

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.822

СЕКРЕЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЖЕЛЕЗИСТЫМИ ТРИХОМАМИ РАЗНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ *PELARGONIUM* (GERANIACEAE)**Ульяна Алексеевна Рябуха, Людмила Евгеньевна Муравник**

ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2
E-mail: URyabukha@binran.ru

Проведена серия гистохимических тестов для качественного определения вторичных метаболитов в железистых трихомах (ЖТ) листьев и элементов цветка у трёх видов *Pelargonium*: *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér., *Pelargonium exstipulatum* (Cav.) L'Hér. и *Pelargonium vitifolium* (L.) L'Hér. У исследованных видов обнаруживаются ЖТ пяти морфологических типов. Установлено, что секрет может содержать фенолы, алкалоиды, терпены и кислые полисахариды. При этом набор выявляемых вторичных соединений различается у трихом разных типов. Кроме того, отмечаются видоспецифичные особенности окрашивания в гистохимических реакциях у всех типов ЖТ. Наиболее интенсивная секреция и большее разнообразие компонентов характерны для трихом 1-го типа. В то же время, у трихом 2-го и 4-го типов наблюдаются различия в составе секрета, обусловленные их локализацией на разных органах. Синтезированные вещества могут накапливаться в вакуолях и цитоплазме ЖТ или выводиться в субкутикулярную полость.

Ключевые слова: *Geraniaceae*; *Pelargonium odoratissimum*; *P. exstipulatum*; *P. vitifolium*; железистые трихомы; гистохимия

Введение

Род *Pelargonium* является вторым по численности родом семейства Geraniaceae и насчитывает более 250 видов. Это тропические полукустарниковые растения, часто используемые в озеленении в качестве декоративных красивоцветущих элементов. Не менее важной и экономически значимой характеристикой является их способность синтезировать разнообразные вторичные соединения, в том числе летучие компоненты. Биологическая активность химических веществ, входящих в состав экстрактов растений, обуславливает их антибактериальное, противовирусное, инсектицидное и фунгицидное действие. В природе вторичные метаболиты, вырабатываемые растениями, являются важным фактором экологических взаимодействий: они участвуют как в привлечении опылителей, так и в отпугивании травоядных организмов и противодействии инфекциям. Благодаря своим свойствам, представители семейства Geraniaceae издавна находят применение в химической, фармацевтической и парфюмерной промышленности, а также используются в народной медицине [1-3].

Химический анализ экстрактов надземной части растений семейства Geraniaceae, проведённый ранее, позволил обнаружить в их составе разнообразные биологически активные вещества, среди которых терпены (гераниол, цитронеллол, линалоол), некоторые фенольные соединения (2-феноксиэтанол, кофейная кислота, дифениловый эфир) и другие [1-3].

Процессы биосинтеза биологически активных веществ в растениях обычно приурочены к секреторным структурам, которые у видов *Pelargonium* представлены железистыми трихомами и нектарниками. Последние у представителей этого рода локализованы в основании длинной нектароносной трубки, расположенной на цветоножке [4]. Число работ, посвящённых исследованию анатомии железистых

трихом у представителей рода *Pelargonium*, не велико, а список исследованных к настоящему времени видов весьма ограничен. Железистые трихомы обнаруживаются как на вегетативных органах (лист с черешком, стебель), так и на элементах цветка (цветоножка, чашелистик, завязь, столбик). При этом отмечаются характерные особенности, присущие опушению разных органов, а также межвидовые различия по этому признаку. Ранее была предложена классификация, в которую вошли пять морфологических типов железистых трихом у нескольких видов *Pelargonium*, различающихся строением, размерами и числом клеток [5].

Обнаружение некоторых групп вторичных метаболитов в составе секрета при помощи гистохимических тестов является одним из доступных и распространённых методов, широко применяемых при изучении секреторных структур у разных таксонов [6, 7]. Целью данной работы было качественное определение некоторых классов вторичных соединений в железистых трихомах разных морфологических типов у ряда представителей рода *Pelargonium*.

Объекты и методы исследований

В работе исследованы представители трёх видов рода *Pelargonium* L'Hér. из семейства Geraniaceae L.: *Pelargonium odoratissimum* [Soland.], *Pelargonium exstipulatum* (L.) L'Hér. и *Pelargonium vitifolium* (L.) L'Hér. Растения выращены в оранжереях Ботанического сада БИН РАН им. В.Л. Комарова (Санкт-Петербург).

Для проведения серии гистохимических тестов использовались прижизненные препараты листьев, цветоножек, чашелистиков и завязей, срезанные вручную лезвием бритвы. Исследование и документирование результатов проводилось в световом микроскопе AxioScope.A1, оснащённом цифровой камерой с программным обеспечением ZEN 2012 (Carl Zeiss, Германия).

Присутствие фенольных соединений обнаруживалось в реакциях с 1% водным раствором толуидинового синего [8], а также выявлялось с использованием УФ лампы и широкополосного фильтра AlexaFluor 488 (BP 450-490, BS 510). Для визуализации терпеноидов и липидных соединений был применён реактив NADl (10% α -нафтол в 40% этаноле и 1% хлористый диметилпарафенилендиамин в 0,05 М фосфатном буфере pH 7,2) с экспозицией 60-80 минут [9]. Для выявления алкалоидов применяли реактив Wagner'a (1,27 г йода + 2 г йодистого калия в 100 мл дистиллированной воды), окрашивание осуществляли в течение 3-5 минут [10]. Полисахариды обнаруживались в реакциях с рутениевым красным (0,02% водный раствор) или с алциановым синим (1% водный раствор) [8].

Различия в оттенке окрашивания определялись визуально, значения "+/+" и "+/-" присваивались лишь в том случае, если на препаратах одновременно присутствовали трихомы, окрашенные по-разному.

Результаты и обсуждение

У представителей рода *Pelargonium* на поверхности листьев и элементов цветка обнаруживаются как простые волоски, так и морфологически различные железистые трихомы [11, 12]. Ранее нами была предложена классификация, в которую вошли пять типов трихом у трёх исследованных видов [5]. Она включает три варианта однорядных головчатых трихом (типы 1, 2 и 4), один тип цилиндрических трихом (тип 3), а также один тип трихом с одноклеточной головкой и многорядной ножкой (тип 5). Кроме того, в ходе исследования было установлено, что распределение трихом разных морфологических типов по видам различается: у *P. odoratissimum* отсутствует третий тип, а у *P. vitifolium* не представлен второй. Пятый тип железистых трихом (с многорядной ножкой) был обнаружен исключительно на завязи у *P. odoratissimum*.

По результатам проведённой серии гистохимических тестов мы установили, что в составе секрета обнаруживаются первичные (кислые полисахариды), а также вторичные (фенолы, терпены и алкалоиды) метаболиты. Характер окрашивания железистых трихом разных типов, локализованных на листьях и элементах цветка, отражён в таблице. Железистые трихомы 5-го типа во всех проведённых тестах не дали положительную реакцию, поэтому в таблицу не были включены.

Таблица

Выявление некоторых классов биологически активных веществ в железистых трихомах разных типов, локализованных на листе и элементах цветка

Вид	<i>Pelargonium odoratissimum</i> (L.) L'Hér			<i>Pelargonium exstipulatum</i> (L.) L'Hér				<i>Pelargonium vitifolium</i> (L.) L'Hér.		
Тип трихом Вещества	1 тип	2 тип	4 тип	1 тип	2 тип	3 тип	4 тип	1 тип	3 тип	4 тип
Лист										
Фенолы	+/+	+	+/-	+/+	+	+/-	-	+/+	+	-
Терпены	+	-	-	+/+	-	+	-	++	-	-
Алкалоиды	+/-	+	++	++	-	++	-	++	++	++
Полисахариды	++	-	+	++	-	+	+/-	++	+	+/-
Элементы цветка										
Фенолы	++	+/-	-	+/+	+/+	+	+/-	++	+/+	-
Терпены	+/+	-	-	++	+	+	-	+	-	-
Алкалоиды	++	++	+	++	-	++	-	++	++	-
Полисахариды	++	+	+/-	++	+	++	-	++	+	-

Примечание: + окрашивание (свечение) есть; ++ интенсивное окрашивание; +/- окрашивание разных оттенков; +/- одновременно присутствуют окрашенные и неокрашенные трихомы; - окрашивания нет.

При интерпретации полученных результатов необходимо учитывать неодинаковое распределение железистых трихом разных морфологических типов по исследованным нами видам растений *Pelargonium*, а также их представленность на поверхности разных органов (листьев и элементов цветка). Как было показано нами ранее [13], наибольший вклад в общий пул секретированных веществ вносят трихомы 1-го типа, как наиболее распространённые. Они обнаруживаются на листьях и элементах цветка у всех исследованных видов и преобладают в процентном отношении, составляя более 50% от общего числа железистых трихом на каждом органе [5]. Кроме того, как видно из таблицы и рисунка, именно для трихом этого типа характерны наиболее интенсивные гистохимические реакции (++), а также преимущественно у них встречаются разные варианты оттенков цвета (+/+).

Реакция на фенольные соединения с толуидиновым синим даёт окрашивание в синий (рис. 1 а), фиолетово-розовый (рис. 1 б) или бледно-голубой цвет (рис. 1 с). Терпены, присутствующие в цитоплазме клетки, имеют синий цвет (рис. 1 d), а капли секрета, локализованные в субкутикулярной полости – интенсивно-фиолетовый (рис. 1 е). Химический состав продуцируемых вторичных метаболитов у представителей семейства Geraniaceae весьма разнообразен, что подтверждается исследованиями, посвящёнными химическому анализу экстрактов этих растений, а также изучению их биологической активности [2, 3]. Ранее нами был проведён химический анализ экстрактов надземных органов *P. odoratissimum*, *P. exstipulatum* и *P. vitifolium*. Исследование подтвердило присутствие в составе экстрактов ряда фенольных соединений и флавоноидов (кофейная кислота, катехин и др.), терпенов

(тетрагидрогераниол, изобисаболен, элемол и др.), жирных кислот (стеариновая и лауриновая кислоты и др.).

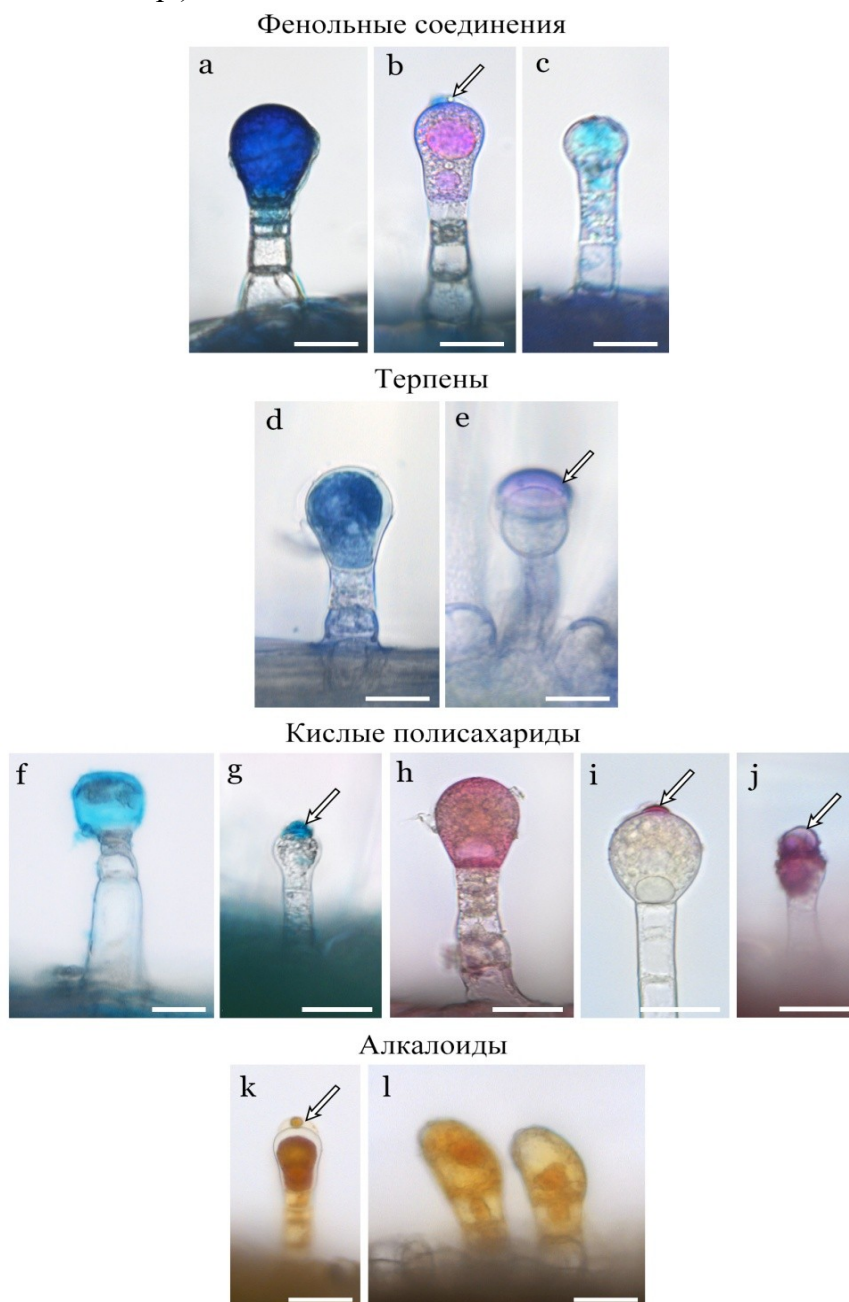


Рис. Различные варианты окрашивания, наблюдаемые при проведении гистохимических тестов на железистых трихомах разных типов; а-с – выявление фенолов (толудиновый синий), d, e, – выявление терпенов (реактив NADH), f, g – выявление полисахаридов (алциановый синий), h-j – выявление полисахаридов (рутениевый красный), k-l – выявление алкалоидов (реактив Wagner'a). а, b, d, e, f, h – тип 1; c, i – тип 2; g, j, k – тип 3; l – тип 4. Стрелки указывают на субкутикулярную полость. Масштабная линейка – 20 μ m.

Кроме того, отмечались различия в химическом составе экстрактов разных органов [13]. Таким образом, разнообразие компонентов, секретируемых железистыми трихомами, может быть причиной наблюдаемых различий в их окраске при гистохимических исследованиях.

Железистые трихомы 1-го типа способны к образованию обширной субкутикулярной полости над апикальной клеткой (рис. 1 b, e – стрелки), а у трихом 2-

го и 3-го типа субкутикулярная полость мелкая и обнаруживается лишь в апикальной части клетки головки (рис. 1 g, i, j – стрелки). Полисахаридный компонент, окрашиваемый алциановым синим (рис. 1 f, g) и рутениевым красным (рис. 1 h-j), у трихом 1-го типа распределяется равномерно по всей секреторной клетке (рис. 1 f), однако отсутствует в субкутикулярной полости; у трихом 2-го и 3-го типа он откладывается в виде капель или кристаллов на вершине апикальной клетки (рис. 1 g, i, j).

Железистые трихомы 2-го типа, расположенные на элементах цветка, проявляют большую секреторную активность в сравнении с трихомами этого типа, локализованными на листе. В то же время, для трихом 4-го типа характерна обратная зависимость: на листе их окрашивание более интенсивно (табл.). По всей видимости, такое разделение обусловлено различиями в экологической роли этих трихом. В литературе нередки случаи, когда железистые трихомы разных органов, морфологически не отличающиеся друг от друга, демонстрируют различные гистохимические реакции [14].

Наибольшая интенсивность окрашивания (++) у трихом 3-го и 4-го типа, расположенных на вегетативных органах, проявляется в реакции с раствором йода в йодистом калии, применяемым для выявления алкалоидов (табл., рис. k-l). Вероятно, обильная секреция этого класса вторичных метаболитов, в особенности трихомами вегетативных органов, может быть связана с выполнением ими защитной функции [15].

Одновременное присутствие на препаратах окрашенных и неокрашенных трихом (+/-), а также трихом, демонстрирующих в гистохимических тестах разные оттенки цвета (рис. a-c, d-e), может свидетельствовать о различиях в химическом составе содержащихся в них вторичных метаболитов, принадлежащих к одному классу (фенолы и терпены, соответственно); о разной концентрации определяемых веществ в составе секрета; о разной стадии развития отдельных трихом. Ранее мы установили, что количество железистых трихом на единицу площади листовой пластинки у представителей *Pelargonium* снижается по мере её растяжения, из чего можно сделать вывод, что железистые трихомы у этих растений закладываются лишь на ранних стадиях развития листа и не формируются *de novo* в более поздние периоды [5]. При этом наблюдаемые в гистохимических тестах различия реакций позволяют предположить, что секреторная активность трихом даже в пределах одного морфологического типа может проявляться неодинаково. Установление причин этого явления потребует применения разнообразных современных методов и подходов к исследованию поверхностных секреторных структур у растений и является одной из перспективных задач для исследователей разного профиля.

Заключение

Различия, проявляемые железистыми трихомами разных морфологических типов в гистохимических реакциях, указывают на секрецию ими разных веществ, что может свидетельствовать о различии выполняемых функций. Это подтверждается и различиями, выявленными между трихомами вегетативных органов (листьев) и репродуктивных (элементов цветка).

Гистохимические тесты, позволившие установить приуроченность локализации вторичных метаболитов к секреторной ткани у *Pelargonium*, проведены нами впервые.

Преобладающим морфологическим типом железистых трихом на всех органах у исследованных видов является первый тип, для которого характерна наибольшая секреторная активность как по интенсивности окрашивания, так и по разнообразию обнаруженных веществ.

Качественный анализ выявил в железистых трихомах разных типов присутствие кислых полисахаридов, а также ряда вторичных метаболитов, относящихся к классам фенольных соединений, терпеноидов и алкалоидов.

Проведение дифференциального химического анализа листьев и элементов цветка для определения общего пула веществ и идентификации отдельных биологически активных компонентов в составе секрета, а также установления различий между органами, является одним из перспективных направлений для дальнейшего исследования. Составление ультраструктурной характеристики и поиск корреляций между внутриклеточной организацией секреторной ткани и продуцируемыми веществами позволит пролить свет на особенности функционирования биосинтетического аппарата железистых трихом разных морфологических типов.

Благодарность

Работа выполнена в рамках Гос. задания БИН РАН (№ 1021071912890-3-1.6.11).

Список литературы

1. Рябуха У.А., Пожванов Г.А., Муравник Л.Е. Секреторные структуры листьев и цветков у представителей семейства Geraniaceae // Материалы VI (XIV) Международной ботанической конференции молодых учёных в Санкт-Петербурге – Санкт-Петербург: БИН РАН, 2025. – С. 180-181.
2. Рябуха У.А., Муравник Л.Е. Железистые трихомы листьев и цветков у трёх видов *Pelargonium* (Geraniaceae) // Ботанический журнал. – 2024. – Т. 109, № 10. – С. 1010-1030. DOI: 10.31857/S0006813624100058
3. Ботаническая гистохимия: Пер. с англ. / Дженсен У. – М.: Мир, 1965. – 372 с.
4. Appezzato-da-Glória B., Da Costa F.B., da Silva V.C., Gobbo-Neto L., Rehder V.L.G., Hayashi A.H. Glandular trichomes on aerial and underground organs in *Chrysolaena species* (Vernonieae – Asteraceae): structure, ultrastructure and chemical composition // Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants. – 2012. – Vol. 207(12). – P. 878-887.
5. Ćavar S., Maksimović M. Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her // Food Control. – 2012. – Vol. 23(1). – P. 263-267. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.07.031
6. David R., Carde J. Histochemie-coloration differentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du pin maritime au moyen du reactif NADI // Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences. – 1964. – Vol. 258(4). – P. 1338-1340.
7. Furr M., Mahlberg P.G. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa* // Journal of Natural Products. – 1981. – Vol. 44(2). – P. 153-159.
8. Guerrini A., Rossi D., Paganetto G., Tognolini M., Muzzoli M., Romagnoli C., Antognoni F., Vertuani S., Medici A., Bruni A. Chemical characterization (GC/MS and NMR fingerprinting) and bioactivities of south-African *Pelargonium capitatum* (L.) L'her.(Geraniaceae) essential oil // Chemistry & biodiversity. – 2011. – Vol. 8(4). – P. 624-642. DOI: 10.1002/cbdv.201000045
9. Ko K.N., Lee K.W., Lee S.E., Kim E.S. Development and ultrastructure of glandular trichomes in *Pelargonium x fragrans* 'Mabel Grey' (Geraniaceae) // Journal of Plant Biology. – 2007. – Vol. 50(3). – P. 362-368. DOI: 10.1007/BF03030668
10. Levin D.A. The role of trichomes in plant defense // The quarterly review of biology. – 1973. – Vol. 48(1), Part 1. – P. 3-15.
11. Muravnik L.E. The Structural Peculiarities of the Leaf Glandular Trichomes: A

Review // Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites / Ramawat K., Ekiert H., Goyal S. (eds). – Cham: Springer, 2020. – P. 1-35. DOI: 10.1007/978-3-030-11253-0_3-1

12. Muravnik L.E., Mosina A.A., Zaporozhets N.L., Bhattacharya R., Saha S., Ghissing U., Mitra A. Glandular trichomes of the flowers and leaves in *Millingtonia hortensis* (Bignoniaceae) // Planta. – 2021. – Vol. 253(1). – ID 13. DOI: 10.1007/s00425-020-03541-9

13. Tahir S.S., Liz-Balchin M., Husain S.Z., Rajput M.T.M. SEM studies of trichomes types in representative species of the sect. *Polyactium* and sect. *Ligularia* in the genus *Pelargonium* L'Hérit., (Geraniaceae) // Pakistan Journal of Botany. – 1994. – Vol. 26. – P. 397-407.

14. Tsai T., Diggle P., Frye H., Jones C. Contrasting lengths of *Pelargonium* floral nectar tubes result from late differences in rate and duration of growth // Annals of botany. – 2017. – Vol. 121. – P. 549-560 DOI: 10.1093/aob/mcx171

15. Yohana R., Chisulumi P.S., Kidima W., Tahghighi A., Maleki-Ravasan N., Kweka E.J. Anti-mosquito properties of *Pelargonium roseum* (Geraniaceae) and *Juniperus virginiana* (Cupressaceae) essential oils against dominant malaria vectors in Africa // Malaria Journal. – 2022. – Vol. 21(1). – P. 1-15. DOI: 10.1186/s12936-022-04220-8

Статья поступила в редакцию 09.06.2025 г.

Ryabukha U.A., Muravnik L.E. Secretion of biologically active substances by glandular trichomes of different morphological types in some *Pelargonium* (Geraniaceae) species // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. – 2025. – № 156. – P. 18-24.

A series of histochemical tests were carried out for the qualitative determination of secondary metabolites in glandular trichomes (GTs) of leaves and flower elements in three *Pelargonium* (Geraniaceae) species: *P. odoratissimum*, *P. exstipulatum* and *P. vitifolium*. GTs of five morphological types are found in the studied species. The secreted substances may contain phenols, alkaloids, terpenes and acidic polysaccharides. The set of detected secondary compounds differs in different types of trichomes. In addition, there are species-specific staining features in histochemical reactions in GTs of all types. The most intense secretion and a greater variety of components are found in all trichomes of the 1st type. At the same time, trichomes of the 2nd and the 4th types have differences in the composition of secretions due to their localization on different organs. The synthesized substances can be accumulated in the cytoplasm of the GTs or be excreted into the subcuticular cavity.

Key words: Geraniaceae; *Pelargonium odoratissimum*; *P. exstipulatum*; *P. vitifolium*; glandular trichomes; histochemistry