

СТЕВИОЗИД ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ  
К ДЕЙСТВИЮ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ© 2013 г. Ю. Ю. Невмержицкая, О. А. Тимофеева, А. Л. Михайлов, А. С. Стробыкина,  
И. Ю. Стробыкина, член-корреспондент РАН В. Ф. Миронов

Поступило 05.06.2013 г.

DOI: 10.7868/S0869565213280256

Одной из приоритетных задач современной агрономической науки является поиск и создание новых регуляторов роста, которые являются экологически безопасными полифункциональными физиологически активными соединениями, обладающими кроме рострегулирующей еще и антистрессовой активностью. Особый интерес вызывают дитерпеновые гликозиды растения *Stevia gaudiana* Bertoni, агликоном которых является стевиол (13-гидрокси-энт-каур-16-ен-19-овая кислота) [1]. В литературе есть сведения о том, что производные стевиол-гликозидов проявляют гиббереллиноподобную активность [2]. В условиях возрастающего загрязнения тяжелыми металлами земель сельскохозяйственного назначения большое значение имеет использование регуляторов роста и развития растений, которые снижают токсичность поллютантов и их количество в растениях. В связи с этим целью данной работы было выявление протекторного влияния гиббереллиноподобного дитерпеноидного гликозида стевиозида на растения озимой пшеницы при действии низких температур и тяжелых металлов.

В результате проведенных исследований впервые установлено, что дитерпеновый гликозид стевиозид ( $10^{-8}$  М) в большей степени повышает морозоустойчивость растений озимой пшеницы по сравнению со своими производными, полученными химическим путем, и уменьшает эффект кадмия и цинка на рост растений и изменения активности лектинов.

Объектом исследования служили корни проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808. Исследуемые соединения были синтезированы в ИОФХ им. А.Е. Арбу-

зова (КНЦ РАН, г. Казань). Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении  $100 \text{ Вт/м}^2$  и 12-часовом фотопериоде при температуре  $23^\circ\text{C}$  в течение 9 суток. В опытных вариантах растения росли на растворе стевиозида ( $10^{-8}$  М). Затем 5-суточные растения переносили на растворы тяжелых металлов  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{ZnSO}_4$  в концентрации 10 мкМ и 1 мМ. Концентрации стевиозида и тяжелых металлов были подобраны в предварительных экспериментах. Растворимые лектины экстрагировали 0.05 N HCl, лектины клеточной стенки – 0.05%-м раствором тритона X-100. Лектиновую активность определяли с помощью реакции геммагглютинации с эритроцитами группы крови 1 [3]. Белок определяли по методу Bradford [4]. Морозоустойчивость тестировали по выходу электролитов [5]. Опыты проводили в трех биологических повторностях. Результаты опытов представлены на рисунках и в таблицах как средние арифметические и их стандартные ошибки.

На первом этапе исследований было выявлено соединение, обладающее наибольшей антистрессовой активностью у растений озимой пшеницы. Для этого определяли  $\text{LT}_{50}$  у проростков, выращенных на растворах стевиозида (1) ( $10^{-8}$  М) и его производных: стевиола (2) ( $10^{-8}$  М), дигидростевиола (3) ( $10^{-8}$  М), стевиолбиозида (4) ( $10^{-8}$  М) и бис(дигидростевиоил)малоната (5) ( $10^{-8}$  М).

Таблица 1. Влияние стевиозида и его производных на показатель  $\text{LT}_{50}$ 

Вариант	$\text{LT}_{50}, ^\circ\text{C}$
$\text{H}_2\text{O}$	$-6.2 \pm 0.2$
Стевиозид ( $10^{-8}$ М)	$-8.0 \pm 0.2$
Стевиол ( $10^{-8}$ М)	$-7.4 \pm 0.1$
Дигидростевиол ( $10^{-8}$ М)	$-6.9 \pm 0.3$
Стевиолбиозид ( $10^{-8}$ М)	$-7.3 \pm 0.1$
Бис(дигидростевиоил)малонат ( $10^{-8}$ М)	$-7.5 \pm 0.1$

Институт фундаментальной медицины и биологии  
Казанского (Приволжского) федерального  
университета, Казань

Институт органической и физической химии  
им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра  
Российской Академии наук, Казань

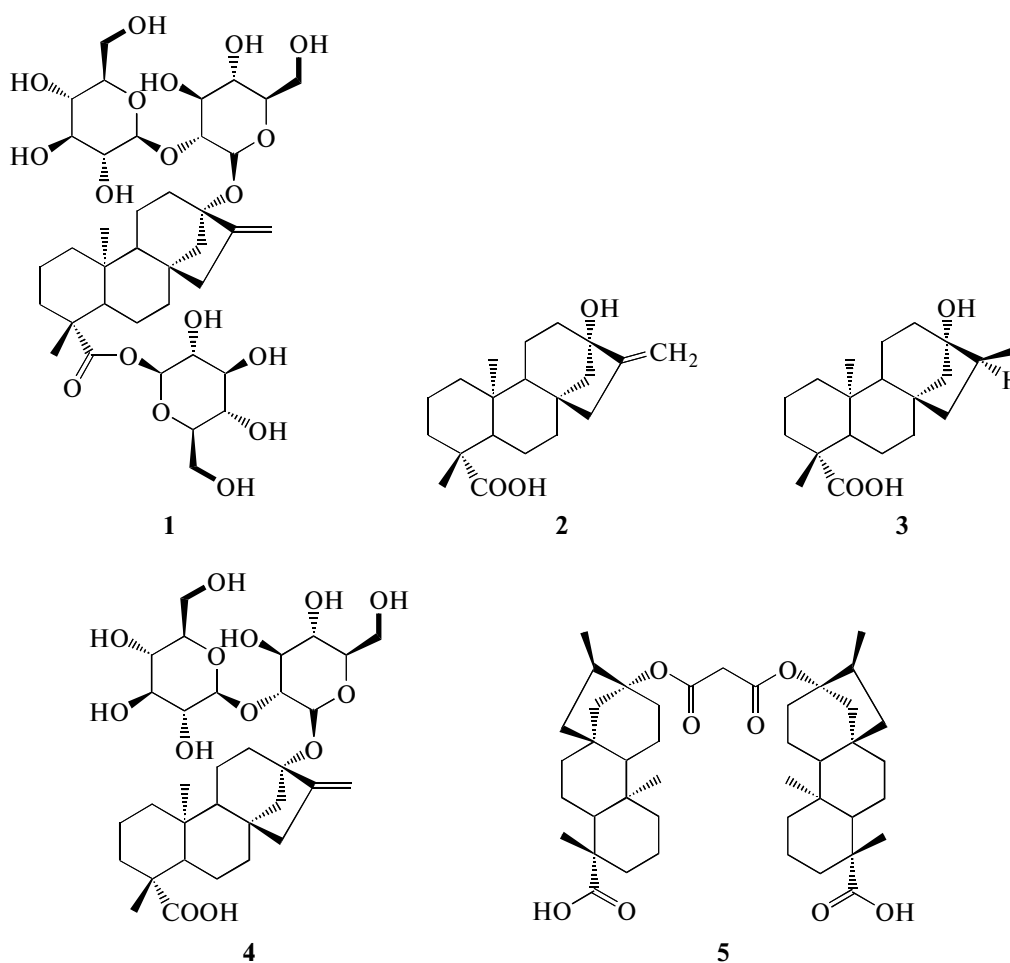
**Таблица 2.** Влияние стевиозида на длину корней и первых настоящих листьев 9-суточных проростков озимой пшеницы Мироновская 808

Вариант	H <sub>2</sub> O		Стевиозид	
	Длина листьев, мм	Длина корней, мм	Длина листьев, мм	Длина корней, мм
Контроль	159 ± 2.0	90 ± 2.3	180 ± 2.1	107 ± 3.3
CdSO <sub>4</sub> (1 мМ)	69 ± 2.5	45 ± 3.8	100 ± 3.5	67 ± 2.7
CdSO <sub>4</sub> (10 мкМ)	129 ± 1.5	64 ± 2.5	134 ± 3.0	71 ± 1.7
ZnSO <sub>4</sub> (1 мМ)	133 ± 2.7	73 ± 1.5	141 ± 2.3	87 ± 2.5
ZnSO <sub>4</sub> (10 мкМ)	157 ± 3.5	76 ± 1.5	172 ± 1.8	98 ± 3.1

Как видно из табл. 1, все изучаемые соединения повышали морозоустойчивость растений по сравнению с контролем. Эффект производных стевиозида на морозоустойчивость проростков сравним с таковым абсцизовой кислоты (АБК) (АБК снижала LT<sub>50</sub> проростков пшеницы до -7.6°C) [6], а действие самого стевиозида даже

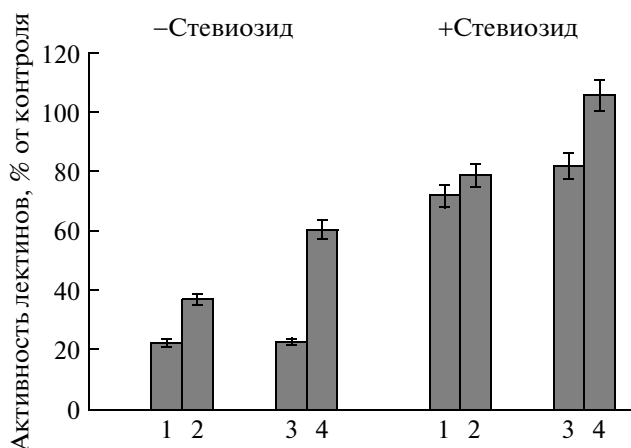
несколько превышало влияние АБК (показатель LT<sub>50</sub> составил -8°C).

Выращивание растений озимой пшеницы на растворе стевиозида (10<sup>-8</sup> М) вызывало увеличение длины листьев проростков на 14%, а корней – на 18% по сравнению с контролем (табл. 2).

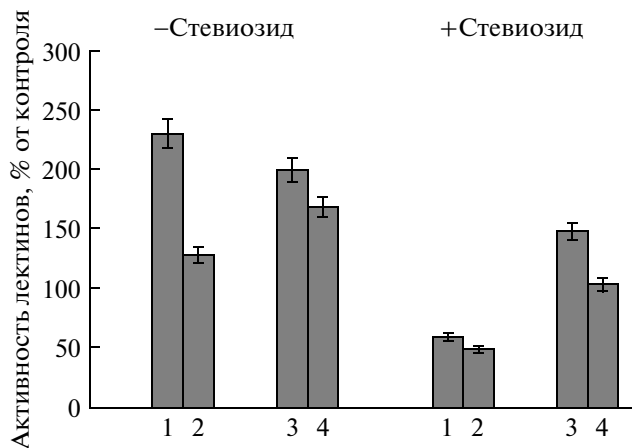


Как высокая (1 мМ), так и низкая (10 мкМ) концентрации CdSO<sub>4</sub> и ZnSO<sub>4</sub> вызывали умень-

шение длины корней и листьев проростков озимой пшеницы (табл. 2). Торможение роста явля-



**Рис. 1.** Влияние  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{ZnSO}_4$  на активность лектинов клеточной стенки в предварительно обработанных стевиозидом ( $10^{-8}$  М) (+Стевиозид) и не обработанных стевиозидом (-Стевиозид) корнях проростков озимой пшеницы сорта Мироновская 808. Здесь и на рис. 2: 1 –  $\text{CdSO}_4$ , 1 мМ; 2 –  $\text{ZnSO}_4$ , 1 мМ; 3 –  $\text{CdSO}_4$ , 10 мкМ; 4 –  $\text{ZnSO}_4$ , 10 мкМ.



**Рис. 2.** Влияние  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{ZnSO}_4$  на активность растворимых лектинов в предварительно обработанных стевиозидом ( $10^{-8}$  М) (+Стевиозид) и не обработанных стевиозидом (-Стевиозид) корнях проростков озимой пшеницы сорта Мироновская 808.

ется общим проявлением токсичности тяжелых металлов для растений, что связано в первую очередь с их прямым действием на деление и растяжение клеток [7]. Наибольшее токсическое действие на рост растений пшеницы оказывает кадмий. В работах разных авторов сведения о токсических концентрациях тяжелых металлов значительно различаются [8], что, по-видимому, обусловлено физиологическими и возрастными особенностями объекта исследования, выбранной методикой эксперимента, составом и кислотностью среды и другими факторами [9].

Модификация действия тяжелых металлов на культурные растения при применении различных регуляторов роста показана в ряде работ [10].

Предобработка стевиозидом растений озимой пшеницы сорта Мироновская 808 в течение 5 суток снизила ингибирующий эффект обеих концентраций сульфата кадмия и сульфата цинка на рост проростков (табл. 2).

Действие регуляторов роста, прежде всего, осуществляется через изменения в синтезе и активности различных белков. В литературе имеются сведения о наличии у молекул растительных лектинов сайтов связывания фитогормонов, отличных от центров связывания углеводов. Так, агглютинин зародыша пшеницы (АЗП) обладает высоким сродством к ауксинам, цитокининам и гибберелловой кислоте [11]. Исследователи полагают, что комплекс лектин–фитогормон является не только транспортной формой гормонов, но и может быть вовлечен в регуляцию процессов роста и развития растений [11]. В связи с этим мы определяли активность лектинов у растений, вы-

ращенных на среде с добавлением тяжелых металлов и стевиозидом ( $10^{-8}$  М) (рис. 1, 2).

Тяжелые металлы снижали активность лектинов клеточной стенки (рис. 1). Эти изменения могут быть следствием как адсорбции тяжелых металлов в клеточных стенках корней [7], так и взаимодействия ионов металлов с сульфгидрильными группами белков, приводящим к ингибированию их активности и/или разрушению структуры [12].

В то же время  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{ZnSO}_4$  вызвали значительное возрастание активности растворимых лектинов (рис. 2), под которыми мы понимаем, прежде всего, агглютинин зародыша пшеницы. В работе [13] было показано увеличение содержания АЗП в корнях проростков пшеницы при воздействии ацетата кадмия, сопровождающееся усилением выхода этого лектина в окружающую среду.

После предварительной обработки растений в течение 5 суток стевиозидом ( $10^{-8}$  М) эффект тяжелых металлов на активность лектинов клеточной стенки был сходен с изменениями ростовых параметров – на фоне стевиозиды восприимчивость связанных с клеточной стенкой лектинов к  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{ZnSO}_4$  уменьшалась (рис. 1). Активность растворимых лектинов при совместном действии стевиозиды и тяжелых металлов значительно подавлялась (рис. 2). В настоящее время практически отсутствуют сведения о механизмах действия стевиозиды, однако в экспериментах с животными показано, что этот гликозид является антагонистом кальция и уменьшает проницаемость кальциевых каналов [14]. Можно предположить, что именно таким образом стевиозид изменяет поглощение и транспорт Cd и Zn в клетках корня.

Таким образом, согласно проведенному нами исследованию стевиозид ( $10^{-8}$  М) уменьшал эффект кадмия и цинка на рост растений и изменения активности лектинов, что свидетельствует о его протекторном действии на растения озимой пшеницы в условиях стресса, вызываемого тяжелыми металлами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Катаев В.Е., Хайбуллин Р.Н., Шарипова Р.Р., Стробыкина И.Ю. // Обзорн. журн. хим. 2011. Т. 1. № 1. С. 99–167.
2. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Мифтахова И.Г., Стробыкина А.С., Михайлов А.Л., Стробыкина И.Ю., Миронов В.Ф. // ДАН. 2010. Т. 435. № 2. С. 282–285.
3. 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.
4. Bradford M.A. // Biochemistry. 1976. V. 72. P. 248–254.
5. Uemura M., Steponkus P.L. // Plant Physiol. 1989. V. 91. № 3. P. 961–969.
6. Хохлова Л.П., Олиневич О.А., Тараканова Н.Ю., Тимофеева О.А., Воловник И.Л., Палих Э., Раудаскоски М. В сб.: Грани сотрудничества. К 10-летию Соглашения о сотрудничестве между Казанским и Гиссенским университетами. Сборник научных статей и обзорных материалов. Казань: Унипресс, 1999. С. 275–298.
7. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 2007. 172 с.
8. Kopitke P.M., Blamey F.P.C., Asher C.J., Menzies N.W. // J. Exp. Bot. 2010. V. 61. № 4. P. 945–954.
9. Куликова А.Л., Кузнецова Н.А., Холодова В.П. // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 5. С. 719–727.
10. Башмаков Д.И., Пыненкова Н.А., Сазанова К.А., Лукаткин А.С. // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 1. С. 67–73.
11. Bogoeva V.P., Radeva M.A., Atanasova L.Y., Stoitsova L.Y., Boteva R.N. // Biochim. et biophys. acta. 2004. V. 1698. № 2. P. 213–218.
12. Van Assche F., Clijsters H. // Plant Cell Environ. 1990. V. 13. P. 195–206.
13. Безрукова М.В., Фатхутдинова Р.А., Лубянова А.Р., Мурзабаев А.Р., Федяев В.В., Шакирова Ф.М. // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 6. С. 907–914.
14. Melis M.S. // Braz. J. Med. Biol. Res. 1992. V. 25. № 9. P. 943–949.