

УДК 615.322:582.998.16].07

MICROSCOPIC DIAGNOSTIC SIGNS OF THE HERB OF TAGETES

ERECTA PLENA L.VAR. «HAWAJI»

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

ТРАВЫ TAGETES ERECTA PLENA L. VAR. «HAWAJI»

Maliuhina O. O. / Малюгина Е. А.

Ph.D, as. / к. фарм. н., ас.

ORCID: 0000-0002-4909-4250

Smojlowska G. P. / Смойловская Г. П.

Ph.D., doc. / к. фарм. н., доц.

ORCID: 0000-0002-6272-2012

Mazulin A. V. / Мазулин А. В.

d. ph. s, prof. / д. фарм. н., проф.

ORCID: 0000-0003-0628-4457

Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Maiakovskiyi avenue 36, 69035

Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье,

просп. Маяковского 26, 69035

Аннотация. Микроскопический анализ является одним из неотъемлемых элементов фармакопейного анализа лекарственного растительного сырья. Однако, микроскопические диагностические признаки растительного сырья сортов видов рода *Tagetes L.* изучены недостаточно. Целью данной работы было исследование микроскопических диагностических признаков травы бархатцев прямостоячих высокорослой формы сорта «Гавайи» (*Tagetes erecta plena L. var. «Hawaji»*). Были определены микроскопические диагностические признаки травы бархатцев прямостоячих сорта «Гавайи» (совокупность признаков соцветий, листьев и стеблей). Основными диагностическими признаками является характер эпидермиса, устьичного аппарата, волосков и секреторных структур, а также размещение и характер проводящей и механической систем стебля.

Ключевые слова: бархатцы, трава, микроскопические признаки, *Tagetes erecta L.*

Вступление

Бархатцы прямостоячие (*Tagetes erecta L.*) – один из распространенных на территории Украины видов рода *Tagetes L.*, Asteraceae. Различные части растений рода *Tagetes L.* накапливают каротиноиды, флавоноиды, органические кислоты, аминокислоты, дубильные вещества, эфирное масло, микроэлементы [1, 2]. Благодаря содержанию широкого спектра биологически активных веществ, трава бархатцев прямостоячих является перспективным растительным сырьем для получения новых фитопрепаратов.

Определение микроскопических диагностических признаков сырья является одним из неотъемлемых элементов фармакопейного анализа лекарственных растений, который позволяет объективно оценить подлинность лекарственного растительного сырья [3]. В настоящее время диагностические признаки растительного сырья различных сортов видов рода *Tagetes* L. изучены недостаточно, что свидетельствует о необходимости проведения дополнительных исследований растительного сырья.

Целью данной работы является исследование микроскопических диагностических признаков травы бархатцев прямостоячих высокорослой формы сорта «Гавайи» (*Tagetes erecta plena* L. var. «Hawaii»).

Материалы и методы

Траву бархатцев прямостоячих собирали на территории Украины в период активного цветения (июль-сентябрь) 2016-2017 г.г. Свежее сырье фиксировали в смеси этанол : глицерин : вода очищенная (1:1:1) [3, 4]

Из фиксированного растительного сырья приготавливали микропрепараты согласно общепринятым методикам. Поперечные срезы и препараты с поверхности помещали на предметное стекло в каплю жидкости и накрывали покровным стеклом. При необходимости осуществляли осветление хлоралгидратом по методике ДФУ [3, 4]. Поперечные срезы, препараты с поверхности и эпидерму различных органов растений исследовали при помощи микроскопов МІКРОмед®XS 3330 и РВ-2610 (окуляры X15, X10, объективы X4, X10, X40). Для фиксации результатов использовали цифровую фотокамеру Samsung PL50.

Исследования проводили в статистически достоверных количествах (от 10 раз для каждого образца). Проводили статистическую обработку полученных результатов.

Результаты и обсуждение

Микроскопические диагностические признаки травы состоят из диагностических признаков листа, соцветия или его частей, а также стебля.

При исследовании препаратов с поверхности листка обращали внимание на характер кутикулы и клеток эпидермиса, строение устьичного аппарата, волосков, секреторных структур, наличие и характер включений.

Поверхность листка бархатцев прямостоячих сорта «Гавайи» покрыта гладкой кутикулой, которая на верхушке заостренных сегментов сменяется продольно-складчатой. Листки дорсовентральные. Эпидермис верхней и нижней сторон листка различается мало. Эпидермальные клетки многоугольные, извилистые, с тонкими, плотно сомкнутыми оболочками. Клетки эпидермиса нижней стороны листка сильноизвилистые. Характерно, что эпидермис листков бархатцев прямостоячих плотно соединен с нижележащей хлоренхимой, от которой он практически не отделяется. Устьичный аппарат листков аномоцитный, устьица расположены с обеих сторон листовой пластинки. Устьичные клетки бобовидной формы, устьица окружены 3-5 околоустьичными клетками.

Листовая пластинка равномерно покрыта живыми конусообразными и суставчатыми волосками, состоящими из 4-6 живых клеток и многоклеточной основы из 6-8 клеток. Базальная клетка суставчатого волоска несколько вздутая. Кутикула при основе волосков радиально складчатая. Волоски листовой пластинки могут перекручиваться или ломаться. Для листков бархатцев прямостоящих характерно наличие шарообразных темных или неокрашенных вместилищ схизо-лизогенной природы без четких внутренних границ. Вместилища расположены ближе к краю листовой пластинки и хорошо видны даже при рассматривании образца под лупой.

В качестве основных микроскопических диагностических признаков листков бархатцев прямостоячих сорта «Гавайи» можно выделить характер кутикулы, эпидермиса, устьичного аппарата и секреторных структур (рис. 1).

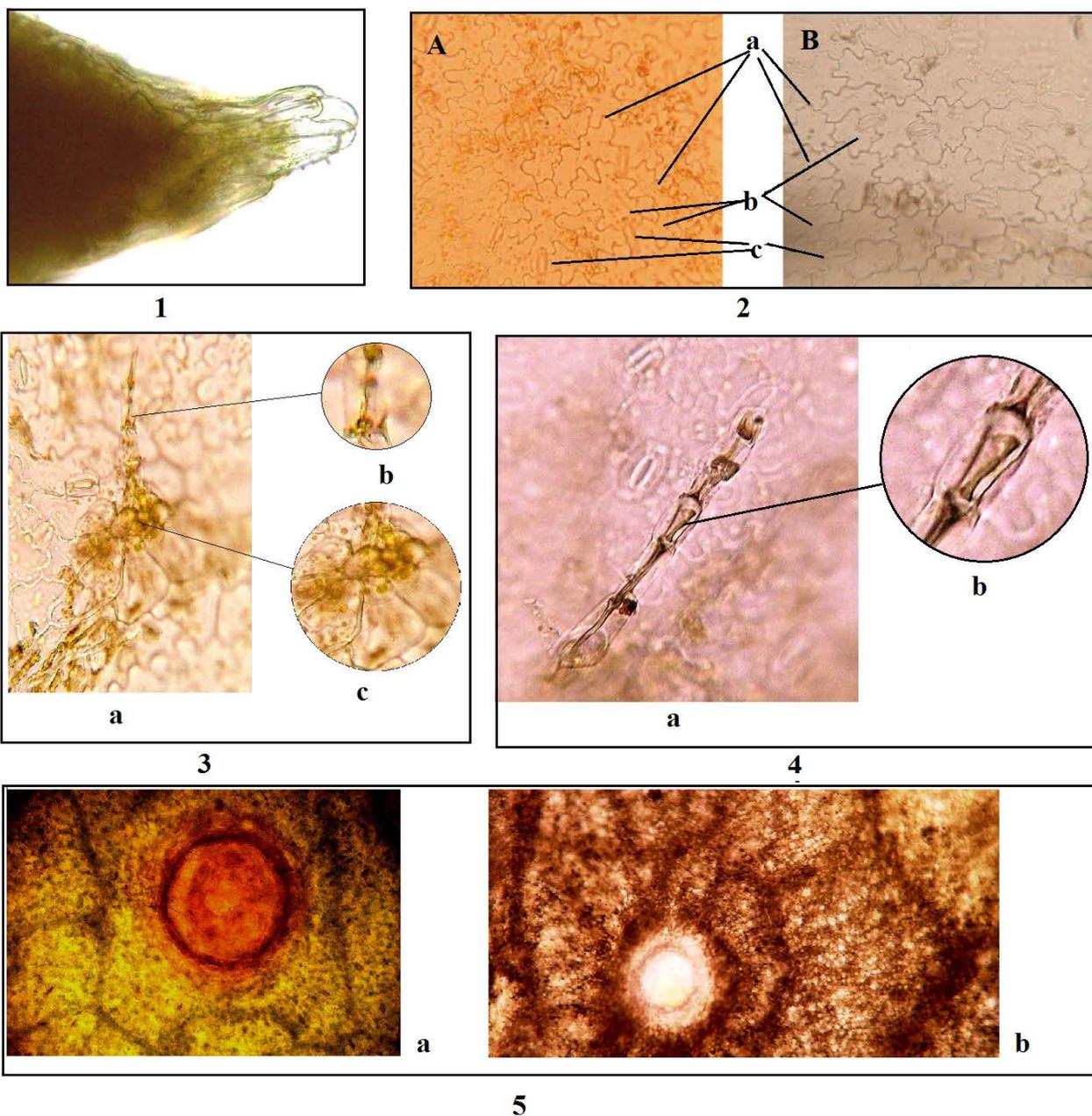


Рис. 1. Основные микроскопические диагностические признаки листка бархатцев прямостоячих: 1 – верхушка сегмента листовой пластинки; 2 – эпидермис (А – верхняя сторона листка, В – нижняя сторона листка; а – клетки эпидемиса, b - околоустьичные клетки, с – устьица); 3 – конусообразный волосок (а – общий вид, b – живая клетка с окрашенным содержанием, с – многоклеточная основа); 4 – суставчатый волосок (а – общий вид, b – живая клетка с окрашенным содержимым); 5 – вместилища (А – окрашенное вместилище с темным содержимым, В – неокрашенное вместилище).

Соцветия бархатцев прямостоячих высокорослой формы сорта «Гавайи» представляют собой крупные корзинки, содержащие значительное количество краевых язычковых цветков и незначительное количество трубчатых. Как язычковые, так и трубчатые цветки соцветий однородно окрашены в оранжевый цвет. Основными микроскопическими диагностическими признаками соцветий бархатцев прямостоячих является характер эпидермиса, устьичного аппарата, секреторных структур. Также следует обращать внимание на характер листочков обертки и чашелистиков [5].

Для цветков бархатцев прямостоячих свойственны эпидермис из живых тонкостенных крупных клеток, богатых хлоропластами. Для эпидермиса абаксиальной стороны язычковых цветков и трубчатых цветков характерны слабоизвилистые клетки и наличие туповерхушечных сосочковидных выростов, адаксиальной – сильноизвилистые клетки. Эпидермис завязи состоит из угловатых клеток. На нижней стороне венчика язычковых цветков расположены многочисленные устьица аномоцитного типа, находящиеся в одной плоскости с эпидермисом. Замыкающие клетки устьиц бобовидные. В элементах соцветия хорошо определяются железистые трихомы с ярко окрашенным содержимым. Под эпидермисом завязи заметны трубчатые извитые структуры с ярко-оранжевым содержимым.

Листочки обертки изолатеральные, с 4-6-слойным губчатым мезофилом и извилисто-угловатыми эпидермальными клетками с неравномерно утолщенными клеточными стенками. Устьица малочисленные. Характерно наличие простых живых многоклеточных суставчатых волосков различной длины, склонных к обламыванию.

Чашелистики соцветий редуцированы до бесцветных по краю заостренных пленчатых чешуек.

Микроскопические диагностические признаки соцветия бархатцев прямостоячих изображены на рис. 2.

Стебли бархатцев прямостоячих сорта «Гавайи» переходного типа. Поверхность стебля покрыта эпидермой с крупными, удлиненными клетками.

Кутикула продольно-складчатая. Устьица редкие, по строению сходные с устьицами листка.

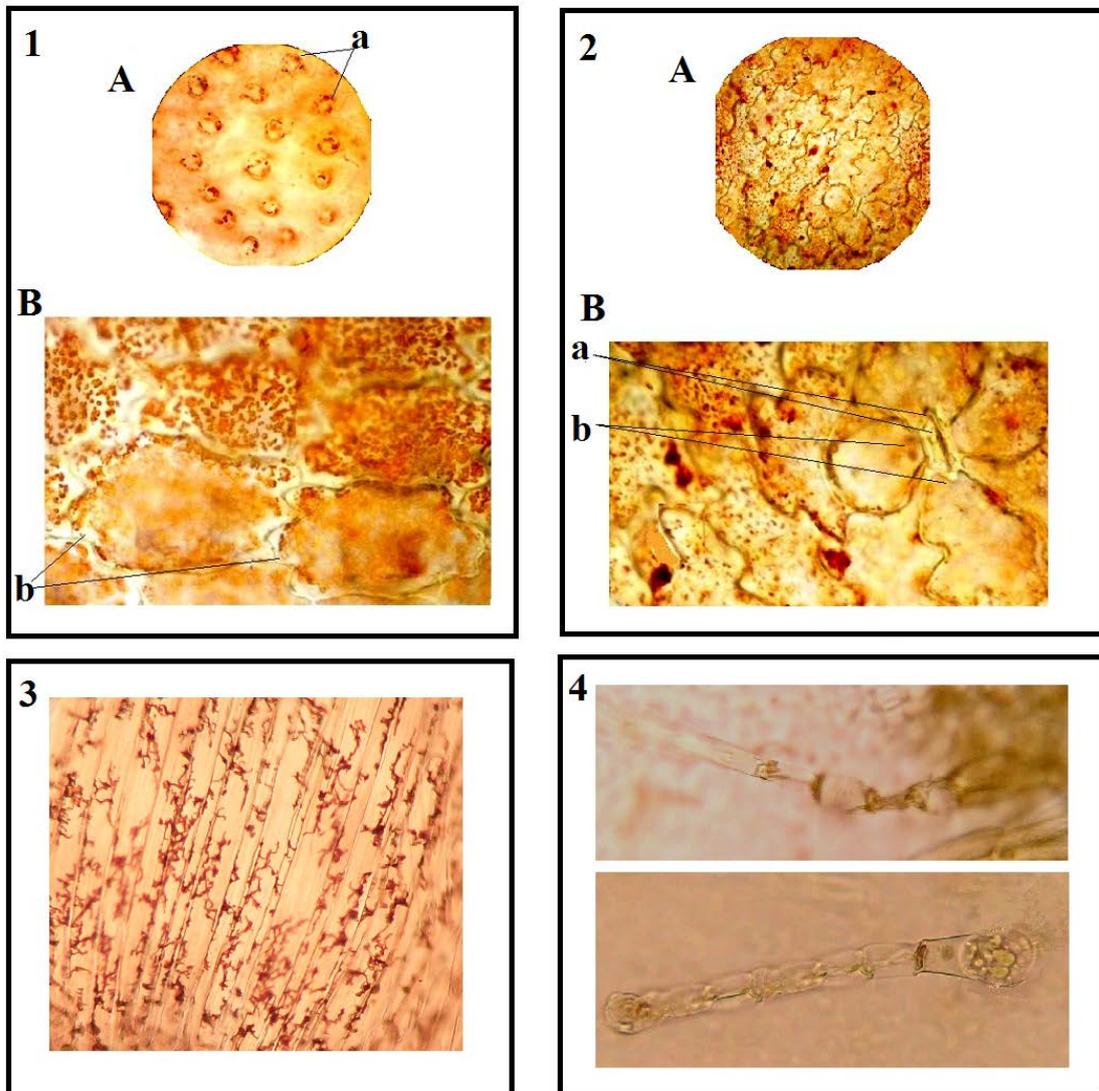


Рис. 2. Основные микроскопические диагностические признаки соцветий бархатцев прямостоячих: 1 – эпидермис абаксиальной стороны лепестка язычкового цветка (А – общий вид, В – увеличение (фрагмент); а – сосочковидные выросты; b – клетки эпидермиса с хлоропластами) ; 2 – эпидермис адаксиальной стороны лепестка (А – общий вид; В – увеличение (фрагмент); а – замыкающие клетки, b – околоустьичные (побочные) клетки); 3 – секреторные структуры завязи; 4 – волоски листочков обертки

По характеру видимых на поперечном срезе элементов, стебель можно условно разделить на 4 зоны: верхушка, верхняя, средняя и нижняя зоны. Отличия в строении наблюдаются в зависимости от уровня над землей и касаются количественного соотношения в гистологическом строении первичной коры и центрального цилиндра.

Нижняя часть стебля (рис. 3) заготавливается редко. Первичная кора покрыта слоем эпидермиса, состоит из пластинчатой колленхимы с ядрами и хлоропластами, паренхимы и эндодермы. В реберчатых выступах отмечаются широкие участки угловой колленхимы. Проводящие пучки плотно соединены и значительно склерифицированы. Сердцевинная паренхима в центральной части разрушена.

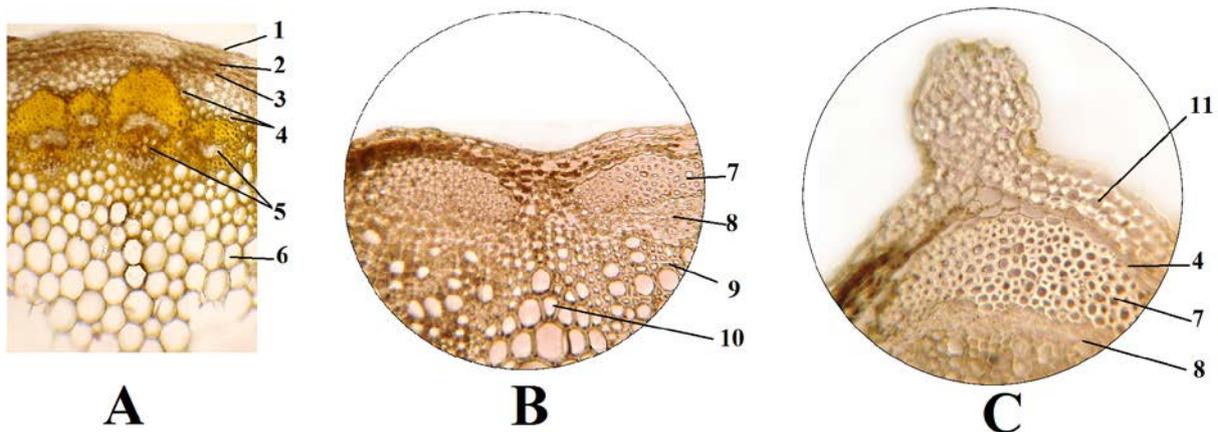
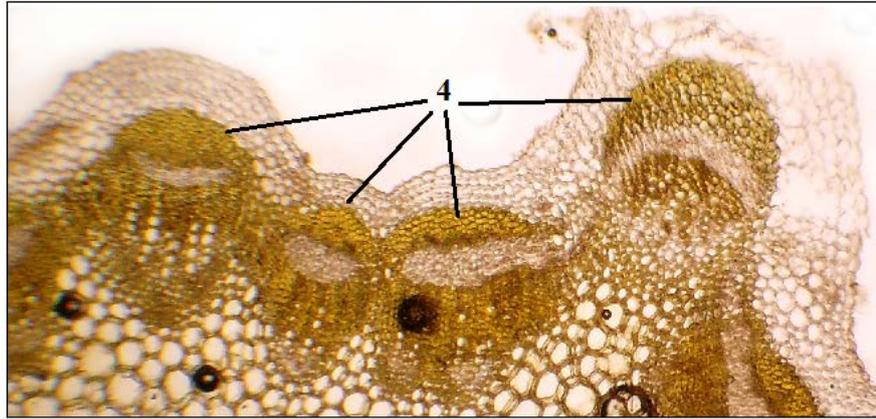
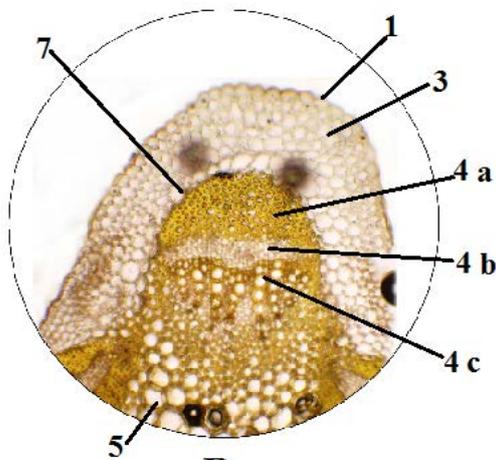


Рис. 3. Микроскопические признаки нижней части стебля: А – общий вид участка между ребрами, В – проводящие пучки участка между ребрами, С – ребро нижней части стебля; 1 – эпидермис, 2 – хлоренхима, 3 – пластинчатая колленхима, 4 – эндодерма, 5 – проводящие пучки, 6 – сердцевинная паренхима, 7 – склеренхима, 8 – флоэма, 9- ксилема, 10 – межпучковая паренхима, 11 – угловая колленхима

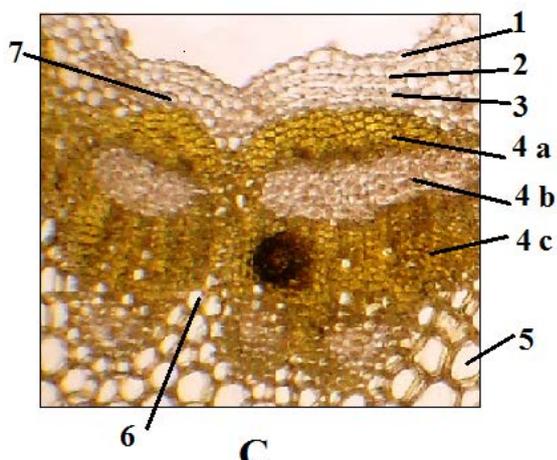
Средняя зона (рис. 4) характеризуется хорошо развитой первичной корой, состоящее из колленхимы, двух- или трёхслойной хлоренхимы, 4-6 слоёв угасающей паренхимы и эндодермы.



A



B



C

Рис. 4. Микроскопические диагностические признаки средней зоны стебля: А – общий вид, В – ребро, С – участок между ребрами; 1- эпидермис, 2 – хлоренхима, 3 – колленхима, 4 – проводящий пучок (а – склеренхима, b – флоэма, с – ксилема), 5 – паренхима, 6 – склерифицированная межпучковая паренхима, 7 – эндодерма

На участках между рёбрами колленхима одно- или двухслойная, реберчатые выступы характеризуются довольно широким участком субэпидермальной угловой колленхимы. В центральном цилиндре этой зоны проводящие пучки расположены узким кольцом, основные и дополнительные пучки со склеренхимной обкладкой, соединены между собой или отделены склерифицированной паренхимой. Сердцевина развита хорошо, крупноклеточная.

Верхняя зона (рис. 5) неясно-реберчатая, характеризуется многослойной первичной корой без колленхимы, с эндодермой и мелкими секреторными вместилищами. Проводящие коллатеральные пучки с паренхимной обкладкой. Межпучковая паренхима и остатки перимодулярной крупноклеточной паренхимы имеют утолщенные, частично лигнифицированные оболочки. Значительная часть сердцевины полая.

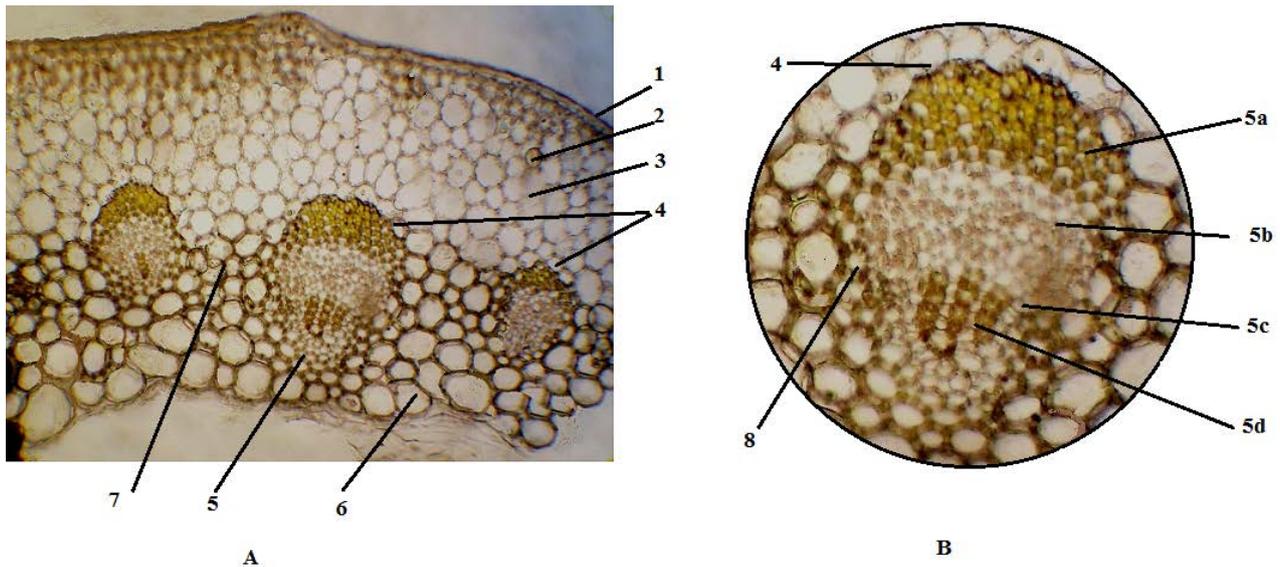


Рис. 5. Микроскопические особенности верхней части стебля: А - поперечный срез, В – проводящий пучок: 1 – эпидермис, 2 – секреторное вместилище, 3 – коровая паренхима, 4 – эндодерма, 5 –проводящий пучок (а – склеренхима, b – флоэма, с – камбий, d – ксилема), 6 – перимодулярная крупноклеточная паренхима, 7 – межпучковая паренхима, 8 – паренхимная обкладка проводящего пучка

Верхушка стебля, несущая корзинку (рис. 6), воронкообразно расширена, узкая, полая. Проводящие пучки размещены двумя-тремя кругами, более крупные чередуются с более мелкими и совсем мелкими пучочками. В паренхиме заметные секреторные вместилища. Поверхность полости выстилает уплотнённая покровная ткань.

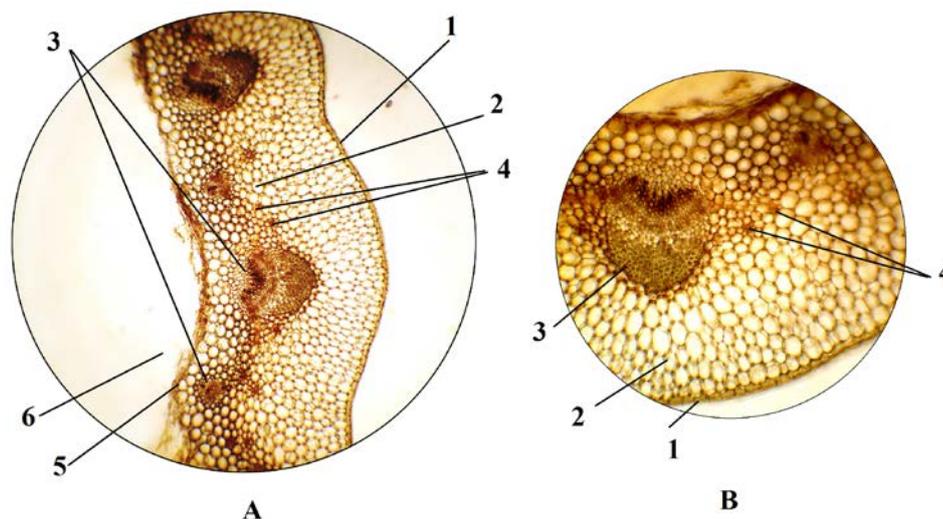


Рис. 6. Микроскопические особенности вертушки стебля, несущей корзинку: А – общий вид, В – участок с проводящим пучком; 1 – эпидермис, 2 – паренхима, 3 – проводящий пучок, 4 – секреторные вместилища, 5 – уплотнённая покровная ткань, 6 – внутренняя полость

Как следует из приведенных выше результатов, основными диагностическими признаками стебля бархатцев прямостоячих сорта «Гавайи» следует считать характер кутикулы, эпидермиса, секреторных элементов, а также характер и взаимное размещение проводящей и механической систем стебля.

Заключение и выводы

Были изучены основные микроскопические диагностические признаки травы бархатцев прямостоячих высокорослой формы сорта «Гавайи» (*Tagetes erecta plena* L. var. «Hawaji»).

Микроскопические диагностические признаки травы бархатцев прямостоячих сорта «Гавайи» состоят из совокупности признаков соцветий, листьев и стеблей, наиболее специфическими из которых является характер кутикулы, эпидермиса, устьичного аппарата, волосков и секреторных структур, а также взаимное размещение и характер проводящей и механической систем стебля.

Литература:

1. Rajvanshi S. K. Identification of bioactive phytometabolites in essential oil of African marigold (*Tagetes erecta* L.) using FT-IR technique / S. K. Rajvanshi, D. H. Dwivedi // *Journal of Agricultural & Environmental Research*. - 2018. - №1. - P. 6-18.
2. Accumulation of Carotenoids and Metabolic Profiling in Different Cultivars of *Tagetes* Flowers [Электронный ресурс] / Y. J. Park, SY Park, M. V. Arasu [et al.] // *Molecules*. – 2017. – № 22. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/2/313>
3. Самылина И. А. Фармакогнозия. Атлас : учебное пособие: в 2-х т. / И. А. Самылина, О. Г. Аносова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – Т. 1. – 192 с.
4. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – С. 128.
5. Malugina E. A. Microscopic diagnostic study of inflorescences of *Tagetes erecta plena* L. var. «Hawaji» / E. A. Malugina, G. P. Smoilovska // *Инновации в медицине и фармации-2017 : мат. дистанционной науч.-практ. конф. студентов и молодых учёных*". – Минск : БГМУ, 2017. - С. 647-652.

Abstract.

*Microscopic analysis is one of the inherent elements of the pharmaceutical analysis of medicinal plant materials. Despite this, the microscopic diagnostic signs of herbal material of species of the genus *Tagetes* L. are insufficiently studied.*

*The aim of this work was research of herbal raw material *Tagetes erecta plena* L. var. «Hawaji» and determination of its basic diagnostic microscopic signs.*

Materials & methods

*For determination of diagnostic microscopic signs of herbal raw material *Tagetes erecta plena* L. var. «Hawaji» was used the plants collected on territory of Ukraine in period of active flowering (July-September) in 2016-2017. Fresh herbal raw material was fixed in mixture ethanol : glycerin : water distilled (1:1:1). Making and research of microscopic preparations of herbal raw material was conducted with generally accepted methods. In according of State Pharmacopoeia of Ukraine was used clarification by chloral hydrate. It was analyzed transversal cuts, preparations from surface and epidermis the different organs of plants. The microscopic preparations was investigated by the microscopes. For fixing of results was used the digital photo camera Samsung PL50. The research was conducted in statistically reliable amounts (ten experiments for every microscopic preparation).*

Results and discussion

Diagnostic signs of a herb compose of macroscopic diagnostic signs of a leaf, inflorescence or its parts and stem. In the present study, it was found that as the main microscopic diagnostic signs of Tagetes erecta plena sort «Hawaji» can distinguish the character of the cuticle, epidermis, stomata apparatus and secretory structures. Also, was seted distinctions of structure the leaflets of the wrapper and the sepals. There are specific distinctions of the nature of cuticle, form and sinuosity of epidermis cells, the presence and structure of the stomata apparatus, trichomes, secretory structures, peculiarities of the structure of the mechanical tissue, feature of structure separate areas of stem.

Conclusion

A microscopic study was performed for the first time and the main diagnostic signs of herbal raw material Tagetes erecta plena L. var. «Hawaji» have been establish. Microscopic diagnostic signs o the herb ofl Tagetes erecta plena L. var. «Hawaji» consist of a set of signs of inflorescences, leaves and stems, the most specific of which are the cuticle, epidermis, stomata apparatus, trichomes and secretory structures, as well as the mutual placement and nature of the mechanical systems of the stem.

Key words: marigold, herb, microscopic signs, Tagetes erecta L.

References:

1. Rajvanshi S. K., Dwivedi D. H. (2018). Identification of bioactive phytometabolites in essential oil of African marigold (Tagetes erecta L.) using FT-IR technique. *Journal of Agricultural & Environmental Research*, 1, 6-18. [in English].
2. Park Y., Park S.-Y., Valan Arasu M., Al-Dhabi N., Ahn H., Kim J., Park S. (2017). Accumulation of Carotenoids and Metabolic Profiling in Different Cultivars of Tagetes Flowers. *Molecules*, 22(2), 313. [in English].
DOI:10.3390/molecules22020313
3. Samylin I. A., Anosova O. Gh. (2007). *Farmakognosia. Atlas: uchebnoe posobie* [Pharmacognosy. Atlas: study guide] (Vol. 1). (197 p.) Moscow: GHEOTAR-Media. [in Russian].
4. Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv» (2015). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy* [State Pharmacopoeia of Ukraine]. (Vol. 1). (P. 128). Kharkiv. [in Ukrainian].
5. Malugina E. A., Smoilovska G. P. Microscopic diagnostic study of inflorescences of Tagetes erecta plena L. var. «Hawaji». *Innovatsii v meditsine i farmatsii -2017 : mat. dist. nauchno-pract. conf. studentov i molodyh uchenyh* [Innovations in Medicine and Pharmacy: materials of the distance scientific-practice conference of students and young scientists]. Minsk, 2017, pp. 647-652. [in English].

Статья отправлена: 08.12.2018 г.

© Малюгина Е. А., Смойловская Г. П., Мазулин А. В.