

УДК 581.1; 57.04

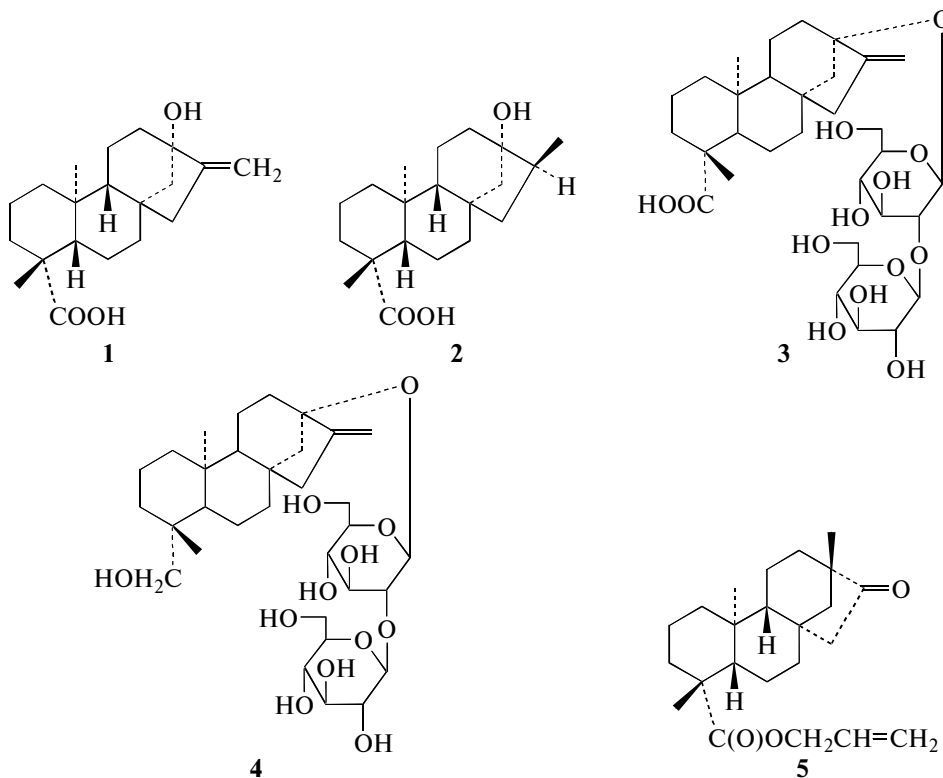
## ПРОИЗВОДНЫЕ ДИТЕРПЕНОИДА СТЕВИОЛА РЕГУЛИРУЮТ РОСТ И ПОВЫШАЮТ МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

© 2010 г. О. А. Тимофеева, Ю. Ю. Невмержицкая, И. Г. Мифтахова, А. С. Стробыкина, А. Л. Михайлов, И. Ю. Стробыкина, член-корреспондент РАН В. Ф. Миронов

Поступило 17.03.2010 г.

К числу приоритетных направлений исследований в современном растениеводстве относится изучение механизмов регуляции роста и устойчивости растений к разным по природе неблагоприятным факторам среды под влиянием перспективных соединений, обладающих широким спектром действия. Дитерпеноиды представляют собой огромное семейство природных соединений, имеющих разнообразную геометрию сочлененных углеводородных циклов. Они проявляют биологическую активность самых разнообразных типов. Среди тетрациклических соединений особо следует отметить производ-

ные каурена, к которым принадлежит дитерпеноид стевииол (1). В настоящее время уже совершенно очевидно, что стевииол является предшественником гибберелловой кислоты, являющейся известным регулятором роста растений, и участвует в ее биосинтезе благодаря трем своим структурным особенностям: *цис*-сочленению циклов В и С, карбоксильной группе при атоме углерода С<sub>4</sub>, которая вовлекается в ферментативный биосинтез на его начальной стадии, и гидроксильной группе при атоме углерода С<sub>13</sub>, которая вовлекается в ферментативный биосинтез на его последней стадии [1].



Казанский государственный университет  
им. В.И. Ульянова-Ленина  
Институт органической и физической химии  
им. А.Е. Арбузова  
Казанского научного центра Российской Академии наук,  
Казань

В своих экспериментах мы использовали производные стевииола — дигидростевииол (2), стевииолбиозид (3), спирт стевииолбиозида (4) и аллиловый эфир изомера стевииола — дитерпеноида изостевииола (5), синтезированные в ИОФХ им. А.Е. Арбу-

**Таблица 1.** Влияние производных стевиола на длину корней и листьев 7-суточных проростков озимой пшеницы Мироновская 808

| Вариант опыта                           | Длина листьев, % от контр. | Длина корней, % от контр. |
|---|----------------------------|---------------------------|
| Дигидростевиол, $10^{-7}$ М             | $95.0 \pm 3.1$             | $87.1 \pm 3.0$            |
| Стевиолбиозид, $10^{-8}$ М              | $104.7 \pm 3.2$            | $78.8 \pm 3.2$            |
| Спирт стевиолбиозид, $10^{-7}$ М        | $107.6 \pm 3.1$            | $86.5 \pm 3.1$            |
| Аллиловый эфир изостевиола, $10^{-8}$ М | $109.1 \pm 3.1$            | $85.4 \pm 3.0$            |

зова КазНЦ РАН по известным методикам [2–4]. До настоящей работы рострегулирующая активность этих соединений не изучалась. В связи с этим цель работы заключалась в изучении влияния производных дитерпеноида стевиола (2–5) на биохимические и физиологические показатели озимой пшеницы.

Объектом исследования служили растения озимой пшеницы Мироновская 808. Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на растворах производных стевиола при освещении  $100 \text{ Вт/м}^2$  и 12-часовом фотопериоде при температуре  $23^\circ\text{C}$ . В опытах с закаливанием 7-дневные проростки помещали в низкотемпературную камеру и далее выращивали при температуре  $2^\circ\text{C}$  в течение 7 сут. Данный подход позволяет моделировать первую фазу закаливания растений в лабораторных условиях. Активность амилаз в суточных проростках определяли согласно [5]. Растворимые лектины экстрагировали 0.05 N HCl, лектины клеточной стенки – 0.9%-ным NaCl и 0.05%-ным раствором тритона X-100 [6]. Лектиновую активность определяли по реакции гемагглютинации с эритроцитами первой группы крови [7]. Белок определяли по методу Bradford [8]. Морозоустойчивость тестировали по выходу электролитов [9]. Опыты проводили в трех биологических повторностях.

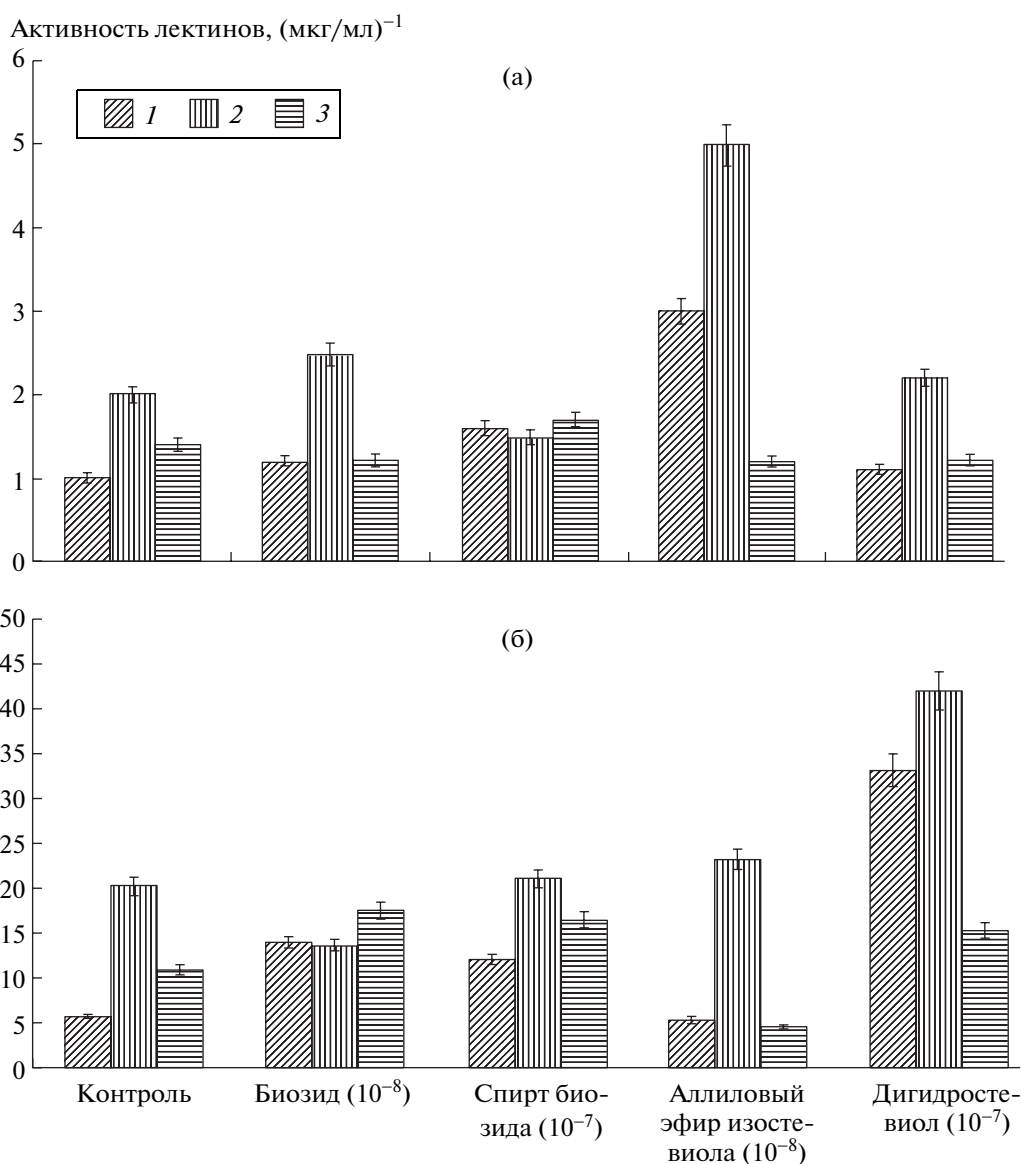
**Таблица 2.** Влияние производных стевиола 2–5 на активность амилаз и морозоустойчивость озимой пшеницы Мироновская 808

| Вариант опыта                                  | Суммарная активность амилаз, мг крахмала/мг белка ч | Активность $\alpha$ -амилазы, мг крахмала/мг белка ч | LT <sub>50</sub> , °C |                     |
|--|---|--|-----------------------|---------------------|
|  |   |  | незакаленные растения | закаленные растения |
| Контроль                                       | $0.955 \pm 0.003$                                   | $0.059 \pm 0.001$                                    | $-9.2 \pm 0.2$        | $-11.1 \pm 0.1$     |
| Дигидростевиол, $10^{-7}$ М, 7 сут             | $1.198 \pm 0.006$                                   | $0.034 \pm 0.002$                                    | $-10.2 \pm 0.1$       | $-12.0 \pm 0.1$     |
| Стевиолбиозид, $10^{-8}$ М, 7 сут              | $1.232 \pm 0.004$                                   | $0.043 \pm 0.003$                                    | $-9.9 \pm 0.1$        | $-11.9 \pm 0.2$     |
| Спирт стевиолбиозид, $10^{-7}$ М, 7 сут        | $1.313 \pm 0.005$                                   | $0.044 \pm 0.003$                                    | $-9.9 \pm 0.1$        | $-12.0 \pm 0.2$     |
| Аллиловый эфир изостевиола, $10^{-8}$ М, 7 сут | $1.310 \pm 0.003$                                   | $0.052 \pm 0.002$                                    | $-9.7 \pm 0.2$        | $-11.7 \pm 0.1$     |

На первом этапе работ необходимо было подобрать оказывающие рострегулирующее действие концентрации изучаемых соединений. Как оказалось, 5, 3 и 4 рост листьев в основном увеличивали, а корней – замедляли. Наиболее выраженным этот эффект был при концентрациях 3 и 5 –  $10^{-8}$  М, а 4 –  $10^{-7}$  М (табл. 1). Дигидростевиол подавлял рост и корней, и листьев, особенно при концентрации  $10^{-7}$  М (табл. 1). В молекуле 2 восстановлена экзоциклическая двойная связь, которая, как предполагают, ответственна за ростстимулирующую активность гибберелловой кислоты. Вероятно, поэтому данное соединение замедляло рост всего растения.

Одним из наиболее хорошо изученных свойств природных гиббереллинов является их способность индуцировать синтез и секрецию алейроновым слоем  $\alpha$ -амилазы при прорастании семян. Было показано, что стевиол, изостевиол и некоторые их производные в более низких концентрациях и с большей эффективностью по сравнению с гибберелловой кислотой активируют  $\alpha$ -амилазы, удлиняют гипокотиль салата-латука и повышают урожайность винограда [10]. В наших экспериментах суммарная активность амилаз незначительно различалась между вариантами и была несколько выше контроля (табл. 2). Однако активность  $\alpha$ -амилазы в основном была ниже, чем в контрольных растениях (табл. 2).

Как известно, механизм действия фитогормонов прежде всего связан с изменением экспрессии генов и синтеза белка. При этом большое значение отводят влиянию гормонов на активность и содержание фитоагглютининов. Показано влияние гибберелловой кислоты на экспрессию гена, кодирующего лектин БКС30 массой 30 кДа. Этот белок синтезируется в корнях огурца (*Cucumis sativus*) и в дальнейшем транспортируется с ксилемным соком в надземные органы растения, где вовлекается в процессы регуляции роста и дифференцировки тканей листа [11]. Имеются данные о способности лектинов, помимо углеводов, связываться с молекулами фитогормонов. Так, лектин пшеницы АЗП обладает высоким сродством к целому ряду фитогормонов, таких как ауксины, ци-



**Рис. 1.** Влияние производных стевиола 2–5 на активность растворимых (а) и связанных с клеточной стенкой (б) лектинов незакаленных и закаленных растений озимой пшеницы Мироновская 808. 1 – 7 сут при 23°C; 2 – 7 сут при 23°C и 3 сут при 2–3°C; 3 – 7 сут при 23°C и 7 сут при 2–3°C.

токинины и гибберелловая кислота [12]. Можно предположить, что комплекс лектины – фитогормоны участвует в запасании гормонов и регуляции роста растений [12].

В следующей серии экспериментов было изучено влияние производных стевиола на активность лектинов. Значительное повышение активности растворимых лектинов у незакаленных растений происходило под воздействием 5 (рис. 1а). Такой же эффект аллилового эфира изостевиола наблюдали через 3 сут закаливания. Следует отметить, что именно это соединение вызывало наиболее значительное увеличение длины листьев (табл. 1). В литературе обсуждается возможность участия лектинов в регуляции клеточного

деления и, как следствие, в реализации ростовых процессов клеток [13]. Ранее в наших работах было показано, что при обработке растений пшеницы регулятором роста цитокининового типа действия картолином происходило наибольшее увеличение активности растворимых лектинов у незакаленных растений сорта Альбидум 114 по сравнению с другими сортами сопровождалось наиболее значительным повышением митотического индекса корневых меристем [6, 14].

Почти все исследуемые соединения (за исключением 5) повышали активность лектинов клеточной стенки у незакаленных растений. При этом наибольшее влияние на активность этой фракции белков оказывал 2, влияние которого

сохранялось и через 3 сут воздействия низких температур (рис. 1б). Ранее нами было установлено [14], что более высокий уровень активности лектинов клеточной стенки у незакаленных растений коррелирует и с большей морозоустойчивостью растений озимой пшеницы.

Как видно из табл. 2, все исследованные соединения повышали морозоустойчивость у незакаленных растений, но в разной степени. Наибольший эффект на показатель  $LT_{50}$ , как и на активность лектинов клеточной стенки, оказал дигидростевиол. После 7-суточного закаливания также происходило увеличение морозоустойчивости растений. Следовательно, вызванное дитерпеноидами увеличение активности лектинов клеточной стенки в наших экспериментах соответствует и более высокому уровню морозоустойчивости растений.

Таким образом, среди проанализированных соединений (2–5) наиболее выраженный рострегулирующий эффект проявляет 5. Тем не менее, эти соединения, по-видимому, не обладают всем спектром действия гибберелинов, поскольку нами не было обнаружено их влияния на активность  $\alpha$ -амилазы. Возможно, у исследованных соединений произошла потеря некоторых свойств, присущих гиббереллинам; при этом у некоторых из них, в частности у дигидростевиола, усилилась способность оказывать защитное действие на растения при неблагоприятных условиях, в данном случае — в условиях низких температур.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hanson J.R.* // Nat. Prod. Rept. 1992. V. 9. № 2. P. 139–151.
2. *Wood H.B., Allerton R., Diehl H.W., Fletcher H.G.* // J. Org. Chem. 1955. V. 20. № 7. P. 875–883.
3. *Хайбуллин Р.Н., Стробыкина И.Ю., Катаев В.Е. и др.* // ЖОХ. 2009. Т. 79. В. 5. С. 795–799.
4. *Шарипова Р.Р., Стробыкина И.Ю., Катаев В.Е. и др.* // ЖОХ. 2009. Т. 79. В. 12. С. 2058–2061.
5. Практикум по физиологии растений / Под ред. Н.Н.Третьякова. М.: Колос, 1982. 271 с.
6. *Тимофеева О.А. Гараева Л.Д., Чулкова Ю.Ю., Хохлова Л.П.* // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 3. С. 368–373.
7. *Roopashere S., Singh S.A., Gowda L.R., Rao A.G.A.* // Biochem. J. 2006. V. 395. № 3. P. 629–639.
8. *Bradford M.A.* // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
9. *Uemura M., Steponkus P.L.* // Plant Physiol. 1989. V. 91. № 3. P. 961–969.
10. *Oliveria B.H., Stiirmer J.C., Filho J.S., Ayub R.A.* // Phytochemistry. 2008. V. 69. № 7. P. 1528–1533.
11. *Oda A., Sakuta C., Masuda S. et al.* // Plant Physiol. 2003. V. 133. № 4. P. 1779–1790.
12. *Bogoeva V.P., Radeva M.A., Atanasova L.Y. et al.* // Biochim. et Biophys. acta. 2004. V. 1698. № 2. P. 213–218.
13. *Шакирова Ф.М., Безрукова М.В.* // Журн. общ. биологии. 2007. Т. 68. № 1. С. 98–114.
14. *Тимофеева О.А.* Лектины как активные компоненты адаптивных реакций озимой пшеницы к неблагоприятным условиям среды. Автореф. дис. д-ра биол. наук. Уфа, 2009. 38 с.