

УДК 581.1;57.04

СТЕВИОЗИД ПРЕДУПРЕЖДАЕТ РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ

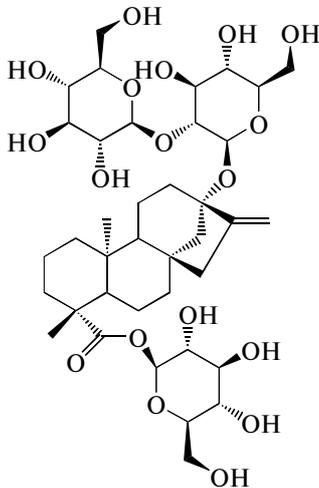
© 2015 г. О. А. Тимофеева, Ю. Ю. Невмержицкая, А. Л. Михайлов,
Г. Х. Шаймуллина, член-корреспондент РАН В. Ф. Мионов

Поступило 03.08.2015 г.

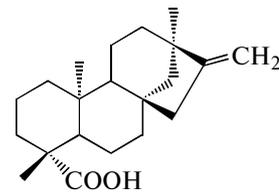
Впервые изучено действие нового перспективного регулятора роста растений — дитерпенового гликозида стевиозида на антиоксидантные и фотосинтетические системы проростков озимой пшеницы сорта Казанская 560. Показано, что стевиозид вызывает уменьшение образования малонового диальдегида, увеличение активности антиоксидантных ферментов (пероксидазы и аскорбатпероксидазы), накопление пролина и каротиноидов. Такое комплексное воздействие стевиозида, по-видимому, может предупреждать развитие в растениях окислительного стресса, вызванного действием неблагоприятных факторов среды.

DOI: 10.7868/S0869565215360293

В настоящее время актуальным является поиск и выяснение механизмов действия биологически активных веществ, обладающих одновременно рострегулирующими и антистрессовыми свойствами и являющихся экологически безопасными. К одним из таких соединений можно отнести дитерпеновый гликозид стевиозид (1) из растения *Stevia rebusiana* Bertoni, агликоном которого является стевиол (2):



(1)



(2)

Дитерпеноиды представляют собой огромное семейство природных соединений, имеющих разную геометрию сочлененных углеводородных циклов. Они проявляют самую разнообразную биологическую активность.

Ранее нами было установлено, что стевиозид (10^{-8} М) в большей степени по сравнению с другими природными и полученными химическим путем производными стевиола активировал рост и повышал морозоустойчивость растений озимой пшеницы, а также уменьшал негативный эффект кадмия и цинка на рост растений и активность лектинов [1, 2]. Поскольку одним из проявлений токсического действия тяжелых металлов является нарушение окислительного статуса и фотосинтетического аппарата клетки, целью настоящей работы было выяснение особенностей действия стевиозида на антиоксидантные и фотосинтетические системы растений пшеницы.

Объектом исследования служили корни проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Казанская 560. Стевиозид был получен из растительного сырья — стевии — в ИОФХ им. А.Е. Арбузова (КНЦ РАН, Казань). Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м² и 12-часовом фотопериоде при температуре 23°C в течение 7 сут. В опытных вариантах растения рос-

Казанский (Приволжский) федеральный университет
E-mail: nuu76@mail.ru
Институт органической и физической химии
им. А.Е. Арбузова
Казанского научного центра
Российской Академии наук, Казань

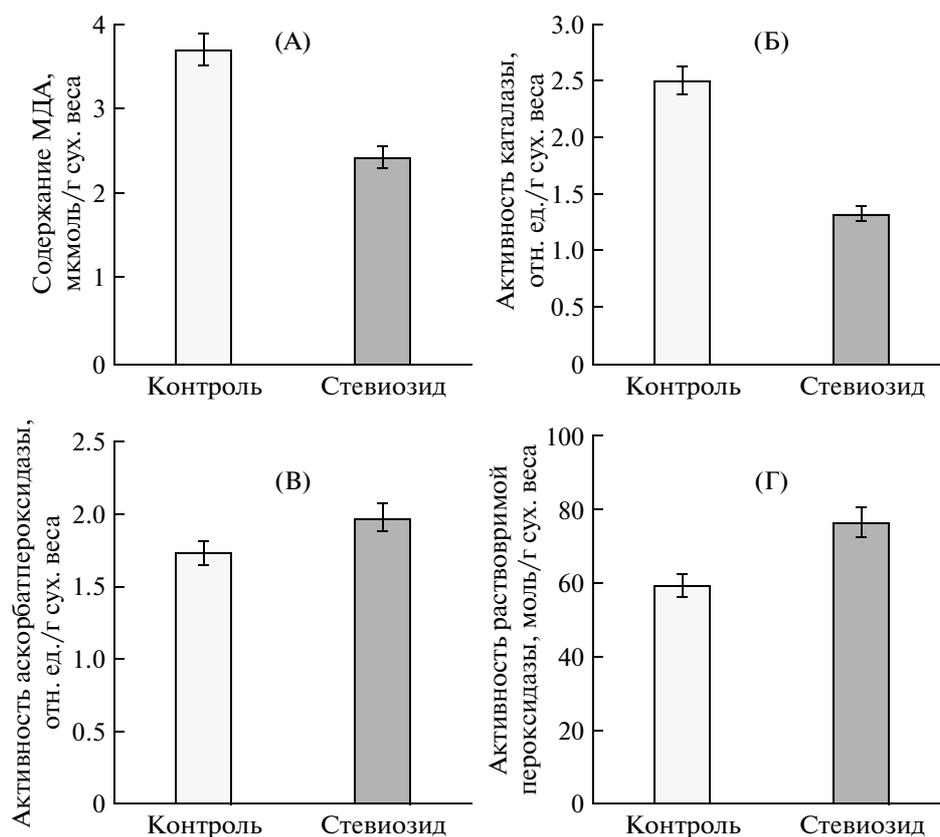


Рис. 1. Влияние стевиозида (10^{-8} М) на содержание МДА (А), активность каталазы (Б), аскорбатпероксидазы (В) и растворимой пероксидазы (Г) в корнях 7-суточных проростков озимой пшеницы сорта Казанская 560.

ли на растворе стевиозида (10^{-8} М). Оптимальная концентрация стевиозида была подобрана в предварительных экспериментах. Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по степени накопления его продукта – малонового диальдегида (МДА) [3]. Активность растворимой пероксидазы определяли колориметрическим методом по Бояркину [4], активность аскорбатпероксидазы – по методу [5], активность каталазы определяли спектрофотометрически по количеству разложенной перекиси водорода [6]. Экстракцию и определение содержания пролина проводили по методу [7]. Количество пигментов определяли спектрофотометрическим методом. Изучение ассимиляции CO_2 проводили с помощью портативного газоанализатора GFS-300 (“Walz”, Германия). Опыты проводили в трёх повторностях. Результаты представляли в виде $M \pm m$.

Образование активных форм кислорода (АФК) является неспецифической реакцией клетки на действие различных стрессоров, и, как правило, сопровождается повреждением мембран и необратимыми модификациями ДНК [8]. Уровень ПОЛ, в результате которого образуются свободнорадикальные продукты и карбонильные соединения, к которым относится малоновый ди-

альдегид (МДА) – один из показателей степени повреждения клетки [9]. В наших экспериментах стевиозид снижал образование МДА на 34% (рис. 1), что свидетельствует о его защитном влиянии на окислительный статус клетки.

Для защиты от АФК в растениях выработались системы, включающие в себя как низкомолекулярные соединения (аскорбиновая кислота, глутатион, токоферол, каротиноиды, флавоноиды), так и антиоксидантные ферменты (пероксидаза, каталаза, аскорбатпероксидаза, супероксиддисмутаза и др.) [10]. Мы наблюдали снижение активности каталазы при действии стевиозида на 47% (рис. 1). Каталаза характеризуется низким сродством к субстрату [11], и снижение ее активности, с одной стороны, может быть связано с уменьшением образования АФК при действии стевиозида, с другой стороны, это может быть обусловлено необходимостью поддержания высокого уровня перекиси водорода в клетке, что может активировать защитные гены [12]. Ферментом, который определяет ликвидацию АФК, является аскорбатпероксидаза, играющая центральную роль в аскорбат–глутатионовом цикле [11]. При выращивании растений на среде со стевиозидом наблюдали увеличение активности это-

Таблица 1. Влияние стевиозида на содержание пролина, пигментов и активность фотосинтеза

Варианты	Пролин, мг%/сухой вес	Хлорофилл, мг/г сырого веса	Каротиноиды, мг/г сырого веса	Ассимиляция CO ₂ , ммоль/м ² · с
Контроль	0.004 ± 0.001	24.48 ± 1.06	5.72 ± 0.66	12.625 ± 1.55
Стевиозид	0.016 ± 0.001	28.78 ± 0.85	6.89 ± 0.81	9.337 ± 1.05

Здесь и на рис. 1 $M \pm m$, $n = 3$.

го фермента по сравнению с контролем на 13% (рис. 1). Следует отметить, что недостаток активности каталазы часто компенсируется возрастанием активности аскорбатпероксидазы [13]. В этих условиях мы также наблюдали увеличение активности пероксидазы на 29% по сравнению с контролем (рис. 1). Активирование пероксидазы является характерной ответной биохимической реакцией растений, по которой можно судить об устойчивости растений. Однако повышенная пероксидазная активность не всегда коррелирует с устойчивостью и не всегда её индуцирует.

Несмотря на важную роль ферментов в детоксикации АФК, следует отметить, что ферментная антиоксидантная система не обеспечивает абсолютную защиту клетки от гибели в условиях окислительного стресса. Низкомолекулярные органические антиоксиданты в ряде случаев способны более эффективно осуществлять инактивацию АФК [14]. Одним из таких соединений является аминокислота пролин, которая обладает не только антиоксидантными свойствами, но и антиденатурирующими, мембранопротекторными и осморегуляторными свойствами [15]. Стевиозид стимулировал накопление пролина в корнях проростков пшеницы в 4 раза по сравнению с растениями, выросшими на воде (табл. 1). Можно предполагать, что повышенный уровень пролина в данном случае может свидетельствовать о повышении адаптивного потенциала растений, выращенных на среде со стевиозидом.

Среди физиологических процессов, определяющих рост и продуктивность растений, исключительно важным является фотосинтез. В наших экспериментах стевиозид несколько повышал содержание хлорофилла на 18% и каротиноидов на 20% (табл. 1). Однако скорость ассимиляции CO₂ при этом не изменялась.

Таким образом, в результате проведенных исследований впервые показано, что новый перспективный регулятор роста растений — дитерпеновый гликозид стевиозид — вызывает в проростках пшеницы уменьшение образования МДА, увеличение активности антиоксидантных ферментов (пероксидазы и аскорбатпероксидазы), накопление пролина и каротиноидов. Такое комплексное воздействие стевиозида, по-видимому, предупреждает развитие в растениях окислительного стресса, вызванного действием неблагопри-

ятных факторов среды, таких как низкие положительные температуры и тяжелые металлы. Полученные результаты значительно углубляют наши знания о биологической активности стевиозида, указывают на необходимость продолжения изучения механизма его действия и на возможность применения стевиозида в будущем в биотехнологии с целью повышения продуктивности растений в неблагоприятных условиях произрастания.

Работа была выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А., Михайлов А.Л., Стробыкина А.С., Стробыкина И.Ю., Мионов В.Ф.* // ДАН. 2013. Т. 452. № 3. С. 346–349.
2. *Nevmerzhitskaya J., Mikhailov A., Strobykina A., Timofeeva O.* // *Biology and Medicine*. 2014. V. 6. № 3.
3. *Kumar G.N.M., Knowles N.R.* // *Plant. Physiol.* 1993. V. 102. P. 115–124.
4. *Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И.* Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
5. *Verma S., Dubey R.S.* // *Plan. Sci.* 2003. V. 64. P. 645–655.
6. *Aeby H.* // *Methods Enzymol.* 1984. V. 105. P. 121–126.
7. *Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D.* // *Plant Soil.* 1973. V. 39. P. 205–207.
8. *Gechev T.S., Van Breusegem F., Stone J. M., Denev I., Laloi C.* // *Bioessays*. 2006. V.28. P. 1091–1101.
9. *Shao H.B., Chu L.Y., Lu Z.H., Kang C.M.* // *Intern. J. Biol. Sci.* 2008. V. 4. P. 8–14.
10. *Mitteler R.* // *Trends Plant Sci.* 2002. V. 7. № 9. P. 405–410.
11. *Полесская О.Г.* Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: КДУ, 2007. 140 с.
12. *Neil S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T.* // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53. P. 1237–1247.
13. *Willekens H., Chamnongpol S.* // *EMBO J.* 1997. V. 16. P. 4806–4816.
14. *Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V.* // *Ann. Bot.* 2003. V. 91. P. 179–194.
15. *Szabados L., Savoure A.* // *Trends Plant Sci.* 2009. V. 15. P. 89–97.