Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук

На правах рукописи

подпись

Научный доклад об основных результатах подготовленной научно-квалификационной работы (диссертации)

"СЕКРЕТОРНЫЕ СТРУКТУРЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА GERANIACEAE, СВЯЗАННЫЕ С СИНТЕЗОМ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ"

по направлению подготовки

06.06.01 Биологические науки

направленность (профиль)

03.02.01 Ботаника

Аспирант - *Рябуха Ульяна Алексеевна*

Научный руководитель - *к.б.н. Муравник Людмила Евгеньевна*

24 июля 2025 г.

Санкт-Петербург

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Растения, относящиеся к семейству Geraniaceae, являются весьма перспективными объектами для исследования благодаря их способности синтезировать разнообразные вещества вторичного метаболизма. Представители этого семейства издавна находят применение в традиционной и официальной медицине, пищевой и парфюмерной промышленности, а также в сельском хозяйстве в качестве репеллентов натурального происхождения (Lis-Balchin, Roth, 2000; Bussmann, Sharon, 2006; Bautista et al., 2015).Как было показано рядом авторов, содержащиеся в составе экстрактов метаболиты обладают антибактериальным, фунгицидным, инсектицидным действием, могут быть использованы в качестве антиоксидантов и гепатопротекторов (Ercil et al., 2005; Singh et al., 2008; Ćavar, Maksimović, 2012; Radulović et al., 2012; Kujur et al., 2020; Ibrahim et al., 2021; Yohana et al., 2022; Abarova et al., 2024). Среди вторичных веществ были выявлены фенольные соединения (флавоноиды, танины, полифенолы), терпены и производные жирных кислот, алкалоиды и др. (Lis-Balchin, 1996; Ercil et al., 2005; Schultz et al., 2006; Ильина, Анцупова, 2016; Seker et al., 2021). Из работ, проведённых на представителях других семейств, известно, что синтез и секреция вышеупомянутых веществ в растениях осуществляется специализированными секреторными тканями (Huchelmann et al., 2017; Xiao et al., 2017; Lange, Srividya, 2019; Liu et al., 2019; Muravnik, 2020; Feng et al., 2021).

До настоящего времени единичные работы были посвящены изучению строения секреторных структур у представителей семейства Geraniaceae. Исследования были проведены на некоторых видах *Pelargonium* и *Geranium* (Oosthuizen, Coetzee, 1983; Pedro et al., 1990; Tahir et al., 1994; Cho et al., 1999; Li, Yao, 2005; Ko et al., 2007; Boukhris et al., 2013; Konarska, Masierowska, 2020). Авторы обнаружили, что на поверхности листьев у этих растений располагаются железистые трихомы разнообразной морфологии, а в цветках формируются нектарники. Существуют работы, посвящённые изучению анатомии и морфологии секреторных структур (Jeiter et al., 2016), сравнению их с другими таксонами (Romitelli, Martins, 2012), развитию (Oosthuizen, Coetzee, 1983; Ko et al., 2007) и ультраструктурной организации (Cho et al., 1999; Konarska, Masierowska, 2020). Лишь иногда анатомо-морфологические данные рассматривают в сочетании с информацией о химическом составе экстрактов и эфирных масел, а также биологической активности обнаруженных компонентов (Boukhris et al., 2013). На основании данных из разрозненных работ трудно выявить общие закономерности и взаимосвязь между структурой и функциями секреторных образований. Поскольку лишь некоторые авторы указывали на такую связь, актуальным является расширение числа исследованных видов и комплексный

подход к изучению не только строения, но и функционирования железистых трихом и нектарников.

Цели и задачи исследования

Цель исследования – выявление клеточных механизмов синтеза, накопления и выведения первичных и вторичных соединений у некоторых представителей семейства Geraniaceae и установление роли секреторных структур в этом процессе.

Задачи:

1. исследование характера распределения, морфологии, анатомии и ультраструктуры железистых трихом у пяти видов рода *Geranium*;
2. исследование характера распределения, морфологии, анатомии и ультраструктуры железистых трихом у трёх видов рода *Pelargonium*;
3. исследование строения и локализации нектарников у видов *Geranium* и *Pelargonium*;
4. определение химического состава железистых трихом гистохимическими методами;
5. изучение метаболитного пула листьев и элементов цветка методами аналитической фитохимии.

Научная новизна результатов

Впервые получены данные о морфологии, анатомии и ультраструктуре секреторных образований, локализованных на поверхности листьев и элементов цветка у ряда практически не изученных видов *Pelargonium* и *Geranium*. Предложена классификация морфологических типов железистых трихом, локализованных на листьях и элементах цветка у видов *Pelargonium*, которая может быть использована для других представителей этого рода. Совокупность морфологических типов железистых трихом надземных органов является видоспецифическим признаком как у *Geranium*, так и у *Pelargonium*. Впервые проведены гистохимические тесты, позволившие установить приуроченность химически различных веществ к секреторной ткани у ряда представителей *Pelargonium* и *Geranium*. В отличие от общепринятого подхода к анализу экстрактов целых органов растений, в нашей работе проведён дифференцированный анализ экстрактов листьев и отдельных элементов цветка, содержащих железистые трихомы или нектарники. Впервые изучена корреляция между составом метаболитов и типом секреторной ткани.

Теоретическая и практическая значимость проведенных исследований

В настоящей работе были изучены виды *Geranium* и *Pelargonium*, практически не исследованные методами структурной ботаники. Нами предложена классификация

морфологических типов железистых трихом, которая впоследствии может быть применена для описания других видов семейства. Выявленные нами морфологические типы железистых трихом демонстрируют межвидовые различия и могут быть использованы в таксономических целях в качестве дополнительного диагностического признака.

Изучение секреторных структур позволяет сформировать представление о взаимосвязи их морфологии и анатомии с выполняемыми функциями, что обеспечивается комплексным подходом к изучению объектов методами структурной ботаники и аналитической химии.

Железистые трихомы могут использоваться как модельные системы для изучения внутриклеточных процессов биосинтеза под влиянием разнообразных регулирующих факторов (генетические, гормональные, физические факторы внешней среды). Они могут дать необходимую базу для поиска агротехнических способов избирательной стимуляции секреции конкретных веществ, представляющих интерес для прикладного применения. Это будет способствовать наиболее эффективному получению разнообразных вторичных метаболитов из растительного сырья.

Установленный химический состав вторичных метаболитов может иметь практическое значение для применения в фармакологии, химической, парфюмерной и пищевой промышленности.

Методология и методы исследования

При исследовании секреторных структур у представителей семейства Geraniaceae были использованы различные подходы, включающие комплексное применение классических и современных методов структурной ботаники и аналитической фитохимии.

Анатомо-морфологический подход позволил наблюдать многообразие железистых трихом на поверхности исследуемых органов.

Гистохимический подход позволил выявить в надземных органах у исследуемых видов все основные классы вторичных метаболитов, а также кислые полисахариды, и установить приуроченность их локализации к железистым трихомам.

Благодаря ультраструктурному подходу в железистых трихомах был обнаружен комплекс признаков, характерных для секреторной ткани и указывающих на проходящие внутри клеток процессы биосинтеза вторичных метаболитов.

Аналитические методы позволили провести дифференцированную оценку химического состава экстрактов листьев и элементов цветка, идентифицировать более 150 компонентов (в том числе 23 фенольных соединения и 6 терпеноидов), а также выявить различия в составе полученных экстрактов как между видами, так и между органами.

Положения, выносимые на защиту

Железистые трихомы листьев и элементов цветка у пяти видов *Geranium* представлены двумя морфологическими типами, а у трёх видов *Pelargonium* – четырьмя типами. Набор типов является видоспецифическим признаком.

Трихомы на коротких ножках у видов *Geranium* и трихомы 1-го типа у видов *Pelargonium* наиболее распространены, они характеризуются активной секрецией и могут считаться универсальными.

Локализация вторичных метаболитов в надземных органах у исследованных видов приурочена к секреторным структурам.

Комплекс ультраструктурных признаков у трихом всех типов указывает на биосинтетические процессы, которые в них протекают.

Апробация результатов исследования

Основные результаты исследований, полученные в 2021-2025 годах, были представлены в форме ежегодных отчётов на заседаниях лаборатории анатомии и морфологии растений БИН им. В.Л. Комарова РАН в 2022-2025 гг. (Санкт-Петербург). Некоторые общие аспекты изучения секреторных структур у представителей рода *Geranium* были представлены в рамках XII Международной научной конференции молодых учёных "Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения", ФГБНУ ВИЛАР, 5-6 декабря 2024 года, а особенности железистых трихом листьев и цветков у представителей рода *Pelargonium* обсуждались на VI (XIV) Международной ботанической конференции молодых учёных в Санкт-Петербурге, БИН РАН, и были представлены на Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием "Фундаментальные и прикладные исследования в ботанике, экологии, растениеводстве", ФГБУН "НБС-ННЦ", 26-30 мая 2025 года.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы по теме исследования

Приведены сведения об основных классах летучих веществ и известных из литературных источников механизмах их биосинтеза, а также взаимосвязи с внутриклеточными компартментами секреторных тканей у разных таксонов. Рассмотрена краткая таксономическая характеристика семейства Geraniaceae. Приведены сведения о практическом применении растений семейства Geraniaceae, их экстрактов и эфирных масел. Собраны литературные данные о проведённых ранее исследованиях химического состава и свойств экстрактов у разных представителей семейства. Рассмотрена роль секреторных тканей в процессах биосинтеза биологически активных веществ. Приведена информация о разнообразии методов структурной ботаники, которые обычно используются при изучении секреторных структур. Собраны сведения о проведённых к настоящему времени исследованиях секреторной ткани у некоторых представителей семейства Geraniaceae.

Глава 2. Материал и методы

Материалом для исследования послужили образцы вегетативных и репродуктивных органов восьми представителей семейства Geraniaceae. Среди них пять видов относятся к роду *Geranium* L: *G. renardii* Trautv., *G. gymnocaulon* DC., *G. macrorrhizum* L., *G. ibericum* Cav., *G. sanguineum* L. и три вида – к роду *Pelargonium* L'Hér.: *P. odoratissimum* [Soland.], *P. exstipulatum* L'Hér. и *P. vitifolium* (L.) L'Hér. Материал собран с растений *Pelargonium*, культивируемых в субтропических оранжереях Ботанического сада БИН им. В.Л. Комарова РАН, а также с растений рода *Geranium*, произрастающих на альпийских горках открытого грунта, в 2022-2025 гг.

Изучение морфологии поверхности вегетативных и репродуктивных органов проводилось на прижизненных препаратах листа, цветоножки, чашелистиков и завязи.

Для исследования методами световой микроскопии, а также сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии, растения были зафиксированы в растворе 1,5% глутарового альдегида и 2% параформальдегида на 0,1М фосфатном буфере, по стандартной методике (Glauert, Reid, 1984). Последующая пробоподготовка проводилась в соответствии с протоколами, применяемыми в лаборатории анатомии и морфологии растений (Reynolds, 1963; Mollenhauer, 1964; Meek, 1976).

Выявление химического состава секреторных тканей методами гистохимии и флуоресцентной микроскопии проводилось на свежих срезах, выполненных от руки.

Присутствие фенольных соединений обнаруживалось благодаря автофлуоресценции в ультрафиолете, а также в реакции с толуидиновым синим (Gutmann, 1995), терпены выявлялись с использованием реактива НАДИ (David, Carde, 1964), алкалоиды – реактивом Wagner'a (Furr, Mahlberg, 1981), а кислые полисахариды окрашивались алциановым синим (Clark, 1981) и рутениевым красным (Furst, 1979).

Для химического анализа методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии проводилась фиксация в пяти повторностях листьев, цветоножек с чашелистиками, нектарников (в случае *Pelargonium* - нектароносных трубок), а также лепестков с пестиками и тычинками, с использованием экстракционной смеси метанола, трихлорметана и воды в объёмном соотношении 5:2:2 с добавлением рибитола. Анализ проб проводили при помощи газового хроматографа, сопряжённого с масс-селективным детектором согласно методикам, принятым в лаборатории аналитической фитохимии. Идентификация метаболитов и обработка данных проводились с использованием программного обеспечения MS-DIAL v. 4.8 (Tsugawa et al., 2020) и Metaboanalyst 6.0 (Pang et al., 2024).

Морфометрические данные были получены с использованием программного обеспечения ImageJ 1.37v (Wayne Rasband, National Institutes of Health, США). Статистическая обработка проводилась в программе Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Corporation, США).

Глава 3. Результаты исследования

3.1 Секреторные структуры видов *Geranium*

3.1.1 Трихомы

3.1.1.1 Морфологические типы железистых трихом

У исследованных видов *Geranium* встречаются два типа железистых трихом (на короткой и длинной ножке), которые имеют общий принцип строения, включающий одну секреторную клетку грушевидной или овальной формы, две клетки ножки и одну базальную клетку. Трихомы на длинных ножках у *G. gymnocaulon* и *G. sanguineum* не формируются.

3.1.1.2 Характер опушения листьев и элементов цветка

Анализ поверхности надземных органов у пяти видов *Geranium* показал, что на листьях и элементах цветка присутствуют как железистые трихомы, так и простые волоски. При этом отмечаются межвидовые различия, а также характерные особенности опушения разных органов (рис. 1).

Наблюдается асимметрия по частоте встречаемости железистых трихом на адаксиальной и абаксиальной сторонах листовой пластинки - на абаксиальной поверхности трихомы располагаются более плотно. Кроме того, этот показатель снижается по мере растяжения листовой пластинки: формирования железистых трихом *de novo* в этот период не происходит.

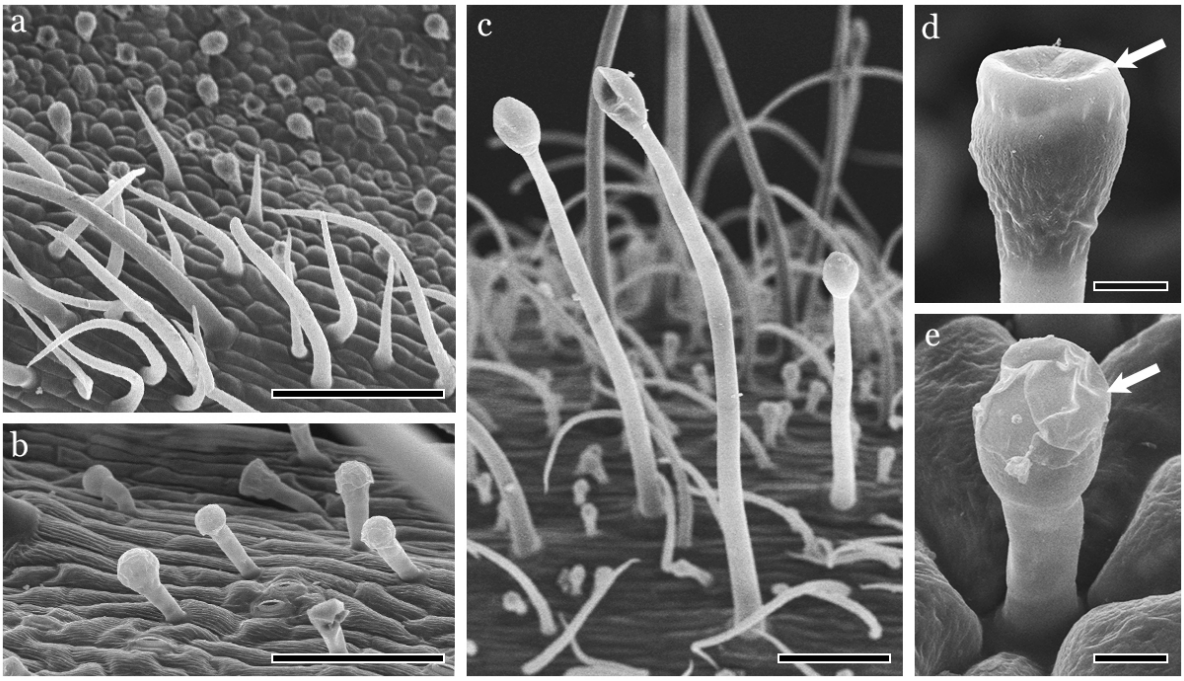

Рисунок 1. Железистые трихомы и простые волоски на поверхности разных органов у некоторых представителей рода *Geranium*. a – лист *G. gymnocaulon*, b – чашелистик *G. sanguineum*, c – цветоножка *G. renardii*, d, e - субкутикулярная полость у трихом на длинной (d) и короткой (e) ножке (стрелки). Масштабные линейки: a-c - 100 мкм, d, e - 10 мкм.

3.1.1.3 Выявление основных классов веществ в железистых трихомах

Проведённые гистохимические тесты позволили выявить в составе секретируемых веществ разнообразные вторичные метаболиты: фенольные соединения, терпеноиды и алкалоиды. Кроме того, некоторые трихомы демонстрировали положительную реакцию в тестах на кислые полисахариды.

Наибольшее разнообразие продуцируемых веществ обнаруживается в железистых трихомах **на коротких ножках** (рис. 2). В большинстве случаев окрашиванию подвергается сама секреторная клетка (цитоплазма или содержимое вакуоли), однако реакция на терпены (реактив НАДИ) демонстрирует в ряде случаев интенсивное окрашивание крупной капли секрета, находящейся над поверхностью клетки головки – в субкутикулярной полости.

Железистые трихомы **на длинной ножке** демонстрируют менее выраженные реакции в гистохимических тестах. В их составе выявляются основные классы вторичных метаболитов, а полисахаридный компонент практически отсутствует.

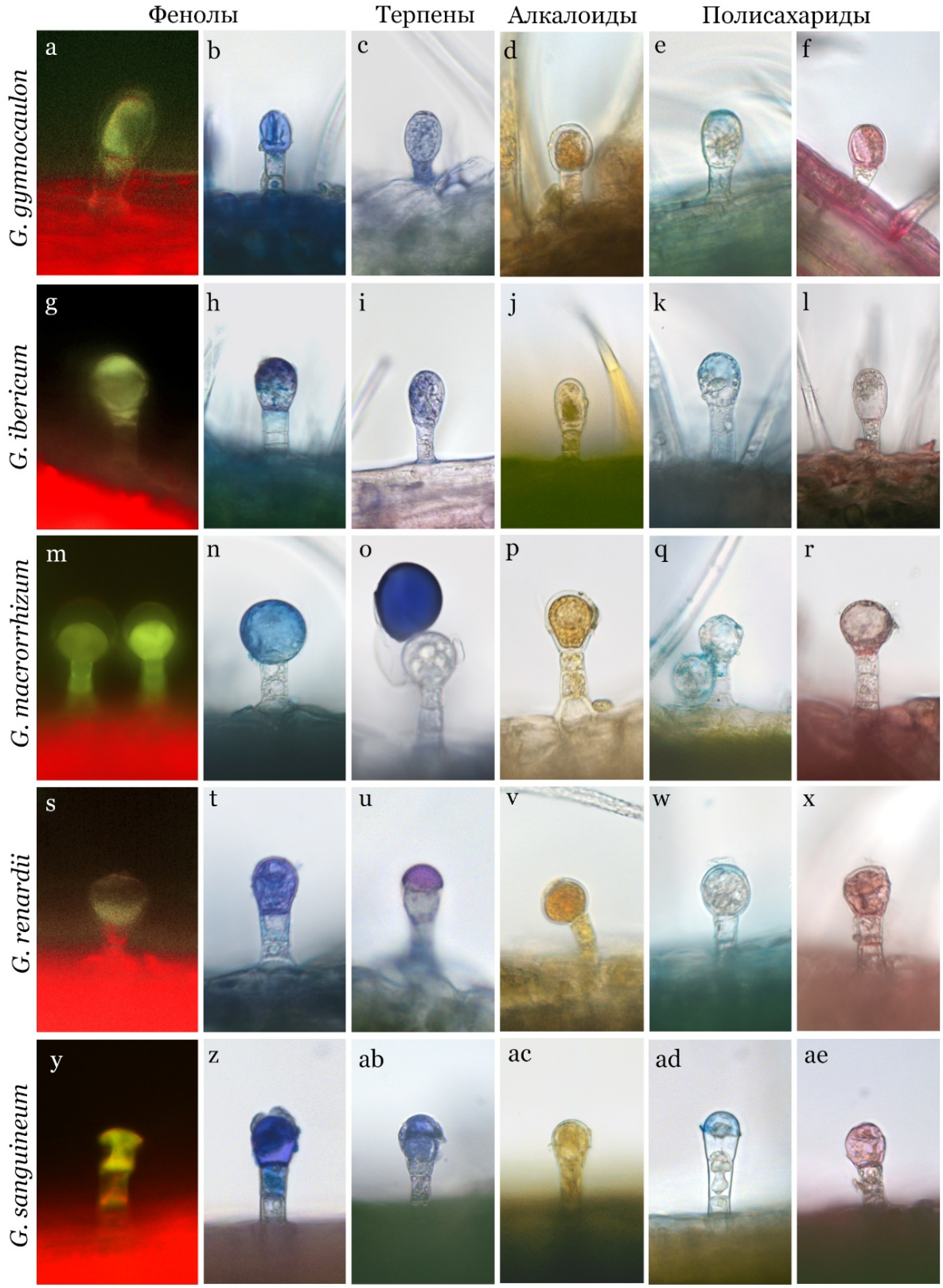

Рисунок 2. Установление классов химических веществ в составе железистых трихом на короткой ножке у видов *Geranium*.

Характерной особенностью *G. ibericum* является естественное окрашивание головок железистых трихом на длинной ножке в красный цвет. Они демонстрируют активную секрецию терпеноидов, а также фенольных соединений.

3.1.1.4 Ультраструктурная характеристика клеток железистых трихом

Ультраструктурная организация клеток железистых трихом у видов *Geranium* свидетельствует об активно идущих в них процессах биосинтеза разнообразных веществ, в том числе вторичных метаболитов (рис. 3).

В секреторных клетках трихом **на короткой ножке** основными органеллами являются: развитый агранулярный (АЭР) и гранулярный (ГЭР) эндоплазматический ретикулум, активный аппарат Гольджи (АГ), округлые лейкопласты с выраженным пластидным ретикулумом и митохондрии. Содержимое вакуолей обычно прозрачное. Для этих трихом характерно формирование субкутикулярной полости.

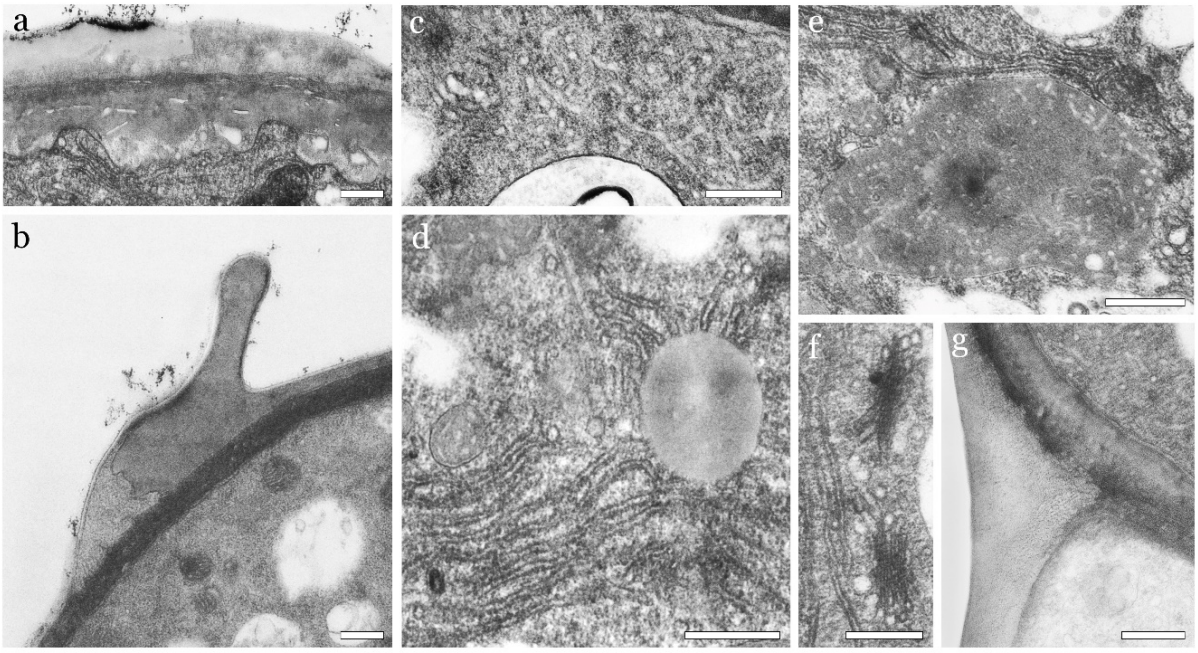

Рисунок 3. Ультраструктурные особенности железистых трихом на короткой ножке у видов *Geranium* (на примере *G. renardii*). a – структура КО в апикальной части секреторной клетки, периплазматическое пространство и включения, b – субкутикулярная полость с неоднородным содержимым, c - АЭР, d – ГЭР и липидная капля, e – АГ и элементы ГЭР, f – кутинизаия латеральных стенок клеток 1-го и 2-го яруса. Масштабные линейки: a, c-g – 500 нм, b – 1 мкм.

В секреторных клетках трихом **на длинной ножке** агранулярный эндоплазматический ретикулум образует широкий периферический слой, присутствуют многочисленные лейкопласты разнообразной формы, имеющие ретикулярные обкладки. В вакуолях присутствует мелкий осмиофильный осадок. Только у одного из видов *Geranium* (*G. ibericum*) отсутствует субкутикулярная полость у трихом этого типа.

3.1.2 Нектарники у видов *Geranium*

В основании тычиночных нитей внутреннего круга у исследованных видов *Geranium* формируется пять нектарников, различающиеся размерами и числом слоёв клеток нектароносной паренхимы.

3.1.2.1 Морфология

Нектарники у исследованных видов *Geranium* имеют округлую форму. В центральной части уплощённой вершины нектарника располагаются модифицированные устьица, которые служат для выведения нектара на поверхность органа (рис. 4). Замыкающие клетки устьиц располагаются на одном уровне с окружающими их эпидермальными клетками, либо могут быть заглублены и располагаться ниже уровня эпидермы.

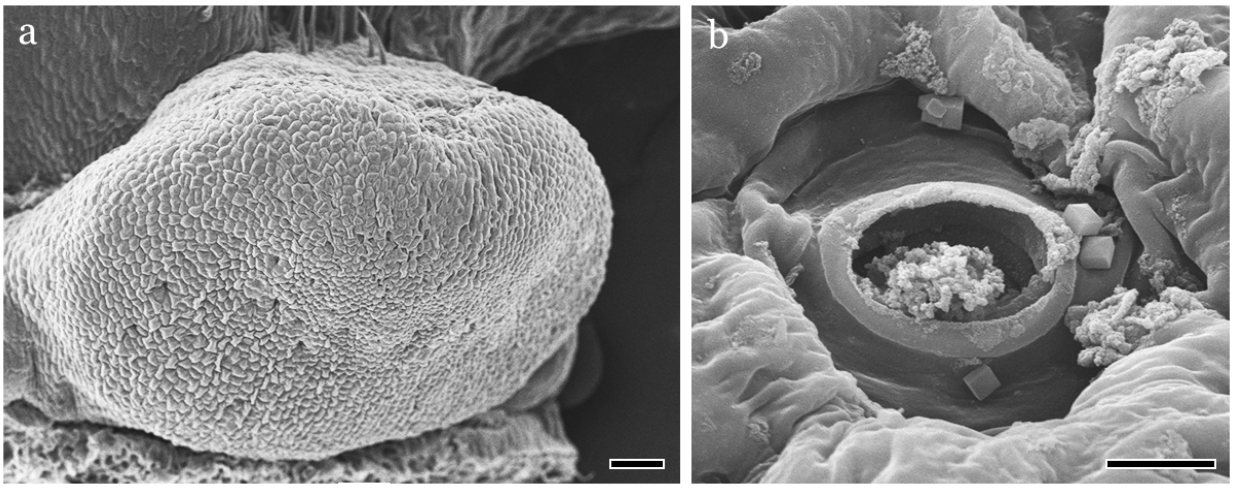

Рисунок 4. Видоизменённые устьица на вершине нектарников у *Geranium*. a - общий вид нектарника у *G. gymnocaulon*, b - остатки нектара на поверхности замыкающих клеток устьица *G. renardii*. Масштабные линейки: a - 100 мкм, b - 5 мкм.

Наибольший устьичный индекс (этот показатель демонстрирует относительную частоту распределения устьиц на поверхности нектарника) наблюдается у *G. sanguineum*, наименьшее значение этого показателя – у *G. gymnocaulon*.

3.1.2.2 Анатомия нектарников

Нектарники у исследованных видов *Geranium* сформированы клетками нектароносной и основной паренхимы. Количество слоёв секреторной ткани и размер её клеток у разных видов различается. К нектароносной ткани подходят проводящие пучки.

3.2 Секреторные структуры видов *Pelargonium*

3.2.1 Трихомы

3.2.1.1 Характер опушения листьев и элементов цветка

Анализ поверхности листа, цветоножки, чашелистиков и завязи показал, что на этих органах встречаются железистые трихомы и простые волоски. При этом отмечаются характерные особенности, присущие опушению разных органов, а также межвидовые различия по этому признаку. Как и у видов *Geranium*, частота встречаемости железистых трихом на абаксиальной и адаксиальной сторонах листа у трёх исследованных видов *Pelargonium* снижается по мере растяжения листовой пластинки, что даёт возможность утверждать, что формирования железистых трихом *de novo* в этот период не происходит.

3.2.1.2 Классификация морфологических типов железистых трихом

На основании полученных данных о морфологии и анатомии железистых трихом у трёх видов *Pelargonium* нами была предложена классификация, в которую вошли четыре морфологических типа железистых трихом, отличающихся друг от друга особенностями строения и размерами. Набор морфологических типов трихом на разных органах видоспецифичен (рис. 5). Все они однорядные и головчатые за исключением цилиндрических трихом 3-го типа.

Наиболее распространёнными являются железистые трихомы **1-го типа**. Они состоят из пяти клеток. Секреторная клетка обычно овальной или грушевидной формы, над ней часто формируется крупная субкутикулярная полость. Базальная клетка обладает утолщенными латеральными стенками и может существенно растягиваться перпендикулярно оси органа.

Железистые трихомы **2-го типа** демонстрируют межвидовые различия по длине (у *P. exstipulatum* они более чем в 2 раза длиннее трихом 1-го типа) и встречаются редко.

Трихомы **3-го типа** мелкие, над апикальной клеткой может формироваться небольшая субкутикулярная полость.

Трихомы **4-го типа** обычно состоят из четырёх клеток и характеризуются выраженной асимметрией головки (рис. 6).

3.2.1.3 Характер распределения железистых трихом разных типов

Морфологически отличающиеся типы железистых трихом встречаются на листьях и элементах цветка в разном соотношении (рис. 6). У *P. odoratissimum* формируются три типа железистых трихом: отсутствуют трихомы 3-го типа У *P. exstipulatum* встречаются все

четыре морфологических типа. На поверхности надземных органов у *P. vitifolium* трихомы 2-го типа не образуются.

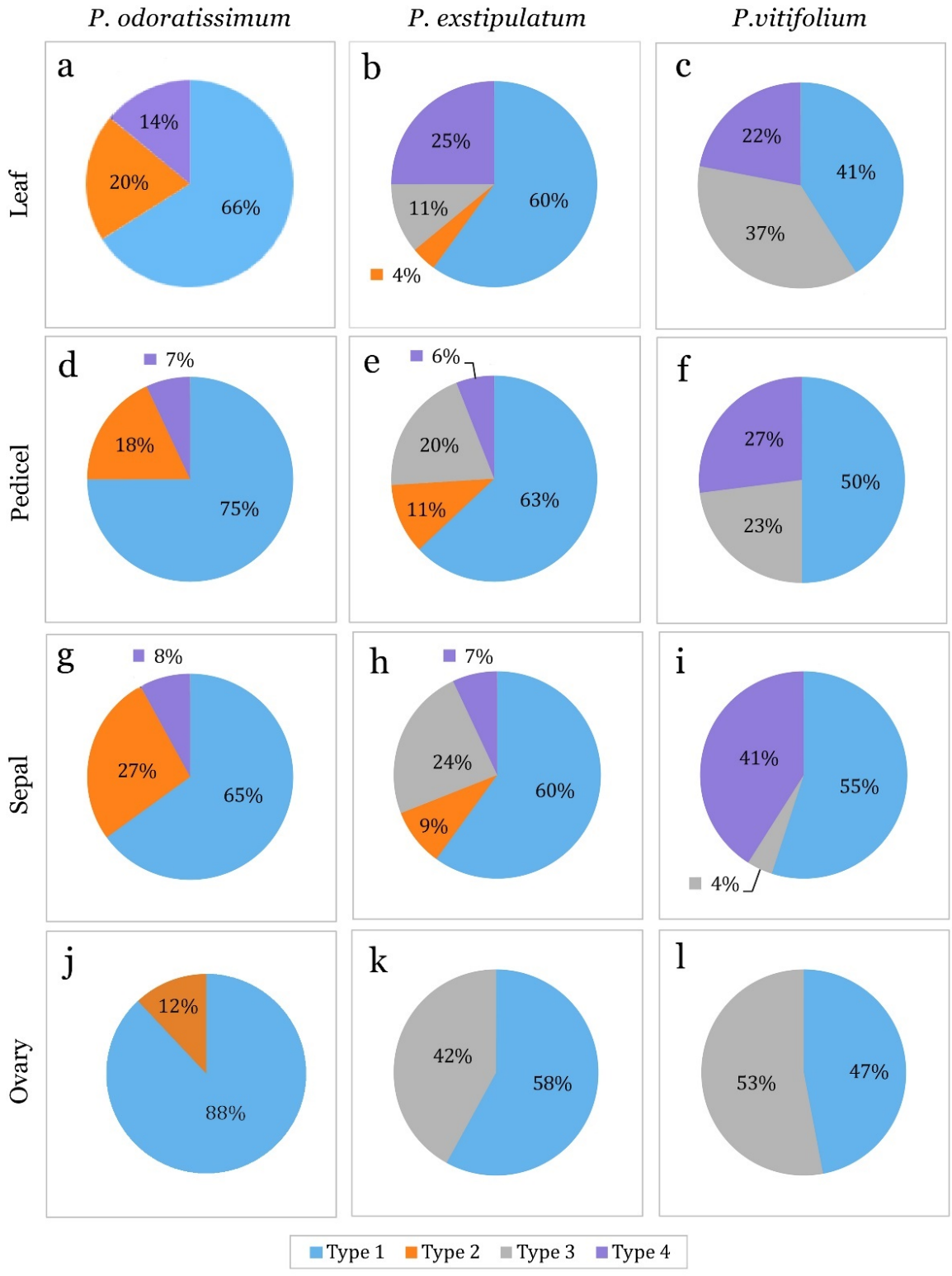

Рисунок 5. Процентное соотношение железистых трихом разных типов, локализованных на разных органах у трёх видов *Pelargonium*. a-c - лист, d-f - цветоножка, g-i - чашелистик, j-l - завязь. a, d, g, j - *P. odoratissimum*, b, e, h, k - *P. exstipulatum*, c, f, i, l - *P. vitifolium*.

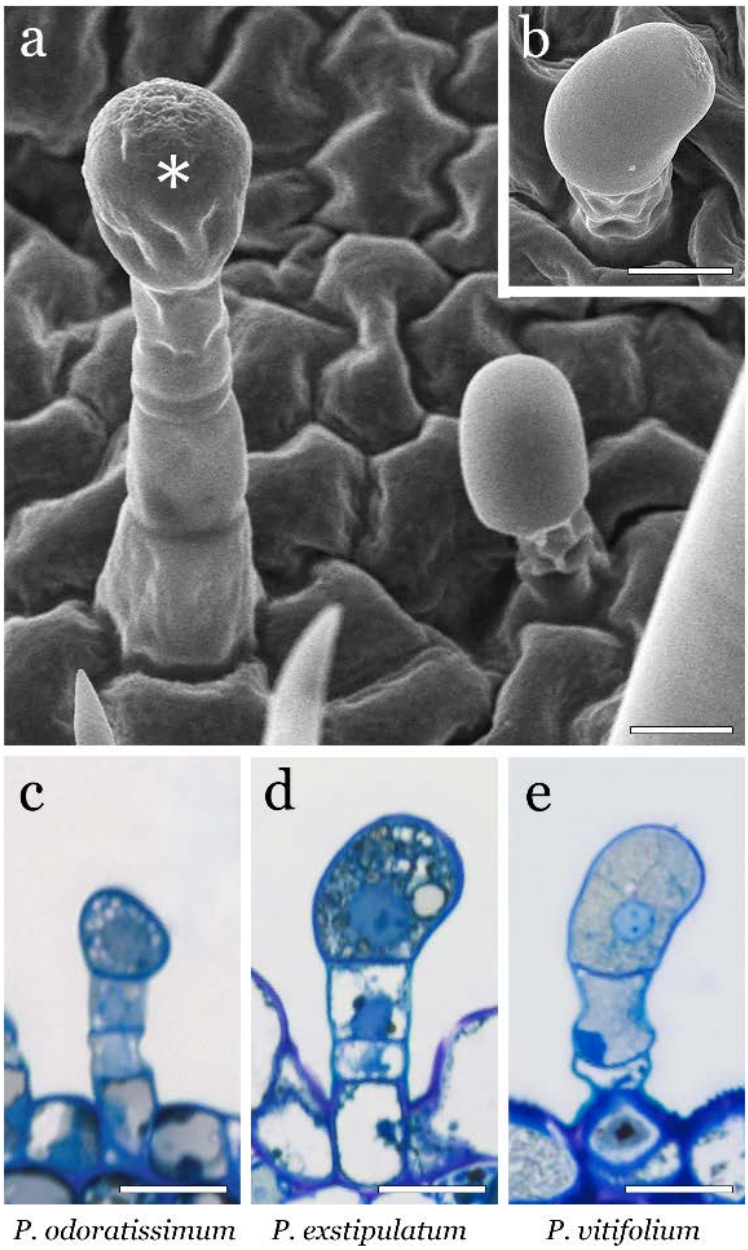

Рисунок 6. Морфология и анатомия железистых трихом 4-го типа (по данным сканирующей электронной и световой микроскопии). a, b – сканирующая микроскопия, c-e – световая микроскопия. a, b, e - *P. vitifolium*, c - *P. odoratissimum*, d - *P. exstipulatum*. a, b - железистые трихомы 4-го типа рядом с железистой трихомой 1го типа (*). Масштабная линейка - 20 µm.

3.2.1.4 Выявление основных классов веществ в железистых трихомах

По результатам проведённой серии гистохимических тестов было установлено, 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 у трёх видов *Pelargonium*, отражён в таблице 1.

Таблица 1. Выявление некоторых классов веществ в железистых трихомах разных типов, локализованных на вегетативных и репродуктивных органах у *Pelargonium*

Вид	***P. odoratissimum***			***P. exstipulatum***				***P. vitifolium***		
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

Железистые трихомы 1-го типа показали положительную реакцию во всех гистохимических тестах у всех исследованных видов. Фенольные соединения у трихом этого типа обычно локализуются в вакуолях клетки головки, а терпены могут находиться в органеллах цитоплазмы или накапливаться в субкутикулярной полости.

3.2.1.5 Ультраструктурная характеристика клеток железистых трихом

Железистые трихомы у трёх исследованных видов *Pelargonium* обладают комплексом ультраструктурных признаков, характерных для секреторной ткани, в которой происходят биосинтез, накопление и выведение вторичных метаболитов. Кроме того, оказалось возможным выявить ряд особенностей, присущих каждому морфологическому типу трихом, что указывает на их специализацию. Также в ряде случаев можно отметить межвидовые различия в строении трихом одного типа.

У *Pelargonium* в секреторных клетках трихом **1-го типа** присутствуют такие же органеллы, как и в коротких трихомах *Geranium*; отличия заключаются только в большей степени развития поверхности лейкопластов. В полости вакуолей обнаруживается рыхлый зернистый осмиофильный осадок. Трихомы этого типа также формируют крупную субкутикулярную полость.

В трихомах **2-го типа** агранулярный и гранулярный эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи встречаются редко. Лейкопласты крупные, с хорошо развитым пластидным ретикулумом. Осмиофильный секрет образует широкий слой на тонопласте. Субкутикулярная полость отсутствует.

В трихомах **3-го типа** образуются протуберанцы оболочки секреторной клетки. Значительно развиты агранулярный и гранулярный эндоплазматический ретикулум, лейкопласты крупные, плейоморфные, окружённые перипластидным ретикулумом. Содержимое вакуолей гомогенное и осмиофильное. Субкутикулярная полость, как правило, мелкая.

Трихомы **4-го типа** характеризуются наличием развитого агранулярного и гранулярного эндоплазматического ретикулума, лейкопластов небольшого размера и разнообразной формы. В апикальной части клетки располагается крупная центральная вакуоль с тёмным рыхлым содержимым. Секрет откладывается в периплазматическом пространстве, а также в виде многочисленных светлых включений в клеточной оболочке. Субкутикулярная полость не формируется.

Для железистых трихом *Geranium* характерно формирование двух клеток, выполняющих барьерную функцию, с разной степенью кутинизации латеральных стенок, тогда как в трихомах *Pelargonium* число клеток с кутинизированными латеральными стенками увеличивается до 3-4.

Кроме того, стоит отметить, что вышеуказанные признаки не являются конститутивными на всех этапах развития трихомы: ультраструктура секреторных клеток пластична и может видоизменяться в ходе развития, что обеспечивает возможность секреции широкого спектра веществ разного химического состава.

3.2.2 Нектарники у видов *Pelargonium*

3.2.2.1 Морфология и анатомия нектарников

В цветках представителей рода *Pelargonium* формируется по одному нектарнику, который располагается в основании длинной нектароносной трубки и выстилает её изнутри (рис.7).

В проксимальной части трубки нектарника, в зоне наибольшего количества слоёв нектароносной паренхимы, располагаются видоизменённые устьица. У представителей *Pelargonium* они, как правило, слегка приподняты над уровнем эпидермы (рис. 7, b).

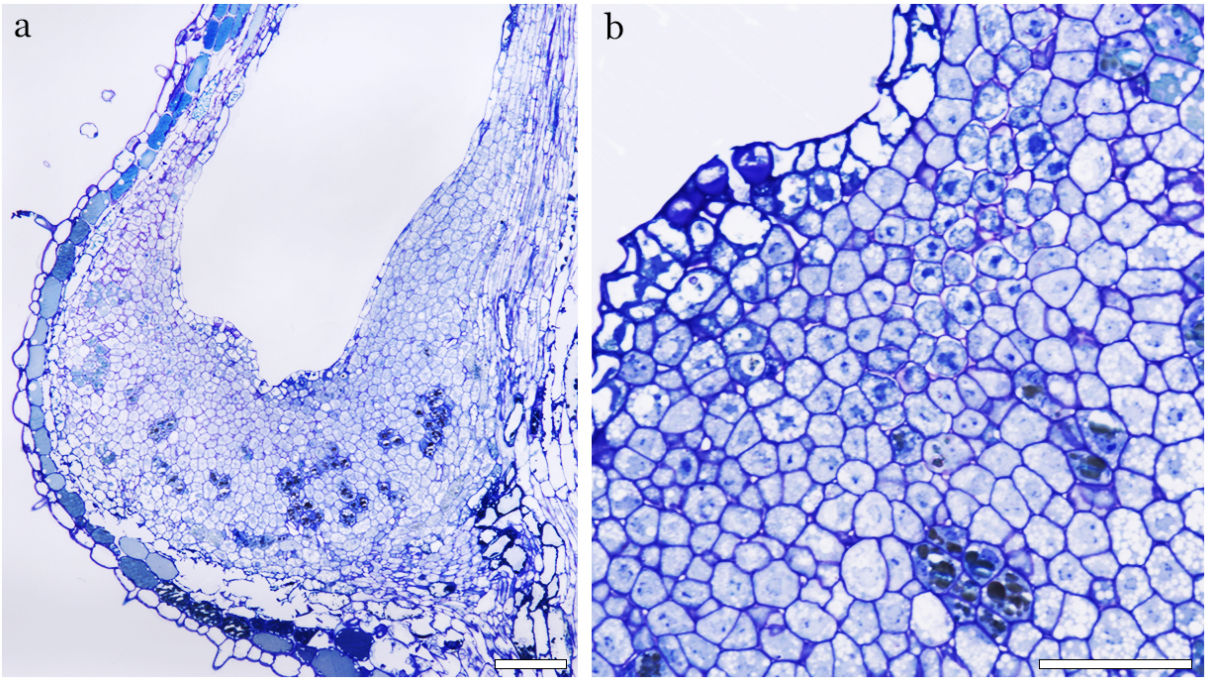

Рисунок 7. Анатомия нектарников у *Pelargonium* на примере *P. odoratissimum*. Масштабные линейки: a – 100 мкм, b – 50 мкм.

3.3 Химический анализ листьев и элементов цветка у видов *Geranium* и *Pelargonium*

3.3.1 Идентифицированные вещества

При химическом анализе экстрактов, полученных из листьев и элементов цветка шести из исследуемых видов *Geranium* и *Pelargonium*, в их составе было идентифицировано более 150 веществ, среди которых 59 – сахара, 34 – липиды (в том числе жирные кислоты), 25 – аминокислоты, 23 – фенольные соединения, 16 – органические кислоты, 12 – амины и 6 – терпеноиды.

3.3.2 Внутривидовые особенности химического состава экстрактов разных органов

Был проведён дифференциальный анализ четырёх вариантов проб от каждого вида: лист; цветоножка и чашелистики; тычинки, завязь и лепестки, а также нектарники или нектароносная трубка (у видов *Geranium* и *Pelargonium* соответственно). Образцы были взяты в пяти повторностях. Выявляются различия в химическом составе разных органов у каждого из исследованных видов.

В составе нектарников у исследованных видов было обнаружено повышенное содержание ряда вторичных метаболитов (среди них летучие фенольные соединения – гидроксибензойная кислота, фенол, пирогаллол, терпены – элемол, гермакрен, туйон), что указывает на участие этих секреторных структур в процессах биосинтеза не только сахаров,

но и летучих веществ, которые могут выступать в роли обонятельных сигналов для привлечения опылителей.

3.3.3 Межвидовые различия в химическом составе экстрактов разных органов у представителей *Geranium* и *Pelargonium*.

При сравнении экстрактов листьев и элементов цветка у исследованных видов *Geranium* и *Pelargonium* также можно выявить ряд закономерностей. По содержанию разнообразных веществ в листьях и нектарниках лидируют виды *Pelargonium*, а в элементах цветка – *G. ibericum* и *G. sanguineum*, экстракты которых ранее были изучены крайне мало. Известный своими лечебными свойствами и разнообразием областей применения *G. macrorrhizum*, напротив, показал наименьшее из всех исследованных видов содержание метаболитов во всех органах за исключением нектарников.

Таким образом, анализ метаболитного пула листьев и элементов цветка продемонстрировал как различия в химическом составе разных органов у исследованных видов, так и межвидовые различия, причём определяющими компонентами зачастую являются вещества из разных химических классов.

Глава 4. Обсуждение результатов

Глава включает анализ полученных данных о характере распределения, анатомо-морфологических характеристиках, гистохимических реакциях и ультраструктурных особенностях железистых трихом, строении и локализации нектарников, сопоставление их с результатами химического анализа и литературными данными.

Комплекс морфологических характеристик железистых трихом, их ультраструктурной организации и реакций на гистохимические красители является видоспецифическим у каждого из изученных представителей семейства Geraniaceae. Разработка единой классификации типов железистых трихом, которая была бы применима для разных растений семейства, основанной не только на их морфологических признаках, но и подкреплённой ультраструктурной характеристикой, позволит стандартизировать описания и привести исследовательские работы по этой теме к единообразию, что упростит сопоставление результатов, полученных для разных видов, а также может быть использовано в качестве дополнительного систематического признака при определении таксономической принадлежности растения в лабораторных и полевых условиях.

При сопоставлении данных химического анализа листьев и элементов цветка с анатомо-морфологической характеристикой секреторных структур у представителей Geraniaceae, становится очевидным, что как железистые трихомы разных типов, так и

нектарники, принимают активное участие в биосинтезе разнообразных веществ, которые служат как для защиты растения от биотических и абиотических воздействий, так и для привлечения опылителей к цветкам. Таким образом, секреторные структуры у исследованных нами видов являются полифункциональными.

Исследование внутриклеточных процессов биосинтеза биологически активных веществ требует применения разнообразных методов и их сочетаний, а установление роли секреторных структур и их особенностей (как межвидовых, так и обусловленных локализацией на разных органах), расширение числа изученных видов и разработка единой классификации железистых трихом являются перспективными направлениями для дальнейшей работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные результаты и выводы:

1. Секреторные ткани надземных органов у исследованных нами растений, относящихся к родам *Geranium* и *Pelargonium*, представлены железистыми трихомами и нектарниками.

2. У пяти исследованных видов *Geranium* обнаружены железистые трихомы двух морфологических типов (на коротких и длинных ножках), отличающиеся по строению и ультраструктурной характеристике; наиболее распространёнными являются трихомы на коротких ножках. Локализация и число типов железистых трихом на разных органах видоспецифичны.

3. У трёх исследованных видов *Pelargonium* обнаружены железистые трихомы четырёх морфологических типов, демонстрирующие анатомические, гистохимические и ультраструктурные различия; наиболее распространёнными являются трихомы 1-го типа. Характер распределения и число типов железистых трихом видоспецифичны для каждого органа.

4. У исследованных видов *Geranium* и *Pelargonium* существуют принципиальные различия по локализации, числу и размеру нектарников. У растений *Geranium* образуется 5 нектарников, которые закладываются в основании тычиночных нитей, у растений *Pelargonium* формируется лишь один нектарник, располагающийся в основании нектароносной трубки на цветоножке. Секреция нектара осуществляется через модифицированные устьица.

5. Химический состав железистых трихом и выделяемого ими секрета у всех изученных видов включает кислые полисахариды, фенольные соединения и терпеноиды. Дифференциальный химический анализ листьев и элементов цветка, содержащих секреторные структуры, позволил установить различия компонентов секрета как между видами, так и между органами.

6. Синтез различных компонентов секрета коррелирует с присутствием в клетках железистых трихом и нектарников определенных органелл: наличие кислых полисахаридов обеспечивается высокой активностью аппарата Гольджи, от телец которого отделяются секреторные пузырьки, а также пролиферацией гранулярного эндоплазматического ретикулума; синтез фенольных соединений обусловлен развитием многочисленных элементов агранулярного эндоплазматического ретикулума; терпеновый компонент секрета обеспечивается присутствием многочисленных лейкопластов разнообразной формы с перипластидным ретикулумом вблизи наружной мембраны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abarova S., Alexova R., Dragomanova S., Solak A., Fagone P., Mangano K., Petralia M. C., Nicoletti F., Kalfin R., Tancheva L. 2024. Emerging Therapeutic Potential of Polyphenols from *Geranium sanguineum* L. in Viral Infections, Including SARS-CoV-2. – Biomolecules 14 (1). 10.3390/biom14010130.
2. Bautista M., Madrigal-Santillan E., Morales-Gonzalez A., Gayosso-De-Lucio J. A., Madrigal-Bujaidar E., Chamorro-Cevallos G., Alvarez-Gonzalez I., Benedi J., Aguilar-Faisal J. L., Morales-Gonzalez J. A. 2015. An alternative hepatoprotective and antioxidant agent: the *Geranium*. – African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines 12 (4). https://doi.org/10.4314/ajtcam.v12i4.15.
3. Boukhris M., Ben Nasri-Ayachi M., Mezghani I., Bouaziz M., Boukhris M., Sayadi S. 2013. Trichomes morphology, structure and essential oils of *Pelargonium graveolens* L'Hér. (Geraniaceae). – Industrial Crops and Products 50: 604-610. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.029.
4. Bussmann R. W., Sharon D. 2006. Traditional medicinal plant use in Northern Peru: tracking two thousand years of healing culture. – J Ethnobiol Ethnomed 2: 47. https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-47.
5. Ćavar S., Maksimović M. 2012. Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her. – Food Control 23 (1): 263-267. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.07.031.
6. Cho B.-S., Ko K.-N., Kim E.-S. 1999. Ultrastructural study of glandular trichomes in *Pelargonium peltatum*. – Applied Microscopy 29 (1): 125-136.
7. Clark G. 1981. Miscellaneous methods. – Staining procedures (G. Clark, ed.). Williams & Wilkins, Baltimore: 171-215.
8. David R., Carde J. 1964. Histochimie-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 258 (4): 1338-&.
9. Ercil D., Kaloga M., Radtke O. A., Sakar M. K., Kiderlen A. F., Kolodziej H. 2005. O-galloyl flavonoids from *Geranium pyrenaicum* and their in vitro antileishmanial activity. – Turkish Journal of Chemistry 29 (4): 437-443.
10. Feng Z., Bartholomew E. S., Liu Z., Cui Y., Dong Y., Li S., Wu H., Ren H., Liu X. 2021. Glandular trichomes: new focus on horticultural crops. – Hortic Res 8 (1): 158. https://doi.org/10.1038/s41438-021-00592-1.
11. Furr M., Mahlberg P. G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in Cannabis sativa. – Journal of Natural Products 44 (2): 153-159.

12. Furst G. G. 1979. Methods of anatomical-histochemical research of plant tissues.
13. Glauert A., Reid N. 1984. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. – Pract. Methods Electron Microsc. 3 (part 1).
14. Gutmann M. 1995. Improved staining procedures for photographic documentation of phenolic deposits in semithin sections of plant tissue. – Journal of Microscopy 179 (3): 277-281.
15. Huchelmann A., Boutry M., Hachez C. 2017. Plant Glandular Trichomes: Natural Cell Factories of High Biotechnological Interest. – Plant Physiol 175 (1): 6-22. 10.1104/pp.17.00727.
16. Ibrahim M. A., Sallem O. W., Abdelhassib M. R., Eldahshan O. A. 2021. Potentiation of anti-Helicobacter pylori activity of clarithromycin by *Pelargonium graveolens* oil. – Arab Journal of Gastroenterology 22 (3): 224-228. https://doi.org/10.1016/j.ajg.2021.05.016.
17. Jeiter J., Weigend M., Hilger H. H. 2016. Geraniales flowers revisited: evolutionary trends in floral nectaries. – Annals of Botany 119 (3): 395-408. https://doi.org/10.1093/aob/mcw230.
18. Ko K. N., Lee K. W., Lee S. E., Kim E. S. 2007. Development and ultrastructure of glandular trichomes in *Pelargonium* x *fragrans* ‘Mabel Grey’ (Geraniaceae). – Journal of Plant Biology 50 (3): 362-368. https://doi.org/10.1007/BF03030668.
19. Konarska A., Masierowska M. 2020. Structure of floral nectaries and female-biased nectar production in protandrous species *Geranium macrorrhizum* and *Geranium phaeum.* . – Protoplasma 257: 501-523.
20. Kujur A., Kumar A., Yadav A., Prakash B. 2020. Antifungal and aflatoxin B1 inhibitory efficacy of nanoencapsulated *Pelargonium graveolens* L. essential oil and its mode of action. – LWT 130: 109619.
21. Lange B. M., Srividya N. 2019. Enzymology of monoterpene functionalization in glandular trichomes. – J Exp Bot 70 (4): 1095-1108. DOI: 10.1093/jxb/ery436.
22. Li D., Yao L. 2005. Structure and development of glandular trichomes in *Pelargonium fragrans*. – Journal of Shanghai Jiaotong University - Agricultural Science 23: 217-222.
23. Lis-Balchin M. T. 1996. A chemotaxonomic reappraisal of the Section *Ciconium Pelargonium* (Geraniaceae). – South African Journal of Botany 62 (5): 277-279. https://doi.org/10.1016/s0254-6299(15)30657-8.
24. Lis-Balchin M., Roth G. 2000. Composition of the essential oils of *Pelargonium odoratissimum*, *P. exstipulatum*, and *P.* × *fragrans* (Geraniaceae) and their bioactivity. – Flavour and Fragrance Journal 15. https://doi.org/10.1002/1099-1026(200011/12)15:6<391::AID-FFJ929>3.0.CO;2-W.

25. Liu Y., Jing S.-X., Luo S.-H., Li S.-H. 2019. Non-volatile natural products in plant glandular trichomes: chemistry, biological activities and biosynthesis. – Natural Product Reports 36 (4): 626-665. 10.1039/C8NP00077H.
26. Meek G. A. 1976. Practical electron microscopy for biologists.
27. Mollenhauer H. H. 1964. Plastic embedding mixtures for use in electron microscopy. – Stain Technology 39: 111.
28. Muravnik L. E. 2020. The Structural Peculiarities of the Leaf Glandular Trichomes: A Review. – In: Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites. 1-35.
29. Oosthuizen L.-M., Coetzee J. 1983. Morphogenesis of trichomes of Pelargonium scabrum. – South African Journal of Botany 2 (4): 305-310. 10.1016/s0022-4618(16)30094-8.
30. Pang Z., Lu Y., Zhou G., Hui F., Xu L., Viau C., Spigelman A. F., Macdonald P. E., Wishart D. S., Li S., Xia J. 2024. MetaboAnalyst 6.0: towards a unified platform for metabolomics data processing, analysis and interpretation. – Nucleic Acids Res 52 (W1): W398-W406. 10.1093/nar/gkae253.
31. Pedro L., Campos P., Pais M. S. 1990. Morphology, ontogeny and histochemistry of secretory trichomes of *Geranium robertianum* (Geraniaceae). – Nordic Journal of Botany 10 (5): 501-509. https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1990.tb02094.x.
32. Radulović N. S., Stojković M. B., Mitić S. S., Randjelović P. J., Ilić I. R., Stojanović N. M., Stojanović-Radić Z. Z. 2012. Exploitation of the Antioxidant Potential of *Geranium macrorrhizum* (Geraniaceae): Hepatoprotective and Antimicrobial Activities. – Natural Product Communications 7 (12). https://doi.org/10.1177/1934578x1200701218.
33. Reynolds E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. – The Journal of cell biology 17 (1): 208.
34. Romitelli I., Martins M. B. G. 2012. Comparison of leaf morphology and anatomy among *Malva sylvestris* ("gerânio-aromático"), *Pelargonium graveolens* ("falsa-malva") and *Pelargonium odoratissimum* ("gerânio-de-cheiro"). – Revista Brasileira de Plantas Medicinais 15: 91-97. https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000100013.
35. Schultz D. J., Wickramasinghe N. S., Klinge C. M. 2006. Chapter Six - Anacardic Acid Biosynthesis and Bioactivity. – In: Recent Advances in Phytochemistry. 131-156.
36. Seker M. E., Ay E., Akta S. K. A., R H. U., Efe D. 2021. First determination of some phenolic compounds and antimicrobial activities of *Geranium ibericum* subsp. *jubatum*: A plant endemic to Turkey. – Turk J Chem 45 (1): 60-70. https://doi.org/10.3906/kim-2005-38.
37. Singh P., Srivastava B., Kumar A., Kumar R., Dubey N. K., Gupta R. 2008. Assessment of *Pelargonium graveolens* oil as plant-based antimicrobial and aflatoxin suppressor in food

preservation. – Journal of the Science of Food and Agriculture 88 (14): 2421-2425. https://doi.org/10.1002/jsfa.3342.

38. Tahir S. S., Liz-Balchin M., Husain S. Z., Rajput M. T. M. 1994. 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 26: 397–407.
39. Tsugawa H., Ikeda K., Takahashi M., Satoh A., Mori Y., Uchino H., Okahashi N., Yamada Y., Tada I., Bonini P. 2020. A lipidome atlas in MS-DIAL 4. – Nature biotechnology 38 (10): 1159-1163.
40. Xiao K., Mao X., Lin Y. 2017. Trichome, a Functional Diversity Phenotype in Plant. – Molecular Biology 6 (1). https://doi.org/10.4172/2168-9547.1000183.
41. Yohana R., Chisulumi P. S., Kidima W., Tahghighi A., Maleki-Ravasan N., Kweka E. J. 2022. Anti-mosquito properties of *Pelargonium roseum* (Geraniaceae) and *Juniperus virginiana* (Cupressaceae) essential oils against dominant malaria vectors in Africa. – Malaria Journal 21 (1): 1-15. 10.1186/s12936-022-04220-8.
42. Ильина Л. П., Анцупова Т. П. 2016. Дубильные вещества представителей семейства Geraniaceae Бурятии. – Международный научно-исследовательский журнал 5 (47): 73-74. DOI: 10.18454/IRJ.2016.47.083.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АСПИРАНТОМ ПО ТЕМЕ НКР

Статьи

1. 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.
2. Рябуха У. А., Муравник Л. Е. Железистые трихомы и нектарники у видов *Geranium* L. // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: Сборник научных трудов XII международной научной конференции молодых ученых, Москва, 05–06 декабря 2024 года. – Москва: ФГБНУ ВИЛАР, 2024. – С. 49-53.
3. Рябуха У. А., Муравник Л. Е. Секреция биологически активных веществ железистыми трихомами разных морфологических типов у некоторых видов *Pelargonium* (Geraniaceae). // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – Ялта: ФГБУН «НБС-ННЦ» (в печати – см. справку)

Материалы научных конференций (тезисы)

1. Рябуха У. А., Пожванов Г. А., Муравник, Л. Е. (2025). Секреторные структуры листьев и цветков у представителей семейства Geraniaceae. Материалы VI (XIV) Международной ботанической конференции молодых учёных в Санкт-Петербурге, Санкт-Петербург, БИН РАН. 21-25 апреля 2025 года. С. 180-181
2. Рябуха У. А., Муравник Л. Е. (2025). Секреция биологически активных веществ железистыми трихомами разных морфологических типов у некоторых видов *Pelargonium* (Geraniaceae). Фундаментальные и прикладные исследования в ботанике, экологии, растениеводстве: материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием, Ялта, ФГБУН «НБС-ННЦ». 26-30 мая 2025 года. С. 107-109