

УДК 633.8:581.524.1:581.192.7

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ КОРНЕЙ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ НА ПРОРАСТАНИЕ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН ТАБАКА КРЫЛАТОГО

Шершова С.В.

Полтавская государственная аграрная академия, Полтава, e-mail: sveta_ved@mail.ru

Впервые в лабораторных условиях исследовано влияние лектинсодержащих экстрактов корневищ с корнями эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) и их компонентов в концентрациях 10^{-10} – 10^{-6} % на прорастание пыльцы табака крылатого (*Nicotiana glauca* Link. et Otto). Доказано, что стимулирующее действие зависит от концентрации и вида экстракта и проявляется в увеличении процента проросших пыльцевых зерен и длины пыльцевых трубок. Нативные экстракты, а также их составляющие угнетали прорастание пыльцевых зерен при концентрации 10 и 1%. Все виды экстрактов в концентрациях 10^{-3} – 10^{-5} % повышали энергию прорастания пыльцевых зерен и длину пыльцевых трубок, причем самые высокие показатели наблюдались при действии экстракта без лектинов. Выделенные из экстракта лектины наиболее активно стимулировали рост пыльцевых трубок в концентрации 10^{-6} %, при этом их максимальная длина достигала 1150 мк.

Ключевые слова: эхинацея пурпурная, *Echinacea purpurea* (L.) Moench., табак крылатый (*Nicotiana glauca* Link. et Otto), лектины, супернатант, нативные экстракты

THE INFLUENCE OF LECTIN-CONTAINING EXTRACTS ROOTS OF PURPLE CONEFLOWER ON GERMINATION POLLEN WINGED TOBACCO

Shershova S.V.

Poltava State Agrarian Academy, Poltava, e-mail: sveta_ved@mail.ru

The influence extracts of rhizomes and roots of *Echinacea purpurea* and their components on germination pollen *Nicotiana glauca* Link. et Otto was investigated. Proved that the stimulatory effect depends on the concentration and type of extract and is manifested in the increase in the percentage of germinated pollen grains and length fertilization tube of pollen. It was established that the extracts and their constituents inhibit germination of pollen grains in concentration 10 and 1%. All kinds of extracts in concentrations of 10^{-3} – 10^{-5} % increased germinative energy of pollen grains and length fertilization tube of pollen, the highest rates were observed in the extract without protein components. The extracts of protein components were the most active in a concentration of 10^{-6} %. It stimulated the growth of pollen tubes with a maximum length reached their 1150 microns.

Keywords: purple coneflower, *Echinacea purpurea* (L.) Moench., winged tobacco (*Nicotiana glauca* Link. et Otto), lectins (protein components), extract without protein components (supernatant fluid), complete extracts

Известно, что представители рода эхинацея (*Echinacea* Moench) благодаря уникальному биохимическому составу используются для получения экстрактов, которые оказывают положительное воздействие на организм человека, животные и растительные объекты [7]. Установлено, что производные гидроксикоричных кислот, полисахариды, алкаамиды, лектины и другие соединения, находясь в экстрактах, обуславливают их биологическую активность [6]. Ранее проведенные исследования подтверждают, что экстракты эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.) и эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt.) стимулируют прорастание семян, рост корней и надземной массы тест-объектов, обладают выраженной биологической активностью в гомеопатических разведениях [5, 6].

Вместе с тем, несмотря на определенный прогресс в изучении влияния компонентов эхинацеи пурпурной на семена и вегетирующие растения, остаются малоизученным их воздействие на элементы генеративной сферы, в частности, на мужской и женский

гаметофиты. А ведь известно, что именно от их функционального состояния зависит уровень завязывания плодов, образование семян, проявление самонесовместимости [8].

Необходимо отметить, что в последние годы ведется активное изучение роли гидроксикоричных кислот и фенольных соединений в целом в половом процессе растений [2]. В частности, доказано, что индукция цветения у растений табака связана с биосинтезом *de novo* хлорогеновой и кофейной кислот [3]. Отмечено, что во время закладки цветочных почек у яблони наблюдается повышение содержания хлорогеновой кислоты [8].

Из белковых веществ, содержащихся в растениях, особо следует отметить лектины. Известно, что они участвуют в важных физиологических процессах в растениях: в образовании клубеньков на корнях бобовых, опылении, транспорте пластических веществ, явлении иммунитета, клеточном узнавании и т.п. [9]. Установлено, лектины содержатся в различных органах эхинацеи пурпурной и их уровень изменяется во время вегетации [4].

Целью наших исследований было изучение влияния нативных экстрактов эхинацеи пурпурной и их составляющих в широком диапазоне концентрации (от 10 до 10^{-10} %) на прорастание пыльцы и длину пыльцевых трубок табака крылатого (*Nicotiana glauca* Link. et Otto) – одного из самых распространенных объектов эмбриологических исследований [1]. Для этого использовали воздушно-сухие образцы корневищ с корнями эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) сорта «Зирка Мыколы Вавилова», культивируемой в Полтавской области.

Материал и методы исследования

Экстракцию сырья проводили в течение двух часов при соотношении сырья и физиологического раствора 1:10. После этого из вытяжек методом низкотемпературного этанольного фракционирования выделяли белковые компоненты (лектины). Другие соединения оставались в надосадочной жидкости (супернатант).

Пыльцу проращивали по методу И.Н. Голубинского в висячих каплях [1]. Контроль – дистиллированная вода. В исследуемых вариантах средой были полученные экстракты и их составляющие, которые изучались в концентрациях 10^{-10} –10%. Последовательность опыта – трехкратная. Пыльцу проращивали на рассеянном свете при комнатной температуре. Подсчет процента проросших пыльцевых зерен проводили в трех полях зрения при экспозиции 24 часа. Для определения длины пыльцевых трубок их зарисовывали с помощью рисовального аппарата Аббе, фотографировали цифровой камерой ТСА 3.0 с помощью микроскопа «Ломо» при увеличении в $100\times$. Энергию прорастания пыльцы вычисляли по методике В.И. Некрасова и О.М. Князевой [3]. Достоверность разницы между вариантами оценивали по t-критерию Стьюдента на 5% уровне значимости.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследований было установлено, что нативные экстракты корневищ с корнями эхинацеи пурпурной и его составляющие влияют как на энергию прорастания пыльцевых зерен, так и на длину пыльцевых трубок.

Следует отметить, что во всех образцах прослеживается общая закономерность – полное ингибирование экстрактами и их составляющими прорастание пыльцы в концентрациях 10 и 1%. Её прорастание происходило, начиная с концентрации 10^{-1} %, при этом все учитываемые показатели не превышали контроль. Повышение процента прорастания пыльцы относительно контроля было отмечено в вариантах, начиная с концентрации 10^{-2} % при действии нативного экстракта и экстракта без лектинов (супернатант), а также 10^{-3} % для лектинов.

Известен тот факт, что энергия прорастания пыльцы является наиболее инте-

гральным показателем жизнедеятельности пыльцы. Как показали проведенные нами исследования, этот показатель значительно зависел от типа экстракта и его концентрации. Так, наиболее высокие показатели по отношению к контролю были присущи как выделенным лектинам, так и экстрактам без них. Нативный экстракт достоверно стимулировал энергию прорастания относительно контроля в диапазоне концентраций от 10^{-2} до 10^{-5} % на + 6,29–12,29%. Что касается выделенных из экстракта лектинов, то увеличение энергии прорастания пыльцы имело место в концентрациях 10^{-3} и 10^{-4} % (на 8,21 и на 4,73% соответственно), а у экстрактов без них – в диапазоне 10^{-4} – 10^{-7} % (от 2,76 до 14,61%). Следует отметить, что для всех видов экстрактов концентрации 10^{-3} и 10^{-5} % являются наиболее оптимальными (таблица).

Экстракты корней с корневищами и их компоненты позитивно влияли на длину пыльцевых трубок. При этом наблюдалось увеличение показателей как их средней, так и максимальной длины.

Наиболее широкий диапазон позитивного действия на среднюю длину пыльцевой трубки был присущ экстрактам без лектинов, хотя следует отметить, что нативный экстракт и выделенные лектины также значительно стимулировали этот показатель.

Самые большие значения средней длины пыльцевых трубок при влиянии экстракта без лектинов было отмечено в концентрации 10^{-5} и 10^{-6} %, (на + 80 и + 44% выше контроля соответственно). При действии нативного экстракта выраженное увеличение длины пыльцевых трубок по отношению к контролю отмечали в концентрации 10^{-5} % (до +67%) (рисунок), а при влиянии выделенных лектинов в 10^{-5} – 10^{-7} % (от +11 до 30%). Таким образом, наблюдается значительная стимуляция их роста. При этом высокой активностью характеризуются экстракты даже в значительных гомеопатических разведениях. Следует отметить, что подобная закономерность была отмечена и при изучении влияния экстрактов эхинацеи на стимуляцию ростовых процессов [5].

Очень важен и тот факт, что в условиях *in vitro* были получены пыльцевые трубки значительной длины, которые не уступают длине трубок *in vivo*. Так, экстракт корней с корневищами, а также его составляющие значительно стимулировал рост пыльцевых трубок, при этом их максимальная длина значительно превышала контрольные показатели в широком диапазоне концентраций. В опытах с нативным экстрактом максимально длинные пыльцевые трубки

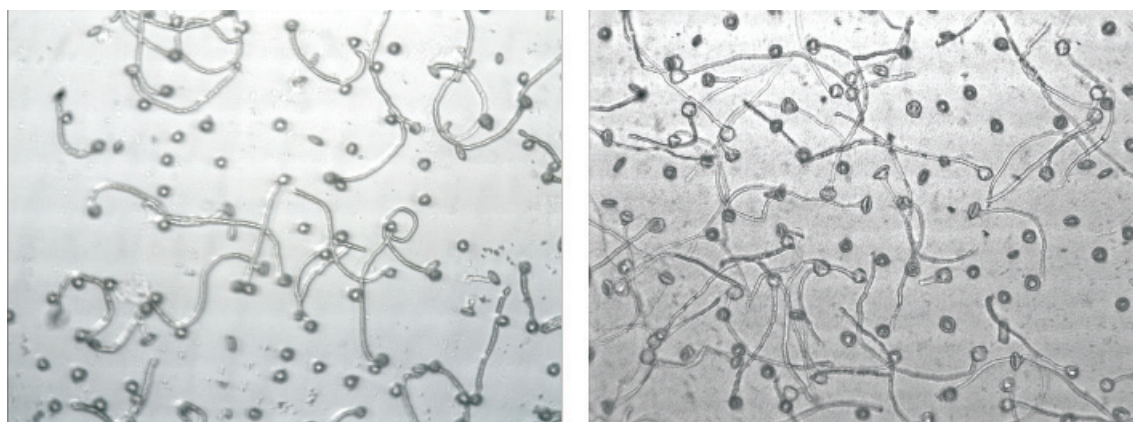
отмечались в концентрациях $10^{-3}\%$, $10^{-5}\%$, а также 10^{-7} – $10^{-9}\%$ – до 1000 мк. Подобной активностью обладал экстракт без лектинов: наивысшее значение было при разведе-

нии до $10^{-5}\%$ и составляло 1030 мк. Однако наивысшее действие на длину пыльцевых трубок оказали выделенные из экстракта лектины в концентрации $10^{-6}\%$ – 1150 мк.

Влияние экстрактов корневищ с корнями эхинацеи пурпурной на прорастание пыльцы и длину пыльцевых трубок табака крылатого

| Концентрации | Экстракты | | | | | | | | |
|--------------------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|------|
| | Нативный экстракт | | | Лектины | | | Экстракт без лектинов | | |
| | Энергия прорастания, % | Длина пыльцевой трубки, мк | | Энергия прорастания, % | Длина пыльцевой трубки, мк | | Энергия прорастания, % | Длина пыльцевой трубки, мк | |
| среднее \pm δ | | Макс. | среднее \pm δ | | Макс. | среднее \pm δ | | Макс. | |
| Контроль | 30,71 | 430 \pm 33,65 | 800 | 36,5 | 511 \pm 34,02 | 700 | 35,88 | 488 \pm 37,27 | 680 |
| Концентрации экстрактов: $10^{-1}\%$ | 19,65 | 352 \pm 23,9 | 620 | 18,61 | 483 \pm 27,63 | 900 | 30,79 | 417 \pm 32,86 | 570 |
| $10^{-2}\%$ | 39,30* | 493 \pm 29,85 | 680 | 25,34 | 535 \pm 29,09 | 810 | 36,9 | 498 \pm 18,14 | 720 |
| $10^{-3}\%$ | 37,00* | 595 \pm 38,80 | 940 | 44,71* | 575 \pm 29,71 | 700 | 34,23 | 514 \pm 35,81 | 820 |
| $10^{-4}\%$ | 29,36 | 465 \pm 34,20 | 690 | 41,23* | 520 \pm 29,05 | 710 | 38,64* | 526 \pm 25,47 | 750 |
| $10^{-5}\%$ | 43,00* | 718 \pm 38,43 | 1000 | 39,69 | 567 \pm 34,67 | 720 | 50,49* | 880 \pm 23,4 | 1030 |
| $10^{-6}\%$ | 23,75 | 481 \pm 39,76 | 790 | 28,25 | 633 \pm 43,85 | 1150 | 42,13* | 701 \pm 52,02 | 950 |
| $10^{-7}\%$ | 11,23 | 563 \pm 44,55 | 900 | 37,05 | 664 \pm 49,97 | 950 | 41,17* | 628 \pm 37,96 | 900 |
| $10^{-8}\%$ | 17,64 | 523 \pm 51,34 | 890 | 34,95 | 514 \pm 35,75 | 800 | 27,23 | 455 \pm 35,37 | 670 |
| $10^{-9}\%$ | 15,68 | 491 \pm 39,42 | 940 | 48,68 | 605 \pm 30,7 | 710 | 32,46 | 555 \pm 29,65 | 710 |
| $10^{-10}\%$ | 11,50 | 389 \pm 30,16 | 620 | 16,82 | 402 \pm 42,56 | 810 | 22,32 | 578 \pm 34,19 | 780 |

Примечание. * – достоверно на уровне $t_{0,05}$.



Длина пыльцевых трубок при влиянии нативных экстрактов корней с корневищами эхинацеи пурпурной в концентрации $10^{-5}\%$ – справа, контроль – слева

Выводы

Установлено что экстракты корневищ с корнями эхинацеи пурпурной, а также их составляющие стимулировали прорастание пыльцы табака крылатого. Высокая биологическая активность экстракта обусловлена комплексным действием всех его составляющих. Наиболее оптимальными концентрациями нативного экстракта являются 10^{-3} – $10^{-5}\%$, при концентрации 10^{-3}

и $10^{-4}\%$ экстракты лектинов увеличивали энергию прорастания пыльцевых зерен, хотя увеличение длины пыльцевых трубок наблюдали при более высоких разведениях (10^{-6} – $10^{-10}\%$). В опытах с использованием экстрактов без лектинов средняя и максимальная длина пыльцевых трубок превышала контроль почти во всех исследуемых вариантах (10^{-2} – $10^{-10}\%$), а энергия прорастания в четырех из них (10^{-4} – $10^{-7}\%$).

Список литературы

1. Голубинский И.Н. Биология прорастания пыльцы. – К.: Наукова думка, 1974. – 352 с.
2. Изменение состава ионогенных групп оболочек пыльцевого зерна лилии при активации прорастания / Н.Р. Мейчик, А.В. Смирнова, Н.П. Матвеева и др. // Физиология Растений. – 2009. – Т. 56. – № 2. – С. 232–240.
3. Некрасов В.И. Изучение качества пыльцы древесных растений методом проращивания на целлофане // Бюлл. Гл. ботан. сада АН СССР. – 1973. – Вып. 88. – С. 96–101.
4. Пospelov С.В., Пospelova А.Д. Лектины представителей рода эхинацея (*Echinacea Moench*). 2. Особенности активности в онтогенезе *Echinacea purpurea* (L.) Moench // Химия растительного сырья. – 2012. – № 3. – С. 149–156.
5. Пospelov С.В., Шершова С.В. Дослідження біологічної активності лектинвмісних екстрактів ехінацеї пурпурової (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.) // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2012. – № 1. – С. 45–49.
6. Пospelov С.В., Шершова С.В. Дослідження біологічної активності лектинвмісних екстрактів ехінацеї блідої (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt.) // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2012. – № 2. – С. 47–51.
7. Фитохимический состав представителей рода эхинацея (*Echinaceae Moench*) и его фармакологические свойства / В.Н. Самородов, С.В. Пospelov, Г.Ф. Моисеева [и др.]. // Хим.- фарм. журн. – 1996. – № 4. – С. 32–37.
8. Хромченко В.В., Картушин А. Н. Повышение завязываемости плодов косточковых культур // АгроXXI. – 2009. – № 7–9. – С. 37–38.
9. Ямалева А.А. Лектины растений и их биологическая роль: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – СПб., 2002. – 50 с.

References

1. Golubinskij I.N. Biologija prorastanija pyl'cy. [Biology of pollen germination]. Kiev, Naukova Dumka, 1974. 352 p.
2. Meychik N.R., Smirnova A.V. Matveeva N.P. Fiziologija Rastenij, 2009, T. 56. no. 2. pp. 232–240.
3. Nekrasov V.I. Bjull. Gl. botan. sada AN SSSR. 1973. no. 88. pp. 96–101.
4. Pospelov S.V. Pospelova A.D. Himija rastitel'nogo syrja. 2012. no 3. pp. 149–156.
5. Pospelov C. V., Shershova S. V. Visnik Poltavskoi derzhavnoi agrarnoi akademii. 2012. no. 1. pp. 45–49.
6. Pospelov C. V., Shershova S. V. Visnik Poltavskoi derzhavnoi agrarnoi akademii. 2012. no. 2. pp. 47–51.
7. Samorodov V.N., Pospelov S.V., Moiseeva G.F. Him. – Farm. zhurn. 1996. no. 4. pp. 32–37.
8. Hromenko V.V., Kartushin A. N. AgroXXI. 2009. no. 9. pp. 37–38.
9. Jamaleeva A.A. Lektiny rastenij i ih biologicheskaja rol [Lektin of plants and their biological role]. Avtoref. dis. d-ra biol. nauk. Sankt-Peterburg, 2002, 50 p.

Рецензенты:

- Писаренко П.В., д.с.-х.н., профессор кафедры земледелия и агрохимии Полтавской аграрной академии, г. Полтава;
 Калиниченко А.В., д.с.-х.н., профессор, Полтавская аграрная академия, г. Полтава.
 Работа поступила в редакцию 19.02.2013.