

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ СЫРЬЯ *VACCINIUM MYRTILLUS* L.

Г.Я. Мечикова¹, Т.А. Копотева², О.В. Смирнова³

¹Дальневосточный государственный медицинский университет (г. Хабаровск),

²Институт водных и экологических проблем ДВО РАН (г. Хабаровск),

³ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора (г. Москва) (г. Москва)

Morphoanatomic study of raw material *Vaccinium myrtillus* L.

G.Y. Mechikova¹, T.A. Kopoteva², O.V. Smirnova³

¹Far Eastern State Medical University (Khabarovsk, Russia),

²Institute of Water and Ecological Problems FEB RAS (Khabarovsk, Russia),

³Federal State Budget Institution «Information and Methodological Center for Expertise, Stocktaking and Analysis of Circulation of Medical Products» (Moscow, Russia)

РЕЗЮМЕ

Установлены анатомо-диагностические признаки стебля и биометрические параметры микропризнаков листьев *Vaccinium myrtillus* L. Проведены микроскопические исследования измельченного сырья и порошка побегов. Полученные результаты включены в раздел «Микроскопия» проекта фармакопейной статьи для ГФ 12 изд. регламентирующей качество побегов *V. myrtillus* L.

Ключевые слова: черника обыкновенная, микроскопия, подлинность, диагностические признаки.

RESUME

Anatomical and diagnostic features of the stem and biometric microscopic features of the leaves of *Vaccinium myrtillus* L. are specified. Microscopic study of milled herb and sprouts powder were completed. The results are included in the section «Microscopy» of draft pharmacopeial description for State Pharmacopoeia of Russia XII regulating the shoot quality.

Keywords: *Vaccinium myrtillus* L., microscopy, authenticity, diagnostic features.

Vaccinium myrtillus L. (черника обыкновенная) представитель сем. *Ericaceae* Juss. (Вересковых) достаточно давно и широко используется в нашей стране.

V. myrtillus имеет официальный статус. Качество побегов этого растения регламентируется фармакопейной статьей ФС-42-2948-93.

В действующем нормативном документе представлено описание микропризнаков сырья *V. myrtillus* в соответствии с теми требованиями, которые действовали на момент утверждения этого документа. Содержание и оформление этого раздела сегодня уже не соответствует современным требованиям к уровню определения подлинности лекарственного растительного сырья. В частности, не приводятся иллюстрации (фотографии) микропризнаков и не указаны их количественные характеристики. Современные требования к разделу «Микроскопия» предполагают включение в статью описание микропризнаков всех основных частей морфологической группы сырья. Для обсуждаемого вида это стебель и лист.

В существующей нормативной документации представлены микродиагностические признаки только листа.

Для создания нормативного документа в современном формате имеется необходимость в проведении ряда дополнительных анатомических исследований сырья *V. myrtillus*, в том числе измельченного и в форме порошка.

Таким образом, целью нашей работы явилось установление основных анатомо-диагностических признаков побегов (цельных, измельченных, порошок) *V. myrtillus*, необходимых для полной современной диагностики сырья этого лекарственного растения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы 5 партий сырья *V. myrtillus*, собранных в 2003–2012 гг. в Брянской, Иркутской и Архангельской областях, а также в Республике Саха (Якутия) и Алтайском крае. Побеги заготавливали в период, рекомендованный инструкцией по заготовке сырья [1].

Подготовку материала для исследований проводили, соблюдая нормативные требования и общепринятые методики в соответствии со статьями Государственной Фармакопеи 11-го издания: «Методы анализа лекарственного растительного сырья «Травы» и «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья» [2]. Анатомические исследования проводили по методике приготовления препаратов из цельного, измельченного сырья трав и порошка трав. При микроскопическом исследовании порошка был использован методологический прием, предложенный в работе [3]. Для определения характерных микродиагностических признаков побегов *V. myrtillus* изучали поперечный срез стебля: в нижней, средней и верхней частях побега – прироста последнего года вегетации, а также эпидерму продольного среза стебля и листовую пластинку с поверхности.

Работа с микропрепаратами проводилась на цифровом микроскопе Nikon Eclipse LV 100 Pol (Япония) и световых микроскопах Micros MC400A и Микмед-6. Компьютерную обработку изображений микропрепаратов для измерения биометрических параметров и получения микрофотографий производили с использованием комплекса аппаратно-программного определения морфометрических параметров клеток «Мекос-Ц».

Статистический анализ экспериментальных данных выполняли с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Цельное сырье. На поперечном срезе стебля отчетливо видна тенденция изменения его формы сверху вниз (рис. 1). Стебель в основании и средней зоне побега – четырехгранный с вытянутыми ребристыми углами. Стебель прироста 1-го порядка (верхняя часть побега) трехгранный, также остро-ребристый. Таким образом, для стебля черники характерна достаточно сильно выраженная ребристость.

Эпидерма стебля однослойная, состоит из прямоугольных практически одинаковых по своим размерам клеток, на всех трех уровнях стебля покрыта толстой кутикулой. Для эпидермы стебля *V. myrtillus* характерны одноклеточные трихомы (более обильные на приростах 1-го порядка), определенные в работе [4] как игловидные. Форма трихом является важным диагностически значимым признаком стебля обсуждаемого вида. Под эпидермой располагается колленхима, в 2–3 слоя в ребрах, в 1–2 слоя между ребрами.

Следующий за колленхимой слой пред-

ставлен паренхимными клетками первичной коры с обильными хлоропластами. Далее по направлению к центру расположен слой из клеток основной паренхимы коровой части с обширными межклетниками. В этой части стебля встречаются включения в виде крупных призматических кристаллов кальция оксалата. Механические элементы первичной коры представлены волокнами, сложенными в 2–4 слоя, которые окружают практически сплошным кольцом флоэмную часть стебля. Флоэма граничит с камбием. Далее к центру расположена ксилема рассеянно-сосудистого типа с однорядными цепочками сердцевинных лучей. Хорошо просматривается перимедулярная зона с мелкими клетками первичной ксилемы. Сердцевина представлена крупными клетками паренхимы с лигнифицированными сильно утолщенными стенками, имеющими поры. Клетки сердцевины содержат большое количество крахмальных зерен на всех трех уровнях стебля.

При исследовании серии срезов в направлении от верхней части стебля к нижней видно, что его анатомическая архитектура на всех трех уровнях прироста одинакова. Несмотря на то, что расположение тканей в анатомическом строении одногодичного стебля *V. myrtillus* типично для кустарниковых форм, имеется ряд микропризнаков, обладающих в диагностическом плане определенной информативностью. Диагностически значимыми микропризнаками побегов *V. myrtillus*, рекомендуемых к заготовке, являются: характерная острорребристая форма стебля на поперечном срезе, отсутствие перидермы, игловидные волоски на эпидерме

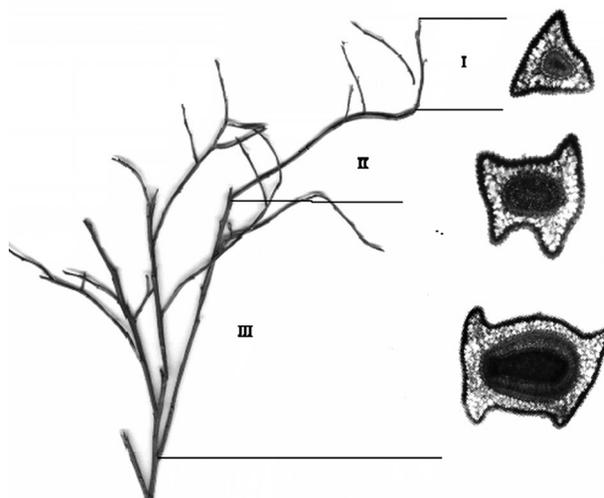


Рис. 1. Побег годичного прироста *V. myrtillus*. I – поперечный срез стебля прироста первого порядка, увел. 100×; II – поперечный срез стебля прироста второго порядка, увел. 100×; III – поперечный срез стебля прироста третьего порядка, увел. 40×.

стебля, сеть межклетников в первичной коре и хорошо развитое сплошное кольцо механической ткани во флоэмной части стебля (рис. 2).

При исследовании анатомо-диагностических признаков листьев нами были учтены сведения, имеющиеся в литературе [3, 5]. В таблице приведены обобщенные литературные данные и результаты собственных исследований анатомического строения эпидермы листьев, которые предлагается использовать в диагностике сырья этого вида. Фотографии микропризнаков приведены на рис. 3.

Наши исследования анатомического строения листьев сводились в основном к определению биометрических параметров признаков, отсутствовавших в литературных источниках.

Для биометрических исследований микродиагностических элементов листьев *V. myrtillus* были выбраны следующие параметры: длина и ширина клеток эпидермы нижней и верхней стороны листа, длина и ширина устьиц, длина булавовидной железки, длина

грубобородавчатого волоска.

Репрезентативность выборки для проведения биометрических исследований была обеспечена достаточным количеством образцов (5 партий сырья, охватывающих значительный ареал вида) и количеством полученных данных. В общей сложности было проведено 125 измерений каждого параметра микропризнака, как с нижней, так и с верхней стороны листовой пластинки. Исключение составила длина грубобородавчатых волосков, так как они встречаются только на верхней стороне листовой пластинки. Результаты исследования представлены в таблице.

При сравнении размеров анатомо-диагностических признаков нами не найдено достоверных различий между длиной и шириной клеток эпидермы, длиной и шириной устьиц, длиной и шириной головки булавовидной железки, находящихся на верхней стороне листовой пластинки с таковыми, находящимися на нижней стороне листовой пластинки ($t_{кр} > t_{эксп}$).

В большинстве случаев биометрические параметры характеризуются средневыраженным варьированием ($C_v = 11-16\%$). Сравнительно небольшое варьирование размеров установлено для устьичного аппарата ($C_v = 7-10\%$). Как высокая отмечается изменчивость длины грубобородавчатого волоска ($C_v = 28\%$).

Таким образом, проведенный эксперимент позволил установить размеры анатомо-диагностических признаков листьев *V. myrtillus*, которые включены в проект фармакопейной статьи.

Таблица

Анатомо-диагностические признаки листьев *V. myrtillus*

Анатомо-диагностические признаки	Характеристика анатомо-диагностического признака	Встречаемость анатомо-диагностического признака
Клетки верхней и нижней эпидермы листа	В очертании клетки тонкостенные сильно извилистые, длиной 44–89 мкм, шириной 22–57 мкм	
Устьица	Устьица мелкие, с 4–6 околоустьичными клетками (аномоцитный тип устьичного аппарата), длиной 24–34 мкм, шириной 13–25 мкм	Устьица располагаются на обеих сторонах листовой пластинки, с преобладанием на нижней стороне
Железки	Булавовидные железки. Железка состоит из овальной многоклеточной головки с коричневым содержимым и многоклеточной двурядной ножки, длина железки 94–161 мкм	Располагаются на обеих сторонах листовой пластинки, а также встречаются по краю листовой пластинки на верхушках зубцов
Трихомы (волоски)	Грубобородавчатые толстостенные волоски, одноклеточные прямые или изогнутые, длиной 36–110 мкм	Располагаются на верхней стороне листовой пластинки, по жилкам
Гидатода	Сопровождается ответвлениями проводящих пучков и несколькими водяными устьицами	Располагается на верхушке листовой пластинки
Кутикула	Кутикула складчатая	Складчатость кутикулы наблюдается с обеих сторон листа.
Включения	Крупные кристаллы оксалата кальция	Встречаются с нижней стороны листовой пластинки вдоль жилок

Рис. 2 Фрагменты поперечного среза стебля *V. myrtillus*. А – фрагмент ксилемы и сердцевины, увел. 400× – Кс-ксилема, СП-паренхима сердцевины с зернами крахмала; Б – фрагмент покровной и коровой части, увел. 400× – К-кутикула, Э-эпидерма, В-волоски, Кл-колленхима, ПК-паренхима коры с крупными межклетниками, СклВ-склеренхимные волокна, Фл-флоэма.

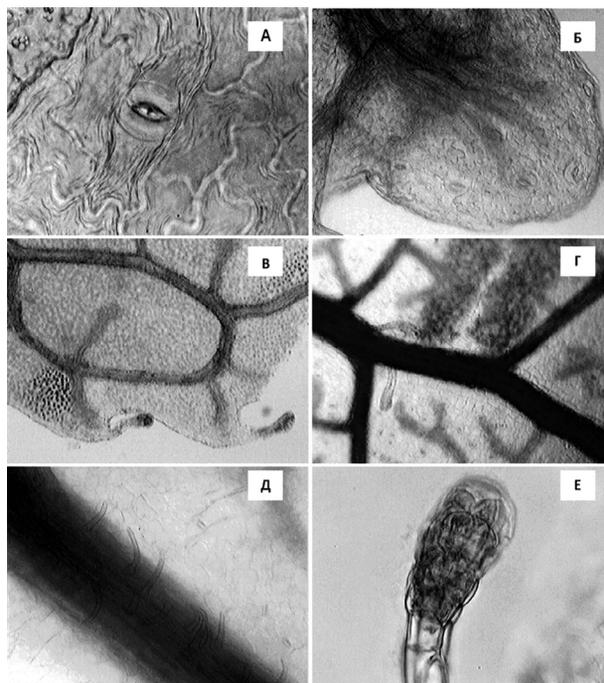


Рис. 3. Микроскопия эпидермы листа *V. myrtillus*.

А – фрагмент нижней эпидермы листа с устьичным комплексом анамоцитного типа и складчатостью кутикулы, увел. 800×

Б – фрагмент эпидермы листа с гидатодой, увел. 100×

В – фрагмент края листа с булавовидными железами на зубчиках, увел. 100×

Г – фрагмент верхней эпидермы листа с булавовидными железами на жилке, увел. 100×

Д – фрагмент верхней эпидермы листа с волосками на жилке, увел. 100×

Е – головка булавовидной железы, увел. 400×

Измельченное сырье. Измельченные побеги черники представляют собой смесь кусочков частей сырья (листьев, стеблей, изредка бутонов, цветков и плодов) различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Исследования измельченного сырья показали, что размеры стеблей и листьев вполне приемлемы для приготовления микропрепаратов, аналогично микропрепаратам цельного сырья: лист с поверхности, стебель – поперечный срез. Все диагностически значимые признаки для сырья *V. myrtillus* в этом случае проявляются в полном объеме. Поэтому считаем целесообразным в проекте фармакопейной статьи не разграничивать описание микродиагностических признаков цельных и измельченных побегов.

Порошок. При рассмотрении микропрепаратов крупной фракции (размер частиц 2–0,25 мм) и мелкой фракции (просев сквозь сито с отверстиями диаметром 0,25 мм) порошка нами установлены фрагменты листьев с присущими им анатомо-диагностическими признаками.

Видны обрывки эпидермы листьев с извилистыми тонкими стенками клеток длиной 44–89 мкм, шириной 22–57 мкм и устьицами аномоцитного типа длиной 24–34 мкм, шириной 13–25 мкм. На обрывках эпидермы листа (главным образом по жилкам), а также на обрывках края листа на зубчиках часто встречаются булавовидные железы длиной 94–161 мкм с многоклеточной двурядной ножкой и овальной многоклеточной головкой с коричневым содержимым. На обрывках верхней эпидермы листа по жилкам видны грубобородавчатые, толстостенные одноклеточные прямые или изогнутые волоски длиной 36–110 мкм. Иногда на обрывках эпидермы листа наблюдается складчатость кутикулы. Часто видны обрывки жилок с кристаллоносной обкладкой.

Анатомическая картина стеблевых частей сырья несколько отличается от таковой в измельченном сырье. Элементы стебля в крупной и мелкой фракции порошка представлены как в поперечном (обрывки), так и в продольном сечении.

ВЫВОДЫ

1. Установлены диагностически значимые микропризнаки стебля *V. myrtillus*.
2. Впервые определены биометрические параметры микропризнаков листьев *V. myrtillus*.
3. Впервые выявлены анатомические признаки измельченного сырья и порошка побегов *V. myrtillus*.
4. Результаты исследований включены в раздел «Микроскопия» проекта фармакопейной статьи для ГФ 12 изд., регламентирующей качество побегов *V. myrtillus*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций). – М.: Медицина, 1985. – 328 с.
2. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
3. Самылина И.А., Ермакова В.А., Бобкова И.В., Аносова О.Г. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие: в 3-х томах. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т.3. – 488 с.
4. Еремин В.М., Бойко В.И. Анатомическое строение коры стебля некоторых видов семейства Ericaceae // Ботанический журнал. – Т.83. – № 8. – С.1–15.
5. Никитин А.А., Панкова И.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений. – Л., Наука, 1982. 768 с.

Адрес автора

К.фарм.н. Мечикова Г.Я., доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО ДВГМУ Минздрава России (г. Хабаровск)
galina.m.ya@mail.ru