

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *THYMUS* L.

Е.Л. МАЛАНКИНА¹, Х.А.Х. АЛЬ-КАРАВИ^{1,2}, С.Л. ЕВГРАФОВА³

(¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева;

²Вавилонский университет, Ирак;

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова)

Thymus vulgaris L. и *Thymus serpyllum* L. являются востребованными лекарственными растениями во многих странах мира благодаря содержанию эфирного масла, флавоноидов, дубильных веществ. Виды этого рода являются крайне полиморфными как по морфологическому и анатомическому строению, так и по биохимическому составу. Устьища играют важную роль для роста и формирования урожая. Изучение устьичного аппарата и его особенностей является актуальной темой исследования для сельскохозяйственных культур. Для работы использованы 8 образцов *Th. vulgaris* и 3 образца *Th. serpyllum* различного географического происхождения. При исследованиях пользовались стандартными методиками приготовления препаратов. В результате исследований показано, что для обоих видов характерно наличие устьиц на обеих сторонах листовой пластинки. В эпидермисе обоих проанализированных видов преобладает диацитный тип устьичного аппарата, но изредка обнаруживается также аномоцитный тип. Размер устьиц для каждого сорта независимо от погодных условий года был практически постоянным, что указывает, вероятно, на генетическую детерминированность размера устьиц и позволяет рассматривать данный показатель как диагностический признак при фармакогностическом анализе сырья. Количество устьиц на верхней стороне листа было относительно небольшим (16–129 шт/мм²), в то время как на нижней стороне листа оно находилось в пределах от 97–701 шт/мм² (*Th. serpyllum* ВИЛАР и у *Th. vulgaris* cv. Колхида соответственно), но в основном укладывалось в интервал 300–400 шт/мм².

Ключевые слова: *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., тимьян обыкновенный, тимьян ползучий, устьища, эпидерма.

Введение

Род *Thymus* L., представляет интерес как источник фармакологически значимых соединений в медицине, пряно-ароматическое растение в пищевой промышленности, источник эфирного масла для парфюмерно-косметического производства [20]. В настоящее время оба вида тимьяна: тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.) и тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) – входят в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ) XIV, XV изданий [1, 2]. Сырье содержит эфирное масло (до 2,5–3%), основным компонентом которого является тимол. Кроме того, важную роль играют флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты. Оба вида тимьяна рекомендованы в качестве отхаркивающего, противовоспалительного и антимикробного средства [22, 24]. Трава тимьяна обладает антиоксидантным и противоглистным действием [11]. Отмечены также цитотоксический и цитостатический эффекты [4]. Для медицинского применения предпочтение отдается сортам, основным компонентом эфирного масла которых является тимол, и его содержание может превышать 50% [3, 14].

Формирование устьичного аппарата у растений контролируется многими компонентами: генами, клеточным пептидным сигналом, гормональными и экологическими факторами [6, 7, 19]. Известно, что воздействие на зрелые листья высокого

уровня CO₂ или низкого уровня освещенности вызывает снижение плотности устьиц и устьичного индекса (SI, соотношение устьиц к эпидермальным клеткам плюс количество устьиц, умноженное на 100) у вновь образующихся листьев [12, 15]. И наоборот, низкий уровень CO₂ и яркий свет обычно имеют противоположный эффект. Свет стимулирует развитие устьиц, а ауксин – подавляет [5]. Плотность устьиц формируется исходя, в том числе, из условий формирования вида: в частности, она ниже у растений засушливого климата [25].

Лист представителей рода *Thymus* L. относится к амфистомозному типу, то есть устьица присутствуют на обеих сторонах листа. Данный тип характерен для представителей засушливых мест обитания [18], к которым относится тимьян. Для тимьяна обыкновенного и тимьяна ползучего характерны сильно извилистые стенки клеток эпидермы – как верхней, так и нижней. У основных клеток верхней эпидермы часто отмечаются складчатость кутикулы и неравномерность толщины клеточных стенок, тогда как устьица присутствуют на обеих сторонах листа [1]. Для растений семейства *Lamiaceae* вообще, и для рода *Thymus* L. в частности, характерен диацитный тип устьиц, характеризующийся наличием только двух побочных клеток, общая стенка которых находится под прямым углом к замыкающим клеткам [8]. Побочные клетки устьиц также имеют сильно извилистые стенки. На нижней стороне листа устьиц, как правило, больше [2].

Цель исследований: выявить особенности устьичного аппарата у образцов *Th. vulgaris* и *Th. serpyllum* различного географического происхождения.

Материал и методы исследований

Исследования проводили в 2015–2017 гг. на растениях коллекции тимьяна УНПЦ садоводства и овощеводства им. В.И. Эдельштейна РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Происхождение образцов приведено в таблице 1 подраздела «Результаты и их обсуждение».

Для анатомического изучения отбирали свежие образцы, которые частично использовали для работы сразу, частично фиксировали в этаноле 70% и проводили изучение в течение зимнего сезона. В качестве источника препаратов для сравнения использовали гербарный материал кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений.

При работе с сухими образцами подготовка препаратов включала в себя предварительное замачивание в дистиллированной воде. Оптимальное время замачивания подбирали экспериментальным путем: для *Th. vulgaris* с более кожистыми листьями оно составило 8 ч, для *Th. serpyllum* – 4–6 ч. Трудность подготовки эпидермы листьев, особенно верхней, возникала прежде всего у *Th. vulgaris* по причине кожистой структуры, малого размера и сильно завернутого вниз, особенно у отдельных образцов, края листа. В этом случае приходилось прибегать к разрезанию листа на несколько частей, чтобы получить ровный участок для отделения эпидермы, включающей, в том числе, край. Это позволяло оценить устьица в разных частях листа. Очищенную и обесцвеченную эпидерму погружали в каплю глицерина на предметном стекле и закрывали покровным стеклом. Готовые этикетированные образцы хранили в темноте в холодильнике до момента экспертизы. Терминология, используемая в данных исследованиях, основывалась на классических работах по анатомии растений [13].

При микроскопии использовали световые микроскопы Primo Star Carl Zeiss и Ломо Микмед-1 (увеличение – 70х, 280х, 400х). Плотность устьиц и их размер определяли при помощи окуляр-микрометра 9х Ernst Zeiss Wetzlar и объект-микрометра ОМ-П с длиной основной шкалы 1 мм. Подсчеты проводили в 10-кратной повторности на участках между жилками. Все образцы были сфотографированы с помощью

видеоокуляра MyScore 300M, установленного на микроскопе Zeiss, при увеличении объектива [3]. При расчетах применяли методы математической статистики и программу Microsoft Office Excel 2019.

Результаты и их обсуждение

На рисунках приведены изображения основных эпидермальных образований и секреторных структур. Устьицам при изучении лекарственных видов из семейства Яснотковые уделяется большое внимание в связи с тем, что они являются как систематическим признаком, так и важным диагностическим признаком при определении подлинности сырья.

При анализе адаксиальной и абаксиальной эпидермы листьев обоих исследованных видов обнаружены основные клетки эпидермы, имеющие разные размеры и степень складчатости (рис. 1). Кроме того, эпидерма также включает в себя замыкающие клетки устьиц, пельтатные железки и трихомы. По мнению ряда исследователей, изменение размера, плотности и размещение устьиц является одним из основных способов адаптации растений к условиям окружающей среды [26]. Мелкие клетки характерны для растений более холодной среды обитания [16].

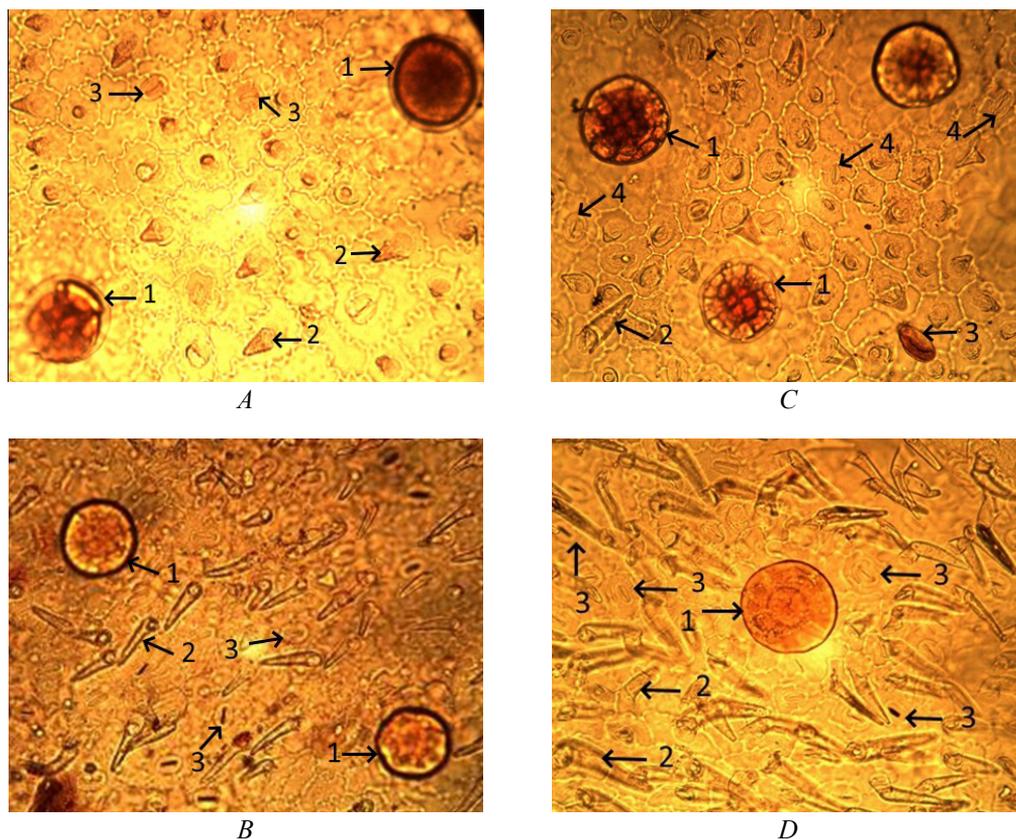


Рис. 1. *Th. vulgaris* АФ «Гавриш»:

А – верхняя эпидерма (1 – пельтатная железка; 2 – одноклеточная простая трихома; 3 – устьице);

В – нижняя эпидерма (1 – пельтатная железка; 2 – двухклеточная простая трихома; 3 – устьице);

Th. vulgaris cv. Di Roma (С – верхняя эпидерма: 1 – пельтатная железка;

2 – одноклеточная простая трихома; 3 – головчатая железистая трихома; 4 – устьице);

Д – нижняя эпидерма (1 – пельтатная железка; 2 – двухклеточная простая трихома; 3 – устьице)

Для тимьяна, как и многих других представителей семейства *Lamiaceae*, характерен дицитный тип устьичного аппарата [21]. Поверхность листа покрыта четко выраженной кутикулой различной толщины. В эпидерме обоих проанализированных нами видов преобладает дицитный тип устьичного аппарата, но местами встречается также аномоцитный тип. Для представителей обоих видов было выявлено расположение устьиц среди основных клеток как верхней, так и нижней эпидермы, что характерно для амфистомозного типа листьев. У образцов *Th. vulgaris* АФ «Гавриш» отмечено присутствие либо только дицитных типов устьичных аппаратов, либо, как у св. Медок, св. Колхида, св. Di Roma, наличие как дицитных, так и редких аномоцитных типов. Эти результаты соответствуют данным других авторов по исследованию семейства *Lamiaceae* [10].

Размер устьиц большинства высших растений укладывается в диапазоне 10–80 мкм. Как следует из данных таблицы 1, устьица у тимьянов достаточно крупные – 0,55–0,83 мкм.

Таблица 1

**Размеры замыкающих клеток устьиц изучаемых образцов
Th. vulgaris и *Th. serpyllum*, мкм**

Название образцов	Год	Замыкающие клетки устьиц нижней эпидермы (длина/ширина, мкм)	Замыкающие клетки устьиц верхней эпидермы (длина/ширина, мкм)
<i>Th. vulgaris</i> , сорт Медок, АФ «Гавриш», Россия	2015	0,6 / 0,5	0,63 / 0,5
	2016	0,6 / 0,54	0,62 / 0,53
	2017	0,61 / 0,5	0,63 / 0,5
	Среднее	0,61 / 0,52	0,63 / 0,51
<i>Th. vulgaris</i> , сорт Колхида, АФ «СеДеК», Россия	2015	0,7 / 0,5	0,66 / 0,46
	2016	0,73 / 0,5	0,68 / 0,43
	2017	0,71 / 0,5	0,66 / 0,43
	Среднее	0,61 / 0,5	0,67 / 0,44
<i>Th. vulgaris</i> , сорт Лимонный, АФ «Аэлита», Россия	2015	0,56 / 0,5	0,6 / 0,5
	2016	0,57 / 0,5	0,63 / 0,5
	2017	0,54 / 0,5	0,62 / 0,51
	Среднее	0,55 / 0,5	0,62 / 0,50
<i>Th. vulgaris</i> , сорт Deutscher Winter, Kiepenkerl, Германия	2015	0,66 / 0,5	0,76 / 0,5
	2016	0,66 / 0,52	0,76 / 0,5
	2017	0,65 / 0,5	0,76 / 0,52
	Среднее	0,66 / 0,51	0,7 / 0,51

Название образцов	Год	Замыкающие клетки устьиц нижней эпидермы (длина/ширина, мкм)	Замыкающие клетки устьиц верхней эпидермы (длина/ширина, мкм)
<i>Th. vulgaris</i> , сорт Quedlinburger Saatgut Kiepenkerl, Германия	2015	0,7 / 0,5	0,83 / 0,5
	2016	0,7 / 0,5	0,82 / 0,5
	2017	0,7 / 0,5	0,83 / 0,5
	Среднее	0,76 / 0,5	0,83 / 0,5
<i>Th. vulgaris</i> , Seva Seed, Чехия	2015	0,66 / 0,5	0,70 / 0,5
	2016	0,64 / 0,5	0,73 / 0,5
	2017	0,65 / 0,5	0,71 / 0,5
	Среднее	0,65 / 0,5	0,72 / 0,5
<i>Th. vulgaris</i> , сорт Di Roma, Kiepenkerl, Германия	2015	0,7 / 0,5	0,70 / 0,5
	2016	0,7 / 0,5	0,72 / 0,5
	2017	0,7 / 0,5	0,71 / 0,5
	Среднее	0,7 / 0,5	0,71 / 0,5
<i>Th. vulgaris</i> , АФ «Гавриш», Россия	2015	0,63 / 0,5	0,70 / 0,46
	2016	0,61 / 0,5	0,71 / 0,45
	2017	0,60 / 0,5	0,73 / 0,45
	Среднее	0,62 / 0,5	0,72 / 0,45
<i>Th. serpyllum</i> , ВИЛАР, Россия	2015	0,6 / 0,43	0,6 / 0,4
	2016	0,6 / 0,40	0,6 / 0,45
	2017	0,6 / 0,43	0,6 / 0,4
	Среднее	0,6 / 0,41	0,6 / 0,42
<i>Th. serpyllum</i> , сорт Пурпурно-фиолетовый, АФ «Гавриш», Россия	2015	0,56 / 0,46	0,70 / 0,43
	2016	0,56 / 0,41	0,72 / 0,41
	2017	0,55 / 0,43	0,74 / 0,41
	Среднее	0,56 / 0,43	0,72 / 0,42
<i>Th. serpyllum</i> , сорт Пикантный, АФ «Седек», Россия	2015	0,63 / 0,5	0,70 / 0,46
	2016	0,65 / 0,5	0,73 / 0,43
	2017	0,62 / 0,5	0,72 / 0,44
	Среднее	0,64 / 0,5	0,72 / 0,44

Размер устьиц отличался в зависимости от образца, но для каждого отдельного образца был стабилен по годам. В большинстве случаев разница не превышала 5%, что говорит о стабильности этого показателя для каждого сорта независимо от погодных условий. Длина и ширина устьиц на верхней и нижней сторонах листа были либо одинаковыми (*Th. vulgaris* cv. Медок, *Th. vulgaris*, cv. Di Roma), либо больше на одной из сторон листа на 7–10% – как правило, на нижней. Довольно интересно, что на нижней стороне листа устьица были более вытянутые, то есть при большей длине они имели меньшую ширину.

На рисунке 2 приведены результаты анализа количества устьиц верхней и нижней эпидермы в среднем за 3 года (2015–2017 гг.). Количество устьиц на единицу площади листа у высших растений оценивается в диапазоне 10–600 шт/мм². В наших исследованиях количество устьиц на верхней стороне листа было относительно небольшим. На верхней стороне листа этот показатель колеблется от 16 шт/мм² у *Th. serpyllum* cv. Пурпурно-фиолетовый до 128–129 шт./мм² у *Th. serpyllum* cv. Пикантный и *Th. vulgaris* cv. Deutsche Winter.

В целом варьирование количества устьиц в зависимости от вида отмечено рядом исследователей [17]. Однако в наших исследованиях оно зависело не столько от вида, сколько от сорта в пределах одного вида. Количество устьиц существенно больше на нижней стороне. Это явление объяснимо с точки зрения распространения вида в засушливых регионах Средиземноморья тимьяна обыкновенного и степях и лесостепях тимьяна ползучего.

На нижней стороне листа количество устьиц было значительно выше и колебалось от 97 шт/мм² у *Th. serpyllum*, ВИЛАР до 701 шт/мм² у *Th. vulgaris* cv. Колхида, но в большинстве случаев находилось в интервале 300–400 шт/м². Взаимосвязь количества устьиц на верхней и нижней сторонах листа практически отсутствует ($R = 0,264$).

Из данных рисунка 2 следует, что количество устьиц как на нижней, так и на верхней сторонах листа независимо от года является практически постоянным, то есть этот признак можно с определенными допущениями рассматривать как сортовой.

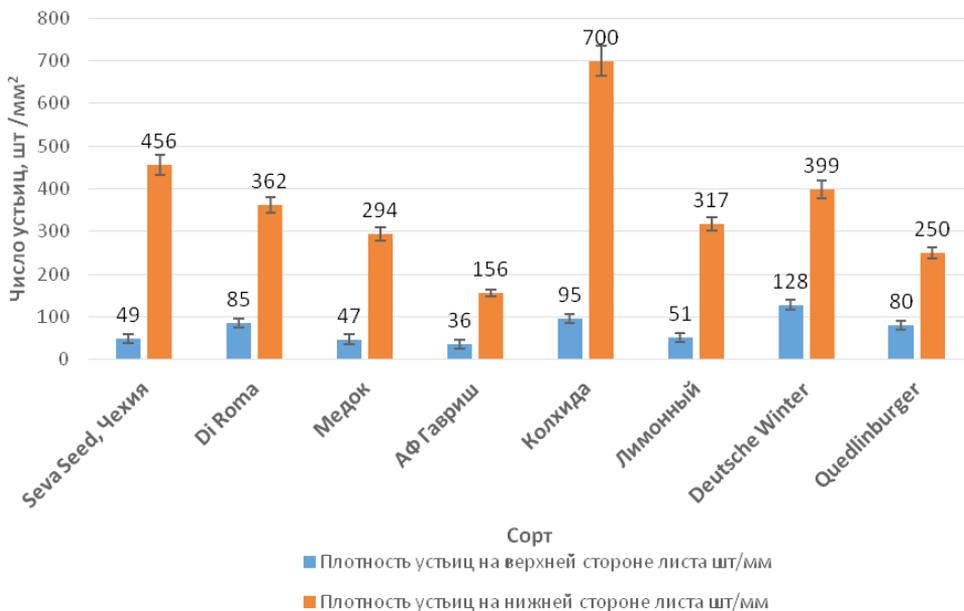


Рис. 2. Количество устьиц на верхней и нижней сторонах листа образцов изучаемых видов *Th. serpyllum* и *Th. vulgaris* (среднее за 2015–2017 гг.)

Различия в размере и плотности устьиц могут возникать ввиду генетических факторов и/или роста в различных условиях окружающей среды. Между этими двумя признаками устьиц часто предполагалась отрицательная корреляция. Эта обратная зависимость наблюдалась в пластических реакциях развития на изменения окружающей среды, а также во время долгосрочной эволюционной адаптации [9, 23].

Однако в проведенных исследованиях такая зависимость нами не обнаружена. Коэффициент корреляции между размером и плотностью устьиц на верхней стороне листа составил 0,41, а между размером и плотностью устьиц на нижней стороне листа – 0,16. Вероятно, данная закономерность характерна не для всех видов.

Выводы

Установлено, что для изученных видов *Th. vulgaris* и *Th. serpyllum* характерно наличие устьиц на обеих сторонах листа. В эпидерме обоих проанализированных видов преобладает диацитный тип устьичного аппарата, но изредка встречается также аномоцитный тип. Размер устьиц для каждого сорта независимо от погодных условий года был практически постоянным, что указывает, вероятно, на генетическую детерминированность размера устьиц и позволяет использовать этот показатель в качестве диагностического признака при фармакогностическом анализе сырья. Количество устьиц на верхней стороне листа было относительно небольшим (16–129 шт/мм²), в то время как на нижней стороне листа оно находилось в пределах от 97 шт/мм² у *Th. serpyllum* ВИЛАР до 701 шт/мм² у *Th. vulgaris* cv. Колхида, но в большинстве укладывалось в интервал 300–400 шт/мм².

Библиографический список

1. Государственная фармакопея РФ, XIV издание ФС.2.5.0097.18 Тимьяна обыкновенного трава. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1287/>.
2. Государственная фармакопея РФ, XIV издание ФС.2.5.0047.15 Чабреца трава. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1375/>.
3. Маланкина Е.Л., Козловская Л.Н., Ткачева Е.Н. Эпидермальные структуры листьев некоторых сортов *Mentha x piperita* L. в связи с их продуктивностью // Овощи России. – 2019 – № 6. – С. 67–71. DOI: 10.18619/2072-9146-2019-6-67-71.
4. Ait M'Barek L., Ait Mouse H., Jaafari A., Aboufatima F.R., Benharref A., Kamal M., Bénard J., ElAbbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Chait A., Dalal A. and Zyad A. Cytotoxic Effect of Essential Oil of Thyme (*Thymus broussonettii*) on the IGR-OV1 Tumor Cells Resistant to Chemotherapy // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. – 2007. – Vol. 40. – Pp. 1537–1544. DOI: 10.1590/S0100-879X2007001100014.
5. Balcerowicz M., Ranjan A., Rupprecht L., Fiene G., Hoecker U. Auxin represses stomatal development in dark-grown seedling via Aux/IAA proteins // Development. – 2014. – № 141 (16). – Pp. 3165–3176. DOI: 10.1590/S0100-879X2007001100014:10.1242/dev.109181.
6. Bergmann D.C., Lukowitz W., Somerville C.R. Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase // Science. – 2004. – № 304 (5676). – Pp. 1494–1497. DOI: 10.1126/science.1096014.
7. Casson S.A., Hetherington A.M. Environmental regulation of stomatal development // Current Opinion in Plant Biology. – 2010. – № 13 (1). – Pp. 90–95. DOI: 10.1016/j.pbi.2009.08.005.
8. Cotthem van, W.R.F. A Classification of Stomatal Types // Botanical Journal of the Linnean Society. – 1970. – № 63 (3). – Pp. 235–246. DOI: 10.1111/j.1095-8339.1970.tb02321.

9. Franks P.J., Drake P.L., Beerling D.J. Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus* // Plant Cell Environ. – 2009. – № 32. – Pp. 1737–1748. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2009.02031.x.
10. Haruna H., Ashir H.I. Leaf epidermal structures and stomata ontogeny in some members of the *Lamiaceae* family // Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. – 2017. – Vol. 10, № 1. – Pp. 670–675.
11. Kadam Shrikant, Kardile Omkar, Kakde Prathmesh, Supekar Abhay, Mandge Rohit. Review on *Thymus vulgaris* // International Journal of Novel Research and Development. – 2022. – Vol. 7 (11). – Pp. 204–208.
12. Lake J., Quick W., Beerling D., Woodward F. Signals from mature to new leaves // Nature. – 2001. – № 411. – P. 154. DOI: 10.1038/35075660.
13. Lawrence George H.M. Taxonomy of Vascular Plants. – New York: Macmillan, 1951. – 823 p. DOI: 10.1002/scs.3730360536.
14. Malankina E.L., Kozlovskaya L.N., Kuzmenko A.N., Evgrafov A.A. Determination of the component composition of essential oil of thyme species by the method of gas chromatography // Moscow University Chemistry Bulletin. – 2019. – Vol. 74, № 6. – Pp. 310–314. DOI: 10.3103/S0027131419060117.
15. Miyazawa S-I., Livingston N.J., David H., Turpin D.H. Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpa* × *P. deltoides*). // Journal of Experimental Botany. – 2006. – № 57 (2). – Pp. 373–380. DOI: 10.1093/jxb/eri278.
16. Ninova D., Dushkova P. Trends in the anatomical and physiological variability of tree plants in industrial areas // Scientific Papers of PU «Paisii Hilendarski». – 1981. – № 19 (4). – Pp. 73–83 (In Bulgarian).
17. Ozcan M., Eminagaoglu O. Stem and leaf anatomy of three taxa in Lamiaceae // Bangladesh Journal of Botany. – 2014. – № 43 (3). – Pp. 345–352. DOI: 10.3329/bjb.v43i3.21612.
18. Parkhurst D.F. The adaptive significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves // Journal of Ecology. – 1978. – Vol. 66, № 2. – Pp. 367–383. DOI: org/10.2307/2259142.
19. Pillitteri L.J., Dong J. Stomatal Development in *Arabidopsis*. The *Arabidopsis* Book // American Society of Plant Biologists. – 2013. – Print 2013 11: e 0162. DOI: 10.1199/tab.0162. ISSN1543–8120. PMC3711358. PMID23864836.
20. Prasanth Reddy V., Ravi Vital K., Varsha P.V., Satyam S. Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties // Medicinal and Aromatic Plants. – 2014. – Vol. 3, № 3. – Pp. 1–3. DOI: 10.4172/2167-0412.1000164
21. Rashid M.H., Parnell J. Foliar micromorphological studies in some species of *Premna Linnaeus* (*Lamiaceae*) and their taxonomic implications // *Pleione*. – 2013. – № 7 (2). – Pp. 333–345.
22. Rota C., Herrera A., Martinez R.M., Sotomayor J.A., Jordan M.J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hemalums* essential oils // Food Control. – 2008. – № 19. – Pp. 681–687. DOI: 10.1016/j.foodcont.2007.07.007.
23. Sun Y., Yan F., Cui X., Liu F. Plasticity in stomatal size and density of potato leaves under different irrigation and phosphorus regimes // Journal of Plant Physiology. – 2014. – № 171. – Pp. 1248–1255. DOI: 10.1016/J.JPLPH.2014.06.002.
24. Usha Kiran Reddy, Sindhu G., Rajesh S., Aruna B.A. Review on *Thymus vulgaris* for Its Reported Pharmacological Activities and Major Chemical Constituents // Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2017. – № 4 (05). – Pp. 1372–1376. DOI: 10.5281/zenodo.804912.

25. Vijay Paul, Laxmi Sharma, Rakesh Pandey and Meena R.C. Measurements of Stomatal Density and Stomatal Index on Leaf/Plant Surfaces // Manual of ICAR Sponsored Training Programme on «Physiological Techniques to Analyze the Impact of Climate Change on Crop Plants». – 2017. – Pp. 27–30. DOI: 10.13140/RG.2.2.13426.40646.

26. Zarinkamar F. Stomatal observation in *Dicotyledons* // Pakistan Journal of Biological Sciences. – 2007. – Vol. 10, № 2. – Pp. 199–219. DOI: 10.3923/pjbs.2007.199.219.

STRUCTURE FEATURES OF THE STOMATAL APPARATUS OF REPRESENTATIVES OF THE GENUS *THYMUS* L.

E.L. MALANKINA¹, H.A.H. AL-QARAWI^{1,2}, S.L. EVGRAFOVA³

(¹Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy;

²Babylon University, Iraq;

³Sechenov First Moscow State Medical University)

Thymus vulgaris L. and *Thymus serpyllum* L. are sought-after medicinal plants in many countries of the world for their essential oils, flavonoids and tannins. The species of this genus are extremely polymorphic, both in their morphological and anatomical structure and in their biochemical composition. Stomata play an important role in growth and yield formation. The study of the stomatal apparatus and its features is a relevant research topic for agricultural crops. Eight specimens of *Th. vulgaris* and three specimens of *Th. serpyllum* from different geographical origins were used for the work. Standard methods of preparation of preparations were used in the study. The results show that both species are characterized by the presence of stomata on both sides of the leaf. In the epidermis of both species analyzed, the diacytic type of the stomatal apparatus predominates, but occasionally the anomocytic type is also found. The size of the stomata for each cultivar was almost constant regardless of the weather conditions of the year, which probably indicates the genetic determinism of the size of the stomata and allows this indicator to be considered as a diagnostic sign in the pharmacognostic analysis of raw materials. The number of stomata on the upper side of the leaf was relatively low (16 to 129 pcs/mm²), while on the lower side of the leaf it ranged from 97 to 701 pcs/mm² (in *Th. serpyllum* VILAR and *Th. vulgaris* cv. 'Colchis', respectively), but mostly fell within the range of 300 to 400 pcs/mm².

Keywords: *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., common thyme, creeping thyme, stomata, epidermis.

References

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIVth edition FS.2.5.0097.18 Common thyme (*Thymus vulgaris* L). (In Russ.) [Electronic source] URL: <https://docs.ruclml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1287/>

2. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIVth edition FS.2.5.0047.15. Creeping thyme (*Thymus serpyllum* L). (In Russ.) [Electronic source] URL: <https://docs.ruclml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1375/>

3. Malankina E.L., Kozlovskaya L.N., Tkatcheva E.N. Epidermal structures of leaves in some *Mentha x piperita* L. varieties in connection with they productivity. *Vegetable crops of Russia*. 2019;(6):67–71. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-67-71>

4. Ait M'Barek L., Ait Mouse H., Jaafari A., Aboufatima F.R. et al. Cytotoxic Effect of Essential Oil of Thyme (*Thymus broussonetii*) on the IGR-OV1 Tumor Cells Resistant to Chemotherapy. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2007;40:1537–1544. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2007001100014>

5. Balcerowicz M., Ranjan A., Rupprecht L., Fiene G., Hoecker U. Auxin represses stomatal development in dark-grown seedling via Aux/IAA proteins. *Development*. 2014;141(16):3165–3176. <https://doi.org/10.1242/dev.109181>
6. Bergmann D.C., Lukowitz W., Somerville C.R. Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science*. 2004;304(5676):1494–1497. <https://doi.org/10.1126/science.1096014>
7. Casson S.A., Hetherington A.M. Environmental regulation of stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology*. 2010;13(1):90–95. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.08.005>
8. Cotthem van W.R.F. Classification of Stomatal Types. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 1970;63(3):235–246. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1970.tb02321>
9. Franks P.J., Drake P.L., Beerling D.J. Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus*. *Plant Cell Environ*. 2009;32:1737–1748. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02031.x>
10. Haruna H., Ashir H.I. Leaf epidermal structures and stomata ontogeny in some members of the Lamiaceae family. *Bayero Journal of Pure and Applied Science*. 2017;10(1):670–675.
11. Kadam Shrikant, Kardile Omkar, Kakde Prathmesh, Supekar Abhay, Mandge Rohit. Review on *Thymus vulgaris*. *International Journal of Novel Research and Development*. 2022;7(11):204–208.
12. Lake J., Quick W., Beerling D., Woodward F. Signals from mature to new leaves. *Nature*. 2001;411:154. <https://doi.org/10.1038/35075660>
13. Lawrence George H.M. *Taxonomy of Vascular Plants*. New York, USA: Macmillan, 1951:823. <https://doi.org/10.1002/sce.3730360536>
14. Malankina E.L., Kozlovskaya L.N., Kuzmenko A.N., Evgrafov A.A. Determination of the component composition of essential oil of thyme species by the method of gas chromatography. *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2019;74(6):310–314. <https://doi.org/10.3103/S0027131419060117>
15. Miyazawa S-I., Livingston N.J., David H., Turpin D.H. Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*). *Journal of Experimental Botany*. 2006;57(2):373–80. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri278>
16. Ninova D., Dushkova P. Trends in the anatomical and physiological variability of tree plants in industrial areas. *Scientific Papers of PU "Paisii Hilendarski"*. 1981;19(4):73–83. (In Bulg.)
17. Ozcan M., Eminagaoglu O. Stem and leaf anatomy of three taxa in Lamiaceae. *Bangladesh Journal of Botany*. 2014;43(3):345–352. <https://doi.org/10.3329/bjb.v43i3.21612>
18. Parkhurst D.F. The adaptive significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves. *Journal of Ecology*. 1978;66(2):367–383. <https://doi.org/10.2307/2259142>
19. Pillitteri L.J., Dong J. Stomatal Development in Arabidopsis. *The Arabidopsis Book*. 2013; 2013(11): e0162. <https://doi.org/10.1199/tab.0162>
20. Prasanth Reddy V., Ravi Vital K., Varsha P.V., Satyam S. Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2014;3(3):1–3. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000164>
21. Rashid M.H., Parnell J. Foliar micromorphological studies in some species of *Premna* Linnaeus (Lamiaceae) and their taxonomic implications. *Pleione*. 2013;7(2):333–345.
22. Rota C., Herrera A., Martinez R.M., Sotomayor J.A., Jordan M.J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hemalums* essential oils. *Food Control*. 2008;19:681–687. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.007>

23. Sun Y., Yan F., Cui X., Liu F. Plasticity in stomatal size and density of potato leaves under different irrigation and phosphorus regimes. *Journal of Plant Physiology*. 2014;171:1248–1255. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2014.06.002>

24. Usha Kiran Reddy, Sindhu G., Rajesh S., Aruna B.A. Review on *Thymus vulgaris* for Its Reported Pharmacological Activities and Major Chemical Constituents. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017;4(05):1372–1376. <https://doi.org/10.5281/zenodo.804912>

25. Vijay Paul, Laxmi Sharma, Rakesh Pandey, Meena R.C. Measurements of Stomatal Density and Stomatal Index on Leaf/Plant Surfaces. In: *Manual of ICAR Sponsored Training Programme on “Physiological Techniques to Analyze the Impact of Climate Change on Crop Plants”*. 6–25 January, 2017, Division of Plant Physiology. New Delhi, India: IARI, 2017:27–30. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13426.40646>

26. Zarinkamar F. Stomatal observation in Dicotyledons. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2007;10(2):199–219. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.199.219>

Сведения об авторах

Елена Львовна Маланкина, д-р с.-х. наук, профессор кафедры овощеводства, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 977–56–17; e-mail: malankina@rgau-msha.ru

Ханан Ахмед Хадид Аль-Карави, канд. биол. наук, доцент кафедры биологии, Научный факультет, Вавилонский университет, Ирак; e-mail: sci.hanan.ahmed@uobabylon.edu.iq

Светлана Леонидовна Евграфова, ассистент кафедры биологической химии, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова; 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Трубецкая, 8–2; тел.: (499) 246–70–26; e-mail: afkx_farm@mail.ru

Information about the authors

Elena L. Malankina, DSc (Agr), Professor at the Department of Vegetable Growing, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; phone: (499) 977–56–17; e-mail: malankina@rgau-msha.ru

Hanan A.H. AL-Qarawi, CSc (Bio), Associate Professor at the Department of Biology, Faculty of Science, University of Babylon (the city of Hillah at Babylon, Iraq; e-mail: sci.hanan.ahmed@uobabylon.edu.iq)

Svetlana L. Evgrafova, Assistant at the Biological Chemistry Department, Sechenov First Moscow State Medical University (8–2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russian Federation; phone: (499) 246–70–26; e-mail: afkx_farm@mail.ru)