

УДК 581.1,581.5,574.24

СТЕВИОЗИД ОБЛАДАЕТ МАКСИМАЛЬНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ СРЕДИ ПРИРОДНЫХ ДИТЕРПЕНОВ СТЕВИИ

© 2020 г. У. А. Огороднова^{1,*}, А. С. Сапунова¹, О. А. Тимофеева¹,
член-корреспондент РАН В. Ф. Миронов²

Поступило 11.02.2020 г.
После доработки 20.02.2020 г.
Принято к публикации 20.02.2020 г.

Определены концентрации стевиола и его производных, стимулирующие рост растений пшеницы: для стевиозида 10^{-8} , для стевиола и изостевиола – 10^{-9} М. Установлено, что среди анализируемых соединений стевиозид в большей степени повышал активность амилолитических ферментов и содержание белка, а также морозоустойчивость корней проростков пшеницы. Таким образом, стевиозид может быть рекомендован для создания комплексных фитопрепаратов, стимулирующих процессы роста и повышающих устойчивость растений пшеницы к низким температурам.

Ключевые слова: стевиол-гликозиды, стевиозид, стевиол, изостевиол, регуляторы роста растений, морозоустойчивость

DOI: 10.31857/S2686738920030105

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день мировая агроиндустрия широко обсуждает важность перехода от интенсивного земледелия к органическому. Данный процесс подразумевает отказ от синтетических регуляторов роста, антибиотиков, ГМО и т.д. Таким образом, необходим пересмотр используемых в сельском хозяйстве технологий. Одним из направлений является поиск и внедрение природных комплексных фитопрепаратов, безопасных для окружающей среды и человека, обладающих широким спектром биологической активности.

Перспективным классом таких соединений являются стевиол-производные, выделенные из *Stevia rebaudiana* [1]. Благодаря особенностям биосинтеза стевиола в стевии, все его производные имеют сходство химической структуры с фитогормонами гиббереллинами [2].

Установлено, что в стевии, кроме стевиола, присутствует комплекс стевиол-гликозидов: стевиозид, ребаудиозиды А, В, С, D, Е и F, дулкозид А, стевиолбиозид и др. Все они отличаются толь-

ко количеством и составом углеводов, последовательно присоединяемых к стевиолу в процессе синтеза [3].

В настоящее время высокая биологическая активность гликозилированных производных стевиола не вызывает сомнения. С 2008 г. они признаны безопасными для человека организацией FDA (Food and Drug Administration – “Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов”) и стремительно захватывают рынок природных сахарозаменителей, благодаря сладкому вкусу [4]. Еще больший интерес среди ученых они вызывают в связи с большим количеством описанных в литературе терапевтических эффектов на организм животных и человека [1, 3].

Однако очень мало исследований, демонстрирующих активность стевиолов на растениях [1, 5, 6]. В работе проведен сравнительный анализ влияния агликон-астевиола (каурановое производное), его бейранового изомера – изостевиола и стевиозида – основного гликозида стевии [1], являющегося тригликозилированным стевиолом, на физиологические и биохимические показатели проростков пшеницы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на 7-ми суточных проростках озимой пшеницы *Triticum aestivum* сорта Казанская 560, выращенных в лабораторных условиях (23°C, светопериод – 12 ч, освещен-

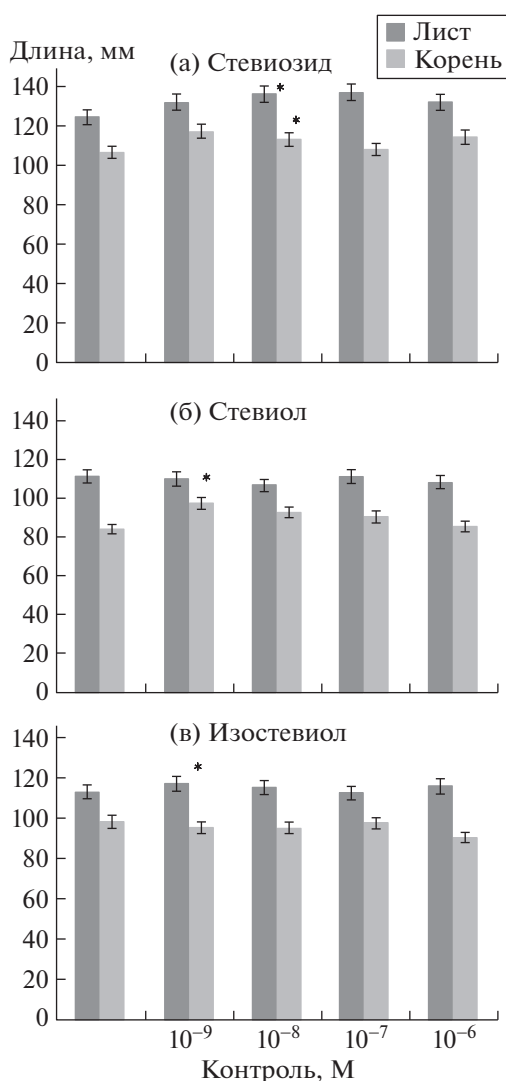
¹ ФГАОУ ВО “Казанский (Приволжский) федеральный университет”, Казань, Россия

² Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Обособленное структурное подразделение ФГБУН “Федеральный исследовательский центр “Казанский научный центр РАН”, Казань, Россия
*e-mail: uliana_ogo@mail.ru

Природные стевииолы



Рис. 1. Химическая структура анализируемых стевииолов.

Рис. 2. Влияние природных стевииолов на рост проростков пшеницы: А – стевииозид, Б – стевииол, В – изостевииол (* – уровень значимости при $p < 0.05$).

ность – 100 Вт/м^2). Семена замачивали на сутки в водопроводной воде и высаживали в кюветы с растворами исследуемых соединений (рис. 1): стевииол, изостевииол и стевииозид (выделены из листьев *S. rebaudiana* в ИОФХ им. А.Е. Арбузова в лаборатории фосфорных аналогов природных соединений). Использовали концентрации веществ от 10^{-9} до 10^{-6} М.

Измеряли рост у 50 растений каждой группы. Оценивали активность амилаз и содержание белка по [7]. Морозоустойчивость корней 7-суточных проростков определяли по выходу электролитов [7]. Представлены средние значения со стандартными отклонениями. Достоверность отличий определяли по критерию Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе оценивали длину корней и листьев 7-ми суточных проростков пшеницы, выращенных на растворах исследуемых веществ (рис. 2). Стевиозид (А), содержащий 3 остатка глюкозы, стимулировал рост проростков практически при всех концентрациях, однако статистически достоверный эффект наблюдали только в концентрации 10^{-8} М.

Агликон – стевииол (Б) не влияет на рост листьев, но вызывает дозозависимое увеличение длины корней проростков. Максимальный эффект наблюдали в варианте с концентрацией 10^{-9} М. Изостевииол (В) – изомер стевииола, оказывал противоположное действие: стимулировал рост надземной части (10^{-9} М) и не влиял на длину корней.

Таким образом, определили оптимальные концентрации веществ: стевииозид – 10^{-8} М, стевииол и изостевииол – 10^{-9} М. Следует отметить, что стевииозид одновременно стимулировал рост, как корней, так и листьев проростков. Такое из-

Таблица 1. Влияние стевииола на биохимические показатели проростков пшеницы (* – уровень значимости при $p < 0.05$)

Стевиол, концентрация	Суммарная амилазная активность	α -Амилазная активность	Содержание белка
	мг гидролизованного крахмала/мг белка/ч	мг гидролизованного крахмала/мг белка/ч	мг/г сырого веса
Контроль	1.209 ± 0.077	0.032 ± 0.003	152.418 ± 1.329
Стевиозид (10^{-8} М)	1.450 ± 0.171	0.042 ± 0.006*	237.772 ± 7.133*
Стевиол (10^{-9} М)	1.393 ± 0.130	0.028 ± 0.003	180.843 ± 13.039
Изостевиол (10^{-9} М)	1.355 ± 0.103	0.028 ± 0.003	192.302 ± 4.587*

Таблица 2. Морозоустойчивость незакаленных и закаленных растений озимой пшеницы, обработанной исследуемыми соединениями, C° (* – уровень значимости при $p < 0.05$)

Вариант	Контроль	Стевиозид (10^{-8} М)	Стевиол (10^{-9} М)	Изостевиол (10^{-9} М)
C° , незакаленные	-4.5 ± 0.2	-4.7 ± 0.22	-5.1 ± 0.3	-4.0 ± 0.31
C° , закаленные	-6.8 ± 0.2	-8.5 ± 0.18*	-7.8 ± 0.2*	-7.2 ± 0.25

менение является наиболее благоприятным для развития растения в целом.

Агликоны оказывали однонаправленный эффект: стевиол достоверно активировал только рост корня, а изостевиол – листьев. Таким образом, выявили отличия в действии веществ кауранового ряда (стевиол и стевиозид) и бейранового (изостевиол) на рост проростков пшеницы.

Данные морфометрических исследований коррелируют с содержанием белка в листьях проростков (табл. 1). Установлено, что агликон изостевиол повышал содержание белка на 26%, а гликозид стевиозид – на 56% относительно контроля.

Принимая во внимание тот факт, что стевиолы являются структурными аналогами гиббереллинов, можно предположить, что обнаруженные отличия в росте могут быть следствием дифференцированной активности амилаз в семенах на начальных этапах прорастания.

По нашим данным анализируемые соединения несколько повышали суммарную активность амилаз, однако, активность α -амилазы стимулировал только стевиозид. По-видимому, не все природные стевиол-производные обладают гиббереллин-подобным действием в отношении данного фермента. Интересно отметить, что только гликозилированная форма стевиола (стевиозид) обуславливала такой эффект.

Эффективность процесса прорастания семян сказывается на функциональном состоянии молодых проростков. Действительно, данный этап и начальные фазы онтогенеза могут играть важную роль в выживаемости растений и определять продуктивность сельскохозяйственных культур [8].

Известно, что из углеводов образуются предшественники биосинтеза липидов, нуклеиновых кислот и белков – необходимых компонентов роста и развития зародыша семени [9]. В целом можно отметить, что стевиозид-индуцированное повышение активности амилазических ферментов и содержания белка отражается в усилении ростовых процессов.

Таким образом, стевиозид (10^{-8} М) в большей степени повышает активность амилазических ферментов, стимулирует накопление белка и рост 7-ми суточных проростков.

Природные фитопрепараты нового поколения должны обладать комплексным действием на растения. В связи с этим оценивали морозоустойчивость корней проростков пшеницы. Обнаружено, что у незакаленных растений только стевиол и стевиозид несколько повышали морозоустойчивость корней. На закаленные растения все стевиолы оказывали защитное действие, но в разной степени. Максимальный эффект по сравнению с контролем оказывал стевиозид.

Таким образом, на основании полученных данных установили, что природные стевиолы могут быть использованы в разработке фитопрепаратов, не только стимулирующих рост, но также обладающих протекторными свойствами. Тем не менее, при отборе таких веществ необходимо учитывать особенности химической структуры агликона. По нашим данным соединения кауранового ряда демонстрируют большие биологические эффекты, чем производные бейрана. Интересно отметить, что углеводная часть молекулы, также играет определенную роль в формировании ответов растений пшеницы. Нами впервые

было показано, что стевиозид – вещество каурного ряда, с тремя остатками глюкозы, в концентрации 10^{-8} М является наиболее перспективным соединением. На фоне умеренного ростстимулирующего эффекта на проростки, данное вещество в большей степени повышает морозоустойчивость корней пшеницы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ullah A., Munir S., Mabkhot Y., Lal Badshah S. Bioactivity profile of the diterpene isosteviol and its derivatives // *Molecules*. 2019. V. 24. № 678. P. 1–24.
2. Karimi M., Hashemi J., Ahmadi A., Abbasi A., Esfahani M. Study on the bioactivity of steviol and isosteviol in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) // *Acta Physiol. Plant*. 2014. Vol. 36. P. 3243–3248.
3. Geuns J.M.C. Molecules of interest: stevioside // *Phytochemistry*. 2003. V. 64. P. 913–921.
4. Perrier J.D., Mihalov J.J., Carlson S.J. FDA regulatory approach to steviol glycosides // *Food Chem. Toxicol*. 2018. V. 122. P. 132–142.
5. Ogorodnova U.A., Nevmerzhitskaya J.Y., Strobykina A.S., Timofeeva O.A. The chemical structure of steviol-glycosides as base of biological activity // *International Journal of Pharmacy & Technology*. 2016. V. 8. P. 14936–14944.
6. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Михайлов А.Л., Шаймуллина Г.Х., Миронов В.Ф. Стевиозид предупреждает развитие окислительного стресса в проростках пшеницы // *ДАН*. 2015. Т. 465. № 6. С. 1–3.
7. Третьяков Н.Н., Карнаухова Т.В., Паничкин А.А., ред. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990.
8. Карпова Г.А., Карпова Л.В. Влияние предпосевной обработки регуляторами роста на физиолого-биохимические процессы при прорастании и посевные качества семян пшеницы и ячменя // *Нива Поволжья*. 2015. Т. 2. № 35. С. 32–38.
9. Обручева Н.В., Антипова О.В. Запуск роста осевых органов и его подготовка при прорастании семян, находящихся в вынужденном покое. 2. Инициация “кислого” роста в осевых органах семян кормовых бобов // *Физиология растений*. 1994. Т. 41. № 3. С. 443–447.

STEVIOSIDE HAS MAXIMUM BIOLOGICAL ACTIVITY AMONG NATURAL STEVIA DITERPENES

U. A. Ogorodnova^{a, #}, A. S. Sapunova^a, O. A. Timofeeva^a,
and Corresponding member of the RAS V. F. Mironov^b

^a Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation

^b A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry Subdivision of the Federal State Budgetary Institution of Science “Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences”, Kazan, Russian Federation

[#]e-mail: uliana_ogo@mail.ru

The concentrations of steviol and its derivatives that stimulate the growth of wheat plants were determined: for stevioside 10^{-8} , for steviol and isosteviol – 10^{-9} M. It was found that stevioside increases the activity of amylolytic enzymes and protein content, as well as frost tolerance of the roots of wheat seedlings. Thus, stevioside can be recommended for the creation of complex phytopreparations that will stimulate growth processes and increase the resistance of wheat plants to low temperatures.

Keywords: Steviol-glycoside, stevioside, steviol, isosteviol, plant growth regulators, frost tolerance