

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

Г.Н. Бузук, Н.А. Кузьмичева,
А.В. Руденко¹

МОРФОМЕТРИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ. 2. VACCINIUM MYRTILLUS L.: ВЗАИМОСВЯЗЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА

Витебский государственный
медицинский университет

¹Государственная гимназия
№1 г. Витебска

Впервые обнаружена достоверная взаимосвязь между линейными размерами листьев черники и накоплением в них фенольных соединений. Зависимости содержания различных групп фенольных соединений от площади листьев имеют как линейный, так и нелинейный характер с общей тенденцией максимального накопления указанных соединений в условиях произрастания, способствующих формированию небольших по размеру листьев.

ВВЕДЕНИЕ

Изучению влияния различных экологических факторов на морфологию и анатомию листьев посвящены многочисленные исследования [1-7]. При этом отмечается, что количественные признаки листьев могут служить для оценки сходства и различий экоценологических режимов участков местообитания [8, 9], индикатором изменения условий произрастания [10] и являться критерием эффективности действия того или иного фактора на продуктивность растений [11].

Имеются также весьма многочисленные данные о влиянии экологических условий на содержание в различных органах и структурах растений, в том числе и листьях, различных биологически активных веществ: фенольные соединения, алкалоиды, терпеноиды и др. [12-16].

Однако взаимосвязь между морфологическими параметрами листьев, такими как длина, ширина, площадь, периметр,

форма и накоплением в них различных групп вторичных соединений практически не изучена, хотя данное обстоятельство представляет несомненный интерес для практики: на основе видимых и легко определяемых морфологических признаков прогнозировать содержание биологически активных веществ в лекарственных растениях. Этому вопросу посвящены единичные исследования [17-18].

Необходимой предпосылкой такого рода исследований является разработка методических подходов, включая методику взятия репрезентативных образцов в наибольшей степени отражающих влияние экологических условий на форму и размеры листьев отдельных особей и ценопопуляции в целом изучаемого вида, которая не должна быть трудоемкой и легко выполняться в полевых условиях. Это и обусловило необходимость проведения настоящего исследования

Выбор в качестве объекта исследования черники был обусловлен широким распространением и значительной амплитудой варьирования экологических условий произрастания данного растения, а также ее несомненным значением для медицины [19-20].

Vaccinium myrtillus L — Черника обыкновенная (сем. Vacciniaceae) - кустарничек 15 - 40 (90) см высотой, с гладкими остроребристыми зелеными ветвями.

Листья опадающие, светло-зеленые, осенью краснеющие, тонкие, яйцевидные или эллиптические, тупые или острые, с мягким шипиком, в основании округлые или слабо сердцевидные, 10 - 28 мм длиной, 6 - 18 мм шириной, по краю мелко пильчато-зубчатые, с обеих сторон рассеянно-волосистые, с короткими черешками 1 - 1,5 мм длиной.

Надземный стебель переходит в корневище длиной от 10 - 15 до 30 - 40 см у первых двух-трех поколений парциальных кустов и от 100 до 150 см у более старых куртин. Максимальная известная длина корневища черники 730 см, а диаметр его 6 мм. Корневища залегают на глубине около 4 см от поверхности почвы, от них от-

ходят многочисленные интенсивно ветвящиеся корни диаметром до 1,5 - 2 мм, глубина проникновения которых 5 - 6 см.

Цветки черники одиночные, находятся при основании молодых веточек, поникающие, на коротких цветоножках - 2,5 - 3,5 мм длины. Чашечка с почти цельнокрайним отгибом. Венчик правильный, зеленовато-розовый, кувшинчато-шарообразный, 3 - 4,5 мм длиной с 4 - 5-зубчатым отгибом. Тычинок 8 - 10, прикрепленных вокруг надпестичного диска, тычиночные нити короткие, голые, расширенные к основанию; пыльники двухгнездные, наверху продолженные в 2 рожка, раскрывающиеся двумя дырочками, связник на спинке с двумя щетинками-шпорцами. Завязь нижняя, 4-5-гнездная, с центрально-угловым семяносом и многочисленными семяпочками. Столбик нитевидный с головчатым рыльцем. Плод — ягода, чаще шарообразная, но нередко яйцевидная или эллипсоидная, черная, с сизоватым налетом, 6 - 8 (12) мм в диаметре, на плодоножке длиной 4 - 9,2 мм и 0,5 - 0,6 мм в диаметре.

Молодая куртина черники состоит из системы отдельных надземных кустов, с материнским первичным кустом в центре и несколькими парциальными кустами, окружающими материнский первичный куст, причем все они соединены с первичным кустом удлиненными горизонтальными корневищами. Ежегодно образуется 30 - 70 побегов, достигающих 5-8-летнего возраста, длительность жизни парциального куста возрастает до 15 - 16 лет. В общем онтогенезе черники в лесах Московской обл. плодоношение начинается с 15 - 20-летнего возраста, а парциальных кустов с 4-летнего возраста и продолжается до 12 - 13 лет.

Черника - арктический циркумполярный вид. Ареал ее охватывает Европу, включая Скандинавию, среднюю и Атлантическую Европу, западное Средиземноморье, Балканский п-ов, Восточную Европу и значительную часть Азии

Черника отличается довольно широкой экологической амплитудой. По отношению к увлажнению почвы она довольно мало требовательна, встречаясь как в сы-

рых лесах на окраине болот, так и на сухих осветленных участках, может расти на скалах, на осушенных торфяниках. По шкале Л. Г. Раменского, наибольшего обилия черника достигает при ступенях увлажнения от 66 до 90 (от влажнолугового до болотного). Амплитуда требований к освещенности у черники достаточно велика. Она предпочитает осветленные места, но может расти и в затененных. По шкале Г. Элленберга черника занимает 5 ступень светолюбия, т. е. относится к полутеневым растениям, произрастающим в условиях более 10%, но менее 100% относительной освещенности.

К температурным изменениям черника более чувствительна, чем брусника. Оптимальные для себя условия она находит на участках, где скапливается много снега, но который рано стаивает весной. Черника страдает от весенних и осенних заморозков. В отношении почвенных условий черника — вид мало требовательный; но все же предпочитает более богатые почвы, чем брусника. Наибольшего обилия черника достигает при 2 - 6 ступенях шкалы Л. Г. Раменского. Внесение минеральных удобрений, рыхление почвы и другие агротехнические приемы резко повышают урожайность черники — на 50 - 240%. Обычно черника растет на кислых почвах [19].

Черника широко используется как пищевое, лекарственное и дубильное растение. Плоды черники содержат сахара (6 - 10%), лимонную и яблочную кислоты, витамины С, В₁ и В₂, РР, каротиноиды, пектиновые вещества, эфирное масло, дубильные вещества, арбутин, тритерпеноиды, флавоноиды, а также антоциановые гликозиды, обладающие инсулиноподобным действием. Листья черники содержат дубильные вещества, фенольный гликозид арбутин, тритерпеноиды, а также флавоноиды).

Как лекарственное сырье употребляют плоды и побеги черники. Ягоды применяют как вяжущее противовоспалительное, кровоостанавливающее средство при расстройстве желудочно-кишечного тракта, кроме того, их используют для обострения ночного зрения. Отвар побегов применяют при лечении сахарного диабета.

Черника употребляется для приготовления варенья, сиропов, вин, безвредных растительных красок [20].

Цель настоящей работы – исследование взаимосвязей между морфологическими параметрами листьев черники – длина, ширина, площадь – и накоплением в них различных групп фенольных соединений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На учетных площадках, заложенных в различных фитоценозах, случайным образом срезали 70-100 вегетативных побегов черники прироста текущего года. С 4-5 побегов отделяли все листья, которые фиксировали в полевых условиях в порядке их расположения на побеге на клейкой прозрачной ленте (скотч), закрывали фильтровальной бумагой и закладывали в гербарный пресс. Далее поступали как при сушке обычного гербария. Для измерения морфологических параметров листьев полученный гербарий сканировали (сканер EPSON Perfection 1270, RGB, 24 bit, 150 dpi).

Полученные изображения обрабатывали с помощью программы ImageJ 1.38h и подпрограмм http://www.gcscs.net/IJ/Shape_Descriptor1m.java и http://www.optinav.com/download/Measure_Roi_Curve.java

Определялись следующие параметры и дескрипторы формы:

Area – площадь листа;

Perimeter – периметр листа;

Major axis, Minor axis – большая и малая оси эллипса, описанного вокруг листа;

Ferrets diameter – максимальная длина листа (по прямой);

Curve length (Curve L) – длина листа (по кривизне);

Curve width (Curve W) – ширина листа (по кривизне);

Circularity = Form factor = $(4 \pi \cdot \text{Area}) / (\text{Perimeter})^2$

Шкала измерений – мм (периметр, длина, ширина) или мм² = кв. мм (площадь листа).

Оставшиеся побеги с листьями подвергали естественной сушке в тени, затем листья одергивали. Образцы до анализа хранили в бумажных пакетах. За день-два до проведения анализа листья измельчали на кофемолке до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,5 мм. Определение содержания различных групп фенольных соединений проводили спектрофотометрическим методом [21-24] в следующих модификациях.

Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 70% этанола. Колбу с содержимым соединяли с обратным холодильником и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа, затем охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 50 мл. Вату промывали небольшим количеством 70% этанола и доводили им же до метки.

Количественное определение суммы фенольных соединений. К 0,2 мл полученного извлечения прибавляли 7,7 мл воды очищенной, 0,1 мл реактива Фолина-Чиокальто и 2 мл 10% раствора карбоната натрия, все тщательно перемешивали и выдерживали в темном месте. Через 15 минут измеряли оптическую плотность полученного раствора на фотометре КФК-3 при длине волны 720 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служила вода очищенная.

Содержание суммы фенольных соединений в процентах (X) в пересчете на галловую кислоту в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{V_3 \cdot m \cdot (100 - W) \cdot E_{1\text{cm}}^{1\%}}$$

D – оптическая плотность исследуемого раствора;

V₁ – объем экстракта, мл (50 мл);

V₂ – объем раствора для спектрофотометрирования, мл (10 мл);

V₃ – объем экстракта, взятый для определения, мл (0.2 мл);

E_{1cm}^{1%} – удельный показатель поглощения галловой кислоты в комплексе с реактивом

Фолина-Чиокальто при длине волны 720 нм, равный 90;

m – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Количественное определение суммы флавоноидов. К 0,1 мл полученного извлечения прибавляли 5 мл 0,05 М раствора алюминия хлорида в этаноле. Оптическую плотность полученного раствора измеряли на фотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 0,05 М раствор алюминия хлорида в этаноле.

Содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на гликозиды кверцетина в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{V_3 \cdot m \cdot (100 - W) \cdot E_{1\text{см}}^{1\%}}$$

D – оптическая плотность исследуемого раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения гликозидов кверцетина в комплексе с алюминия хлоридом в этаноле при длине волны 410 нм, равный 330;

V_1 – объем экстракта, мл (50 мл);

V_2 – объем раствора для спектрофотометрирования, мл (5,1 мл);

V_3 – объем экстракта, взятый для определения, мл (0,1 мл);

m – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Количественное определение суммы процианидинов. К 0,1 мл полученного извлечения прибавляли 0,1 мл железного реактива (4,1 мл концентрированной хлороводородной кислоты довести до 25 мл водой и прибавить 0,5 г железоммонийных квасцов) и 2,8 мл 5% раствора хлороводородной кислоты в *n*-бутаноле. Флакон с полученным раствором закрывали пробкой и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа. После охлаждения измеряли оптическую плотность при длине волны 550 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора

сравнения такой же раствор без нагревания. Расчет содержания суммы процианидинов проводили по формуле:

$$X = \frac{D \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{V_3 \cdot m \cdot (100 - W) \cdot E_{1\text{см}}^{1\%}}$$

D – оптическая плотность исследуемого раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения цианидин-хлорида, равный 136;

V_1 – объем экстракта, мл (50 мл);

V_2 – объем раствора для спектрофотометрирования, мл (3 мл);

V_3 – объем экстракта, взятый для определения, мл (0,1 мл);

m – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Количественное определение суммы катехинов. К 1 мл полученного извлечения прибавляли 5 мл 1% раствора ванилина в концентрированной хлороводородной кислоте. Интенсивность образовавшейся красной окраски измеряли при длине волны 500 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду. Расчет содержания катехинов в пересчете на *l*-эпикатехин и *d*, *l*-катехин производили по формуле:

$$X = \frac{D \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{V_3 \cdot m \cdot (100 - W) \cdot E_{1\text{см}}^{1\%}}$$

D – оптическая плотность исследуемого раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения *l*-эпикатехина, равный 111;

V_1 – объем экстракта, мл (50 мл);

V_2 – объем раствора для спектрофотометрирования, мл (6 мл);

V_3 – объем экстракта, взятый для определения, мл (1 мл);

m – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Количественное определение суммы антоцианов. К 1 мл полученного извлечения прибавляли 1 мл 0,5 н соляной кислоты в 80% этаноле и 1 мл 3 н соляной кислоты в этаноле. Изменяли оптическую плотность полученного раствора на фотоколориметре при длине волны 550 нм в

кювете с толщиной слоя 5 мм, используя в качестве раствора сравнения воду очищенную (D₁). Затем добавляли 0,1 мл пергидроля и через 15 минут стояния в темном месте снова измеряли оптическую плотность раствора в тех же условиях (D₂). Расчет содержания суммы антоцианов проводили по формуле:

$$X = \frac{(D_1 - 1.033 \cdot D_2) \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{V_3 \cdot m \cdot (100 - W) \cdot E_{1\text{cm}}^{1\%}}$$

D – оптическая плотность исследуемого раствора;

E^{1%}_{1cm} – удельный показатель поглощения цианидин-хлорида, равный 136;

V₁ – объем экстракта, мл (50 мл);

V₂ – объем раствора для спектрофотометрирования, мл (3 мл);

V₃ – объем экстракта, взятый для определения, мл (1 мл);

m – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Статистическую обработку данных проводили методами корреляционного и регрессионного анализа с использованием пакетов программ Matlab 7 и Excel 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Были проведены измерения 337 листьев 35 побегов из 7 ценопопуляций черники, произрастающей в различных экологических условиях (сосняки, пустошь, гарь, верховое и низинное болота).

Как можно видеть из представленных в табл. 1 данных, для всех исследованных морфологических показателей листьев черники характерна нормальная степень варьирования (5-44%) [25], хотя абсолютные значения значительно превышают таковые, приведенные в литературе [19].

Таблица 1

Изменчивость морфологических параметров листьев (n = 337) черники исследованных ценопопуляций (m = 7)

	Area	Perim	Major	Minor	Circ	Feret	Curve L	Curve W
Max	641,06	103,82	34,32	24,15	0,82	38,27	40,28	25,02
Min	22,23	20,05	7,02	4,03	0,39	7,95	9,03	4,07
Mean	264,3	67,37	22,81	14,05	0,70	25,62	27,81	14,25
Std	111,17	15,25	5,3	3,39	0,05	5,79	5,88	3,46
CV	42,06	22,63	23,25	24,12	7,44	22,59	21,14	24,28

Обозначения: Max – максимум, Min – минимум, Mean – средняя арифметическая, Std – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации.

Проведенный корреляционный анализ матрицы данных (табл. 2) выявил высокодостоверные (выделены жирным

шрифтом) зависимости между определяемыми параметрами листьев черники (площадью, периметром, длиной и шириной).

Таблица 2

Корреляционная матрица морфологических параметров листьев черники (n = 337)

Параметр	Area	Perim	Major	Minor	Circ	Feret	Curve L	Curve W
<i>Area</i>	1							
<i>Perim</i>	0,97	1						
<i>Major</i>	0,95	0,98	1					
<i>Minor</i>	0,96	0,94	0,89	1				
<i>Circ</i>	0,20	0,03	0,05	0,31	1			
<i>Feret</i>	0,94	0,98	0,99	0,88	-0,01	1		
<i>Curve L</i>	0,93	0,99	0,99	0,88	-0,05	1,00	1	
<i>Curve W</i>	0,97	0,94	0,90	1,00	0,30	0,89	0,89	1

Это позволило, с одной стороны, предложить регрессионные уравнения для расчета таких параметров листьев, как площадь и периметр с довольно высокой точностью на основании измерений их длины и ширины (табл.2), а с другой, при

изучении взаимосвязей между морфологическими параметрами листьев и содержанием в них различных групп фенольных соединений ограничиться исследованием одного параметра – площади листа.

Area = - 226,97 + 17,668 Curve L
 Area = -177,753 + 31,014 Curve W
 Area = -221,733 + 6,921 Curve L + 20,598 Curve W
 Perim = -3,737 + 2,557 Curve L
 Perim = 8,298 + 4,145 Curve W
 Perim = -3,386 + 1,839 Curve L + 1,377 Curve W
 Area = -198,464 + 18,061 Feret
 Perim = 1,198 + 2,583 Feret

$R^2 = 0,87$
 $R^2 = 0,93$
 $R^2 = 0,96$
 $R^2 = 0,97$
 $R^2 = 0,89$
 $R^2 = 0,99$
 $R^2 = 0,88$
 $R^2 = 0,96$

Как можно видеть из рис. 1, наибольших размеров листья достигают в центральной части побега, несколько ближе к основанию, а затем их размеры

уменьшаются как по направлению к верхушке, так и основанию. Подобный характер изменчивости размеров листьев вдоль побега прослеживается для брусники [26].



Рис. 1. Изменчивость размеров и формы листьев черники на побеге прироста текущего года от основания к верхушке (справа налево).

Это также хорошо видно на рис. 2, на котором представлена изменчивость средней площади листьев вдоль побега от основания к верхушке в одной из исследованных ценопопуляций черники. Однако в отличие от брусники [26], у которой вариабельность морфологических параметров листьев в пределах ценопопуляции снижается по направлению к середине побега, для листьев черники стандартное отклонение на всем протяжении побега существенным образом не изменяется.

Сила и характер влияния экологических факторов на исследованные морфологические параметры листьев черники может зависеть от их расположения на побеге. Для исследования такой возможности был применен дисперсионный анализ. Силу влияния экологических факторов (μ) определяли по формуле:

$$\mu = 1 - (D_z / D_y) \cdot ((N-1) / (N-a))$$

D_z = дисперсия, вызванная случайными факторами (остаточная) для i -го листа от основания побега;

D_y = дисперсия общая;

N = общее количество исследованных побегов - 35;

a = общее количество исследованных ценопопуляций - 7.

Полученные результаты математико-статистического анализа, представленные графически на рис. 3, показывают, что в наибольшей степени подвержены влиянию экологических факторов морфологические параметры листьев, расположенные ближе к основанию побега (в нашем случае 3-5 листья от основания побега). В связи с этим, указанные листья являются наиболее пригодными для отбора в качестве образцов как для морфологического, так и последующего химического анализов с целью установления связей между морфологическими параметрами листьев и их химическим составом.

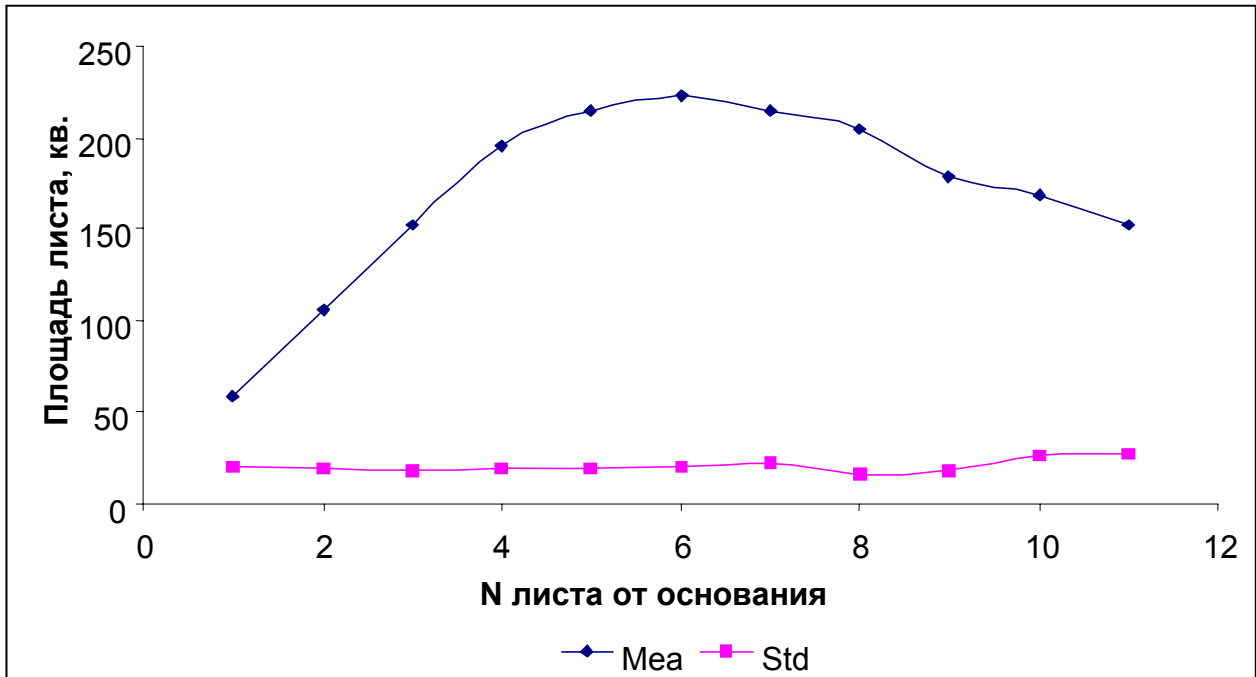


Рис. 2. Зависимость площади листа черники от места расположения на побеге прироста текущего года.

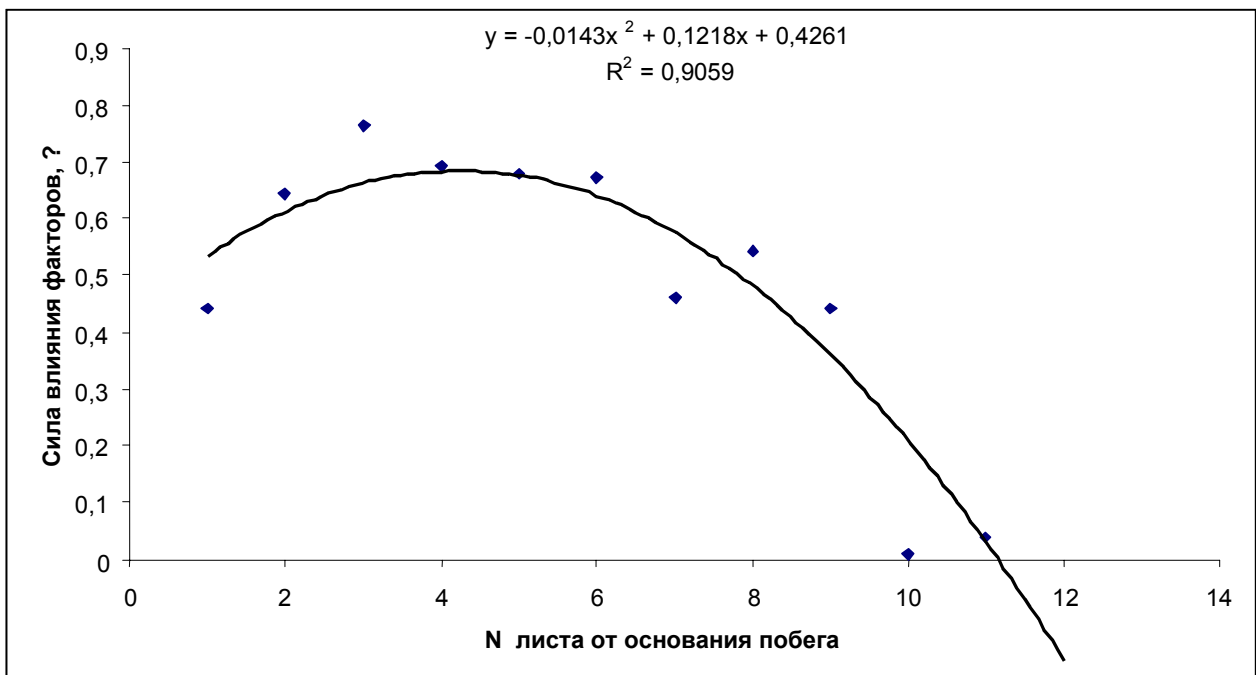


Рис. 3. Зависимость силы влияния экологических факторов на площадь листьев черники в зависимости от их расположения на побеге.

Результаты регрессионного анализа данных морфологических параметров (средней площади) листьев черники и содержанием в них суммы фенольных со-

единений, флавоноидов, процианидинов, катехинов и антоцианов могут быть представлены аналитически (в виде уравнений) и графически.

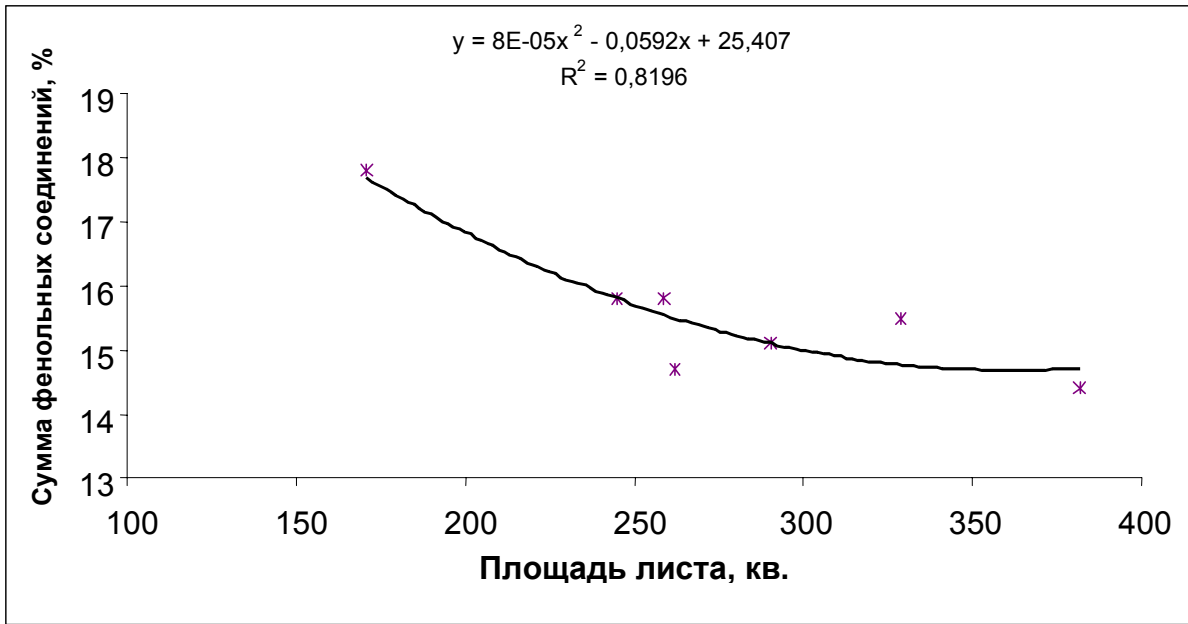


Рис 4. Взаимосвязь площади листьев черники с накоплением в них суммы фенольных соединений.

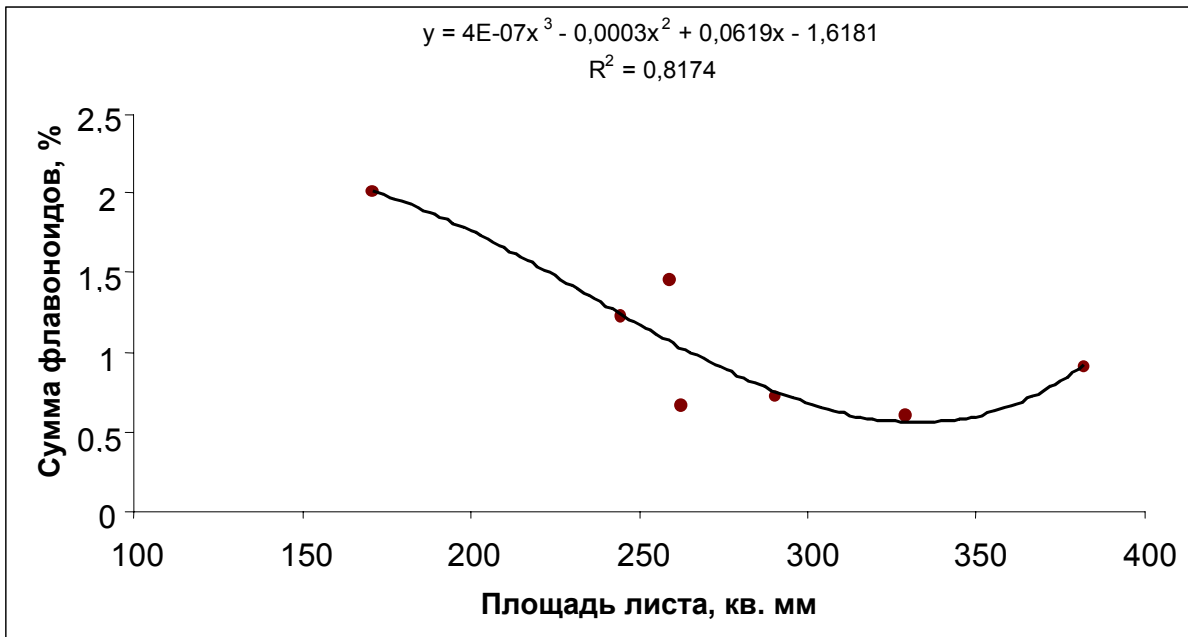


Рис. 5. Взаимосвязь площади листьев черники с накоплением в них суммы флавоноидов.

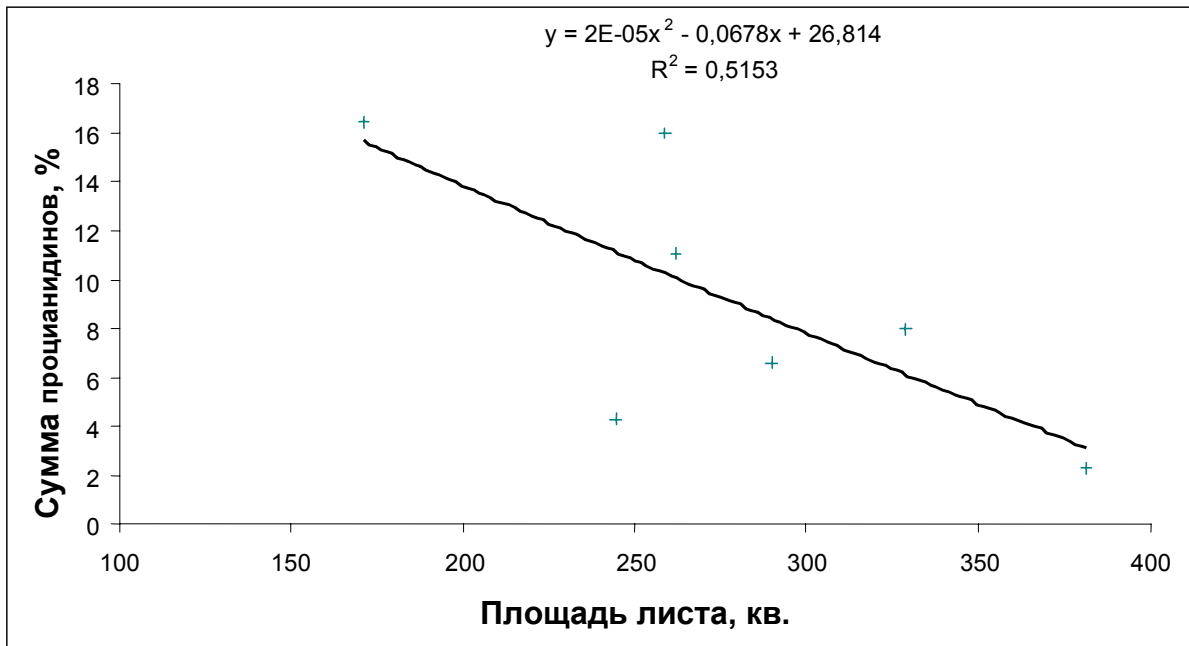


Рис. 6. Взаимосвязь площади листьев черники с накоплением в них процианидинов.

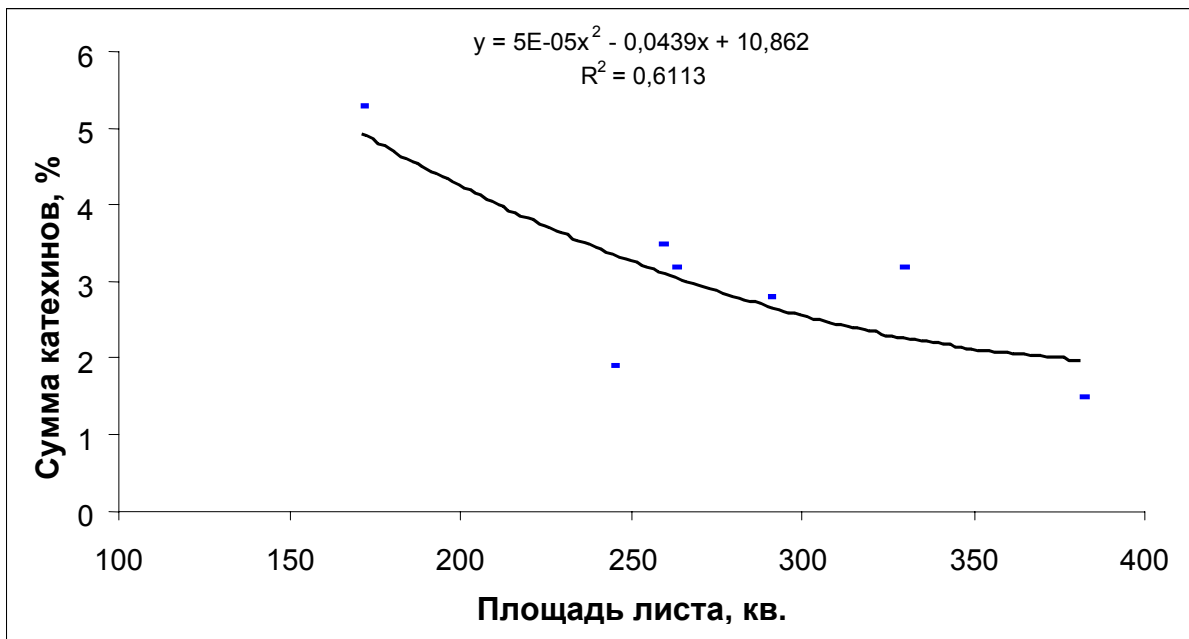


Рис. 7. Взаимосвязь площади листьев черники с накоплением в них катехинов.

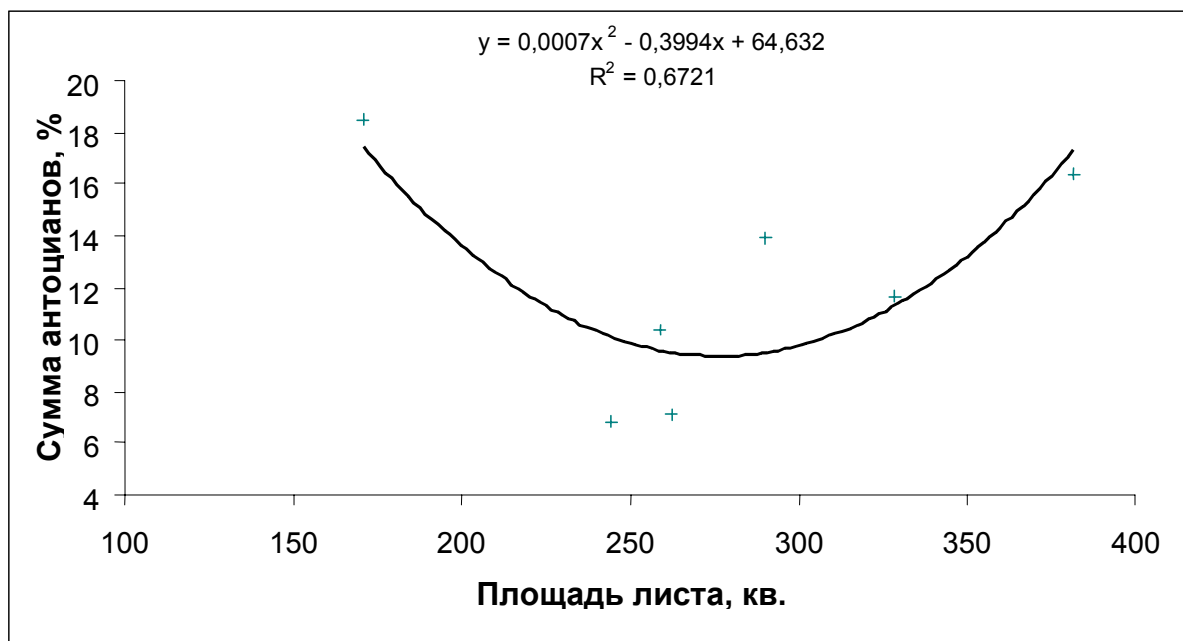


Рис. 8. Взаимосвязь площади листьев черники с накоплением в них антоцианов.

Из представленных на рис. 4 данных видно, что содержание суммы фенольных соединений снижается по мере увеличения средних размеров листьев исследованных ценопопуляций черники, однако эта зависимость имеет нелинейный характер.

Содержание суммы флавоноидов (рис. 5) также снижается по мере увеличения средних размеров листьев черники, достигает минимума, затем снова увеличивается. Как и в случае с суммой фенольных соединений, зависимость имеет нелинейный характер.

Зависимость между площадью листьев черники и содержанием в них процианидинов (рис. 6) оказалась близкой к обратно-пропорциональной: чем меньше размеры листьев, тем больше в них процианидинов.

Содержание катехинов в листьях черники в зависимости от их размеров (рис. 7) в целом подчиняется той же закономерности, которая обнаружена нами для суммы фенольных соединений (рис. 4).

Зависимость накопления антоцианов от величины листьев черники отличается от всех установленных выше тем, что имеется ярко выраженный минимум накопления, соответствующий средним размерам листьев (рис. 8). В условиях, при которых формируются как самые маленькие, так и наиболее крупные листья последние

отличаются резко повышенным содержанием антоцианов.

В целом, графики зависимости содержания фенольных соединений от площади листьев во многом сходны. Во-первых, большинство из этих зависимостей имеет нелинейный характер. Во-вторых, наблюдается общая тенденция к снижению содержания фенольных соединений по мере увеличения размеров листьев черники, т.е. чем меньше средние размеры листьев, тем больше в них накапливается флавоноидов, катехинов, процианидинов и всей суммы фенольных соединений в целом.

ВЫВОДЫ

1. Впервые обнаружена достоверная взаимосвязь между линейными размерами листьев черники и накоплением в них основных групп фенольных соединений.

2. Зависимость содержания различных групп фенольных соединений от средней площади листьев исследованных ценопопуляций черники имеет как линейный, так и нелинейный характер с общей тенденцией максимального накопления указанных соединений в условиях произрастания способствующих формированию мелких листьев.

SUMMARY

G.N.Buzuk, N.A.Kuzmicheva, A.V.Rudenko
MORPHOMETRY OF MEDICINAL
PLANTS. 1. VACCINIUM MYRTILLUS L.:
INTERRELATION OF MORPHOLOGICAL
CHARACTERISTICS AND CHEMICAL
COMPOSITION

The authentic interrelation between the linear sizes of bilberry leaves and accumulation of phenolic compounds is found out for the first time.

Dependences of the contents of various groups of phenolic compounds on the area of leaves have both linear, and nonlinear character with the general tendency of the maximal accumulation of the specified compounds in the conditions of growth promoting formation of small leaves on the size.

ЛИТЕРАТУРА

1. Menadue, Y. Leaf polymorphism in *Ranunculus nanus* Hook (*Ranunculaceae*) / Y. Menadue, R.K. Crowden // *New Phytol.* – 1990. – Vol. 114, N 2. – P. 265-274.

2. Neuffer, B. Leaf morphology in *Capsella* (*Cruciferae*): dependency on environments and biological parameters / B. Neuffer // *Beitr. Biol. Pflanz.* – 1989. – Bd. 64, N 1. – S. 39-54.

3. Jensen, R.J. Detecting shape variation on oak leaf morphology: a comparison of rotational-fit methods / R.J. Jensen // *Amer. J. Bot.* – 1990. – Vol. 77, N 10. – P. 1279-1293.

4. Bentson, G.M. Size structure of populations within populations: leaf number and size in crowded and uncrowded *Impatiens pallida* individuals / G.M. Bentson, J. Weiner // *Oecologia.* – 1991. – Vol. 85, N 3. – P. 327-331.

5. Kuiper, P.J.C. Analysis of phenotypic responses of plant to changes in the environment in terms of stress and adaptation / P.J.C. Kuiper // *Acad. Bot. neerl.* – 1990. – Vol. 39, N 3. – P. 217-227.

6. Lotz, L.A.P. Within-population variability in morphology and life history of *Plantago major* L. ssp. *pleiosperma* Pilger in relation to environmental heterogeneity / L.A.P. Lotz, H. Olf, P.H. Tienderen // *Oecologia.* – 1990. – Vol. 84, N 3. – P. 404-410.

7. Гамалей, Ю.В. Сравнительная анатомия растений в качестве метода оценки изме-

нений среды обитания / Ю.В. Гамалей, Ц. Шифэвдамба // *Методологические вопросы оценки состояния природной среды МНР.* – Пущино, 1990. – С. 56-57.

8. Житков, В.С. Значение динамики размеров особей *Anemone fasciculate* для идентификации местообитаний / В.С. Житков // *Организация форм охраны объектов природно-заповедного фонда.* – М., 1989. – С. 162-167.

9. Пельтек, Л.А. Анализ продукционного процесса брусники в естественных условиях произрастания / Л.А. Пельтек, О.П. Черненко // *Многоцелевое лесопользование.* – М., 1992. – С.99-104.

10. Валетов, В.В. Биометрические показатели листьев ольхи черной, произрастающей в различных по увлажнению местообитаниях / В.В. Валетов // *Ботаника.* – Минск: Наука и техника, 1984. – С.63-64.

11. Липская, Г.А. Морфологические изменения растений при оптимизации плодородия дерново-подзолистой почвы путем торфования и землевания / Г.А. Липская, Н.П. Иванов, Н.К. Чертко // *Ботаника.* – Минск: Наука и техника, 1984. – Вып. 26. – С.67-68.

12. Крылова, И.Л. Влияние экологических факторов на содержание действующих веществ в листьях брусники / И.Л. Крылова, Я.С. Трембля // *Хим.-фарм. журнал.* – 1976. - № 6. – С. 73-76.

13. Гозин, А. А. Динамика накопления дубильных веществ в вегетативных органах брусники в зависимости от почвенно-грунтовых условий / А. А. Гозин // *Ботаника.* – Минск: Наука и техника, 1971. - Вып. 13. - С. 205-208.

14. Бузук, Г.Н. О влиянии микроэлементов на биосинтез алкалоидов / Г.Н. Бузук // *Растительные ресурсы.* - 1986. – Т. 22, N 2. - С. 272-279.

15. Bennet, B.C. Geographic variation in alkaloids content of *Sanquinaria Canadensis* (*Papaveraceae*) / B.C. Bennet., C.R. Bell., R.T. Baulware // *Phodora.* – 1990. – Vol. 92, N 870. – P.57-69.

16. Гозин, А.А. Влияние экологических факторов на накопление биологически активных веществ в бруснике / Гозин А.А. // *Экология.* – 1972. – N 1. – С.45 – 47.

17. Крылова, И.Л. Влияние географического и экологических факторов на анатомо-морфологические признаки листьев багульника болотного и связь этих признаков с химическим составом листьев / И.Л. Крылова, Л.И. Прокошева // Растительные ресурсы. – 1980. – Т. 14, Вып. 4. – С.502.

18. Кузьмичева, Н.А. Корреляционные связи между морфологическими показателями и содержанием флавоноидов в листьях ивы остролистной и ивы трехтычинковой / Н.А. Кузьмичева // 40 лет фармацевтическому факультету. Сборник научных трудов, Витебск, 1999. - С. 115-126.

19. Баландина, Т.П. Черника обыкновенная / Т.П. Баландина, М.Г. Вахрамеева // Биол. флора Моск. обл. М.: Изд-во МГУ, 1980. - Вып.5. - С.132-146.

20. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Раеопiасеае-Thymelaeасеае./ Отв. ред. П.Д.Соколов.- Л.: Наука, 1985.- С.155-156.

21. Биохимические методы анализа растений. Под ред. М.Н. Запрометова. - Москва: Издательство иностранной литературы, 1960.-592 с.

22. Запрометов, М.И Фенольные соединения и методы их исследования / М.И. Запрометов // Биохимические методы в физиологии растений. - М.: Наука, 1971. – С.185-208.

23. Методы биохимического исследования растений / А.И.Ермаков, [и др.]; под ред. А.И.Ермакова. – 3-е изд. – Л.: Агропромиздат. Ленинградское отделение, 1987. – 430 с.

24. Porter, L.J. The conversion of proanthocyanidins and prodelfinidins to cyanidin and delphinidin / L.J. Porter, L.N. Hrstich, B.G., Chan // Phytochemistry.- 1986, Vol.25. – P. 223-230.

25. Зайцев, Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1990. – 296 с.

26. Бузук, Г.Н. Морфометрия лекарственных растений. 1. *Vaccinium vitis-idaea* L. Изменчивость формы и размеров листьев / Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2006. - № 2. – С.21-33.

О.В. Усовик, Н.С. Гурина

СТАНДАРТИЗАЦИЯ МИКСТ-АЛЛЕРГЕНА ИЗ ПЫЛЬЦЫ ЗЛАКОВ

Витебский государственный медицинский университет

Разработан микст-аллерген из пыльцы злаков и обоснован его состав. Путем фармакогностического анализа установлены критерии подлинности и доброкачественности пыльцы, входящей в состав микст-аллергена, необходимые для организации последующего промышленного производства: определены показатели влажности, зольности, макро- и микроскопические параметры пыльцы, содержание белкового азота. Установлено, что в микст-аллергене может присутствовать не более 28 % морфологически измененных пыльцевых зерен от общего количества пыльцы; показатель влажности должен быть не более 4%; содержание золы общей не должно быть более 4%, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – не более 0,3%; содержание белкового азота должно быть не менее 23 641 PNU.

Проведено определение аллергенной активности in vitro региональных пыльцевых аллергенов по сравнению с аналогичным аллергенами производства АО «Аллерген» г. Ставрополь с помощью реакции выброса ионов калия.

ВВЕДЕНИЕ

Широкая распространенность аллергических заболеваний (АЗ) превратили проблему аллергии в глобальную медико-социальную проблему. По данным ВОЗ, в настоящее время около 5% взрослого населения планеты и 15% детского страдают АЗ [1].

По данным эпидемиологических исследований, проведенных в Государственном Научном Центре - Институте иммунологии (Россия), в различных регионах России распространенность АЗ колеблется от 15 до 35% [2,3].