

5. Шинкаренко Л.Н. Литические ферменты *Actinomyces recifensis* var. *Lyticus* 2435 и условия, влияющие на их биосинтез: Автореф. дис. канд. биол. наук. Д., 1979. 172 с.

6. Isono M., Takahashi T., Yamadzaki Y. Bacteriolytic enzymes and process for the production thereof. Patent №3649454. 1972 (USA).

7. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol.193. P. 265–275.

Надійшла до редколегії 10.06.2000

УДК 581.1

Л. Л. Волкова

Херсонський державний педагогічний університет

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТВАРИННИХ ОЛІГОСАХАРИНІВ НА РОСЛИННИХ ОБ'ЄКТАХ

Изучалась биологическая активность некоторых олигосахаринов, полученных из женского молока, их влияние на рост и развитие проростков томата (*Lycopersicon esculentum* Mill., с. Новичок) и озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с. Херсонская 86), а также взаимодействие олигосахаринов с ауксином и цитокинином. Олигосахарины способны как стимулировать, так и ингибировать рост проростков в зависимости от строения, способа обработки и вида растений. Проростки томата более чувствительны к действию олигосахаринов, чем пшеницы, но в зависимости от способа обработки изменяются разные показатели. При изучении взаимодействия олигосахаринов с ауксином в биотесте, обнаружен синергизм действия этих веществ на ростовые реакции гипокотилей огурца (*Cucumis sativa* L., с. Парад) при оптимальной концентрации 10^{-9} моль/л.

Рослини та тварини мають багато спільних генних послідовностей, тому можна припустити, що вони або кооптують однакові молекули з різною метою, або використовують схожі механізми. Багато звичайних процесів у рослин та тварин подібні [13]. 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, що регулюють онтогенез рослин, можуть виконувати олігосахарини (ОС) – низькомолекулярні фрагменти полісахаридів клітинної стінки грибів та рослин [7; 14]. ОС мають специфічну будову (хіральні атоми вуглецю, численні гідроксильні групи), яка забезпечує можливість існування численних стереохімічних ізомерів, що робить їх ідеальними лігандами для взаємодії з сайтами на молекулах білків [8]. ОС мають високу біологічну активність на рівні субмінімальних концентрацій, на 2–3 порядки нижче, ніж фітогормони [5]. Вони індукують захисні реакції проти фітопатогенів, беруть участь у регуляції процесів росту та розвитку рослин, інгібують розтягування сегментів, індуковане ауксином та фузікокцином [10; 11]. ОС регулюють імунний статус рослинної тканини [4]. Деякі ОС суттєво впливають на проходження клітинного циклу у меристемі, стимулюють проростання насіння [3].

ОС, отримані з членистоногих (хітозан), впливають на імунітет рослин [3] та збільшують деякі біометричні показники [1; 15]. ОС, які знаходяться в жіночому молоці, беруть участь у неімунному захисті дитини від інфекцій [12]. Ми вивчали вплив ОС, отриманих з молока, на деякі біометричні показники рослин (проростання насіння, висоту пагону, довжину кореня, масу рослини) та їх взаємодію з ауксином та цитокиніном.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктами досліджень були помідори (*Lycopersicon esculentum* Mill., с.Новічок), озима пшениця (*Triticum aestivum* L., с.Херсонська 86) та огірки (*Cucumis sativa* L., с. Парад). У досліді використовувались ОС, які були отримані з жіночого молока в Інституті елемент-органічних сполук ім. О.Н. Несмеянова РАН: лакто-М-тетроза (LNT), фукозилгалактоза (FG), фукозил-глюкоза-N (FGN), лакто-N-фукопентоза-2 (LNFP-2), діфукозиллактоза (DFL), діфукозиллакто-N-гексоза (b) (DFLNH(b)); та з крові свиней – фукогаллактозилгалакто-N-ол (FGGn-ol).

Для оцінки впливу ОС на онтогенез томатів насіння стерилізували та висаджували на середовище Мурасіге-Скуга (1962 р.) без фітогормонів, з додаванням ОС у концентраціях (10^{-17} , 10^{-15} , 10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} моль/л). Розчини ОС автоклавували окремо, а потім додавали у тепле середовище та розливали його у стерильних умовах. Проростки вирощували 30 днів при 16-годинному фото-періоді та температурі 23 – 25 °С. Ріст та розвиток проростків оцінювали за такими біометричними показниками: висота пагона, довжина кореня, маса проростка та кількість додаткових корінців.

Для оцінки впливу ОС на проростання насіння та ріст проростків томату і пшениці насіння стерилізували у розчинах КМп04 (2 хв.) та Са(ОСІ)2 (15 хв.) а потім замочували у розчинах ОС (10^{-17} , 10^{-15} , 10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} , 10^{-7} , 10^{-5} моль/л) протягом 4-х годин, після чого культивували на живильному середовищі Кнопа протягом тижня в аналогічних умовах. Ріст та розвиток проростків оцінювали за такими біометричними показниками: висота пагону, довжина кореня, маса проростка.

Для оцінки взаємодії ОС з ауксином проводили біотести на гіпокотиліях огірків (*Cucumis sativa* L., с. Парад) (модифікована методика [5]). Відрізки гіпокотилів шестиденних етиольованих проростків зважували, витримували у розчинах ІОК (0,03 мг/л) з додаванням ОС (10^{-15} , 10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} , 10^{-7} моль/л) протягом 2-х годин при температурі 25 °С. Далі фрагменти гіпокотилів знов зважували та визначали збільшення маси відносно контролю – розчину ІОК.

Взаємодію ОС з цитокінінами вивчали у біотестах із сім'ядолями огірка [12]. Сім'ядолі шестиденних етиольованих проростків зважували, розташовували у чашках Петрі в розчинах кінетину (1 мг/л) з додаванням ОС (10^{-17} , 10^{-15} , 10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} моль/л), витримували 24 години у темряві при 25 °С, після чого знов зважували та визначали збільшення маси відносно контролю – розчину кінетину.

Статистична обробка даних полягала у визначенні середньої величини ознаки, середньоквадратичного відхилення, коефіцієнта варіації, середньої помилки. Достовірність середніх величин та різниці між дослідними та контрольними варіантами оцінювались за критерієм Ст'юдента [2].

Результати та обговорення

У табл. 1 наведені результати вивчення впливу різних ОС на окремі біометричні показники. Найвища активність ОС була виявлена у 4-х тижневих проростків томата для показників «довжина кореня» та «кількість додаткових корінців» (табл. 2). Максимальні їх значення спостерігались у FGN (10^{-17} , 10^{-11} , 10^{-9} моль/л), FGGn-ol (10^{-17} та 10^{-11} моль/л) та у DFLNH(b) (10^{-17} , 10^{-11} моль/л) (лише кількість додаткових корінців). Усі ОС, окрім FG, збільшували масу рослини, особливо DFLNH (b). Висоту пагона при такому способі обробки не змінював жоден ОС. На всі інші показники позитивно впливали FGN, FGGn-ol та DFL.

При замочуванні насіння томата у розчинах ОС найбільш чутливим був показник «висота пагона», який збільшували чотири з семи досліджуваних ОС, особливо FG (10⁻¹⁷– 10⁻¹³ моль/л) та FGN (10⁻¹¹, 10⁻⁷ моль/л) (перевищення контролю – 15 – 22 %). Маса рослин більшістю ОС не змінювалась, а довжина кореня як збільшувалась, так і зменшувалась. Усі три показники достовірно збільшувались (FG, FGN та DFLNH (b)).

Таблиця 1

Вплив ОС, отриманих з жіночого молока, на окремі показники онтогенезу рослин

Об'єкт	Показник	Олігосахарини						
		LNT	FG	FGN	LNFP2	DFL	DFLNH	FGGn-ol
Проростки томату *	MP	н	0	+	-	+	+	+
	ВП	н	0	0	-	0	0	0
	ДК	н	+	+	+	+	0	+
	КК	н	+	+	0	+	+	+
Проростки томату **	MP	0	+	+	0	0	+	0
	ВП	-	+	+	+	-	+	0
	ДК	0	+	+	0	-	+	-
	MP	0	+	н	+	+	0	+
Проростки пшениці **	ВП	-	+	н	0	0	+	+
	ДК	-	+	н	-	0	+	+
	КК	0	0	н	0	0	0	0
	Взаємодія з ІОК	+	+	+	+	+	+	+
Взаємодія з кінетином	+	0	0	+	0	0	0	

Примітка: + – достовірно позитивний вплив; 0 – немає достовірних результатів; - – достовірно негативний вплив; н – дослід не ставився. MP – маса рослини; ВП – висота пагона; ДК – довжина кореня; КК – кількість додаткових корінців. * – проростки вирощувались 4 тижня на середовищі МС з додаванням розчинів ОС; ** – проростки вирощувались тиждень на середовищі Кнопа, насіння замочували у розчинах ОС (4 години)

Таблиця 2

Вплив ОС, при додаванні їх у поживне середовище, на онтогенез *Lycopersicon esculentum* Mill. (с. Новичок)

ОС	Показник	Концентрація моль/л					
		0	10 ⁻¹⁷	10 ⁻¹⁵	10 ⁻¹³	10 ⁻¹¹	10 ⁻⁹
FG	MP, г	0,25±0,02	0,26±0,02	0,29±0,02	0,29±0,02	0,27±0,02	0,29±0,02
	ДК, мм	52,1±1,2	57,3±1,9*	56,4±2,4	58,1±2,5*	55,7±1,3*	59,5±0,3**
	КК, шт	4,1±0,3	4,8±0,3	5,1±0,4*	6,5±0,3***	4,6±0,5	4,7±0,4
FGN	MP, г	0,42±0,03	0,47±0,04	0,45±0,02	0,44±0,03	0,5±0,03*	0,48±0,03
	ДК, мм	65,5±2,5	83,6±4,6***	76,7±4,1*	77,5±4,9	91,9±5,9***	89,3±6,3***
	КК, шт	6,7±0,7	9,0±0,7*	8,9±0,6*	9,0±0,9*	11,2±0,7***	10,0±0,8***
LNFP2	MP, г	0,28±0,02	0,25±0,01*	0,26±0,01	0,26±0,01	0,25±0,01	0,23±0,01*
	ДК, мм	51,8±1,7	53,3±1,4	58,4±2,0*	54,1±1,5	58,5±2,4*	54,5±1,0
	КК, шт	5,8±0,4	5,7±0,5	5,5±0,4	5,6±0,3	5,1±0,4	5,8±0,5
DFLNH(b)	MP, г	0,28±0,02	0,36±0,02**	0,4±0,03**	0,39±0,02***	0,38±0,02***	0,41±0,03**
	ДК, мм	52,5±2,1	52,4±1,5	50,8±3,0	53,3±1,9	58,2±2,1	57,1±3,9
	КК, шт	3,5±0,2	5,4±0,3***	5,8±0,6***	4,9±0,3***	5,1±0,3***	4,6±0,3*
FGGn-ol	MP, г	0,42±0,03	0,47±0,03	0,51±0,04*	0,5±0,05	0,45±0,03	0,54±0,03**
	ДК, мм	65,5±2,5	85,0±4,8***	84,3±5,1**	80,1±9,0	71,6±4,1	83,2±4,3***
	КК, шт	6,7±0,7	8,9±0,5*	7,7±0,5	8,4±1,1	7,9±0,7	10,3±0,7***

Примітка: MP – маса рослини; ДК – довжина кореня; КК – кількість додаткових корінців. Різниця між контрольним та дослідним варіантами достовірна при P*=0,95; P**=0,99; P***=0,999

У пророс...
ксимальне сти...
вищення конт...
довжину корен...
вав або не змі...
На більш...
DFLNH(b).

3 ауксин...
рігався лише...
ціях достовір...
ефект синергі...

Збільш...

ОС
LNT
FG
FGN
LNFP 2
DFL

Примітка: у та...
годн...
дос...

За данн...
гування, інду...
рація 10⁻⁹ м...
ефект синергі...
припущення...
цепторів [9].

ного походж...
кові оптимал...
будовою, а й...
ОС рос...

стерігається...
ли масу сім'я...
Таким...
впливають н...
залежить від...
більш чутли...
сахаринів з а...
тові реакції...
цитокінінам...

Вислов...
них наук Гор...
олігосахарин...

У проростків пшениці чотири ОС з шести збільшували масу рослини, максимальне стимулювання спостерігалось у FGGn-ol (10^{-17} – 10^{-13} моль/л, перевищення контролю на 11–18%). По три ОС збільшували висоту пагона та довжину кореня. Три показники збільшувалися FGGn-ol та FG. LNT зменшував або не змінював усі біометричні показники.

На більшість біометричних показників позитивно впливали FG, FGN та DFLNH(b).

З ауксином взаємодіяли усі ОС, але достовірний ефект синергізму спостерігався лише при концентрації 10^{-9} моль/л ОС (табл. 3). При інших концентраціях достовірного збільшення впливу ауксину виявлено не було. Найбільший ефект синергізму з ауксином мали LNT та FGN.

Таблиця 3

Збільшення маси гіпокотилів *Cucumis sativa* L. (с. Парад) олігосахаринами при взаємодії з ІОК

ОС	Концентрація моль/л					
	0	10^{-17}	10^{-15}	10^{-13}	10^{-11}	10^{-9}
LNT	2,9±0,6	4,3±1,0	3,7±0,4	3,4±0,6	6,7±0,8	3,4±0,4
FG	3,3±0,6	3,6±0,8	4,1±0,6	3,5±0,4	5,3±0,0*	3,9±0,9
FGN	2,4±0,6	4,7±1,3	4,0±0,5	4,5±0,6*	5,6±0,6***	3,6±0,7
LNFP 2	4,1±0,9	4,1±0,8	4,3±1,0	4,7±0,8	6,1±1,1*	6,3±0,8
DFL	3,4±0,7	4,7±0,4	4,2±0,8	5,1±0,9	5,7±0,9*	5,1±1,0

Примітка: у таблиці наведені дані щодо збільшення маси гіпокотилів у відсотках за дві години відносно контролю, різниця між контрольним та дослідним варіантами достовірна при $P^*=0,95$; $P^{**}=0,99$; $P^{***}=0,999$

За даними York [16] та Павлової [5] ксилоглюканові ОС інгібують розтягування, індуковане ауксином та фізіолоксином, і оптимальною є концентрація 10^{-9} моль/л. Але при стимулюванні калусо- та різогенезу вони мають ефект синергізму з ауксином при оптимальній концентрації 10^{-8} моль/л [5]. Є припущення, що різні ефекти ауксину здійснюються за допомогою різних рецепторів [9]. Нами встановлено, що досліджувані ОС (тваринні) та ОС рослинного походження, незважаючи на протилежний ефект у біотесті, мають однакові оптимальні концентрації, що дає можливість порівнювати їх не тільки за будовою, а й за діючими концентраціями та рецепторами.

ОС рослинного походження не взаємодіють з цитокінінами [5], що спостерігається й у досліджуваних ОС, лише LNT та LNFP-2 незначно збільшували масу сім'ядолей огірка.

Таким чином, тваринні ОС, отримані з жіночого молока, позитивно впливають на деякі біометричні показники рослин. Вплив на різні показники залежить від будови ОС, способу обробки та від культури. Проростки томата більш чутливі до дії олігосахаринів, ніж пшениці. При вивченні взаємодії олігосахаринів з ауксином у біотесті встановлений синергізм дії цих речовин на ростові реакції гіпокотилів огірка при оптимальній концентрації 10^{-9} моль/л. З цитокінінами тваринні ОС не взаємодіють.

Висловлюю щиро подяку своєму науковому керівнику доктору біологічних наук Горбатенко І. Ю., а також Ямскову І. А. та Піскарьову В. Є. за надані олігосахарини.

Бібліографічні посилання

1. Горбатенко І. Ю., Волкова Л. Л., Тирлич В. Г., Мотринєць Я. В. Вивчення впливу екологічно чистих регуляторів росту на проростки *Pinus Pallasiana D. Don.* та *Lycopersicon esculentum Mill.* // Тез. докл. міжн. наук.-практ. конф. Проблеми екологічної стабільності Східних Карпат. Синебір. 1999. С. 46 – 49.
2. Доспєхов Б. А. Методика полевого опыта // М.: Колос, 1979. 416 с.
3. Кривцов Г. Г., Горбатенко І. Ю., Ванюшин Б. Ф. Регулюючеє рост и элиситорное действие хитозана у растений // Тез. докл VI межд. конф. Регуляторы роста и развития растений. 1997. М., С. 102.
4. Озерецковская О. Л., Ильинская Л. И., Васкова Н. И. Олигосахарины – модуляторы устойчивости растений к болезням // Тез. докл. дежд. конф. Актуальные проблемы биотехнологии в растениеводстве, ветеринарии и животноводстве. 1996. М., С. 60.
5. Павлова З. Н. Биологическая активность ксилоглоукановых олигосахаридов. Дисс. канд. биол. наук, 1995. М.: ВНИИСБ.
6. Процко Р. Ф., Варшавська В. Б. Визначення цитокинінів на етиольованих сім'ядолях *Cucumis L.* // Український ботанічний журнал, 1977. Т. XXXIV, № 6, С. 44.
7. Albersheim P., Darvill A. G., McNeil M. et al. Oligosaccharins: naturally occurring carbohydrates with biological functions // In: O. Cifferi and L. Dure III (Eds), The structure and Function of Plant Genomes. Plenum, New York, 1983. Vol. 63, P. 293 – 312.
8. Albersheim P., Darvill A., Augur C. et al. Oligosaccharins: Oligosaccharide regulatory molecules // Acc. Chem. Res., 1992. Vol. 25, P. 77 – 83.
9. Barbier-Brygoo H., Maurel C., Ephritikhine G. and Guern G. Differential sencetivities of protoplast responcees to auxin // Proc. 14th Int. Conf. on Plant Growth Substances. Amsterdam. 1991.
10. Darvill A., Augur C., Bergmann C. et al. Oligosaccharins - oligosaccharides that regulate growth, development and defense responses in plants // Glycobiology, 1992. Vol. 2, № 3, P. 181-198.
11. Gorbatenko I. Yu., Volkova L. L. Oligosaccharins: eliciting and protective qualities // Pros. of the Inter. Reg. Seminar Environment Protection: Modem Studies in Ecology and Microbiology. Uzhorod. 1997. P. 18 – 321.
12. Kunz C. Komplexe Oligosaccharide in der S□uglingsern□hrung Complex oligosaccharides in infant nutrition // Monatsschrift Kinderheilkunde, 1998. Vol.146, № 1.13, P. 49 – 56.
13. Sarah Hake and Bharat R. Char Cell-cell interactions during plant development / Genes & Development 1997. № 11, P. 1087 – 1097
14. Vargas-Rechia C., Reicher F., Sierakowski M. R. et al. Xyloglucan Octasaccharide XXLGol Derived from the Seeds of *Hymenaea courbaril* Acts as a Signaling Molecule // Plant Physiol. 1998. Vol. 116, P. 1013 – 1021.
15. Volkova L. L., Gorbatenko I. Yu. Growth regulating effect of lactose oligosaccharines // Pros. of the 11th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology. Vama. 1998. P. 263.
16. York W. S., Darvill A. G and Albersheim P. Albersheim. Inhibition of 2,4-D-stimulated elongation of pea stem segments by a xyloglucan oligosaccharide // Plant Physiol, 1984. Vol. 75. № 2, P. 295 – 297.

Надійшла до редколегії 7.04.2000