

CORRESPONDENCE

Morphological and anatomical structure of leaves of *Artemisia abrotanum* (Asteraceae) introduced in Zhytomyr Polissya

Iryna V. Ivashchenko ¹, Galyna F. Ivanenko ²

¹ Zhytomyr National Agroecological University, Stary Boulevard 7, 10008 Zhytomyr, Ukraine; kalateja@ukr.net

² M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine, Tereshchenkivska str. 2, 01601 Kyiv, Ukraine; gfrivanenko@ukr.net

Received: 20.01.2017 | Accepted: 12.03.2017 | Published: 12.04.2017

Abstract

The upper and the lower epidermises of *Artemisia abrotanum* introduced in Zhytomyr Polissya are covered with cuticle. The leaf blades are amphistomatic, with oval anomocytic stomata. On adaxial and abaxial epidermal surfaces present indumentary trichomes of various types. In particular, there are located oval multi-cellular glandular trichomes, which are typical for Asteraceae. Secretory tissues of internal secretion are represented by essential oil containers. Leaf blade of *A. abrotanum* has isobilateral structure with collateral vascular bundles. *A. abrotanum* reveals certain xeromorphic traits: small and compact leaves, presence of covering trichomes, more developed palisade parenchyma in comparison with spongy one, and thick walls of epidermal cells. Investigated secretory structures and non-glandular trichomes are considered taxonomical characters and can be applied for identification of pharmaceutical raw material of *A. abrotanum*.

Keywords: *Artemisia abrotanum*, introduction, leaf blade, stomatal complex, trichomes, secretory structures

Вступ

Artemisia abrotanum L. (полин лікарський) належить до секції *Abrotanum* (Neck.) Besser. підроду *Artemisia* роду *Artemisia* L. родини Asteraceae Bercht. et J. Presl (Minarchenko 2005; Boiko 2011). Серед синонімів цього

виду – *A. elatior* Klokov та *A. procera* Willd. (Ostapko et al. 2010). Згідно з Greuter (2017), до гетеротипних синонімів *A. abrotanum* також належать *A. herbacea* Willd., *A. paniculata* Lam. та *A. proceriformis* Krasch.

Полин лікарський належить до євразійської групи ареалів південно-східно-

європейсько-кавказько-ірано-туранського типу (Boiko 2011) і розповсюджений по всій території України (Minarchenko 2005). Це напівкущ із стрижневою кореневою системою (Boiko 2002). Стебла підведені, 60–150 см заввишки, в нижній частині з бурою корою, в верхній ділянці вкриті восковою поволокою, голі, розгалужені. Стеблові листки черешкові, без вушок при основі, двічіпірчаторозсічені з вузьколінійними загостреними кінцевими частками; зверху сизуваті, голі, зісподу сіруваті від дрібного опушення. Верхівкові листки трійчасті або суцільні, вузьколінійні. Спільне суцвіття волотисте, рідкувате, густо улиствене; кошики майже кулясті, дрібні, більш-менш пониклі; обгортка коротковолосиста, зовнішні листочки її довгасто-ланцетні, загострені, з півчастою облямівкою, внутрішні – оберненояйцевидні, тупі, майже цілком півчасті, білуваті, квітки жовті. Плід – сім'янка (Visjulina 1962).

Будова листків багатьох видів роду *Artemisia* детально досліджена в працях Hayat et al. (2010) та Noorbakhsh et al. (2008). Проте відомості щодо *A. abrotanum* є фрагментарними. Відомо, що клітини верхнього і нижнього епідермісу листків цього виду характеризуються звивистими обрисами, аномоцитні продихи присутні на абаксіальній та адаксіальній поверхнях, наявні неспецифічні паренхімні клітини з ефірною олією (Soyunova 2012) та залозисті трихоми (Suresh et al. 2007).

A. abrotanum – це перспективна для фармацевтичної промисловості та медицини фітонцидно-лікарська ефіроолійна культура, що містить різноманітні біологічно активні сполуки: ефірну олію, фенолкарбоніві сполуки та їх похідні, а також флавоноїди і кумарини (Kowalski et al. 2007; Suresh et al. 2012; Ivashchenko et al. 2015). Рослина виявляє спазмолітичну, глістогінну, діуретичну, гемостатичну, потогінну, антифунгіцидну, бактерицидну, ранозагоювальну, а також знеболювальну та протизапальну дії (Cubukcu et al. 1990; Kowalski et al. 2007; Kovaliova et al. 2011; Suresh et al. 2012; Ivashchenko et al. 2014; Ivashchenko 2015). Здавна в народній

медицині *A. abrotanum* застосовували як засіб, що стимулює діяльність травних органів, при судамах, тахікардії, риніті, пухлинах шлунка й печінки; зовнішньо – при маститі, опіках, обмороженні та фурункулах (Sokolov 1993; Remberg et al. 2004; Minarchenko 2005). Результати досліджень також свідчать про ефективність застосування *A. abrotanum* проти збудника малярії (Cubukcu et al. 1990).

В зоні Житомирського Полісся *A. abrotanum* не культивують, тому інтродукційне вивчення цієї культури, в тому числі морфолого-анатомічних особливостей, з метою подальшого використання в фармацевтичній промисловості, медицині та парфумерії є актуальним. Окрім того, дослідження анатомічної будови листків мають важливе значення для виявлення адаптаційних можливостей виду у різних екологічних умовах, при визначенні та ідентифікації лікарської рослинної сировини, уточненні питань систематики, вивченні філогенетичних зв'язків тощо (Hayat et al. 2009). Тому метою нашої роботи було дослідити морфолого-анатомічну будову листків *A. abrotanum* за умов інтродукції в Житомирському Поліссі.

Матеріали і методи досліджень

Об'єктом дослідження були листки *A. abrotanum*, інтродукованого в умовах ботанічного саду Житомирського національного агроекологічного університету (Рис. 1). Вихідний матеріал полину лікарського отримали із Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. Збір матеріалу та його обробку проводили у період цвітіння. Дослідження анатомічної будови листків інтродуцента здійснювали в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Фіксацію зразків проводили сумішшю 2,5% глютарового альдегіду на кокодилатному буфері рН 7,2 з 1% розчином параформальдегіду на воді. Зневоднення проводили у серії спиртів зростаючої

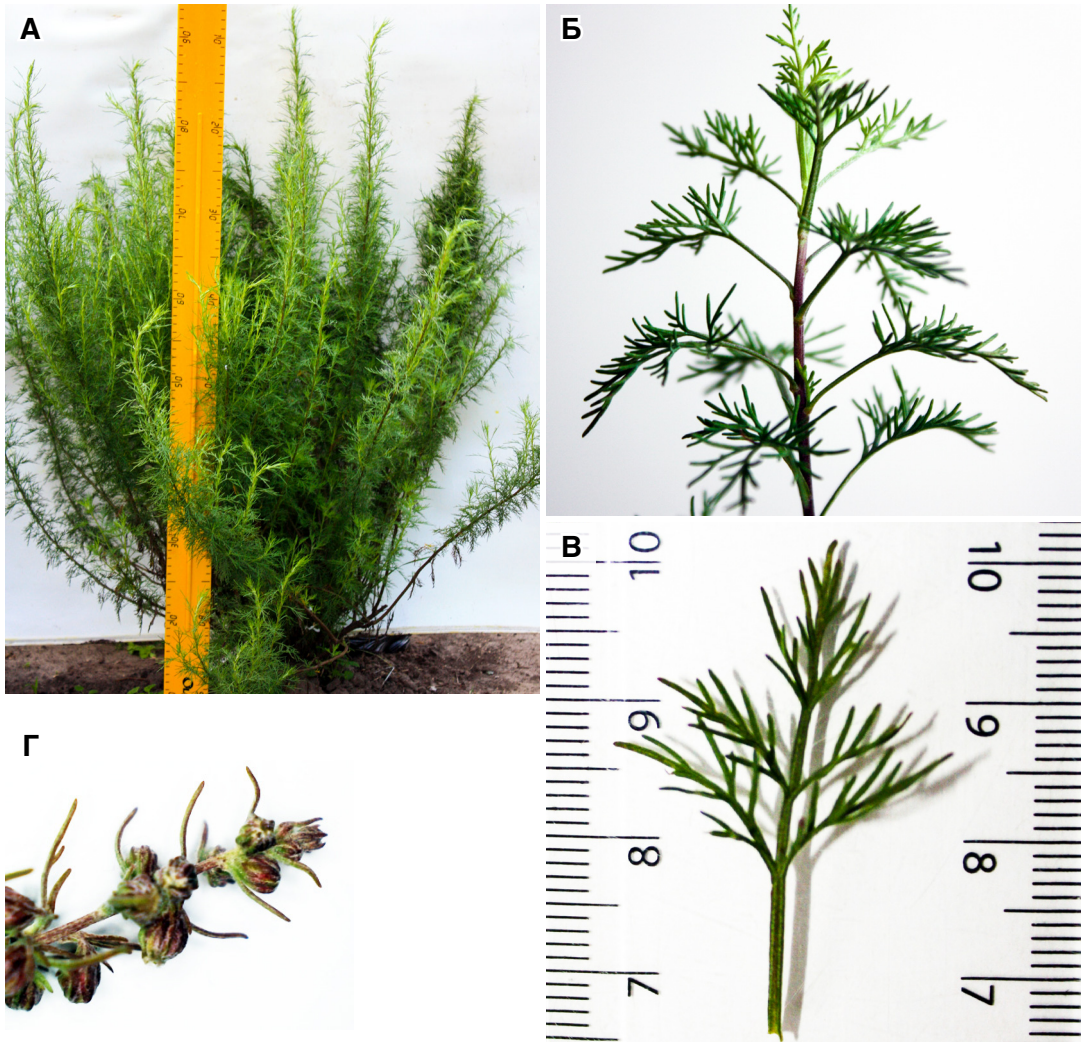


Рис. 1. *Artemisia abrotanum*: **А** – загальний вигляд рослини; **Б** – верхня частина пагону (вегетативна фаза); **В** – листок серединної формації; **Г** – верхня частина генеративного пагону (фаза бутонізації, $\times 10$).

Fig. 1. *Artemisia abrotanum*: **A** – general view of plant; **B** – shoot apex (vegetative stage); **B** – middle leaf; **Г** – apex of generative shoot (budding stage, $\times 10$).

концентрації і в ацетоні. Заливку у суміш епоксидних смол (епон-аралдит) проводили за загальноприйнятою методикою (Gayer 1974; Carde 1987). Для світлової мікроскопії виготовляли зрізи завтовшки 1,5 мкм на ультрамікротомі RMC MT-XL (США), які зафарбовували 0,25 % толуїдиновим синім. Зразки вивчали під мікроскопом Axioskop-40 (об'єктиви фірми Zeiss, Germany). Анатомо-морфологічні дослідження проводили із

застосуванням стандартної мікроскопічної техніки (Barykina *et al.* 2004).

Фотофіксацію результатів здійснювали за допомогою цифрової фотокамери Canon DC 8.1 V та цифрової фотонасадки Levenhuk D50L NG. Описи проводили з використанням загальноприйнятої термінології (Esau 1980; Roshchina & Roshchin 1989; Soropudov *et al.* 2013; Novikoff & Barabasz-Krasny 2015).

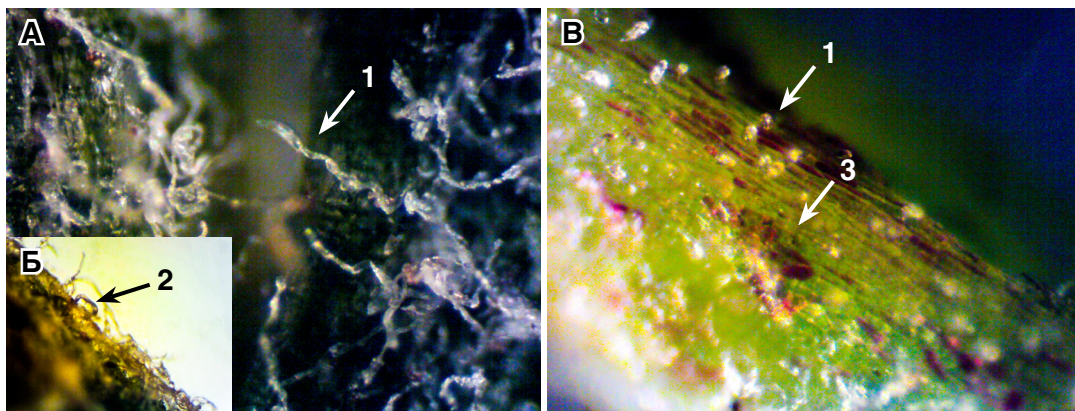


Рис. 2. Фрагменти абаксiальної поверхнi листкової пластинки (А, Б) та черешка (В) *Artemisia abrotanum*: 1 – криючі трихоми; 2 – залозиста трихома; 3 – ендогенне ефіроолійне вмістище (×160).

Fig. 2. Fragments of abaxial surface of the leaf blade (А, Б) and petiole (В) of *Artemisia abrotanum*: 1 – covering trichomes; 2 – glandular trichome; 3 – endogenic essential oil container (×160).

Результати та їх обговорення

Стеблові листки *A. abrotanum* низової та серединної формацій черешкові, двічі пірчасто-розсічені з лінійчатими сегментами, за краєм цільні; верхівкої – трійчато-розсічені або цільнокраї; зелені, з абаксiальної сторони сіруваті від дрібного опушення (Рис. 1 Б–Г; Рис. 2 А–Б).

Епідермальні клітини листкової пластинки характеризуються звивистими обрисами та витягнутими або розпластаними проекціями. Зовнішні стінки клітин верхнього епідермісу потовщені і вкриті добре розвиненою кутикулою, нижній епідерміс має слабо виражену кутикулу (Рис. 3 Б–Г).

Листкова пластинка амфістоматична. Продихи овальні, аномоцитного типу, розміщені на адаксiальній та абаксiальній поверхнях листкової пластинки, проте їх більше на нижній поверхні листка. Між клітинами епідермісу виразно видно замикаючі клітини продихів овальної форми з хлоропластами, оточені побічними клітинами, які не відрізняються від основних епідермальних клітин. Hayat *et al.* (2010) описали 6 основних типів продихів для 24 представників роду *Artemisia*. Зокрема, аномоцитні продихи автори навели для

A. amygdalina Decne., *A. dubia* Wall. ex Besser, *A. moorcroftiana* Wall. ex DC., *A. roxburghiana* Wall. ex Besser, *A. rutifolia* Spreng., *A. tournefortiana* Rchb., *A. absinthium* L., *A. siversiana* Ehrh., *A. tangutica* Pampanini, *A. scoparia* Waldst. et Kit.

Різномісних криючі трихоми нами відмічено з обох боків листкової пластинки *A. abrotanum*: закручені, Т-подібні, циліндричні, головчасті та прості конічні волоски. Згідно Hayat *et al.* (2009), у представників роду *Artemisia* виявлено 16 типів залозистих та незалозистих трихом. Зокрема, Т-подібні трихоми характерні також для *A. vulgaris* L., *A. splendens* Wild., *A. austriaca* Jacq., *A. haussknechtii* Boiss., *A. persica* Boiss., *A. absinthium*, *A. incana* (L.) Druce, *A. armeniaca* Sam., *A. tschernieviana* Besser, *A. spicigera* C. Koch. та *A. khorassanica* Podl. (Noorbakhsh *et al.* 2008).

Відомо, що трихоми відіграють важливу роль у підтриманні водного балансу і в регулюванні температури листка, також вони виконують захисну роль, сприяють запиленню, впливають на фотосинтез тощо (Wagner 1991).

Для *A. abrotanum* характерна ізобілатеральна структура листкової пластинки (Рис. 3). Наявність палисадної

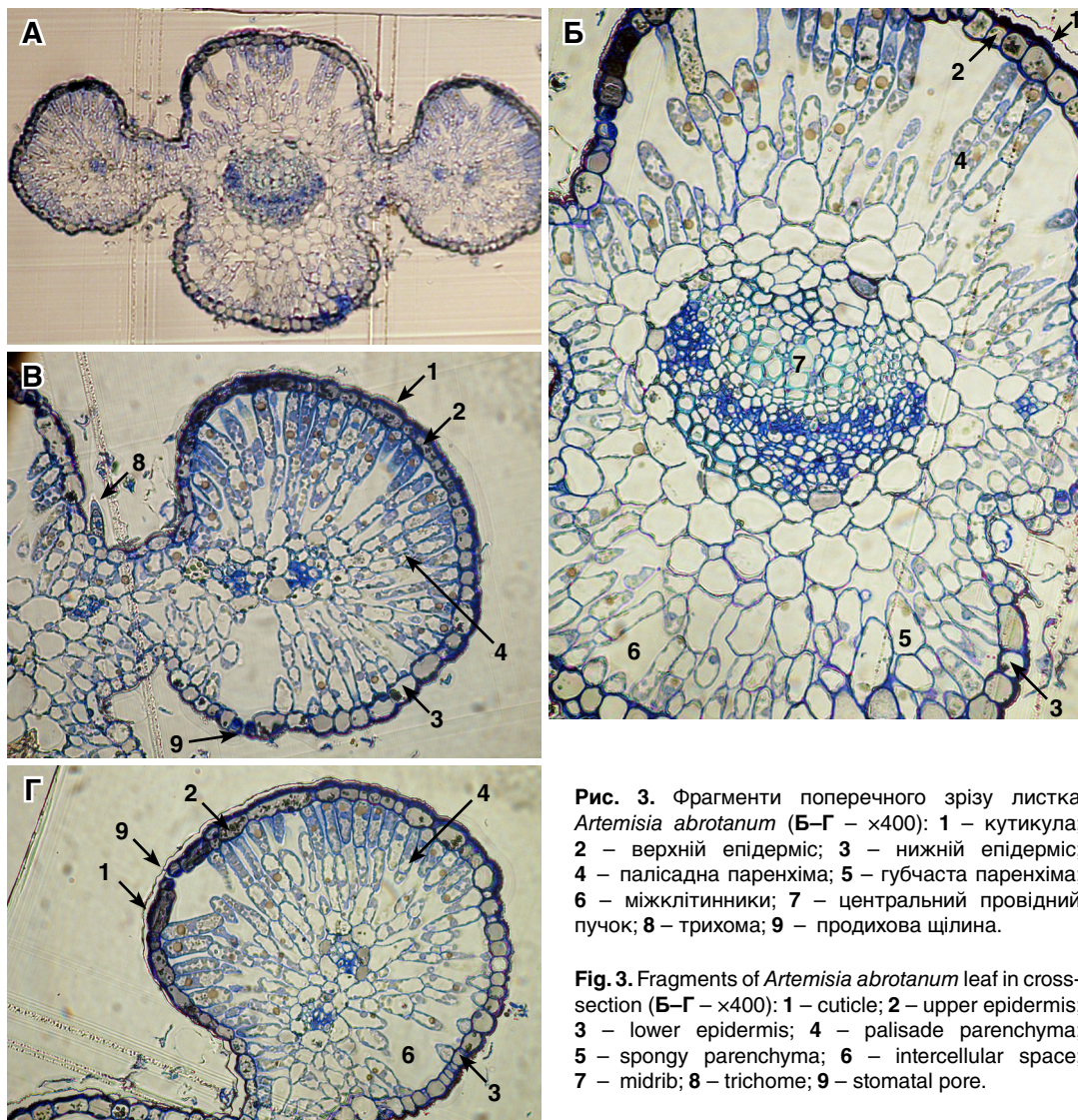


Рис. 3. Фрагменти поперечного зрізу листка *Artemisia abrotanum* (Б–Г – $\times 400$): 1 – кутикула; 2 – верхній епідерміс; 3 – нижній епідерміс; 4 – палисадна паренхіма; 5 – губчаста паренхіма; 6 – міжклітинники; 7 – центральний провідний пучок; 8 – трихома; 9 – продихова щілина.

Fig. 3. Fragments of *Artemisia abrotanum* leaf in cross-section (Б–Г – $\times 400$): 1 – cuticle; 2 – upper epidermis; 3 – lower epidermis; 4 – palisade parenchyma; 5 – spongy parenchyma; 6 – intercellular space; 7 – midrib; 8 – trichome; 9 – stomatal pore.

паренхіми з обох боків листової пластинки – ксероморфна ознака (Esau 1980). Згідно з Noorbakhsh *et al.* (2008), ізобілатеральна структура листової пластинки притаманна багатьом видам роду *Artemisia*: *A. chamaemelifolia* Vill., *A. biennis* Willd., *A. annua* L., *A. splendens*, *A. austriaca*, *A. haussknechtii*, *A. persica*, *A. absinthium*, *A. incana*, *A. armeniaca*, *A. tschernieviana*, *A. scoparia*, *A. marschalina* Sprengel, *A. deserti* Ktash., *A. santolina* Schrenk., *A. turanica* Krasch., *A. diffusa* Krasch. ex Poljak., *A. kopetdaghensis*

Krasch., *A. turcomanica* Grand., *A. sieberi* Besser, *A. olivieriana* J. Gay ex DC., *A. gypsacea* Poljak., *A. khorassanica* Podl., *A. aucheri* Boiss., *A. ciniformis* Krasch et M. Pop. ex Poljak., *A. fragrans* Willd., *A. spicigera* C. Koch.

Палисадна паренхіма *A. abrotanum* складається з 1–3 рядів клітин циліндричної, конусоподібної чи грушоподібної форми, які відрізняються за розмірами; є міжклітинники. Клітини витягнуті перпендикулярно до поверхні листка, містять значну кількість хлоропластів, розташовані вільно. Губчаста

паренхіма складена округлими, овальними й кутастими клітинами, розташованими нещільно. У ній також присутні міжклітинники. Палісадна тканина більше розвинена порівняно з губчастою, що є ознакою ксероморфності. Центральний провідний пучок колатерального типу.

Особливої уваги заслуговують секреторні структури, виявлені на препаратах листка *A. abrotanum*. Їх будова і розташування є діагностичними ознаками і використовуються при визначенні і ідентифікації лікарської рослинної сировини. На епідермісі листків виявлено округлі багатоклітинні залозисті трихоми, типові для родини Asteraceae. Видільні тканини внутрішньої секреції представлені ефіроолійними вмістищами (Рис. 2 В), вміст яких яскраво малинового або бурштинового забарвлення.

Абаксіальна поверхня подібна до адаксіальної за характером і складом опушення, а також характером обрисів епідермальних клітин. Деякі відмінності стосуються, головним чином, кількісних показників. Так, з нижнього боку листків більше незалозистих трихом і продихів.

Згідно з Soyunova (2012), серед основних анатомо-діагностичних ознак листків *A. abrotanum*, культивованих у різних регіонах Росії є амфістоматичний продиховий апарат аномоцитного типу та неспецифічні паренхімні клітини з ефірною олією, що, загалом, узгоджується з результатами наших досліджень.

Таким чином, виявлені ксероморфні ознаки *A. abrotanum* такі: дрібні і компактні листки, наявність трихом, більший розвиток палісадної тканини порівняно з губчастою, товстостінні клітинні оболонки епідерми. Ознаки ксероморфності, характерні для *A. abrotanum*, втім не завжди присутні у інших представників поліморфного роду *Artemisia*, які розповсюджені у різних екологічних умовах (Haraim 2007). Серед них є і ксерофіти, і гігрофіти. Відомо, що екологічні фактори також впливають на анатомічну будову листової пластинки. Зокрема, встановлено, що зразки листків *A. absinthium* з різних місць зростання

суттєво відрізняються за будовою мезофілу та епідерми (Ochirova et al. 2015). Можливо аналогічні зміни можуть бути відстежені і у *A. abrotanum*, проте для цього необхідні подальші дослідження.

Висновки

В результаті проведених досліджень описано структуру листової пластинки *A. abrotanum* за умов інтродукції в Житомирському Поліссі. Верхній і нижній епідерміси вкриті кутикулою, продиховий апарат аномоцитного типу. Криючі трихоми відмічені з обох боків листової пластинки; серед них присутні закручені, Т-подібні, циліндричні, головчасті та прості конічні волоски. Секреторні структури представлені округлими багатоклітинними залозистими трихомами та ефіроолійними вмістищами. Для полину лікарського характерна ізобілатеральна структура листової пластинки та провідні пучки колатерального типу.

Відмічено такі ксероморфні ознаки *A. abrotanum*: дрібні і компактні листки, наявність трихом, виразніший розвиток палісадної тканини, товстостінні клітинні оболонки епідерми.

Секреторні структури та незалозисті трихоми можуть слугувати таксономічними ознаками і використовуватись при визначенні лікарської сировини *A. abrotanum*. Присутність у значній кількості ефіроолійних вмістищ та залозистих трихом свідчить про можливість використання рослин *A. abrotanum* як ефективних продуцентів ефірної олії в умовах Житомирського Полісся.

Подяка

Автори висловлюють щире подяку д.б.н., професору, чл.-кор. НАН України Є.Л. Кордюм за допомогу в проведенні досліджень.

Використані джерела

- Barykina R.P., Veselova T.D., Devtov A.G., Dzhaliilova H.H., Iljina G.M., Chubatova N.V. 2004. A guide to botanical microtechniques. Fundamentals and methodology. Moscow State University, Moscow. (In Russian)
- Boiko A.V. 2002. Ecological and biomorphological peculiarities of the genus *Artemisia* L. in Ukraine. *Industrial Botany* 2: 197–203.
- Boiko G.V. 2011. The genus *Artemisia* L. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) in the flora of Ukraine. Autoref. PhD. Kyiv. (In Ukrainian)
- Carde J.-P. 1987. Electron microscopy of plant cell membranes. *Methods Enzymol.* 148: 599–622.
- Cubukcu B., Bray D., Warhurst D., Mericli A., Ozhatay N., Sariyar G. 1990. *In vitro* antimalarial activity of crude extracts and compounds from *Artemisia abrotanum* L. *Phytother. Res.* 4: 203–204.
- Esau K. 1980. Anatomy of seed plants. Mir, Moscow. (In Russian)
- Gayer G. 1974. Electronic histological chemistry. Mir, Moscow. (In Russian)
- Greuter W. 2017. Compositae (pro parte majore). In: Greuter W., von Raab-Straube E. (ed.), Compositae. Euro+Med Plantbase – the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. <http://www2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Artemisia%20abrotanum&PTReffk=7000000>
- Haraim N.N. 2007. Spice-aromatic plants from the *Artemisia* L. genus. *Proceedings of V.I. Vernadsky Tavrida National University. Ser. Biology and Chemistry* 20 (4): 109–114. (In Ukrainian)
- Hayat M.Q., Ashraf M., Khan M.A., Yasmin G., Shaheen N., Jabeen S. 2009. Phylogenetic relationships in *Artemisia* spp. (Asteraceae) based on distribution of foliar trichomes. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 553–558.
- Hayat M.Q., Ashraf M., Jabeen S., Shaheen N., Yasmin G. 2010. Taxonomic implications of foliar epidermal characteristics with special reference to stomatal variations in the genus *Artemisia* (Asteraceae). *Int. J. Agric. Biol.* 12 (2): 221–226.
- Ivashchenko I.V., Rakhmetov D.B., Ivashchenko O.A. 2014. Antimicrobial activity of ethanol extract from *Artemisia abrotanum* L. (Asteraceae) under conditions of introduction in Ukrainian Polissya. *Proceedings of V.N. Karazin National University. Series Biology* 21 (11–12): 97–105. (In Ukrainian)
- Ivashchenko I.V., Rakhmetov D.B., Ivashchenko O.A. 2015. Chromatographic analysis of phenolic compounds from *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia abrotanum* L. and *Artemisia dracunculus* L. *Proc. of VI Open Congress of Phytobiologists of the Black Sea Area (Kherson – Lazurne, 19 May 2015)*: 93 – 94. (In Ukrainian)
- Ivashchenko I.V. 2015. Fungicidal properties of essential oil plants from the *Artemisia* genus against *Fusarium oxysporum*. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University* 5 (2): 44–53. <http://dx.doi.org/10.7905/bbmspu.v5i1.974> (In Ukrainian)
- Kovaliova A.M., Ochkur O.V., Kolisnyk Ya.S., Kashpur N.V. 2011. Antibacterial activity of lipophil extracts from *Artemisia abrotanum* L. *Proc. of XVI Internat. Sci.-Pract. Conf. "Issues and ways of development of the present-day health care service"*: 137–139. Kyiv, London.
- Kowalski R., Wawrzykowski J., Zawislak G. 2007. Analysis of essential oils and extracts from *Artemisia abrotanum* L. and *Artemisia dracunculus* L. *Herba Pol.* 53 (3): 246–254.
- Minarchenko V.M. 2005. Medicinal vascular plants of Ukraine. Phytosociocentre, Kyiv. (In Ukrainian)
- Noorbakhsh S.N., Ghahreman A., Attar F., Mahdigholi K. 2008. Leaf anatomy of *Artemisia* L. (Asteraceae) in Iran and its taxonomic implications. *Iran. J. Bot.* 14 (1): 54–69.
- Novikoff A., Barabasz-Krasny B. 2015. Modern plant systematics. General issues. Liga-Press, Lviv. (In Ukrainian)
- Ochirova K.S., Krylova E.G., Pautova I.A. 2015. The variability of the leaves structure of *Artemisia absinthium* (Asteraceae). *Bulletin of St. Petersburg University. Ser. 3* 1: 4–12. (In Russian)
- Ostapko V.M., Boiko G.V., Mosyakin S.L. 2010. Vascular plants of the Southeast of Ukraine. Noulig, Donetsk. (In Russian)
- Remberg P., Bjork L., Hedner T., Sterner O. 2004. Characteristic, clinical effect profile and tolerability of a nasal spray preparation of *Artemisia abrotanum* L. for allergic rhinitis. *Phytomed.* 11 (1): 36–42.
- Roshchina V.D., Roshchin V.V. 1989. Secretory function of higher plants. Nauka, Moscow. (In Russian)
- Sokolov P.D. (ed.) 1993. Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, application. The Asteraceae family (Compositae). Nauka, St. Petersburg. (In Russian)
- Soropudov V.N., Nazarova N.V., Kuznetsova T.A., Kolesnikov D.A. 2013. Morphological characteristics of trichomes of *Juglans* species, growing under conditions of southern Mid-Russian highlands. *Contemporary Issues of Science and Education* 5: 1–10. (In Russian)
- Soyunova J.A. 2012. Pharmacognostic study of freshly harvested raw material from certain representatives of the *Artemisia* L. genus and their homoeopathic matrix tinctures: Autoref. PhD 14.04.02 – Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy. Moscow. (In Russian)
- Suresh J., Elango K., Dhanabal S.P., Paramakrishnan N., Suresh B. 2007. A comparative pharmacognostical evaluation of two *Artemisia* species found in Nilgiris biosphere. *Anc. Sci. Life* 27 (2): 7–13.

Suresh J., Fhuja J., Paramakris Hnan N., Sebastian M. 2012. Total phenolic and total flavonoids content of aerial parts of *Artemisia abrotanum* Linn. and *A. pallens* Wall. *Anal. Chem. Lett.* **2** (3): 186–191.

Visjulina O.D. (ed.) 1962. Flora of the Ukrainian SSR. Vol. XI. Publ. of AS of URSR, Kyiv. (In Ukrainian)

Wagner G. 1991. Secretion trichomes: More than just hairs. *Plant Physiol.* **96**: 675–679.