

## Предварительные итоги изучения кристаллов в плодах клады *Apiaceae* семейства *Umbelliferae*

### Preliminary results of the study of crystals in fruits of the clade *Apiaceae* of the family *Umbelliferae*

Остроумова Т. А., Захарова Е. А.

Ostroumova T. A., Zakharova E. A.

Ботанический сад им. Петра I, МГУ им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия. E-mails: [ostro\\_t\\_a@mail.ru](mailto:ostro_t_a@mail.ru), [eazakhar@yandex.ru](mailto:eazakhar@yandex.ru)  
Botanical Garden, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**Реферат.** Наличие, форма и распределение кристаллов оксалата кальция в плодах имеет большое значение для систематики зонтичных, эти признаки характеризуют трибы и подсемейства. Речь идет о призматических кристаллах, крупных друзах и шаровидных скоплениях размером 15–25 мкм, которые хорошо заметны в световой микроскоп. Более мелким кристаллам практически не уделяли внимания. Мы изучили 20 видов клады *Apiaceae* с применением обычной световой и поляризационной микроскопии, сканирующей электронной микроскопии и энергодисперсионного анализа. Изучали поперечные срезы, поверхность комиссуры и семени, фрагменты экзокарпа и эндокарпа. Показаны большие различия между видами – от многочисленных кристаллов в экзокарпе, мезокарпе или эндокарпе, на комиссуре до полного их отсутствия в околоплоднике. Кристаллы встречаются в виде кристаллического песка, мелких (до 9 мкм) друз, лодочек, призм, включений неправильной формы. Содержание кальция в перикарпе довольно высокое, в разных участках от 1 % до 13 %, значительная часть соединений кальция не обладает двойным лучепреломлением. Больше всего кристаллов содержат виды подклады В3. Значение мелких кристаллов для систематики ещё предстоит выяснить. Содержание кремния в изученных плодах низкое, < 0,3 %.

**Ключевые слова.** Анатомия, оксалат кальция, поляризационная микроскопия, систематика, СЭМ, энергодисперсионная спектроскопия.

**Summary.** The presence, shape and distribution of calcium oxalate crystals in fruits are of great importance for the taxonomy of Umbelliferae; these traits characterize tribes and subfamilies. We are talking about prismatic crystals, large druses and globular clusters 15–25 microns in size, which are clearly visible in a light microscope. Smaller crystals were practically ignored. We studied 20 species of the *Apiaceae* clade using conventional light and polarized microscopy, scanning electron microscopy, and energy-dispersive spectroscopy. Cross sections, the surface of the commissure and seed, exocarp and endocarp fragments were studied. Large differences between species are shown – from numerous crystals in the exocarp, mesocarp or endocarp, on the commissure to their complete absence in the pericarp. Crystals occur in the form of crystalline sand, small (up to 9  $\mu\text{m}$ ) drusen, naviculas, prisms, and irregularly shaped inclusions. The calcium content in the pericarp is quite high, in different areas from 1 % to 13 %, a significant part of the calcium compounds do not have birefringence. Most of the crystals contain species of subclade В3. The significance of small crystals for taxonomy remains to be evaluated. The content of silicon in the studied fruits is low, < 0.3 %.

**Key words.** Anatomy, calcium oxalate, energy dispersive spectroscopy, polarized microscopy, SEM, taxonomy.

**Введение.** Форма и распределение кристаллов в плодах семейства *Umbelliferae* имеют большое значение для систематики. В системе О. Друде (1898), которой ботаники пользовались в течение почти всего 20-го века, подсемейство *Hydrocotyloideae* характеризуется призматическими кристаллами во внутреннем слое клеток мезокарпа, прилегающем к одревесневшему эндокарпу, для подсемейства *Saniculoideae* характерны крупные друзы, разбросанные на комиссуре и в паренхиме мезокарпа, а в трибе *Scandiceae* подсемейства *Apioidae* крупные сферические агрегаты кристаллов располагаются на комиссуре. Крупнейшая работа по кристаллам в плодах зонтичных – Ж. Ромпель (1895). Автор использовал систему Г. Бентхама (1867) и отметил связь признаков кристаллов с трибами этой системы. Дж. Ромпель (1895) на основании своих данных предлагал исключить род *Lagoecia* L. из трибы *Saniculeae*, *Molopospermum* W. D. J. Koch из трибы *Smyrnieae*, *Heteromorpha* Cham. et Schldl. и *Lichtensteinia* Cham. et Schldl. из трибы *Ammineae* (*Apiaceae*), но Друде и другие ботаники не придали значения этим данным.

Только в результате интенсивных морфологических и молекулярных исследований перечисленные роды нашли свое место в системе (Magee et al., 2010). В последние десятилетия представления о системе семейства зонтичных претерпели значительные изменения, происходит переоценка морфологических признаков, но значение формы и распределения кристаллов осталось высоким (Plunkett, 2018).

В XX в. специальные поиски кристаллов не предпринимались, были отдельные сообщения – о кристаллах в экзокарпе плодов *Ammi majus* L. (Weber, 1941) и мезокарпе *Bilacunaria microcarpos* (M. Bieb.) Pimenov et V. N. Tikhom. (Денисова, Керимов, 1966). Проводя ревизию рода *Trachyspermum* Link, мы заметили мелкие кристаллы на комиссуре и в экзокарпе у *Modesciadium involucratum* (Maire) P. Vargas et Jim. Mejías, *Stoibrax dichotomum* (L.) Raf. and *S. pomelianum* (Maire) B. L. Burt. Роды *Ammi* L., *Modesciadium* P. Vargas et Jim. Mejías и *Stoibrax* Raf. относятся к молекулярной кладе *Apiaceae*, и мы решили проверить плоды других видов этой трибы на наличие кристаллов и оценить значение этого признака для систематики. Данные по 4 видам уже опубликованы (Ostroumova, Zakharova, 2023), мы изучили дополнительно 16 видов и проводим предварительный анализ данных.

**Материал и методы.** Список изученных видов: *Anethum graveolens* L., *Apium australe* Thouars., *Apium graveolens* L., *Apium prostratum* Labill., *Deverra battandieri* (Maire) Chrtek., *Deverra burchellii* Eckl. et Zeyh., *Deverra reboudii* Coss. et Durieu, *Deverra scoparia* Coss. et Durieu, *Deverra tortuosa* DC., *Deverra triradiata* (Chevall.) R. Pfisterer et Podlech, *Foeniculum vulgare* Mill., *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss., *Ridolfia segetum* (L.) Moris, *Sclerosciadium nodiflorum* Coss., *Stoibrax dichotomum* (L.) Raf., *Stoibrax pomelianum* (Maire) B. L. Burt. Распределение видов по подкладам дано по работе Jiménez-Mejías and Vargas (2015).

*Ammi majus* L., *Deverra aphylla* DC., *Modesciadium involucratum* (Maire) B. L. Burt, *Rutheopsis tortuosa* (Webb et Berthel.) Frank. были изучены ранее (Ostroumova, Zakharova, 2023).

Плод зонтичных – вислоплодник, при созревании распадается на два мерикарпия и тонкую колонку. Для описания плодов мы используем терминологию, предложенную ранее (Drude, 1897–1898; Kljuykov et al., 2004; Plunkett et al., 2018), показанную на рис. 1.

Плоды размачивали в смеси глицерина, этилового спирта и воды 1 : 1 : 1 или в горячей воде, затем хранили в 70%-м спирте. Срезы для световой микроскопии делали бритвой от руки, окрашивали кислым фуксином или изучали без окрашивания. Снимки в светлом и темном поле делали на микроскопе Olympus BX41 microscope (Olympus Corporation, Japan).

Для работы в поляризованном свете использован микроскоп МБИ-6 (ЛОМО, г. Санкт-Петербург); двойным лучепреломлением обладают не только кристаллы, но и одревесневшие оболочки клеток, иногда недревесневшие оболочки и органические внутриклеточные включения. Наличие оксалатов тестировали с помощью соляной кислоты, которая разрушает кристаллы. Для энергодисперсионного спектрального анализа (ЭДС) плоды размачивали в горячей воде, с помощью бритвы делали срезы толщиной 100–200 мкм, высушивали на воздухе, монтировали на алюминиевые столики с помощью двустороннего электропроводящего углеродного скотча, изучали без напыления. Анализ проводили на электронном микроскопе Quattro S (Thermo scientific, USA) при оптимальных условиях для рентгеновского энергодисперсионного элементного анализа: режим естественной среды (ESEM), давление 500 Па, ускоряющее напряжение 15 kV, рабочее расстояние 10 мм.

**Результаты.** По данным элементных карт срезов перикарпа, содержание кальция (0,8)1,4–12,7 %, в большинстве случаев каль-

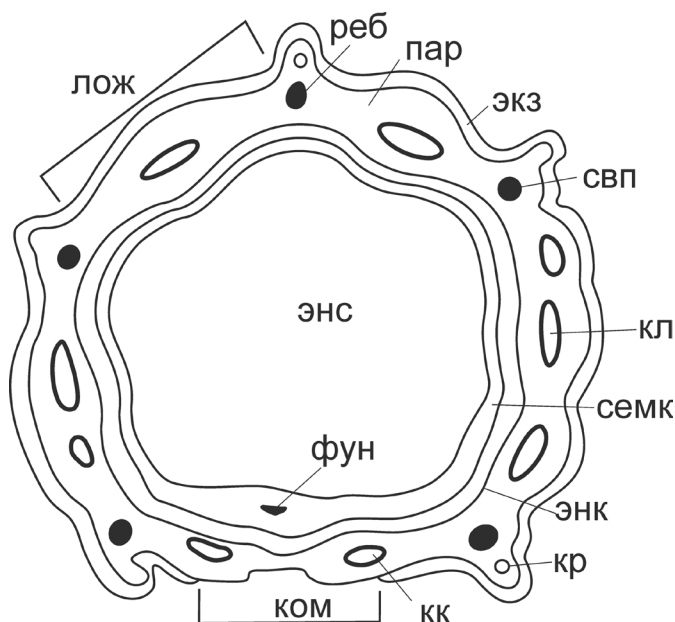


Рис. 1. Поперечный срез мерикарпия зонтичных. Условные обозначения: кк – комиссуральный секреторный каналец; кл – ложбиночный секреторный каналец; ком – комиссура; кр – реберный секреторный каналец; лож – ложбинка; пар – паренхима мезокарпа; реб – ребро; свп – сосудисто-волокнистый пучок ребра; семк – семенная кожура; фун – пучок фуникулуса; экз – экзокарп; энк – эндокарп; энс – эндосперм.

ций занимает третье место после углерода и кислорода. Содержание кремния в изученных плодах низкое, < 0,3%.

Данные о распределении кристаллов и содержании кальция в плодах видов клады *Apiaceae* представлены в таблице.

Таблица

Распределение кристаллов оксалата кальция в околоплоднике видов клады *Apiaceae*

Вид	Под клада	Экз	Мез	Эндок	Сем кож.	Ком	% Са
<i>Stoibrax dichotomum</i>	A	-	-	-	-	+	6,8–10,7
<i>Stoibrax pomelianum</i>	A	-	-	+	-	++	n
<i>Anethum graveolens</i>	B1	+-	+	-	-	+	0,8–5,3
<i>Foeniculum vulgare</i>	B1	+-	+-	-	-	+	1,9–5,5
<i>Ridolfia segetum</i>	B1	-	-	-	-	-	1,5–4,3
<i>Apium australe</i>	B2	-	+-	+	-	+	3,1–4,6
<i>Apium graveolens</i>	B2	+ -	+ -	-	-	+ -	2,5–6,6
<i>Apium prostratum</i>	B2	-	-	++	++	-	1,8–3,7
<i>Ammi majus</i>	B3	++	-	-	-	+	1,6–6,1
<i>Deverra aphylla</i>	B3	++	++	-	-	+	2,5–6,8
<i>Deverra battandieri</i> immature	B3	+	++	-	-	+	4,8–12,7
<i>Deverra burchellii</i>	B3	+	+	-	-	+	2,2–5,3
<i>Deverra reboudii</i>	n	+	+	-	-	++	3,5–9,0
<i>Deverra scoparia</i>	B3	+	+	-	-	-	n
<i>Deverra tortuosa</i>	B3	+	++	-	-	+	1,4–5,6
<i>Deverra tritadiata</i>	B3	-	++	+	-	+	n
<i>Modesciadium involucreatum</i>	B3	++	++	-	-	+	2,1–2,8
<i>Petroselinum crispum</i>	B3	++	-	-	-	+-	1,4–3,3
<i>Rutheopsis tortuosa</i>	B3	++	+	-	-	+	5,3–8,5
<i>Sclerosciadium nodiflorum</i>	B3	-	-	-	-	-	2,1–7,9

Примеч.: «-» кристаллы отсутствуют; «+» кристаллы немногочисленные; «++» кристаллы многочисленные; n – нет данных; Экз – экзокарп; Мез – мезокарп; Эндок – эндокарп; Сем кож – семенная кожура; Ком – комиссура; % Са – содержание кальция в перикарпе по данным ЭДС.

Подклада А. Два вида рода *Stoibrax* значительно отличаются друг от друга. Плоды *S. pomelianum* содержат довольно крупные друзы кристаллов (10–15 мкм) на поверхности комиссуры и внутри клеток, тогда как в плодах *S. dichotomum* отмечены только редкие мелкие кристаллы в эндокарпе.

Подклада В1. Изучены плоды *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* и *Ridolfia segetum*. У первых двух видов кристаллы постоянно присутствуют только на поверхности комиссуры, а в остальных участках перикарпа либо отсутствуют, либо имеются в небольшом количестве. У *R. segetum* кристаллы оксалата кальция в перикарпе отсутствуют, двойным лучепреломлением обладают оболочки побочных клеток устьиц. По данным элементного анализа, содержание кальция в перикарпе этих видов довольно высокое, до 5,5 %, он хорошо заметен на картах элементов, но его соединения большей частью имеют аморфное состояние.

Подклада В2. Изучены три вида *Apium*: культивируемый *A. graveolens* и дикорастущие *A. australe* и *A. prostratum*. У *A. graveolens* кристаллы в перикарпе редки, их расположение непостоянно. В поляризованном свете у *A. australe* отмечены редкие кристаллы на комиссуре и в эндокарпе; скопления соединений кальция, заметны на картах элементов, но они, видимо, имеют аморфную форму. *A. prostratum* имеет кристаллы в эндокарпе и семенной кожуре.

Подклада В3. У видов этой группы признак наличия или отсутствия кристаллов постоянен в пределах вида, в случае наличия кристаллы многочисленные. *Ammi majus*, *Petroselinum crispum* и *Rutheopsis tortuosa* содержат довольно крупные кристаллы в экзокарпе, почти в каждой клетке. У амми,

рутеопсиса и сортовой петрушки это друзы размером 5–9 мкм, у дикорастущей петрушки из Португалии – преимущественно призмы и лодочки. У видов *Deverra* и *Modesciadium* поляризационная микроскопия выявила кристаллы в экзокарпе, паренхиме мезокарпа и в меньшей степени на комиссуре в форме кристаллического песка, мелких друз 3–5 мкм в диаметре, иногда соединения кальция наполняют всю полости клетки. Перикарп *Sclerosciadium nodiflorum* состоит преимущественно из крупных пустых одревесневших клеток, оболочки которых обладают двойным лучепреломлением и могли бы маскировать кристаллы. Элементный анализ показал отсутствие кальция в одревесневшей ткани, небольшие скопления имеются только в области экзокарпа, прилегающем слое клеток мезокарпа и в клетках комиссуры.

В эндосперме всех видов имеются кристаллы оксалата кальция, которые хорошо заметны в поляризованном свете и разрушаются под воздействием соляной кислоты. В эндосперме расположены также шаровидные включения запасных веществ с высоким содержанием фосфора и магния. Скопления кальция и фосфора всегда лежат в разных клетках.

**Обсуждение.** Таксономическое значение мелких кристаллов в плодах зонтичных не столь очевидно, как крупных друз и шаровидных скоплений размером 20–25 мкм и призматических кристаллов. В кладе *Apiaceae* есть виды, у которых кристаллы немногочисленные и встречаются непостоянно, например, *Stoibrax dichotomum*, *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare*, *Apium graveolens*. Есть виды, у которых кристаллы в перикарпе отсутствуют – *Ridolfia segetum* и *Sclerosciadium nodiflorum*, хотя содержание кальция довольно высокое. У *Ammi majus*, *Deverra aphylla*, *Modesciadium involucratum*, *Petroselinum crispum*, *Rutheopsis tortuosa* многочисленные кристаллы присутствуют в экзокарпе, все эти виды относятся к подкладе ВЗ. В пределах одного рода виды могут существенно различаться по расположению кристаллов. Значение мелких кристаллов для систематики зонтичных ещё предстоит выяснить.

Элементный состав плодов культивируемых зонтичных моркови, кориандра, пастернака, петрушки и сельдерея изучен В. Н. Зеленковым с соавт. (Зеленков и др., 2022) методом рентгенофлуоресцентного анализа. Авторы выявили содержание кальция от 1,387 до 1,59 %. Наши измерения показали более высокие значения, это может быть связано с тем, что мы концентрировали внимание на перикарпе, а также с особенностями метода EDS и рельефом поверхности наших объектов. Содержание кремния в работе (Зеленков и др., 2022) определено у большинства видов < 0,1 %, что согласуется с нашими данными; лишь в плодах пастернака было 0,8569 % кремния.

По содержанию кальция в побегах порядок *Apiales* занимает среднее положение среди покрытосеменных (Bowen et al., 2004): в анализ было включено 4 вида *Apiales* с содержанием кальция от 0,64 до 1,77 %. Самое высокое содержание кальция в побегах известно в пор. *Brassicales* (4,41 %), самое низкое в пор. *Arecales* (0,11 %). Наибольшая концентрация кремния в побегах среди покрытосеменных известна в пор. *Poales* и *Fagales* (до 11 % на сухой вес), кремний практически отсутствует у многих *Caruophyllales*, у половины изученных покрытосеменных содержание кремния < 0,5 % (Hodson, 2005). Побеги восьми вошедших в исследование видов *Apiales* содержат от 0,03 до 0,2 % кремния, но у *Ferula varia* Trautv. 1,33 %, у *Lilaeopsis chinensis* (L.) Kuntze 1,93 %.

**Благодарности.** Работа выполнялась в рамках государственной темы «Зонтичные Старого Света: таксономия, молекулярная филогения, география, экология» номер ЦИТИС: 121031600196-8. Мы благодарим кураторов гербариев LE, МНА, MW за возможность работы с их фондами. Благодарим Министерство науки и высшего образования РФ за поддержку ЦКП «Гербарий ГБС РАН». Работа на электронных микроскопах выполнена на оборудовании ЦКП Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ; особая благодарность за постоянную квалифицированную помощь В. С. Рылеевой, М. М. Сусленковой, А. Г. Богданову.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Денисова А. Г., Керимов С. Ш. Локализация кумариновых соединений в тканях плода и корня *Hippomarathrum microsagrum* (Bieb.) V. Fedtsch. // Растительные ресурсы, 1966. – Т. 2, № 2. – С. 182–189.
- Зеленков В. Н., Иванова М. И., Лапин А. А., Латушкин В. В. Элементный состав семян семейства *Apiaceae* // Химия растительного сырья, 2022. – № 1. – С. 235–241. DOI: 10.14258/jcrpm.2022018478
- Bentham G. Umbelliferae // In Genera Plantarum / G. Bentham, J. D. Hooker (eds.). – London, UK: Lovell Reeve & Co, 1867. – Vol. 1, Pt. 3. – P. 859–931.
- Bowen H. C., Cotterill H. L., Hammond J. P., Meacham M. C., Mead A., White P. J. Phylogenetic variation in the shoot mineral concentration of angiosperms // Journal of Experimental Botany, 2004. – Vol. 55. – P. 321–336.

**Drude O.** Umbelliferae // In Die Natürlichen Pflanzenfamilien / A. Engler, K. Prantl (eds.). – Leipzig, Germany: Wilhelm Engelmann, 1897–1898. – Vol. 3, Hf. 8. – S. 49–192.

**Hodson M. J., White P. J., Mead A., Broadley M. R.** Phylogenetic Variation in the Silicon Composition of Plants // Annals of Botany, 2005. – Vol. 96. – P. 1027–1046. DOI:10.1093/aob/mci255

**Jiménez-Mejías P., Vargas P.** Taxonomy of the tribe *Apieae* (Apiaceae) revisited as revealed by molecular phylogenies and morphological characters // Phytotaxa, 2015. – Vol. 212. – P. 057–079.

**Kljuykov E. V., Liu M., Ostroumova T. A., Pimenov M. G., Tilney P. M., Van Wyk B.-E.** Towards a standardised terminology for taxonomically important morphological characters in the Umbelliferae // South Afr. J. Bot., 2004. – Vol. 70, № 3: – P. 489–497.

**Magee A. R., Van Wyk B.-E., Tilney P. M., Downie S. R.** *Ezosciadium* (Apiaceae): A taxonomic revision of yet another early diverging South African apioid genus // Plant Syst. Evol., 2008. – Vol. 276. – P. 167–175.

**Ostroumova T., Zakharova E.** The Study of Crystals in the Fruits of Some Apiaceae Species Using Energy-Dispersive Spectroscopy // Int. J. Plant Biol., 2023. – Vol. 14. – P. 347–360. DOI: 10.3390/ijpb14020029

**Plunkett G. M., Pimenov M. G., Reduron J.-P., Kljuykov E. V., VanWyk B.-E., Ostroumova T. A., Henwood M. J., Tilney P. M., Spalik K., Watson M. F. et al.** Apiaceae // The Families and Genera of Vascular Plants / K. Kubitzki (ed.). – Berlin/Heidelberg, Germany: Springer International Publishing AG, Part of Springer Nature, 2018. – Vol. 15. – P. 9–206.

**Rompel J.** Krytstalle von Calciumoxalat in der Fruchtwand der Umbelliferen und ihre Verwertung für die Systematik // Sitz. Math.-Nat. Cl. Kais. Akad. Wissenschaften, 1895. – Vol. 104. – S. 417–474.

**Weber U.** Die anatomischen Unterschiede der Frucht von *Ammi visnaga* Lam. und *Ammi majus* L. // Arch. Pharm. Ber. Deut. Pharm. Ges., 1941. – Vol. 279. – S. 168–175.