

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18,  
г. Казань, 420008, Россия, E-mail: Yulia.Nevmerzhitskaya@kpfu.ru

*пшеница, лектины клеточной стенки, морозоустойчивость*

#### **Введение**

Лектины – это гликопротеины, обнаруженные во всех живых организмах, отличительной особенностью которых является способность обратимо связывать различные углеводные лиганды. В связи с этим им отводят главную роль в восприятии и передаче внешнего сигнала в различные компартменты клетки. Так, арабиногалактановые белки (АГБ) клеточной поверхности, относящиеся к лектинам, могут быть как адгезивными, так и сигнальными молекулами.

Целью нашей работы являлся поиск биологически активных соединений, индуцирующих развитие морозоустойчивости растений озимой пшеницы.

#### **Материалы и методы**

Объектом исследования служили корни проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808. Исследуемые соединения были синтезированы в ИОФХ им. А.Е. Арбузова (КНИЦ РАН, г. Казань). Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м<sup>2</sup> и 12-часовом фотопериоде при температуре 23 °С в течение 7 сут. В опытных вариантах растения росли на растворах дитерпеноида стевiola (10–8 М) и его производных: стевioзида (10–8 М), дигидростевioла (10–8 М), стевioлбюзида (10–8 М) и бисдигидростевioил малоната (10–8 М). Концентрации стевioл-производных соединений были подобраны в предварительных экспериментах. Лектины клеточной стенки экстрагировали 0.05% раствором тритона X-100. Дальнейшее концентрирование и очистку лектиновых белков проводили согласно схеме: высаливание 60% сульфатом аммония с последующим диализом, гель-хроматография на Сефадексе G-150. Лектиновую активность определяли с помощью реакции гемагглютинации с эритроцитами I группы крови [1]. Белок определяли по методу Bradford [2]. Морозоустойчивость тестировали по выходу электролитов [3]. Опыты проводили в 3-х биологических повторностях. Результаты опытов представлены как средние арифметические и их стандартные ошибки.

#### **Результаты и обсуждение**

В ранее проведенных исследованиях мы показали, что ингибитор потенциал-зависимых кальциевых каналов дилтиазем останавливал закаливание проростков пшеницы, что сопровождалось исчезновением в клеточной стенке лектинов с молекулярной массой 110 и 60 кДа [1]. На основании этих данных был сделан вывод об участии этих белков в формировании морозоустойчивости растений.

В связи с этим на следующем этапе нашей работы мы проводили поиск соединений, которые индуцировали образование в клеточной стенке лектина с мол. массой 60 кДа. Для этой цели мы использовали дитерпеноид стевiol и его производные, полученные в ИОФХ им. А.Е. Арбузова (г. Казань). Всего было проанализировано 15 соединений. Стевиол (13-гидрокси-энт-каур-16-ен-19-овая кислота) не только сходен по строению с гибберелловой кислотой, но и проявляет гиббереллиноподобную активность [5]. К тому же некоторые гиббереллины, не обладая рострегулирующей активностью, могут, тем не менее, повышать устойчивость растений к различным неблагоприятным факторам среды, в том числе и к низким температурам.

У растений Мироновской 808 в контрольном варианте (растения, выращенные на воде) среди полученных белковых фракций лектиновая активность обнаруживалась во фракциях, содержащих белки с молекулярной массой 89, 77, 54, 45, 35, 19 кДа (рис.1)

Стевиол и его производные по-разному влияли на профиль элюции белков клеточной стенки растений Мироновской 808. Среди них были отобраны соединения, вызывающие появление в профиле элюции белка с молекулярной массой 60 кДа: стевиол, дигидростевиол, бис(дигидростевиоил)малонат, стевиолбиозид и стевиозид (рис.1).



Рисунок 1 - Профиль элюции белков клеточной стенки проростков озимой пшеницы Мироновская 808

Figure 1 - Profile of elution of cell wall proteins of winter wheat Mironovskaya 808 seedlings

Для подтверждения предположения о вовлеченности белка 60 кДа в индукцию морозоустойчивости растений мы определили LT50 у проростков Мироновской 808, выращенных на растворах стевиола (10-8 М), дигидростевиола (10-8 М), бис(дигидростевиоил)малоната (10-8 М), стевиолбиозид (10-8 М) и стевиозид (10-8 М).

Как видно из табл. 1, все исследованные соединения повышали морозоустойчивость у незакаленных растений, но в разной степени. Максимальное воздействие на показатель LT50 оказал дитерпеновый гликозид стевиозид. Следует отметить, что эффект производных стевиола на морозоустойчивость проростков сравним с АБК, а действие самого стевиозид даже несколько превышало влияние АБК, так как ранее нами было показано, что АБК снижало LT50 проростков пшеницы до  $-7.6$  °C, тогда как стевиозид – до  $-8$  °C [6].

Таблица 1 - Влияние стевиола и его производных на показатель LT50

Table 1 - The influence of steviol and its derivatives on LT50

Вариант	LT50, °C
H <sub>2</sub> O	$-6.2 \pm 0.2$
Стевиол (10-8 М)	$-7.4 \pm 0.1$
Стевиозид (10-8 М)	$-8.0 \pm 0.2$
Дигидростевиол (10-8 М)	$-6.9 \pm 0.3$
Стевиолбиозид (10-8 М)	$-7.3 \pm 0.1$
Бис(дигидростевиоил)малонат (10-8 М)	$-7.5 \pm 0.1$

### **Заключение**

Таким образом, в результате проведенных исследований мы установили, что стевииол и его производные индуцируют формирование морозоустойчивости растений, которое происходит с участием лектина клеточной стенки с мол. массой 60 кДа. Этот белок, вероятно, связан с функционированием кальциевой сигнальной системы и является одним из звеньев проведения сигнала через клеточную поверхность.

### **Литература**

1. Тимофеева, О.А. Активность и состав лектинов клеточной стенки пшеницы при действии низких температур и ингибиторов кальциевой сигнальной системы / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая, М.А. Московкина // Физиология растений. – 2010. – Т.57, №2. – С.209-216.
2. Bradford, M.A. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein–Dye Binding // Anal. Biochem. - 1976. - V. 72. - P. 248-254.
3. Uemura, M., Steponkus, P.L. Parallel effects of freezing and osmotic stress on the ATPase activity and protein composition of plasma membrane of winter rye seedlings // Plant Physiol. - 1989. - Vol. 91. - P. 961-969.
4. Тимофеева, О.А. Производные дитерпеноида стевииола регулируют рост и повышают морозоустойчивость озимой пшеницы / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая, И.Г. Мифтахова, А.С. Стробыкина, А.Л. Михайлов, И.Ю. Стробыкина, В.Ф. Миронов // Доклады РАН. – 2010. – Т. 35, №2. – С. 282-285.
5. Невмержицкая, Ю.Ю. Стевиозид повышает устойчивость озимой пшеницы к действию низких температур и тяжелых металлов /Ю.Ю. Невмержицкая, О.А. Тимофеева, А.Л. Михайлов, А.С. Стробыкина, И.Ю. Стробыкина, В.Ф. Миронов// Доклады РАН. – 2013. – Т. 452, №3. – С. 346-349.

### **INDUCTORS OF FROST RESISTANCE LECTIN OF PLANTS OF THE NATURE**

Nevmerzhitskaya Yu.Yu., Timofeeva O.A., Strobyskina A.S., Mikhaylov A.L.

*wheat, cell wall lectins, frost resistance*

It is established that diterpenoid of steviol and its derivatives: stevioside, dihydrosteviol, steviolbioside and bis(dihydrodiol)malonate increase frost resistance of winter wheat Mironovskaya 808 seedlings through formation the 60 kDa cell wall lectins protein induction.