

ORIGINAL ARTICLE

# Dynamics of Vitamins and Phenols of *Alchemilla subcrenata* by Diurnal Variation of Temperature in October

Zhivetev M.A.<sup>1</sup>, Rudikovskaya E.G.<sup>1</sup>, Dudareva L.V.<sup>1</sup>,  
Graskova I.A.<sup>1,2</sup>, Voinikov V.K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SB RAS, Irkutsk, 664033, Russia

<sup>2</sup> The Irkutsk Scientific Center of SB RAS

\*E-Mail: [nik.19@mail.ru](mailto:nik.19@mail.ru)

Received November 3, 2015

Round-the-clock dynamics of phenols and vitamins B<sub>6</sub>, C, PP in the leaves of *Alchemilla subcrenata* with a glance of thermal change was shown. The maximum of content of phenols and vitamin C was observed at 6 a.m. Dynamics of vitamins B<sub>6</sub> and PP, actively participating in the exchange of proteins and amino acids, also is subject to fluctuation during the day. More higher content of these coenzymes are the coolest time of the day. To confirm the possible involvement of vitamins B<sub>6</sub> and PP in the biosynthesis of proteins were examined stress proteins in leaves of *Alchemilla subcrenata* during those same days. Heat-shock protein HSP 17.6 was detected only a day at its maximum daily temperatures and cold regulated protein COR14b was detected in the morning, when the temperature was minimal.

*Key words:* phenols, vitamins, *Alchemilla subcrenata*

С каждым годом все сильнее возрастает исследовательский интерес к лекарственным растениям. В связи с этим открывается все больше новых биологически активных веществ (БАВ) в уже известных лекарственных растениях и расширяется список растений, которые могут служить ценным источником лекарственных соединений (Dvornikova, Turetskova, 2013).

В то же время, содержание БАВ в тканях растений существенно отличается не только от вида, популяции, сорта, расы и морфы (Pravdivtseva and Kurkin, 2009; Karpova *et al.*, 2009; Karpova and Karaulov, 2013), от ткани и органа растений (Gubin and Napina, 2013; Hramova *et al.*, 2013; Petruk, 2013), но и от климатических условий произрастания (Shaldaeva, 2009), типа почвы, фитоценоотического окружения (Plaksina *et al.*, 2009), близости источников техногенного загрязнения (Pell, 1984; Kurkina, 2013; Skochilova and Zakamskaja, 2013), фазы развития и региона произрастания (Shaldaeva, 2009). Весомый вклад в изучение растительных тканей как потенциальных источников ценных биологически активных компонентов внесло появление таких методов как ВЭЖХ и УФ-спектроскопия, позволивших быстро и точно проводить подробный анализ экстрактов на широкий спектр соединений (Poluektova *et al.*, 2011).

Наиболее важными компонентами листьев растений являются белки, углеводы, жирные кислоты, витамины и широкий спектр фенольных соединений, включающий танины, дубильные

вещества, флавоноиды. Главный лечебный эффект растений связывают именно с флавоноидами, обладающими не только относительно высокими концентрациями в тканях растений, но и широким спектром действия на человеческий организм. С летучими флавоноидами связывают бактерицидный эффект лекарственных растений на человека (Hramova *et al.*, 2013) и устойчивость самих растений к грибковым и бактериальным заболеваниям (German *et al.*, 2013). Как фенольные соединения, они могут активно принимать участие в окислительно-восстановительных реакциях клеток растений и участвовать в реакциях растений на стресс (Lavid *et al.*, 2001; Artemkina and Gorbacheva, 2009; Dai and Mumper, 2010). Накопление флавоноидов в растениях находится в сильной зависимости от экологических факторов (Alekseeva *et al.*, 2010; Karpova and Karaulov, 2013), что связано с важностью выполняемых ими функций (Kuvacheva *et al.*, 2011; Hramova *et al.*, 2013; Karpova and Karaulov, 2013). В этой связи возрастает роль фенольных соединений не только как важного компонента лекарственного сырья, но и как показателя устойчивости растений (Pell, 1984).

Изучение динамики аскорбиновой кислоты как компонента антиоксидантной системы в листьях лекарственных растений тоже позволяет оценивать влияние на растительный организм стрессовых факторов окружающей среды, включая сезонные и суточные перепады температур (Skochilova and Zakamskaja, 2013; Chanishvili *et al.*,

2007).

В Иркутской области и Республике Бурятия активно изучаются флавоноиды и другие БАВ рододендрона (Karpova and Karaulov, 2013; Mirovich *et al.*, 2005), шлемника байкальского (Chirikova *et al.*, 2009), ортилии однобокой (Lombueva *et al.*, 2008) и некоторых других лекарственных растений (Lusandorzhieva, 2009). Биологически активные вещества манжетки в условиях Прибайкалья до сих пор не исследованы.

В целом, химический состав манжеток изучен недостаточно. Известно, что в надземной части находятся дубильные вещества (7.2–11.3 %), катехины. В зелёной части растения дубильных веществ от 7.5 до 9.4 %, здесь же присутствуют флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты и их производные (лутеоновая, эллаговая), лигнин, липиды, кумарины. В листьях дубильных веществ значительно меньше – до 2.5 %, зато витамина С до 210 мг %. В различных частях растения содержатся также железо, бор, марганец, медь, цинк, молибден, никель (Vinogradov *et al.*, 1991; Lesovaja *et al.*, 2010).

Необходимость изучения манжетки в Прибайкалье становится актуальной, если брать во внимание значительные различия в содержании флавоноидов, витаминов и других БАВ в зависимости от района произрастания. Учитывая то, что растения в условиях Сибири находятся под влиянием сильных перепадов температур даже в течение суток, на наш взгляд важно изучать содержание фенольных соединений и витаминов в листьях лекарственных растений не только в

разные сезоны года, но и в течение суток. Суточная и сезонная динамика лекарственных компонентов важна для научного обоснования оптимальных сроков и времени сбора растительного сырья применительно к конкретному региону.

Витамин РР активно выступает в роли кофермента в окислительно-восстановительных процессах и в обмене белков, липидов и углеводов. Витамин В<sub>6</sub>, или пиридоксин, является важным коферментом в реакциях синтеза и расщепления аминокислот. Учитывая их ключевую роль в белковом обмене, целесообразно было дополнительно вместе с ними исследовать группу белков, синтезируемых как при тепловом, так и при холодном стрессе. Осенние перепады температур в Сибири при положительных температурах днем и отрицательных ночью создают идеальные условия для всестороннего проявления адаптации растений, в отличие от лета и зимы, где превалирует только холодовой или только тепловой стресс. Для весны, когда наступает активная фаза вегетации и происходит активное наращивание растительной биомассы, стрессовое влияние может быть замаскировано общей активацией физиологических процессов в клетках растений.

В этой связи целью работы было изучение содержания фенольных соединений, витаминов С, В<sub>3</sub> и В<sub>6</sub> и стрессовых белков в листьях манжетки городковатой в зависимости от времени суток на побережье озера Байкал в октябре месяце.

## MATERIALS AND METHODS

**Объектом исследования** служили листья

манжетки городковатой *Alchemilla subcrenata* Buser, произрастающей на левом берегу реки Выдриная в 700 м от уреза озера Байкал, стационар Сибирского института физиологии и биохимии растений (СИФИБР) СО РАН «Речка Выдриная», юго-восточное побережье Байкала, разнотравный луг. Пробы отбирались в течение суток с интервалом в 3-6 часов: в 6<sup>00</sup>, 9<sup>00</sup>, 15<sup>00</sup>, 20<sup>00</sup> и 24<sup>00</sup> часа во вторую декаду октября. Выбор времени суток для отбора был привязан к наиболее заметным изменениям в суточном ходе температур атмосферного воздуха. В листьях определялось содержание ФС и витаминов С, РР и В<sub>6</sub>. Сухой вес определялся стандартным методом высушивания при температуре 105 °С до постоянного веса.

**Определение содержания фенольных соединений (ФС)** осуществляли после тройного экстрагирования кипящим 80% метанолом и очисткой объединенного экстракта хлороформом от липофильных пигментов с последующей экстракцией фенольного комплекса этилацетатом. Общее содержание ФС определяли с помощью реактива Фолина-Дениса при 720 нм с помощью SPECORD S 100 («Analytikjena», Германия). Для построения калибровочной кривой использовали коммерческий препарат кверцитина («Sigma», США).

**Определение содержания витаминов** в листьях растений осуществляли следующим образом. Измельченное растительное сырье (2 г) с 2 мл 40 мМ раствора аммиака подвергали обработке ультразвуком при 30–40 °С в течение 15 мин. Полученную смесь центрифугировали 20 мин

при 4000 об/мин, супернатант фильтровали (фильтр 0.45 мкм). В 0.5–1 мл фильтрата определяли содержание водорастворимых витаминов методом капиллярного электрофореза в системе G1600AX CE 3D (Agilent Technologies, Германия). Условия анализа: кварцевый капилляр, полная длина 48 см, рабочая длина 40 см, внутренний диаметр 50 мкм. Для разделения использовали 20 мМ тетраборатный буфер с рН 9.3. Ввод пробы осуществляли гидродинамическим способом (50 мбар · 4 сек), рабочее напряжение 20 кВ, температура в кассете с капилляром 30 °С. Детектирование осуществляли с помощью диодной матрицы, на длинах волн 200, 254, 280, 599 нм.

**Выделение белка** осуществляли по общепринятой методике с выравнием белка по методу Лоури и последующим электрофорезом в ПААГ в модифицированной системе Лэммли на приборе Mini-PROTEAN III Cell (BIO-RAD, США) (Pobezhimova *et al.*, 2004). Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану («AMERSHAM», США) и последующую обработку антителами проводили в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя. Концентрацию белка определяли по интенсивности окраски мембраны в программе GEL Analysis (1.0).

Все образцы исследовались в трех биологических повторностях. На графиках приведены средние значения и стандартные отклонения содержания фенольных соединений и витаминов. Рассчитывали линейные коэффициенты корреляции и уровень значимости по Спирману в программе StatSoft (Statistica 6.0).

## RESULTS AND DISCUSSION

**Суточная динамика температуры в дни исследования.** Суточный ход температур осенью, зафиксированный на участке отбора проб во время исследований показал значительную амплитуду температур даже в пределах одних суток с минимумом в 6-9 часов и максимумом значений в 15-17 часов, что характерно для территории Сибири. Разница температур в течение суток достигает 14 °С и выше. Учитывая динамику температурного режима, образцы листьев манжетки городковатой отбирались в 6, 9, 15, 20 и 24 часа (табл. 1).

**Суточные изменения содержания фенольных соединений.** Общее содержание ФС существенно изменялось в течение суток (табл. 1) и максимальное содержание в пересчете на сухой вес приходилось на шесть часов утра (28.8 мг/г сухого веса). В освещенное время суток содержание ФС значительно ниже и минимально в послеполуденное время (4.7 мг/г в 15 ч). К 20-24 часам вечера содержание ФС постепенно возрастает до 10.2-11.0 мг/г. Такая суточная динамика вероятно объясняется тем, что ФС на свету активно окисляются, а также возможным накоплением ФС в холодное время суток как адаптивную реакцию на гипотермию и усиливающийся окислительный стресс. Подтверждает нашу гипотезу суточная динамика содержания аскорбиновой кислоты (АСК) (табл. 1), являющейся важным индикатором окислительных процессов в клетках и тканях растений (Maevskaja and Nikolaeva, 2013; Skochilova and Zakamskaja,

2013).

**Содержание аскорбиновой кислоты (витамина С).** Максимум содержания АСК приходится тоже на 6 часов утра (648.2 мг/г сухого веса), а минимум на 15 часов (5.0 мг/г). К 20 и 24 часам содержание АСК снова возрастает (до 17.6 и 48.6 мг/г соответственно). Обращает на себя внимание тот факт, что суточная динамика АСК повторяет динамику ФС.

**Динамика некоторых витаминов группы В.** Была изучена суточная динамика витаминов РР и В<sub>6</sub> (табл. 1). Витамин РР, или В<sub>3</sub>, активно выступающий в роли кофермента в окислительно-восстановительных процессах и в белково-липидно-углеводном обмене через обмен пировиноградной кислоты, показал максимум содержания в 9-15 часов дня (96.1-174.5 мг/г), что может быть связано с активизацией биосинтетических процессов на фоне активного фотосинтеза. Витамин В<sub>6</sub>, или пиридоксин, показал в 9 и 15 часов содержание 216.2-217.9 мг/г сухого веса. В то же время, его содержание в относительно холодное время суток повышалось еще сильнее (259.0-328.7 мг/г). Возможно, это было связано с усиленным синтезом белков теплового и холодового шока, возможно - с накоплением аминокислот, выполняющих криопротекторную функцию.

**Суточные изменения в количестве БТШ в зависимости от содержания витаминов.** Для проверки гипотезы нами был проведен иммуноблоттинг проб листьев манжетки на следующие стрессовые белки: белки теплового

шока БТШ 70, 60, 101 и 17.6, а также на экспрессирующийся при холодном воздействии (cold regulated protein) COR14b (табл. 2).

Конститутивные БТШ 70 и 60 присутствовали во всех образцах листьев манжетки. БТШ 101, который синтезируется в ответ на тепловой стресс, не был обнаружен. Эти результаты согласуются с ранее изученной сезонной динамикой БТШ манжетки городковатой, у которой БТШ 101 детектировался в августе, когда относительно жарко и сухо, а в октябре его не наблюдалось (Zhivetev *et al.*, 2014). БТШ 17.6, ранее выявленный (Zhivetev *et al.*, 2014) при сезонной динамике в октябре и отсутствующий в августе (пробы отбирались в 14 ч) был снова обнаружен нами в образцах, но отобранных после полудня (15 и 20 часов). В холодное время суток БТШ 17.6 не детектировался. Шаперон COR14b, участвующий в защите митохондрий от холодного шока, присутствовал в листьях манжетки городковатой только в 6 часов утра. Таким образом, показан синтез белков теплового шока (БТШ) днем и

холодового шока (БХШ) ночью. С этим может быть связано стабильно высокое содержание пиридоксина в листьях манжетки городковатой в течение суток. Более высокие содержания витамина В<sub>6</sub> при понижении температуры по-видимому связаны с тем, что при этих условиях адаптивный синтез БХШ ночью важнее синтеза БТШ днем. В то же время, не исключен более высокий синтез пролина в холодное время суток, что также может отражаться на содержании пиридоксина.

**Корреляционная зависимость БАВ от изменений температуры в течение суток.** Для более глубокого понимания суточного хода температуры на содержание БАВ в листьях манжетки городковатой нами был использован метод корреляционного анализа (табл. 3). С его помощью выявлено, что с понижением температур воздуха достоверно увеличивается содержание витамина С и общего содержания фенольных соединений. Понижение температуры воздуха недостоверно приводило к увеличению содержания пиридоксина и уменьшению РР.

**Table 1.** Суточная динамика температуры, содержания биологически активных веществ и доли сухого веса в листьях манжетки городковатой в середине октября, р. Выдриная

	Время суток, часы				
	6 <sup>00</sup>	9 <sup>00</sup>	15 <sup>00</sup>	20 <sup>00</sup>	24 <sup>00</sup>
Температура, °С	-3 °С	+1 °С	+9 °С	+5 °С	+1 °С
Общее содержание фенольных соединений, мг/г сухого веса	<b>28.8±1.7</b>	12.7±1.0	4.7±0.2	10.2±0.7	11.0±0.9
Содержание аскорбиновой кислоты, мкг/г сухого веса	<b>648.2±101.8</b>	65.4±8.9	5.0±0.4	17.6±1.2	48.6±6.1
Содержание РР (витамина В <sub>3</sub> ), мкг/г сухого веса	3.1±0.4	96.1±13.2	<b>174.5±13.4</b>	2.2±0.1	6.7±0.8
Содержание витамина В <sub>6</sub> , мкг/г сухого веса	<b>328.7±51.6</b>	216.2±29.7	217.9±16.7	259.0±17.1	<b>312.6±39.0</b>
Доля сухого вещества, доли ед.	0.19±0.03	0.20±0.03	0.30±0.02	0.27±0.02	0.28±0.03

**Table 2.** Содержание стрессовых белков в листьях манжетки городковатой в течение суток 14–15 октября, р. Выдриная (у.е. или нг белка)

Стрессовый белок	Время суток, часы				
	6 <sup>00</sup>	9 <sup>00</sup>	15 <sup>00</sup>	20 <sup>00</sup>	24 <sup>00</sup>
БТШ 70	8457 ± 372	14623 ± 223	18394 ± 354	12897 ± 424	8393 ± 314
БТШ 60	7240 ± 73	9721 ± 121	13377 ± 110	9369 ± 46	6282 ± 132
БТШ 101	0	0	0	0	0
БТШ 17,6	0	0	11793 ± 203	6643 ± 324	0
COR 14 b	11702 ± 132	0	0	0	0

Примечание: БТШ – белки теплового шока; COR – cold regulated protein.

**Table 3.** Корреляционные зависимости содержания биологически активных веществ с температурой и долей сухого веса

Сравниваемые характеристики	Корреляция по Спирману			
	с температурой		с долей сухого веса	
	R	p	R	p
Фенольные соединения	<b>-0.975</b>	<b>0.005</b>	<b>-0.900</b>	<b>0.037</b>
Витамин В <sub>6</sub>	-0.564	0.322	-0.300	0.624
Витамин С	<b>-0.975</b>	<b>0.005</b>	<b>-0.900</b>	<b>0.037</b>
Витамин РР	0.360	0.553	0.500	0.391
Доля сухого веса	0.821	0.089	1.000	0.000
Температура	1.000	0.000	0.821	0.089

Примечание: R – коэффициент корреляции, p – уровень значимости

Увеличение температуры в течение суток закономерно приводило к увеличению доли сухого веса, но сопровождалось уменьшением концентрации БАВ, за исключение витамина РР.

## CONCLUSIONS

Таким образом, в результате исследований круглосуточной динамики содержания фенолов, витаминов В<sub>6</sub>, С и РР в тканях листьев манжетки городковатой *Alchemilla subcrenata* Buser была показана реализация адаптационного потенциала травянистых растений в естественных условиях в течение короткого периода времени при воздействии резкой смены температурных условий. Был выявлен максимум содержания фенолов и витамина С в 6 ч, которые по всей видимости задействованы в адаптации растительных клеток к

утреннему минимуму суточной температуры. Устойчивость к гипотермии ночью главным образом может реализовываться за счет активного участия этих соединений в окислительных и антиоксидантных процессах. В то же время, выраженная суточная динамика содержания пролина и витамина РР, активно участвующих в белковом обмене, вместе с закономерным изменением в составе и содержании БТШ и шаперонов, свидетельствует о более тонкой регуляции белкового обмена в течение суток, чем могло предполагаться ранее. Как известно, в модельных экспериментах накопление БТШ обычно регистрируют уже через несколько часов после стрессового воздействия. Полученные результаты показывают, как это происходит в естественных

условиях. Причем увеличение содержания стрессовых белков, защищающих от гипертермии, сопряжено с уменьшением содержания белков, защищающих от холода, что очевидно связано с комплексом ограничивающих растительную клетку факторов.

## ACKNOWLEDGMENT

Работа выполнена при поддержке Интеграционной программы «Фундаментальные исследования и прорывные технологии как основа опережающего развития Байкальского региона и его межрегиональных связей».

## REFERENCES

- Alekseeva L.I., Bystrushkin A.G., Teterjuk L.V. and Bulysheva M.A. (2010) Fenolnye soedinenija i antioksidantnaja aktivnost uralskih predstavitelei roda *Thymus* (Lamiaceae). *Rastitelnye resursy*, **1**, 110-118. (in Russian).
- Artemkina N.A. and Gorbacheva T.T. (2009) Soderzhaniye fenolov v kore eli na raznyh stadijah tehnogennoj suksessii biogeotsenozov Kolskogo poluostrova. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 111-116. (in Russian).
- Chanishvili Sh., Badridze G., Rapava L. and Dzhanukashvili N. (2007) Vlijaniye vysotnogo faktora na sodержание antioksidantov v listjah nekotoryh travjanistyh rastenij. *Ekologija*, **5**, 395-400. (in Russian).
- Chirikova N.K., Olennikov D.N. and Tanhaeva L.M. (2009) Farmakognosticheskoe issledovanie nazemnoj chasti shlemnika baikl'skogo (*Scutellaria baikalensis* Georgi). *Himiya rastitelnogo syrja*, **1**, 73-78. (in Russian).
- Dai J. and Mumper R.J. (2010) Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, **15**, 7313-7352.
- Dvornikova L.D. and Turetskova V.F. (2013) Izuchenie sostava fenolnyh soedinenij stolbikov s rylzami kukuruzy, zagotovlennyh na Altae. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 127-134. (in Russian).
- German A., Bochenek Zh. and German A.P. (2013) Dejstvija masel koritsy i lavandy na ekspressiju gena *FtsZ Stafilococcus aureus* ATCC 29213. *Prikladnaja biohimija i mikrobiologija*, **49** (5), 476-480. (in Russian).
- Gubin K.V. and Hapina M.A. (2009) Izuchenie himicheskogo sostava nadzemnoj chasti *Urtica cannabina* L. flory Sibiri. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 89-92. (in Russian).
- Hramova E.P., Tsybulja N.V. and Chindjaeva L.N. (2013) Antimikrobnaja aktivnost letuchih soedinenij i sodержание fenolnyh komponentov u nekotoryh vidov roda *Pentaphylloides* (Rosaceae). *Rastitelnye resursy*, **49**, 598-612. (in Russian).
- Karpova E.A. and Karaulov A.V. (2013) Flavonoidy nekotoryh vidov roda *Rhododendron* L. flory Sibiri i Dalnego Vostoka. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 119-126. (in Russian).
- Karpova E.A., Hramova E.P. and Fershalova T.D. (2009) Flavonoidy i askorbinovaja kislota u nekotoryh predstavitelej roda *Begonia* L. *Himiya*



- rastitelnogo syrja*, **2**, 105-110. (in Russian).
- Kurkina A.V. (2013) Novye podhody k standartizatsii zvetkov bojaryshnika. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 171-176. (in Russian).
- Kuvacheva N.V., Shilova I.V., Pjak A.I. and Amelchenko V.P. (2011) Soderzhanie i sostav flavonoidov i fenilcarbonovyh kislot *Alfredia cernua* (Asteraceae). *Rastitelnye resursy*, **4**, 105-113. (in Russian).
- Lavid N., Schwartz A., Yarden O. and Tel-Or E. (2001) The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epi-dermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). *Planta*, **212**, 323-331.
- Lesovaja Zh.S., Pisarev D.I., Novikov O.O. and Romanova T.A. (2010) Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredelenija flavonoidov v trave manzhetki obyknovennoi *Alchemilla vulgaris* L.S.L. *Nuchnyje vedomosti belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija Meditsina. Farmatseja*, **22(93)**, 145-149. (in Russian).
- Lomboeva S.S., Tanhaeva L.M. and Olennikov D.N. (2008) Metodika kolichestvennogo opredelenija summarnogo soderzhaniya flavonoidov v nazemnoj chasti ortilii odnobokoj (*Orthillia secunda* (L.) house). *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 65-68. (in Russian)
- Lusandorzheva P.B. (2009) Soderzhaniye biologicheski aktivnyh veshchestv v nekotoryh ratenijah Zabaikalja i ih antioksidantnaja aktivnost. *Himiya rastitelnogo syrja*, **3**, 133-137. (in Russian).
- Maevskaja S.N. and Nikolaeva M.K. (2013) Reaktsija antioksidantnoj i osmoprotektoznoj sistem prorostkov pshenitsy na zasuhu i regidratatsiju. *Fiziologija rastenij*, **60(3)**, 351-359. (in Russian).
- Mirovich V.M., Fedoseeva G.M., Leventa A.I. and Makarenko S.P. (2005) Opredelenie summarnogo soderzhaniya flavonoidov v nazemnoi chasti *Rhododendron adamsii* (Ericaceae) spektroskopicheskim metodom. *Rastitelnye resursy*, **4**, 67-73. (in Russian).
- Pell E.J. (1984) Secondary metabolism and air pollutants. In: Gaseous air pollutants and plant metabolism, Koziot M.J., Wratley F.R. (ed.) Butterworths: London, 222-237.
- Petruk A.A. (2013) Sezonnaja dinamika soderzhaniya dubilnyh veshchestv v listjah i sozvetijah nekotoryh vidov roda *Salix* (Salicaceae) pri introdukzii. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 135-138. (in Russian).
- Plaksina I.V., Sudachkova N.E., Romanova L.I. and Miljutina I.L. (2009) Sezonnaja dinamika fenolnyh soedinenii v lube i hvoe sosny obyknovennoi i cedra sibirskogo v posadkah razlichnoi gustoty. *Himiya rastitelnogo syrja*, **1**, 103-108. (in Russian).
- Pobezhimova T.P., Kolesnichenko A.V. and Grabelnyh O.I. (2004) Metody izuchenija mitochondrij rastenij. Poljarografija i elektroforez. M.: OOO "NPK "PROMEKOBEZOPASNOST", 98 s. (in Russian).

- Poluektova T.V., Kolomiets N.E. and Kalinkina G. I. (2011) Hromatograficheskoje issledovanie isoflovanoidov klimaktericheskogo sbora. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 145-148. (in Russian).
- Pravdivtseva O.E. and Kurkin V.A. (2009) Sravnitelnoe issledovanie himicheskogo sostava nadzemnoj chasti nekotoryh vidov roda *Hypericum* L. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 79-82. (in Russian).
- Shaldaeva T.M. (2009) Soderzhanije flavonoidov v prirodnyh populjazijah *Artemisia absinthium* L., proizrastajushchei v lesostepnoi zone zapadnoi Sibiri. *Himiya rastitelnogo syrja*, **2**, 169-170. (in Russian).
- Skochilova E.A. and Zakamskaja E.S. (2013) Vlijanije gorodskoi sredy na sodержanije hlorofilla i askorbinovoi kisloty v listjah *Tilia cordata* (Tiliaceae). *Rastitelnye resursy*, **4**, 541-546. (in Russian).
- Vinogradov V.M., Martynov V.K. and Chernakova V.V. (1991) Lekarstvennyje rastenija v lechenii zabolevanij organov pishchevarenija. L: Znanie, 192 s. (in Russian).
- Zhivetiev M.A., Kolesnichenko A.V., Graskova I.A. and Voinikov V.K. (2014) Seasonal Dynamics of Stress Proteins in Leaves of Medicinal Plants in a Natural Environment of Irkutsk and on the Shores of the Lake Baikal. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **10 (4)**, 42-50.