

УДК 57.017.35:633.31/.37

Б.А. Жумабаева*, Э.Д. Джангалина,
З.Г. Айташева, Д.А. Ыбраймолдаева, А.Б. Бегайдарова

Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
Республика Казахстан, г. Алматы

*E-mail: Beibytgul.Zhumabaeva@kaznu.kz

Оценка лектиновой активности перспективных сортов фасоли

Изучены белковые компоненты сортообразцов казахстанской, российской и зарубежной селекции фасоли обыкновенной. Показано, что содержание белка у изучаемых сортообразцов варьируют от 23,2% до 30,8%. Выявлены сортообразцы с максимальным содержанием белка: «Иранская» (30,8%, зарубежная селекция) и «Журавушка» (30,7%, российская селекция). Казахские сортообразцы «Актатти» и «Бомба» занимают промежуточное положение. Альбуминово-глобулиновая фракция в семенах всех изученных сортообразцов фасоли была преобладающей и составляла 76,2-82,3%. Проведенный биоскрининг на активность лектинов показал, что лектиновая активность изучаемых сортообразцов фасоли зависит от происхождения эритроцитов, генотипа и варьирует от 10 до 13 баллов. Все исследуемые образцы имели достаточно высокий титр лектинов: 38,3 – 55,8 [мг/мл]⁻¹. Наиболее перспективными для получения лектинов являются сорта «Юбилейная» и «Журавушка», из казахских – «Актатти».

Ключевые слова: фасоль, сортообразцы, содержание белка, лектиновая активность, геммаглютинация.

B.A. Zhumabayeva, E.D. Dzhangalina,

Z.G. Aytasheva, D.A. Ybraymoldaeva, A.B. Begaydarova

Assessment of lectin activity perspective bean varieties

It has been studied protein compounds of the common beans from Kazakhstan, Russian and foreign selection. It has been shown that the protein content in studied cvs varies from 23.2% to 30.8%. The highest protein content is contained in foreign cv. «Iranskaya»(30.8%) and «Zhuravushka» (30.7%) from Russian collection. Cvs «Aktatti» and «Bomba» occupy an intermediate position. The albumin-globulin fraction in the seeds of all studied cvs dominated among other fractions and was 76.2-82.3%. Bioscreening demonstrated that lectine activity of studied cvs depends on the origin of erythrocytes, genotype and ranges from 10 to 13 points. All of cvs have the high titer of lectine (38.3-55.8[mg/ml]⁻¹). The most perspective lines and species for obtaining lectines are cvs «Yubileynaya», «Zhuravuska» and local cv. «Aktatti».

Key words: beans, accessions, protein, lectin activity, gemmaglyutination.

Э.Д. Джангалина, Б.Ә. Жұмабаева,

З.Г. Айташева, Д.А. Ыбраймолдаева, А.Б. Бегайдарова

????

Үрмебұршақ сортүлгілерінің белоктық компоненттері зерттелінді. Зертелінуші сортүлгілерінің белоктық мөлшерінің 23,2% – 30,8% ауытқитындығын көрсетті. Ресейлік және қазақстандық сорт үлгілері арасында («Иранская» 30,8%, шет ел селекциясы) және («Журавушка» 30,7%, Ресей селекциясы) сорттары белок құрамы бойынша жоғары нәтижелер көрсетті. Ал қазақстандық сорт үлгілер «Ақтатти» және «Бомба» орташа деңгейде болды. Үрмебұршақтың зерттелуші сортүлгілерде альбуминдік-глобулиндік белоктық фракциялар құрамы 76,2-82,3% аралығын құрады.

Үрмебұршақ сортүлгілеріндегі лектин белсенділігі эритроциттің тегіне тәуелді және жоғары титр, яғни 38,3 – 55,8 [мг/мл]⁻¹ аралығын құрады. Қоян эритроциттерін қолданғанда агглютиндеуші бел-

сенділік көр тышқан эритроциттерімен салыстырғанда барлық сорт үлгілерінде жоғары деңгейде болды, генотипке байланысты 10-13 балл көрсетті. Ең жоғарғы белсенді сорттар «Юбилейная белая» және «Журавушка», қазақстандықтан «Ақтәтті» болып табылды.

Түйін сөздер: Үрмебұршақ, сортүлгілер, белок құрамы, лектиндік белсенділік, геммаглютинация.

Введение

Зернобобовые культуры являются важным источником растительного белка, масла, углеводов и других ценных веществ в питании человека и животных. О питательной ценности отдельных сортов зернобобовых судят не столько по общему содержанию питательных веществ, сколько по содержанию в них легкоусвояемых форм.

Среди зернобобовых культур фасоль занимает одно из ведущих мест и возделывается в 70 странах мира. С целью выявления дополнительного источника высокоактивных природных соединений многие ученые мира занимаются биоскринингом растений. Фасоль является одним из таких объектов. По химическому составу семена фасоли уникальны и включены в группу важных продуктов, обеспечивающих население полноценным белком. Кроме того, белковый комплекс фасоли содержит биологические стимуляторы, участвующие в защитных реакциях растений, такие как лектины, ингибиторы протеиназ, цианогенные гликозиды, которые делают ее перспективной с точки зрения биотехнологической переработки и получения на их основе фитопрепаратов для сельского хозяйства и медицины.

Известно, что лектины – это белки, неферментативной природы, относящиеся к классу гликопротеинов и обладающие свойством специфично и обратимо связывать углеводные лиганды биополимеров [1]. Уникальные свойства лектинов обуславливают их успешное и широкое применение в качестве аффинных адсорбентов различных гликоконъюгатов для выделения клеток, а также в качестве специфических зондов. Обнаружено, также, что лектины обладают гормональным действием и вызывают различные физиологические эффекты [2].

В настоящее время для Казахстана представляют большой теоретический и практический интерес вопросы мобилизации и анализа отечественных растительных ресурсов, в частности перспективных казахстанских сортообразцов фасоли. В связи с этим, целью данной работы – охарактеризовать сортообразцы фасоли по содержанию белка, выявить образцы с высокой

активностью антипитательных компонентов. Эти исследования будут способствовать выявлению новых источников получения белковых компонентов для исследования их действия на различных клеточных моделях, разработке биотехнологических подходов их выделения и дальнейшего использования для производства средств защиты растений, а также лекарств и диагностикумов.

Материалы и методы

Для проведения биоскрининга сортоформ фасоли на содержание белка и лектинов использовали 12 сортообразцов фасоли казахстанской, российской и зарубежной селекции: «Актатти», «Бомба», «Бийчанка», «Журавушка», «Иголинская», «Иранская», «Камелия», «Ред Гойя», «Пинто», «Уфимская», «Фатима», «Юбилейная белая». Данные сортообразцы выращивались в предгорной и степной зоне Алматинской области.

Определение содержания белка

Содержание белка проводили по методу Кельедаля [3]. В семенах определялось содержание сырого протеина и суммарное содержание растворимых протеинов в 0,2%-ном растворе NaOH.

Оценка активности лектинов

Оценку активности лектинов проводили путем постановки реакции геммаглютинации лектинов с кровью кроликов и крыс. Эритроциты получали путем 5-кратной промывки крови 0,2 М раствором хлористого натрия. Для приготовления лектинового экстракта семена измельчали, заливали на 3 часа 0,9 М раствором хлористого натрия и затем центрифугировали 20 мин. при 4000 об/мин [4]. Для проведения реакции геммаглютинации использовали специальный планшет с U-образными лунками. Величину лектиновой активности определяли визуально и по титру лектина. Визуальную оценку проводили по пятибалльной шкале: 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 выра-

женной зернистостью по краям; 1 балл – слабая агглютинация: эритроциты расходятся по дну лунки на расстояние менее 2 мм, образуя колечко или диск; 0,5 балл – минимальная агглютинация: в центре совокупности эритроцитов, осевших на дно лунки, возникает небольшой просвет; 0 баллов – отсутствие агглютинации: эритроциты скапливаются в центре лунки. После визуальной оценки агглютинации в каждой лунке серии разведений подсчитывают сумму во всех лунках, где реакция определялась. Таким образом, максимальная активность в восьми лунках может составлять: $5 \times 3,0 = 15$ баллов.

Титр лектина характеризуется максимальным разведением или минимальной концентрацией его в растворе, при которой отмечается агглютинация эритроцитов. Лектиновую активность выражали в обратных единицах $[\text{мг/мл}]^{-1}$ и определяли как минимальную концентрацию белка, при которой наблюдается агглютинация.

Результаты и их обсуждение

Фасоль отличается высоким содержанием хорошо перевариваемого, полноценного по аминокислотному составу растительного белка. По данным разных авторов в семенах этой культуры может накапливаться в среднем 20-30% протеина с варьированием от 17 до 40%, при этом на содержание и качество белка семян фасоли существенное влияние оказывают генотип [5,6].

Сравнительный анализ сортов фасоли казахстанской, российской и зарубежной селекции показал, что они отличаются по содержанию белка, которое варьировало у изучаемых образцов от 23,2% до 30,8%. Максимальное количество отмечено для сортов «Иранская» (30,8%, зарубежная селекция) и «Журавушка» (30,7%, российская селекция). Наименьшее – для сортов «Ред Гойя» (23,2%, зарубежная селекция) и «Фатима» (23,4%, российская селекция). Казахские сорта «Актатти» и «Бомба» занимают промежуточное положение (таблица 1).

Белковый комплекс у разных видов растений представлен различными фракциями – группами близких белков, которые отличаются разными физико-химическими свойствами компонентов. Одной из особенностей белков является их неодинаковая растворимость в растворах солей, щелочей и органических соединений. На принципе растворимости белков основана условная классификация простых белков растений на

альбумины, глобулины, проламины и глютелины. Определение состава и соотношения белковых фракций является важным качественным показателем белкового комплекса растений. Белки бобовых состоят в основном из глобулинов и альбуминов, которые являются более полноценными по аминокислотному составу. Более легкая растворимость белков бобовых культур в воде и растворах нейтральных солей означает их большую перевариваемость и соответственно более высокую биологическую и пищевую ценность. Методом последовательной экстракции нами установлено, что в семенах всех изученных сортов образцов фасоли альбумино-глобулиновая фракция была преобладающей и составляла 76,2-82,3%. Образцы с максимальным содержанием альбуминов и глобулинов выявлены среди сортов российской и зарубежной селекции: «Ред Гойя» (82,3%) и «Бийчанка» (80,5%). Минимальное содержание характерно для сортов «Актатти» (76,2%), «Журавушка» и «Бомба» (76,6%).

В то же время, белковый комплекс фасоли в сыром виде содержит антипитательные или так называемые антиалиментарные вещества или токсины: лектины, ингибиторы протеиназ и амилаз.

В связи с этим, следующим этапом исследований было определение лектиновой активности сортов образцов фасоли. В первой серии экспериментов проводили визуальную оценку активности лектинов шести сортов образцов фасоли «Юбилейная белая», «Уфимская», «Жемчужина», «Бийчанка», «Журавушка», «Актатти» путем постановки реакции геммагглютинации с кровью кроликов и крыс. Оценивание результатов визуально в баллах позволяет быстро, объективно и достаточно точно определить интенсивность реакции геммагглютинации.

Интенсивность реакции геммагглютинации зависит от условий реакции, поэтому обязательно необходимо учитывать происхождение эритроцитов и процедуру их обработки. В наших экспериментах было установлено, что интенсивность агглютинации при использовании суспензии эритроцитов кроликов ниже, по сравнению с кровью крыс. Эти данные согласуются с данными других исследователей на различных группах растений, таких как зерновые [7], маслинные [8], пасленовые [9], зернобобовые [4], в которых было показано, что лектиновая активность в реакциях геммагглютинации зависит от происхождения эритроцитов, что связано с различным химическим строением рецепторов

клеток и объясняется различной углеводной специфичностью данных растений. У всех исследуемых образцов, реакция агглютинации на

эритроцитах кроликов проходила в 1,5-2 раза медленнее по сравнению с эритроцитами крыс, а интенсивность не превышала 5 баллов.

Таблица 1 – Характеристика биохимического состава зерна сортоформ фасоли

№	Сортообразец	Твердость, ед.SKCS	Содержание белка, %	
			Общий, %	Доля альбуминово-глобулиновой фракции, %
1	«Юбилейная белая»	70	28,2	76,7
2	«Журавушка»	54	30,7	73,6
3	«Бийчанка»	54	25,6	80,5
4	«Актатти»	80	26,9	76,2
5	«Бомба»	35	28,7	76,6
6	«Иголинская»	55	26,9	78,7
7	«Иранская»	48	30,8	77,2
8	«Камелия»	71	29,6	77,8
9	«Ред Гойя»	51	23,2	82,3
10	«Фатима»	72	23,4	77,3
11	«Пинто»	61	26,4	79,8
12	«Уфимская»	59	28,2	78,7

Несмотря на то, что агглютинирующая активность при использовании эритроцитов крыс у всех сортообразцов была довольно высокой она зависела от генотипа и варьировала от 10 до 13 баллов. Для сортов «Юбилейная белая» и «Журавушка» агглютинирующая активность составляла 13 баллов, «Жемчужинка» – 12 баллов, «Уфимская» и «Бийчанка» 10 баллов. Кроме того, у сортообраз-

ца «Журавушка» реакция геммагглютинации начиналась на 2-3 минуты раньше, по сравнению с другими сортообразцами, что предварительно может свидетельствовать о высокой активности лектинов у данного сортообразца (таблица 2).

Дальнейшие исследования геммагглютинирующей активности проводили путем измерения титра лектинов только на крови крысы.

Таблица 2 – Интенсивность агглютинирующей активности различных сортообразцов фасоли в зависимости от происхождения эритроцитов

Сортообразец	Время наступления агглютинации, (мин)		Интенсивность агглютинирующей активности, баллы	
	эритроциты кролика	эритроциты крысы	эритроциты кролика	эритроциты крысы
«Юбилейная»	5	10	5	13
«Уфимская»	4	6	3	10
«Жемчужина»	3	5	3	12
«Бийчанка»	5	7	2	10
«Журавушка»	2	4	4	13

Титр лектина характеризуется максимальным разведением или минимальной концентрацией его в растворе, при которой отмечается агглютинация эритроцитов. В результате про-

веденных экспериментов было установлено, что все исследуемые образцы имеют достаточно высокий титр лектинов, который составлял $38,3 - 55,8 \text{ [мг/мл]}^{-1}$. В соответствии с рисунком

1, наибольшей активностью обладали сорта «Юбилейная белая» и «Журавушка». Их активность составляла 55,8 и 52,4 [мг/мл]⁻¹ соответственно.

У образцов фасоли «Актатти», «Бийчанка», «Жемчужина» активность геммаглютининов

была несколько ниже и не превышала 48 [мг/мл]⁻¹. Самую низкую активность лектинов имел сортообразец «Уфимская» – 38,3 [мг/мл]⁻¹.

На рисунке 2 представлена реакция геммаглютинации на примере четырех исследуемых сортообразцов фасоли.

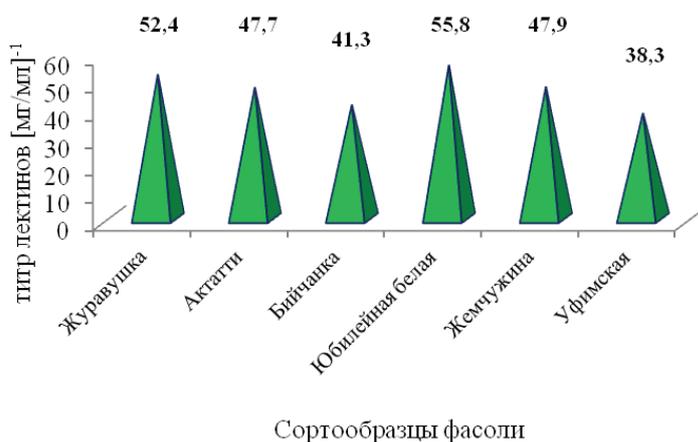


Рисунок 1 – Геммаглютинирующая активность лектинов семян фасоли

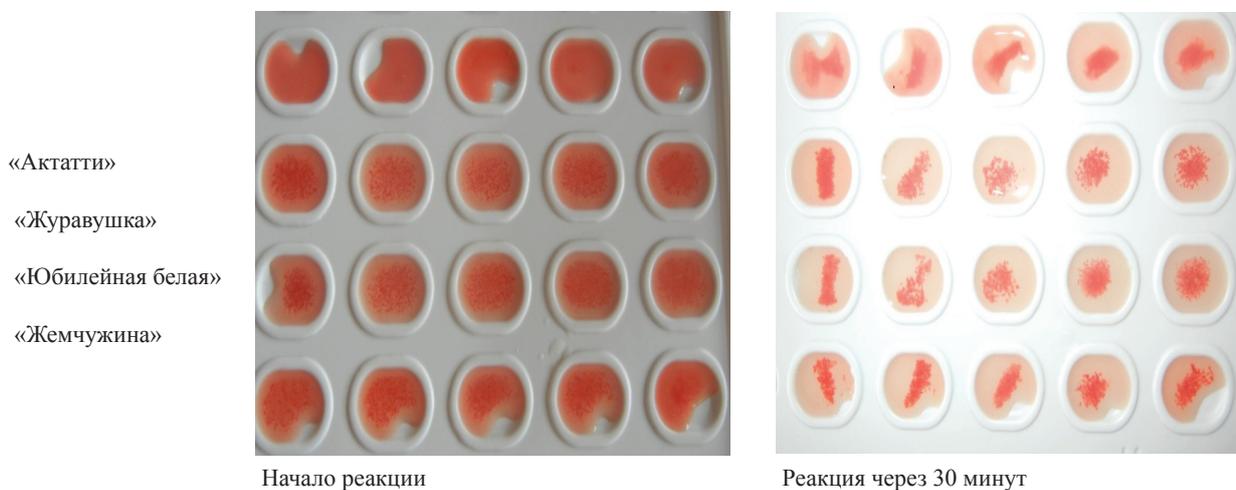


Рисунок 2 – Реакция геммаглютинации сортообразцов фасоли на крови крыс

Таким образом, проведенный биоскрининг показал, что изучаемые сортообразцы фасоли обладают различной лектиновой активностью. Наиболее перспективными из российских сортообразцов является «Юбилейная белая» и «Журавушка», из казахстанских – «Актатти». Выявленные в результате биоскрининга сор-

тообразцы с пониженной активностью лектинов можно рекомендовать для использования в пищевых и кормовых целях, а с высокой лектиновой активностью – в качестве перспективного исходного материала для их выделения и получения на их основе биопрепаратов для сельского хозяйства.

Литература

- 1 Канделинская О.Л., Грищенко Е.Р., Обуховская Л.Б. Лектины лекарственных растений дикорастущей флоры Беларуси: перспективы использования // Вестник фонда фундаментальных исследований. – 2009. – № 2. – С.169–182.
- 2 Гагарина И.Н., Павловская Н.Е. Инновационный подход к применению белковых компонентов в биотехнологии // Вестник ОрелГАУ. – 2008. – № 1. – С.36–38.
- 3 Перуанский Ю.В., Аbugалиева А.И., Савин В.Н. Методы биохимической оценки коллекционного и селекционного материала. – Алматы. – 1996. – 123 с.
- 4 Ковальчук Н.В. Динамика активности лектина при прорастании семян фасоли // Украинский биохимический журнал. – 2006. – Т. 78, № 1. – С. 130–134
- 5 Фадеева А.Н. Изменчивость содержания белка в семенах зернобобовых культур // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2013. – № 1(5). – С. 33–37;
- 6 Каталог мировой коллекции ВИР. Фасоль. Характеристика образцов по активности ингибиторов трипсина, содержанию белка в семенах и другим хозяйственно- ценным признакам // СПб. ВИР. – 2004. – Вып. 745. – 21 с.
- 7 Ямалеева А.А. Лектины растений и их биологическая роль. – Уфа, 2001. – 203 с.
- 8 Левчук А.Н. Физиологическая роль лектинов в семенах льна масличного. – Материалы VII Международной конференции молодых ученых и специалистов, ВНИИМК. – 2013. – С.119–123
- 9 Лазарева Е.А. Лектины оболочки пыльцевого зерна *Nicotiana tabacum L.* и их роль в активации прорастания // дис. ...к.б.н: Москва, 2009. –24 с. <http://www.dissertcat.com>.

References

- 1 Kandelinskaja O.L., Grishhenko E.R., Obuhovskaja L.B. Lektiny lekarstvennyh rastenij dikorastushhej flory Belarusi: perspektivy ispol'zovanija // Vestnik fonda fundamental'nyh issledovanij. – 2009. – № 2. – S.169–182.
- 2 Gagarina I.N., Pavlovskaja N.E. Innovacionnyj podhod k primeneniju belkovyh komponentov v biotehnologii // Vestnik OrelGAU. – 2008. – № 1. – S.36–38.
- 3 Peruanskij Ju.V., Abugaliev A.I., Savin V.N. Metody biohimicheskoj ocenki kollekcionnogo i selekcionnogo materiala. – Almaty. – 1996. – 123 s.
- 4 Koval'chuk N.V. Dinamika aktivnosti lektina pri prorastanii semjan fasoli // Ukrainskij biohimicheskij zhurnal. – 2006. – T. 78, № 1. – S. 130–134
- 5 Fadeeva A.N. Izmenchivost' sodержanija belka v semenah zernobobovyh kul'tur // Zernobobovye i krupjanye kul'tury.– 2013. – № 1(5). – S. 33–37;
- 6 Katalog mirovoj kollekcii VIR. Fasol'. Harakteristika obrazcov po aktivnosti ingibitorov tripsina, sodержaniju belka v semenah i drugim hozjajstvenno- cennym priznakam // SPb. VIR. – 2004. – Vyp. 745. – 21 s.
- 7 Jamaleeva A.A. Lektiny rastenij i ih biologicheskaja rol'. – Ufa, 2001. – 203 s.
- 8 Levchuk A.N. Fiziologicheskaja rol' lektinov v semenah l'na maslinichnogo. – Materialy VII Mezhdunarodnoj konferencii molodyh uchenyh i specialistov, VNIIMK. – 2013. – S.119–123
- 9 Lazareva E.A. Lektiny obolochki pyl'cevogo zerna *Nicotiana tabacum L.* i ih rol' v aktivacii prorastanija // dis. ...k.b.n: Moskva, 2009. –24 s. <http://www.dissertcat.com>.