



УДК 581.4

СТРУКТУРА И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ТРИХОМ У ДВУХ ВИДОВ *DORONICUM* (ASTERACEAE)

Ольга Костина* и Людмила Муравник

Аннотация. В настоящей работе методами световой и электронной микроскопии, а также гистохимии исследованы нежелезистые и 3 типа железистых трихом, локализованных на цветоносе и листочках обертки у двух видов растений (*Doronicum orientale* и *D. macrophyllum*) из трибы Senecioneae сем. Asteraceae. Характер расположения, морфология и анатомия трихом двух видов различны. Выявлено, что у *D. orientale* формируется 3 типа железистых трихом, тогда как у *D. macrophyllum* только 1 тип. С помощью флуоресцентной микроскопии и гистохимических тестов было показано, что в железистых волосках присутствуют фенольные соединения, терпеноиды и сесквитерпеновые лактоны. Полученные результаты позволяют предположить, что секрет трихом играет роль химического барьера для насекомых и грибов.

Ключевые слова: *Doronicum orientale*, *Doronicum macrophyllum*, трихомы, морфология, анатомия, гистохимия

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376, Россия;
* olga.kostina@list.ru

Введение

Одним из видоспецифических признаков представителей сем. Asteraceae является присутствие на различных частях растений железистых и простых волосков (METCALFE & SNALK 1950), которые способны синтезировать различные химические соединения. Наиболее крупная триба, входящая в состав семейства Asteraceae – Senecioneae. Некоторые крестовники являются важными лекарственными растениями. Изучение секреторных структур у представителей этой трибы практически не проводилось. Исключение составляют только виды *Cineraria* L. (CRON *et al.* 2006), *Emilia* Cass. (ADEDEJI 2008) и *Abrotanella* Cass. (SWENSON 1995). В нашей работе изучались железки вегетативных и репродуктивных органов у двух видов *Doronicum* L. – *D. orientale* Hoffm. и *D. macrophyllum* Fisch. Растения этого рода используются до последнего времени как декоративные. Данные об их химическом составе касаются только подземных органов (Буданцев и др. 2012). Задача работы состояла в установлении структурных особенностей

железок *D. orientale* и *D. macrophyllum* и определении состава выделяемых веществ.

Материалы и методы исследований

Растительный материал. Растения *D. orientale* и *D. macrophyllum* были собраны на территории Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург. Сбор материала осуществляли в июне 2013 г., для исследований использовали железистые трихомы, расположенные на цветоносе, на листочках обертки и в основании лепестков язычковых цветков.

Сканирующая микроскопия. Железки фиксировали 3% раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере pH 7.2 и 4% раствором параформальдегида на воде (1:1) в течение 6 ч при 0°C, промывали тем же буфером, постфиксировали 2% раствором четырехокси осмия в течение 16 ч, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и в ацетоне, а затем высушивали при критической точке с помощью устройства HCP-2 (Hitachi, Япония), анализировали и фотографировали в сканирующем электронном микроскопе Jeol JSM 35C (Jeol,

Япония) с ускоряющим напряжением 14 kV.

Световая микроскопия. Гистохимические тесты проводили на свежесрезанных железках, находящихся на стадии активной секреции. Наблюдения осуществляли на флуоресцентном микроскопе Axio Scope A1 (Carl Zeiss), оснащенном набором флуоресцентных фильтров (возбуждение (BP) 450-490 нм, дихроичный фильтр 510 нм, широкополосная эмиссия (LP) 515 нм) и видеокамерой AxioCam RMc5 (Zeiss, Germany).

Гистохимические тесты. Полифенолы обнаруживали в реакции с Toluidine Blue O по зеленому окрашиванию (GUTMANN 1995).

Терпены под воздействием реакции NADI приобретали фиолетово-сиреневую окраску (DAVID & CARDE 1964). Сесквитерпеновые лактоны определяли при взаимодействии с концентрированной HCl по оранжевому окрашиванию (GEISSMANN & GRIFFIN 1971).

Флуоресцентная микроскопия. Автофлуоресценция фенольных соединений обнаруживалась на свежем материале без дополнительного окрашивания флуоресцентными маркерами.

Результаты и их обсуждение

Морфология

У *D. orientale* присутствует 3 типа железистых трихом, которые различаются между собой по числу и характеру расположения клеток головки. В железках 1-го типа головка содержит от 3 до 5 клеток (Рис. 1 А), составляющих один слой; 2-го типа – 2-3 клетки (Рис. 1 Б); 3-го типа тоже 2 клетки (Рис. 1 В). Головки всех типов опираются на длинные двурядные ножки. Трихомы 1-го типа – наиболее крупные (диаметр их головки 65 мкм, высота ножки 127 мкм), трихомы 2-го типа – меньшего размера ($d=54$ мкм, $h=110$ мкм), 3-го типа – мелкие ($d=25$ мкм, $h=80$ мкм). У *D. macrophyllum* формируются трихомы преимущественно одного типа, имеющие 2 клетки головки на более длинных ножках ($d=45$ мкм, $h=300$ мкм) (Рис. 1 Г, Д). Очень редко встречаются 3-х клеточные трихомы.

Анатомия

У *D. orientale* железистые трихомы 1-го типа формируются в результате одного антиклинального деления инициальной клетки, серии периклинальных делений дочерних клеток и 1-3 антиклинальных делений терминальных клеток, которые впоследствии дифференцируются как секреторные. Зрелые секреторные клетки могут иметь конусовидную или округлую форму. В центре головки образуется чашевидное углубление, в котором может скапливаться секрет. В трихомах 2-го типа секреторные клетки округлой формы. Клетки головки железок 3-го типа имеют округлую форму. У *D. macrophyllum* клетки головки имеют бобовидную форму с углублением в центре.

У всех типов железок секреторные клетки и несколько верхних клеток ножки имеют плотную цитоплазму, хорошо выраженные ядра и вакуоли. На поверхности головки формируется субкутикулярная полость. В ней накапливается секрет, который выводится на поверхность путем механического разрыва кутикулы. Подобный способ накопления и выведения секрета является общим признаком для железок многих семейств, в том числе и для представителей сем. Asteraceae (ASCENSAO & PAIS 1982; PAGNI 1995; PAGNI *et al.* 2003; CICCARELLI *et al.* 2007).

У изученных нами видов *Doronicum* все железки многоклеточные и двурядные, что характерно для секреторных структур представителей сем. Asteraceae (например, у видов *Chrysolaena* H. Rob. – APPEZZATO-DA-GLORIA *et al.* 2012, *Artemisia annua* L. – DUKE & PAUL 1993, *Matricaria chamomilla* L. – ANDREUCCI *et al.* 2008).

Характер расположения трихом

У *D. orientale* железистые и нежелезистые трихомы располагаются на цветоносе, листочках обертки и в основании лепестков язычковых цветков. На цветоносе и листочках обертки присутствуют все три типа трихом, при этом по числу преобладает 1-ый тип, 2-ой тип встречается реже и не регулярно, 3-ий тип является наиболее редким; кроме того, часто

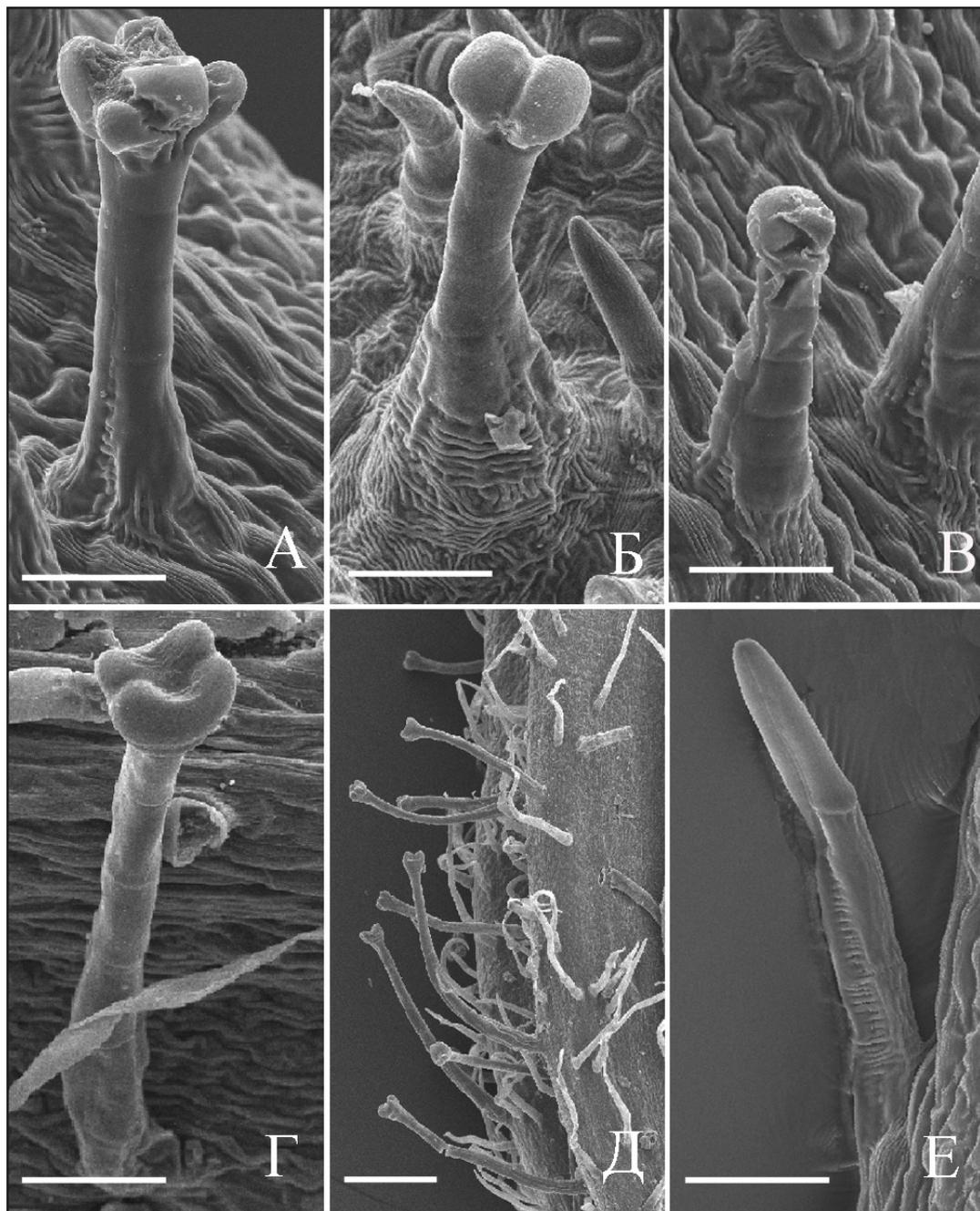


Рис. 1. Морфологические типы железистых и нежелезистых трихом у *Doronicum orientale* (А-В, Е) и *D. macrophyllum* (Г, Д): А – трихома 1-го типа; Б – трихома 2-го типа; В – трихома 3-го типа; Г – 2-клеточная трихома; Д – общий вид края листочка обертки; Е – простой волосок. Масштабные линейки: А-Г, Е – 50 мкм; Д – 200 мкм.

Fig. 1. Morphological types of the glandular and non-glandular trichomes in *Doronicum orientale* (А-В, Е) and *D. macrophyllum* (Г, Д): А – 1st-type trichome; Б – 2nd-type trichome; В – 3rd-type trichome; Г – 2-celled trichome; Д – common view of the phyllary edge; Е – a simple non-glandular trichome. Scale bars: А-Г, Е – 50 μm ; Д – 200 μm .

встречаются двурядные, многоклеточные нежелезистые трихомы (рис. Е). В основании лепестков формируется только один тип трихом (Рис. 1 В). У *D. macrophyllum* трихомы образуются на цветоносе и листочках обертки.

Гистохимия

На живом материале железки 1-го типа имеют ярко-желтую окраску, железки 2-го и 3-го типов окрашены в светло-зеленый цвет. Можно предположить, что естественная окраска железок 1-го типа может быть обусловлена синтезом каких-то липидных соединений. Для всех типов трихом *D. orientale* был проведен ряд гистохимических тестов по выявлению различных веществ. В результате установлено, что в секреторных структурах разных типов присутствуют одинаковые соединения, однако между типами имеются некоторые различия, которые выражаются в степени автофлуоресценции, в локализации красителей и интенсивности окрашивания ими.

После применения толуидинового синего полифенолы цитоплазмы окрашиваются в малахитовый цвет, а секрет трихом – в темно-синий. Наибольшая концентрация полифенолов и танинов наблюдается в секреторных клетках головок и в верхних клетках ножки. Интенсивная зеленая автофлуоресценция, характерная для фенольных соединений, обнаруживается в секреторных клетках и в верхних клетках ножки. Известно, что цвет флуоресценции зависит от типа фенольных соединений, он может быть темно-желтым, зеленым или голубым при освещении ультрафиолетом с длиной волны 365 нм (Сомбринск *et al.* 2007). Терпеноиды дают фиолетовую окраску в оболочках и субкутикулярной полости, сесквитерпены выявляются по оранжевому цвету цитоплазмы секреторных клеток головки и верхних клеток ножки. В секрет *D. orientale* входят различные фенольные соединения, терпеноиды и сесквитерпеновые лактоны. Подобный химический состав характерен для многих представителей семейства: *Artemisia*

umbelliformis Lam. (Cappelletti *et al.* 1986), *Salvia officinalis* L. (Corsi & Bottega 1999), *Inula viscosa* (L.) Aiton (Nikolakaki & Christodoulakis 2004), *Chrysolaena obovata* (Less.) M. Dematteis (Appezzato-da-Gloria *et al.* 2012).

Заключение

Таким образом, на поверхности вегетативных и репродуктивных органов растений *Doronicum* встречается несколько типов железистых структур, как и у других представителей этого семейства (Heinrich *et al.* 2002; Appezzato-da-Gloria 2012). Выделяемые железками терпеноиды и фенольные соединения могут выполнять различные функции: они могут защищать вегетативные и репродуктивные структуры от поедания насекомыми-вредителями, а также играют роль антибактериального и фунгицидного барьера.

Цитируемые источники

- Буданцев А.А., Беленовская Л.М., Лесиовская Е.Е. 2012. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 1. Роды *Achillea* – *Doronicum*: 312. Товарищество научных изданий КМК, Санкт-Петербург – Москва.
- ADEDEJI O. 2008. Importance of leaf epidermal characters in the Asteraceae family. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 36 (2): 7–16.
- ANDREUCCI A., CICCARELLI D., DESIDER M., PAGNI M. 2008. Glandular hairs and secretory ducts of *Matricaria* (Asteraceae): morphology and histochemistry. *Ann. Bot. Fennici* 45: 11–18.
- APPEZZATO-DA-GLORIA B., COSTA F.B., SILVA V.C., GOBBO-NETO L., REHDER V.L.G., HAYASHI A.H.H. 2012. Glandular trichomes on aerial and underground organs in *Chrysolaena* species (Vernonieae – Asteraceae): structure, ultrastructure and chemical composition. *Flora* 207 (12): 878–887.
- ASCENSAO L., PAIS M.S. 1982. Secretory trichomes from *Artemisia crithmifolia*: some ultrastructural aspects. *Bull. Soc. Bot. Fr., Act. Bot.* 129 (1): 3–7.
- CAPPELLETTI E.M., CANIATO R., APPENDINO G. 1986. Localization of the cytotoxic hydroperoxy eudesmanolides in *Artemisia umbelliformis*. *Biochem. Syst. Ecol.* 14: 183–190.

- CICCARELLI D., GARBARI F., PAGNI A. 2007.** Glandular hairs of the ovary: a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy? *Ann. Bot. Fenn.* **44**: 1–7.
- COMBRINK S., PLOOY G.W., MCCRINDLE R.I., BOTHA B.M. 2007.** Morphology and histochemistry of the glandular trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Ann. Bot.* **99**: 1111–1119.
- CORSI G., BOTTEGA S. 1999.** Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Ann. Bot.* **84**: 657–664.
- CRON G., BALKWILL K., KNOX E. 2006.** Two new species of *Cineraria* (Senecioneae, Asteraceae) from KwaZulu-Natal, South Africa. *S. Afr. J. Bot.* **72**: 34–39.
- DAVID R., CARDE J-P. 1964.** Coloration differentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophilles du pin maritime au moyen du reactif nadi. *C. R. Acad. Sci.* **258**: 1338–1340.
- DUKE S., PAUL R. 1993.** Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. *Int. J. Plant Sci.* **154** (1): 107–118.
- GEISSMANN T.A., GRIFFIN T.S. 1971.** Sesquiterpene lactones: acid-catalysed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochem.* **10**: 2475–2485.
- GUTMANN M. 1995.** Improved staining procedures for photographic documentation of phenolic deposits in semi-thinsections of plant tissue. *J. Microsc.* **179**: 277–281.
- HEINRICH G., PFEIFHOFER H., STABENTHEINER E., SAWIDIS T. 2002.** Glandular hairs of *Sigesbeckia jorullensis* Kunth (Asteraceae): morphology, histochemistry and composition of essential oil. *Ann. Bot.* **89**: 459–469.
- METCALFE C.R., CHALK L. 1950.** Anatomy of the decotyledons. 2nd ed. Clarendon Press, Oxford.
- NIKOLAKAKI A., CHRISTODOULAKIS N. 2004.** Leaf structure and cytochemical investigation of secretory tissues in *Inula viscosa*. *Bot. J. Linn. Soc.* **144**: 437–448.
- PAGNI A.M. 1995.** Secretory structures in the capitula of *Santolina leucantha* Bertol. (Asteraceae). Morphology and histochemistry. *Ann. Bot. (Roma)* **53**: 239–249.
- PAGNI A.M., ORLANDO R., MASINI A., CICCARELLI D. 2003.** Secretory structures of *Santolina ligustica* Arrigoni (Asteraceae) an Italian endemic species. *Israel J. Plant Sci.* **51**: 185–192.
- SWENSON U. 1995.** Systematics of *Abrotanella*, an amphipacific genus of Asteraceae (Senecioneae). *Pl. Syst. Evol.* **197**: 149–193.

STRUCTURE AND CHEMICAL CONTENT OF THE TRICHOMES IN TWO *DORONICUM* SPECIES (ASTERACEAE)

OLGA V. KOSTINA * & LYUDMILA E. MURAVNIK

Abstract. Non-glandular and three types of glandular trichomes localized on a peduncle and the phyllaries of two species (*Doronicum orientale* and *D. macrophyllum*) belonging to Senecioneae tribe of Asteraceae were studied by light and electron microscopy, as well as on histochemistry. The plant species differ on the trichome morphology, anatomy and arrangement. Three types of the glandular trichomes are formed on the vegetative and reproductive organs in *D. orientale*, whereas only one type exists in *D. macrophyllum*. It was shown by fluorescent microscopy and histochemistry that the phenolic substances, terpenoids and sesquiterpene lactones present in the glandular trichomes. The received results allow assuming that secretion of the trichomes is a chemical barrier to insects and fungi.

Key words: *Doronicum orientale*, *Doronicum macrophyllum*, trichomes, morphology, anatomy, histochemistry

Laboratory of Plant Anatomy and Morphology, Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Sciences, Prof. Popov str. 2, 197376 St. Petersburg, Russia; * olga.kostina@list.ru