

Е.Г. Артемук¹, О.В. Корзюк²

¹канд. биол. наук, доц. каф. химии

Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина,
зав. сектором качества кормов лаборатории биохимии

Полесского аграрно-экологического института НАН Беларуси

²ст. преподаватель каф. химии

Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина

e-mail: chem@brsu.brest.by

АНТИСТРЕССОВОЕ И РОСТРЕГУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ СТЕРОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ НА БОБОВЫЕ КУЛЬТУРЫ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ СВИНЦА*

Изучено влияние стероидных гликозидов (мелонгозида и рустикозида) на рост люпина узколистного и гороха посевного в условиях воздействия ионов свинца. Показано, что мелонгозид и рустикозид обладает антистрессовым действием в условиях токсического действия свинца на бобовые культуры, что выражается в снижении активности ферментов антиоксидантной системы. Изменения биохимических процессов в клетках, происходящих под действием ионов свинца, в определенной степени могут быть нивелированы действием стероидных гликозидов.

Введение

В последние годы возрос интерес к стероидным гликозидам, изучение которых ведется в нескольких направлениях. С одной стороны, эти соединения используются для синтеза гормональных препаратов в фармацевтической промышленности. С другой – возрастает интерес к стероидным гликозидам как веществам, обладающим широким спектром биологического действия на растительные организмы, в частности антистрессовым действием при воздействии ионов тяжелых металлов [1].

Пристальное внимание к стероидным соединениям растений возникло только в конце XX в. в связи с поиском новых ростовых, лекарственных и антимикробных веществ природного происхождения, имеющих преимущество перед синтетическими производными с подобным типом действия. Наличие у стероидных гликозидов фитобиологической активности предполагает участие их в процессах роста, формообразования и репродукции растительных организмов, а также открытие у них антистрессовых свойств к абиотическим факторам (высоким и низким температурам, засухе, засолению и действию тяжелых металлов) служит основанием для расширения сфер их применения [2]. Несмотря на то, что свинец нужен лишь в очень малых концентрациях для работы некоторых ферментов, этот металл активно поглощается растениями. Его опасность усугубляется тем, что он сохраняет свои токсические свойства в течение продолжительного времени и обладает кумулятивным действием. Следует отметить, что влиянию свинца на растения посвящено довольно большое количество публикаций как зарубежных, так и отечественных авторов. Однако, несмотря на это, многие аспекты его действия на растительный организм остаются недостаточно изученными.

Основные функции в регуляторной деятельности клетки выполняют ферменты антиоксидантной защиты (пероксидаза и каталаза), обеспечивающие нормальный ход окислительных процессов при различного рода неблагоприятных воздействиях. Одно

*Работа выполнена в рамках НИР «Оценка морфофизиологической и генетической активности брассиностероидов и стероидных гликозидов для расширения спектра действия биорегуляторов растений стероидной природы» подпрограммы 2.3 «Биорегуляторы растений» ГПНИ «Химические технологии и материалы» (№ ГР 20160577 от 01.04.2016 г.).

из проявлений защитных реакций растений в условиях стресс-факторов – возрастание активности пероксидазы и каталазы. Обнаружение способности стероидных гликозидов понижать активность антиоксидантных ферментов, может быть использовано для разработки способа повышения устойчивости культурных растений к стресс-факторам [1].

Целью данной работы является изучение влияния стероидных гликозидов (мелонгозида и рустикозида) на рост и антистрессовую устойчивость растений бобовых культур в условиях воздействия ионов свинца.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования были выбраны бобовые культуры – люпин узколистный сорта «Першацвет» и горох посевной сорта «Стартер». Семена бобовых культур предварительно замачивали 6 часов в растворах стероидных гликозидов (мелонгозида и рустикозида). Для оценки влияния стероидных гликозидов (мелонгозида и рустикозида) на рост растений и активность ферментов (каталазы и пероксидазы) у люпина узколистного сорта «Першацвет» и гороха посевного сорта «Стартер» в условиях воздействия ионов свинца были использованы следующие варианты опыта:

- 1) дистиллированная вода (контроль);
- 2) мелонгозид с концентрацией 10^{-10} %;
- 3) рустикозид с концентрацией 10^{-9} %;
- 4) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с пороговой концентрацией 10^{-4} М;
- 5) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с концентрацией 10^{-4} М + мелонгозид с концентрацией 10^{-10} %;
- 6) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с концентрацией 10^{-4} М + рустикозид с концентрацией 10^{-9} %.

На 10-е сутки было проведено исследование активности ферментов каталазы и пероксидазы в корешках и побегах проростков люпина и гороха использованных вариантов опыта. Определение активности пероксидазы в корешках и побегах проростков проводили по методу А.Н. Бояркина [3], основанному на определении скорости реакции окисления бензидина под действием пероксидазы, содержащейся в растениях, до образования продукта окисления синего цвета определенной концентрации. Определение активности каталазы в корешках и побегах исследуемых растений проводили по методу М.А. Корольюк [4], основанному на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Результаты исследований и их обсуждение

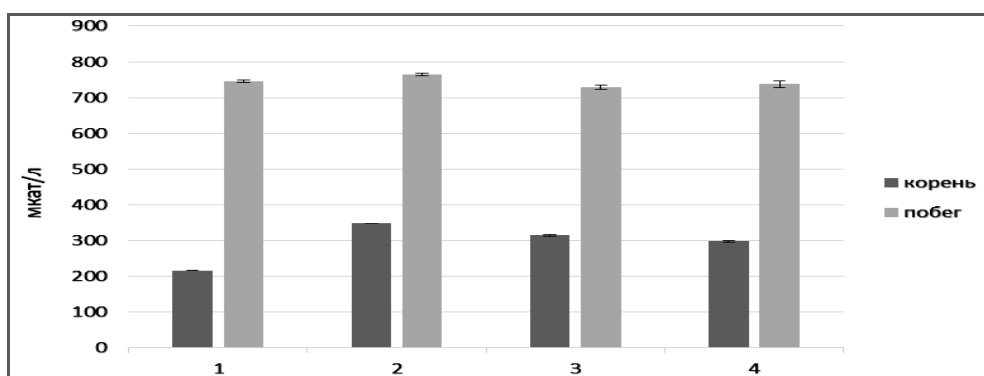
Проведенные исследования показали, что при использовании свинца в концентрации 10^{-4} М наблюдалось ингибирование роста корней и побегов у растений люпина узколистного. Длина корней уменьшалась на 26,0 %, а побега – на 31,7 % (таблица 1). Соответственно наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов.

Таблица 1. – Влияние рустикозида (РК) и мелонгозида (МГ) на длину корней, побегов и массу растений люпина узколистного сорта «Першацвет» при воздействии ионов свинца (10-е сутки)

Вариант опыта	Корни		Побеги	
	длина	масса (20 шт.)	длина	масса (20 шт.)
Контроль	64,17 ± 1,68	4,38 ± 0,04	103,95 ± 2,92	7,11 ± 0,45
Pb^{2+} , 10^{-4} М	47,48 ± 1,54	2,25 ± 0,13	71,00 ± 3,22	5,53 ± 0,48
Рустикозид, 10^{-9} %	68,13 ± 2,12	5,00 ± 0,13	115,35 ± 2,64	8,15 ± 0,17
Pb^{2+} , 10^{-4} М + РК, 10^{-9} %	48,67 ± 1,11	2,64 ± 0,26	77,72 ± 2,07	6,69 ± 0,30
Мелонгозид, 10^{-10} %	69,27 ± 1,23	5,23 ± 0,22	111,92 ± 1,69	7,58 ± 0,44
Pb^{2+} , 10^{-4} М + МГ, 10^{-10} %	49,0 ± 1,06	3,19 ± 0,21	83,40 ± 1,57	7,03 ± 0,23

Предварительная обработка семян рустикозидом в концентрации 10^{-9} % приводила к увеличению длины корней и побегов у растений люпина узколистного на 2,5 % и 9,4 % соответственно (таблица 1). Предварительная обработка семян люпина узколистного мелонгозидом в концентрации 10^{-10} % приводила к увеличению длины корней и побегов на 3,2 % и 17,4 % соответственно. Таким образом, мелонгозид в большей степени повышал устойчивость растений люпина узколистного сорта «Першацвет» к воздействию ионов свинца.

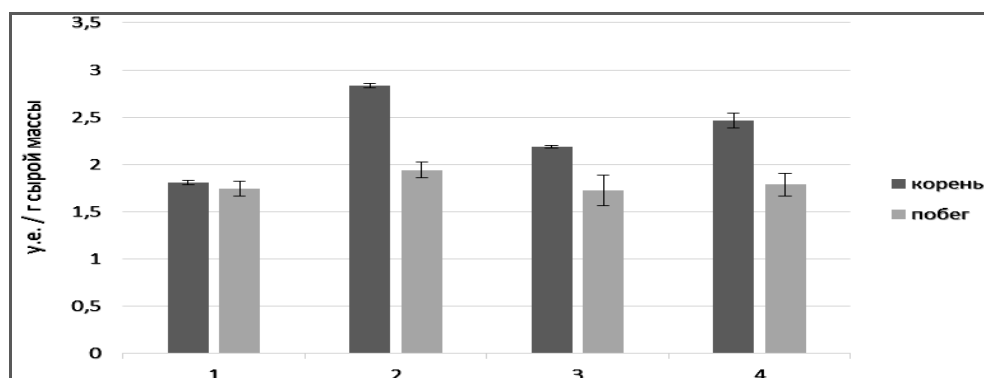
Присутствие в среде ионов свинца в концентрации 10^{-4} М приводило к увеличению активности каталазы в корнях люпина узколистного на 60,5 % и в побегах на 2,7 % по сравнению с контрольными растениями (рисунок 1). Предобработка семян люпина узколистного стероидными гликозидами приводила к снижению активности каталазы в корнях на 9,6 % (рустикозид) и 14,3 % (мелонгозид) и в побегах – на 4,6 % (рустикозид) и 4 % (мелонгозид).



1 – Контроль; 2 – Pb^{2+} , 10^{-4} М; 3 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + РК, 10^{-9} %;
4 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + МГ, 10^{-10} %

Рисунок 1. – Активность каталазы в проростках люпина узколистного сорта «Першацвет» в присутствии ионов свинца

В детоксикации перекиси водорода важную роль, кроме каталазы, играет пероксидаза. Было установлено, что при воздействии ионов свинца в концентрации 10^{-4} М наблюдалось увеличение активности пероксидазы в проростках люпина узколистного (корни – на 56,7 %, а побеги – на 11,2 %) (рисунок 2).



1 – Контроль; 2 – Pb^{2+} , 10^{-4} М; 3 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + РК, 10^{-9} %;
4 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + МГ, 10^{-10} %

Рисунок 2. – Активность пероксидазы в проростках люпина узколистного сорта «Першацвет» в присутствии ионов свинца

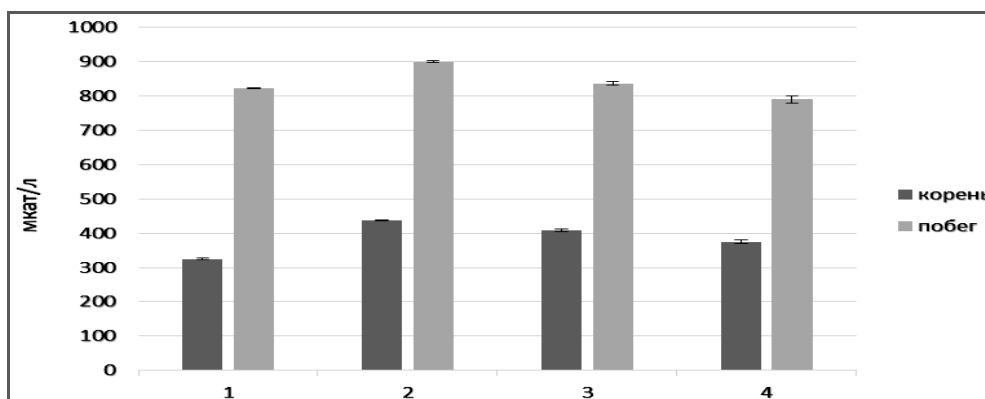
Предварительная обработка семян люпина узколистного рустикозидом приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях на 22,8 %, в побегах – на 10,9 %) (рисунок 2). Предобработка мелонгозидом приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях – на 14 %, в побегах – на 3,5 %).

У гороха посевного при использовании свинца в концентрациях 10^{-4} М наблюдалось более сильное ингибирование роста корней и побегов. Длина корней уменьшалась на 50,5 %, а побега – на 65,9 % (таблица 2). Соответственно, наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов. Предварительная обработка семян рустикозидом в концентрации 10^{-9} % приводила к увеличению длины корней и побегов, а также массы. Так, длина корней и побегов увеличивалась на 14,3 % и 23,1 %. Предобработка семян гороха посевного мелонгозидом в концентрации 10^{-10} % приводила к увеличению длины корней и побегов (на 3,6 % и 14,5 % соответственно).

Таблица 2. – Влияние рустикозида (РК) и мелонгозида (МГ) на длину корней, побегов и массу растений гороха посевного сорта «Стартер» при воздействии ионов свинца (10-е сутки)

Вариант опыта	Корни		Побеги	
	длина	масса (20 шт.)	длина	масса (20 шт.)
Контроль	$50,15 \pm 1,69$	$1,79 \pm 0,06$	$34,35 \pm 1,11$	$1,88 \pm 0,10$
Pb^{2+} , 10^{-4} М	$24,8 \pm 0,90$	$0,73 \pm 0,02$	$11,70 \pm 0,58$	$0,81 \pm 0,02$
Рустикозид, 10^{-9} %	$65,5 \pm 2,66$	$2,29 \pm 0,12$	$37,85 \pm 1,19$	$2,24 \pm 0,14$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + РК, 10^{-9} %	$28,35 \pm 0,79$	$0,99 \pm 0,02$	$14,40 \pm 0,59$	$1,13 \pm 0,05$
Мелонгозид, 10^{-10} %	$67,8 \pm 1,73$	$2,36 \pm 0,14$	$38,05 \pm 1,27$	$2,01 \pm 0,12$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + МГ, 10^{-10} %	$25,7 \pm 0,75$	$0,87 \pm 0,04$	$13,40 \pm 0,75$	$0,94 \pm 0,02$

В опытах с горохом посевным ионы свинца в концентрации 10^{-4} М также приводили к увеличению активности каталазы. Так, активность каталазы в корнях увеличивалась на 34,7 %, а в побегах – на 9,3 % (рисунок 3). Предварительная обработка семян рустикозидом в концентрации 10^{-9} % приводила к снижению активности каталазы в корнях и побегах на 7,0 %. Предобработка семян мелонгозидом в концентрации 10^{-10} % приводила к снижению активности каталазы в корнях на 14 % и в побегах – на 12,3 %.

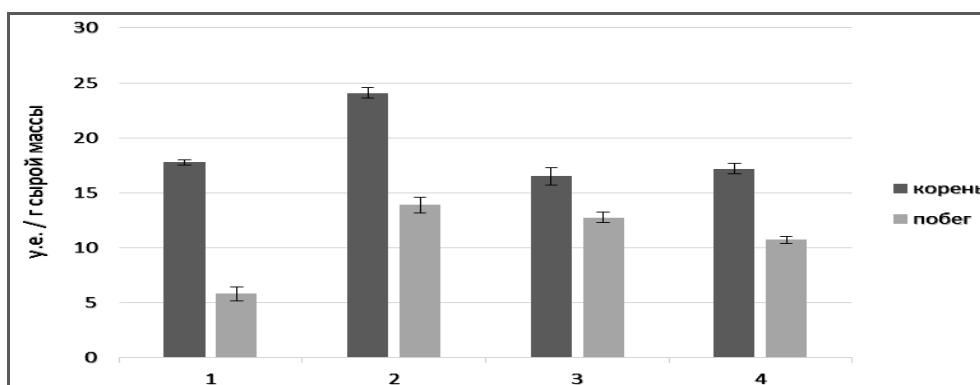


1 – Контроль; 2 – Pb^{2+} , 10^{-4} М; 3 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + РК, 10^{-9} %;
4 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + МГ, 10^{-10} %

Рисунок 3. – Активность каталазы в проростках гороха посевного сорта «Стартер» в присутствии ионов свинца

Ионы свинца в концентрации 10^{-4} М также приводили к увеличению активности пероксидазы. Так, активность пероксидазы в корнях увеличивалась на 35,5 %, а в побегах – на 138 % (рисунок 4). Предварительная обработка семян гороха посевного русти-

козидом приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях на 31,4 %, в побегах – на 8 %). Предобработка мелонгозидом также приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях на 28,7 %, в побегах – на 22,8 %).



1 – Контроль; 2 – Pb^{2+} , 10^{-4} М; 3 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + РК, 10^{-9} %;
4 – Pb^{2+} , 10^{-4} М + МГ, 10^{-10} %

Рисунок 4. – Активность пероксидазы в проростках гороха посевного сорта «Стартер» в присутствии ионов свинца

Заключение

Под воздействием ионов свинца увеличивается активность ферментов (пероксидазы и каталазы), которые являются одним из важнейших механизмов защиты в условиях токсичного действия ионов тяжелых металлов. Стероидные гликозиды обладают антистрессовым действием в условиях токсического действия свинца на бобовые культуры, что выражается в снижении активности ферментов антиоксидантной системы и приводит к усилению антиоксидантной защиты растений в условиях пороговых токсических концентраций ионов тяжелых металлов. Использование стероидных гликозидов (мелонгозида и рустикозида) в оптимальных концентрациях позволяет повысить устойчивость люпина узколистного и гороха посевного к действию ионов свинца.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильева, И. С. Стероидные гликозиды растений культуры клеток диоскореи, их метаболизм и биологическая активность / И. С. Васильева, В. А. Пасешниченко // Успехи биол. химии. – 2000. – Т. 40. – С. 153–204.
2. Шуканов, В. П. Гормональная активность стероидных гликозидов растений / В. П. Шуканов, А. П. Волянец, С. Н. Полянская. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 244 с.
3. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по физиологии растений / В. Ф. Гавриленко, М. Е. Ладыгина, Л. М. Хандобина. – М. : Высш. шк., 1975. – С. 207–209.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук [и др.] // Лаборатор. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

Рукапіс паступіў у рэдакцыю 19.04.2018

Artsiamuk A.G., Karziuk A.V. Anti-Stress Effect and Growth Regulating Action of Steroid Glycosides on Legumes Under the Influence of Lead Ions

The effect of steroid glycosides (melongoside and rusticoside) on the growth of lupine and Pisum sativum under the influence of lead ions was studied. It was revealed that melongoside and rusticoside have anti-stress effect under conditions of toxic action of lead on legumes, resulting in reduced activity of antioxidant enzymes. It was shown that changes in biochemical processes in cells that occur under the influence of lead ions to some extent can be offset by the effect of steroid glycosides.