



УДК 547.2; 581.19

Влияние сезонного понижения суточных температур на суточную адаптацию и динамику биологически активных веществ в листьях лекарственных растений

М. А. Живетьев, Е. Г. Рудиковская, Л. В. Дударева, И. А. Граскова,
В. К. Войников

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск
E-mail: nik.19@mail.ru

Аннотация. Изучена активность пероксидазы и содержание фенольных соединений в листьях *Alchemilla subcrenata*, *Achillea asiatica*, *Taraxacum officinale*, *Veronica chamaedrys*. Выявлена динамика активности пероксидазы и изменение содержания фенольных соединений в течение суток в октябре. Показана зависимость активности фермента и содержания фенольных соединений в листьях изученных растений от температуры. В динамике содержания фенольных соединений и активности пероксидаз прослеживается видоспецифичность. При понижении суточных температур атмосферного воздуха в тканях листьев манжетки городковатой увеличивается активность слабосвязанной пероксидазы и, в меньшей степени, увеличивается содержание фенольных соединений. Одуванчик лекарственный и вероника дубравная продемонстрировали чётко выраженную сопряженность роста активности пероксидазы и повышения содержания фенольных соединений в течение суток, в то время как у тысячелистника азиатского содержание фенольных соединений и активность фермента находились в противофазе.

Ключевые слова: температура, пероксидаза, фенольные соединения, растения, *Alchemilla subcrenata*, *Achillea asiatica*, *Taraxacum officinale*, *Veronica chamaedrys*.

Введение

Фенольные соединения, основная доля которых приходится на флавоноиды, являются важным компонентом лекарственных растений. Они участвуют как в адаптации самих растений к изменчивым условиям окружающей среды, так и обуславливают ряд ценных свойств этих растений, обладая антимикробным, вяжущим, общеукрепляющим действием. Показатели накопления флавоноидов в тканях растений находятся в сильной зависимости от экологических факторов [1; 6; 7; 11], что связано с высокой значимостью функций, которые фенольные соединения выполняют в растениях [3; 9; 5].

Учитывая фенольную природу флавоноидов, их содержание в клетке должно регулироваться гваякол-зависимой пероксидазой [4; 10]. Целью работы стало изучение суточной динамики содержания фенольных соединений и активности пероксидазы в листьях манжетки городковатой, одуванчика лекарственного, вероники дубравной и тысячелистника азиатского в конце вегетационного сезона, когда растения в условиях Сибири находятся под влиянием сильных перепадов суточных температур.

Материалы и методы

Объектами исследования служили следующие виды лекарственных растений: манжетка городковатая (*Alchemilla subcrenata* Buser), тысячелистник азиатский (*Achillea asiatica* Serg.), одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* Wigg.), вероника дубравная (*Veronica chamaedrys* L.), произрастающие на восточном побережье оз. Байкал на левом берегу р. Выдриной (Кабанский район Республики Бурятия) в 700 м выше устья реки. Листья растений для анализа отбирались в течение суток 14 октября 2010 г. с интервалом в 3 часа.

Содержание флавоноидов в образцах определяли по стандартной методике [8] с использованием реактива Фолина – Дениса и последующим измерением оптической плотности при 720 нм с помощью спектрофотометра SPECORD S 100 (Analytik Jena, Германия). Активность пероксидаз в листьях растений определяли сразу после выделения ферментов из образцов по изменению оптической плотности (длина волны 580 нм) в реакционной смеси следующего состава: 0,5 мл 0,1 М цитратно-фосфатного буфера (рН 5,5), 0,5 мл 0,3 % пере-

киси водорода, 0,5 мл 0,05 % гваякол и 0,5 мл пробы [2].

Результаты и обсуждение

Суточный ход температуры на участке отбора проб во время исследований приведён на рис. 1. Учитывая динамику температурного режима, пробы листьев манжетки городковатой отбирались в 6, 9, 15, 20 и 24 часа.

На рисунке 2 приведены средние значения и стандартные отклонения активности пероксидазы в листьях манжетки, определённые в 6, 9, 15, 20 и 24 часа.

В вечерние часы с началом понижения температуры воздуха в листьях манжетки наблюдается понижение активности обеих форм пе-

роксидаз, но к полуночи по мере увеличения силы и длительности гипотермического воздействия, отмечается возрастание показателя, особенно для растворимых пероксидаз.

Рано утром активность пероксидазы относительно низка, но по мере роста температуры и «оттаивания» растения наблюдается её постепенный рост, днём показатель устанавливается на относительно постоянном уровне. В суточном изменении активности фермента прослеживаются два максимума (в 9.00 и 24.00 ч), и два минимума (в 6.00 и 20.00 ч). Минимум содержания слабосвязанной фракции пероксидаз сильнее выражен вечером, а растворимой – утром.

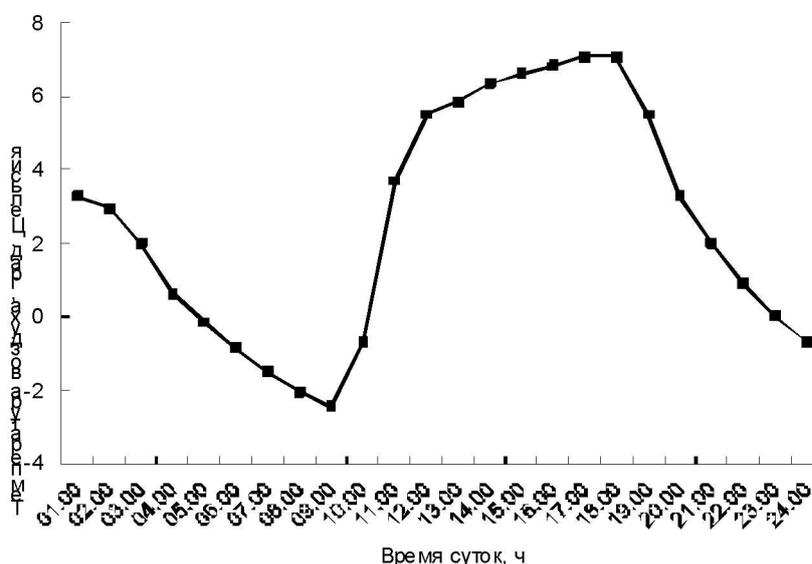


Рис. 1. Суточный ход температуры в месте отбора проб (станционар «Речка Выдриная», 14 октября 2010 г.)

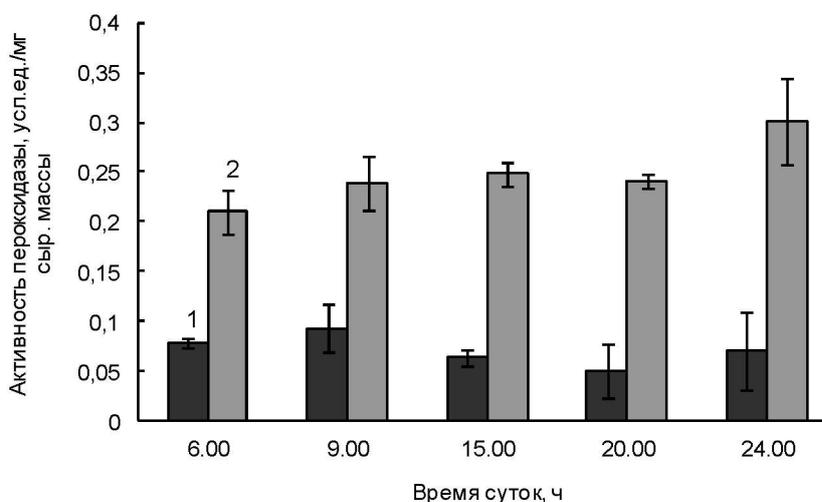


Рис. 2. Суточная динамика активности слабосвязанной с клеточной стенкой (1) и растворимой (2) пероксидазы в листьях манжетки городковатой (станционар «Речка Выдриная», 14 октября 2010 г.)

Содержание флавоноидов в листьях манжетки городковатой на 1 г сырой массы листа, вычисленное по построенной по кверцитину калибровочной кривой, представлено на рис. 3. Максимальное содержание флавоноидов наблюдается в ранние утренние часы, сильно снижается днём и снова возрастает вечером.

Максимумы активности пероксидазы и содержания флавоноидов строго не совпадают и смещены по времени друг относительно друга, при этом пик содержания фенольных соединений предшествует пику активности фермента. Динамика активности слабосвязанной фракции пероксидазы ближе соотносится с динамикой флавоноидов, чем показатели её растворимой формы. В 6.00 часов наблюдаются очень высокие концентрации флавоноидов при относительно низкой активности обеих форм пероксидаз. К 9.00 часам количество флавоноидов резко снижается на фоне роста активности пероксидазы. В послеполуденные часы содержание флавоноидов продолжает снижаться, активность растворимых пероксидаз увеличивается слабо, а растворимых – заметно снижается. К 20.00 часам активность всех пероксидаз достигает минимума, одновременно наблюдается заметный рост содержания флавоноидов. К полуночи оно ещё возрастает, хотя различия с предыдущей датой оказываются статистически недостоверны. Возможно, рост содержания фенолов сдерживается возрастающей к полуночи активностью пероксидаз. За ночь активность пероксидаз снова падает, фенолы же накапливаются к утру.

Таким образом, можно предположить, что метаболизм фенолов и деятельность пероксидаз в тканях листьев манжетки находятся в

тесной взаимосвязи и пероксидазы способствуют быстрому окислению первых. В часы, когда процессы синтеза фенолов в растении интенсивнее, чем их окисление пероксидазами, наблюдается увеличение содержания первых, и наоборот.

Полученные результаты и сделанные выводы не противоречат литературным данным, согласно которым растения с высокой активностью пероксидазы содержат много полифенолов в общем и флавоноидов в частности [10].

Подобные исследования были проведены на трёх других видах лекарственных растений – одуванчике лекарственном, веронике дубравной и тысячелистнике азиатском (рис. 4–5).

У тысячелистника азиатского и вероники дубравной наступление гипотермии вызывает стрессовое повышение активности растворимой пероксидазы вечером с последующим спадом в полночь и новым повышением активности к трём часам ночи, что может говорить о запуске процессов адаптации к гипотермии во второй половине ночи. У вероники дубравной процесс роста активности затягивался до полудня, в то время как у тысячелистника азиатского показатель быстро реагировал на изменение температурных условий и в тёплое время суток (с 9 до 18 ч) стабильно находился на относительно низком уровне.

Угнетающее действие ночной гипотермии на одуванчик лекарственный, по-видимому, выражено сильнее, о чём может свидетельствовать высокая активность фермента в тёплое время суток и непрекращающийся её спад в течение всей ночи.

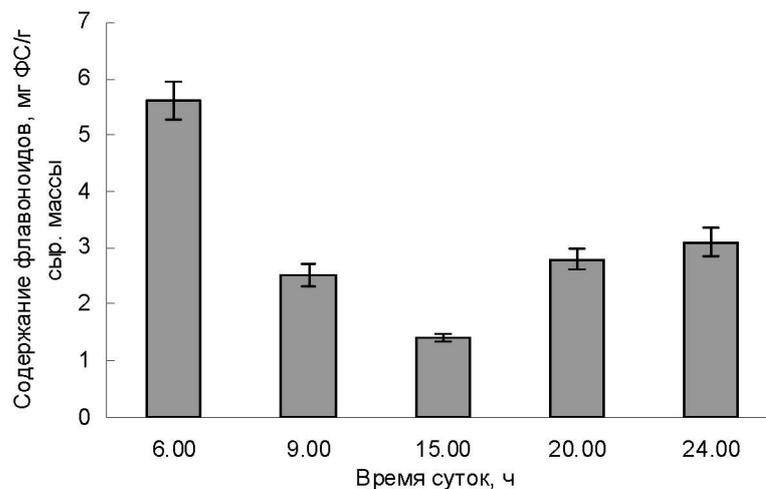


Рис. 3. Суточная динамика общего содержания флавоноидов в листьях манжетки городковатой (стационар «Речка Выдриная», 14 октября 2010 г.)

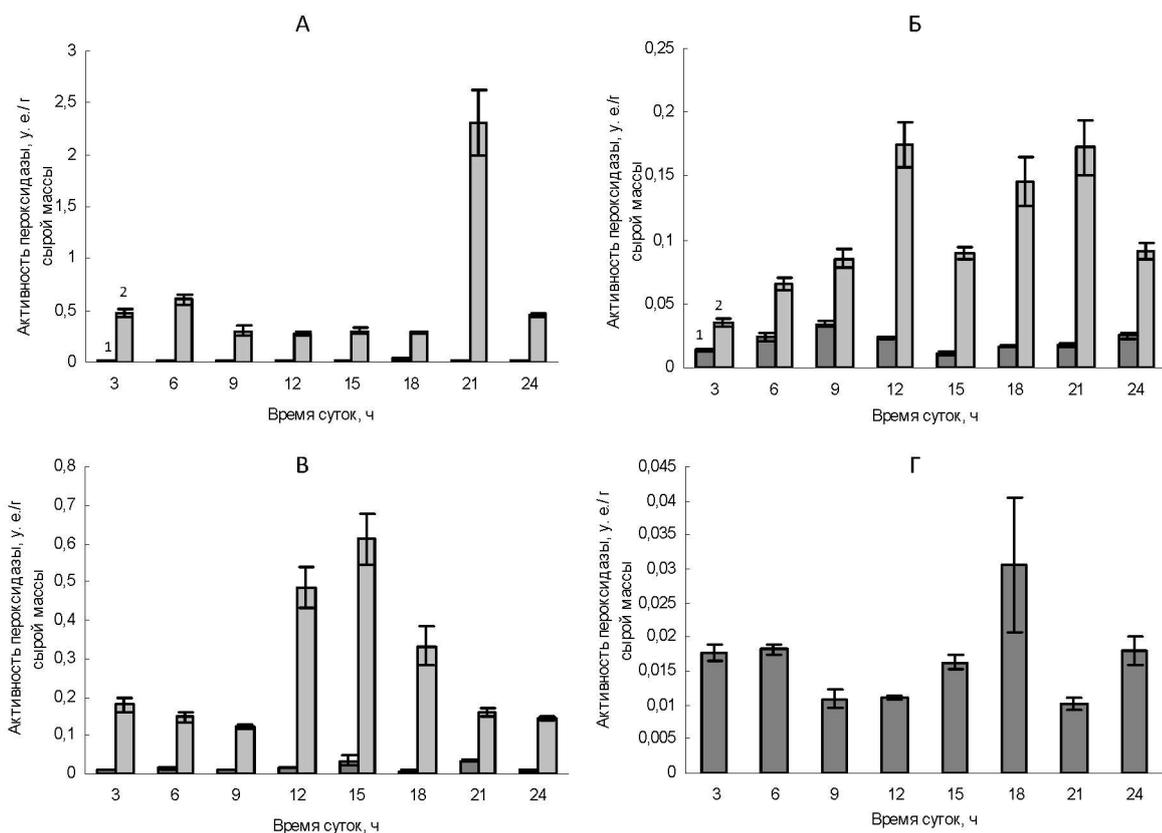


Рис. 4. Суточная динамика активности слабосвязанной с клеточной стенкой (1) и растворимой (2) пероксидазы в листьях лекарственных растений (стационар «Речка Выдриная», 14 октября 2010 г.): А – тысячелистник, Б – вероника, В – одуванчик, Г – активность слабосвязанной пероксидазы тысячелистника (вынесена отдельно)

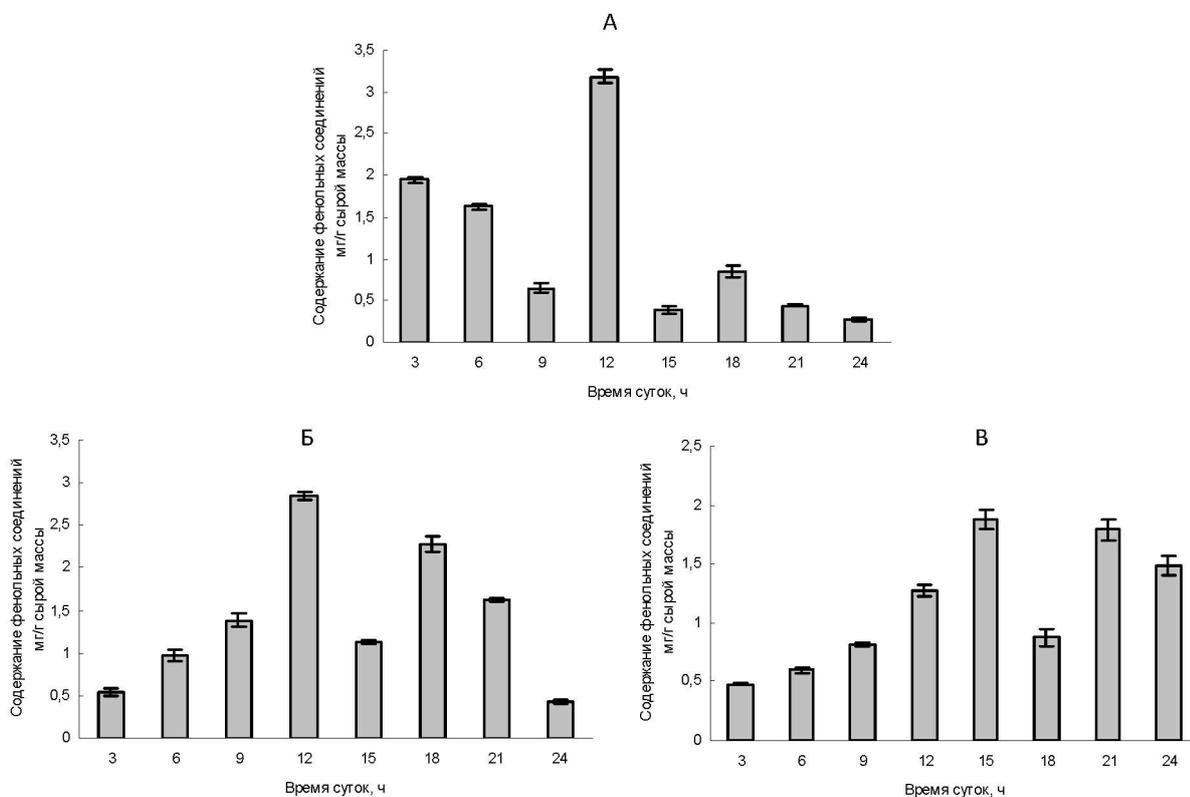


Рис. 5. Суточная динамика общего содержания флавоноидов в листьях: А – тысячелистника азиатского; Б – вероники дубравной; В – одуванчика лекарственного (стационар «Речка Выдриная», 14 октября 2010 г.)

В то же время пик активности слабосвязанной пероксидазы у тысячелистника азиатского (см. рис. 4, Г) отмечается в 18.00 часов, а у вероники дубравной повышение активности приходится на весь период понижения температуры воздуха, что свидетельствует об участии этой фракции фермента в гипотермической адаптации указанных видов. Причём, если в листьях вероники дубравной адаптивное повышение активности фермента продолжается весь период действия неблагоприятных условий, то для тысячелистника азиатского достаточно быстрого и сильного повышения активности – в начальный период сильного гипотермического воздействия.

Одуванчик лекарственный и вероника дубравная продемонстрировали чёткое следование увеличения активности пероксидазы за ростом содержания фенольных соединений на протяжении всех суток, в то время как для тысячелистника азиатского эти показатели находились в противофазе.

Понижение температуры в вечерние часы вызывало повышение активности пероксидазы у тысячелистника азиатского и вероники дубравной, что может говорить о запуске процессов адаптации к ночной гипотермии в октябре. У вероники дубравной повышение активности фермента затягивалось, в то время как у тысячелистника азиатского этот показатель стремительно реагировал на изменение температурных условий уже вечером. Ночная гипотермия угнетающе действовала на активность фермента в листьях одуванчика лекарственного: спад показателя наблюдался на протяжении всей ночи.

Заключение

В результате изучения суточной динамики содержания фенольных соединений и активности слабосвязанной с клеточной стенкой и растворимой фракции пероксидаз в листьях *Alchemilla subcrenata*, *Achillea asiatica*, *Taraxacum officinale*, *Veronica chamaedrys* отражена зависимость этих показателей от температуры атмосферного воздуха. При этом в динамике содержания фенольных соединений и активности пероксидаз прослеживаются видоспецифичные различия. При понижении суточных температур в тканях листьев манжетки городковатой растёт активность слабосвязанной пероксидазы и, в меньшей степени, увеличивается содержание фенольных соединений. Одуванчик и вероника продемонстрировали чёткую зависимость увеличения активности растворимой пероксидазы с повышением со-

держания фенольных соединений на протяжении всех суток, в то время как у тысячелистника показатели содержания фенольных соединений и активности фермента находились в противофазе. Наиболее выраженные возможности в формировании устойчивости к суточным перепадам температур проявляют тысячелистник азиатский и вероника дубравная.

Публикация статьи осуществлена при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 13-04-06068-з.

Литература

1. Карпова Е. А. Флавоноиды некоторых видов рода *Rhododendron* L. флоры Сибири и Дальнего Востока / Е. А. Карпова, А. В. Каракулов // Химия растит. сырья. – 2013. – № 2. – С. 119–126.
2. Пероксидаза как компонент сигнальной системы клеток картофеля при патогенезе кольцевой гнили / И. А. Граскова [и др.] // Физиология растений. – 2004. – № 5. – С. 692–697.
3. Петрук А. А. Сезонная динамика содержания дубильных веществ в листьях и соцветиях некоторых видов рода *Salix* (Salicaceae) при интродукции / А. А. Петрук // Химия растит. сырья. – 2013. – № 2. – С. 135–138.
4. Рогожин В. В. Пероксидаза: строение и механизм действия / В. В. Рогожин, В. В. Верхотуров, Т. В. Рогожина. – Иркутск : Изд-во Иркут. гос. техн. ун-та, 2004. – 200 с.
5. Содержание и состав флавоноидов и фенолкарбоновых кислот *Alfredia cernua* (Asteraceae) / Н. В. Кувачева [и др.] // Растит. ресурсы. – 2011. – Вып. 4. – С. 105–113.
6. Фенольные соединения и антиоксидантная активность уральских представителей рода *Thymus* (Lamiaceae) / Л. И. Алексеева [и др.] // Растит. ресурсы. – 2010. – Вып. 1. – С. 110–118.
7. Флавоноиды мари белой (*Chenopodium album* L.), произрастающей в Сибири / Г. И. Высочина [и др.] // Химия растит. сырья. – 2009. – № 4. – С. 107–112.
8. Харборн Д. Б. Биохимия фенольных соединений / Д. Б. Харборн. – М. : Мир, 1968. – 451 с.
9. Храмова Е. П. Антимикробная активность летучих соединений и содержание фенольных компонентов у некоторых видов рода *Pentaphylloides* (Rosaceae) / Е. П. Храмова, Н. В. Цыбуля, Л. Н. Чиндяева // Растительные ресурсы. – 2013. – Т. 49. – С. 598–612.
10. The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae) / N. Lavid [et al.] // Planta. – 2001. – N 212. – P. 323–331.
11. Yee-Meiler D. Über den Einfluss fluorhaltiger Fabrikabgase auf den Phenolgehalt von Fichtennadeln / D. Yee-Meiler // Europ. J. Forest Pathol. – 1974. – Vol. 3. – P. 214–221.

The influence of seasonal downgrade the daily temperatures on diurnal adaptation and bioactive substance dynamic into leaves of medicinal plants

M. A. Zhivetyev, E. G. Rudikovskaya, L. V. Dudareva, I. A. Graskova, V. K. Voinikov

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Irkutsk

Abstract. Activity of peroxidase and content of phenol compound in leaves of *Alchemilla subcrenata*, *Achillea asiatica*, *Taraxacum officinale*, *Veronica chamaedrys* was researched. The information about dynamics of activity of peroxidase and alteration of phenol compound content during around the day in October was got. The dependence of ferment activity and phenol compound substance in leaves of studied plants on temperature was shown. There is a species specificity of the dynamic of the content of phenol compound and peroxidase activity. In the leaf tissues of *Alchemilla subcrenata* at the fall temperature the activity of loosely-coupled with cell wall peroxidase is increasing, and the content of phenol compound is exhibiting lesser increasing too. *Taraxacum officinale* and *Veronica chamaedrys* demonstrated a clear dependence of increase activity of peroxidase with increased content of phenol compounds throughout the day, while the content of phenolic compounds and enzyme activity of *Achillea asiatica* were in opposite phases.

Keywords: temperature, peroxidase, phenol compound, plants, *Alchemilla subcrenata*, *Achillea asiatica*, *Taraxacum officinale*, *Veronica chamaedrys*.

Живетьев Максим Аркадьевич
кандидат биологических наук, младший
научный сотрудник
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
тел. (3952)42-50-09
E-mail: nik.19@mail.ru

Zhivetyev Maxim Arkadyevich
Ph. D. in Biology, Junior Research Scientist
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42-50-09
E-mail: nik.19@mail.ru

Рудиковская Елена Георгиевна
кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
тел. (3952)42-50-09
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Rudikovskaya Elena Georgievna
Ph. D. in Biology, Senior Research Scientist
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42-50-09
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Дударева Любовь Виссарионовна
кандидат биологических наук,
заведующая лабораторией
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
тел. (3952)42-50-09
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Dudareva Lyubov' Vissarionovna
Ph. D. in Biology, Head of Laboratory
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952)42-50-09,
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Граскова Ирина Алексеевна
доктор биологических наук, ведущий
научный сотрудник
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
тел. (3952) 42-49-03
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Graskova Irina Alekseevna
Dr. Sci. in Biology, Leading Research Scientist
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42-49-03
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Войников Виктор Кириллович
доктор биологических наук, профессор,
директор
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033 г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
тел. (3952) 42-49-03
E-mail: vvk@sifibr.irk.ru

Voinikov Viktor Kirillovich
Dr. Sci. in Biology, Prof., Director
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42-49-03
E-mail: vvk@sifibr.irk.ru