинацеи пурпурной второго года вегетации позволяет сделать следующие выводы (рис. 3). Гемагглютинирующая активность экстрактов листовых пластинок и черешков была на низком уровне, – в пределах 0,5–3,5 балла. В более широком диапазоне она изменялась у соцветий, которые формировались (0,5–5,0 баллов). Стабильно высокой активностью лектинов была в корнях с корневищами, стеблях и соцветиях (5,5–9,0 баллов).

Результаты изучения активности лектинов эхинацеи пурпурной

Объект изучения	Рецепторы (эритроциты человека или животного)	Положительная (+) или отрицательная (-) реакция	Литература
Корни	Человека О(I)	+	[8]
	Человека А(II)	+	
	Человека В(III)	+	
	Крысы	+	[9]
	Человека	–	
	Кролика	+	
Соцветия	Человека О(I)	+	[8]
	Человека А(II)	+	
	Человека В(III)	+	
	Крысы	+	
Листья	Человека О(I)	–	[8]
	Человека А(II)	–	
	Человека В(III)	–	
	Крысы	+	[9]
	Человека	–	
	Кролика	+	
Стебли	Человека О(I)	–	[8]
	Человека А(II)	–	
	Человека В(III)	–	
	Крысы	+	
Плоды	Человека О(I)	–	[8]
	Человека А(II)	–	
	Человека В(III)	–	
	Крысы	+	[11]
	Человека О(I)	+	
	Человека А(II)	+	
	Человека АВ(IV)	+	
	Человека	–	[9]
	Кролика	+	
	Кролика	+	
Экстракт эхинацеи*	Человека О(I)	–	[12]
	Человека А(II)	–	
	Человека В(III)	+	
	Человека АВ(IV)	–	
	Кролика	–	
	Морской свинки	–	
	Мыши	+	
	Лягушки	–	

*не указано из какой части растения.

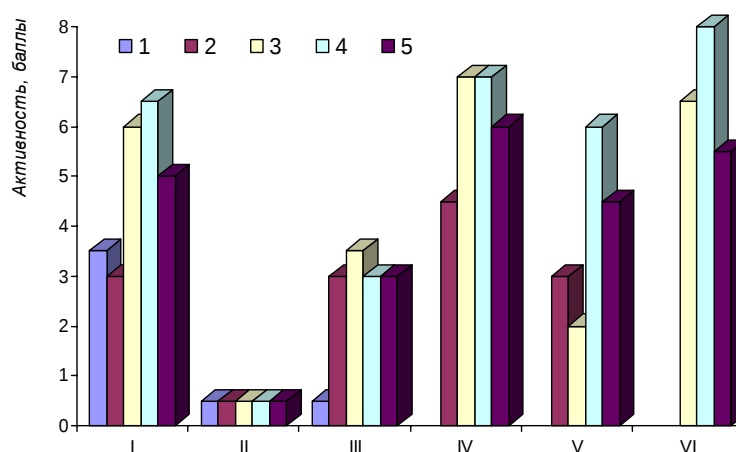


Рис. 1. Динамика активности лектинов эхинацеи пурпурной первого года вегетации (среднее за 2001–2003 гг.): I – корневая система; II – листовая пластинка; III – черешки листьев; IV – стебли; V – соцветия не расцветшие; VI – цветущие соцветия; отборы: 1 – июнь; 2 – июль; 3 – август; 4 – сентябрь; 5 – октябрь

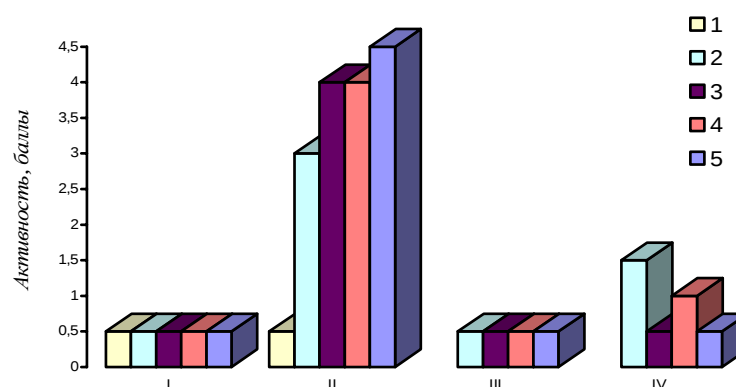


Рис. 2. Динамика активности лектинов в листьях эхинацеи пурпурной первого года вегетации (среднее за 2001–2003 гг.): розеточные листья: I – пластинки; II – черешки; стеблевые листья: III – пластинка; IV – черешки; отборы: 1 – июнь; 2 – июль; 3 – август; 4 – сентябрь; 5 – октябрь

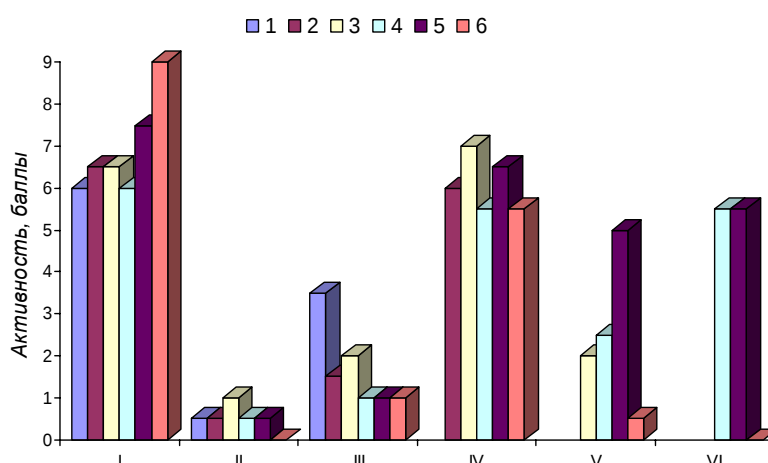


Рис. 3. Динамика активности лектинов эхинацеи пурпурной второго года вегетации (среднее за 2002–2004 гг.): I – корневище с корнями; II – листовая пластинка; III – черешки листьев; IV – стебли; V – соцветия не расцветшие; VI – расцветшие соцветия; отборы: 1 – возобновление вегетации; 2 – отрастание; 3 – формирование соцветий; 4 – цветение; 5 – плодообразование; 6 – созревание плодов в соцветиях 1–3-х порядков

Активность лектинов в листовых пластинках эхинацеи в апреле – августе не превышала 1,0 балла, а в последнем отборе не обнаруживалась (рис. 3, II). В черешках агглютинирующая активность была несколько выше, особенно во время возобновления вегетации (3,0 балла). В последующие отборы она снижалась до 1,0 балла (рис. 3, III). Формирующиеся соцветия в июне – июле показывали активность фитолектинов на уровне 2,0–2,5 балла, при оценке в августе – 5,0 балов, а у соцветий 5–10-х порядков, которые образовывались в сентябре, лектинов было мало – 0,5 балла (рис. 3, V). Значительный подъем активности в августе, возможно, связан с высокими температурами воздуха в этот месяц. Ведь известно, что лектиновая активность может быть обусловлена стрессовыми ситуациями во время вегетационного периода [13]. Количество лектинов в расцветших соцветиях в июле – августе было высоким – 5,5 балла. В период созревания плодов лектины в соцветиях не определялись (рис. 3, VI). Мы детально оценивали гемагглютинирующую активность в околоплоднике, семени, цветоложе и прицветниках, однако положительной реакции не наблюдали. Следует отметить, что ранее мы [11] обнаруживали лектины в плодах, но для этого использовались дополнительная очистка и другая методика оценки. Вместе с тем высокая активность замечена в стеблях эхинацеи с начала бутонизации до уборки плодов: 5,5–7,0 баллов (рис. 3, IV). Начиная с весеннего отрастания, экстракты корневищ с корнями эхинацеи имели довольно высокие показатели – 6,0–6,5 балла. В августе – сентябре активность возрастала до 7,5–9,0 баллов, что было максимальным в наших исследованиях (рис. 3, I).

На рисунке 4 представлены данные оценки гемагглютинирующей активности листьев эхинацеи. Можно сделать вывод о том, что у эхинацеи второго года вегетации розеточные листья являются основным местом синтеза лектинов – их активность в пластинках возрастала с апреля по июнь (0,5–1,5 балла) и снижалась до нуля в конце вегетации (рис. 4, I). В черешках гемагглютинирующая активность была самой высокой в начале вегетации – 3,5 балла, а в последующих отборах была на уровне 1,5–2,0 баллов (рис. 4, II). В стеблевых листьях лектины не определялись (рис. 4, III, IV). Лишь в августе отмечалась небольшая активность в листовых пластинках. Однако было бы ошибкой говорить об их отсутствии. Скорее, наши методы недостаточно чувствительны для выявления активности фитолектинов.

Представленные данные дали нам основание построить гипотетическую модель накопления и передвижения лектинов в растении эхинацеи (рис. 5). Основным местом синтеза можно считать листья, причем розеточные листья играют большую роль в этом процессе по сравнению со стеблевыми. Лектины активно транспортируются через сосудистую систему черешков и стебля. По стеблю они могут поступать как в корневую систему, так и образующиеся соцветия. К сожалению, пока не имеется данных, которые бы объясняли необходимость наличия лектинов в соцветиях. Их активность максимальна в корзинках, которые только формируются. Во время цветения активность снижается, а в период плодообразования падает до минимума.

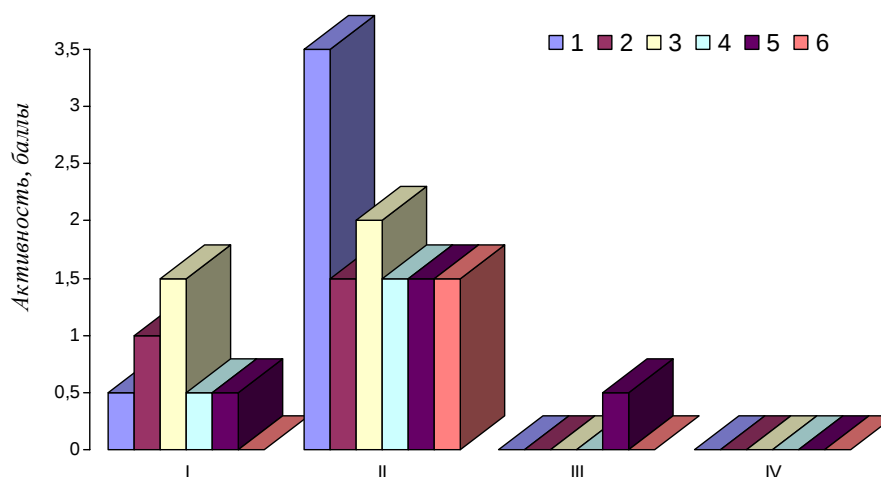


Рис. 4. Динамика активности лектинов в листьях эхинацеи пурпурной генеративного периода онтогенеза (среднее за 2002–2004 гг.): *розеточные листья*: I – пластинки; II – черешки; *стеблевые листья*: III – пластинка; IV – черешки; *отборы*: 1 – возобновление вегетации; 2 – отрастание; 3 – формирование соцветий; 4 – цветение; 5 – плодообразование; 6 – созревание плодов в соцветиях 1–3-х порядков

Как показывают наши данные, стебель может выполнять две функции: транспортную и запасную. Вполне вероятно, что тут имеют место углевод-белковые взаимодействия лектинов. У эхинацеи в стебле содержится значительное количество полисахаридов, которые могут образовывать комплексы с лектинами. В пользу этого свидетельствует факт, что в сухих стеблях активность лектинов такая же, что и во время вегетации. Основным депо лектинов следует считать корневище с корнями, где их наибольшее количество во время всей вегетации. При этом большая вероятность образования комплекса с полисахаридами, которые также накапливаются в корневой системе. Возможно, на протяжении вегетационного периода некоторая их часть может транспортироваться в другие части растения.

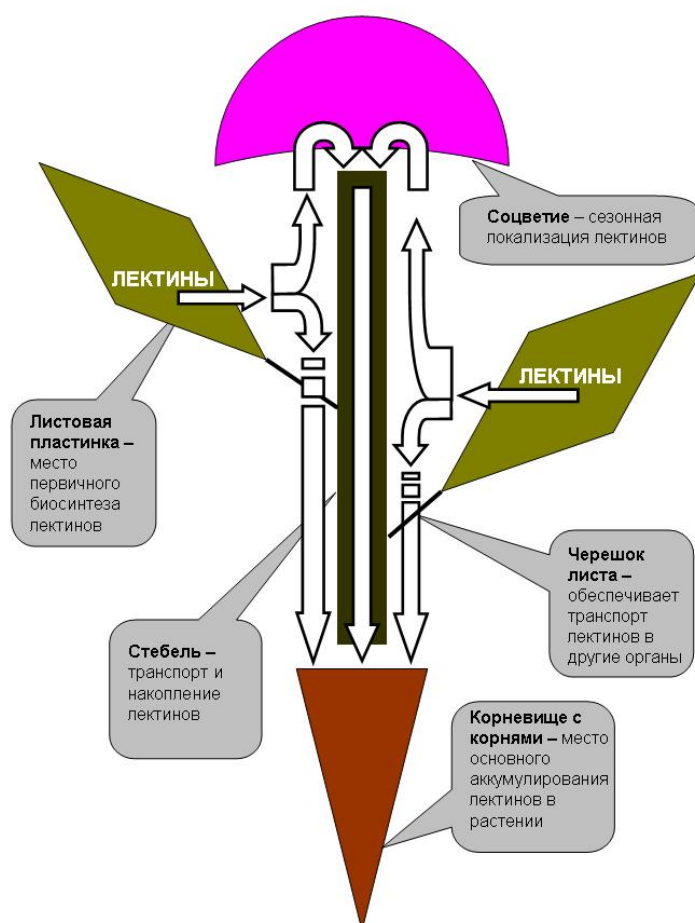


Рис. 5. Модель-схема транспорта и накопления лектинов в эхинаее пурпурной

Выводы

1. В результате проведенных исследований изучена активность лектинов эхинацеи пурпурной на протяжении разных периодов онтогенеза. Результаты многолетних исследований позволяют сделать вывод о том, что более всего их накапливается в корнях с корневищами (6,0–9,0 ед.), стеблях (5,5–7,0 ед.), соцветиях (2,0–6,0 ед.).

2. Установлено, что прикорневые листья играют основную роль в формировании лектинового пула растения. Особенности накопления лектинов в стеблях и корневой системе позволяют предположить о наличии лектин-полисахаридного комплекса, который обеспечивает необходимое функционирование гемагглютининов в растении.

Список литературы

1. Изучение и использование эхинацеи // Матер. межд. науч. конф. Полтава, 1998. 156 с.
2. С эхинацей в третье тысячелетие // Матер. межд. науч. конф. Полтава, 2003. 300 с.

3. Самородов В.Н., Поспелов С.В., Моисеева Г.Ф., Середа А.В. Фитохимический состав представителей рода эхинацея (*Echinacea Moench.*) и его фармакологические свойства (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 1996. №4. С. 32–37.
4. Осьмак А.А., Голынская Е.Л., Макаренко В.И. Лектины лекарственных растений в иммунодиагностике и прогнозировании // Ученые записки Тартуского университета. Вып. 870: Изучение и применение лектинов. Т. 2: Лектины в биологии и медицине. Тарту, 1989. С. 217–222.
5. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. Львов, 1981. 156 с.
6. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела. Львів, 2005. 554 с.
7. А.с. №1732276 (СССР). Способ оценки физиологической активности лектинов к сахарам / Е.Л. Голынская, С.В. Поспелов, В.Н. Самородов / 1992.
8. Погоріла Н.Ф., Меншова В.О., Брайон О.В. Лектини – біологічно активні речовини ехінацеї пурпурної // Фармацевтичний журнал. 1997. №4. С. 80–83.
9. Антонюк В.О., Рибак О.В. Вивчення вуглеводної специфічності лектинів підземних органів ехінацеї пурпурової та рудбекії роздільнолистої // Фармаком. 2002. №3. С. 153–158.
10. Поспелов С.В., Самородов В.М., Поспелова Г.Д. Основні напрямки і підсумки досліджень біології лектинів у Полтавському державному сільськогосподарському інституті // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. 2001. №4. С. 42–47.
11. Поспелов С.В. Оценка активности лектинсодержащих экстрактов эхинацеи пурпурной // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. 1998. №1. С. 15–17.
12. Кондротас А., Юркштене В., Янулис В. Изменение активности некоторых показателей неспецифической реактивности организма под влиянием препаратов эхинацеи пурпурной (*Echinacea Moench.*) // Иммунология, аллергология, инфектология. 1999. №1. С. 84–85.
13. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа, 2001. 160 с.

Поступило в редакцию 27 июня 2011 г.

После переработки 22 мая 2012 г.

Pospelov S.V.*, Pospelova A.D. LECTINS OF REPRESENTATIVES OF THE ECHINACEA GENUS (*ECHINACEA MOENCH.*) 2. SOME PARTICULARITIES OF ACTIVITY IN ONTOGENESIS *ECHINACEA PURPUREA* (L.) MOENCH

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

Data which is based on long-term research of dynamics of lectins activity of purple coneflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) in ontogenesis are represented. For the first time ascertained that on the first year of vegetation the highest level of hemagglutinins was observed in August-September. Meanwhile, their activity was high in stems (from 4,5 to 7,0 points), blossoming inflorescences (4,0–6,0 points) and roots with rhizomes (up to 6,0–6,5 points). In the second year in the genesic period some high activity was observed during the vegetation of roots with rhizomes (6,0–9,0 points), stems (5,5–7,0 points), both forming and open inflorescences (2,0–6,0 points). It has been established that *Echinacea* radical leaves are considerably important for the lectins pool forming. Based on experimental data the lectins locomotion model was developed. Some features of their accumulation in stems and root system let us assume that lectin-polysaccharide complex exists which provides the indispensable functioning of haemagglutinins in plants.

Keywords: lectins, haemagglutination, purple coneflower, «Zirka Mikoly Vavilova» breed, ontogenesis, *Echinacea purpurea* (L.) Moench.

* Corresponding autor.

References

1. *Izuchenie i ispol'zovanie jehinacei. Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii.* [Learning and using echinacea. Proceedings of the International Conference]. Poltava, 1998, 156 p. (in Russ.)
2. *S ekhinatseei v tret'e tysiacheletie. Materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii* [From Echinacea to the third millennium. Proceedings of the International Conference]. Poltava, 2003. 300 p. (in Russ.)
3. Samorodov V.N., Pospelov S.V., Moiseeva G.F., Sereda A.V. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1996, no. 4, pp. 245–251.
4. Os'mak A.A., Golynskaia E.L., Makarenko V.I. *Uchenye zapiski Tartuskogo universiteta. Vyp. 870. Izuchenie i primeneniye lektinov. T. 2. Lektiny v biologii i meditsine.* Tartu, 1989, pp. 217–222. (in Russ.)
5. Lucik M.D., Panasjuk E.N., Lucik A.D. *Lektiny* [Lectins]. L'vov, 1981, 156 p. (in Russ.)
6. Antoniuk V.O. *Lektyny ta i'h syrovynni dzherela.* [Lectins and their sources of raw materials]. Lviv, 2005. 554 c. (in Ukr.)
7. Patent 1732276 (USSR). 1992. (in Russ.)
8. Pogorila N.F., Menshova V.O., Brajon O.V. *Farmacevtychnyj zhurnal*, 1997, no. 4, pp. 80–83. (in Ukr.)
9. Antonjuk V.O., Rybak O.V. *Farmakom*, 2002. no. №3, pp. 153–158. (in Ukr.)
10. Pospjelov S.V., Samorodov V.M., Pospjelova G.D. *Visnyk Poltavs'kogo derzhavnogo sil'skogospo-dars'kogo instytutu*, 2001, no. 4, pp. 42–47. (in Ukr.)
11. Pospjelov S.V. *Visnyk Poltavs'kogo derzhavnogo sil'skogospo-dars'kogo instytutu*, 1998, no. 1, pp. 15–17. (in Ukr.)
12. Kondrotas A., Iurkshtene V., Ianulis V. *Immunologija, allergologija, infektologija*, 1999, no. 1, pp. 84–85. (in Russ.)
13. Shakirova F.M. *Nespetsificheskaia ustoichivost' rastenii k stressovym faktoram i ee reguliatsiia.* [Non-specific resistance of plants to stress factors and its regulation]. Ufa, 2001. 160 c. (in Russ.)

Received June 27, 2011

Revised 22 May, 2012