

ЛЕКАРСТВЕННОЕ РАСТИТЕЛЬНОЕ СЫРЬЕ КРАСНОЯРСКОЙ ЛЕСОСТЕПИ И ЕГО ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ОСНОВЕ АНАТОМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ

С целью формирования электронной базы изображений эпидермиса листьев для идентификации подлинности лекарственного растительного сырья изучали 16 видов растений, произрастающих в Красноярской лесостепи.

Показано, что растения разных видов одного и того же семейства отличаются по форме эпидермальных клеток и по числу устьиц на единице площади.

Ключевые слова: лекарственные растения, идентификация, лист, эпидермис, устьица.

V.I. Polonskiy, Dj.E. Polonskaya, T.V. Kozlovskaya

MEDICINAL HERBAL STUFF OF THE KRASNOYARSK FOREST STEPPE AND ITS IDENTIFICATION ON THE BASIS OF THE LEAF EPIDERMAL CELL ANATOMICAL CHARACTERISTICS

16 plant species growing in the Krasnoyarsk forest steppe were studied in order to form the electronic database of the leaf epidermis images for identification the medicinal herbal stuff authenticity.

It was shown that plants of different species of the same family differ according to the epidermal cell form and the stomata number per area unit.

Key words: medicinal plants, identification, leaf, epidermis, stomata.

Красноярская лесостепь представляет собой ареал распространения многих видов официальных и неофициальных лекарственных растений, которые являются ценнейшим исходным материалом и незаменимым источником разнообразных эффективных фармацевтических новинок. Отсутствие нежелательных побочных эффектов при их употреблении является одной из главных причин популярности относительно слабо действующих растительных лекарственных средств. Лекарственное растительное сырье представляет собой свежие или высушенные растения либо их части, используемые для производства лекарственных средств.

Основным направлением фальсификации лекарственного сырья с давних времен является подделка подлинности и количественного состава измельченных растительных порошков [1]. Кроме того могут иметь место непреднамеренные фальсификации лекарственного растительного сырья из близких видов растений, имеющих совмещенные ареалы распространения [2]. В связи с этим очень часто фальсификация сырья возникает на этапе его заготовки. К тому же недостаточный контроль подлинности сырья приводит к использованию при производстве фасованного сырья и лекарственных растительных сборов неофициальных видов растений, не внесенных в действующую Государственную фармакопею [3]. Определение подлинности неизвестного цельного, а особенно измельченного и порошкового лекарственного растительного сырья часто вызывает значительные затруднения, особенно в тех случаях, когда оно мало отличается от близких нелекарственных видов. Перспективным подходом считается разрабатываемая идентификация на основе специфических биологически активных соединений – хемотаксономических и биохимических маркеров. Однако обычно для установления подлинности лекарственного сырья и предупреждения фальсификации используют определители, в которые включены растения не только лекарственные, но и внешне сходные с ними и являющиеся возможными примесями, что важно для отличия их от официального сырья [4], а также применяются фармакопейные методы, например микроскопический анализ.

Для того чтобы уверенно отличить фальсифицированное лекарственное сырье от истинного, необходимо иметь на вооружении метод проведения соответствующей экспертизы. Выполнение последней предполагает сравнение лекарственного сырья, заготовленного из проверяемых растений, с эталоном. В качестве последнего при заготовке надземной части фитомассы может служить рисунок или фотоизображение

анатомического строения эпидермиса листьев или цветков [5,6], что может служить ценным источником информации и обеспечить удобные стандарты для идентификации растительного материала [7–15].

Сегодня в Российской Федерации действуют нормативные документы на растительное лекарственное сырье, в которых приведены рисунки эпидермальных тканей листьев только для 10 видов растений (травы душицы, чабреца, фиалки трехцветной и полевой, череды, хвоща, донника и листьев мяты перечной, мать-и-мачехи, крапивы) [16,17]. Цифровые микрофотографии эпидермиса листьев многих лекарственных растений, характерных для Красноярской лесостепи, в литературе отсутствуют. Диагностика качества растительного сырья невозможна без совершенствования существующих и разработки новых критериев оценки его подлинности.

Цель работы – формирование электронной базы анатомических изображений эпидермиса листьев для идентификации подлинности лекарственного растительного сырья.

Объект и методы исследования. Нами были исследованы и установлены анатомические признаки достоверных образцов 16 наиболее распространенных видов лекарственных растений Красноярской лесостепи, принадлежащих к 10 семействам: сем. *Asteraceae* – Астровые (*Aster alpinus* L. – Астра альпийская; *Taraxacum officinale* Wigg. – Одуванчик лекарственный; *Tanacetum vulgare* L. – Пижма обыкновенная, дикая рябинка; *Arctium tomentosum* Mill. – Лопух войлочный, репейник; *Tussilago farfara* L. – мать-и-мачеха); сем. *Umbelliferae* – Зонтичные (*Heracleum dissectum* Ledeb. – Борщевик рассеченный, пучка; *Bupleurum aureum* (L.) Fisch. – Володушка золотистая); сем. *Rosaceae* – Розоцветные (*Fragaria vesca* L. – Земляника лесная; *Alchemilla vulgaris* L. – Манжетка обыкновенная); сем. *Saxifragaceae* – Камнеломковые (*Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch – Бадан толстолистный); сем. *Fabaceae* – Бобовые (*Melilotus officinalis* (L.) Pall. – Донник лекарственный, желтый); сем. *Labiatae* – Губоцветные (*Origanum vulgare* L. – Душица обыкновенная); сем. *Onagraceae* – Кипрейные (*Chamerion angustifolium* (L.) Holub – Кипрей узколистный, иван-чай, копорский чай); сем. *Scrophulariaceae* – Норичниковые (*Linaria vulgaris* Mill. – Лянка обыкновенная); сем. *Plantaginaceae* – Подорожниковые (*Plantago major* L. – Подорожник большой, обыкновенный); сем. *Papaveraceae* – Маковые (*Chelidonium majus* L. – Чистотел большой, бородавник, чистуха).

Растения были собраны и определены до вида в период вегетации (2010–2011 гг.). Для сравнительного изучения эпидермиса использовали среднюю треть полностью развитых листьев растений (Баранов, 1924 – цит. по: [18]). Реплики (отпечатки) поверхности листовой пластинки получали путем нанесения на свежие растения бесцветного лака для ногтей с помощью кисточки. После высыхания лака пленочные реплики отделяли от листьев, упаковывали в бумажные пакеты и хранили для микроскопии и микрофотографирования. Для последнего использовали микроскоп Микмед-6 с фотонасадкой Canon A 640 (10 Mega Pixels), объектив x40. Цифровые микрофотографии поверхности листьев хранились в памяти компьютера. В статье представлены результаты, полученные при изучении нижней стороны листа, на которой расположено большее количество устьиц. Реплики для четырех видов растений сняты с верхней стороны листа из-за наличия на нижней трихом, не позволивших получить качественную картинку.

Результаты и обсуждение. Полученные изображения эпидермиса листьев изученных растений были классифицированы по форме основных клеток, составляющих эпидермальные ткани. Согласно Н.А. Анели [19], выделяется три основные группы (клана) эпидермиса. К первому (прямолинейному) клану относится эпидермис, состоящий из клеток, имеющих более или менее прямые клеточные стенки. Основные эпидермальные клетки эпидермиса второго (криволинейного) клана обладают извилистыми стенками. И, наконец, к третьему (смешанному) клану принадлежит эпидермис, в состав которого входят клетки как с прямыми, так и с извилистыми стенками.

Среди исследованных растений прямолинейный тип строения эпидермиса имели следующие виды: бадан толстолистный, земляника лесная, лопух войлочный, мать-и-мачеха, подорожник большой (рис. 1,2). Основные эпидермальные клетки эпидермиса клана с извилистыми стенками имели: борщевик рассеченный, донник лекарственный, душица обыкновенная, чистотел большой, астра альпийская (рис. 3,4). К смешанному типу строения эпидермиса принадлежали виды: володушка золотистая, кипрей узколистный, ляннка обыкновенная, манжетка обыкновенная, одуванчик лекарственный, пижма обыкновенная (рис. 5,6).

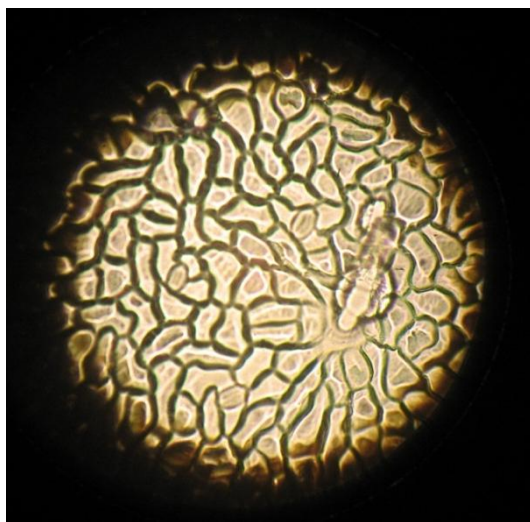


Рис. 1. Лопух войлочный (*Arctium tomentosum* Mill.)

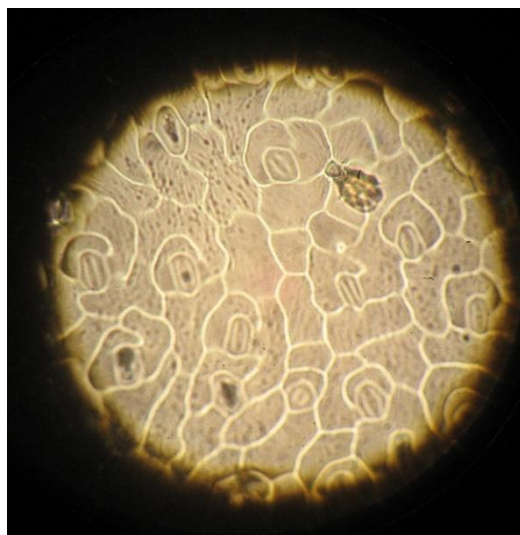


Рис. 2. Подорожник большой (*Plantago major* L.)

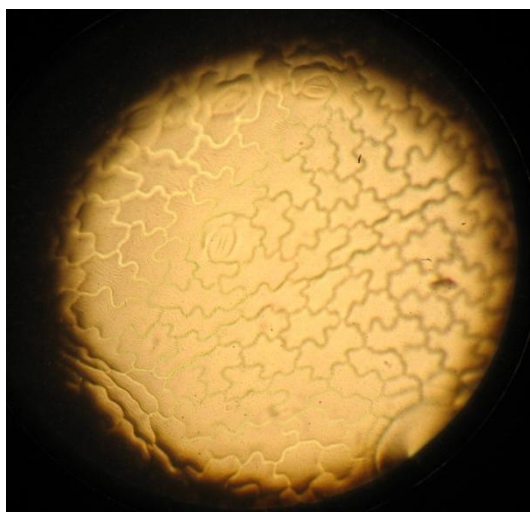


Рис. 3. Борщевик рассеченный (*Heracleum dissectum* Ledeb.)



Рис. 4. Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.)



Рис. 5. Льнянка обыкновенная (*Linaria vulgaris* Mill.)

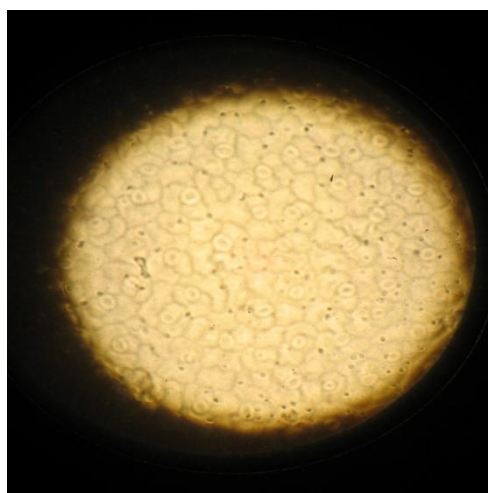


Рис. 6. Волoduшка золотистая (*Bupleurum aureum* Fisch.)

Изображения эпидермиса листьев исследованных растений были сгруппированы по семействам. Выяснилось, что среди видов, принадлежащих к семейству Астровых, имелись все три типа форм эпидермальных клеток (табл. 1). Для представителей, входящих в семейство Зонтичных, было найдено два типа эпидермальных клеток: с извилистыми и смешанного типа клеточными стенками. Среди растений, относящихся к семейству Розоцветных, зарегистрировано два типа эпидермальных клеток: с прямолинейными и смешанного типа клеточными стенками. Другие семейства представлены в работе всего по одному виду. При этом растения отличались друг от друга в основном по форме клеток и в значительно меньшей степени по их размеру.

Таблица 1

Форма эпидермальных клеток разных видов растений и количество устьиц на единице листовой поверхности

Название вида растений	Количество устьиц в поле зрения, шт.	Форма клеток эпидермиса
<i>Нижняя сторона листовой пластинки</i>		
Борщевик рассеченный	5	Извилистая
Астра альпийская	13	Извилистая
Донник лекарственный	20	Извилистая
Душица обыкновенная	27	Извилистая
Пижма обыкновенная	10	Смешанная
Одуванчик лекарственный	16	Смешанная
Льнянка обыкновенная	22	Смешанная
Кипрей узколистый	30	Смешанная
Волoduшка золотистая	44	Смешанная
Лопух войлочный	4	Прямолинейная
Бадан толстолыственный	6	Прямолинейная
Подорожник большой	14	Прямолинейная
<i>Верхняя сторона листовой пластинки</i>		
Чистотел большой	0	Извилистая
Манжетка обыкновенная	1	Смешанная
Земляника лесная	1	Прямолинейная
Мать-и-мачеха	1	Прямолинейная

Между формой основных эпидермальных клеток и количеством устьиц в поле зрения прослеживалась определенная связь (табл. 2). На листьях с прямолинейными клетками эпидермиса имелось наименьшее количество устьиц, максимальное количество последних было характерно для листьев со смешанной формой клеток эпидермиса, для листьев с извилистыми эпидермальными клетками зарегистрировано промежуточное значение количества устьиц в поле зрения микроскопа. При этом различия в числе устьиц между всеми тремя типами эпидермиса не были достоверными.

Таблица 2

Среднее количество устьиц на единице листовой поверхности и форма эпидермальных клеток у изучаемых видов растений (нижняя сторона листа)

Среднее количество устьиц в поле зрения, шт.	Форма клеток эпидермиса	Количество видов
8,0±3,1	Прямолинейная	3
16,2±4,7	Извилистая	4
24,4±5,9	Смешанная	5

Выводы. Таким образом, установлено, что растения разных видов одного и того же семейства отличаются как по форме эпидермальных клеток, так и по числу устьиц, что свидетельствует об уникальности строения листовых образований каждого исследованного растения. Зарегистрированные на цифровых изображениях индивидуальные отличия строения покровной ткани листовых пластинок лекарственных растений, произрастающих в Красноярской лесостепи, дают теоретическую основу и являются научным обоснованием для создания электронного банка данных и разработки метода его использования при проведении лабораторной экспертизы подлинности лекарственного растительного сырья.

Литература

1. Гурьянова М.Н., Балахонова Е.Г. История фальсификации лекарств в Российском государстве // Фармация. – 2004. – № 2. – С. 21–22.
2. Зиновьева А.М. Проблема фальсификации сырья хвоща полевого // Мат-лы Междунар. 64-й науч. студ. конф. им. Н.И. Пирогова. – Томск, 2005. – С. 74–76.
3. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
4. Определитель цельного, измельченного (резаного) и порошкованного растительного лекарственного сырья / Н.П. Харитонова [и др.] // под ред. Г.П. Яковлева. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2009. – 240 с.
5. Тлеукенова С.У., Айдосова С.С., Ахметжанова А.И. Анатомическое строение листа ромашки аптечной сорта «Карагандинская». – URL: http://www.rusnauka.com/2_KAND_2008/Biologia/26153.doc.htm.
6. Карпук В.В., Поликсенова В.Д. Фармакогнозия: метод. указания к лаборатор. занятиям. – Минск: Изд-во БГУ, 2011. – 42 с.
7. Gupta P.C., Sharma N., Rao C.V. Pharmacognostic studies of the leaves and stem of *Careya arborea* Roxb // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2012. – Vol. 2. – № 5. – P. 404–408.
8. Pharmacognostic evaluation of *Cayratia trifolia* (Linn.) leaf / D. Kumar [et al.] // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2012. – Vol. 2. – № 1. – P. 6–10.
9. Pharmacognostical and phyto-physicochemical profile of the leaves of *Piper betle* L. var *Pachai Kodi* (Piperaceae) – Valuable assessment of its quality / K. Periyannayagam [et al.] // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2012. – Vol. 2. – № 2. – P. 506–510.
10. Suresh J., Ahuja J., Paramakrishnan N. Pharmacognostical investigation of *Artemisia parviflora* Roxb. // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2012. – Vol. 2. – № 2. – P. 532–535.
11. Kumar S., Kumar V., Prakash O.M. Pharmacognostic study and anti-inflammatory activity of *Callistemon lanceolatus* leaf // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2011. – Vol. 1. – № 3. – P. 177–181.
12. Gupta P.C., Rao C.V. Morpho-anatomical and physicochemical studies of *Fumaria indica* (Hausskn.) Pugsley // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2012. – Vol. 2. – № 10. – P. 830–834.
13. Kumar B., Satani H., Mishra S.H. Pharmacognostic investigations on the leaves of *Heterophragma quadrilobulare* K. Schum. // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2012. – Vol. 2. – № 1. – P. 270–275.
14. Plant species identification using digital morphometrics: A review / J.S. Cope [et al.] // Expert Systems with Applications. – 2012. – Vol. 39. – № 8. – P. 7562–7573.
15. Ramos E., Fernández D.S. Classification of leaf epidermis microphotographs using texture features // Ecological Informatics. – 2009. – Vol. 4. – № 3. – P. 177–181.
16. ГОСТ 23768-94. Листья мяты перечной обмолоченные. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 1994.
17. ГОСТ 15161-93. Трава зверобоя. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 1993.
18. Мирославов Е.А. Структура и функция эпидермиса листа покрытосеменных растений. – Л.: Наука, 1974. – 184 с.
19. Анели Н.А. О составе и функциональности эпидермального комплекса листа // Уч. зап. Юго-Осетинского гос. пед. ин-та. Сер. физ. мат. и биол. наук. – 1970. – Т. 15. – С. 287–291.