

СТАТЬЯ

УДК 57.047

**ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ *ARTEMISIA ANNUA* L.,
MATRICARIA CHAMOMILLA L. И *TANACETUM VULGARE* L.
В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ
И В ГОРОДСКОЙ СРЕДЕ**

^{1,2}Рахматуллина Н.Ш., ²Акиншина Н.Г., ²Азизов А.А., ¹Раджабова Г.Г.

¹Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент;

²Центр передовых технологий при Министерстве инновационного развития Республики Узбекистан, Ташкент, e-mail: rakhmatullina.nigina@mail.ru

В статье представлены результаты изучения активности супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы и содержания малонового диальдегида (МДА) в зелёной массе лекарственных растений (*Artemisia annua* L., *Matricaria chamomilla* L., *Tanacetum vulgare* L.), произрастающих в естественном ареале и в городе. Эксперименты по аутоокислению адреналина в растениях показали, что активность СОД для полыни однолетней, произрастающей в горной местности, составила $0,45 \pm 0,006$ мМ/мин, у растений в городе – $0,57 \pm 0,005$ мМ/мин; для ромашки аптечной $0,65 \pm 0,007$ мМ/мин и $0,593 \pm 0,005$ мМ/мин; для пижмы обыкновенной $0,5 \pm 0,004$ и $0,8 \pm 0,003$ мМ адреналина/мин соответственно. Результаты исследования активности пероксидазы показали, что растения городской среды отличались повышением активности фермента по сравнению с растениями, произрастающими в горной местности. Содержание МДА в полыни в городе и естественных условиях составило 1,2–1,3 мкМ/г сырого веса, у ромашки МДА в условиях городской среды был в 1,6 раз выше по сравнению с горными растениями, в листьях пижмы естественных мест обитания МДА был в 3 раза больше по сравнению с растениями городской среды. Таким образом, система ферментов антиоксидантной защиты лекарственных растений по-разному реагирует на среду обитания – условия естественного произрастания или город.

Ключевые слова: лекарственные растения, стресс, супероксиддисмутазы, пероксидазы, малоновый диальдегид

**INDICATORS OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF *ARTEMISIA ANNUA* L.,
MATRICARIA CHAMOMILLA L., AND *TANACETUM VULGARE* L.
UNDER NATURAL GROWING CONDITIONS AND IN THE URBAN ENVIRONMENT**

^{1,2}Rakhmatullina N.Sh., ²Akinshina N.G., ²Azizov A.A., ¹Radzhabova G.G.

¹National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek, Uzbekistan, Tashkent;

²Centre for Advanced Technologies under the Ministry of Innovative Development of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, e-mail: rakhmatullina.nigina@mail.ru

The article presents the results of the activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase and the content of malondialdehyde (MDA) in the green mass of medicinal plants (*Artemisia annua* L., *Matricaria chamomilla* L., *Tanacetum vulgare* L.) growing in the natural area and in the city. Experiments on the autooxidation of adrenaline in plants have shown that the SOD activity for wormwood growing in mountains was 0.45 ± 0.006 mM / min, for plants in the city – 0.57 ± 0.005 mM / min; for pharmacy chamomile 0.65 ± 0.007 mM / min. and 0.593 ± 0.005 mM / min; for common tansy 0.5 ± 0.004 and 0.8 ± 0.003 mM adrenaline / min, respectively. The results of the study of the activity of peroxidase showed that the plants of the urban environment were distinguished by an increase in the activity of the enzyme in comparison with plants growing in the highlands. The MDA content in wormwood in the city and in mountains was 1.2-1.3 μM/g of wet weight; in chamomile, MDA in an urban environment was 1.6 times higher than in mountain plants; in tansy leaves of the natural habitats of MDA was 3 times more in comparison with the plants of the urban environment. Thus, the system of antioxidant defense enzymes of medicinal plants reacts differently to the habitat, natural growth or city.

Keywords: medicinal plants, stress, superoxide dismutase, peroxidase, malondialdehyde

Флора Узбекистана богата лекарственными растениями, в настоящее время изучены и описаны более 400 видов [1], из них 112 видов зарегистрированы для применения в научной медицине, из которых 70 видов растений активно используются в фармацевтической промышленности [2]. Известно, что терапевтический эффект лекарственных растений зависит от содержания в них биологически активных соединений: алкалоидов, гликозидов, лактонов,

дубильных веществ, проантоцианидинов и др. [1]. Целебные свойства лекарственных растений на протяжении столетий подвергаются всестороннему изучению как в условиях естественного ареала их обитания, так и на экспериментальных базах и промышленных плантациях. Отметим, что природные ареалы лекарственных растений сокращаются из-за изменения климата и в связи с интенсивным освоением природных территорий, в то же время по-

требность в лекарственном сырье растёт. В связи с этим изучение влияния условий среды на физиологические характеристики и лекарственные свойства растений приобретает особую актуальность.

Дефицит влаги, засоленность почв, экстремально высокие температуры, недостаток или избыток света негативно сказываются на росте и развитии растений, создавая стрессовые условия. Одной из первых реакций на стресс является продукция активных форм кислорода (АФК). Обладая высокой реакционной способностью АФК вступают во взаимодействие со структурными элементами клеток и биологически активными веществами. В результате нарушается целостность и функциональность клетки. В процессе эволюции в растениях сформировалась антиоксидантная система (АОС) защиты для обезвреживания свободных радикалов. Антиоксидантная система растений состоит из ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы и др.) и низкомолекулярных антиоксидантов, таких как аскорбиновая кислота, токоферол, глутатион. Супероксиддисмутаза катализирует превращение супероксидных радикалов в перекись водорода, каталаза и пероксидаза утилизируют перекись водорода и тем самым являются ключевой линией защиты от токсического действия АФК. Ферменты уменьшают содержание свободных радикалов в клетке и не позволяют образоваться гидроксильному аниону [3]. Малоновый диальдегид (МДА) является конечным продуктом перекисного окисления липидов (ПОЛ) и характеризует процесс окисления липидов в клетке.

В ряде исследований отмечается активация ферментов АОС, в том числе каталазы, СОД и ПОД в ответ на увеличение АФК у *Potentilla saundersiana*, *Kobersia pygmaea*, *Withania somnifera* и *Phyllanthus amarus* [4]. Засоление приводит к значительному возрастанию общей активности СОД, ПОД, КАТ в листьях и корнях *Hyssopus officinalis* [5]. Также отмечена индукция окислительного стресса и рост активности ферментов антиоксидантной системы (СОД, ПОД, КАТ) при засухе [6].

Вместе с тем реакции лекарственных растений ферментов АОС и общие закономерности ответа на комплекс факторов местообитания изучены недостаточно. Цель данного исследования – определение содержания МДА и изучение зависимости изменения активности СОД и ПОД у дикорастущих и произрастающих в условиях городской среды лекарственных растений (*Artemisia annua*, *Matricaria chamomilla*, *Tanacetum vulgare*).

Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись лекарственные растения трех видов – *Artemisia annua*, *Matricaria chamomilla* и *Tanacetum vulgare*.

Полынь однолетняя (*Artemisia annua*) – травянистое растение семейства *Asteraceae*. Встречается повсеместно плотно сформированными группами в зонах умеренного и субтропического климата, относится к ксеромезогалофитам, гелиосциофитам, предпочитает нейтральные почвы [7].

Ромашка аптечная (*Matricaria chamomilla*) – однолетнее травянистое растение семейства *Asteraceae*. Мезофит, гелиофит. Ромашка аптечная относится к светолюбивым растениям умеренного климата, широко распространена в Южной и Восточной Европе, Северной и Западной Азии [8].

Пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare*) – многолетнее травянистое растение семейства *Asteraceae* с характерным камфорным запахом. Ксерофит, гелиофит. Пижма отличается высокой степенью адаптивности, хорошо приживается на легких землях с большим количеством песка, предпочитает дренированные песчаные и супесчаные почвы. Встречается повсеместно небольшими группами [9].

Образцы растений отбирались в период вегетации 2018–2019 гг. в г. Ташкенте и в естественных местообитаниях горных районов Ташкентской области. Естественные условия произрастания исследуемых растений отличаются высокой инсоляцией, низкой водообеспеченностью и повышенной влажностью воздуха. Ташкент расположен на высоте 400–500 м над уровнем моря, природные сообщества ромашки были примерно на той же высоте, а полынь и пижма произрастали в горных районах на высоте 1100–1500 над уровнем моря.

Сбор образцов растений осуществлялся в утренние часы. Эксперименты проводились на свежесобранных растениях.

Активность супероксиддисмутазы определяли по ингибированию супероксидрадикала в реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде *in vitro* при длине волны 347 нм с некоторыми модификациями [10]. Для этого к 2 мл 0,2 М бикарбонатного буфера, pH = 10,65, добавляли 0,1 мл 0,1% (5,46 мМ) аптечного раствора адреналина гидрохлорида, тщательно и быстро перемешивали, помещали в спектрофотометр Cary UV 60 и определяли оптическую плотность через 30 с в течение 5 мин при длине волны 347 нм в кварцевой кювете толщиной 10 мм. Далее к 2 мл буфера (pH = 10,65)

добавляли 0,1 мл источника фермента (растительный гомогенат), и 0,1 мл 0,1% адреналина гидрохлорида, перемешивали и измеряли оптическую плотность, как описано выше (D2).

Гомогенат для определения СОД получали следующим образом: 100 мг листьев растений растирали в фарфоровой ступке с 1 мл 10 мМ трис НС1 (рН 7,8). Центрифугировали при 7000 g при температуре +2, +4°C в течение 15 мин. Полученный супернатант использовали как источник фермента.

Для исключения влияния собственной окраски экстрактов в качестве контрольной пробы использовали буферированный раствор экстракта, без адреналина.

Активность пероксидазы определяли по [11]. При приготовлении растительного материала навеску свежих листьев 200 мг растирали в ступке в ацетатном буфере рН 4,7 и переносили в мерную колбу на 50 мл. После 10 мин настаивания с периодическим помешиванием, в результате чего пероксидаза переходила в раствор, вытяжку центрифугируют при 4000–5000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для определения активности фермента.

В две кюветы вносят по 2,0 мл ферментного раствора, раствор бензидина в ацетатном буфере и воду. Измерения проводили на спектофотометре при 700 нм, принимая начальное значение оптической плотности опытной пробы за нуль. После добавления 0,03% перекиси водорода момент достижения экстинкции $E = 0,125$ или $0,250$, фиксировали данные.

Определение малонового диальдегида осуществляли по модифицированному протоколу [12]: 100 мг растительного материала гомогенизировали в 2 мл 20% трихлоруксусной кислоты (ТХУК). Полученный

гомогенат центрифугировали 15 мин при 10000g, $t = 4$ °С. К 0,5 мл супернатанта добавляли 1,5 мл 0,5% тиобарбитуровой кислоты (ТБК), растворенной в 20% ТХУК. Образцы опытных проб инкубировали на водяной бане при 95 °С в течение 30 мин. Для исключения влияния собственной окраски экстрактов нами был поставлен контроль без ТБК, к 0,5 мл супернатанта добавляли 1,5 мл 20% ТХУК.

После инкубации пробы охлаждали на ледяной бане и проводили измерения контрольных и опытных проб при длинах волн 532 нм и 600 нм на комбинированном ридере для микропланшет Synergy HT.

Статистическая обработка данных проводилась в программе Origin 8.6 (Microcal Software Inc., Northampton MA). При оценке достоверности различий показателей использовали t-критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты измерений показали, что у растений, произрастающих в условиях городской среды, наблюдалось повышение активности ферментов АОС по сравнению с растениями из естественных местообитаний. У полыни однолетней, произрастающей в городских условиях, активность СОД в 1,3 раза выше по сравнению с горными образцами, $0,57 \pm 0,005$ и $0,45 \pm 0,006$ мМ адреналина/мин соответственно. Активность пероксидазы в условиях города была выше в 1,8 раз ($0,034 \pm 0,004$ у.е.) относительно горных растений ($0,019 \pm 0,003$ у.е.). Не выявлено статистически достоверных отличий в количестве МДА у полыни однолетней в условиях городской среды и в естественных местообитаниях (рис. 1).

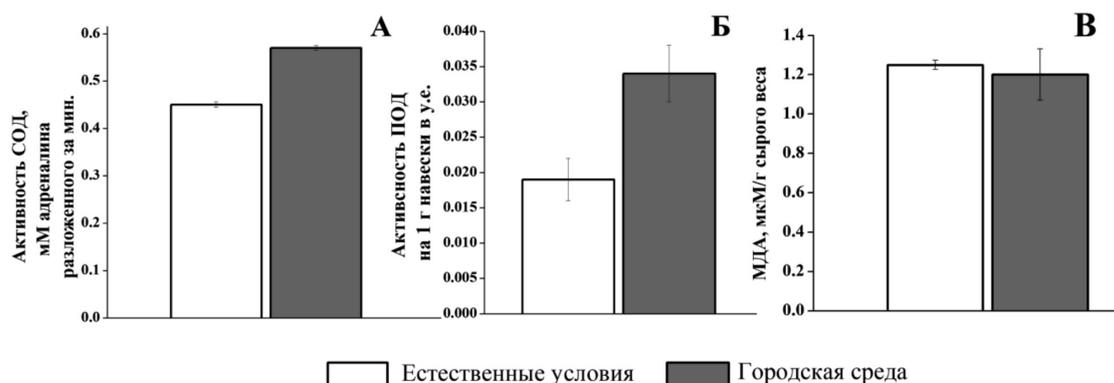


Рис. 1. А. Активность СОД (мМ адреналина разложенного за минуту).
Б. Активность ПОД (на 1 г навески в у.е.). В. Содержание МДА (мкМ/г сырого веса)
в листьях городской и дикорастущей *Artemisia annua*. $n = 8$, $p < 0,05$

Скорость окисления адреналина в образцах листьев дикорастущей ромашки аптечной составила $0,65 \pm 0,007$ мМ адреналина/мин, в то время как у городских растений активность СОД снижалась на 10% и составила $0,59 \pm 0,005$ мМ адреналина/мин. Активность пероксидазы у *Matricaria chamomilla*, выращенной в черте города составила $0,007 \pm 0,0003$ у.е., а у дикорастущих растений этот показатель был $0,002 \pm 0,0002$. Количество МДА в растениях в условиях городской среды было в 1,6 раз выше по сравнению с горными образцами (рис. 2).

Эксперименты по определению супероксиддисмутазной активности в листьях пижмы обыкновенной показали, что в условиях естественного произрастания активность СОД была выше в 1,5 раза по сравнению с растениями, собранными в условиях городской среды, и составила $0,5 \pm 0,004$ и $0,8 \pm 0,003$ мМ адреналина/

мин соответственно. Активность пероксидазы для растений, произрастающих в черте города, составила $0,029 \pm 0,005$ у.е., а для дикорастущих – $0,02 \pm 0,004$ у.е. Выявлено, что содержание МДА в листьях дикорастущей пижмы было в 3 раза больше по сравнению с растениями, произрастающими в городской среде (рис. 3).

Известно, что под действием стресса в ответ на генерацию АФК происходит активация антиоксидантной системы организма, при этом информация об активности отдельных ферментов весьма противоречива. Так, активность СОД при действии неблагоприятных факторов меняется разнонаправленно; в одних случаях отмечено ее увеличение, в других – снижение, что зависит от напряженности действия стрессового фактора (интенсивности и длительности воздействия), от восприимчивости организма, стадии развития растений и др. [13].

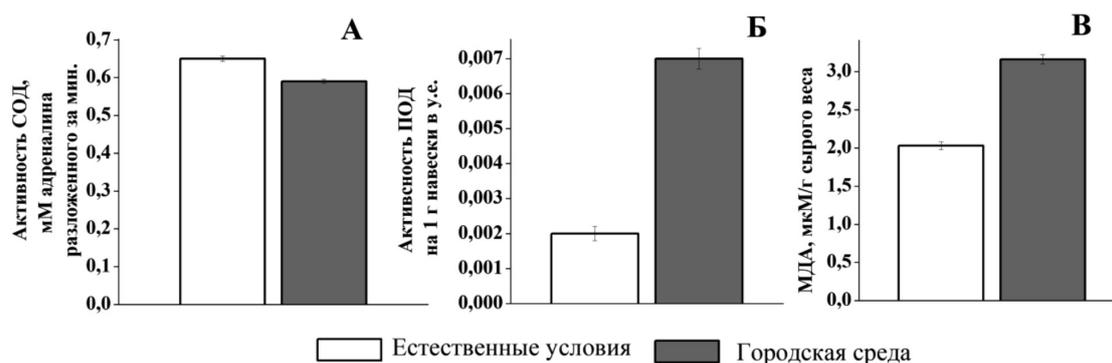


Рис. 2. А. Активность СОД (мМ адреналина разложеного за минуту). Б. Активность ПОД (на 1 г навески в у.е.). В. Содержание МДА (мкМ/г сырого веса) в листьях городской и дикорастущей *Matricaria chamomilla*. $n = 8, p < 0,05$

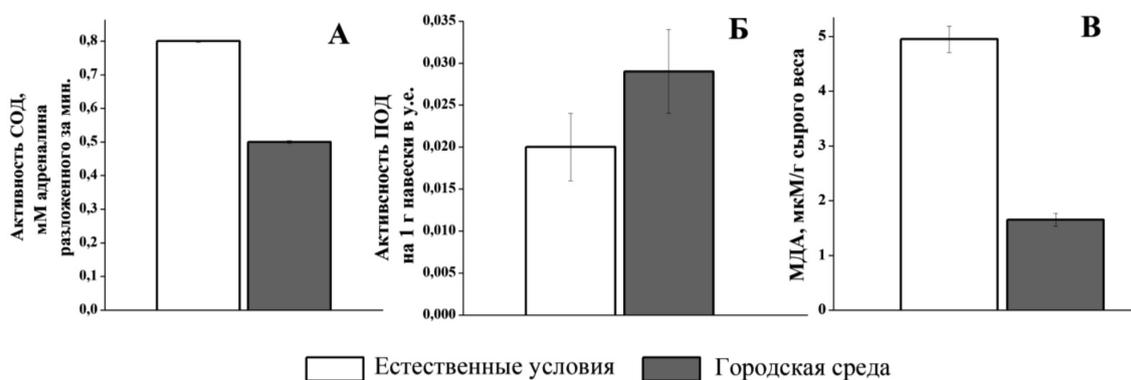


Рис. 3. А. Содержание МДА (мкМ/г сырого веса) в листьях городской и дикорастущей *Tanacetum vulgare*. Б. Активность СОД (мМ адреналина разложеного за минуту). В. Активность ПОД (на 1 г навески в у.е.); $n = 8, p < 0,05$

Наблюдаемое повышение активности СОД и ПОД в листьях *Artemisia annua* в условиях городской среды, вероятно, указывает на развитие стрессовой реакции в ответ на воздействие загрязнения, сухости воздушной среды и высоких температур в городе. Подобная реакция отмечается во многих исследованиях. Так, в неблагоприятных условиях, например при повышенном содержании солей в среде [5], отсутствии регулярного полива [6], при высоких температурах [14] происходит повышение активности СОД. При этом, эффективная работа супероксиддисмутазы и пероксидазы привела к тому, что уровень ПОД у городских растений сохранялся на том же уровне, как и у растений в естественных местообитаниях.

В эксперименте по определению активности СОД у *Matricaria chamomilla* не было зафиксировано статистически достоверных отличий в условиях природного ареала и города. Вместе с тем активность ПОД была выше у растений в городе, что обуславливается действием неблагоприятных факторов, характерных для г. Ташкента. Так, в условиях антропогенной нагрузки было выявлено, что клетки *Matricaria chamomilla* подвергаются более сильному повреждению наряду с другими растениями, что проявляется увеличением количества оснований Шиффа и диеновых конъюгатов на 40–60% по сравнению с контролем [15]. На активность ферментов АОС также влияет устойчивость растений: так в условиях недостатка влаги у засухоустойчивого сорта пшеницы активность СОД вдвое превышала контрольные значения, в то время как у неустойчивого была в 2 раза ниже, чем в контроле [16]. Высокий уровень МДА у городской ромашки коррелирует с данными активности СОД.

Активность СОД у *Tanacetum vulgare*, произрастающей в условиях города, была снижена по сравнению с горными растениями, а активность пероксидазы была повышена у городских растений. В условиях стресса активность СОД может не только повышаться, но и снижаться, например при длительном и интенсивном воздействии солевого стресса, теплового стресса, при водном дефиците и др. [13]. На фоне несогласованной работы ферментов АОС в растениях, собранных в естественном ареале, наблюдалось увеличение количества МДА. Полученные результаты позволяют предположить, что низкий уровень МДА в городских растениях относительно горных поддерживается за счет работы ПОД, а также других систем АОС.

Таким образом, можно заключить, что антиоксидантная система исследованных

лекарственных растений по-разному реагирует на условия окружающей среды. Показатели уровней активности ферментов АОС могут быть использованы в практических целях в качестве маркеров устойчивости в конкретных условиях обитания или культивирования.

Список литературы

1. Курмуков А.Г. Лекарственные растения Средней Азии: Узбекистан и Кыргызстан / Под ред. С. Айзенмана, Д.Э. Заурова, К.Т. Шалпыкова, Л.Б. Струве. 2014. DOI:10.1007/978-1-4614-3912-7_5.
2. Приказ Президента Республики Узбекистан от 10 апреля 2020 г. № ПП4670 «О мерах по охране, культурному выращиванию, переработке дикорастущих лекарственных растений и рациональному использованию имеющихся ресурсов» [Электронный ресурс]. URL: <https://lex.uz/docs/4785263> (дата обращения: 12.05.2020).
3. Farooq M.A., Niazi A., Akhtar J., Saifullah, Farooq M., Sourie Z., Karimie N., Rengel Z. Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. V. 141. P. 353–369.
4. Takshak S., Agrawal S.B.: Effect of ultraviolet-B radiation on biomass production, lipid peroxidation, reactive oxygen species, and antioxidants in *Withania somnifera*. *Biol.Plant*. 2014. V. 58. P. 328–334.
5. Jahantigh O., Najafi F., Badi H. N., Khvari-Nejad R., Sanjaran F. Changes in antioxidant enzymes activities and proline, total phenol and anthocyanine contents in *Hyssopus officinalis* L. plants under salt stress. *Acta Biologica Hungarica*. 2016. V. 67 (2) P. 195–204. DOI: 10.1556/018.67.2016.2.7.
6. Wang W., Xia M.X., Chen J., Yuan R., Deng F.N., Shen F.F. Gene expression characteristics and regulation mechanisms of superoxide dismutase and its physiological roles in plants under stress// *Biochemistry (Moscow)*. 2016. V. 81. P. 465–480. DOI: 10.1134/S0006297916050047.
7. Malik S., Hayat M.Q., Ashraf M. Taxonomic Implications of *Artemisia annua* L. In: Aftab T., Ferreira J., Khan M., Naeem M. (eds) *Artemisia annua – Pharmacology and Biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2014. P. 95–112. DOI: 10.1007/978-3-642-41027-7_6.
8. Lim T.K. *Matricaria chamomilla*. In: *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants*. 2014. Springer, Dordrecht. P. 397–431. DOI: 10.1007/978-94-007-7395-0_25.
9. Jasion M., Samecka-Cymerman A., Kolon K., Kempers A.J. *Tanacetum vulgare* as a Bioindicator of Trace-Metal Contamination: A Study of a Naturally Colonized Open-Pit Lignite Mine. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2013. № 65. P. 442–448. DOI: 10.1007/s00244-013-9922-4.
10. Сирота Т.В. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений // Патент РФ №2144674. Заявлено 1999.02.24; опубл. 20.01.2000.
11. Luck M. Peroxidase. In: Bergmeyer H. V., editor. *Methods of Enzymic Analysis*. New York, NY, USA: Academic Press. 1963. P. 895–897.
12. Heath P.L., Packer L. Protoperoxidation in isolated chloroplasts: kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys*. 1968. P. 189–198.
13. Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // *Цитология*. 2006. Т. 48. № 6. С. 465–474.
14. Del Río L.A., Corpas F.J., López-Huertas E., Palma J.M. Plant Superoxide Dismutases: Function Under Abiotic Stress Conditions. *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. 2018. P. 1–26. DOI: 10.1007/978-3-319-75088-0_1.
15. Петухов А.С., Христин Н.А., Петухова Г.А. Перекисное окисление липидов в клетках растений в условиях городской среды // *Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности*. 2018. Т. 26. № 1. С. 82–90. DOI: 10.22363/2313-2310-2018-26-1-82-90.
16. Mamenko T.P., Yaroshenko O.A. Response of antioxidant system in contrasting by drought resistance winter wheat cultivars to water deficit. *Fiziol. Biochim. Kult. Rast*. 2012. V. 44 (4). P. 323–330 (in Ukrainian).