

Г.У. ДЮСКАЛИЕВА, О.К. АБДРАХМАНОВ,
М.Ж. КАИРОВА, Г.С. МУКАНОВА, Л. КОЖАМЖАРОВА

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ КАЗАХСТАНА

(ДГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» ЦБИ МОН РК)

В основу статьи положены результаты исследований биохимических, генетических и морфологических особенностей наиболее характерных популяций и сортов хозяйствственно-ценных видов растений Казахстана.

Введение

Флора Казахстана весьма разнообразна. Наличие больших запасов растительного сырья технических и лекарственных растений Казахстана делает их очень перспективными для промышленного использования. Изучение свойств биологически активных веществ, установление их структуры, создание на основе их ценных лекарственных препаратов имеет большое практическое значение.

В свете последних достижений биохимии и химии природных соединений, практический интерес представляют работы по выявлению и дополнению сведений о химическом составе ценных технических и лекарственных растений Казахстана, а также их хемо- и геномосистематические исследования [1-4].

Цель работы - изучение биохимических, генетических и морфологических особенностей наиболее хозяйствственно-ценных популяций эфедры, солодки, рябчика, кодонопсиса, патринии, молочая и бузульника, а также идентификации их алкалоидов, фенольных соединений и флавоноидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Видовое определение растений проводилось с помощью источников [5-7].

Траншейная отмывка корневых систем проводилась по методике И.О. Байтулина [8,9].

Разделение и проявление компонентного состава растворимых белков и изоферментов растений проводилось методом электрофореза в 7,5% ПААГ по В.Д. Davis [10].

Метод количественного определения эфедрина и аналогов в траве эфедры выполнен методом жидкостной хроматографии с использованием масс-селективного детектора – Applied Biosistem QTap LC/MS/MS system и с применением тонкослойной хроматографии на сулифоловых пластинах.

Тест Фолина-Чиколтеу для определения суммы фенольных соединений. Для определения суммы флавоноидов использовался тест по методике Н.Kaiser, Dr.B.Rahfeld.

Образцы были собраны в Алматинской (в Саркандском, Алакольском, Илийском, Талгарском, Балхашском районах), Жамбылской (в Мойынкумском, Кордайском и Мергенском районах), Южно-Казахстанской (в юго-западной части горы Карагатай) и Кызылординской (в юго-восточной части горы Карагатай) и Мангистауской областях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ephedra equisetina. Род Эфедра (*Ephedra*) семейства Эфедровые (*Ephedraceae*) класс Гнетовые (*Gnetales*) представлен безлистными кустарниками с членистыми зелеными ветвями.

Методом газожидкостной хроматографии нами исследован количественный состав эфедриновых алкалоидов некоторых популяций эфедры хвощевой. Выявлены популяции с высоким содержанием эфедрина (842-1086 мг/100 г), псевдоэфедрина (313-1671 мг/100 г), норпсевдоэфедрина (35-245 мг/100 г), норэфедрина (83-217 мг/100 г) и метилэфедрина (59-238 мг/100 г).

На примере эфедры хвощевой показано, что содержание эфедрина и метилэфедрина в зеленых веточках снижается в наиболее влажных и повышается в относительно сухих условиях местах обитания, а также в сухой период лета.

В результате хроматографического анализа были идентифицированы следующие фенольные соединения - катехин, кумарин, оксим, метоксифенил, бензойный альдегид, дубиловый эфир фталевой кислоты, дубиловый эфир масляной кислоты, ситостерол, 2-бутанон, 4(4-ОН фенил), D-аллоза.

На бумажной хроматограмме обнаружено голубовато-белое пятно видимое только в ультро-фиолетовом свете с R_f - 0,91 (15%ук.к-те) и R_f – 0,83 (БУВ 4-1-2). С помощью ГЖХ пятно идентифицировано как монотерпен d-лимонен.

Лимонен – углеводород циклического ряда, среди моноциклических монотерпенов является наиболее важным и распространенным. Он служит исходным соединением для его кислородопроизводных, например эфирного масла ментола.

Ephedra intermedia. Сравнительный анализ накопления алкалоидов в образцах травы эфедры средней показал наличие во всех образцах эфедрина и псевдоэфедрина, причем при визуальной оценке в сулифоловых пластинах хроматограмм, эфедрин преобладал в образцах из популяции из Кордайского перевала и окрестности г.Кентау, юго-западная части отрогов гор Кентау (1,58-1,88%), тогда как из Прибалхашья – окрестность ст.Лепсы и ст.Жанакорган, юго-восточная часть отрогов гор Карагатай (0,72-0,94%), а псевдоэфедрина в популяциях из окрестности ст.Жанакорган и ст.Лепсы (Прибалхашье) эфедрина 0,72-0,94%* R_f =0,61

В популяциях из Кордая и г.Кентау содержание псевдоэфедрина составил (1,32-1,43%)

В условиях пустынных зон в Кызылординской области и в Прибалхашье Алматинской области наблюдается меньшее содержание эфедрина от 0,72 до 0,94%, а псевдоэфедрина до 0,62%.

Glycyrrhiza glabra. Растительность: солодково-разнотравная асс. (Ass. *Glycyrrhiza glabra* –*Herba varia*). Состав: *Glycyrrhiza glabra*, *Phragmites communis*, *Erianthus purpurascens*, *Carelinea caspica*, *Tamarix ramosissima*, *Elaeagnus orientalis*, *Populus pruinosa*, *Ulmus pinnato-ramoso*, *Carex stenophyllodes*, *Holimodendron haledondron*, *Zygophyllum oxycarpum*, *Limonium gmelini*, *Alhagi pseudoalhagi*.

С помощью современных методов HPLC и проточного спектрофотометра (Shimatzu) и специально разработанной последовательности очистки было определено содержание в корнях солодки глицирризина. У растений солодковой ассоциации в корнях накапливается до 2,4% глицирризина, у чингилово-солидковой -3,24%, у сведово-солидковой -3,17%, у вейниково-солидковой -3,11%, у ажреково-солидковой-3,63%, у волоснево-солидковой-2,24%. Содержание фенольных соединений было обнаружено, что в экстракте содержится от 17 до 19 фенольных соединений. У опытных образцов число пиков на хроматограмме следующее: у солодковой ассоциации количество пиков -18, в корнях накапливается до

2,34 % глициризина, у чингилово-солодковой количество пиков на хроматограмме -17. Содержание глициризина -3,24%, у сведово-солодковой также 17 пиков, у вейнниково-солодковой отсутствует пик 14,2 (3,11%), у ажреково-солодковой ассоциации наиболее солидный пик глициризина и максимальное число пиков -19, что соответствует максимальному накоплению этого соединения-3,63%, у волоснецово-солодковой количество пиков на хр.-18, содержание глициризина составило 2,24%. Компонентный состав пероксидазы достаточно надежно характеризует состояние популяции растений. Было обнаружено, что для солодки характерно нижнее значение изоточек-они колеблются в спектре по pH от 4 до 6. У исследуемых образцов количество компонентов от 13 до 15 для чингилового –солодковой ассоциации характерен компонент с рL около 7,8. Можно отметить компонентный состав в зависимости от места сбора семян различно. Число компонентов в спектре колеблется от 8 до 17.

Неспецифичная эстераза. Компонентный состав эстеразы у листьев в исследуемых образцах практически одинаковы. Можно отметить повышенную активность компонентов в кислой зоне у образцов с рL 3,5 и 6,0. Наиболее гетерогенный спектр у образца с чисто солодковой ассоциацией-20компонентов, а минимальное у популяции из предгорной близ Алматы.

Компонентный состав растворимых белков. У солодки количество компонентов в спектре колеблется от 26 до 33. Можно отметить более слабую гетерогенность спектра у сvedового образца и высокую у солодкового, чингилового и ажрекового.

Полипептидный состав. В спектре полипептидов у различных образцов солодки количество компонентов колеблется от 21 до 27. Наиболее резко от других отличается спектр полипептидов у образца из чингилово-солодковой ассоциации- в спектре 27 компонентов. Молекулярная масса их колеблется от 20 до 102 кД.

Fritillaria verticillata из семейства Liliaceae Juss., рода Fritillaria относится к многолетним травянистым растениям .

Растворимые белки. Общее количество зон растений *Fritillaria verticillata* колебалось от 27 до 32 в зависимости от трека. Высокоподвижные зоны с Rf=0,71 и 0,86 и среднеподвижные зоны (Rf=0,5 и 0,52, третья черта снизу) харак-

терны только для листьев P. мутовчатого, а у стеблей и луковиц они отсутствуют. Обнаруженная в листьях одна широкая среднеподвижная зона (Rf=0,226) в других образцах фракционируется на две зоны с Rf=0,22 и 0,23. Низкоподвижная зона Rf=0,09 более выражена в листьях и стеблях, а в луковицах более широкая зона с Rf=0,11.

Общее количество зон *изопероксидаз* *Fritillaria verticillata* в зависимости от трека колеблется от 2 до 5. Низкоподвижные зоны с электрофоретической подвижностью 0,01 и 0,04 являются общими для всех образцов Рябчика мутовчатого. Зона 0,11 выявлена в листьях и луковицах у вегетирующих и растений с желтыми цветками. Зона 0,15 характеризовалась для листьев. Зона с электрофоретической подвижностью 0,17 обнаруживалась в луковицах растений с желтыми цветками. Среднеподвижная зона 0,22 обнаруживалась в луковицах растений с желтыми и фиолетовыми цветками и стеблях с фиолетовыми цветками. Зона 0,31 обнаруживалась в листьях и стеблях растений с фиолетовыми цветками.

Общее количество зон **неспецифичной эстеразы** у растений *Fritillaria verticillata* колебалось от 11 до 18 в зависимости от трека 9. Низкоподвижные зоны с электрофоретической подвижностью 0,03, 0,04 и 0,18, среднеподвижные 0,39, 0,42, 0,45 и 0,54, а также быстроподвижные 0,66 и 0,68 были выявлены на всех треках. Зона 0,06 характеризовалась присутствием только в образцах стеблей растений Рябчика мутовчатого (2, 5 и 8 треки), а зона 0,07 – в образцах листьев (1, 4 и 7 треки). Зона с электрофоретической подвижностью 0,076 присутствовала на всех треках кроме 2 и 8 (образцы стеблей растений P. мутовчатый с желтыми и фиолетовыми цветками, соответственно). Зона с электроподвижностью 0,16 выявлялась у образцов растений с фиолетовыми цветками, а также у образцов стеблей растений с желтыми цветками. Зона с электроподвижностью 0,23 проявлялась только в образцах листьев и стеблей (1 и 2, 4 и 5, 7 и 8 треках, соответственно), а 0,35 проявилась только 2, 4 и 5 треках. Среднеподвижная зона 0,37 отсутствовала только у образцов растений P. мутовчатого в фазе вегетации, в стеблях этих растений обнаруживалась зона с электроподвижностью 0,48, отсутствовавшая у других образцов. Кроме того, обнаруживались минорные

зоны с электроподвижностью 0,61 на 1-ом треке и 0,74 на 4-ом треке. Широкая зона с электроподвижностью 0,59 проявлялась только в образцах листьев (1, 4 и 7 треки), а также на 8 и 9 треках. Высокоподвижная зона 0,72 во всех образцах растений Р. мутовчатого с фиолетовыми цветками, а также на 1 и 7 треках.

Codonopsis Clemetidea (Shrenk) Clark. Это многолетнее травянистое растение, относящееся к семейству Колокольчиковых (Campanulaceae Juss.).

Количество **белковых** зон Кодонопсиса ломоносовидного колебалось от 1 до 37 в зависимости от образца. В корнеплодах Кодонопсиса из Аксайского ущелья обнаружена одна зона с $Rf=0,005$, характерная для всех образцов. Белковые зоны с $Rf=0,009$, 0,208 и 0,365 выявлялись только у Талгарской популяции. Среднеподвижная зона с $Rf=0,719$ была характерна только для соцветий обеих популяций. Быстроподвижные зоны с $Rf=0,828$ и 0,885 характеризовались для соцветий и листьев данных популяций. Зона с $Rf=0,036$, 0,177, 0,615 и 0,739 проявлялась только у образцов соцветий Талгарской популяции. Среднеподвижная зона с $Rf=0,406$ более широкая в образцах листьев этих популяций.

Количество зон **изопероксидаз** растений Кодонопсиса ломоносовидного составляло 4-6. Причем в образцах корнеплодов (подземные органы) зоны изопероксидаз не проявлялись. Низкоподвижные зоны изопероксидаз растений Кодонопсиса ломоносовидного с электрофоретической подвижностью 0,010, 0,020 и 0,046 проявлялись на всех треках, а 0,033 только в образцах стеблей (2 и 5 треки). Минорная зона с электрофоретической подвижностью 0,092 проявлялась у образцов соцветий растений из Талгарского ущелья (4 трек). Широкая зона с электроподвижностью 0,164 обнаруживалась в образцах стеблей у растений из обеих популяций (2 и 5 трек), а также на 6 треке. Зона с электрофоретической подвижностью 0,191 проявлялась в образцах соцветий у растений из обеих популяций (1 и 4 треки), а также на 5 треке. Электрофоретические зоны с подвижностью 0,237 и 0,250, а также 0,265 характеризовались только для образцов растений Кодонопсиса ломоносовидного из Аксайского ущелья.

Компонентный состав **неспецифичной эстеразы** растений Кодонопсиса ломоносовидно-

го колебался от 1 до 5 зон, в зависимости от трека (рис. 6). Причем в образцах корнеплодов зоны изопероксидаз не проявлялись. Медленноподвижные зоны с электрофоретической подвижностью 0,048 и 0,131 присутствовали у всех образцов, а 0,042 была характерна для всех треков, кроме 1 и 6 треков. Зоны с электроподвижностью 0,178 и 0,214 были характерны только для образцов соцветий обеих популяций, а также зона 0,178 проявлялась и на 2 треке. Зона с электроподвижностью 0,232 проявлялась на 1 и 5 треках.

Patrinia intermedia Roem Et. Shult. из семейства Valerianaceae Batch., Род **Patrinia** Juss. в Казахстане представлен одним видом.

Количество зон **растворимых белков** у растений Патринии средней в зависимости от трека составило 4-6. Зона с $Rf=0,02$ специфична для листьев патринии Талгарской популяции. Низкоподвижные зоны с $Rf=0,036$, 0,048 и 0,11 выявлены в стеблях патринии Каскеленской и Талгарской популяции. В образцах соцветий обеих популяций выявлены специфичные зоны с $Rf=0,23$, отсутствовавшие в остальных образцах.

Установлено, что содержание полифенолов у растений **Euphorbia virgata** составляет 11%, содержание флавоноидов - 1,35%.

У растений **Ligularia macrophylla** содержание полифенолов составляет 12% а флавоноидов - 0,1%.

Выводы:

- Образцы эфедры горной содержат группу эфедриновых алкалоидов, в которую входят эфедрин, псевдоэфедрин, норэфедрин, псевдонорэфедрин и другие. Концентрация их довольно значительная. В среднем около 3%, что свидетельствует о пригодности данных зарослей эфедры для промышленной заготовки.

- Количественное содержание алкалоида – эфедрина преобладали у популяции из Кордайского перевала и окрестности г. Кентау в отрогах гор Карагатау (1,58-1,88%), псевдоэфедрина (1,32-1,43%). В пустынных районах в горной части в отрогах гор Карагатау, окрестности ст. Жанакорган и в Прибалхашье, окрестности ст. Лепсы эфедрин - 0,72-0,94%, псевдоэфедрин-0,62%.

- Количественное содержание глицирризиновой кислоты в корнях солодки голой, произрастающей в Кызылординской области составляло 8,5% в пойме реки Сыр-Дарья, а в равнинной части - 7,12%.

4. При электрофоретических определениях были выявлены различия в характере изменений активности белков в зависимости от органа растений. Выявленные полиморфные зоны активности данных белков позволяют говорить о существовании специфичных различий между образцами растений различных популяций.

5. Содержание полифенолов *Euphorbia virgata* составляет 11%, а флавоноидов-1,35%, у растении *Ligularia macrophylla* содержание полифенолов составляет 12%, флавоноидов - 0,1%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Peterson A.H., Tanksley S.D., Sorrells M.E. DNA markers in plant improvement // Adv. Agron.. 1991. 46: 39-90.

2. Хавкин Э.Е. Молекулярные маркеры в растениеводстве // Сельскохоз. биология. 1997. №5. С.3-21.

3. Сарсенбаев К.Н., Беков А.А.-Х., Рахимбаев И.Р. Изоферменты в хемосистематике высших растений. Алма-ата, 1982. С.162.

4. Гильманов М.К., Фурсов О.В., Францев А.П. Методы очистки и изучения ферментов растений. Алма-ата, 1981. С.68.

5. Флора СССР. М.; Л., 1936. Т.5.

6. Флора Казахстана. Алма-Ата, 1958. Т.2.

7. Иллюстрационный определитель растений Казахстана. Алма-ата, 1969. Т.1. С.130-160.

8. Байтулин И.О. Строение и работа корневой системы растений. Алма-ата: Изд-во «Наука» КазССР. 1987. 126 с.

9. Байтулин И.О. Корневая система растений зоны Казахстана. Алма-ата, 1979. 183 с.

10. Davis B.Y. Disk electrophoresis. II. Methods and application to human serum proteins //Ann.N.Y. Acad.Sci. 1964. V.121. N4. P.404-427.

Резюме

Қазақстанның экономикалық пайдалы өсімдік түрлерінің биохимиялық, генетикалық морфологиялық ерекшеліктерін зерттеу нәтижесі көрсетілген.

Resume

The biochemical, genetically and morphological peculiarities of most typical populations of valuable plant species of Kazakhstan have been investigated.