

---

---

**II Международная научная конференция**  
**«Роль метаболомики в совершенствовании**  
**биотехнологических средств производства»**

по направлению  
**«Метаболомика и качество жизни»**

**Организаторы конференции:**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Российская академия наук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и  
ароматических растений»

6 – 7 июня 2019 г., ФГБНУ ВИЛАР

г. Москва

---

---

ISBN 978-5-87019-086-0

УДК 633.88:615.45: 615.3:577:57.04



9 785870 190860

ББК: 42: 52.8: 24.2: 24.4.

Председатель редакционного совета: Сидельников Н.И.

**Редакционный совет:**

Быков В.А. академик РАН, д.т.н., профессор

Савченко И.В. академик РАН, д.б.н.

Мизина П.Г. д.фарм.наук, профессор

Морозов А.И. д.с.-х.н.

Осипов В.И. д.б.н.

Савин П.С. к.б.н.

Сайбель О.Л. к.фарм.н.

Семкина О.А. к.фарм.н.

Ферубко Е.В. к.мед.н.

Хазиева Ф.М. к.б.н.

**Ответственные секретари:**

Бабенко А.Н. к.б.н., Дыдыкина А.А.

**Материалы публикуются в авторской редакции**

© ВИЛАР, 2019-06

© Коллектив авторов

# ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ФИЗИО- ЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*OREGANUM VULGARE L.*)

**О.В. Ковзунова**

к.б.н., научный сотрудник отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси (Беларусь)

E-mail: [olga-kopa@mail.ru](mailto:olga-kopa@mail.ru)

**В. Н. Решетников**

Академик, заведующий отделом биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси (Беларусь)

Исследовали влияние сверхмалых концентраций наночастиц серебра на биохимические параметры контейнерных растений душицы обыкновенной. Показано, что многократное опрыскивание растений душицы обыкновенной препаратом наночастиц серебра во всех исследуемых концентрациях не приводило к увеличению содержания суммы оксикоричных кислот и флавоноидов. Установлено, что обработка растений раствором наночастиц серебра концентрацией 584 нМ снижает активность антиоксидантных ферментов в листьях душицы обыкновенной, что может быть индикатором снижения уровня окислительного стресса.

Ключевые слова: душица обыкновенная, метаболомика, антиоксидантные ферменты, наночастицы металлов.

## ВВЕДЕНИЕ

Урожайность сельскохозяйственных культур в Беларуси пока существенно уступает показателям европейских стран с интенсивными системами земледелия. Одна из причин отставания — низкая обеспеченность хозяйств агропромышленного комплекса микроудобрениями, необходимыми для синтеза ферментов, регулирующих скорость обменных процессов и обеспечивающих реализацию полного биологического потенциала растений. За рубежом традиционные солевые и хелатные формы микроудобрений вытесняются препаратами нового поколения на основе наночастиц микроэлементов. Основное их преимущество — высокий эффект при существенно меньших удельных расходах за счет быстрого проникновения в клетку и создания эффекта «депо» микроэлементов [1, 2]. В Беларуси заготовка лекарственных растений осложнена тем, что значительная часть территории закрыта для сбора сырья вследствие радиоактивного загрязнения, поэтому разработка способов повышения урожайности и содержания вторичных метаболитов является важной задачей. Душицы обыкновенная представляют собой источник полезных для человека веществ медицинского назначения. Оказывает местное противовоспалительное, болеутоляющее и антисептическое действие [3].

---

---

Трава *Oreganum vulgare* L. (далее душица) содержит 0,3-1,2 % эфирного масла и обладает бактерицидными свойствами благодаря содержанию в эфирном масле тимола [4]. Также в траве содержатся фенольные кислоты (до 12-20 %); флавоноиды, аскорбиновая кислота и дубильные вещества [4].

В Беларуси в рамках ГНТП «Промышленная биотехнология» разработана технология и освоено производство серии новых нанопрепаратов на основе микроэлементов Co, Mn, Cu и Fe для растениеводства и ветеринарии, не уступающих по эффективности лучшим мировым аналогам. Проведена серия лабораторных опытов на бобовых, злаковых и овощных культурах в водных и почвенных условиях позволила установить оптимальные концентрации наночастиц микроэлементов, на основании чего создан новый препарат «Наноплант». Показано, что препарат оказывает более эффективное действие на рост и развитие растений, чем применяемые в настоящее время соли и хелаты микроэлементов [5]. В настоящее время проводится серия опытов с коллоидным раствором наночастиц серебра, его влиянии на физиолого-биохимические показатели в зависимости от используемых концентраций. Известно, что наночастицы металлов способны проявлять фитотоксичность через индукцию оксидативного стресса в растительных клетках. Как и при воздействии многих абиотических и биотических стрессоров, развитие оксидативного стресса, индуцированного наночастицами металлов, происходит через повышенное образование активных форм кислорода (АФК) и перекисные процессы (ПОЛ). Генерация АФК является центральным компонентом защитной системы растений в ответ на стрессоры. АФК могут оказывать непосредственное токсическое действие на биотический стрессор или же индуцировать экспрессию защитных генов, таких как гены ферментов фенилпропаноидного пути биосинтеза вторичных метаболитов. К тому же такие металлы, как Ag, Au, Fe, Co, Mn катализируют в растительных клетках целый ряд окислительно-восстановительных реакций, прямо или опосредованно участвующих в биосинтезе вторичных метаболитов [6].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований была контейнерная культура душицы обыкновенной (сорт Грета, возраст – 7 месяцев), выращенная в условиях оранжереи ЦБС. Препарат наночастиц серебра (далее НаноAg), был синтезирован в ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси» на основе наночастиц нитрата серебра, стабилизированных в структуре водного коллоидного раствора с помощью композиции модифицированных биогенных полимеров. С помощью атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой выполнен анализ состава и установлены концентрации Ag в препарате (0,1 г/л). Опытные растения душицы обыкновенной опрыскивались 5-тикратно (в течение 4 дней, затем перерыв 2 дня и еще 1 раз) рабочими растворами нанопрепаратов серебра в 3-х концентрациях: 146, 292 и 584 нМ. Контрольные растения опрыскивались дистиллированной водой. В каждом варианте было по 10 растений. Через день после окончания серии опрыскиваний снимались листья с растений (в одну повторность попадали листья с каждого растения) и проводились биохимические анализы. Экстракцию вели по [7]. Определение содержания суммы флавоноидов и оксикоричных кислот проводили согласно методике [7]. Активность пероксидазы гваялового типа и активность каталазы проводили по стандартным методикам [8,9].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время известно, что наночастицы металлов, проникая в клетки растений,

вызывают ряд быстрых первичных реакций, одна из которых оксидативный стресс. Наночастицы серебра на сегодняшний день являются наиболее исследованным и широко применяемым наноразмерным металлическим материалом. Мировая наука и промышленность постоянно открывает новые возможности этого материала и создает большое количество продуктов с его применением. Наночастицы серебра обладают выраженными антимикробными, каталитическими и оптическими свойствами. Нами оценивалось содержание сумм флавоноидов и оксикоричных кислот, а также отдельных флавоноидов и оксикоричных кислот в листьях душицы обыкновенной после обработки растений наночастицами серебра [10].

Как видно из рисунка 1, серия опрыскиваний растений препаратом наночастиц серебра в концентрациях 146 и 292 нМ не привела к достоверному увеличению содержания суммы флавоноидов. В тоже время обработка растений препаратом с наивысшей из исследуемых концентраций НаноAg 584 нМ снизила содержание данных БАВ в листьях душицы обыкновенной почти на 11 % по сравнению с контрольным вариантом.

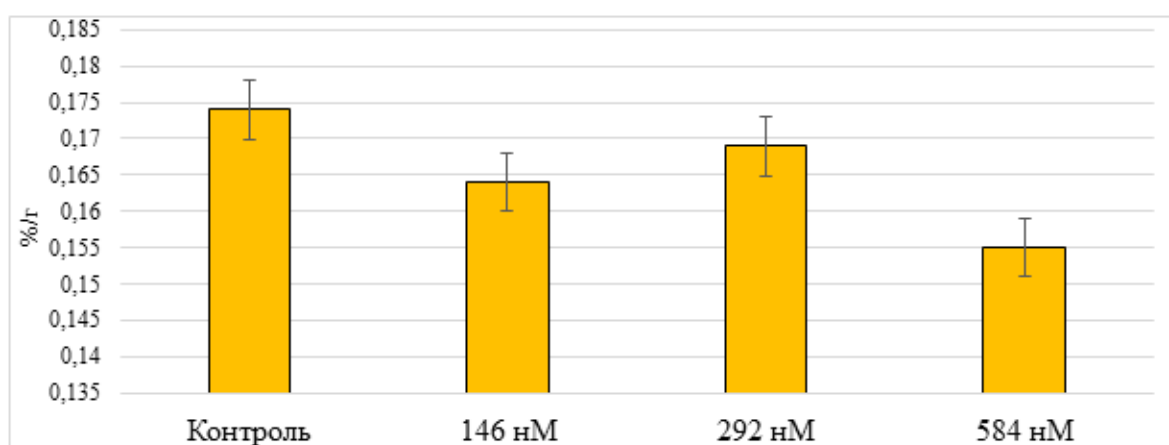


Рисунок 1 — Содержание суммы флавоноидов (в % на грамм сырой массы) в листьях душицы обыкновенной, обработанных разными концентрациями препарата наночастиц серебра

Данные, представленные в таблице 1 показывают, что многократное опрыскивание растений душицы обыкновенной препаратом наночастиц серебра во всех исследуемых концентрациях не приводило к увеличению содержания суммы оксикоричных кислот.

Таблица 1 — Содержание суммы оксикоричных кислот (в мг/г сырой массы) в контрольных листьях душицы обыкновенной и в листьях, обработанных разными концентрациями препарата наночастиц серебра

Суммарное содержание оксикоричных кислот	Контроль	Нано Ag 146 М	Нано Ag 292 М	Нано Ag 584 М
мг/ г	0,0023 ± 0	0,0023 ± 0	0,0023 ± 0	0,0023 ± 0
% к контролю	100	100	100	100

Известно, что наночастицы серебра реализуют оксидативный стресс в растительных клетках через усиленное образование перекиси водорода. АФК и *перекисные процессы* могут индуцировать экспрессию таких защитных генов растений, как гены ферментов фенилпропаноидного пути биосинтеза вторичных метаболитов (фенилаланинаммиаклиаза,

халконсинтаза, халконизомераза и др.), что в конечном итоге приводит к накоплению клетками биологически активных веществ и повышению уровня активности антиоксидантных ферментов. Нами оценивалось активность основных антиоксидантных ферментов (каталаза и пероксидаза) в листьях душицы обыкновенной после обработки растений наночастицами серебра.

Как видно из таблицы 2, серия опрыскиваний растений препаратом наночастиц серебра во всех концентрациях привела к увеличению активности пероксидазы гваякового типа при концентрации 146 и 292 нМ на 7,6 и 1,6% по сравнению с контролем. При этом максимально высокая активность ПГТ отмечена при наименьшей концентрации препарата — 146 нМ. Снижение активности пероксидазы на 21,3% отмечено при максимальной концентрации серебра.

Таблица 2 — Активность пероксидазы гваякового типа (у.е./мл экстракта) в контрольных листьях растений душицы обыкновенной и в листьях, обработанных препаратом наночастиц серебра

Активность	Контроль	Нано Ag 146 нМ	Нано Ag 292 нМ	Нано Ag 584 нМ
у.е./мл экстракта	2,387±0,194	2,569±0,094	2,425±0,208	1,879±0,163
% к контролю	100	107,6	101,6	78,7

При определении активности каталазы (таблица 3), после серии опрыскиваний препаратом наблюдалась схожая ситуация, как и с пероксидазами. Увеличение активности каталазы наблюдалось при концентрации 146 и 292 нМ по сравнению с контролем на 87,8 и 110,7% соответственно. В тоже время обработка растений препаратом со высокой концентрацией НаноAg 584 нМ из исследуемых концентраций снизила активность антиоксидантного фермента в листьях душицы обыкновенной на 22,4% по сравнению с контрольным вариантом.

Таблица 3 — Активность каталазы (у.е./мг белка) в контрольных листьях растений душицы обыкновенной и в листьях, обработанных препаратом наночастиц серебра

Активность	Контроль	Нано Ag 146 нМ	Нано Ag 292 нМ	Нано Ag 584 нМ
у.е./ мг белка	0,196±0,019	0,368±0,025	0,217±0,054	0,152±0,039
% к контролю	100	187,8	110,7	77,6

## ВЫВОДЫ

На основании проведенных лабораторных экспериментах можно сделать следующие выводы:

1. Серия опрыскиваний растений препаратом наночастиц серебра во всех исследуемых концентрациях не привела к достоверному увеличению содержания суммы флавоноидов, по сравнению с контролем. В тоже время обработка растений препаратом с наивысшей из исследуемых концентраций НаноAg 584 нМ снизила содержание флавоноидов в листьях душицы обыкновенной на 10,9% по сравнению с контрольным вариантом. Многократное опрыскивание растений душицы обыкновенной препаратом наночастиц серебра не отразилось на содержании суммы оксикоричных кислот.

2. Серия опрыскиваний растений препаратом наночастиц серебра в концентрации 146

и 292 нМ привело к увеличению активности пероксидазы гваякового типа по сравнению с контролем. Многократное опрыскивание растений душицы обыкновенной препаратом наночастиц серебра в концентрации 584 нМ снизило активность каталазы и пероксидазы в листьях душицы обыкновенной на 22,4 и 21,3 % по сравнению с контрольным вариантом, что может свидетельствовать о снижении уровня окислительного стресса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кугутина Н. И. Нанотехнологии в сельском хозяйстве /Курск: Курск. обл. науч. б-ка им. Н. Н. Асеева, 2012; с. 5-10.
2. Азизбемян С.Г., Домаш В.И., Кучинский М.П. Новые нанопрепараты для растениеводства и ветеринарии /<http://www.bntu.by/component/content/article/1020.html>
3. Nurzyńska-Wierdak R., Bogucka-Kocka A., Sowa I. et al. The composition of essential oil from three ecotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* cultivated in Poland. //Farmacia. – 2012; 60, 4: 571–77.
4. Мирovich В. М., Коненкина Т. А., Федосеева Г. М. и соавт. Исследование качественного состава эфирного масла душицы обыкновенной, произрастающей в восточной Сибири. //Химия растительного сырья. – 2008; 2: 61– 4.
5. Домаш В.И., Шарпио Т.П., Забрейко С.Д. и соавт. Биопрепараты для повышения продуктивности и устойчивости растений к стрессам. 21.08.2012 Минск // Органическое сельское хозяйство Беларуси: перспективы развития. Материалы Международной научно-практической конференции. –2012; 29–32.
6. Siddiqui M.H., Manzer H. S., Mohamed H. A.I. Nanotechnology and Plant Sciences Nanoparticles and Their Impact on Plants // Springer International Publishing Switzerland. – 2015; 303; 6: 101–24.
7. Ширяков А.А., Марченко С.И. Государственная фармакопея Республики Беларусь / Минск, 2007; 3: 245-47.
8. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и соавт. Методы биохимического исследования растений / Л.: Агропромиздат, 1987; с.117 - 19.
9. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и соавт. Методы биохимического исследования растений / Л.: Агропромиздат, 1987; с. 41-3.
10. L. Yin, B.P. Colman, B.M. McGill et al. Effect of silver nanoparticle exposure on germination and early growth of eleven wetland plants // PloS One. – 2012; 7, 10: 8636-48.

---

---

# INFLUENCE OF SILVER NANOPARTICLES ON THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE *OREGANUM VULGARE* L.

**O.V. Kovzunova**

Ph.D. (Biol.), Researcher, Department of Biochemistry and Plant Biotechnology, Centralized Biological Laboratory, National Academy of Sciences of Belarus (Belarus)

E-mail: olga-kopa@mail.ru

**V.N. Reshetnikov**

Academician, Head of the Department of Plant Biochemistry and Biotechnology, Centralized Biological Laboratory, National Academy of Sciences of Belarus (Belarus)

Summary: A study was made of the effect of ultra-low concentrations of silver nanoparticles on the biochemical parameters of *Oregano* container plants. It was shown that repeated spraying of *oregano* plants with a preparation of silver nanoparticles in all concentrations studied did not lead to an increase in the amount of hydroxycinnamic acids and flavonoids. It has been established that the treatment of plants with a solution of silver nanoparticles with a concentration of 584 нМ reduces the activity of antioxidant enzymes in the leaves of *oregano*, which can be an indicator of a decrease in the level of oxidative stress.

Key words: *Oreganum vulgare*, metabolomics, antioxidant enzymes, metal nanoparticles.