

УДК 615.32

МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАХИСОВ И ЧЕРЕШКОВ ЛИСТА ОРЕХА ГРЕЦКОГО (*JUGLANS REGIA* L.)**¹Куркин В.А., ¹Рыжов В.М., ¹Тарасенко Л.В., ¹Железникова А.С., ²Помогайбин А.В.**¹ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет Минздрава России»;²ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет», Самара,

e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Орех грецкий (*Juglans regia* L.) – ценное лекарственное растение, препараты которого оказывают противомикробное, общеукрепляющее действие. Вопросы подтверждения подлинности лекарственного растительного сырья ореха грецкого проработаны в недостаточной степени. В частности, имеющиеся данные по эпидермальным особенностям строения листьев, а также строению мезофилла листа ореха грецкого не позволяют проводить адекватную диагностику и выявление примесей, особенно среди близкородственных видов к ореху грецкому. Впервые изучены петиолярные признаки ореха грецкого, интродуцированного в Самарской области. Выявлены особенности строения рахиса сложного листа ореха грецкого на разных сечениях в базальной, медиальной и апикальной части. Изучены также особенности анатомо-гистологического строения черешочка сложного листа ореха грецкого. Полученные данные позволяют переработать и дополнить имеющийся раздел «Микроскопия» в ФС на лекарственное растительное сырьё «Ореха грецкого листья».

Ключевые слова: орех грецкий, *Juglans regia*, петиолярная анатомия, лист, диагностика лекарственных растений

MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL STUDY OF THE RACHIS AND PETIOLE WALNUTS (*JUGLANS REGIA* L.)**¹Kurkin V.A., ¹Ryzhov V.M., ¹Tarasenko L.V., ¹Zheleznikova A.S., ²Pomogaybin A.V.**¹Samara State Medical University;²Samara State University, Samara, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Circassian walnut (*Juglans regia* L.) – a valuable medicinal plant that preparations have antimicrobial, general strengthening effects. The problem of authentication of walnut's raw material has not been examined in detail. Particularly, the available data of the epidermal structural features of leaves and structure of walnut leaf's mesophyll do not allow to make adequate identification and detection of impurities especially among closely related species. For the first time ever petiole features of walnut introduced in the Samara region have been studied. The features of the structure of the rachis of walnut compound leaf on the different sections in the basal, medial and apical parts have been identified. Also the features of anatomical and histological structure of the compound leaf petioles have been examined. Findings allow us to revise and add the existing part «Microscopy» in the pharmacopeial article on herbal drugs «Circassian walnut leaf».

Keywords: Circassian walnut, *Juglans regia*, anatomy of the petioles, leaf, identification of medicinal plants

Согласно современным литературным данным орех грецкий (*Juglans regia* L.) оказывает разнонаправленный оздоровительный эффект на организм человека [1]. В ряде стран этот вид растений является фармакопейным. В Российской Федерации отсутствуют дикорастущие представители рода *Juglans*, однако несколько видов широко интродуцируются в условиях средней полосы РФ, в том числе в дендрарии Ботанического сада СамГУ (г. Самара) [3, 4, 5, 6].

Предварительный литературный обзор позволил выявить интерес некоторых авторов к изучению анатомических особенностей листьев ореха грецкого [2]. При этом отмечен ряд диагностических признаков, рекомендованных для внедрения в методику определения подлинности лекарственного растительного сырья (ЛРС), в том числе строение поперечных сечений листовых пластинок листочков сложного листа [2].

Общность классических эпидермальных признаков названной методики не по-

зволяет все же достоверно подтверждать видовую подлинность сырья, что может повлечь за собой возможность его фальсификации. При этом известно, что анатомия черешка листа (петиолярная анатомия) успешно используется ботаниками для отличия близкородственных таксонов [7].

К таким признакам относят, во-первых, особенности очертания поперечного сечения черешка, которое варьирует в зависимости от места среза, чаще всего анализируют очертания черешков в их базальной, медиальной и апикальной части [7].

Другой существенной диагностической особенностью черешков является гистология проводящей системы: наличие проводящих пучков, их типы, количество и топография [7]. К гистологическим признакам относят: опушение (особенности строения трихом), наличие механических тканей и их топографию, особенности строения.

Учитывая это, можно утверждать, что существует совокупность основных

петиоларных признаков, по которым возможна достоверная диагностика лекарственных растений и ЛРС.

Целью нашего исследования стало изучение морфологических и анатомо-гистологических особенностей строения черешков ореха грецкого, интродуцированного в условиях Самарской области.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служили листья ореха грецкого, заготовленные в августе 2013 года. Экземпляр ореха – интродуцент Самарского ботанического сада 1996 года (семена получены в г. Ставрополь). Исследования образцов осуществляли методом светлой микроскопии в проходящем и отраженном свете с помощью микроскопов марки «Motic» DM-39C-N9GO-A и DM-111-Digital Microscopy (Motic Microscopes), при увеличении $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$.

Основной упор был сделан на изучение диагностически значимых признаков петиоларной анато-

мии, при этом изучались поперечные срезы рахиса сложных листьев на всем его протяжении, а также черешочки простых листочков сложного листа.

Результаты исследований и их обсуждение

Анализ очертаний, поперечных сечений, рахиса сложного листа ореха грецкого позволил выявить некоторые особенности его строения. В частности, выявлены особенности поперечных сечений рахиса в зоне раструба (рис. 1, срезы 1 и 2). Они имеют особую форму: сердцевидную в очертании, сдавленную с адаксиальной стороны с глубоким вырезом в центре. С бортов (боков) черешки имеют острые выросты – ребра. Ребра, наиболее выраженные у основания рахиса в области раструба, постепенно сглаживаются по направлению к верхушке листа.

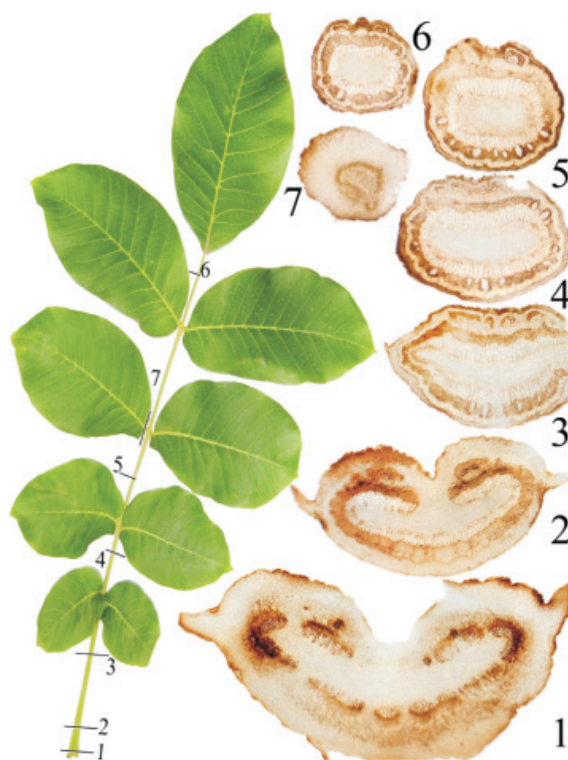


Рис. 1. Топография поперечных срезов рахиса и черешочка сложного листа ореха грецкого. Обозначения:
1, 2 – поперечный срез раструба рахиса; 3, 4, 5, 6 – поперечный срез рахиса;
7 – поперечный срез черешочка листочка

Начиная со среза № 3, у основания первой пары простых листочков и выше, очертания рахиса постепенно округляются. Необходимо отметить, что принципиально анатомия черешка (рахиса) от среза № 3 до среза в апексе не отличается, вследствие чего нами подробно описан только один срез № 3 (рис. 1, 2).

Очертание поперечного среза в области основания первой пары листочков сложно-

го листа у ореха грецкого отличается от такового в области раструба. Оно имеет особую форму полукруга равноусеченного с внутренней (адаксиальной) стороны по бортам и напоминает трапецию (рис. 2). С адаксиальной стороны поперечный срез имеет небольшую относительно ровную платформу с выраженными округлыми углами. Край платформы волнистый,

волны повторяют очертание коллатеральных пучков. При развитии рахиса по длине платформа долго сохраняется, постепенно выступая полукругами коллатеральных пучков.

С абаксиальной стороны поперечный срез черешка по форме округлый. По углам бортов черешка имеются небольшие остатки острых, слегка загнутых рёбер, описанных выше для области раструба.

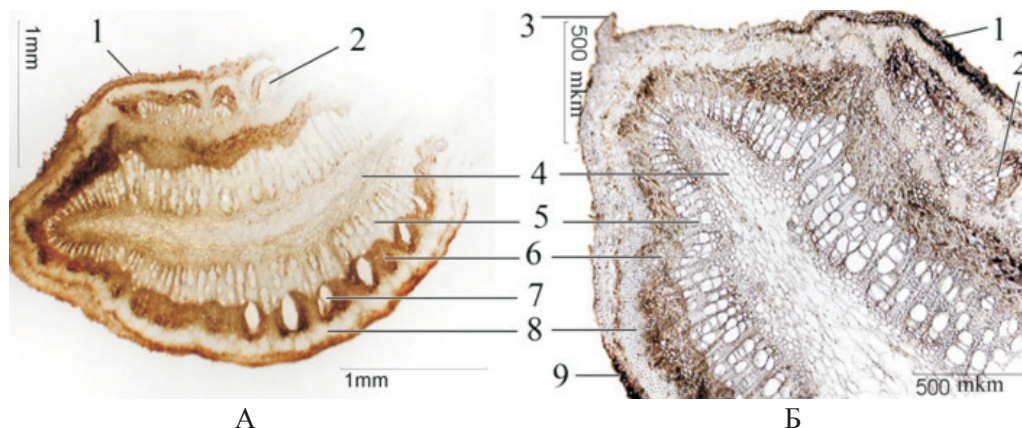


Рис. 2. Рахис листа ореха грецкого. Поперечный срез № 3:

А – Общий вид (x20; Б – Фрагмент (x40). Обозначения:

- 1 – коровая часть адаксиальной стороны рахиса; 2 – закрытый коллатеральный пучок;
3 – ребро; 4 – паренхима сердцевины; 5 – ксилема; 6 – флоэма; 7 – полости во флоэме;
8 – кольцо склеренхимы; 9 – коровая часть абаксиальной стороны рахиса

Проводящая система рахиса на поперечном сечении представлена мощным кольцом проводящих элементов ксилемы и флоэмы, расположенным в центре и занимающим основную часть поперечного среза. Кольцо своими контурами повторяет очертания поперечного среза. В ребрах оно смято, по адаксиальной и абаксиальной сторонам широкое.

Расположение проводящих элементов ксилемы имеет радиальную симметрию. Сосудистые элементы на поперечном сечении широкопросветные разноразмерные. Диаметр сосудистых элементов варьирует от мелких (30 мкм) до крупных (100 мкм).

Клетки древесной паренхимы значительно мельче сосудов, плотно сомкнуты, без межклетников, располагаются радиально. На поперечном срезе они изодиаметрической, почти округлой формы.

Клетки флоэмы мелкие (20–30 мкм) тонкостенные с живым протопластом, окрашенным в темно-бурый цвет. Клеточные стенки целлюлозные, иногда извилистые, не имеющие выраженных пор.

С нижней абаксиальной стороны черешка в паренхиме флоэмной части имеются крупные (до 200 мкм в длину) полости рексигенного характера (рис. 2А, 3Г).

С периферии флоэма армирована группами склеренхимных волокон, расположенных плотным массивом. Группы волокон разграничены склереидами слоем в один, реже два ряда клеток. Клетки волокон на

поперечном сечении округлые, с сильно утолщенными одревесневшими оболочками. Просветы клеток мелкие щелевидные с остатками протопласта (рис. 3Е).

Группы склеренхимных волокон окружают склереиды крупнее волокон в два-три раза. Полости склереид крупные с остатками протопласта. Клеточные стенки одревесневшие, заметно утолщенные, с большим количеством поровых каналов.

Помимо центрального кольца проводящих элементов на поперечном срезе также диагностируется блок закрытых коллатеральных пучков, обособленных с адаксиальной стороны в отдельную группу. Пучки овальные по форме. Ксилемная часть их округлая, гистологически не отличается от ксилемы в центральном кольце черешка. Флоэмная часть крупнее ксилемной и расположена С-образно, окружая ксилемную область. В лубяной паренхиме пучка изредка встречаются рексигенные полости, ранее описанные для основного кольца проводящих тканей рахиса (рис. 2, 3Е).

Пучки сильно армированы склеренхимными волокнами, которые подобно флоэме С-образно обхватывают пучок с адаксиальной стороны. Ближе к бортам черешка блоки склеренхимных волокон пучков могут сливаться.

Количество пучков по всей длине рахиса не одинаково. Оно постепенно уменьшается к верхушке, минимальное количество пучков, определенное на верхушке – два.

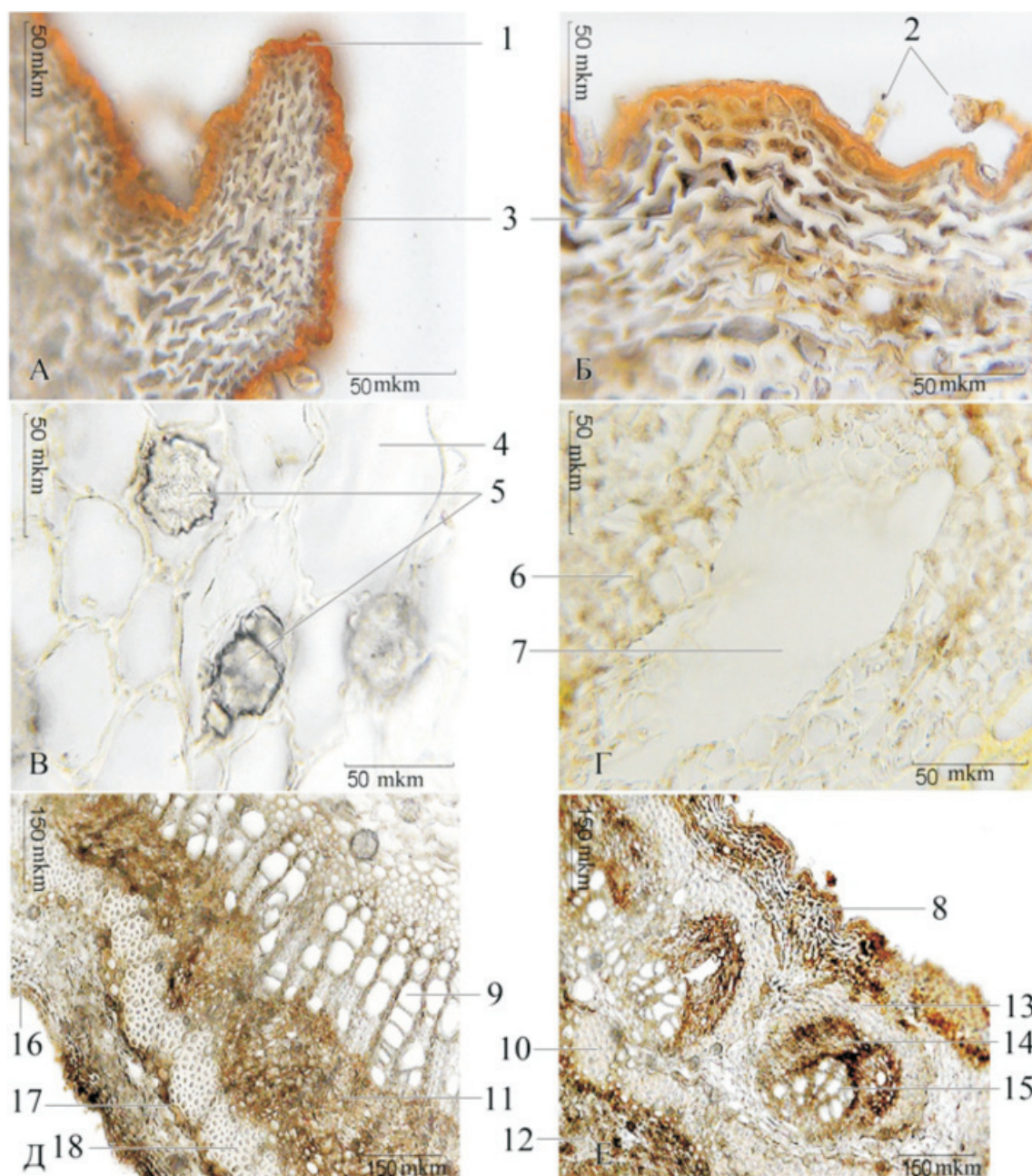


Рис. 3. Рахис листа ореха грецкого. Поперечный срез № 3:

А – Фрагмент ребра, окрашенного Суданом III (x400); Б – Фрагмент адаксиальной части, окрашен Суданом III (x400); В – Фрагмент выполняющей паренхимы (x400); Г – Фрагмент полости флоэмы, окрашенный сернокислым анилином (x400); Д – Фрагмент коровой абаксиальной стороны (x100); Е – Фрагмент коровой части адаксиальной стороны (x100). Обозначения: 1 – кутикула; 2 – железистые трихомы; 3 – колленхима ребра; 4 – клетки паренхимы сердцевинки; 5 – друзы; 6 – паренхима флоэмы; 7 – флоэма; 8 – колленхима; 9 – ксилема; 10 – армирующая склеренхима пучка; 11 – флоэма; 12 – флоэмная часть центрального пучка; 13 – эпидермис; 14 – флоэма пучка; 15 – ксилема пучка; 16 – эпидерма; 17 – эндодерма; 18 – кольцо склеренхимы

Особенности первичной коры рахиса

Первичная кора рахиса на поперечном сечении выражена слабо (рис. 2, 3Б, Д, Е). В ней заметен слой колленхимы, расположенный по всему периметру среза и достигающий в толщину 5 клеток. В ребрах,

по бортам черешка, колленхима выражена сильнее. Клетки колленхимы на поперечном сечении угловатые, сплюснутые, с целлюлозными извилистыми стенками. Тип колленхимы – уголково-пластинчатый. Полость клеток заполнена бурым протопластом (рис. 3А, Б).

За слоем колленхимы располагается основная паренхима первичной коры. Её клетки крупнее колленхимных, особенно с бортов черешка. Клеточные стенки менее утолщенные, целлюлозные, без выраженных пор. Протопласт бурого цвета.

Эндодерма диагностируется в виде одного слоя крупных клеток округлой формы. Их содержимое пигментировано сильнее, чем у клеток основной паренхимы коры (рис. 3Б, Д).

Паренхима сердцевинки на поперечном сечении представлена овальными клетками с неровными очертаниями (рис. 2),

межклетники мелкие. Клеточные стенки тонкие, целлюлозные. Поровые каналы в них незаметны. В полостях клеток иногда наблюдаются остатки протопласта бурого цвета. В паренхиме сердцевинки часто встречаются крупные (до 35 мкм) друзы оксалата кальция округлой формы, неровной с поверхности (рис. 3В).

Эпидермис рахиса сложен мелкими, на поперечном сечении округлыми клетками. С поверхности эпидермис покрыт значительным слоем кутикулы, диагностируемой по розовому окрашиванию раствором Судана III (рис. 3 А, Б).

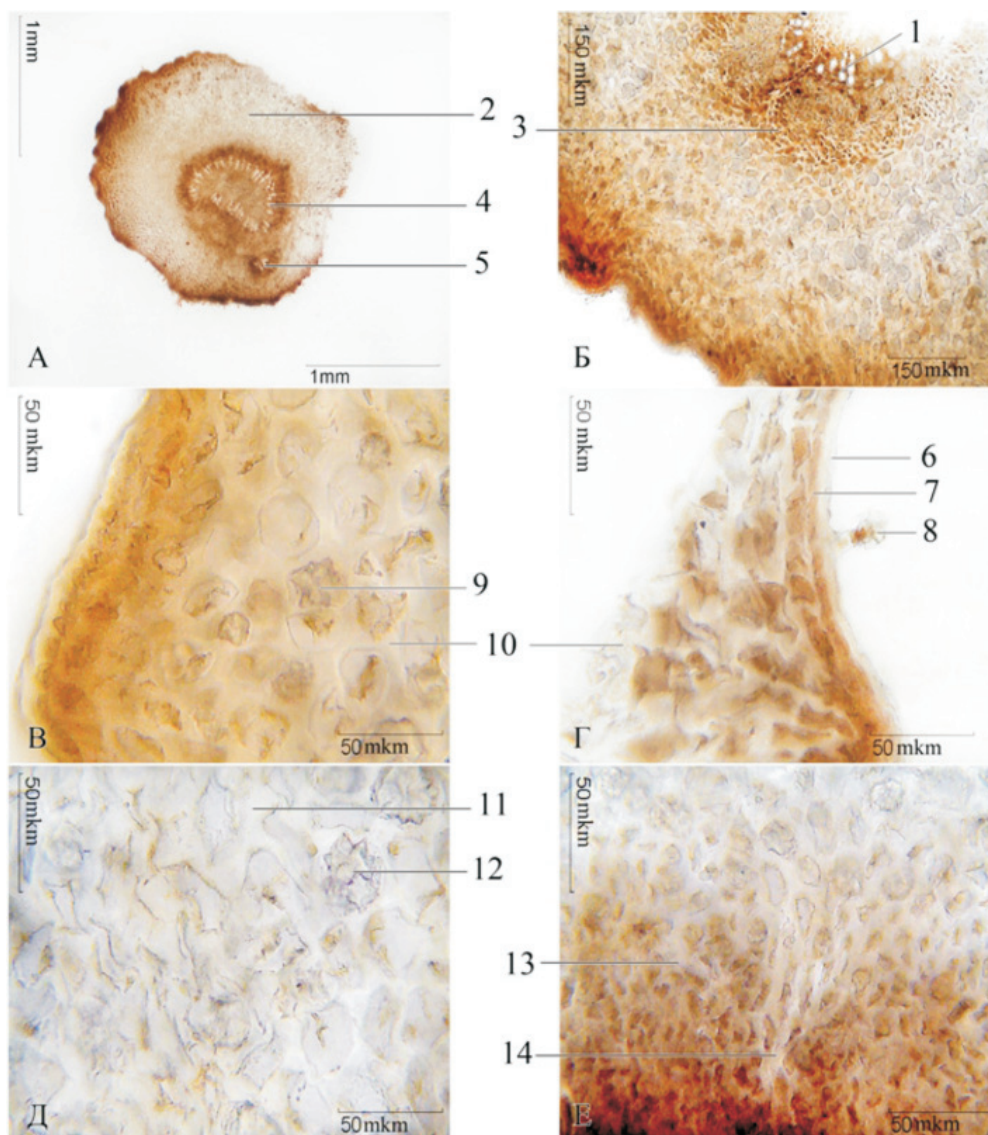


Рис. 4. Черешочек листочка ореха грецкого. Поперечный срез № 5:
 А – Общий вид (x20); Б – Фрагмент коровой части (x100); В – Фрагмент коровой части (x400);
 Г – Фрагмент коровой части с трихомой (x400); Д – Фрагмент паренхимы коры (x400);
 Е – Фрагмент центрального цилиндра (x400). Обозначения:
 1, 4 – ксилема; 2, 10 – паренхима коры; 3, 14 – сердцевинный луч; 5 – вторичный пучок;
 6 – кутикула; 7 – эпидермис; 8 – железистая трихома; 9, 12 – друзы; 11 – утолщенные стенки
 клетки; 13 – флоэма; 14 – сердцевинный луч

Эпидермис опушен железистыми трихомами, представляющими собой головчатые волоски на короткой одно-, двухклеточной ножке. Головки трихом округлые, одноклеточные с бурым пигментом под кутикулой. Они часто обламываются, из-за чего диагностируются только остатки трихом в виде ножки (рис. 3Б). Следует отметить, что в литературе подобные трихомы описаны в эпидерме листовой пластинки ореха грецкого [2].

Из морфологического описания листьев грецкого ореха известно, что листочки, прикрепляющиеся попарно к рахису листа, короткочерешковые [2]. Однако несмотря на их небольшой вклад в общую фитомассу сырья особенности строения черешочков могут быть полезными для тонкой диагностики вида.

Поперечное сечение черешочков (рис. 4А) имеет овальную форму, слегка прижатую с адаксиальной стороны. У листа, прикрепленного к рахису, черешочек непучкового типа строения. По мере приближения к листовой пластинке в поле зрения появляются вторичные пучки — жилки листа.

Эпидермис черешочка сложен мелкими клетками прямоугольной формы с сильно утолщенной внешней оболочкой. С поверхности эпидермис незначительно кутинизирован. Трихомы встречаются редко (рис. 4В, Г).

Непосредственно под эпидермой имеется слой колленхимы уголково-пластинчатого типа (рис. 4В, Г, Д).

Паренхима первичной коры (рис. 4Б) мощная, светлая на фоне темноокрашенной сердцевинной и проводящих элементов центрального цилиндра. Ближе к периферии пигментация паренхимы усиливается. Клетки первичной коры широкопросветные, со значительно утолщенными целлюлозными оболочками. Поры в стенках не заметны. Протопласт клеток живой светло-бурый. Здесь очень много крупных друз и монокристаллов.

Центральный цилиндр (рис. 4А, Б) представлен совокупностью ксилемных и флоэмных тканей, расположенных бок о бок по кольцу. Флоэмная часть по размеру превалирует над ксилемой.

Проводящие элементы ксилемы представлены мелкими сосудами, расположенными радиально. Древесная паренхима состоит из мелких клеток с сильно пигментированным содержимым и хорошо заметными клеточными стенками. Окраска пигмента темно-бурая, почти черная (рис. 4Б).

Клетки флоэмы мелкие, угловатые. Пигментация их протопластов аналогична таковой в ксилемной паренхиме, однако

менее интенсивная. По периферии флоэмная область армирована клетками, сильно утолщенные стенки которых целлюлозные. Протопласт живой, окрашен в бурый цвет (рис. 4Е).

В центре черешочка локализована небольшая сердцевина. Она сложена из относительно крупных паренхимных клеток с живым протопластом, имеющим окраску, подобную окраске древесной паренхимы. В клетках сердцевинной часто встречаются крупные друзы оксалата кальция, аналогичные описанным ранее для сердцевинной рахиса.

Основная паренхима сердцевинной контактирует с паренхимой четырех сердцевинных лучей. Строение их клеток аналогично строению клеток сердцевинной. Сердцевинные лучи делят флоэмную и ксилемную части на отдельные блоки-сечения.

Выводы

В результате проведенных исследований в рамках петиолярной анатомии впервые проанализированы диагностические признаки ореха грецкого, интродуцированного в Самарской области. Исследования подтвердили литературные данные о гистологических признаках, характерных для ореха грецкого. Помимо ранее описанных признаков выявлены дополнительные особенности строения, позволяющие проводить диагностику вида в ряду родственных таксонов.

К диагностически значимым петиолярным признакам ореха грецкого в соответствии с принципами петиолярной анатомии можно отнести:

1. Особые очертания поперечных сечений в различных местах поперечного среза рахиса (базальная, медиальная, апикальная части).
2. Наличие в базальной части рахиса (раструб) мелких ребер, армированных смятой уголково-пластинчатой колленхимой.
3. Особенности строения проводящей системы рахиса, заключающиеся в наличии одного крупного кольца проводящих элементов в центре и группы коллатеральных пучков, расположенных с адаксиальной стороны рахиса.
4. Наличие полостей рексигенного (разрывного) характера во флоэмной части с абаксиальной стороны рахиса.
5. Значительную кутинизацию эпидермиса, а также особенности его опушения, представленного мелкими железистыми трихомами.

Диагностически значимыми являются также крупные друзы округлой формы в клетках сердцевинной и уголково утолщения клеточных стенок в паренхиме коровой

части черешочков у листочков сложного листа ореха.

Полученные данные позволяют усовершенствовать существующую методику анализа для определения подлинности целевого вида сырья «Лист ореха грецкого».

Список литературы

1. Вехов Н.К. К биологии орехов рода *Juglans* // Ореховые насаждения: сб. науч. тр. / Опыты исследования ВНИАЛМИ. – М., 1934. – Вып. 3. – С. 36–39.
2. Еникеева Р.А. Исследование по фармакогностическому изучению и стандартизации сырья и препаратов Ореха грецкого (*Juglans regia* L.): автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – М., 2008. – 22 с.
3. Помогайбин А.В. Биоэкологические особенности представителей родового комплекса Орех (*Juglans*) при интродукции в условиях среднего Поволжья (г. Самаре) // Вестник СамГУ. – 2006. – № 7. – С. 172–176.
4. Помогайбин А.В. Некоторые особенности химического состава и биологической активности листового опада видов рода Орех (*Juglans* L.) при интродукции в среднем Поволжье // Химия растительного сырья. – 2002. – № 4. – С. 43–47.
5. Помогайбин А.В. Особенности плодоношения различных видов Ореха, интродуцированных в самарском Ботаническом саду // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2007. – Т. 9. – № 4. – С. 1091–1096.
6. Помогайбин А.В. Эколого-биологический анализ результатов интродукционных испытаний видов рода Орех (*Juglans* L.) в лесостепи среднего Поволжья: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Тольятти, 2008. – 23 с.
7. Сдобнина Л.И. Диагностические признаки лекарственных растений в петиолярной анатомии // Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения: тезисы докл. междунауд. науч. конф. (Пенза, 13–16 мая 2008 г.). – Пенза, 2008. – С. 75–77.

References

1. Vekhov N.K. K biologii orekhov roda *Juglans* // Orekhovye nasazhdeniya: sb. nauch. tr. / Opyty issledovaniya VNIALMI. M.: 1934. vyp. 3. pp. 36–39.

2. Enikeeva R.A. Issledovanie po farmakognosticheskomu izucheniu i standartizatsii syrja i preparatov Orekha gretskogo (*Juglans regia* L.): Avtoref. dis. kand. farm. nauk. Moskva, 2008. 22 p.

3. Pomogaybin A.V. Bioekologicheskie osobennosti predstaviteley rodovogo kompleksa Orekh (*Juglans*) pri introduktsii v usloviyakh srednego Povolzhya (g. Samare) // Vestnik SamGU. 2006. no 7. pp. 172–176.

4. Pomogaybin A.V. Nekotorye osobennosti khimicheskogo sostava i biologicheskoy aktivnosti listovogo opada vidov roda Orekh (*Juglans* L.) pri introduktsii v srednem Povolzhe // Khimiya rastitelnogo syrja. 2002. no. 4. pp. 43–47.

5. Pomogaybin A.V. Osobennosti plodonosheniya razlichnykh vidov Orekha, introdutsirovannykh v samarskom Botanicheskom sadu // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk. 2007. Vol. 9. no 4. pp. 1091–1096.

6. Pomogaybin A.V. Ekologo-biologicheskii analiz rezultatov introduktsionnykh ispytaniy vidov roda Orekh (*Juglans* L.) v lesostepi srednego Povolzhya: Avtoref. dis. kand. biologich. nauk. Tolyatti, 2008. 23 p.

7. Sdobnina L.I. Diagnosticheskie priznaki lekarstvennykh rasteniy v pyatiolrnoy anatomii // Bioraznoobrazie: problem i perspektivy sokhraneniya: tezisy dokl. mezhdunarod. nauch. konf. (Penza, 13–16 maya 2008 g.). Penza, 2008. pp. 75–77.

Рецензенты:

Первушкин С.В., д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара;

Авдеева Е.В., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара.

Работа поступила в редакцию 26.02.2014.