

УДК 517.14.632.38.63.635

## ВЛИЯНИЕ 1,3;1,6-β-D-ГЛЮКАНА И ПРОДУКТОВ ЕГО ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРОРОСТКОВ ГРЕЧИХИ *FAGOPYRUM ESCULENTUM* MÖNCH.

© В.Я. Федорова, Е.Л. Чайкина, И.Ю. Бакунина\*, С.Д. Анастюк, В.В. Исаков, М.М. Анисимов, Т.Н. Звягинцева

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН,  
пр. 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690022 (Россия)  
E-mail: bakun@list.ru

Исследовано влияние ламинарана и ряда 1,3;1,6-β-D-глюкоолигосахаридов разной молекулярной массы и разветвленности на прорастание семян и формирование проростков гречихи *Fagopyrum esculentum* Mönch, сорта «Изумруд». Показано, что все глюканы в различной мере усиливали энергию прорастания семян, стимулировали рост основного корня проростков гречихи на самой ранней стадии (1–2 сут). Лучшим стимулирующим действием обладали 1,3;1,6-β-D-глюкоолигосахариды с молекулярной массой 1661,5 Да, отличительной особенностью структуры которых является не только наличие большого количества β-1,6-связанных остатков глюкозы в виде разветвлений (1,3 : 1,6 = 3,7 : 1), но и присутствие β-1,6-связи внутри их основной цепи.

*Ключевые слова:* ламинаран, 1,3;1,6-β-D-глюкоолигосахариды, *Fagopyrum esculentum* Mönch.

*Работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований 09-04-00761-а, ДВО РАН и программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».*

### Введение

На начальном этапе онтогенеза при формировании проростков из семян растений происходят наиболее заметные, существенные и принципиальные биологические изменения. Поэтому семенной материал как модель наиболее перспективен при поиске природных экологически безопасных регуляторов роста и развития растений.

Гречиха (ботанический род – *Fagopyrum Gaertn*) относится к семейству гречишных (Polygonaceae) и является незаменимой зерновой культурой, которую возделывают для получения зерна, лекарственных веществ и в качестве медоноса [1]. Два ее подвида (гречиху обыкновенную *F. esculentum* Mönch spp. vulgare St. и многолистную spp. multifolium) возделывают как посевную однолетнюю культуру. Последний подвид гречихи распространен исключительно в Приморском крае, отличается более мощной вегетативной массой, поздним созреванием зерна и чувствительностью к недостатку тепла и влаги. Особенности приморского климата и онтогенетического развития гречихи посевной являются причиной низкой и нестабильной по годам урожайности зерна [2].

Растительные полисахариды обладают широким спектром биологического действия [3]. Однако их влияние на прорастание семян зерновых и овощных культур изучено недостаточно, судя по количеству публикаций в открытой печати. Так, растительные полисахариды стимулировали скорость прорастания семян томатов *Lycopersicon esculentum* и огурца *Cucumis sativus* [4], а также семян пшеницы *Triticum aestivum* L. и ржи посевной *Secale cereale* L. [5]. Из клеточной стенки проростков гороха выделен олигосахарид со степенью

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

полимеризации (СП) ÷ 20, который активно стимулировал корнеобразование проростков гречихи [6]. Из клеточного сока гороха получены олигосахариды, состоящие их галактозы, глюкозы, ксилозы, рамнозы, маннозы, стимулировавшие ризогенез в культуре трансплантантов гипокотилей гречихи [7].

1,3;1,6-β-D-глюканы являются нейтральными резервными полисахаридами морских бурых водорослей (ламинараны), а также входят в состав клеточных стенок многих высших растений (каллоза), лишайников (лихенан), грибов и микроорганизмов [8]. Из ламинарана бурой водоросли *Laminaria cichorioides* путем ферментативной трансформации получены 1,3;1,6-β-D-глюканы, обладающие иммуностимулирующим действием [9]. Кроме различий в длине углеводной цепи биологически активные 1,3;1,6-β-D-глюканы имели разное соотношение β-1,6-связанных глюкозных остатков, находящихся либо в виде ответвлений от основной цепи 1,3-β-D-глюкана, либо встроенных в основную цепь полисахарида. Установлено, что 1,3;1,6-β-D-глюканы с подобной структурой способны регулировать процессы метаболизма и проявлять иммуномодулирующие свойства, как у растений, так и у животных [10]. Ранее нами была показана способность некоторых 1,3;1,6-β-D-глюканов защищать растения картофеля от фитофтороза и X-вирусной инфекции [11, 12]. При обработке истинных семян и клубней картофеля 1,3;1,6-β-D-глюканами наблюдали проявление ранних признаков скрытой виroidной инфекции [13]. Кроме того, впервые была отмечена способность 1,3;1,6-β-D-глюканов стимулировать процесс прорастания истинных семян картофеля [14].

Цель работы – изучение влияния 1,3;1,6-β-D-глюкана (ламинарана из бурой водоросли *L. cichorioides*) и продуктов его ферментативной трансформации на процесс прорастания семян и формирование проростков гречихи.

### Экспериментальная часть

**Материалы.** В работе использовали ламинаран, выделенный из бурой водоросли *L. cichorioides* по ранее описанному методу [15]; эндо-1,3-β-D-глюканазу Ло, выделенную из кристаллического стебелька морского моллюска *Chlamys albidus* согласно процедуре, описанной ранее [16]; кинетин и глюкозу фирмы «Sigma» (США); гидрофобный сорбент ПХВ-1 «Реахим» (Россия); биогель Р-6 «Bio-RAD» (Англия); этиловый спирт 95° (ГОСТ 5963-67).

**Получение и характеристика 1,3;1,6-β-D-глюканов.** Препараты 1,3;1,6-β-D-глюканов получали действием на ламинаран эндо-1,3-β-D-глюканазы Ло с последующим хроматографированием продуктов реакции на гидрофобном сорбенте, как было описано ранее [9]. Для обработки семян использовали: природный ламинаран (глюкан I); 1,3;1,6-β-D-глюкоолигосахариды, элюированные с гидрофобного сорбента 2,5% этанолом (глюкан II); 1,3;1,6-β-D-глюкоолигосахариды, элюированные 7,5% этанолом (глюкан III); 1,3;1,6-β-D-глюкоолигосахариды (глюканы III А и III Б), получены разделением глюкана III путем дробного осаждения различными концентрациями этанола. (Процедуру разделения глюканов III А и III Б см. ниже.) Глюкан II дополнительно осаждали из водного раствора (100 мг/мл) холодным этанолом в соотношении EtOH : H<sub>2</sub>O = 10 : 1 (V/V). Структурные характеристики глюканов представлены в таблице 1.

Фракционирование глюкана III осуществляли следующим способом: 1.0 г образца глюкана растворяли в 10 мл дистиллированной воды, центрифугировали 10 мин при 6000 об/мин для удаления нерастворимых частиц; к супернатанту добавляли 40 мл холодного этанола (EtOH : H<sub>2</sub>O = 4 : 1), оставляли в холодильнике для формирования осадка. Осажденный полисахарид отделяли центрифугированием в течение 10 мин при 8000 об/мин, сушили этанолом и ацетоном. К супернатанту добавляли холодный этанол до соотношения EtOH : H<sub>2</sub>O = 10 : 1, оставляли в холодильнике. Осадок второго полисахарида также отделяли центрифугированием 10 мин 12000 об/мин и сушили, как описано выше. Выход первого осадка А составил 0,632 г, второго осадка Б – 0,138 г.

**Концентрацию глюканов** определяли по фенол-серноокислотному методу [17]. В качестве стандарта использовали глюкозу.

**Молекулярно-массовые распределения** 1,3;1,6-β-D-глюканов исследовали с помощью гель-проникающей хроматографии на биогеле Р-6 (колонка – 1,2×70 см, элюент – вода, скорость элюции – 0,35 мл/мин, объем собираемой фракции – 1,0 мл). В качестве стандартов для определения начала и конца элюции использовали ламинаран с установленной ранее молекулярной массой, равной 4,1 кДа, и глюкозу. Выход глюканов с колонки определяли по фенол-серноокислотному методу [17].

Молекулярную массу глюканов определяли с помощью MALDI-TOF-масс-спектрометрии. MALDI-TOF-масс-спектры глюканов регистрировали с помощью MALDI-TOF-масс-спектрометра BIFLEX III фирмы «Bruker» (Германия) с азотным лазером (337 нм) при ускоряющем напряжении 19 кВ.

Структуру олигосахаридов характеризовали с помощью ЯМР-спектроскопии.  $^{13}\text{C}$  ЯМР и  $^1\text{H}$  ЯМР спектры 1,3;1,6-β-D-глюканов регистрировали на ЯМР-спектрометре «Bruker» Avance DPX-300 при температуре 60 °С, растворитель – D<sub>2</sub>O, внутренний стандарт – ацетон, δ= 30,89 и 2,27 м.д. соответственно.

*Растительный материал.* Объектом исследования служили семена гречихи *Fagopyrum esculentum* Möñch сорта «Изумруд», предоставленные Приморским научно-исследовательским институтом сельского хозяйства РАСХН г. Уссурийска Приморского края. Эксперименты с одной партией семян урожая 2004 г. проводили в течение 2005–2007 гг. Семена стандартизировали по весу, средний вес сотни семян составлял 3,10±0,05 г. Во всех вариантах каждого опыта использовали по 30 семян. Повторность каждого варианта – трехкратная.

*Обработку семян* перед экспериментом проводили в соответствии с рекомендациями ГОСТ 12038-84 (3.8.3). Каждую порцию семян закладывали между двумя листами влажной фильтровальной бумаги 20×50 см, скатывали в рулоны (Р) и помещали в стеклянные стаканы, содержащие по 150 мл водных растворов глюканов с различными концентрациями (0,005; 0,02; 0,05; 0,1 и 0,5 мг/мл); в качестве положительного контроля использовали кинетин в концентрации 0,02 мг/мл, а основного контроля – дистиллированную воду. Стаканы с замоченными семенами инкубировали в термостате при температуре 26 °С.

*Динамику прорастания* семян изучали в течение четырех суток. Ежедневно в контрольных и опытных образцах подсчитывали количество проросших семян, измеряли длину (мм) основного корня и подсемядольного колена (гипокотиля). Кроме того, определяли сырую массу (г) первичного корня, гипокотиля и почечки (плюмулы).

Расчет основных морфометрических параметров прорастающих семян гречихи – энергию прорастания, всхожесть и скорость прорастания – проводили в соответствии с рекомендациями ГОСТ 12038-84.

Энергию прорастания рассчитывали как отношение количества нормально проросших семян к общему количеству семян каждого варианта на первые и вторые сутки от начала опыта и выражали в процентах.

Скорость прорастания (V) определяли как отношение совокупного процента проросших семян при ежедневном учете к количеству суток, прошедших от начала набухания семени до конца опыта, и рассчитывали по следующей формуле:

$$V = \sum A_i / t,$$

где  $A_i$  – количество проросших семян в каждые сутки, %;  $i = 1 \dots n$  – номера суток, прошедших от начала эксперимента;  $t$  – время, прошедшее от начала до конца опыта, сут. [18].

Всхожесть определяли как отношение количества проросших семян к исходному количеству семян каждого варианта на четвертые сутки от начала эксперимента и выражали в процентах.

Результаты рассчитывали как среднее арифметическое из трех повторных опытов. Достоверность оценивали с помощью  $t$ -критерия Стьюдента с вероятностью безошибочного прогноза более 95%. Для статистической обработки использовали компьютерную программу Excel.

### **Обсуждение результатов**

Для изучения влияния глюканов бурых водорослей на прорастание семян гречихи были выбраны ламинаран (глюкан I) и 2 образца глюкологосахаридов, полученных после ферментативной трансформации природного ламинарана при участии эндо-β-1,3-глюканазы Ло. Глюкан III оказался полидисперсной, гетерогенной по молекулярной массе смесью олигосахаридов (рис.1 (1)), которую разделяли дробным осаждением с помощью EtOH на две фракции (глюкан III А и глюкан III Б) (рис. 1 (2 и 3)).

Структурные характеристики образцов, полученные на основании данных  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии, представлены в таблице 1. Там же приведены результаты исследования молекулярно-массового распределения этих образцов с помощью MALDI-TOF-масс-спектрометрии.

Таблица 1. Характеристика 1,3;1,6-β-D-глюканов

Образцы 1,3;1,6-β-D-глюканов	Молекулярная масса, Да*	Соотношение β-1,3 : β-1,6-связей**	Сигнал C5 в <sup>13</sup> C ЯМР-спектре образца глюкана, м.д.
Глюкан I	4416,1	7,2 : 1	76,8
Глюкан II	1499,5	5,8 : 1	77,3, 77,2, 76,9 и 75,8
Глюкан III	1823,6	4,8 : 1	77,2 и 76,8
Глюкан III А	2310,0	5,0 : 1	...
Глюкан III Б	1661,5	3,7 : 1	77,3, 77,2, 76,9, 76,1 и 75,8

\* на основании спектров MALDI-TOF масс-спектрометрии;

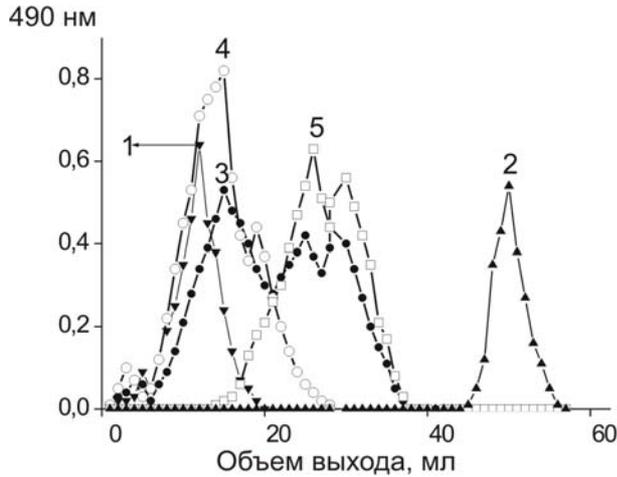
\*\* на основании спектров <sup>1</sup>H ЯМР.

Рис. 1. Гель-фильтрация на Биогеле Р-6 глюкана III (1), глюкана III А (2); глюкана III Б (3), ламинарана (4), глюкозы (5)

В <sup>13</sup>C ЯМР спектрах всех образцов наблюдалось шесть основных сигналов с химическими сдвигами при δ 104,3–103,8 (C1), 74,9–74,6 (C2), 86,4–85,8 (C3), 71,5–69,4 (C4), 77,5–76,9 (C5) и 62,6–62,0 (C6) м.д., характерными для 1,3-β-D-глюканов (ламинаранов) [19] и минорных – при δ 104,6 (C1) и 75,8 м.д. (C5) м.д., свидетельствующих о наличии β-1,6-связанных остатков глюкозы в виде разветвлений к основной цепи. В образцах глюкана III и III Б наблюдался сигнал с δ = 76,1 м.д., характерный для C5 глюкопиранозы, участвующей в образовании β-1,6-связей, находящихся в основной цепи полисахарида [9, 20, 21].

В <sup>1</sup>H ЯМР-спектрах глюкоолигосахаридов наблюдался широкий набор сигналов протонов при аномерных атомах углерода с δ = 4,98–4,77 (H1 β-1,3-связанной глюкопиранозы) и с δ = 4,69–4,60 м.д. (H1 β-1,6-связанной глюкопиранозы). Отношение суммарных интегральных интенсивностей этих сигналов позволило определить соотношение β-1,3 и β-1,6-связей в исследуемых образцах (табл. 1).

По данным MALDI-TOF-масс-спектрометрии, образцы глюканов являлись глюкоолигосахаридами, полидисперсными, с молекулярными массами в 2–3 раза ниже природного ламинарана (табл. 1). Ламинаран, экстрагированный горячей водой из бурой водоросли *L. cichorioides*, имеет в среднем 3–4 разветвления по шестому положению [9, 19]. Появление дополнительных разветвлений в низкомолекулярных глюкоолигосахаридах – продуктах ферментативной обработки этого ламинарана – обусловлено ярко выраженной трансгликозилирующей активностью эндо-β-1,3-глюканазы Ло из морского моллюска. В определенных условиях фермент синтезирует разнообразные разветвленные по C6 цепи глюканов и глюкоолигосахаридов [9, 20, 21]. Такие наиболее разветвленные олигосахариды содержатся в образцах глюканов III, III А; особенно их много в образце глюкана III Б (табл. 1). Биологическую активность этих образцов мы исследовали, используя в качестве модели проростки гречихи.

В таблице 2 представлены результаты сравнительного действия 1,3;1,6-β-D-глюканов на прорастание семян гречихи сорта «Изумруд». Как видно из таблицы 2, энергия прорастания семян при обработке глюканами через сутки от их начала набухания значительно выше контроля. На следующие сутки этот показатель превышал контроль только в случае глюканов III, III А и III Б. Это свидетельствует о способности глюканов ускорять процесс прорастания семян на самых ранних стадиях. В присутствии глюканов III, III А и III Б всхожесть семян были также выше контроля.

Таблица 2. Влияние 1,3;1,6-β-D-глюканов на прорастание семян гречихи *Fagopyrum esculentum* Mönch, сорта «Изумруд»

Образцы 1,3;1,6-β-D-глюканов	Концентрация, мг/мл	Энергия прорастания, %		Скорость, %	Всхожесть, %
		1-е сут.	2-е сут.		
H <sub>2</sub> O	0,00	40 ± 2	81 ± 3	71 ± 3	87 ± 4
Кинетин	0,02	45 ± 2	80 ± 4	70 ± 5	83 ± 3
Глюкан I	0,05	50 ± 3	78 ± 4	68 ± 2	82 ± 3
Глюкан II	0,05	40 ± 1	74 ± 2	66 ± 5	84 ± 2
Глюкан III	0,05	43 ± 2	78 ± 3	73 ± 4	93 ± 3
Глюкан III А	0,05	45 ± 3	79 ± 5	65 ± 5	95 ± 3
Глюкан III Б	0,05	48 ± 2	83 ± 5	67 ± 4	97 ± 5

Результаты исследований влияния 1,3;1,6-β-D-глюканов на формирование корня и гипокотыля развивающихся проростков гречихи представлены в таблице 3. Видно, что в присутствии глюканов III, III А и III Б на вторые сутки от начала опыта происходило интенсивное формирование основного корня и гипокотыля, тогда как в присутствии глюканов I и II – только на четвертые сутки (табл. 3).

Скорость формирования основного корня и гипокотыля, оцениваемые по показателям ежесуточного прироста (мм/сут.), представлены на рисунке 2. На третьи сутки развития проростков в присутствии глюканов I и II прирост длины корня (рис. 2, А) значительно превосходил прирост гипокотыля (рис. 2, Б). На четвертые сутки прирост длины и корня, и гипокотыля составил в среднем 25 мм. В присутствии же глюкана III наблюдался равномерный умеренный прирост гипокотыля на 13 мм/сут., а прирост основного корня был сравним с таковым для контрольного опыта (H<sub>2</sub>O). В присутствии гормона роста кинетина прирост корня и гипокотыля были значительно ниже (рис. 2).

На рисунке 3 представлены результаты исследования влияния различных концентраций глюкана III на прорастание семян гречихи. Из рисунка видно, что в присутствии глюкана III в концентрациях 0,005 и 0,5 мг/мл прирост длины основного корня и общей массы корней на 40% ниже, а в концентрациях 0,02 и 0,05 мг/мл на 12 и 20% соответственно выше, чем в контрольном опыте (H<sub>2</sub>O).

Положительное воздействие глюкана III в диапазоне концентраций от 0,005 до 0,5 мг/мл выразилось в быстром накоплении проростками сырой массы гипокотыля и плюмул (табл. 4). Максимальный прирост сырой массы гипокотыля наблюдали на вторые сутки, а на четвертые сутки значительно увеличилась масса плюмул.

Таблица 3. Влияние 1,3;1,6-β-D-глюканов на длину проростков гречихи *Fagopyrum esculentum* Mönch сорта «Изумруд»

Образцы 1,3;1,6-β-D-глюканов	Вторые сутки		Третьи сутки		Четвертые сутки	
	Корень	Гипокотель	Корень	Гипокотель	Корень	Гипокотель
Кинетин	112 ± 3	100 ± 2	88 ± 2	108 ± 2	75 ± 5	60 ± 2
Ламиран	99 ± 2	100 ± 3	96 ± 2	119 ± 5	106 ± 4	115 ± 3
Глюкан II	109 ± 2	99 ± 1	110 ± 6	121 ± 3	124 ± 4	117 ± 4
Глюкан III	128 ± 3	119 ± 2	109 ± 4	130 ± 3	117 ± 5	109 ± 3
Глюкан III А	127 ± 5	117 ± 4	111 ± 7	115 ± 5	108 ± 3	103 ± 4
Глюкан III Б	136 ± 6	110 ± 6	108 ± 5	107 ± 4	105 ± 4	99 ± 3

Концентрация глюканов – 0,05 мг/мл, кинетина – 0,02 мг/мл.

Таблица 4. Влияние глюкана III на массу гипокотыля и плюмул в проростках гречихи *Fagopyrum esculentum* Mönch сорта «Изумруд».

Концентрация, мг/мл	Масса гипокотыля, % от контроля			Масса плюмул на четвертые сут., % от контроля
	Вторые сутки	Третьи сутки	Четвертые сутки	
0,005	102 ± 2	97 ± 6	83 ± 4	97 ± 6
0,02	132 ± 8	102 ± 6	96 ± 5	118 ± 8
0,05	136 ± 7	105 ± 7	101 ± 4	129 ± 7
0,1	137 ± 5	98 ± 4	94 ± 6	124 ± 9
0,5	87 ± 5	58 ± 5	56 ± 4	102 ± 7

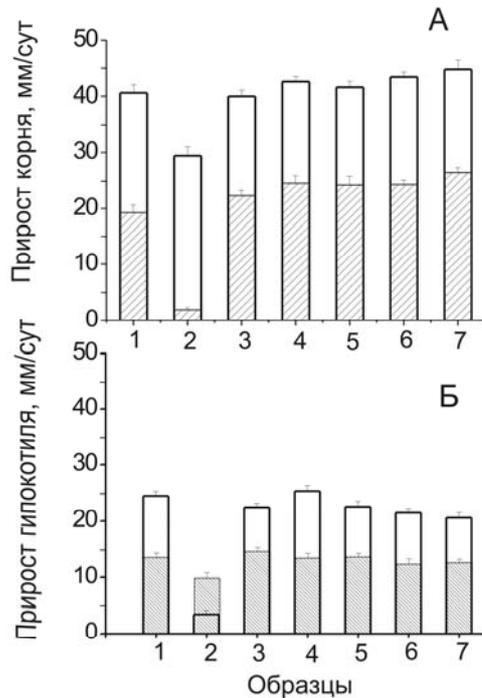


Рис. 2. Суточный прирост основного корня (А) и гипокотыля (Б) в проростках гречихи на третьи (■) и четвертые (□) сутки от замачивания семян в растворах кинетина (1), глюкоана III (2), ламинарана (3), глюкоана II (4), воды (5) при концентрации веществ 0,05 мг/мл, кинетина – 0,02 мг/мл

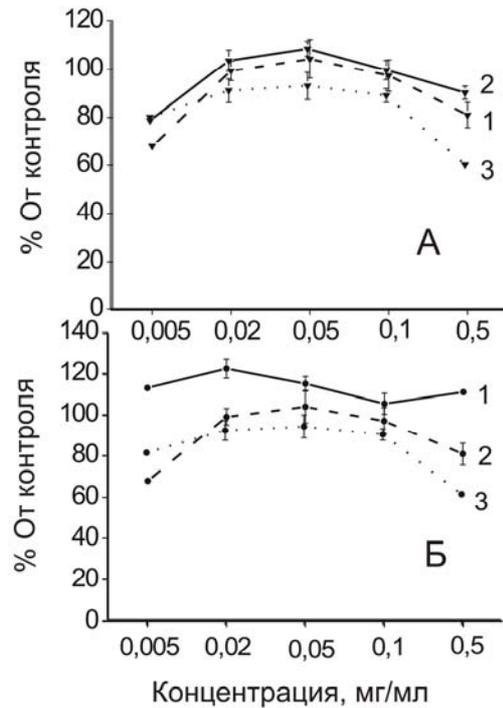


Рис. 3. Изменение размера (А) и массы корней (Б) проростков гречихи на вторые (1), третьи (2) и четвертые (3) сутки от начала эксперимента в присутствии различных концентраций глюкоана III

Вид проростков гречихи сорта «Изумруд», сформировавшихся в присутствии глюкоана III на вторые сутки от начала опыта, представлен на фотографии (рис. 4). Видно, что в концентрации 0,05 мг/мл препарат глюкоана III наиболее активно стимулировал рост молодых проростков и формирование боковых корней, которые в контрольных вариантах (H<sub>2</sub>O и гормон роста кинетин) к этому сроку еще не образовывались. Кинетин является «гормоном корневого благополучия», но дополнительное введение его в среду набухания может тормозить выработку собственного гормона в проростках. Повышенная концентрация цитокининов в среде ингибирует рост и развитие боковых корней [22].

Увеличение суммарной массы корневой системы, вероятно, происходило за счет активного формирования боковых корней (табл. 5). Влияние глюкоанов III, III А и III Б на размер и массу корня и гипокотыля обнаружилось уже на вторые сутки развития проростков. Особенно активно формировалась корневая система (размер (табл. 3) и масса основного корня (табл. 5)) в присутствии глюкоана III Б на вторые сутки. При этом относительный прирост массы гипокотыля значительно превышал прирост его размеров, что приводило к формированию коротких и стойких гипокотилей и предупреждало «израстание» проростков. Это видно из зависимости отношения длины корня к длине гипокотыля от времени роста (рис. 5). Глюкоан III Б по всем показателям активнее стимулировал как прорастание семян гречихи, так и оказывал положительное влияние на развивающиеся проростки, которое проявлялось в укорачивании и утолщении гипокотыля, а также в формировании мощной корневой системы.

Таблица 5. Влияние глюкоанов на массу корня и гипокотыля в проростках гречихи *Fagopyrum esculentum* Mönch сорта «Изумруд»

Образцы 1,3;1,6-β-D-глюкоанов	Вторые сутки		Третьи сутки		Четвертые сутки	
	Корень	Гипокотиль	Корень	Гипокотиль	Корень	Гипокотиль
Глюкоан III	149 ± 6	109 ± 4	105 ± 4	106 ± 5	97 ± 3	98 ± 3
Глюкоан III А	138 ± 5	118 ± 5	105 ± 6	103 ± 4	101 ± 5	99 ± 3
Глюкоан III Б	148 ± 6	131 ± 3	109 ± 6	104 ± 4	102 ± 4	101 ± 5

% от контроля; концентрация глюкоанов 0,05 мг/мл.

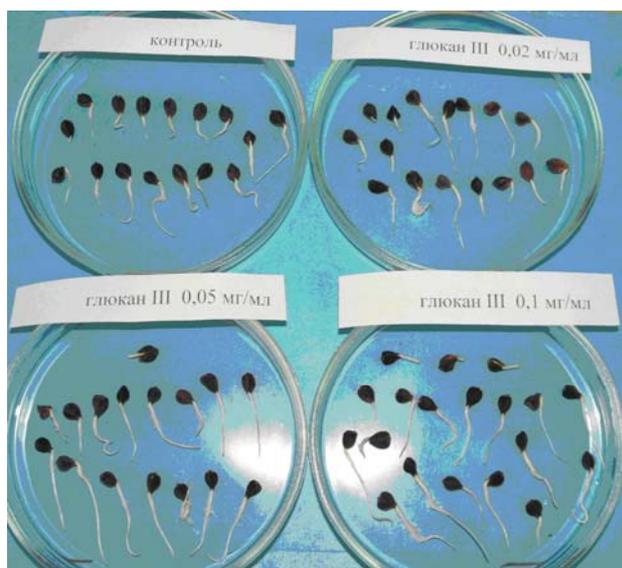


Рис. 4. Вид проростков гречихи, сформированных на вторые сутки от начала эксперимента под влиянием глюкана III. Верхняя левая чашка Петри содержит проростки контрольного опыта ( $H_2O$ )

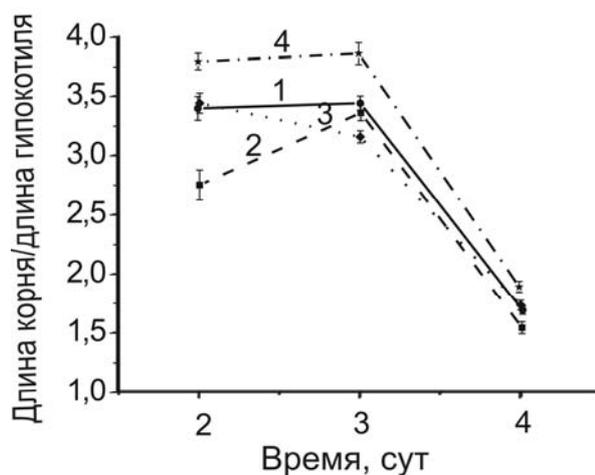


Рис. 5. Изменение отношения длины корня к длине гипокотилия проростков гречихи в течение первых четырех суток от начала набухания в воде (1), в присутствии глюкана III (2), глюкана III А (3), глюкана III Б (4)

Интересно отметить, что во всех экспериментах в присутствии глюканов мы наблюдали необычные проростки без корней, но с развившимся гипокотилем (см. рис. 4: верхняя часть чашек Петри, концентрации 0,05–0,10 мг/мл), у которых со временем развивалась мочковая корневая система при отсутствии основного корня. Ранее нами была обнаружена способность 1,3;1,6- $\beta$ -D-глюканов выявлять растения картофеля, инфицированные вирусом веретеновидности клубней картофеля (ВВКК), выращенные как из семян, так и из клубней [13]. Возможно, что в и данном случае обработка семян гречихи растворами 1,3;1,6- $\beta$ -D-глюканов выявила некондиционные семена.

### Выводы

Показано, что 1,3;1,6- $\beta$ -D-глюкоолигосахариды – продукты ферментативной трансформации ламинарана из бурой водоросли *Laminaria chichorioides* – ускоряют прорастание семян гречихи *Fagopyrum esculentum* Mönch сорта «Изумруд», увеличивая энергию прорастания, размеры и общую массу корней на ранней стадии развития проростков (1–2-е сут).

Показано, что образцы разветвленных 1,3;1,6- $\beta$ -D-глюкоолигосахаридов вызывают формирование крепких корней, а также коротких и стойких гипокотилей, препятствуя «израстанию» проростков гречихи.

Установлено, что 1,3;1,6- $\beta$ -D-глюкоолигосахариды проявляют эффект на прорастание семян гречихи при концентрации 0,02–0,10 мг/мл.

Показано, что биологическое действие 1,3;1,6- $\beta$ -D-глюканов обусловлено особенностями их структуры: наличием большого количества  $\beta$ -1,6-связанных остатков глюкозы в виде разветвлений, а также присутствием 1,6- $\beta$ -O-гликозидной связи в основной цепи молекул 1,3;1,6- $\beta$ -D-глюкоолигосахаридов.

### Список литературы

1. Ермаков А.Е., Княгиничев М.М., Мурри И.К. Биохимия культурных растений. Том I. Хлебные и крупяные культуры. М.; Л., 1958. 700 с.
2. Киселёв В.Е., Коваленко В.И., Минаева В.Г. Гречиха как источник флаваноидов. Новосибирск, 1985. 96 с.
3. Оводов Ю.С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность // Биоорганическая химия. 1998. Т. 24. №7. С. 483-501.
4. Елькина Е.А., Шубаков А.А., Оводов Ю.С. Влияние растительных полисахаридов на скорость прорастания семян *Lycopersicon esculentum* М. и *Cucumis sativus* L. // Химия растительного сырья. 2002. №2. С. 105–109.

5. Елькина Е.А., Шубаков А.А., Оводов Ю.С. Влияние пектинов на рост злаковых культур // Химия растительного сырья. 2005. №4. С. 53–56.
6. Заботина О.А., Гурьянов О.П., Маликов Р.Г., Аюкова Д.А. и др. Выделение олигосахаридов из побегов гороха и их физиологическая активность // Физиология растений. 1995. Т. 42. №3. С. 416–422.
7. Zabolina O.A., Gurjanov O.P., Ibragimova N.N., Ayupova D.A., Lazovaya V.V. Rhizogenesis in buckwheat thin-cell-layer explants: effect of plant oligosaccharides // Plant Science. 1998. V. 135. №2. P. 195–201.
8. Albersheim P., Darvill F.G., Augur C., Cheong J.J. et al. Oligosaccharins – oligosaccharide regulatory molecules // Acc. Chem. Res. 1992. V. 25. №2. P. 77–83.
9. Звягинцева Т.Н., Елякова Л.А., Исаков В.В. Ферментативное превращение ламинаранов в 1,3;1,6-β-D-глюканы, обладающие иммуностимулирующим действием // Биоорганическая химия. 1995. Т. 21. №3. С. 218–225.
10. Елякова Л.А. Регуляция β-1,3;1,6-глюканами растительного и животного иммунитета. Энзиматический синтез новых иммуностимуляторов // Вестник ДВО РАН. 1995. №2. С. 74–85.
11. Фёдорова В.Я., Уманец А.В., Звягинцева Т.Н., Елякова Л.А. Роль биологически активных β-глюканов в иммунитете картофеля // Защита растений на Дальнем Востоке. Хабаровск. 1995. С. 138–147.
12. Реунов А.В., Лапшина Л.А., Нагорская В.П., Елякова Л.А. Подавление 1,3;1,6-β-D-глюканом инфекций, вызванных X-вирусом картофеля, в листьях гоμφренны и дурмана // Физиология растений. 2000. Т. 47. №2. С. 240–243.
13. Фёдорова В.Я., Романова С.А., Звягинцева Т.Н., Анненков Б.Г., Реунов А.В., Елякова Л.А. О возможности применения 1,3;1,6-β-D-глюканов бурых водорослей для раннего выявления вирусной инфекции в картофеле // Сельскохозяйственная биология. Сер.: Биология растений. 2004. №5. С. 119–123.
14. Фёдорова В.Я., Романова С.А., Леднева В.А., Звягинцева Т.Н. Действие β-глюканов на вирусную инфекцию // Биотехнология. 1998. №6. С. 62–68.
15. Патент РФ №1642725. Способ получения ламинарана / Звягинцева Т.Н., Сундукова Е.В., Елякова Л.А. // Б.И. 1991. №14. С. 5.
16. Privalova N.M., Elyakova L.A. Purification and some properties of endo-β-1→3-glucanase from marine bivalve *Chlamys albidus* // Comp. Biochem. Physiol. 1978. V. 60 B. №3. 225–228.
17. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J., Roberts P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Anal. Chem. 1956. V. 28. №2. P. 350–356.
18. Ramana S., Biswas A.K., Kundu S., Saha J.K., Yadava R.B.R. Effect of distillery effluent on seed germination in some vegetable crops // Bioresource Technology. 2002. V. 82. №3. P. 273–275.
19. Звягинцева Т.Н., Широкова Н.И., Елякова Л.А. Структура ламинаранов из некоторых бурых водорослей // Биоорганическая химия. 1994. Т. 20. №12. С. 1349–1358.
20. Елякова Л.А., Исаков В.В., Лапшина Л.Д., Нагорская В.П. и др. Ферментативная трансформация 1,3;1,6-β-D-глюкана. Структура и активность полученных фрагментов // Биохимия. 2007. Т. 72. №1. С. 36–44.
21. Елякова Л.А., Мамонтова В.А., Бакунина И.Ю., Исаков В.В. Ферментативное трансгликозилирование как способ обнаружения и идентификации β-D-глюкоолигосахаридов в смеси ламинариолигосахаридов. Олигосахариды со степенью полимеризации 5 и 6 // Биоорганическая химия. 1998. Т. 24. №3. С. 211–218.
22. Кефели В.И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны. М., 1974. 250 с.

*Поступило в редакцию 31 декабря 2008 г.*

*После переработки 26 марта 2009 г.*