

Аспекты анатомического строения лядвенца рогатого

О.Н. Шплис, Н.Э. Коломиец, Н.Ю. Абрамец, Н. В. Исайкина, Р.А. Бондарчук

Сибирский государственный медицинский университет;
Российская Федерация, 634004, Томск, ул. Московский тракт, д. 2

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шплис Ольга Николаевна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ). Тел.: +7 (960) 973-20-38. E-mail: olyazmeewa@yandex.ru

Коломиец Наталья Эдуардовна – профессор кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ, доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (3822)-90-11-01 (вн. 1805). E-mail: borkol47@mail.ru. ORCID:0000-0003-0520-921X

Абрамец Наталья Юрьевна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ. Тел.: +7 (3822)-90-11-01 (вн. 1805). E-mail: abrameznu@mail.ru. ORCID:0000-0002-6017-2133

Исайкина Надежда Валентиновна – доцент кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ, кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (3822)-90-11-01 (вн. 1805). E-mail: isaikina74@mail.ru. ORCID:0000-0002-9383-0788

Бондарчук Руслан Анатольевич – кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (3822)-90-11-01 (вн. 1805). E-mail: bondarchuk686@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Лядвенец рогатый (*Lotus corniculatus* L.) широко используется в практике озеленения. Также он применяется как кормовое растение в сельском хозяйстве. Трава лядвенца является перспективным растительным сырьем, так как содержит богатый набор биологически активных веществ и обладает разнообразным спектром фармакологической активности.

Цель исследования – выявление диагностических микроскопических (анатомических) признаков культивируемого лядвенца рогатого.

Материал и методы. Объекты исследования – образцы лядвенца рогатого сорта «Солнышко», культивируемого в условиях подтаежной зоны Западной Сибири, собранные в фазу цветения в августе 2017 г. Изучение анатомического строения проводили в соответствии с методиками Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ).

Результаты. Выявлены специфические признаки анатомического строения травы лядвенца рогатого. Впервые на листьях растения обнаружены булавовидные железистые волоски.

Заключение. Выявленные микроскопические признаки могут быть включены в нормативную документацию и использоваться для диагностики сырья «Лядвенца рогатого трава».

Ключевые слова: лядвенец рогатый, *Lotus corniculatus* L., микроскопический анализ, диагностические признаки.

Для цитирования: Шплис О.Н., Коломиец Н.Э., Абрамец Н.Ю., Исайкина Н.В., Бондарчук Р.А. Аспекты анатомического строения лядвенца рогатого. Фармация, 2020; 69 (1): 23–27. <https://doi.org/10/29296/25419218-2020-01-04>

ASPECTS OF THE ANATOMICAL STRUCTURE OF BIRDSFOOT TREFOIL (*LOTUS CORNICULATUS*)

O.N. Shplis, N.E. Kolomiets, N.Yu. Abramets, N.V. Isaikina, R.A. Bondarchuk

Siberian State Medical University, 2, Moskovsky Road, Tomsk 634004, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Shplis Olga Nikolaevna – Senior Lecturer at the Department of Pharmacognosy with Botany and Ecology courses at the Siberian State Medical University (SibSMU). Tel.: +7 (960) 973-20-38. E-mail: olyazmeewa@yandex.ru

Kolomiets Natalia Eduardovna – Professor of the Department of Pharmacognosy with Botany and Ecology Courses at the SibSMU, Doctor of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (3822)-90-11-01 (1805). E-mail: borkol47@mail.ru. ORCID:0000-0003-0520-921X

Abramets Natalya Yuryevna – Senior Lecturer at the Department of Pharmacognosy with Botany and Ecology courses at the SibSMU. Tel.: +7 (3822)-90-11-01 (1805). E-mail: abrameznu@mail.ru. ORCID:0000-0002-6017-2133

Isaikina Nadezhda Valentinovna – Associate Professor of the Department of Pharmacognosy with Botany and Ecology Courses at the SibSMU, Phd. Tel.: +7 (3822)-90-11-01 (1805). E-mail: isaikina74@mail.ru. ORCID:0000-0002-9383-0788

Bondarchuk Ruslan Anatolyevich – Phd. Tel.: +7 (3822)-90-11-01 (1805). E-mail: bondarchuk686@mail.ru

SUMMARY

Introduction. Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) is widely used in landscape gardening practice. It is also applied as a fodder plant in agriculture. As shown earlier, birdsfoot trefoil herb is a promising plant raw material, as it is rich in biologically active substances and has a diverse spectrum of pharmacological activity.

Objective: to identify the diagnostic microscopic (anatomical) signs of cultivated birdsfoot trefoil.

Material and methods. The investigation objects were samples of birdsfoot trefoil, Solnyshko (Sun) variety, cultivated in the subtaiga zone of Western Siberia, which were collected during the flowering phase in August 2017. The anatomical structure was examined in accordance with the procedures described in the Russian Federation State Pharmacopoeia (RF SP).

Results. The specific signs of the anatomical structure of birdsfoot trefoil herb were identified. The plant leaves were first found to have clavate glandular hairs.

Conclusion. The identified microscopic signs can be included in the regulatory documentation and used to diagnose birdsfoot trefoil herb raw material.

Key words: birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.), microscopic analysis, diagnostic signs.

For citation: Shplis O.N., Kolomiets N.E., Abramets N.Yu., Isaikina N.V., Bondarchuk R.A. Aspects of the anatomical structure of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*). Farmatsiya (Pharmacy), 2020; 69 (1): 23–27. <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-01-04>

Введение

Род лядвенец (*Lotus* L.) семейства бобовых (*Fabaceae*) включает, по разным источникам, от 70 до 150 видов травянистых растений, широко распространенных в мире. На территории Российской Федерации произрастает только 4 вида, хотя еще по состоянию на 1994 г. в Сибири было описано 6 видов [1–3]. Лядвенцы обладают высокой экологической пластичностью, адаптированы к широкому спектру мест обитания, от водно-прибрежных зон до больших высот [4–6]. Для большинства видов рода характерно наличие тройчатых листьев, соцветий в виде зонтиков, ярко-желтых, иногда – оранжевых или красных цветков, располагающихся на верхушках в пазухах верхних листьев, чашечки с 5 зубцами, свободно лепестного венчика, резко согнутой вверх лодочки, и 3 или 4 прямых, сильно расходящихся стручков, в которых развиваются семена.

Самый известный как в России, так и за рубежом вид рода – лядвенец рогатый (*Lotus corniculatus* L.). Это многолетнее травянистое растение, которое широко используют в практике озеленения парков, садов, полей, крутых склонов. Лядвенец рогатый введен в культуру отдельных регионов Европейской части России и некоторых сопредельных государств (Украина, Белоруссия, Казахстан и др.) как ценное пищевое высокобелковое растение для кормления сельскохозяйственных животных, устранения «усталости почв» после их длительного использования под посадки одних и тех же видов сельскохозяйственных культур [2, 3, 7, 8]. В Томской области увеличивается количество хозяйств и площадей, отводимых под выращивание данной культуры, с целью реализации сырья в коммерческих целях, производства кормов, комбикормов для животных, получения экстрактов.

Как было показано ранее, лядвенец – вид с широким спектром фармакологической активности, перспективный для фитохимического, фармако-

логического исследования, а также для создания на его основе биологически активных веществ, лекарственных средств (ЛС), биологически активных добавок, кормов для животных, парафармацевтической и другой продукции [6]. Создание ЛС и другой продукции на основе растительного сырья сопровождается разработкой нормативной документации (фармакопейных статей, технических условий и т.п.), в которых должны содержаться требования к качеству. В разных видах нормативной документации должен содержаться такой важный раздел, где приводятся характеристики сырья, подтверждающие его подлинность по характерным диагностическим признакам.

На сегодняшний день исследования микроскопического (анатомического) строения культивируемых и дикорастущих видов лядвенца единичны, причем посвящены они видам, произрастающим в Японии, Украине, Бразилии [9, 10].

Цель настоящего исследования – выявление характерных микроскопических (анатомических) диагностических признаков травы лядвенца рогатого, культивируемого в Западной Сибири.

Материал и методы

Объекты исследования – образцы лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.), сорт «Солнышко», культивируемого в условиях подтаежной зоны Западной Сибири (Томская область, Лучановское опытное поле Богашевского отделения Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа), собранные в период массового цветения в июле, августе 2017 г.

Изучалось анатомическое строение стеблей, листьев, черешков листьев и цветков лядвенца. Черешки листьев и стебли фиксировали в 70% этиловом спирте. Анатомическую структуру изучали на поперечных срезах от каждой части стебля (нижней, средней, верхней). Анатомическое строение листьев изучали на средней и терминальной части листа. Все образцы исследо-

вали в 5-кратной повторности. Приготовление и просветление препаратов проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ XIV издания (ГФ РФ XIV) [11]. Полученные препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа Carl Zeiss (увеличения 7×1,5×4,5; 7×1,5×8; 7×1,5×20; 7×1,5×40) и цифрового фотоаппарата «Olympus Camedia» digital compact camera C-4000 zoom.

В работе были использованы стандартные микрохимические реакции на присутствие некоторых групп биологически активных веществ: антоцианов – с 10% раствором гидроксида натрия; флюбафенов – с железа (III) хлоридом.

Результаты и обсуждение

При рассматривании плоскостных препаратов листа лядвенца с поверхности видно, что эпидермальные клетки адаксиальной стороны зигзагообразные с характерными утолщениями на углах; клетки абаксиальной стороны угловатые. Выявлены листья амфистоматические, устьичный аппарат 2 типов: аномоцитный и анизоцитный (рис. 1). Это не совпадает с данными других исследователей, которые отмечали наличие или только аномоцитного, или анизоцитного типа устьичного аппарата [9–10].

В эпидермисе листьев обнаруживаются клетки-идиобласты, располагающиеся слоем под эпидермисом и содержащие флюбафены (рис. 2), образующие с железом (III) хлоридом характерную качественную реакцию (черно-синее окрашивание), секреторные ходы с оранжево-коричневым содержимым. По жилкам листа расположена многорядная кристаллоносная обкладка, наличие которой в лядвенце рогатом установлено впер-

вые (см. рис. 1). Слой клеток по краю некоторых листьев содержит антоцианы, которые дают характерную качественную реакцию на эту группу биологически активных веществ с раствором натрия гидроксида (содержимое окрашивается в вишнево-красный цвет).

Эпидерма листа имеет сосочковидные выросты, а верхушки некоторых листьев оканчиваются простыми одноклеточными волосками. На поверхности листьев, стеблей и чашечке отмечены простые прижатые одно- или двухклеточные волоски с толстыми стенками, гладкой или слабобородавчатой поверхностью (см. рис. 1). Впервые на обеих сторонах и по краю листовой

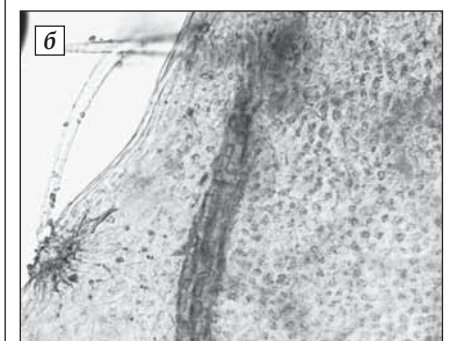
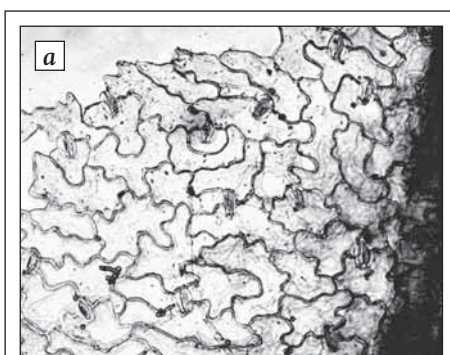


Рис. 1. Лист лядвенца рогатого; а – фрагмент эпидермиса адаксиальной стороны листа с аномоцитным и анизоцитными типами устьичного аппарата (ув. 420×); б – простой прижатый волосок со слабо бородавчатой поверхностью, кристаллоносная обкладка по жилке (ув. 300×)

Fig. 1. Birdsfoot trefoil leaf. а – fragment of the epidermis of the adaxial side of the leaf with anomocytic and anisocytic types of the stomatal apparatus (×420); б – a simple adpressed hair with a slightly warty surface; crystal-bearing lining along the vein (×300)

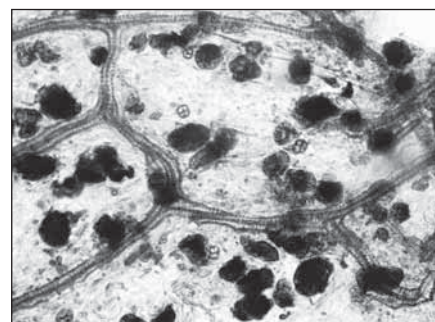


Рис. 2. Лист лядвенца рогатого. Булавовидный железистый волосок с одноклеточной ножкой и многоклеточной головкой и клетками-идиобластами (вид сверху) (ув. 600×)
Fig. 2. Birdsfoot trefoil leaf. Clavate glandular hair with a unicellular pedicel and a pluricellular head and idioblast cells (view from above) (×600)



Рис. 3. Лист лядвенца рогатого. Фрагмент эпидермиса с булавовидными железистыми волосками с одноклеточной ножкой и многоклеточной головкой (вид сбоку) (ув. 150×)
Fig. 3. Birdsfoot trefoil leaf. Fragment of the epidermis with clavate glandular hairs with a unicellular pedicel and a pluricellular head (side view) (×150)

пластинки обнаружены (ранее не описанные в литературе) булавовидные железистые волоски с одноклеточной ножкой и многоклеточной головкой (см. рис. 2, 3).

Поперечные срезы черешка листьев лядвенца рогатого имеют специфический крылатый рисунок, при этом в каждом крыле имеется один сосудистый пучок. Центральная часть черешка образована паренхимными клетками. Покровная ткань представлена клетками эпидермиса, покрытыми тонким слоем кутикулы, располагающимся в 1 слой. Сосудистые пучки имеют меньше ксилемы, чем флоэмы. Ксилема в пучках обращена к центру, а флоэма – к поверхности черешка. В поперечных срезах обнаруживаются клетки-идиобласты и друзы.

Клетки эпидермиса цветков лядвенца рогатого прямостенные, вытянутые вдоль оси, и так же, как клетки эпидермиса листьев, они имеют выросты сосочковидной формы. В эпидермисе стебля и чашечки встречаются кристаллы оксалата кальция в виде друз.

При изучении цветоносных побегов лядвенца рогатого в стереомикроскоп видно, что стебель рассеянно опушенный, почти голый в верхней части, сильно опушенный в средней и нижней частях. На поперечном срезе стебля отмечено наличие покровной ткани, представленной овальными клетками эпидермиса, с утолщениями в местах их соединения. Характерной особенностью является узкая 3-, 5-слойная хлорофиллоносная первичная кора с внутренним слоем эндодермиса, содержащая крахмальные зерна. Сосудистые пучки открытые коллатеральные, сосудистый камбий развивает преимущественно вторичную ксилему. Флоэма состоит из групп толстостенных первичных и вторичных волокон, паренхимных клеток. В первичной коре присутствуют клетки-идиобласты, содержащие флобафены, располагающиеся тяжами вокруг проводящих тканей. При окрашивании серноокислым анилином склеренхима и склерифицированная паренхима окрашиваются в желтый цвет. Следует отметить, что поперечные срезы различных частей стебля (нижняя, средняя, верхняя) имеют некоторые отличия, что связано с особенностями морфогенеза побегов и выполнения ими различных функциональных нагрузок в каждой из этих 3 зон.

На поперечных срезах верхних междоузлий имеется от 10 до 13 основных сосудистых пучков, иногда могут присутствовать дополнительные пучки. Ширина лучей в пучках коррелиру-

ет с их количеством. Для верхних междоузлий характерны более узкие лучи, содержащие от 5 до 11 клеток. Степень лигнификации клеточных стенок элементов ксилемы низкая. В первичной коре присутствуют от 7 до 35 клеток-идиобластов с флобафенами, а в сердцевине – от 1 до 18 клеток-идиобластов. На поперечных срезах этой части стебля обнаруживаются редкие трихомы.

На поперечных срезах средних междоузлий, по сравнению с верхними, отмечено увеличение количества основных пучков от 10 до 16 с увеличением их размера до 8–18 клеток. Отмечается низкая и средняя степень лигнификации клеточных стенок элементов ксилемы. Плотность трихом высокая. На поперечных срезах базальных нижних междоузлий количество основных пучков уменьшается до 5–10, что сопровождается увеличением количества дополнительных пучков. Размеры основных пучков увеличиваются, ширина пучка составляет от 8 до 34 элементов. Ширина некоторых лучей пучка может уменьшаться до 3–9 клеток. В коровой части присутствуют многочисленные клетки-идиобласты с флобафенами. Трихомы многочисленные.

Заключение

Таким образом, в результате проведенного исследования были установлены характерные анатомические диагностические признаки травы лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.), культивируемого в подтаежной зоне Западной Сибири. К характерным диагностическим признакам относятся: строение нижней эпидермы листа, эпидермальные клетки с сосочковидными выростами, устьичный аппарат 2 типов (анизоцитный, аномоцитный), простые прижатые одно- или двухклеточные волоски, клетки-идиобласты, друзы оксалата кальция, многорядная кристаллоносная обкладка по жилке. На обеих сторонах и по краю листовой пластинки обнаружены (ранее не описанные в литературе) булавовидные железистые волоски с одноклеточной ножкой и многоклеточной головкой, по жилкам – многорядная кристаллоносная обкладка. Выявленные признаки могут быть включены в нормативную документацию, что позволит более точно диагностировать сырье.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. Флора Сибири. Том 9. *Fabaceae (Leguminosae)*. Новосибирск, 1994; 280.
2. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Семейства *Fabaceae-Apiaceae*. Том 3. СПб. – М.: 2010; 601.
3. Escaray F.J., Menendez A.B., Gárriz A. et al. Ecological and agronomic importance of the plant genus *Lotus*. Its application in grassland sustainability and the amelioration of constrained and contaminated soils. *Plant Science*, 2012; 182: 121–33. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.03.016>
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Hydrangeaceae-Haloragaceae*. Л.: Наука. 1987; 326.
5. The Plant List. [Electronic resource]. Access mode: <http://theplantlist.org/> [circulation date 5 November, 2018].
6. Змеева О.Н., Коломиец Н.Э., Абрамец Н.Ю., Бондарчук Р.А. *Lotus corniculatus* L. – перспективный вид рода *Lotus* L. *Химия растительного сырья*, 2017; 4: 5–14. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017041779>
7. Рышкель О.С., Крюкова Л.И., Тыновец С.В. Лядвенец рогатый (*Lotus corniculatus* L.) – перспективная культура для антропогенно- преобразованных почва Припятского Полесья. *Вестник ПолесГУ*, 2010; 1: 50–54.
8. Тыновец С.В., Филиппенко В.С. Продуктивность и кормовая ценность *Lotus corniculatus* L. на антропогенно преобразованных почвах. *Вестник ПолесГУ*, 2012; 4: 36–40.
9. Maroso R.P., Carneiro C.M., Scheffer-Basso S.M., Favero D. Morphological and anatomical aspects of birdsfoot trefoil and big trefoil. *R.Bras.Zootec.*, 2009; 38 (9): 1663–7. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000900004>
10. Barykina R., Kramina T. A Comparative morphological and anatomical study of the model legume *Lotus japonicus* and related species. *Wulfenia*, 2006; 13: 33–56.
11. Государственная фармакопея РФ XIV издание. Том 4. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/feml>

References

1. Flora of Siberia. Vol. 9. *Fabaceae (Leguminosae)*. Novosibirsk, 1994; 280 (in Russian).

2. Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Families of *Fabaceae-Apiaceae*. Tom 3. St.Pb.- Moscow: 2010; 601 (in Russian).
3. Escaray F.J., Menendez A.B., Gárriz A. et al. Ecological and agronomic importance of the plant genus *Lotus*. Its application in grassland sustainability and the amelioration of constrained and contaminated soils. *Plant Science*, 2012; 182: 121–33. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.03.016>
4. Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use. Families of *Hydrangeaceae-Haloragaceae*. Leningrad: Nauka. 1987; 326 (in Russian).
5. The Plant List. [Electronic resource]. Access mode: <http://theplantlist.org/> [circulation date 5 November, 2018].
6. Zmееva O.N., Kolomiets N.E., Abramets N.Y., Bondarchuk R.A. *Lotus corniculatus* L. is a perspective species of the genus *Lotus* L. *Chem.natur.comp.*, 2017; 4: 5–14. (in Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017041779>
7. Ryshkel O.S., Kryukova L.I., Tisovec S.V. *Lotus corniculatus* is a promising crop for the anthropogenically transformed soil of the Pripyat Polesye. *Bulletin of Polesie St.Univ.*, 2010; 50–4 (in Russian).
8. Tynovets S.V., Filippenko V.S. Productivity and forage value of *Lotus corniculatus* on anthropogenically modified soils. *Bulletin of Polesie St.Univ.*, 2012; 36–40 (in Russian).
9. Maroso R.P., Carneiro C.M., Scheffer-Basso S.M., Favero D. Morphological and anatomical aspects of birdsfoot trefoil and big trefoil. *R.Bras.Zootec.*, 2009; 38 (9): 1663–7. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000900004>
10. Barykina R., Kramina T. A comparative morphological and anatomical study of the model legume *Lotus japonicus* and related species. *Wulfenia*, 2006; 13: 33–56.
11. The State Pharmacopoeia of The Russian Federation, XIII-ed. [Electronic resource]. Access mode: <http://femb.ru/feml> (in Russian).

Поступила 06 мая 2019 г.

Received 06 May 2019

Принята к публикации 23 сентября 2019 г.

Accepted 23 September 2019