

Тамахина А.Я.
Tamakhina A.Ya.

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ЛИСТЬЕВ ОТДЕЛЬНЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА ONAGRACEAE

ANATOMO-MORPHOLOGICAL SIGNS LEAVES OF SEPARATE SPECIES OF THE ONAGRACEAE FAMILY

Важной проблемой сбора и продажи лекарственного растительного дикорастущего сырья является отсутствие процедуры его идентификации. Целью данного исследования стала разработка критериев подлинности листьев иван-чая узколистного (*Chamaenerium angustifolium* (L.) Scop.) и кипрея мелкоцветкового (*Epilobium parviflorum* Schreb.). Анатомо-диагностическими признаками подлинности листьев *Ch. angustifolium* являются отсутствие трихом, цельный или редкозубчатый край листовой пластины, паренхимная и кристаллоносная обкладка проводящих пучков, идиобласты с рафидами и слизью вдоль жилок и по краю листа, сферокристаллы оксалата кальция в межжилковых зонах, глобулы каучука. Для листьев *Ch. angustifolium* характерна метахромазия при окрашивании толуидиновым синим. Анатомо-диагностическими признаками листьев *E. parviflorum* являются густое опушение обеих поверхностей листа, включая центральную жилку, наличие простых нитчатых трихом, идиобластов с рафидами оксалата кальция. Для листьев *E. parviflorum* метахромазия не характерна. По данным морфометрического анализа количество устьиц листьев *Ch. angustifolium* превышает аналогичный показатель листьев *E. parviflorum* в 1,5 раза. Листья *E. parviflorum* характеризуются неравномерным опушением: среднее число кроющих волосков в 1,95 раза выше на абаксиальной поверхности листовой пластины. Трихомы умеренной длины (120–250 мкм) преобладают на верхней стороне листа, а более длинные (360–400 мкм) – на нижней. Частичная или полная замена листьев *Ch. angustifolium* листьями *E. parviflorum* ведёт к снижению ожидаемого лечебного эффекта, обусловленного значительным уменьшением в сырье энотеина В и аскорбиновой кислоты.

An important problem of the collection and sale of medicinal plant wild-growing raw materials is the lack of identification procedures. The aim of this study was to develop criteria for the authenticity of herbal tea from *Chamaenerium angustifolium* (L.) Scop. Anatomical diagnostic features of the authenticity of the leaves of *Ch. angustifolium* are the absence of trichomes, the whole or rare-toothed edge of the leaf plate, the parenchymal and crystalline lining of the conducting bundles, idioblasts with rafids and mucus along the veins and along the edge of the sheet, calcium oxalate spherocrystals in inter-vein zones, rubber globules. Metachromasia is not typical for leaves of *Ch. Angustifolium*, when stained with toluidine blue. Anatomical and diagnostic features of the leaves of *E. parviflorum* are the dense pubescence of both surfaces of the leaf, including the central vein, the presence of simple filamentous trichomes, idioblasts with rafides of calcium oxalate. For leaves of *E. parviflorum*, metachromasia is not typical. According to morphometric analysis, the number of stomata of leaves of *Ch. angustifolium* is 1.5 times higher than that of *E. parviflorum* leaves. The leaves of *E. parviflorum* are characterized with uneven pubescence: the average number of covering hairs is 1.95 times higher on the abaxial surface of the leaf plate. Trichomes of moderate length (120–250 µm) prevail on the upper side of the leaf, and longer ones (360–400 µm) prevail on the lower side. Partial or complete replacement of leaves of *Ch. angustifolium* leaves of *E. parviflorum* leads to a decrease in the expected therapeutic effect due

to a significant decrease in the raw material Oenothein B and ascorbic acid.

Ключевые слова: идентификация, листья, *Chamaenerium angustifolium*, *Epilobium parviflorum*, анатомо-диагностические признаки, качественные микрохимические и гистохимические реакции, толуидиновый синий, метахромазия.

Key words: identification, leaves, *Chamaenerium angustifolium*, *Epilobium parviflorum*, anatomical and diagnostic features, qualitative microchemical and histochemical reactions, toluidine blue, metachromasia.

Тамахина Аида Яковлевна – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры товароведения, туризма и права, ФГБОУ ВО Кабардино-Балкарский ГАУ, г. Нальчик

Тел.: 8 928 709 36 52

E-mail: aida17032007@yandex.ru

Tamakhina Aida Yakovlevna – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Department of Merchandizing, Tourism and Law, FSBEI HE Kabardino-Balkarian SAU, Nalchik

Tel.: 8 928 709 36 52

E-mail: aida17032007@yandex.ru

Введение. На территории Кабардино-Балкарской Республики семейство кипрейные (Onagraceae) представлено четырьмя родами (*Chamaenerion*, *Circaea*, *Epilobium*, *Oenothera*), среди которых самыми многочисленными являются *Chamaenerion* (4 вида) и *Epilobium* (10 видов). Многие виды кипрейных широко применяются в народной медицине, кормопроизводстве, декоративном растениеводстве, являются хорошими медоносами. Одним из самых популярных представителей Onagraceae является иван-чай узколистый, листья которого богаты дубильными веществами, аскорбиновой кислотой и используются для производства травяного (копорского) чая. В связи с тем, что листья кипрейных имеют внешнее сходство, актуальной проблемой является их видовая идентификация.

На сегодняшний день самым точным методом идентификации состава травяных смесей является высокопроизводительное секвенирование, основанное на полимеразной цепной реакции с использованием фьюжн-праймеров [1]. В связи с высокой стоимостью данной процедуры наиболее доступными и нетрудоёмкими методами видовой идентификации остаются анатомо-морфологический и гистохимический анализ отдельных органов растений.

Целью работы стала идентификация листьев кипрейных с помощью

анатоμο-морфологического и гистохимического методов.

Материалы и методы исследований. Объектом исследований стали листья иван-чая узколистного (*Chamaenerium angustifolium* (L.) Scop., далее *Ch. angustifolium*) и кипрея мелкоцветкового (*Epilobium parviflorum* Schreb., далее *E. parviflorum*) Для видовой идентификации листьев использовали определитель [2], образцы-эталоны (листья иван-чая узколистного и видов кипрея, собранные в период цветения растений) и известные описания [3, 4]. Было исследовано по 15-20 листьев каждого вида. При визуальном осмотре изучали форму листовых пластин, их длину и ширину, характер жилкования. Анатоμο-морфологический анализ листьев, предварительно обесцвеченных в 30% растворе гипохлорита натрия, включал описание края листа, расположения и типа устьичного аппарата, особенности строения и расположения трихом на абаксиальной и адаксиальной поверхностях листовой пластины, особенности расположения и типы кристаллов оксалата кальция. Для определения локализации устьиц листья контрастировали 0,1% водным раствором толуидинового синего. Определяли среднее количество устьиц и волосков на 1 мм², длину трихом, исследовав по 3-5 полей зрения на обеих поверхностях листовой пластинки при общем увеличении светового микроскопа 120х. С помощью общепринятых качественных микрохимических и гистохимических реакций в листьях выявляли липофильные и дубильные вещества, алкалоиды, полисахариды, аскорбиновую кислоту [5].

Результаты и обсуждение. Листья *Ch. angustifolium* узколанцетные, довольно длинные (до 11-12 см) и неширокие (до 2-х см). Верхушка листа острая с хрящеватым кончиком. Основание листа тупое или клинообразное, край листа слегка цельный или с редкими зубцами. От средней жилки под углом 60–90° отходят многочисленные боковые жилки (по 10–25 с каждой стороны), которые отчётливо выделяются на нижней стороне листа. Лист гипостоматический с расположением устьиц на нижней поверхности листовой пластины. Устьица являются аномоцитными и окружены четырьмя, реже пятью

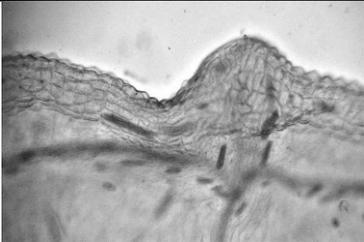
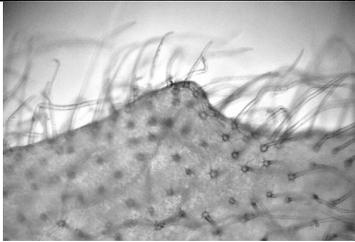
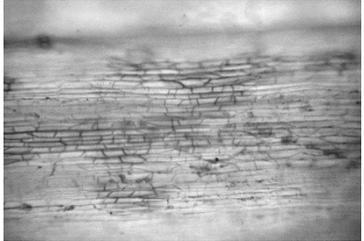
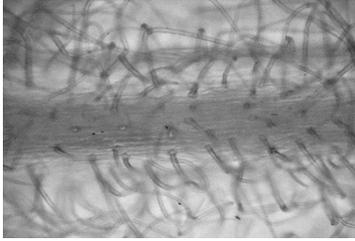
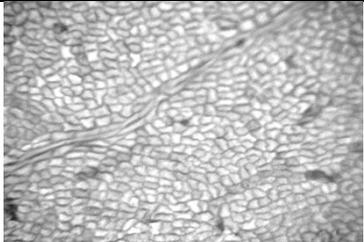
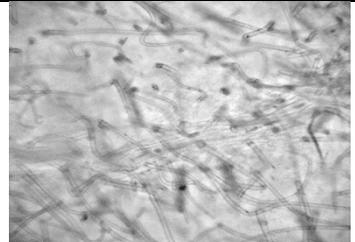
околоустьичными клетками. Листовая пластина нежелезистая. Основные клетки эпидермы адаксиальной поверхности листа – округлые или прямостенные, с утолщёнными стенками, а абаксиальной – извилистые, покрытые толстым слоем складчатой кутикулы. В мезофилле, в основном вдоль жилок, по краю листа и в обкладке центральной жилки расположены крупные идиобласты с рафидами и слизию. В неспециализированных клетках мезофилла межжилковых зон оксалат кальция откладывается в виде сферокристаллов. Характерным признаком листьев являются глобулы каучука, выявляемые при микроскопии.

Листья *E. parviflorum* продолговато-ланцетные или узко яйцевидные длиной, их длина варьирует от 2-х до 3,5 см, а ширина - от 0,5 до 1-го см. Обе поверхности листовой пластины ворсистые, основание округлое, края зубчатые с неравномерно расположенными зубцами (по 20–54 с каждой стороны). Устьица расположены только на нижней поверхности листовой пластины (гипостоматность). Нежелезистые волоски (кроющие трихомы) представляют собой простые тонкостенные нитевидные волоски из 1 более клеток, их длина достигает 600 мкм и более. Более короткие волоски (длина до 250 мкм) расположены на адаксиальной поверхности, а более длинные (300 мкм и более) – на абаксиальной. Опушение более выражено на абаксиальной поверхности листьев. Основные клетки эпидермы адаксиальной поверхности листа – округло-слабоизвилистые или прямостенные, а абаксиальной – извилистые. Кутикула не выражена. В мезофилле листа вдоль жилок расположены крупные идиобласты с рафидами и слизию.

По данным сравнительного анализа анатомо-диагностическими признаками листьев *Ch. angustifolium* являются: отсутствие трихом, идиобласты с рафидами и слизию вдоль жилок и по краю листа, сферокристаллы оксалата кальция в межжилковых зонах, глобулы каучука, цельный или редкозубчатый край листовой пластины, паренхимная и кристаллоносная обкладка проводящих пучков (табл. 1).

Анатомо-диагностическими признаками листьев *E. parviflorum* являются густое опушение обеих поверхностей листа, включая центральную жилку, наличие простых нитчатых трихом, идиобластов с рафидами оксалата кальция.

Таблица 1 – Сравнительный анатомо-морфологический анализ листьев *Ch. angustifolium* и *E. parviflorum*

<i>Chamaenerium angustifolium</i>		<i>Epilobium parviflorum</i>	
Край листа			
			
Характер опушения центральной жилки			
			
Характер опушения межжилковой зоны			
			

По данным морфометрического анализа количество устьиц листьев иван-чая превышает аналогичный показатель листьев *E. parviflorum* в 1,5 раза (табл. 2). Листья кипрея характеризуются неравномерным опушением: среднее число кроющих волосков в 1,95 раза выше на абаксиальной поверхности листовой пластины. Трихомы умеренной длины (120–250 мкм) преобладают на верхней стороне листа, а более длинные (360–400 мкм) – на нижней.

Таблица 2 – Морфометрические показатели листьев иван-чая узколистного и кипрея мелкоцветкового

Виды	Число устьиц,	Число волосков, шт./мм ² , на поверхности листовой	Длина трихом, мкм
------	---------------	---	-------------------

	шт./мм ²	пластины		min	max
		адаксиальной	абаксиальной		
<i>Ch. angustifolium</i>	585±15	–	–	–	–
<i>E. parviflorum</i>	390±13	110,82±11,50	215,67±17,43	46,38	630,96

Качественными реакциями в листьях *Ch. angustifolium* и *E. parviflorum* выявлены липофильные вещества, полисахариды, дубильные вещества, алкалоиды и аскорбиновая кислота (табл. 3).

Таблица 3 – Биологически активные вещества (БАВ), выявляемые в листьях качественными реакциями

БАВ	<i>Ch. angustifolium</i>		<i>E. parviflorum</i>	
	1 ¹⁾	2 ²⁾	1	2
Липофильные вещества	+	8,4% [3]	+	Нет данных
Дубильные вещества	+	12,42-38,56% [6, 7], в т.ч. танины – 135,97 ³⁾ [3], 203,86-206,82 мг/г [8]	±	Более 2% ³⁾ [11]
Алкалоиды	+	До 1% [9]	±	Сл. [9]
Полисахариды	+	Легкогидролизуемые (слизь, пектин) 15-29,03% [6, 9, 10]; трудногидролизуемые - 14,06% [6]	0	Нет данных
Аскорбиновая кислота	+	До 388 мг% [9]	±	71,59 мг% [7]

¹⁾ Степень окрашивания: интенсивное (+), слабое (±), отсутствует (0)

²⁾ Содержание вещества в пересчёте на абс. с. с.

³⁾ В пересчёте на энотеин В

Окрашивание 3% водным раствором толуидинового синего листьев *Ch. angustifolium*, предварительно обработанных 9% уксусной кислотой, позволило выявить бета- и гамма-метахромазию клеток эпидермы, межклетников мезофилла на отдельных участках межжилковых зон и вокруг проводящих пучков, обусловленную высокой концентрацией слабых кислотных групп (оксикислоты), слизи и пектина. Для листьев *E. parviflorum* подобная метахромазия не характерна.

Особенностями химического состава *Ch. angustifolium* являются высокое содержание аскорбиновой кислоты (до 400 мг%) и энотеина В (до 107,79 мг/г)

[3], что в 40 раз превышает аналогичный показатель листьев *E. parviflorum*. Энотеин В эффективен в лечении патологии простатита. Отвар травы *Ch. angustifolium* используют как седативное, противовоспалительное, обволакивающее, противоаллергическое, противоотёчное, а также противоопухолевое средство в урологии [9]. Для экстрактов иван-чая характерны антиоксидантная, противовоспалительная, антиандрогенная, антипролиферативная, антимикробная фунгицидная активность [8, 12]. Благодаря наличию теобромину (0,049%), высокому содержанию фенольных веществ и окислительных ферментов, обуславливающих выраженный цвет настоя, вкус и запах, фиточай из листьев *Ch. angustifolium* (копорский чай) приобрёл популярность как заменитель байхового чая с мягким седативным эффектом. Иван-чай входит в состав фитокомплекса «Нейростабил» как источник витамина С [13].

Экстракт *E. parviflorum* проявляет антибактериальную, антипролиферативную, антиоксидантную и противовоспалительную активность [14]. В народной медицине водный настой листьев применяется при головной боли, нарушении обмена веществ, язве желудка, для лечения воспалений предстательной железы и аденомы простаты.

Анализ литературных источников свидетельствует о сходстве химического состава изученных видов. При этом травяной чай из *Ch. angustifolium* отличается значительно более высоким содержанием энотеина В и аскорбиновой кислоты. Следовательно, частичная замена листьев иван-чая узколистных листьями *E. parviflorum* ведёт к снижению ожидаемого лечебного эффекта травяного чая, применяемого, в частности, для профилактики и лечения авитаминоза С, воспалений предстательной железы и аденомы простаты.

Область применения результатов. Ботаника.

Заключение. Анатомо-диагностическими признаками подлинности листьев *Chamaenerium angustifolium* являются отсутствие трихом, идиобласты с

рафидами и слизью вдоль жилок и по краю листа, сферокристаллы оксалата кальция в межжилковых зонах, глобулы каучука, цельный или редкозубчатый край листовой пластины, паренхимная и кристаллоносная обкладка проводящих пучков. Для листьев *Ch. angustifolium* характерна метакромазия при окраске толуидиновым синим. Анатомо-диагностическими признаками листьев *E. parviflorum* являются густое опушение обеих поверхностей листа, включая центральную жилку, наличие простых нитчатых трихом, идиобластов с рафидами оксалата кальция. Частичная или полная замена листьев иван-чая узколистного листьями *Epilobium parviflorum* является ассортиментной и качественной фальсификацией копорского чая и ведёт к снижению ожидаемого лечебного эффекта, обусловленного значительным уменьшением в сырье энотеина В и аскорбиновой кислоты.

Литература

1. Сперанская А.С., Логачева М.Д., Криницына А.А., Хафизов К.Ф. Идентификация дербенника в качестве ошибочного компонента травяных чаёв, в составе которых заявлен кипрей, методом высокопроизводительного секвенирования // Молекулярная диагностика 2017: Сб. трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. М.: ООО фирма «Юлис», 2017. С. 418–419.
2. Галушко А.И. Флора Северного Кавказа. Определитель. Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского университета. 1980. Т. 2. 352 с.
3. Валов Р.И., Ханина М.А. Фармакогностическое исследование надземной части *Chamaenerium angustifolium* (L.) Holub флоры Сибири // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. 2008. № 4. С. 296–298.
4. Серебряная Ф.К., Посевин И.И. Морфолого-анатомическое исследование иван-чая узколистного (*Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.), произрастающего на Северном Кавказе // Фармация и фармакология Т. 4 № 2 (15), 2016. С. 79–87.

5. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Р.П. Барыкина, Т.Д. Веселова, А.Г. Девятков и др. М.: Изд-во МГУ, 2004. 312 с.

6. Полежаева И.В., Полежаева Н.И., Меняйло Л.Н., Павленко Н.И., Левданский В.А. Изучение экстрактивных веществ *Chamaenerium angustifolium* (L.) Holub // Химия растительного сырья. 2005. №1. С. 25–29.

7. Тютюнников А.И., Цугкиев Б.Г. Химический состав нетрадиционных кормовых и лекарственных растений: Справочное пособие. М.: РАСХН; Владикавказ: Горский ГАУ, 1996. 135 с.

8. Бушуева Г.Р., Сыроешкин А.В., Максимова Т.В., Скальный А.В. Кипрей узколистный – перспективный источник биологически активных соединений // Микроэлементы в медицине. 2016. 17(2). С. 15–23.

9. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейства Hydrangeaceae-Haloragaceae / под ред. П.Д. Соколова. Л.: Наука, 1987. 326 с.

10. Валов Р.И., Ханина М.А. Полисахаридный состав надземной части *Chamaenerium angustifolium* (L.) Holub. // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы IV Всероссийской конференции. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2009. Кн. 1. С. 143–144.

11. Kiss, A.K., Filipek, A., Bazyliko, A., Granica, S., Jaszewska, E., Kiarszys, U., Kośmider, A. & Piwowarski, J. (2010). Oenothein B's contribution to the anti-inflammatory and antioxidant activity of *Epilobium* sp. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 18(7), p. 557–560.

12. Kosalec, I., Kopjar, N. & Kremer, D. (2013). Antimicrobial activity of Willowherb (*Epilobium angustifolium* L.) leaves and flowers. *Curr Drug Targets*, 14 (9), p. 986–991.

13. Подзорова Г.А., Австриевских А.Н., Позняковский В.М. Рецептура, технология производства и товароведная характеристика биологически активной добавки «Нейростабил» // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2018. Т. 6.

№ 1. С. 77–83.

14. Hevesi, B.T., Houghton, P.J., Habtemariam, S. & Kery, A. (2009). Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Epilobium parviflorum* Schreb. *Phytotherapy Research*, 23 (5), p. 719–724.

References

1. Speranskaja A.S., Logacheva M.D., Krinicyna A.A., Hafizov K.F. Identifikacija derbennika v kachestve oshibochnogo komponenta travjanyh čajov, v sostave kotoryh zajavlen kiprej, metodom vysokoproizvoditel'nogo sekvenirovanija // Molekuljarnaja diagnostika 2017: Sb. trudov IH Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. M.: OOO firma «Julis», 2017. S. 418–419.

2. Galushko A.I. Flora Severnogo Kavkaza. Opredelitel'. Rostov-na-Donu: Izd-vo Rostovskogo universiteta. 1980. T. 2. 352 s.

3. Valov R.I., Hanina M.A. Farmakognosticheskoe issledovanie nadzemnoj chasti *Chamaenerium angustifolium* (L.) Holub flory Sibiri // Vestnik Permskoj gosudarstvennoj farmacevticheskoj akademii. 2008. № 4. S. 296–298.

4. Serebrjanaja F.K., Posevin I.I. Morfologo-anatomicheskoe issledovanie ivan-čaja uzkolistnogo (*Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.), proizrastajushhego na Severnom Kavkaze // Farmacija i farmakologija T. 4 № 2 (15), 2016. S. 79–87.

5. Spravochnik po botanicheskoj mikrotehnikе. Osnovy i metody / R.P. Barykina, T.D. Veselova, A.G. Devjatov i dr. M.: Izd-vo MGU, 2004. 312 s.

6. Polezhaeva I.V., Polezhaeva N.I., Menjajlo L.N., Pavlenko N.I., Levdanskij V.A. Izuchenie jekstraktivnyh veshhestv *Chamaenerium angustifolium* (L.) Holub // Himija rastitel'nogo syr'ja. 2005. №1. S. 25–29.

7. Tjutjunnikov A.I., Cugkiev B.G. Himicheskij sostav netradicionnyh kormovyh i lekarstvennyh rastenij: Spravochnoe posobie. M.: RASHN; Vladikavkaz: Gorskij GAU, 1996. 135 s.

8. Bushueva G.R., Syroeshkin A.V., Maksimova T.V., Skal'nyj A.V. Kiprej uzkolistnyj – perspektivnyj istochnik biologicheski aktivnyh soedinenij //

Mikrojelementy v medicine. 2016. 17(2). S. 15–23.

9. Rastitel'nye resursy SSSR. Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie: Semejstva Hydrangeaceae-Haloragaceae / pod red. P.D. Sokolova. L.: Nauka, 1987. 326 c.

10. Valov R.I., Hanina M.A. Polisaharidnyj sostav nadzemnoj chasti *Chamaenerium angustifolium* (L.) Holub. // Novye dostizhenija v himii i himicheskoj tehnologii rastitel'nogo syr'ja: materialy IV Vserossijskoj konferencii. Barnaul: Izd-vo Alt. un-ta, 2009. Kn. 1. S. 143–144.

11. Kiss, A.K., Filipek, A., Bazylko, A., Granica, S., Jaszewska, E., Kiarszys, U., Kośmider, A. & Piwowarski, J. (2010). Oenothain B's contribution to the anti-inflammatory and antioxidant activity of *Epilobium* sp. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 18(7), p. 557–560.

12. Kosalec, I., Kopjar, N. & Kremer, D. (2013). Antimicrobial activity of Willowherb (*Epilobium angustifolium* L.) leaves and flowers. *Curr Drug Targets*, 14 (9), p. 986–991.

13. Podzorova G.A., Avstrieviskih A.N., Poznjakovskij V.M. Receptura, tehnologija proizvodstva i tovarovednaja harakteristika biologicheski aktivnoj dobavki «Nejrostabil» // Vestnik Juzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Pishhevye i biotehnologii. 2018. T. 6. № 1. S. 77–83.

14. Hevesi, B.T., Houghton, P.J., Habtemariam, S. & Kery, A. (2009). Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Epilobium parviflorum* Schreb. *Phytotherapy Research*, 23 (5), p. 719–724.