

Біологічна активність деяких олігосахаринів, отриманих з жіночого молока

Л. Л. Волкова, І. Ю. Горбатенко

Херсонський державний педагогічний університет
Вул. 40-років Жовтня, 27, Херсон, 73000, Україна

*Вивчено біологічну активність деяких олігосахаринів, отриманих з жіночого молока, їхній вплив на ріст та розвиток проростків томату (*Lycopersicon esculentum* Mill., с. Новічок) та озимої пшениці (*Triticum aestivum* L., с. Херсонська 86), а також взаємодію олігосахаринів з ауксином. Олігосахарини здатні як стимулювати, так і пригнічувати ріст проростків у залежності від будови та виду рослини. Проростки томату є чутливішими до обробки розчинами олігосахаринів, ніж проростки пшениці. При вивченні взаємодії олігосахаринів з ауксином у біотесті встановлено синергізм дії цих речовин на ростові реакції гіпокотилів огірка (*Cucumis sativa* L., с. Парад) при оптимальній концентрації 10^{-9} М.*

Вступ. У 1983 році Альберсгейм виділив новий клас біологічно активних речовин — олігосахарини (олігосахариди, які мають біологічну активність). Існує декілька класів олігосахаринів (ОС) — отриманих з грибного міцелію, з хітину членистоногих та штучно синтезованих. У тваринних та рослинних організмах процеси міжклітинних комунікацій здійснюються за допомогою спеціалізованих молекул-посередників. Роль посередників у взаємодії рослин з довкіллям, а також сигнальних (інформаційних) молекул, регулюючих онтогенез рослин, виконують ОС — низькомолекулярні фрагменти клітинної стінки грибів та рослин [1, 2]. ОС мають унікальні властивості (хіральні атоми вуглецю, численні гідроксильні групи та атоми кисню, гідрофобні ділянки, характерні для глікозидних залишків тощо), які забезпечують можливість існування багатьох стереохімічних форм, це робить їх ідеальними лігандами для точної взаємодії з сайтами на молекулах білків [3]. ОС на відміну від фітогормонів та інших речовин мають високу біологічну активність на рівні субмінімальних концентрацій [4]. Вони індують захисні реакції проти фітопатогенів, беруть участь у регуляції процесів росту та розвитку рослин, пригнічують ризогенез і розтягування сегментів, індукують ауксином та

фузикоцином [5, 6]. ОС стимулюють та регулюють імунний статус рослинної тканини [7]. Деякі з них суттєво впливають на проходження клітинного циклу у меристемі, стимулюють проростання насіння [8].

Метою наших досліджень було вивчення біологічної активності нового класу ОС, отриманих з жіночого молока. Оскільки рослини та тварини мають багато спільних послідовностей, можна припустити, що вони або кооптують однакові молекули з різною метою, або використовують схожі механізми. Можна сподіватися, що багато звичайних процесів у рослин та тварин подібні [9]. Тому наші дослідження були спрямовані на з'ясування впливу ОС тваринного походження на рослини і виявлення подібності дії ОС рослинного та грибного походження з дією тваринних ОС. Крім того, ми вивчали, як ОС, отримані з молока, впливають на проростання насіння та ріст проростків, а також взаємодію ОС з ауксином.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були томати (*Lycopersicon esculentum* Mill., с. Новічок), озима пшениця (*Triticum aestivum* L., с. Херсонська 86) та огірки (*Cucumis sativa* L., с. Парад). У досліді використовували ОС, отримані з жіночого молока в Інституті елемент-органічних сполук ім. О. Н. Несмеянова РАН (Росія): лакто-N-тетроза (Gal β 1-3 GlcNAc1-3Gal β 1-4Glc β , LNT), фукозилгалактоза (Fucal-2Gal β , FG), фукозил-N-

Таблиця 1

Порівняння взаємодії ауксину з олігосахаринами, отриманими з жіночого молока та з ксилоглюкановими олігосахаринами

Олігосахарин	Концентрація, М			
	0	10^{-11}	10^{-9}	10^{-7}
LNT	2,9±0,6	3,4±0,6	6,7±0,8***	3,4±0,4
FG	3,3±0,6	3,5±0,4	5,3±0,0*	3,9±0,9
FGN	2,4±0,6	4,5±0,6*	5,6±0,6***	3,6±0,7
LNFP2	4,1±0,9	4,7±0,8	6,1±1,1	6,3±0,8
DFL	3,4±0,7	5,1±0,9	5,7±0,9*	5,1±1,0
КГ 9 ₁	5,6±0,7	5,6±0,5	5,2±0,3	4,9±0,7
КГ 5 ¹	4,1±0,6	—	4,3±0,8	3,8±0,8

Примітка: В цій таблиці і в табл. 2, 3 різниця між контрольним та дослідним варіантами достовірна при * $p = 0,95$; ** $p = 0,99$; *** $p = 0,999$. ¹Результати отримані Павловою [4]; КГ 9 — ксилоглюкановий нонасахарид; КГ 5 — ксилоглюкановий пентасакхарид.

глюкозамін (Fucal-6GlcNAc β , FGN), лакто-N-фукопентоза-2 (Gal β 1-3GlcNAc β 1(4-Fucal)-3Gal β 1-4Glc β , LNFP-2), дифукозиллактоза (Fucal-2Gal β 1-4Glc β 3-1Fucal, DFL).

Для оцінки взаємодії ОС з ауксином проводили біотести (модифікована методика [4]). В них використовували фрагменти гіпокотилів 6-денних етіолованих проростків огірка. Насіння замочували на 30 хв у воді і далі вирощували в термостаті при температурі 28 °С у темряві на воді. Використовували фрагменти гіпокотилів довжиною 1 см. Їх витримували протягом 30 хв у дистильованій воді, після чого зважували по шість та занурювали в розчини ОС з концентраціями, наведеними в табл. 1, та додаванням ІОК (0,03 мг/л), де витримували протягом 2 год при температурі 25 °С. Далі фрагменти гіпокотилів знов зважували та визначали збільшення маси відносно контролю — води та розчину ІОК.

Для оцінки впливу ОС на проростання насіння та ріст проростків томату і пшениці насіння стерилізували в розчинах КМnO₄ (2 хв) та Са(ОСl)₂ (15 хв), а потім замочували в розчинах ОС (концентрації у табл. 2 та 3) протягом 4 год, після чого культивували в живильному середовищі Кнопа протягом тижня при 16-год світовому періоді та температурі 23—25 °С. Ріст та розвиток проростків оцінювали за такими біометричними показниками, як висота пагона, довжина кореня, маса проростка.

Статистична обробка даних полягала у визначенні середньої величини ознаки, середньоквадра-

тичного відхилення, коефіцієнта варіації, середньої помилки. Достовірність середніх величин та різниці між дослідними та контрольними варіантами оцінювали за критерієм Ст'юдента [10].

Результати і обговорення. В табл. 1 наведено результати вивчення взаємодії ауксину з ОС, отриманими з жіночого молока, в порівнянні з ксилоглюкановими [4]. Встановлено, що ОС тваринного походження, на відміну від ксилоглюканових ОС, не пригнічували, а індукували ростові реакції, спричинені ауксином. Вони підвищували активність ауксину, особливо в концентрації 10^{-9} М. Ксилоглюканові ОС зменшують викликаний ауксином ефект. При інших концентраціях для більшості ОС, отриманих з молока, підсилення впливу ауксину спостерігалось, але менш виразно. Найбільший ефект синергізму дії з ауксином мали ОС LNT та FGN, що підтверджується достовірністю отриманих результатів.

За даними Йорка [11], ксилоглюканові ОС пригнічують розтягування, індуковане ауксином та фузикококцином, і оптимальною при цьому є концентрація 10^{-9} М. Таким чином, можна стверджувати, що досліджувані ОС, незважаючи на протилежний ефект впливу, мають однакові оптимальні концентрації з рослинними ОС. Це дає можливість порівнювати ОС рослинного та тваринного походження вже не лише за будовою, а й за фізіологічною дією.

У табл. 2 представлено результати вивчення впливу ОС на ріст та розвиток проростків томату.

Таблиця 2
Вплив різних олігосахаринів на онтогенез проростків томату (с. Новічок)

Концентрація, М	LNT			LNFP 2		
	МР	ВП	ДК	МР	ВП	ДК
0	224±9	59,7±1,4	52,0±2,0	208±7	53,2±1,2	55,3±2,0
10 ⁻¹⁷	223±10	54,4±1,4***	54,5±1,9	211±7	53,8±1,5	57,9±2,1
10 ⁻¹⁵	224±9	55,5±1,2***	48,7±1,9	219±7	57,1±1,3*	60,0±1,9
10 ⁻¹³	240±10	55,4±1,6*	51,1±2,3	223±7	54,2±1,4	57,7±1,7
10 ⁻¹¹	234±9	56,9±1,6	51,1±2,1	214±9	53,5±1,3	57,0±2,1
10 ⁻⁹	233±11	55,3±1,6*	55,5±2,2	220±11	54,6±1,5	56,6±1,2
10 ⁻⁷	225±7	54,4±1,4***	47,4±1,9	215±6	58,0±1,3**	57,3±1,9
10 ⁻⁵	229±13	55,1±1,6*	48,2±2,2	230±9	59,0±1,2**	53,9±1,8

Концентрація, М	FG			FGN		
	МР	ВП	ДК	МР	ВП	ДК
0	180±9	47,1±1,2	30,7±1,3	173±11	45,7±1,1	31,1±0,9
10 ⁻¹⁷	203±10	53,1±1,6***	43,8±1,7***	186±11	49,8±1,4	35,4±1,5*
10 ⁻¹⁵	196±6	57,1±1,3***	40,8±1,5***	176±10	50,9±1,4**	31,6±1,4
10 ⁻¹³	206±6*	56,5±1,2***	44,3±1,7***	187±13	50,3±1,2**	31,5±1,1
10 ⁻¹¹	187±8	48,2±1,2	39,8±1,8*	190±10	53,7±1,3***	34,1±1,8
10 ⁻⁹	203±8	50,5±1,2*	39,5±1,8*	178±12	49,2±1,1*	32,3±1,5
10 ⁻⁷	191±8	51,3±1,3*	42,3±1,7***	202±10	54,7±1,4***	38,9±1,4***
10 ⁻⁵	203±8	50,6±1,4	40,7±1,9**	175±10	51,0±1,2***	32,8±1,2

Примітка. Тут і в табл. 3 МР — маса рослини; ВП — висота пагону; ДК — довжина кореня.

Можна констатувати, що найбільше ОС впливають на висоту пагона, особливо в концентраціях 10⁻¹⁵ та 10⁻⁷ М, LNFP 2, FG та FGN стимулюють цей показник, а LNT — пригнічує. Довжину кореня збільшували лише подібні за будовою FG та FGN. Перший збільшував довжину кореня в усіх концентраціях, а другий — лише в 10⁻¹⁷ та 10⁻⁷ М. Маса рослини достовірно підвищувалася лише при обробці розчинами FG (10⁻¹³ М) та FGN (10⁻⁷ М). DFL не впливав на біометричні показники проростків томату. ОС, отримані з жіночого молока, спричинюють зростання рівня проростання насіння на 10—15 % [12].

В табл. 3 показано вплив ОС на ріст та розвиток проростків озимої пшениці. Існує різниця між впливом розчинів ОС на ріст та розвиток проростків пшениці та томату. На висоту пагона у проростків пшениці розчини ОС не впливали, за

винятком FG (10⁻¹⁵, 10⁻¹³ М). Масу рослини збільшували DFL, FG та LNFP 2, але лише LNFP 2 — майже в усіх концентраціях. На ознаку «довжина кореня» розчини ОС впливали по-різному: від стимулювання (DFL, 10⁻¹⁵ М; FG, 10⁻¹³ М) до пригнічення (LNFP 2, 10⁻¹⁷ М). LNT незначно зменшував усі біометричні показники.

Як на проростки пшениці, так і томату найбільший вплив розчинів ОС спостерігався у концентраціях 10⁻¹⁵ та 10⁻¹³ М, але у томатів ще вирізнялася концентрація 10⁻⁷ М.

Виходячи з вищевикладеного, можна говорити про різний вплив на рослини досліджуваних ОС, що вказує на залежність їхньої біологічної активності від хімічної будови та наявності окремих моносахаридних залишків. Відсутність фукози (в LNT) призводить до зменшення біометричних показників у проростків томату та пшениці, тоді як

L. L. Volkova, I. Yu. Gorbatenko

The biology activity of some oligosaccharins, obtained from female milk

Summary

The biological activity of some oligosaccharins, obtained from female milk, and their influence on growth and development of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill., cv. Novichok) and winter wheat (*Triticum aestivum* L., cv. Khersonskaya 86) seedlings, as well as the oligosaccharins interactions with auxin have been studied. Oligosaccharins are capable both to stimulate and inhibit growth seedlings. Tomato seedlings are more sensible to the treatment by solutions of oligosaccharins than wheat. An analysis of the oligosaccharins interactions with auxin in bioassay has revealed the synergy of the effect of these substances on the growth reaction of a cucumber hypocotils (*Cucumis sativa* L., cv. Parad) at the optimal concentration of 10^{-5} M.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Albersheim P., Darvill A. G., McNeil M., Valent B. S., Sharp J. K., Nothnagel E. A., Davis K. R., Yamazaki N., Gollin D. J., York W. S., Dudman W. F., Darvill J. E., Dell A. Oligosaccharins: naturally occurring carbohydrates with biological functions // The structure and Function of Plant Genomes / Eds O. Cifferi, L. Dure III.—New York: Plenum, press, 1983.—Vol. 63.—P. 293—312.
2. Vargas-Rechia C., Reicher F., Sierakowski M. R., Heyraud A., Driguez H., Lienart Y. Xyloglucan octasaccharide XXLGI derived from the seeds of *Hymenaea courbaril* acts as a signaling molecule // Plant Physiol.—1998.—116.—P. 1013—1021.
3. Albersheim P., Darvill A., Augur C., Cheong J. J., Eberhard S., Hahn M., Marfa V., Mohnen D., O'Neil M., Spiro M., York W. Oligosaccharins: Oligosaccharide regulatory molecules // Acc. Chem. Res.—1992.—25.—P. 77—83.
4. Павлова З. Н. Биологическая активность ксилоглокановых олигосахаридов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—М: ВНИИСБ, 1995.—21 с.
5. Gorbatenko I. Yu., Volkova L. L. Oligosaccharins: eliciting and protective qualities // Proc. Int. Reg. Seminar «Environment Protection: Modern Studies in Ecology and Microbiology».—Uzhorod, 1997.—P. 318—321.
6. Darvill A., Augur C., Bergmann C., Carlson R. W., Cheong J.-J., Eberhard S., Hahn M. G., Lo V.-M., Marfa V., Meyer B., Mohnen D., O'Neill M. A., Spiro M. D., van Halbeek H., York W. S., Albersheim P. Oligosaccharins — oligosaccharides that regulate growth, development and defense responses in plants // Glycobiology.—1992.—2, N 3.—P. 181—198.
7. Озерецковская О. Л., Ильинская Л. И., Васкова Н. И. Олигосахариды — модуляторы устойчивости растений к болезням // Тез. докл. Междунар. конф. «Актуальные проблемы биотехнологии в растениеводстве, ветеринарии и животноводстве».—М.: РАСХН, 1996.—С. 60.
8. Кривцов Г. Г., Горбатенко И. Ю., Ванюшин Б. Ф. Регулирующее рост и элиситорное действие хитозана у растений // VI Междунар. конф. «Регуляторы роста и развития растений»: Тез. докл.—М., 1997.—С. 102.
9. Sarah Hake, Bharat R. Char. Cell-cell interactions during plant development // Genes and Development.—1997.—N 11.—P. 1087—1097
10. Доснехов Б. А. Методика полевого опыта.—М.: Колос, 1979.—416 с.
11. York W. S., Darvill A. G., Albersheim P. Inhibition of 2,4-D-stimulated elongation of pea stem segments by a xyloglucan oligosaccharide // Plant Physiol.—1984.—75, N 2,—P. 295—297.
12. Volkova L. L., Gorbatenko I. Yu. Growth regulating effect of lactose oligosaccharines // Proc. 11th Congr. of the Federation of European Societies of Plant Physiology.—Varna, 1998.—P. 263.
13. Усов А. И. Олигосахариды — новый класс сигнальных молекул в растениях // Успехи химии.—1993.—62, № 11.—С. 1119—1144.

УДК 581.1:581.4

Надійшла до редакції 03.07.2000