

## ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ ИЗ *ARTEMISIA L.* НА ПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ МЕМБРАНУ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Бабаева Г.Х.<sup>1</sup>, Мусаев Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт ботаники

Бадамдарское шоссе, 40, г. Баку, AZ1004, Азербайджан; e-mail: gulnarababaeva112@gmail.com

<sup>2</sup> Бакинский государственный университет

ул. Захида Халилова, 23, г. Баку, AZ1073, Азербайджан

Поступила в редакцию 13.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0613

**Аннотация.** Вероятно, что биоактивные соединения растений являются модификаторами структурно-функциональных свойств плазматической мембраны клеток при контаминации ТМ. Целью настоящей работы было проверить защитное действие экстрактов из видов *Artemisia L.*, обладающих высоким адаптационным потенциалом к различным почвенным загрязнениям, на электрические свойства клеток водорослей при воздействии ТМ. Экстракты растений полыни выделяли из надземных частей *A. scoraria* и *A. szovitsiana* путем гидролиза ацетоном. С помощью микроэлектродной техники изучены закономерности изменения мембранного потенциала и мембранной резистентности плазмалеммы *Chara gymnorphylla* и *Nitella flexilis* под влиянием Cd, Cu, Zn, Pb и экстрактов из видов *Artemisia*. Выявлен статистически достоверный гиперполяризующий эффект экстрактов *A. szovitsiana* и *A. scoraria* по отношению к Zn и Pb соответственно. Устранение экстрактами определяло снижение проводимости мембраны, вызванное Cd и Zn, а также повышение проводимости Cu. Хотя замечено, что высокая способность к накоплению ТМ видов *Artemisia L.* не связана с защитным действием их экстрактов на проводимость мембран, они могут быть потенциальным источником для поиска новых химических соединений, способных индуцировать устойчивость растений к стрессовым воздействиям.

**Ключевые слова:** тяжелые металлы, экстракты *Artemisia L.*, плазматическая мембрана *Chara gymnorphylla* и *Nitella flexilis*, защитный эффект, аккумуляционная способность, Азербайджан.

### ВВЕДЕНИЕ

Биоразнообразие флоры и фауны в настоящее время находится под значительной угрозой из-за стремительно увеличивающегося загрязнения и нерационального использования биологических ресурсов повсеместно, в том числе и в Азербайджане. Азербайджан обладает чрезвычайно богатым разнообразием природных видов ценных растений. Однако возникший экологический дисбаланс, в частности из-за загрязнения окружающей среды, является серьезным поводом для настороженности в отношении фрагментации биоценоза и требует принятия неотложных мер, в том числе соответствующей системы мониторинга, необходимых исследований и оценки биоразнообразия. Несмотря на то, что сохранению биоразнообразия природного населения здесь придается большое значение [1], до сих пор наблюдается сокращение редких и эндемичных видов растений.

Среди ключевых угроз экосистемам одно из главных мест занимает загрязнение тяжелыми металлами (ТМ). Растения отличаются друг от друга ответными реакциями на ТМ-загрязнения на разных уровнях своей организации [2,3]. Большинство из них – растения, отличающиеся своей стратегией устойчивости. Растения полыни являются одним из видов рода, демонстрирующих различные стратегии устойчивости к ТМ [4-6].

Предыдущие работы по мониторингу видов растений, произрастающих на различных загрязненных территориях Азербайджана, позволили выявить более адаптированные растения полыни *L.* на этих территориях [6]. Показано, что некоторые виды/экоотипы *Artemisia L.* проявляют отличительные стратегии устойчивости к ТМ в зависимости от места их обитания, выступая толерантными, либо исключаящими, либо индикаторными, либо растениями-аккумуляторами [4,7]. Несмотря на разработанные различные стратегии толерантности, все испытанные виды полыней обладали высоким адаптивным потенциалом к загрязнению тяжелыми металлами.

Известно, что ТМ способны вызывать в растительном организме функциональные модификации плазмалеммы, изменяя электрический потенциал и проводимость мембран клеток. Показано, что растительные экстракты обладают защитным действием, проявляя способность взаимодействовать с компонентами клеточных мембран [7,8] и изменять их потенциал и проводимость.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объекты исследования.** В качестве экспериментальных объектов использовали два вида полыней *A. scoraria* и *A. szovitsiana* и пресноводные водоросли *Chara gymnorphylla* и *Nitella flexilis*.

Водоросли выращивали в растворе искусственной прудовой воды (ИПВ), состоящей из 10<sup>-4</sup> моль/л КН<sub>2</sub>Р<sub>0</sub><sub>4</sub>, 2,10<sup>-4</sup> моль/л Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 4,10<sup>-4</sup> моль/л СаСl<sub>2</sub>, 10<sup>-3</sup> моль/л NaHCO<sub>3</sub> при комнатной температуре при искусственном освещении.

Исходные растворы экстрактов с концентрацией 10 мг/л последовательно разбавляли ИПВ до концентраций, использованных в экспериментах. В одной части опыта экстракты (1 мкг/л, 10 мкг/л) добавляли в проточный раствор после 5-дневного выдерживания растений в ИПВ + экстракт в той же концентрации и установления стационарного уровня МП. Растения, подвергавшиеся воздействию одного из испытуемых ТМ (концентрация  $10^{-5}$ – $10^{-6}$  моль/л) в течение 5 суток, затем использовали в другой части эксперимента и после установления стационарного уровня МП экстракты добавляли в проточный раствор.

Параметром электрогенной активности плазмалеммы клеток служило МП, а параметром интегральной проводимости – сопротивление мембраны. МП клеток *Chara* определяют по двухэлектродному методу Хогга [9]. Также использовали метод фиксации напряжения, когда разность потенциалов плазмалеммы *Nitella flexilis* фиксировали на определенном уровне и регистрировали ионный ток.

Микроэлектродными методами установлены закономерности изменения МП ( $E_m$ ) и мембранного сопротивления ( $R_m$ ) плазматических мембран клеток *Chara gymnorphylla* и *Nitella flexilis* под влиянием как ТМ (Cd, Cu, Zn, Pb), так и экстрактов, содержащих биологически активные вещества из побегов полыни видов *Artemisia*.

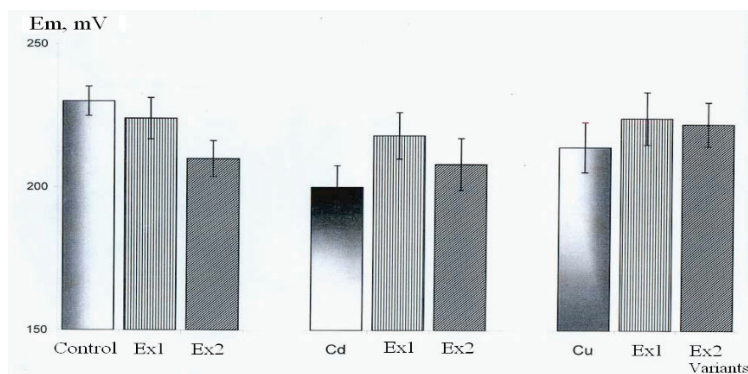
Для изучения особенностей мембранотропного действия экстрактов растений полыни их выделяли из измельченных воздушно-сухих надземных частей *A. scoraria* и *A. szovitsiana* трехкратным гидролизом в ацетоне; затем гидролизаты фильтровали и перегоняли на водяной бане [7,8]. Все анализы проводили в нескольких повторностях. Данные оценивали с помощью дисперсионного анализа с использованием MS Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Влияние экстрактов полыни на электрофизиологические свойства плазматической мембраны растений.** Изучение накопления, переноса и действия тяжелых металлов в растениях имеет большое значение для понимания механизмов их действия на разных уровнях организации растений. Отмечается важность электрофизиологических подходов к изучению особенностей влияния ксенобиотиков (пестицидов, тяжелых металлов и др.) и физиологически активных соединений на механизмы ионного транспорта в плазматических мембранах растений. Установлено, что ионно-транспортная система исследованных клеток *Chara gymnorphylla* находится в различных функциональных состояниях при воздействии ТМ. Об этом свидетельствует разброс значений МП –  $E_m$  и резистентности –  $R_m$  клеток в широких пределах [6].

Известно, что экстракты растений полыни содержат такие ценные биологически активные соединения, как сесквитерпеновые лактоны, кумарины, гликозиды и другие вторичные метаболиты [10,11], которые, взаимодействуя со стеролами клеточных мембран, приводят к избирательному разрушению их проницаемость. Сообщалось, что листья *A. scoraria* содержат 33 химических компонента, представляющих собой 99,83% эфирных масел, богатых монотерпенами (71,6%). Таким образом, *A. scoraria* рассматривается как важный биоресурс для получения масла, богатого монотерпеноидами [5]. Таким образом, растения полыни, произрастающие в различных напряженных условиях среды, обладают защитными механизмами, позволяющими противостоять как осмотическому, так и токсическому воздействию. В связи с этим представляет интерес изучение защитного действия экстрактов устойчивых к ТМ видов полыни на электрофизиологические характеристики растений.

Экстракты из тестируемых видов *Artemisia L.* по-разному влияли на изменение электрофизиологических свойств клеток водорослей в присутствии различных металлов (Cd, Cu, Zn, Pb). Проверка их влияния на изменение МП клеток *Chara* в присутствии ионов Cd и Cu выявила статистически достоверные различия (рис. 1). В этих условиях экстракт из *A. scoraria* оказывал более положительное влияние на изменение МП, чем экстракт из *A. szovitsiana*. Наблюдаемый положительный эффект обоих видов свидетельствует о начальном воздействии экстрактов на плазматическую мембрану, что соответственно приводит к изменению баланса потоков ионов.



**Рисунок 1.** Влияние растительных экстрактов из *Artemisia scoraria* (Ex1) и *Artemisia szovitsiana* (Ex2) на величину мембранного потенциала клеток в присутствии  $CdCl_2$  и  $CuSO_4$ . Солевые растворы использовали с концентрацией  $10^{-6}$  моль/л; С – контроль

**Таблица 1.** Влияние растительных экстрактов *Artemisia scoraria* (Ex1) и *Artemisia szovitsiana* (Ex2) на мембранный потенциал (Em, мВ) клеток *Chara gymnophylla*, культивируемых в присутствии ZnSO<sub>4</sub> и Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Контроль (ИПВ)	10 <sup>-7</sup> моль/л ZnSO <sub>4</sub> (5-дневные)	10 <sup>-5</sup> мг л <sup>-1</sup> Ex1 (в эксперименте)	10 <sup>-5</sup> мг л <sup>-1</sup> Ex2 (в эксперименте)
-213 ± 17 (5)	-172 ± 9 (5)	-189 ± 10 (5)	-215 ± 8 (5)
Контроль (ИПВ)	10 <sup>-6</sup> моль/л Pb (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (5-дневные)	10 <sup>-5</sup> мг/л Ex1 (в эксперименте)	10 <sup>-5</sup> мг/л Ex2 (в эксперименте)
-190 ± 9 (5)	-187 ± 6 (5)	-202 ± 12 (5)	-195 ± 11 (5)

Обнаружено разнонаправленное действие двух экстрактов на ингибирование МП Pb и Zn (табл. 1). Добавление Ex1 из *A. scoraria* снимает деполяризующий эффект, а Ex2 из *A. szovitsiana* восстанавливает МП до исходного уровня при обработке Zn.

В то же время Ex1 приводит к гиперполяризации МП при обработке растения Pb. Полученные данные отчетливо свидетельствуют о гиперполяризующем действии *A. szovitsiana* по отношению к Zn и *A. scoraria* по отношению к Pb. Следует отметить, что сами экстракты вызывали значительно меньшие мембранные эффекты, чем их совместное использование с металлами.

**Сравнение аккумулирующей способности ТМ и защитного действия экстрактов полыни.** Среди испытанных видов полыни наибольшей способностью к накоплению в побегах тяжелых металлов, в основном Zn, Pb, Cu, показала *A. scoraria* [10,11] и может быть отнесена к растениям-аккумуляторам. *A. szovitsiana* также отличается адаптивным потенциалом к различным типам загрязнений и широко распространена во всех загрязненных районах Азербайджана. Как и другие испытанные виды *Artemisia* (*A. scoraria*, *A. fragrans*, *A. caucasica*) [8], этот вид также в основном накапливал Zn и Cu в побегах. *A. szovitsiana*, произрастающая на участках с разным уровнем загрязнения ТМ, демонстрировала разные стратегии устойчивости [12]. На относительно слабозагрязненных участках, где концентрации Cu и Zn в почве были выявлены около 6 мг/кг и 20 мг/кг соответственно, растения с этих участков запасают в своих побегах около 20 мг/кг и Zn 100 мг. кг<sup>-1</sup> зарекомендовали себя как виды-аккумуляторы. *A. szovitsiana*, произрастающая на почвах с концентрацией Cu 60 мг/кг и Zn с концентрацией 100 мг/кг, не обладающая высокой поглотительной способностью, накапливала Cu и Zn в количествах около 15 и 70 мг/кг соответственно. Попытки сравнить данные по накоплению ТМ обоими исследованными видами *Artemisia* [13] и элиминации действия ТМ экстрактами из этих видов выявили их отличительные стратегии и по этим характеристикам (таблица 2). В то время как для *A. scoraria* характерна наибольшая способность к накоплению Zn, наибольший элиминационный эффект с наивысшим значением МП наблюдался для этого металла под влиянием экстракта *A. szovitsiana*. Но более высокий эффект элиминации Cd, Cu, Pb наблюдался в присутствии экстракта *A. scoraria*. В то же время растения *A. scoraria* накапливали в своих побегах большее количество этих металлов, чем *A. szovitsiana*. По отношению накопительной способности растений к изменению МП эта величина оказалась в несколько раз выше у *A. scoraria* для всех испытанных ТМ.

## ВЫВОДЫ

Выявление защитной роли биологически активных веществ растений *Artemisia L.* в повышении устойчивости плазматической мембраны клеток водорослей к ТМ-контаминации выявило статистически достоверный гиперполяризующий эффект экстрактов *A. szovitsiana* и *A. scoraria* по отношению к влиянию Zn и Pb, соответственно. Устранение экстрактами также определяло снижение проводимости мембраны, вызванное Cd и Zn, а также повышение проводимости, вызванное Cu. Хотя замечено, что высокая аккумуляционная способность ТМ некоторых исследованных видов *Artemisia L.* не связана с защитным действием их экстрактов в отношении проводимости мембран. Но полученные данные свидетельствуют о том, что некоторые соединения в экстрактах полыни способны индуцировать толерантность к токсическому влиянию тяжелых металлов на

**Таблица 2.** Сравнение аккумулирующей способности видов *Artemisia L.* и элиминации действия ТМ их экстрактами в зависимости от мембранного потенциала растительных клеток

Растения Металлы	<i>A.scoraria</i>		<i>A.szovitsiana</i>	
	Аккумулирующая способность, µg g <sup>-1</sup>	Изменения М.П. mV	Аккумулирующая способность, µg g <sup>-1</sup>	Изменения М.П. mV
Cd	4,02±0,9	18±2	0,11±0,03	8±2
Cu	34,01±8,3	10±2	17,5±1,5	8±2
Pb	160,08±42,4	15±2	1,79±0,3	5±2
Zn	735,93±129,6	17±2	106,5±13,1	42±2

уровне плазматической мембраны. Таким образом, полыни могут быть потенциальным источником для поиска новых веществ, способных индуцировать у растений устойчивость к стрессовым воздействиям.

**Список литературы / References:**

1. National Strategy and Action Plan on Conservation and Sustainable Use of Biodiversity in the Republic of Azerbaijan, Baku, 2006.
2. Валиев Р.Ш., Ольшанская Л.Н. Некоторые физиологические аспекты фитоэкстракции тяжелых металлов. *Химия и химическая технология*, 2016 т. 59, вып. 1, с. 30-35 [Valiev R.Sh., Olshanskaya L.N. Some cases of application of phytoextraction of metals. *Chemistry and chemical technology*, 2016, vol. 59, iss. 1, pp. 30-35 (In Russ.)].
3. Казнина Н.М., Титов А.Ф. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Poaceae. *Успехи современной биологии*, 2013, т. 133, № 6, с. 588-603 [Kaznina N.M., Titov A.F. Effect of cadmium on physiological processes and productivity of plants of the Poaceae family. *Advances in modern biology*, 2013, vol. 133, no. 6, pp. 588-603 (In Russ.)].
4. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. *Тяжелые металлы и растения*. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014, 196 с. [Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. *Heavy metals and plants*. Petrozavodsk: Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2014, 196 p. (In Russ.)].
5. Шергина О.В., Михайлова Т.А. Фитоэкстракция тяжелых металлов травянистыми растениями на техногенных почвах. *Химия растительного сырья*, 2022, № 4, с. 311-320 [Shergina O.V., Mikhailova T.A. Phytoextraction of heavy metals by herbaceous plants on technogenic soils. *Chemistry of plant raw materials*, 2022, no. 4, pp. 311-320 (In Russ.)].
6. Ali-zade V.M., Sokolik A.I., Musayev N.A. et al. Effect of extracts from *Artemisia scoparia* and *Artemisia szovitsiana* on membrane potential of *Chara gymnophylla* cells treated by Zn. *Proceedings of IV International Scientific Conference on "Regulation of growth, development and productivity of plants"*, Belarus, Minsk, 2005, pp. 14-15.
7. Takeda R., Yoshimura N., Matsumoto S. et al. Accumulation of heavy metals by Japanese weeds and their seasonal movement. *Contaminated Soils*, 2005, vol. 9, pp. 349-359.
8. Серкеров С.В., Алескерова А.Х. Сесквитерпеновые лактоны *Artemisia szovitsiana*. *Химия природных соединений* 3, 1981, с. 397-398. [Serkerov S.V., Aleskerova A.H., Sesquiterpene lactones of *Artemisia szovitsiana*. *Chemistry of Natural Compounds* 3, 1981, pp. 397-398 (In Russ.)].
9. Hogg J., Williams E., Johnston R. A simplified method for measuring of membrane resistance of *Nitella translucens*. *Biochim Biophys Acta*, 1968, vol. 150, pp. 518-520.
10. Singh H.P., Mittal S., Kaur S. et al. Document chemical composition and antioxidant activity of essential oil from residues of *Artemisia scoparia*. *Food Chemistry*, 2009, vol. 114, pp. 642-645.
11. Singh H.P., Kaur S., Mittal S. et al. Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, vol. 35, no. 2, pp. 154-162.
12. Li H.Y., Tang S.R., Zheng J.M. Copper contents in two plant species of Compositae growing on copper mining spoils. *Nonhcn Shengtai Huanjing*, 2003, vol. 19, no. 4, pp. 53-55.
13. Evseeva S.B., Sysuev B.B. Plant raw material extracts as component of cosmetic products and formulations for topical administration the products range, the production characteristics (review). *Pharmacy & Pharmacology*, 2016, no. 3, pp. 4-37.

## ACTION OF EXTRACTS FROM ARTEMISIA L. ON THE PLASMATIC MEMBRANE UNDER STRESS CONDITIONS

Babayeva G.Kh.<sup>1</sup>, Musayev N.A.<sup>2</sup><sup>1</sup> Institute of Botany

Badamdar highway 40, AZ1073, Baku, Azerbaijan, e-mail: gulnarababaeva112@gmail.com

<sup>2</sup> Baku State University

Acad. Zahid Xalilov str. 23, AZ 1073, Baku, Azerbaijan

Received 13.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpc.2023.0613

**Abstract.** Plant bioactive compounds are supposed to be the modifiers of structural-functional properties of cell plasma membrane under HM contamination. To test a protective effect of extracts from *Artemisia* L. species, possessing high adaptive potential to different soil contaminations, on electrical properties of algae cells under HM treatments was the aim of the present work. Extracts from *Artemisia* plants were isolated from above-ground parts of *A.scoparia* and *A.szovitsiana* by acetone hydrolyzation. Microelectrode techniques were used to study the regularities of change of membrane potential and membrane resistance of *Chara gymnophylla* and *Nitella flexilis* plasmalemma under influence of Cd, Cu, Zn, Pb and the extracts from *Artemisia* species. Statistically reliable hyperpolarizing effect of *A.szovitsiana* and *A.scoparia* extracts in relation to Zn and Pb was revealed, respectively. Elimination by extracts a decrease of membrane conductivity caused by Cd and Zn and also an increase of conductivity by Cu was determined. Though a high HM accumulation capacity of *Artemisia* L. species is noticed to not connect with protective effect of their extracts on membrane conductivity, they can be a potential source for the searching new chemical compounds which are capable to induce the plant tolerance to stress impacts.

**Key words:** Heavy metals, extracts from *Artemisia* L., plasma membrane of *Chara gymnophylla* and *Nitella flexilis*, protective effect, accumulation capacity, Azerbaijan.