

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ОЛИГОСАХАРИДЫ: АУТСАЙДЕРЫ СРЕДИ ЭЛИСИТОРОВ?

Обзор

© 2015 И.А. Ларская, Т.А. Горшкова*

*Казанский институт биохимии и биофизики
Казанского научного центра РАН, 420111 Казань,
ул. Лобачевского, 2/31; факс: +7(843)292-7347,
электронная почта: gorshkova@kibb.knc.ru*

Поступила в редакцию 09.02.15

После доработки 16.03.15

В обзоре обосновывается необходимость исследования растительного олигогликома. Обобщена имеющаяся информация об олигосахаридах – физиологически-активных фрагментах полисахаридов клеточной стенки. Их выявление, характеристика строения, доказательство биологической активности – предметы настоящего бума в исследованиях 80–90-х годов. Однако по интенсивности исследований в последние десятилетия растительные олигосахариды можно отнести к аутсайдерам среди элиситоров различной природы. В обзоре раскрываются причины такого отношения к этим природным регуляторам, связанные в основном с проблемами их выделения и идентификации. Одновременно предлагаются подходы и методы, потенциал которых можно использовать для исследований. Освещаются вопросы метаболизма олигосахаридов в растениях, касающиеся их образования, транспорта и инактивации, суммируются данные о биологической активности и взаимодействии с гормонами. Рассмотрены существующие точки зрения о механизмах действия олигосахаридов: их рецепция, передача сигнала внутрь клетки, потенциальные мишени. Обсуждаются возможности использования этих соединений в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве и биотехнологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: растительные олигосахариды, олигосахариды, клеточная стенка, олигогликом.

Со времени обнаружения биологической активности олигосахаридных фрагментов полисахаридов растительной клеточной стенки прошло более 40 лет [1, 2]. Выявление регуляторной роли этих соединений было связано с исследованиями взаимодействия растений с патогенами. Фрагменты полисахаридов клеточных стенок, высвобождаемые под действием гидролаз, секретируемых микроорганизмами, служили элиситорами, запускающими ответные реакции растительного организма, например, образование фитоалексинов [2–4]. Затем было выявлено участие растительных олигосахаридов и в других процессах, в частности морфогенетических [5–7]. Для обозначения физиологически активных олигосахаридов был введен специальный термин – «олигосахариды», предложенный Альбершаймом [8], под руководством которого выполнены основополагающие работы по описанию и изучению этих соединений.

Принятые сокращения: АБК – абсцизовая кислота; ИУК – индолил-3-уксусная кислота (ауксин).

* Адресат для корреспонденции.

Первыми растительными олигосахаридами, для которых была выявлена физиологическая активность, были олигоурониды – фрагменты полигалактуронанов [1, 2]. В дальнейшем элиситорные свойства были обнаружены у олигомеров, входящих в состав практически всех известных полисахаридов растительной клеточной стенки: ксилоглюкана [9], ксилана [10], галактоглюкоманнана [11], целлюлозы [12], рамногалактуронана I [13], рамногалактуронана II [14]. Было установлено, что регуляторные свойства растительных олигосахаридов проявляются в диапазоне очень низких концентраций: 10^{-9} – 10^{-8} М для олигогалактуронидов [15] и фрагментов ксилоглюкана [7]. Структуре и обнаруженным эффектам растительных олигосахаридов были посвящены многочисленные обзоры [16–20]. В 80-х–начале 90-х годов был настоящий бум экспериментальных исследований в этой области, однако затем их интенсивность пошла на убыль. Публикуемые в настоящее время обзоры, посвященные характеристике функций различных компонентов клеточной стенки, всегда содержат раздел об олигосахаридах, од-

нако фактически базируются на результатах двадцатилетней давности. На фоне исключительного интереса к процессам сигналинга в живых организмах и интенсивном исследовании различных регуляторов олигосахаридов можно считать аутсайдерами среди элситоров разной природы, таких как, например, пептиды, образующиеся, как и фрагменты полимеров клеточной стенки, в результате катаболических процессов. В данном обзоре мы постарались выявить причины такой ситуации и наметить возможные варианты ее изменения, обобщив имеющиеся данные как по характеристике олигосахаридов и механизмах их действия, так и по развившимся в последнее время подходам к изучению сложных углеводов, которые потенциально могли бы быть эффективны в изучении олигогликоза растений.

ПРОБЛЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОЛИГОСАХАРИДОВ

Спад количества работ, посвященных изучению растительных олигосахаридов, отчасти объясняется трудностями, с которыми исследователи столкнулись при получении этих соединений, и характеристике их эффектов. Основными проблемами при работе с олигосахаридами принято считать две: 1) получение индивидуального олигосахарида с охарактеризованной структурой и 2) разработка адекватных тест-систем для анализа активности [21].

Сложность выделения индивидуальных олигосахаридов из растительной ткани связана с: 1) их низким содержанием; 2) высоким разнообразием эндогенных олигосахаридов в растительном организме; 3) трудностью разделения нейтральных олигосахаридов с одинаковой степенью полимеризации и, особенно, изомеров, имеющих сходный суммарный состав; 4) необходимостью предоставления доказательств, что эффект не связан с наличием во фракциях примесей неуглеводной природы, от которых сложно избавиться. Все это приводит к тому, что данных по извлечению олигосахаридов непосредственно из растительной ткани крайне мало (таблица). К немногочисленным исключениям принадлежат работы коллектива с участием О.А. Заботиной и А.И. Заботина [36, 37, 43, 44]. Сюда же, хотя и с некоторой осторожностью, можно отнести получение активных олигосахаридных фрагментов из среды культивирования клеток [46]. Следует отметить, что во всех перечисленных исследованиях не была достигнута очистка эндогенных олигосахаридов до уровня индивидуальных соединений; соответственно,

их структура не была охарактеризована. Еще меньше работ по выявлению эндогенных олигогликанов с известной структурой, обладающих биологической активностью: в водном экстракте плодов томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) выявлены эндогенные олигогалактурониды со степенью полимеризации 7–11 [41], а в среде культивирования клеток шпината (*Spinacia oleraceae* L.) обнаружены фрагменты ксиланоглюкана [47].

Столь ограниченное число работ по характеристике эндогенных олигогликанов находится в диссонансе с чрезвычайно большим разнообразием этих соединений в растительном организме. Множественные этапы хроматографирования подразделяют выделенные из осветленного гомогената и сконцентрированные олигомерные гликаны на многочисленные субфракции, которые, даже после финальных стадий разделения с использованием высокоэффективной анионо-обменной хроматографии, могут содержать несколько индивидуальных соединений (рис. 1); каждое из них в отдельности или при взаимодействии друг с другом может обладать регуляторными свойствами. Это означает, что в растительной ткани одновременно присутствует сложная совокупность олигомерных гликанов.

Моносахаридный анализ суммарной олигосахаридной фракции выявляет мономеры, характерные для большинства полисахаридов клеточной стенки, как нейтральных, так и содержащих уруновые кислоты. При этом общее содержание олигосахаридов в растительных тканях невелико и лежит в пределах 10^{-7} – 10^{-5} М [41]. По нашим данным для наработки 1 мг частично очищенной фракции олигосахаридов из проростков гороха (*Pisum sativum* L.) необходимо не менее 25 кг растительного материала. Учитывая, что олигосахариды оказывают физиологическое действие в чрезвычайно низких концентрациях, можно считать, что локальных концентраций конкретных соединений вполне достаточно для обеспечения эффекта.

Сложности выделения и очистки эндогенных олигосахаридов заставили исследователей использовать не экстрагированные из растительной ткани олигогликаны, а полученные *in vitro* при химическом или ферментативном гидролизе полисахаридов [11, 12]. Это значительно облегчает очистку индивидуальных соединений, однако порождает скептическое отношение к результатам, поскольку требует доказательств, что аналогичные соединения присутствуют в ткани растений, а наблюдаемые эффекты действительно контролируются ими в интактной системе.

Растительные олигосахарины и их физиологические эффекты

Олигосахариды	Продемонстрированный эффект	Объект для выделения олигосахаридов	Способ получения	Используемая концентрация	Ссылка
1	2	3	4	5	6
Олигогалактурониды	индукция образования фитоалексинов	стебли проростков, гипокотили соевых бобов	КГ	1000 мкг/мл	[2]
		клетки суспензионной культуры петрушки	ФГ	100–200 мкг/мл	[22]
	ингибирование ризогенеза <i>in vitro</i>	?	ФГ	3 мкг/мл	[23]
	индукция окислительного взрыва	стебли проростков соевых бобов	КГ	1,8–9 мкг/мл	[24]
	стимуляция утолщения клеточных стенок пероцикла	?	ФГ	1 мкг/мл	[25]
	индукция образования лигнина	клетки суспензионной культуры клещевины	ФГ	250–300 мкг/мл	[26]
	индукция синтеза этилена	клетки суспензионной культуры груши	ФГ	200 мкг/мл	[27]
		коммерческий пектин цитрусовых («Sigma», США)	ФГ	6×10^{-4} М	[28]
	стимуляция <i>in vitro</i> образования цветочных бутонов	клетки суспензионной культуры платана	ФГ	0,5–1 мкг/мл	[15]
	усиление цитокинин-индуцированного формирования стеблей	?	ФГ	2 мкг/мл	[29]
	деполяризация клеточной мембраны	коммерческий пектин цитрусовых («Sigma», США)	КГ	1000 мкг/мл	[30]
Фрагменты ксилоглюкана	ингибирование роста сегментов стеблей, стимулированного ауксином	клетки суспензионной культуры платана	ФГ	10^{-8} М	[9]
		клетки суспензионной культуры розы	ФГ	10^{-9} М	[31]
	ингибирование роста сегментов стеблей, стимулированного гиббереллином	клетки суспензионной культуры моркови	ФГ	10^{-11} – 10^{-9} М	[32]
	активация пероксидаз клеточной стенки	клетки суспензионной культуры моркови	ФГ	10^{-11} – 10^{-9} М	[33]
	активация целлюлазы	клетки суспензионной культуры розы	ФГ	10^{-6} М	[34]
	стимуляция образования каллуса и меристематических зон	–	С	10^{-8} М	[35]
	повышение морозостойкости озимых растений	листья озимой пшеницы	Э	5–10 мкг/мл	[36, 37]
	индукция синтеза этилена	клетки суспензионной культуры розы	ФГ	1 мкг/г	[38]

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6
Фрагменты галактогло-команнана	формирование трахеидных элементов	вторичные клеточные стенки ели	КГ	20–50 мкг/мл	[39]
	повышение жизнеспособности протопластов	древесина тополя	ФГ	12×10^{-6} М	[11]
	ингибирование ИУК-индуцированного удлинения первичных корней	вторичные клеточные стенки ели	КГ	10^{-11} – 10^{-6} М	[40]
Фрагменты пектинов	усиление синтеза этилена	плоды томата	Э	2 мкг/г	[41]
	стимуляция корнеобразования <i>in vitro</i> в отсутствие гормонов	листья проростков гороха	КГ	10 мкг/мл	[42]
	стимуляция ИУК-индуцируемого корнеобразования <i>in vitro</i>	листья проростков гороха	Э	5 мкг/мл	[43]
		листья и корни проростков гороха	Э	5 мкг/мл	[44]
	усиление продукции защитных веществ	коммерческий пектин цитрусовых («Sigma», США)	ФГ	100–1000 мкг/мл	[4]
накопление антоцианов в плодах винограда	коммерческий пектин	ФГ	500–1500 мкг/мл	[45]	

Примечание. ФГ – ферментативный гидролиз, КГ – кислотный гидролиз, Э – экстракция без предварительного гидролиза, С – химический синтез, ? – в статье отсутствует точное указание на объект для выделения олигосахаридов.

Еще один подход – использование синтетических олигосахаридов [18, 35]. Химический синтез позволяет как наработать необходимое количество вещества для исследования механизмов действия олигосахаридов, так и избежать вопросов о возможном влиянии высокоактивных примесей неуглеводной природы. Но в этом случае отсутствие разработанных методик для синтеза и обеспечения сложных стереохимических характеристик большинства растительных олигосахаридов (во всяком случае, со степенью полимеризации более 7) накладывает свои ограничения. Кроме того, оба подхода оставляют открытым вопрос о наличии аналогичных молекул *in vivo*.

Даже если олигосахарид очищен до уровня индивидуального соединения или хотя бы смеси небольшого числа компонентов, установление его структуры является нетривиальной задачей, что связано с нелинейностью молекул, разнообразием возможных типов связей, числом и расположением модифицирующих групп. Однако задача имеет отработанные способы решений, которые заключаются в использовании различных вариантов масс-спектрометрии [48–50] и

ЯМР-спектроскопии [51–53]. В таких работах лимитирующим фактором служит не столько анализ как таковой, сколько трудоемкость очистки вещества и/или накопления его количества, достаточного для анализа.

Выявление биологической активности любого соединения предполагает использование подходящей тест-системы. Удачным примером, который и привел к открытию олигосахаридов, было исследование образования фитоалексинов, что позволило сразу выявить сигнальную роль исследуемых соединений в защитных реакциях растений [8]. Изучение других эффектов олигосахаридов требовало иных подходов. Разнообразие потенциально активных фрагментов полисахаридов клеточной стенки делало крайне востребованной разработку тест-систем с высокой пропускной способностью [9, 42]. Полная неопределенность в возможных мишенях действия этих эффекторов заставляла анализировать их влияние на такие интегральные процессы, как рост, морфогенез [23, 54] или адаптация к внешним воздействиям [37]. Большинство выявленных олигосахаридов охарактеризованы как стимуляторы или ингибиторы удлинения отрезков

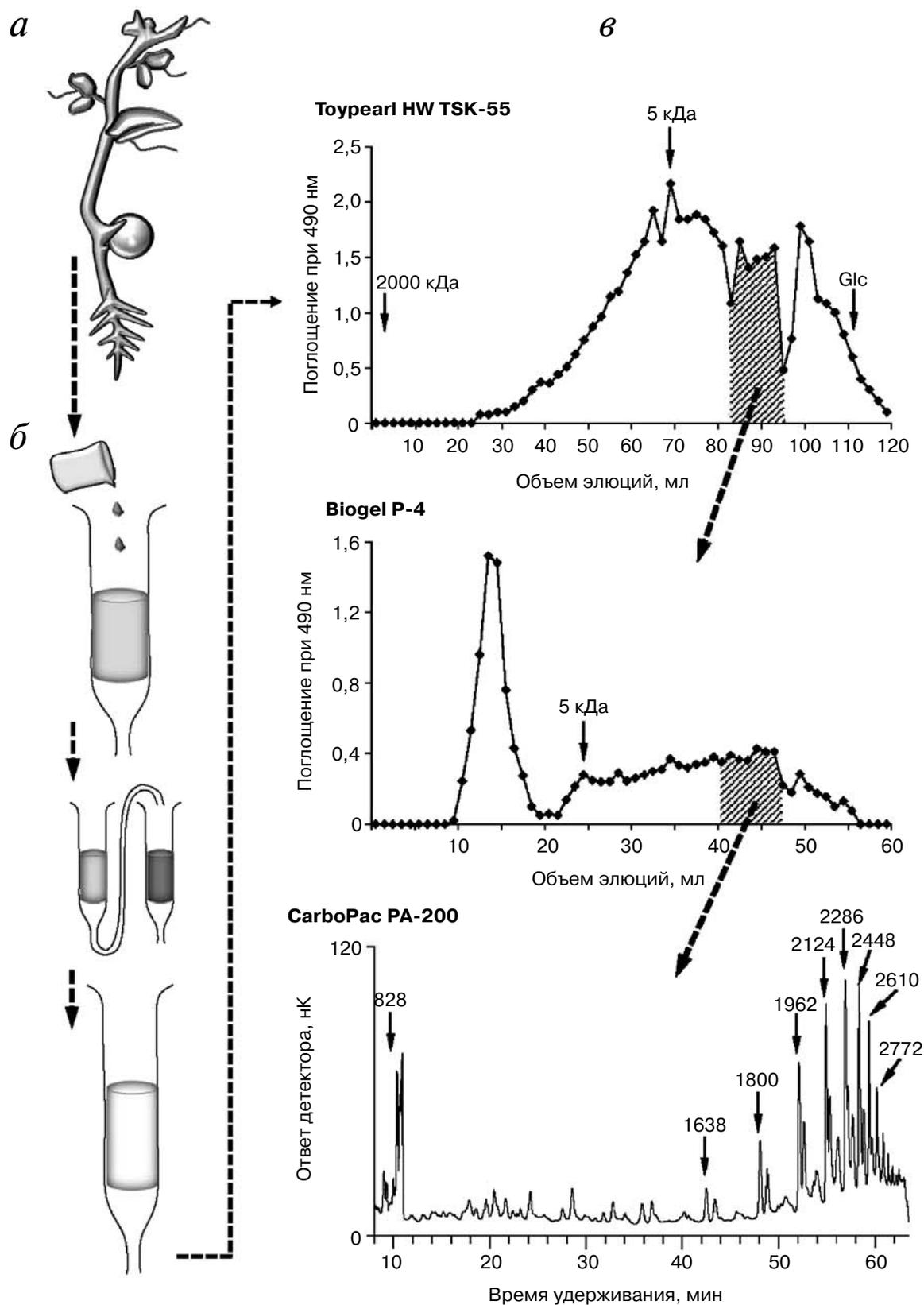


Рис. 1. Этапы выделения эндогенных олигосахаридов из растительного организма: *а* – растительный материал (проростки гороха), *б* – предварительные этапы очистки водорастворимой фракции олигосахаридов, *в* – разделение олигосахаридных смесей и определение степени полимеризации отдельных олигосахаридов, присутствующих в субфракциях

стебля [9, 55, 56]. Существенно большее разнообразие ответов дает исследование морфогенеза в культурах *in vitro* [5, 29, 39], однако этот метод крайне трудоемок. Более того, тест-системы, разработанные к настоящему моменту, не охватывают все возможное многообразие ответов растительной клетки на различные олигосахарины.

Однако проблемы в изучении действия олигосахаридов могут носить еще более системный характер. Имея в виду огромное разнообразие олигосахаридных фрагментов, присутствующих в растительной ткани, легко предположить, что для достижения определенного физиологического ответа необходимо одновременное наличие не одного олигосахарина, а определенной комбинации различных фрагментов полисахаридов клеточной стенки. Известно, например, что эффекты олигосахаридных элиситоров, являющихся фрагментами полимеров клеточной стенки гриба, с одной стороны, и растения-хозяина с другой, обладают синергизмом: защитные реакции растения включались при более низких концентрациях олигосахаридов разного строения, если они действовали вместе [22]. Идея о совместном действии комбинации олигосахаридов примыкает к концепции молекулярных паттернов, развиваемой для организмов различных типов. Эта концепция постулирует, что на разных стадиях развития и при воздействиях внешних факторов возникают характерные совокупности низкомолекулярных соединений, которые служат сигналами для реализации защитного ответа или программ развития клетки [57–59]. В растительном организме, учитывая особую роль клеточной стенки, важнейшим компонентом таких паттернов могут быть олигосахариды. Для экспериментального тестирования подобных гипотез необходимо анализировать действие олигосахаридов не «поштучно», а в некоторых комбинациях, состав которых только предстоит выяснить – олигогликом растительных клеток, его динамика в различных физиологических ситуациях практически не охарактеризованы. В лучшем случае показано изменение профиля элюции олигомерных гликанов, изолированных в различных физиологических ситуациях. Например, продемонстрировано, что на профиле элюции олигомерных соединений, экстрагированных в первые часы холодового закаливания растений пшеницы, появляется особое плечо, которое отсутствует на профиле элюции экстракта из незакаленных растений. Субфракционирование соединений, элюируемых в этой области, привело к обнаружению олигосахаридной фракции, повышающей морозостойкость [60].

Практически полное отсутствие данных, характеризующих олигогликом растительных клеток, объясняется, в первую очередь, отсутствием адекватных методических возможностей. Методы метабомики, используемые для анализа многокомпонентных смесей низкомолекулярных соединений неуглеводной природы, пока не получили должного развития для характеристики сложных совокупностей олигосахаридов. Маркерные ионы, на выявлении которых строится детекция определенных соединений, для олигогликанов до сих пор практически не идентифицированы. Не реализованы для растительных тканей и другие подходы гликомики, которые в последнее время начинают появляться, но используются, в основном, в исследованиях медицинской тематики [61–64]. Поэтому сведения о растительных олигосахаридах, которые мы рассмотрим в последующих разделах, имеются только для отдельных фрагментов конкретных полисахаридов.

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОЛИГОСАХАРИДАХ РАСТЕНИЙ

Спектр обнаруженных эффектов растительных олигосахаридов очень широк (таблица). К числу наиболее охарактеризованных принадлежат активация разнообразных защитных эффектов, а также регуляция роста и дифференцировки, продемонстрированная на различных эксплантах. Так, олигосахариды, в первую очередь олигогалактуронины, активируют синтез фитоалексинов [2], эндо- β -1,3-глюканаз и хитиназ [22], ингибитора протеиназ [65] и пероксидаз [33], индуцируют окислительный взрыв [24, 66], стимулируют синтез лигнина [26] и продукцию этилена [27, 28]. Многократно описано ингибирование роста отрезков стеблей при воздействии различных олигосахаридов, в частности олигоуронинов [55], фрагментов ксилоглюкана [9, 31, 54] и галактоглюкоманнана [11, 56]; реже отмечается стимуляция роста [34]. Разнообразные эффекты оказывают олигосахариды на морфогенетические процессы *in vitro*, например, на образование корней [23, 35, 43, 44] и цветочных почек [15, 67]. Из других эффектов отметим стимуляцию деления устьичных клеток и утолщение клеточных стенок перидермы [25], а также повышение морозостойкости озимых растений [36, 37].

Наиболее охарактеризованными олигосахаридами, образующимися при расщеплении полисахаридов клеточной стенки, являются фрагменты полигалактуроновой кислоты и ксило-

глюкана (таблица). Отчасти это связано с тем, что эти полисахариды и гидролизующие их эндогликаны коммерчески доступны. Кроме того, гомогенные фракции олигогалактуронидов – линейных молекул, содержащих 2–20 остатков α -(1→4)-D-GalA – сравнительно просто нарабатывать, поскольку эти молекулы не имеют изомеров, во всяком случае, в отсутствие модифицирующих групп.

Аргументами в пользу того, что физиологическое действие оказывают именно олигогликаны, а не продукты их деградации или примеси, содержащиеся в препарате, служит зависимость эффекта от структуры олигосахаридов, а также исчезновение эффекта при обработке препарата соответствующими гликозидазами. Так, активность олигосахаридной фракции, влияющей на морозостойкость, не изменялась при обработке протеиназами или при кипячении, но резко падала при обработке препарата гликозидазами [60]. Сходные подходы использовались и при аргументировании олигосахаридной природы фактора, выделенного из среды культивирования клеток циннии (*Zinnia elegans* L.), который стимулировал рост клеток и ингибировал дифференцировку трахеальных элементов [68].

В работах по анализу биологической активности олигомеров при изменении их структуры было установлено, что для проявления активности олигоуронидной цепи важна структура восстанавливающего конца: его модификации приводили к резкому снижению действия олигосахарина в целой серии биотестов [69]. Показано, что большинство эффектов, описанных для олигогалактуронидов, вызывается фрагментами со степенью полимеризации 10–16 [20]. Другие полианионы – полиглутаминовая кислота, гиалуроновая кислота, сульфат декстрана, олигоманноурониды – не проявляют активность, сходную с эффектом олигогалактуронидов [15]. Для активации синтеза ингибитора протеиназ уронидам требуется полуацетальное кольцо и свободный карбоксил при C-6; изменение стехиометрии гидроксильной группы в положении C-3 или образовании двойной связи при C-5 снижают эффект олигосахаридов [70]. Полностью метилированные олигогалактурониды, а также нелинейные изомеры активности не проявляют [71].

Фрагменты ксилоглюкана имеют значительно более сложную структуру, чем олигоурониды. Канонический наносахаридный фрагмент содержит остов из четырех остатков β -(1→4)-D-глюкозы; к трем из них в положении C-6 присоединены остатки α -D-ксилозы, к одному из которых, в свою очередь, в положении C-6 присоединена β -D-галактоза; завершает композицию

α -L-фукоза, присоединенная к C-2 галактозы (рис. 2). Детальные исследования, включавшие наработку различных модифицированных вариантов этого фрагмента и тестированием их активности, показали, что именно наличие остатка фукозы является необходимым условием как для проявления наиболее известного антиауксинового действия олигосахаридов (ингибирование удлинения, вызванного ауксином) [54, 72, 73], так и для влияния на иммунные реакции растения [74] – все олигосахариды, лишенные фукозы, оказались неактивными (рис. 2). Место фукозы может занять структурно сходный α -L-галактозный остаток. Так происходит в *mur1* мутанте резуховидки (*Arabidopsis thaliana* L.), у которого в первичной клеточной стенке надземной части растения имеется менее, чем 2% от нормального содержания α -фукозы. Полученные ксилоглюкановые фрагменты из клеточных стенок этого мутанта не содержали терминальных α -L-фукозных остатков, характерных для соответствующих субъединиц ксилоглюкана растений дикого типа. Место фукозы занимал α -L-галактозный остаток, при этом ингибирующий эффект фрагментов на рост, индуцированный ауксином, не менялся [73]. Некоторые другие элементы структуры активных ксилоглюкановых олигосахаридов также влияли на характер их действия, но имели меньшее значение, чем остаток фукозы.

Структура фрагментов, наиболее активных у разных видов растений, не всегда универсальна; например, для наибольшей индукции образования фитоалексинов степень полимеризации олигогалактуронидов составляет 12 галактуроновых остатков для сои (*Glycine max* L.), 9 – для фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) и 13 – для клещевины (*Ricinus communis* L.) [3, 70]. Олигосахариды оказывают эффект в гетерологичных системах: олигосахариды, выделенные из одного вида растений, могут вызывать физиологический ответ в другом [44, 76].

Как образуются? Механизмы образования олигосахаридов в растительных тканях могут быть связаны, по крайней мере, теоретически, с тремя типами процессов. Некоторые олигосахариды специально синтезируются как таковые и не являются фрагментами полисахаридов клеточной стенки. Среди них практически не встречаются олигомеры со степенью полимеризации более 3–4. Часто это невосстанавливающие углеводы, служащие транспортными формами ассимилятов. К наиболее известным из тетрамеров относится стахиоза. Содержание таких олигосахаридов в растительных тканях на порядки выше, чем олигосахаридов, обсуждаемых в данной статье.

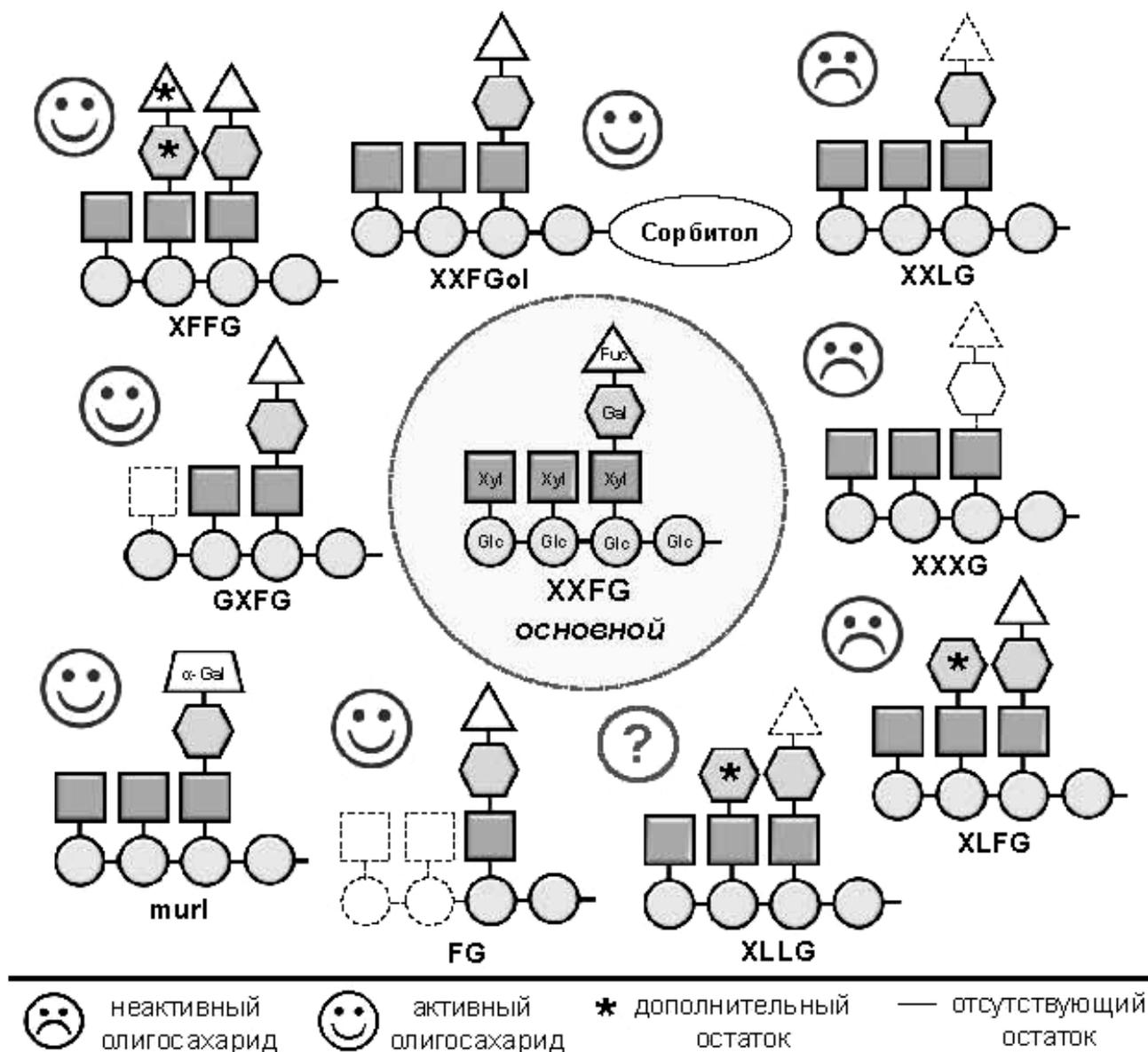


Рис. 2. Влияние изменения структуры ксилоглюканового олигосахарида XXFG на его биологическую активность ([54], [72], [73])

Существует вероятность, что разнообразные олигогликаны – это «недостроенные» полисахариды, которых процесс секреции из аппарата Гольджи застал на этапе синтеза. Однако анализ кинетики включения меченых субстратов в полимерные и олигомерные углеводы, выявляемые в среде культивирования суспензионных клеток, свидетельствует, что олигомерные фрагменты возникают позднее полимерных [77]. Хотя подобный анализ выполнен только на примере ксилоглюкана, считается общепринятым, что физиологически активные олигосахариды образуются при расщеплении полисахаридов.

Расщепление полисахаридов с образованием олигомеров может происходить как ферментативно, и это основной путь, так и неферментативно. Ферментативное расщепление полисахаридов на олигомерные фрагменты требует участия эндогликаназ, например, полигалактуроназы для появления олигоуронидов и эндо-(1→4)-β-глюканазы для фрагментов ксилоглюкана. Эндогликаназы широко представлены в растительной клеточной стенке, при этом ферменты, работающие с конкретным полисахаридом, кодируются обширными мультигенными семействами. Однако убедительные данные, что эти

ферменты действительно высвобождают олигосахариды в соответствующее их физиологической активности время и в соответствующем месте, пока отсутствуют [20]. Более того, эндогликанызы, расщепляющие остовы некоторых полисахаридных цепей, например, эндогалактаназы и эндоарабианазы в растениях, до сих пор не обнаружены [78, 79]. При формировании симбиотических сообществ образование олигосахаридов может интенсифицироваться за счет эндогликаназ микроорганизмов.

Полисахариды клеточной стенки живых клеток растений могут также подвергаться неферментативному расщеплению. Например, неферментативная деградация различных полисахаридов клеточной стенки (ксилана, полигалактуронана, арабиногалактана и целлюлозы) происходит при инкубации с 0,1–10 мМ H_2O_2 [80]. В клеточных стенках растений при взаимодействии H_2O_2 с медью (II) продуцируются свободные гидроксильные радикалы, которые способны вызывать расщепление полисахаридов растений, таких как ксилоглюкан [81], с высоким выходом низкомолекулярных фракций и хорошей воспроизводимостью. Этот неферментативный механизм деполимеризации полисахаридов имеет место при увеличении размеров клеток, созревании плодов и опадении органов [82, 83].

Таким образом, можно считать, что углеводные полимеры клеточной стенки помимо остальной функций служат хранителями «законсервированных» сигнальных молекул [84, 85], а действие олигосахаридов — пример физиологической активности продуктов катаболизма [86].

Как транспортируются? Транспорт олигосахаридов по растению происходит по ксилеме. Этот вывод сделан на основании распределения метки после введения в растение меченых олигалактуронидов [87], фрагментов ксилоглюкана [88], а также олигосахаридных фрагментов N-гликанов [89]. Другим доводом в пользу существования восходящего транспорта олигосахаридов могут служить эксперименты по их влиянию на процесс низкотемпературной адаптации [37, 60]. Олигосахарин, добавленный в среду выращивания проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), стимулировал повышение устойчивости, оцениваемое по выходу электролитов из листьев, что может быть косвенным свидетельством его продвижения вверх по растению; однако исследования с меченым олигосахаридом в этих работах проведены не были. По флоэме олигосахариды, по-видимому, не передвигаются, поскольку при внесении меченых фрагментов пектиновых веществ в ткани механически поврежденных листьев метка остава-

лась распределенной локально в течение 20 ч [90]. Этот эксперимент свидетельствует и о том, что апопластный транспорт олигосахаридов если и осуществляется, то на небольшие расстояния. Этого, однако, достаточно для попадания олигосахаридов, образовавшихся в других тканях, в сосуды ксилемы. Следовательно, для олигосахаридов существует система транспорта, а значит, физиологический эффект может проявляться не в тех тканях, где олигосахарид образовался.

В ходе транспорта олигосахариды могут подвергаться существенной модификации или гидролизу. Так, олигогалактурониды расщепляются на более мелкие олигомеры или связываются с неидентифицированным спиртом [87]. Фрагменты ксилоглюкана также модифицируются и подвергаются деградации в ходе транспорта, однако часть фрагментов ксилоглюкана (XXFG), добавленных экзогенно и транспортированных в проростках гороха на расстояние 5–6 см, оставалась неизменной даже через 24 ч после введения в стебель [88].

Как действуют? Разнообразие структур олигосахаридов, зависимость характера реакции от действующих концентраций и широкий спектр оказываемых биологических эффектов позволяют предположить, что действие этих веществ осуществляется через множественные механизмы [20]. Хотя охарактеризовано большое количество физиологических ответов растений на олигосахариды, механизм, с помощью которого происходит восприятие и передача сигнала, в большинстве случаев непонятен до сих пор. Молекулы олигосахаридов не проникают внутрь клетки [91], поэтому их действие должно обеспечиваться за счет структур, локализованных либо непосредственно в клеточной стенке, либо на плазматической мембране.

Сложная стереохимия и многочисленные гидроксилы, характерные для гликозидных остатков, обеспечивают условия для узнавания олигосахаридов рецепторами, поиски которых велись довольно активно. Эти исследования наиболее успешно развивались на примере β -(1 \rightarrow 6)-олигоглюканов, продуцируемых из клеточной стенки грибов, инфицирующих растения. В ходе этих работ был охарактеризован 70 кДа белок, с высокой специфичностью связывавший гепта- β -глюкановый элиситор, причем связывание характеризуется насыщением, обратимостью и сродством (K_d 3 нМ), вполне достаточным для проявления элиситорной активности при концентрации олигосахарина, оказывающей физиологический эффект [92]. Однако специфичное и обратимое связывание — недостаточные критерии для того, чтобы белок мог считаться рецептором; необходимо доказательство

его участия в пути сигнальной трансдукции, запускаемой β -глюкановыми олигосахаридами. Подобных аргументов до настоящего момента не было получено, несмотря на интенсивные исследования в этом направлении.

Для олигосахаридов, являющихся фрагментами полисахаридов растительной клеточной стенки, ситуация с поиском рецепторов еще менее однозначна. Например, для фрагментов ксиллоглюкана чрезвычайно низкие концентрации, при которых проявляется ряд эффектов (10^{-9} – 10^{-8} М), и их зависимость от структуры фрагмента (рис. 2) свидетельствуют о наличии высокоспецифичных рецепторов для этих олигосахаридов. По крайней мере некоторые из этих эффектов, например, повышение активности внутриклеточных ферментов, проявляются в отсутствие клеточной стенки – на изолированных протопластах [93]. Ингибиторы транскрипции и трансляции не снимают эффекта олигосахарина, который проявляется уже через несколько минут после его добавления в среду. Совокупность этих данных служит аргументом в пользу наличия рецепторов для фрагментов ксиллоглюкана на плазматической мембране и каскада для передачи сигнала внутрь клетки, однако никаких конкретных кандидатов на роль рецепторов идентифицировано не было.

Для объяснения механизма восприятия сигнала олигоуронидов построена красивая модель с участием в качестве рецепторов представителей семейства WAK (Wall Associated Kinase) – трансмембранных белков, содержащих цитоплазматический Ser/Thr киназный домен и расположенный за пределами плазмалеммы домен, взаимодействующий с пектиновыми веществами клеточной стенки. Эти ферменты кодируются в геноме *Arabidopsis* пятью генами (WAK1–WAK5), которые дифференциально экспрессируются в различных органах, а также при стрессовых воздействиях. Предполагается наличие в клеточной стенке ковалентной связи между такими киназами и гомогалактуронами [94]. Помимо этого для WAK1 и WAK2 продемонстрирована способность домена, расположенного снаружи от плазмалеммы, к нековалентному обратимому взаимодействию с дезацетилованными поли- и олигоуронидами *in vitro* [95, 96]. При исследовании wak1-мутантов выявлено по крайней мере пять конкретных аминокислот, необходимых для этого взаимодействия [97], которое осуществляется, по-видимому, с заряженными группами урновых кислот. Специфичность связывания определяется не только наличием заряда, поскольку другие полианионы, например, сходные по строению альгинаты, связывали WAK1 с меньшим сродством [95].

Были получены аргументы в пользу того, что по крайней мере WAK1 и WAK2 действительно являются рецепторами олигоуронидов и участвуют в передаче сигнала. Протопласты, полученные из листьев wak2-1 мутантов, не были способны так же изменять экспрессию сотен генов в ответ на обработку олигоуронидами, как аналогичные образцы контрольных растений [96]. Экспрессия в гетерологичной системе химерных белков, содержащих расположенный снаружи от плазмалеммы домен WAK1 и цитоплазматический киназный домен от неродственного белка, приводила к появлению у химерной киназы чувствительности к олигоуронидам [98]. Показано, что в присутствии олигогалактоуронидов активируются некоторые MAP-киназы (Mitogen-Activated Protein Kinase) (в частности, MAPK3), участвующие в передаче сигнала в растительной клетке, причем этот эффект видоизменяется у wak2-1 мутантов [96]. Тем не менее однозначная интерпретация полученных результатов затруднена в связи с отсутствием некоторых ожидаемых эффектов [99] и относительно небольшой величиной наблюдаемых изменений.

Одной из первичных реакций на олигосахариды является изменение ионных потоков и деполяризация мембранного потенциала клеток [20, 100]. Так, на ранней стадии отклика клеток суспензионной культуры на присутствие олигогалактуронидов происходил выброс K^+ и Cl^- из цитоплазмы клеток [101] и выброс Ca^{2+} внутрь клетки [71, 100, 102]. Олигогалактурониды также индуцировали «окислительный взрыв» – после их добавления наблюдалось образование H_2O_2 [24]. При оценке эффектов олигоуронидов на одной экспериментальной системе было показано, что выброс Ca^{2+} в цитоплазму предшествовал появлению перекиси водорода, а блокирование транспорта Ca^{2+} предотвращало «окислительный взрыв», поэтому в цепочке событий именно потокам Ca^{2+} отводится ведущая роль [71].

Выброс Ca^{2+} в цитоплазму под воздействием олигоуронидов блокируется тетрабромобензотриазолом – ингибитором серин-треониновых киназ [71, 103], что позволяет говорить об изменении характера фосфорилирования компонентов кальциевых каналов под действием этих олигосахаридов [103], однако экспериментальные данные, неоспоримо доказывающие это, пока отсутствуют. Высказана гипотеза, что сигнал олигоуронидов воспринимается киназами WAK, которые осуществляют фосфорилирование, приводящее к изменению потоков Ca^{2+} [71].

Белки, которые подвергаются фосфорилированию с участием WAK, до сих пор не идентифицированы [104]. Однако идея об участии специфических киназ в восприятии сигнала олиго-

уронидов хорошо согласуется с данными о дифференциальном фосфорилировании некоторых белков при воздействии этих олигогликанов. Так, более двух десятилетий назад был выделен белок плазмалеммы (34 кДа), названный впоследствии реморином, который был идентифицирован именно как белок, который специфически фосфорилируется в присутствии олигогалактуронидов [105, 106]. Реморины — специфичные для сосудистых растений гидрофильные белки с неизвестной функцией, которые локализованы в области плазмодесма, а также в мембранных рафтах с цитоплазматической стороны плазмалеммы [107]. Реморины способны сами связываться с олигоуронидами и другими полианионными молекулами и образовывать *in vitro* олигомерные филаментные структуры [105, 106, 108]. Белки, подобные реморину, найдены у многих видов растений [109], однако не установлено их участие ни в одном из известных физиологических эффектов, оказываемых олигогалактуронидами. Нокауты одного или нескольких генов реморинов не имели существенных фенотипических проявлений [106, 108].

Некоторые лектин-подобные рецепторы со структурными и каталитическими характеристиками, напоминающими WAK-киназы, также могут быть рассмотрены в качестве рецепторов олигосахаринов. Это предположение основано на их способности распознавать и связывать углеводы [110]. Все лектиновые рецептор-подобные киназы (Lectin Receptor-Like Kinase — LecRLK) имеют N-концевой лектиновый домен, промежуточный трансмембранный домен и C-концевой киназный домен. Как полагают, члены этого семейства участвуют во взаимодействии между клеточной стенкой и плазматической мембраной и играют ключевую роль в сигнальных процессах с участием углеводов, а также в различных стрессовых ответах [111]. Два рецептор-подобных белка (At3g15356, At1g78830), обладающих лектиновыми свойствами и накапливающихся в ответ на обработку олигоуронидами, были обнаружены в апопласте растений резуховидки [112]. Эти находки не могут однозначно идентифицировать их как рецептор для олигосахаринов, поскольку не было показано их связывание с олигосахаридами, но свидетельствуют в пользу того, что белки с лектиновыми свойствами могут участвовать в пути трансдукции сигнала, запускаемом олигосахаридами. Возможно, они могут быть частью многокомпонентного рецепторного комплекса; подобная идея высказана для белка-рецептора SEViP (Chitin-Elicitor Binding Protein), связывающего хитиновые элиситоры. Ввиду отсутствия внутриклеточного домена, встречаемого в других ре-

цепторах, было предположено, что SEViP нуждается в других белковых компонентах для образования функционального рецепторного комплекса [113].

Взаимодействие с рецептором — не единственный обсуждаемый механизм действия олигосахаринов. Например, фрагменты ксилоглюкана могут обладать рост-стимулирующим действием, которое имеет место при значительно больших концентрациях (10^{-6} – 10^{-5} М), чем рост-ингибирующее (10^{-9} – 10^{-8} М). В этом случае олигосахарины выступают не как сигнальные молекулы, а как субстраты для ксилоглюкан-эндотрансгликозилазы [7]. Участие этого фермента в рост-ингибирующем эффекте меньших концентраций олигосахаринов маловероятно, поскольку его K_M для ксилоглюкановых олигосахаридов составляет 2×10^{-5} М. Кроме того, отмечены различия в субстратной специфичности процессов [114].

Механизмы действия олигогалактуронидов еще более разнообразны, поскольку эти молекулы имеют заряд, а также способны образовывать нековалентные связи в клеточной стенке. Степень полимеризации также может обуславливать различие в эффектах. Так, только низкомолекулярные олигогалактурониды (4–6 мономеров) способны вызывать индукцию этилена [28], для активации синтеза ингибитора протеиназ эффективны фрагменты длиной в 2–3 галактуронида [1], а для проявления большинства других реакций степень полимеризации должна составлять 10–16 [20]. Кинетика и величина эффекта деполяризации плазмалеммы отличается у двух групп молекул олигогалактуронидов различного размера (1–7 и 10–20 мономеров) [71]. Считается, что олигоуронид при степени полимеризации ниже 10 не может принять конформацию, узнаваемую рецептором, — только олигогалактурониды длиной не менее 10 мономеров способны (с участием двухвалентных катионов) образовывать «egg-box» структуру, а при значениях выше 16 теряется возможность достичь рецептора или поместиться в нем [15]. Таким образом, в растениях присутствуют, как минимум, два различных механизма распознавания олигогалактуронидов.

В экспериментах с использованием микрочипов ДНК, содержащих весь набор транскриптов резуховидки, было исследовано влияние экзогенных олигогалактуронидов со степенью полимеризации 10–15 на экспрессию генов в клетках суспензионной культуры [103]. При двухчасовом воздействии олигогалактуронидов 1080 генов (4% всего генома!) изменяли экспрессию более чем в 4 раза. Наиболее существенно изменялось содержание мРНК многочисленных киназ (что является дополнительным свидетель-

ством значительной роли посттрансляционных модификаций в реализации эффектов олигоуронидов), а также цитохромов P450 и обширной группы белков, обозначаемых как «обеспечивающие устойчивость к болезням». Эффекты олигоуронидов на транскрипцию подразделяли на Ca^{2+} -зависимые и Ca^{2+} -независимые. Среди генов первой группы — гены ферментов модификации клеточной стенки, сходные с теми, что активируются в ходе защитных реакций, а также гены ферментов биосинтеза жасмоната. Анализ промоторных участков этих генов позволил выявить специфичные *cis*-элементы, участвующие, предположительно, в регуляции транскрипции.

Взаимосвязь эффектов олигосахаридов и гормонов. Эффект олигосахаридов зависит от их собственной концентрации, а также от концентрации и типа гормонов, присутствующих в среде культивирования, что выявляет взаимосвязь механизмов действия этих групп физиологически активных соединений [5, 15, 35, 37, 40, 115]. Большая часть работ, демонстрирующих взаимодействие олигосахаридов и гормонов, была связана с анализом их действия на рост и морфогенез растений. Олигосахариды в основном оказывали противоположное ауксину действие на эти процессы. Так, для ксилоглюкановых олигосахаридов [9], олигогалактуронидов [55] и галактоглюкоманнанных олигосахаридов [56] было показано ингибирование ауксин-индуцированного удлинения сегментов стебля гороха. Впоследствии для олигогалактуронидов было продемонстрировано ингибирование процесса формирования корней, индуцируемого ауксином на экспланте из листьев табака (*Nicotiana tabacum* L.) и резуховидки [23, 116]. Ингибирующий эффект олигосахаридов как на корнеобразование [113], так и на удлинение сегментов стеблей [55] снимался увеличением концентрации ауксина, что подтверждало антагонизм их взаимодействия.

Тесная взаимосвязь действия олигосахаридов и ауксина отмечена и в других процессах. Так, ИУК была способна противодействовать защитному ответу против *Botrytis cinerea*, запускаемому олигосахаридами, что было показано на эксплантах *Arabidopsis* [116] и табака [99]. В материнских клетках, дающих начало замыкающим клеткам устьиц, митотическая активность, стимулируемая олигогалактуронидами, снижалась при экзогенном добавлении гормона. А в клетках флоэмной паренхимы, наоборот, эти олигосахариды ингибировали митотическую активность, индуцируемую ауксином, не оказывая никакого влияния на нее в отсутствие гормона [25].

В исследованиях на молекулярном уровне было показано действие олигосахаридов на ак-

тивацию регулируемых ауксином промоторов генов *Nt114 Nicotiana tabacum* L. и *rolB* из *Agrobacterium rhizogenes*, экспрессируемого в трансгенных растениях табака [117, 118]. Ингибирование олигогалактуронидами экспрессии генов раннего ответа на ауксин (*IAA5*, *SAUR16* и *SAUR-AC1*) наблюдали в *Arabidopsis* уже в пределах 30 мин; это свидетельствует о том, что запуск олигосахаридами каскада реакций, влияющих на ауксиновую сигнализацию, происходит очень быстро. Этот эффект, по мнению авторов, не был опосредован изменением уровня свободного ауксина, который незначительно менялся в ходе эксперимента [116]. Кроме того, в ткани эксплантов из листьев табака, обработанных олигогалактуронидами, не было отмечено модификации или разрушения ИУК [117]. Высказывалось предположение, что олигогалактурониды связываются с H^+ -АТФазой плазматической мембраны, которая задействована в ответах на ауксин [30]. Механизм действия галактоманнанных олигосахаридов также связывают с инактивацией ауксин-рецепторного комплекса или взаимодействием с белками плазмалеммы [56]. Однако антиауксиновое действие фрагмента ксилоглюкана, как полагают, не связано с подавлением выхода ионов водорода в клеточную стенку под действием ауксина, а затрагивает какие-то общие стадии влияния ауксина и pH на рост клеток [18].

В качестве потенциальных мишеней для ингибирующих эффектов, опосредуемых олигосахаридами, были проанализированы различные элементы сигнального пути ауксина. Было показано, что антагонизм олигосахаридов по отношению к ИУК не включает такие механизмы, как стабилизация репрессоров транскрипции Auh/IAA (Auxin/Indole-3-Acetic Acid) или уменьшение уровня транскриптов рецепторов ауксина [116]. Возможно, что ингибиторный эффект олигосахаридов имеет место позднее в ауксин-регулируемом сигнальном каскаде, вероятно, через посттрансляционную регуляцию других элементов, не относящихся к Auh/IAA, или через инактивацию фактора транскрипции — ARFs (Auxin Response Factor).

При большом количестве работ, демонстрирующих антиауксиновые, ингибирующие эффекты олигосахаридов, большой интерес представляют исследования, в которых выявлено их стимулирующее действие. Так, было показано, что галактоглюкоманнанные олигосахариды оказывали положительный эффект на частоту деления и жизнеспособность клеток в суспензионной культуре циннии. Эффект был выше при одновременном добавлении их с гормоном [39]. Эти же олигосахариды в комбинации с индол-3-масляной кислотой стимулировали удли-

нение первичных корней маша (*Vigna radiata* L.) [119]. Фракция олигосахаридов, выделенных из проростков гороха, оказывала стимулирующий эффект на ИУК-индуцируемое формирование адвентивных корней на сегментах корней кукурузы (*Zea mays* L.) (рис. 3), а также на эксплантах из гипокотилей гречихи и листьев табака [44]. Стимулирующий эффект был существенно выше, если экспланты обрабатывали олигосахаринном до внесения в среду ИУК, указывая на то, что действие олигосахарина предшествует действию гормона на ранних этапах ризогенеза. Выказано предположение, что это может быть связано с перераспределением ауксина и образованием его градиента либо взаимодействием двух эффекторов осуществляется на уровне рецепции гормона, и олигосахарин выполняет роль сенсibilизатора ауксиновых рецепторов.

Гораздо меньше внимания, чем анализу ростовых и морфогенетических реакций, уделяется взаимодействию олигосахаридов с гормонами при различных стрессовых ответах, несмотря на то, что эффект олигосахаридов был изначально показан именно в защитных реакциях растений. Изучение взаимосвязи между эффектами олигосахаридной фракции и АБК, которая считается индуктором процесса формирования морозостойкого состояния, показало, что добавление в среду олигосахаридов усиливает стимулирующее действие гормона [37]. При обработке проростков озимой пшеницы олигосахаринном за ~15 ч до добавления АБК наблюдался синергизм их действия, в то время как при обработке в обратном порядке (сначала АБК, потом олигосахарин) или одновременно их применении эффект был аддитивным [37, 120].

Имеются отрывочные данные по взаимосвязи действия олигосахаридов с другими гормона-

ми. Олигогалактурониды со степенью полимеризации 9–18 влияли на сигнальный путь, опосредуемый гибберелловой кислотой, подавляя накопление α -амилазы в эмбрионах ячменя [115]. Ингибирующий эффект на индуцируемое гибберелловой кислотой удлинение этиолированных проростков гороха оказывали ксилоглюкановые фрагменты [32]. Олигогалактурониды усиливали стимулирующее влияние цитокининов на формирование побегов эксплантами табака [29]. Низкомолекулярные олигогалактурониды (4–6 мономеров) были способны вызывать индукцию этилена в томатах [28]. Резкое повышение количества этилена также отмечалось в плодах хурмы (*Diospyros kaki* L.) при инъекции в них ксилоглюкановых олигосахаридов [38].

Таким образом, накоплены данные, демонстрирующие тесную связь между влиянием гормонов и олигосахаридов. Как известно, гормоны участвуют во всех жизненно важных процессах, включая рост, морфогенез, защиту от патогенов. Эти процессы сопровождаются модификацией клеточной стенки растений, образуя набор активных фрагментов с функциями позитивной и негативной регуляции гормонального сигнала. Так, ауксин индуцирует экспрессию ферментов деградации пектинов [38]. Ферменты в свою очередь могут высвобождать олигосахариды в апопласт для обратной негативной регуляции действия ауксина. Это означает, что в растениях существует сложная система взаимодействия олигосахаридов и гормонов. Возможно, этим объясняется, по крайней мере отчасти, известная плейотропность эффектов последних. Участие гормонов в разнообразных ответах растений на внешние и внутренние сигналы может быть опосредовано громадным многообразием

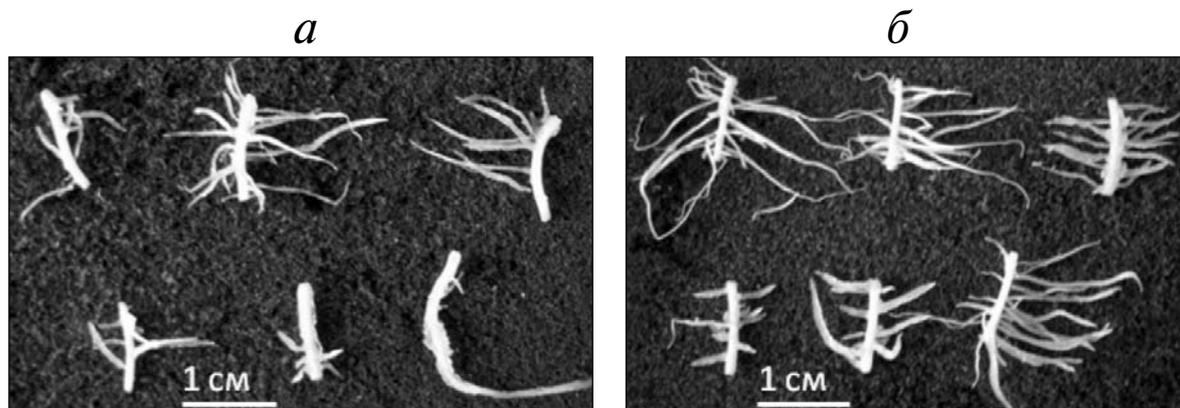


Рис. 3. Образование адвентивных корней на сегментах корней кукурузы на 5-е сутки культивирования на среде с ИУК (а) и ИУК + олигосахарин (б)

олигосахаринов, позволяющих гормонам осуществлять «точечные» удары.

Как инактивируются *in vivo*? Инактивация олигосахаринов, необходимая для четкого контроля их действия, достигается двумя основными путями:

1) ферментативной деградацией олигосахарина, обычно происходящей с участием гликозидаз — ферментов, отщепляющих единичный остаток сахара с невозстанавливающего конца олиго- или полимера. Выявлены фукозидаза [121, 122] и ксилозидаза [123], инактивирующие фрагменты ксилоглюкана. Анализ структуры продуктов деградации маннозосодержащих олигосахаридов показал, что их гидролиз идет с участием α -маннозидазы [89]. В суспензионной культуре шиповника (*Rosa* sp.) меченые ^{14}C олигогалактурониды со степенью полимеризации 8–9 быстро гидролизировались до фрагментов с меньшей молекулярной массой; «период полураспада» (время гидролиза половины олигогалактуронидов) составлял 2–4 ч [124]. Этот процесс может происходить за счет действия как гликозидаз, так и/или эндогликаназ, в данном случае — полигалактуроназ, широко представленных в растительном организме;

2) встраиванием олигосахарина в состав полимера за счет трансгликозилазных реакций, как это происходит с фрагментами ксилоглюкана. Участие ксилоглюкан-эндотрансгликозилазы в связывании фрагментов ксилоглюкана продемонстрировано в опытах с мечеными олигосахаридами; при этом отщепления фукозы, которое инактивировало бы XXFG фрагмент, отмечено не было [125].

ПОПЫТКИ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОЛИГОСАХАРИДОВ

Установление биологической активности олигосахаридов клеточной стенки растений, естественно, привело к появлению попыток разработки технологий, направленных на использование потенциала этих молекул в различных областях.

Использование в биотехнологии растений и практике сельского хозяйства. Доказанная способность олигосахаринов влиять на морфогенетические параметры культивируемых эксплантов создает перспективу для применения их в качестве рост-регулирующих агентов в биотехнологии растений. В частности, усиление процесса корнеобразования под воздействием олигосахаринов [43, 44, 119] открывает перспективы их использования для вегетативного размно-

жения растений *in vitro*. Это особенно актуально для большинства плодовых культур, для которых успешное укоренение побегов *in vitro* считается ключевым этапом микроклонального размножения. Получены, например, коммерческие смеси олигосахаридов, которые стимулировали выгонку корней в различных сортах гуавы (*Psidium guajava* L.) [126]. Кроме того, олигосахарины, способные увеличивать количество адвентивных корней, могут использоваться для увеличения биомассы и продукции необходимых для медицины вторичных метаболитов [127], поскольку культивируемые *in vitro* корни могут служить источниками соединений, используемых в фармацевтике [128, 129].

Ксилоглюкановые олигосахариды могут быть перспективны в качестве регулятора роста растений в связи с их влиянием на продолжительность клеточного цикла [130] и способностью проявлять антиауксиновый эффект [72]. Олигогалактоурониды могли быть полезны для ускорения развития эмбрионов: показано, что их добавление к суспензионной культуре клеток сахарного тростника (*Saccharum officinarum* L.) сокращало время перехода от одной стадии эмбриогенеза к другой [131].

Альтернативным вариантом использования полезных свойств олигосахаринов является их применение в качестве веществ, вызывающих различные защитные ответы в растениях, как замена или дополнение ныне существующим фунгицидам. Особенно актуально это для широко выращиваемых в коммерческих целях растений, таких как виноград (*Vitis vinifera* L.), уязвимых для различных патогенных грибов. Так, было показано, что олигогалактурониды повышают устойчивость виноградной лозы к возбудителю мучнистой росы *Plasmopara viticola*, запуская продукцию активных форм кислорода [132]. Олигогалактурониды также вызывали стимуляцию противогрибковой хитиназы и повышение β -1,3-глюканазной активности, что способствовало защите растений от серой гнили *Botrytis cinerea* [133].

Несмотря на то, что большинство экспериментов по выявлению эффектов олигосахаринов проведено в лабораторных условиях, полученные с помощью модельных систем знания становятся основой для разработки технологий, которые способствуют увеличению урожайности культивируемых растений и улучшению качества сельскохозяйственной продукции. Повышение урожайности томатов при опрыскивании двумя коммерческими смесями олигосахаринов составляло 22 и 40%. Кроме того, происходило улучшение качества плодов [134]. Обнадеживающие результаты были получены на сорте

«Flame Seedless» столового винограда: обработка растений олигосахаридами пектинового происхождения перед сбором урожая усиливала окраску плодов, не оказывая негативного влияния на их плотность. Улучшение цвета достигалось за счет повышения содержания антоцианов в результате стимуляции пропаноидного пути [45]. В исследованиях, проведенных на сахарном тростнике, обработанном пектиновыми олигомерами, было выявлено удлинение междоузлий, увеличение количества побегов и улучшение качества сока [135].

Крайняя малочисленность полевых экспериментов не позволяет на данный момент широко использовать олигосахариды в практике сельского хозяйства, хотя их применение в качестве биостимуляторов или биопротекторов было бы хорошей альтернативой существующим препаратам, поскольку могло бы способствовать снижению количества применяемых удобрений и химических средств защиты растений. Остаются плохо разработанными и вопросы стабильности олигосахаридов в сложных экосистемах. В частности, проблема и одновременно достоинство олигосахаридов — биоразлагаемость. Несмотря на то, что олигосахариды — довольно стабильные соединения и слабо подвержены влиянию факторов окружающей среды, таких как температура и свет, они легко расщепляются ферментами. Такие ферменты вряд ли поступают из растительного организма, поскольку белковым молекулам сложно проникнуть через клеточную стенку, а тем более — через существенно укрепленную за счет кутина и различных восков клеточную стенку поверхностных тканей растений. Однако различные углевод-расщепляющие ферменты в избытке секретируются многими микроорганизмами, попадание которых на растение может привести к разрушению активного олигосахарида и снижению желаемого эффекта. Достоинством олигосахаридов при этом является то, что они не будут загрязнять окружающую среду.

Использование олигосахаридов в медицине и пищевой промышленности. Существуют многочисленные работы, характеризующие иммуномодулирующие, пребиотические и антиоксидантные свойства растительных полисахаридов и их фрагментов. Мы остановимся только на тех, которые получены непосредственно для предмета настоящего обзора — олигосахаридов, являющихся фрагментами клеточной стенки наземных растений.

Компонент пищи классифицируется как пребиотик, если он не подвергается гидролизу пищеварительными ферментами человека, не абсорбируется в верхних отделах пищеваритель-

ного тракта и при этом является селективным субстратом для роста и/или метаболической активации одного вида или определенной группы микроорганизмов, заселяющих толстый кишечник, приводя к нормализации их соотношения. Лучшими пребиотиками естественного происхождения на сегодняшний день считаются олигосахариды женского молока. В женском молоке доля углеводов с пребиотическими свойствами существенна и составляет 12–15 г/л, в то время как в коровьем молоке они находятся только в следовых количествах [136]. Мономерами олигосахаридов грудного молока являются D-глюкоза, D-галактоза, N-ацетилглюкозамин, L-фукоза и сиаловая кислота. За небольшим исключением все олигосахаридные структуры человеческого молока имеют в качестве основы лактозу, к которой присоединяются дополнительные моносахариды, образуя углеводные цепи различной длины и разной степени разветвленности. Из более 150 олигосахаридов человеческого молока примерно для половины определена структура [137].

Растительных олигосахаридов, полностью идентичных компонентам грудного молока, не обнаружено. Но возможность быть причисленными к классу пребиотиков имеется у целого ряда олигогликанов, являющихся фрагментами полисахаридов клеточных стенок наземных растений. Их пребиотический потенциал был подтвержден как *in vitro*, так *in vivo* [138–140]. Перечень олигосахаридов с пребиотическими свойствами включает галакто-, глюко- и ксилоолигосахариды [141, 142], а также олигогалактурониды [143]; получение таких олигосахаридов обычно осуществляют путем контролируемого ферментативного гидролиза природных полисахаридов. Исследованные олигосахариды растительного происхождения не обладают токсичным или мутагенным эффектом, поэтому пригодны в качестве добавок для приготовления пищевых продуктов для детей, начиная с грудного возраста [144]. Стимуляция роста *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* в кишечной флоре под действием пребиотиков способствует не только повышению доли полезных бактерий, но и сопровождается другими позитивными эффектами. Так, в качестве потенциальных возможностей при действии растительных олигосахаридов с доказанным пребиотическим действием рассматриваются положительное воздействие на работу сердечно-сосудистой системы [145], защита клеток толстого кишечника от токсинов [146], влияние на бактериальную транслокацию [147], предотвращение бактериальной адгезии в кишечнике [148].

Ограниченное число исследований направлено на понимание механизмов пребиотическо-

го действия. Для выявления взаимосвязи между структурой и пребиотическими свойствами растительных олигосахаридов исследовали метилированные и неметилированные фрагменты пектинов различной степени полимеризации, а также рамногалактоуроно-, арабино- и галактоолигосахариды [149]. Кислые олигосахариды не оказывали никакого бифидогенного действия, в то время как сильный эффект наблюдался в течение первых часов ферментации с нейтральными фракциями с небольшой степенью полимеризации.

В последнее время широко рассматриваются иммуномодулирующие свойства различных соединений, попадающих в пищеварительный тракт, в т.ч. растительных углеводов. Так, смесь короткоцепочечных галактоолигосахаридов и длинноцепочечных фруктозоолигосахаридов ослабляла симптомы аллергической астмы у мышей [150]. Иммуномодулирующие, а также антиоксидантные и противоопухолевые свойства были показаны для растительных олигосахаридов, не отнесенных, по крайней мере, пока, к классу пребиотиков. Так, антиоксидантную активность проявляли олигосахариды из пшеничных отрубей, содержащие в своем составе феруловую кислоту [151], глюканы и маннаны из алоэ (*Aloe vera* L.) [152]. Антиоксидантную активность последним, по мнению авторов, обеспечивают ацетильные группы [153]. Широкий диапазон иммуномодулирующих свойств проявляют растительные арабиногалактаны и их фрагменты [154–158], а также кислые олигосахариды растительного происхождения [159].

Обсуждается также использование растительных поли- и олигосахаридов в качестве веществ, обладающих антиканцерогенным действием. Эта идея возникла из экспериментов, демонстрирующих связывание пектиновых олигосахаридов с Gal-3 – членом семейства галектинов – эволюционно-консервативных галактозосвязывающих лектинов, распространенных в широком диапазоне видов от низших беспозвоночных до млекопитающих [160, 161]. Считается, что Gal-3 играет существенную роль в возникновении и прогрессировании рака [162, 163], являясь одним из ключевых биомаркеров для некоторых видов рака и мишенью для лекарственной терапии. Gal-3 имеет высококонсервативный для семейства галектинов сайт связывания углеводов, который «узнает» β -галактозиды, позволяя галектинам связывать большое количество различных олигосахаридных лигандов. Естественным источником лигандов, ингибирующих биологические функции Gal-3, служат пектины, содержащие боковые цепи из арабиногалактана/галактана [164]. Основной ком-

мерчески доступный, полученный из растений арабиногалактан – это арабиногалактан листовницы [155]. Имеется целый ряд исследований по противоопухолевой активности арабиногалактанов [154, 165, 166].

Другими галактозосодержащими гликанами, взаимодействующими с Gal-1, являются галактоманнаны, которыми особенно богаты семена бобовых. Компания «Galectin Therapeutics» разработала методику получения частично деполимеризованных галактоманнанов, описанных в литературе под названием Davanat [167], которые проявляли противоопухолевую активность [168].

Имеются сведения, пока отрывочные, о перспективности использования растительных олигогалактоуридов при производстве косметики. Это основано на их способности стимулировать адгезию клеток эпидермиса (кератиноцитов) с белками внеклеточного матрикса, ее нарушение приводит к аутоиммунным заболеваниям кожи и слизистых оболочек. Этот позитивный эффект, как было показано, оказывают олигоуриды со степенью полимеризации ≤ 5 [169].

Практическое использование соединений углеводной природы, включая олигосахариды растительного происхождения, существенно тормозится слабым пониманием механизмов их действия и связи между структурой, свойствами и эффективностью. В значительной степени это связано с общими проблемами изучения сложных углеводов, неразработанностью теории, позволяющей выявлять и предсказывать детерминанты тех или иных свойств, связанных с функциональной нагрузкой в «родном» организме и использованием в различных сферах.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ, ПОТЕНЦИАЛ КОТОРЫХ МОЖНО ИСПОЛЬЗОВАТЬ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ОЛИГОСАХАРИНОВ

В последние десятилетия появились методические возможности, которые могут позволить существенно расширить и углубить исследования растительных олигосахаридов и их физиологического действия. Эти подходы можно подразделить на две основные группы: одна связана с анализом непосредственно углеводов, а вторая использует возможности молекулярно-генетических методов.

В первую группу входит как усовершенствование методов анализа структуры конкретных олигогликанов, так и профилирование олигогликома растительных тканей в изменяющихся

условиях. Структурные исследования олигосахаридов используют масс-спектрометрию высоких порядков, а также различные варианты ЯМР, что с успехом применяется для характеристики фрагментов полисахаридов растительных клеточных стенок [48–53]. Сложнее обстоит дело с профилированием олигогликома. Особые перспективы для исследования метаболизма олигосахаридов могла бы иметь метаболомика [170, 171]. Основанная на масс-спектрометрии, она позволяет с высокой чувствительностью анализировать сложные совокупности низкомолекулярных соединений. Водорастворимость и относительно низкая молекулярная масса олигосахаридов (и при этом достаточно специфичный ее диапазон, дающий возможность отсеять многообразные мономеры) позволяют сравнительно легко получать фракции, удобные для анализа. Но разнообразие эндогенных олигосахаридов порождает разнообразие маркерных ионов, необходимых для оценки динамики содержания этих соединений в изменяющихся условиях, а большинство олигосахаридов с этой точки зрения не охарактеризовано.

Подходы, связанные с профилированием олигогликома, разрабатывались и применялись в основном для анализа гликоконъюгатов, в первую очередь, белков, так что некоторые статьи по этой углеводной, по сути, тематике публиковались в журнале «Proteomics» [61, 172]. Анализ углеводного разнообразия гликозилированных белков привел к впечатляющим результатам. Например, исследование профилей олигогликанов, характерных для гликопротеинов человека в различных физиологических состояниях, привело к обнаружению надежных маркеров различных физиологических состояний, в частности ряда онкологических заболеваний [63, 64, 173]. Смеси олигосахаридов настолько сложны, что необходимым этапом их анализа является предварительное разделение с применением различных видов хроматографии или капиллярного электрофореза. Высокая чувствительность обеспечивается в основном масс-спектрометрическими детекторами или использованием флуоресцентных меток [61, 62]. Для анализа совокупностей растительных олигосахаридов разработанные подходы пока не применялись.

Исследования механизмов действия различных регуляторов получили новые возможности в связи с развитием молекулярно-генетических подходов. Их потенциал пока не в полной мере реализован для развития представлений об образовании и функционировании растительных олигосахаридов. Более пристального внимания заслуживает, например, характеристика экспрес-

сии генов эндогликаназ, участвующих в образовании олигосахаридов клеточных стенок: системный анализ с этой точки зрения до сих пор фактически не проведен. Различные способы изменения экспрессии генов, например, получение мутантов, дали в некоторых случаях интересную информацию о механизмах действия олигосахаридов, в частности при исследовании киназ, связанных с клеточной стенкой (WAK) [96, 97]. Однако для применения таких подходов необходимо понимание того, экспрессию какого именно гена следует изменить для достижения эффекта; в случае исследований олигосахаридов это, как правило, представляет проблему. Более того, такие мутанты чаще всего имеют слабо выраженный фенотип. Интересным аспектом может быть исследование растительных лектинов и лектиноподобных белков, значительная часть которых расположена в клеточной стенке и/или на поверхности плазмалеммы [110–112] и доступна для взаимодействия с олигосахаридами.

Существенные дополнительные возможности для осознания путей действия олигосахаридов дало развитие методов функциональной геномики. Появились первые работы, анализирующие изменение транскриптома при воздействии олигосахаридов [96, 103]. Этот мощный подход позволяет нарисовать масштабную и объективную картину происходящих процессов. Его использование в сочетании с информацией, полученной при анализе олигогликома, может позволить сформировать концептуальные представления о механизмах действия олигосахаридов и их месте в иерархии сигнальных систем растения.

Клеточная стенка – особая структура для растительного организма. В ходе эволюции она сформировалась после приобретения способности к фотосинтезу, в результате функционирования которого появилась необходимость выведения (связывания) части метаболически и осмотически активных моносахаридов, образующихся на свету. Эта задача была решена путем иммобилизации моносахаридов в относительно инертные полисахариды и отложение их за пределами плазмалеммы. Формирование своеобразного скелета из полисахаридов вокруг каждой растительной клетки во многом определило особенности биологии растений, в частности в таких процессах как рост, морфогенез, передача сигнала. Более того, эти процессы в растительном организме во многом базируются именно на свойствах полимеров клеточной стенки. В ходе эволюции в растениях появились исключительно разнообразные полисахаридные структу-

ры, обладающие тканевой и функциональной спецификой. Высшие растения — безусловные чемпионы по созданию и использованию сложных и разнообразных полисахаридов.

Растительная клеточная стенка — динамичная структура, в которой не только откладываются новые слои, но и постоянно идут процессы модификации уже отложенных полисахаридов. Эти модификации уже приводят к формированию большого числа олигосахаридных фрагментов, из которых по крайней мере часть обладает физиологической активностью, запуская или ингибируя различные процессы. Регуляторные свойства выявлены лишь у небольшого числа фрагментов, образующихся при расщеплении любого из полимеров растительной клеточной стенки, причем при гидролизе одного полисахарида могут получаться фрагменты с противоположным действием. Совокупность физиологически активных продуктов расщепления полисахаридов клеточной стенки может приводить к формированию своеобразного информационного поля, колебания в котором составляют важный компонент сигнальных систем растения. Все это свидетельствует о важности профилирования олигосахаридного набора в растительных тканях, его изменения под влиянием различных факторов и осознания функциональ-

ной роли, которая может быть особенно значимой именно в растительных организмах.

На данный момент картина действия олигосахаридов все еще фрагментарна, тем более что отдельные ее штрихи получены на разных растительных объектах. Хотя очевидно, что фрагменты полисахаридов клеточной стенки являются существенным компонентом разветвленных сетей сигнальных систем, которые присутствуют в растении [174], олигогликом растительных тканей никогда не исследовался. Движение в этом направлении необходимо проводить, сочетая работу как с индивидуальными соединениями, так и со сложной их совокупностью, присутствующей в конкретных физиологических условиях. Методические возможности для этого уже обозначились на горизонте, поэтому, вероятно, исследование олигогликома, имеющего особое значение в специфических условиях растительного организма, ожидает следующий бум, который будет опираться на высокотехнологические методы исследования, позволяющие реализовать современную идеологию.

Исследования по тематике обзора проведены при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-01591).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bishop, P.D., Makus, D.J., Pearce, G., and Ryan, C. (1981) Proteinase inhibitor inducing factor activity in tomato leaves resides in oligosaccharides enzymically released from cell walls, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **78**, 3536–3540.
- Hahn, M.G., Darvill, A.G., and Albersheim, P. (1981) Host-pathogen interactions. XIX. The endogenous elicitor, a fragment of a plant cell wall polysaccharide that elicits phytoalexin accumulation in soybeans, *Plant Physiol.*, **68**, 1161–1169.
- Nothnagel, E.A., McNeil, M., Albersheim, P., and Dell, A. (1983) Host-pathogen interactions. XXII. A galacturonic acid oligosaccharide from plant cell walls elicits phytoalexins, *Plant Physiol.*, **71**, 916–926.
- Jin, D.F., and West, C.A. (1984) Characteristics of galacturonic acid oligomers as elicitors of chitinase synthetase activity in castor bean seedlings, *Plant Physiol.*, **74**, 989–992.
- Tran Than Van, K., Toubart, P., and Cousson, A. (1985) Manipulation of the morphogenetic pathways of tobacco explants by oligosaccharins, *Nature*, **314**, 615–617.
- Darvill, A., Augur, C., Bergmann, C., Carlson, R.W., Cheong, J.J., Eberhard, S., Hahn, M.G., Lo, V.M., Marfa, V., and Meyer, B. (1992) Oligosaccharins — oligosaccharides that regulate growth, development and defense responses in plants, *Glycobiology*, **2**, 181–198.
- Aldington, S., and Fry, S.C. (1993) Oligosaccharins, *Adv. Bot. Res.*, **19**, 1–101.
- 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., and Dell, A. (1983) Oligosaccharins: naturally occurring carbohydrates with biological regulatory functions, in *Structure and function of plant genomes* (Ciferri, O., and Dure, L., eds), Plenum Publish. Corp., N.Y., pp. 293–312.
- York, W.S., Darvill, A.G., and Albersheim, P. (1984) Inhibition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-stimulated elongation of pea stem segments by a xyloglucan oligosaccharide, *Plant Physiol.*, **75**, 295–297.
- Ishii, T., and Saka, H. (1992) Inhibition of auxin-stimulated elongation of cells in rice lamina joints by a feruloylated arabinoxylan trisaccharide, *Plant Cell Physiol.*, **33**, 321–324.
- Liskova, O., Auxtova, O., Kakoniya, D., Kubackova, M., Karacsonyi, S., and Bilisics, L. (1995) Biological activity of galactoglucomannan-derived oligosaccharides, *Planta*, **196**, 425–429.
- Lorences, E.P., McDougall, G.J., and Fry, S.C. (1990) Xyloglucan- and cello-oligosaccharides: antagonists of the growth-promoting effect of H⁺, *Physiol. Plant.*, **80**, 109–113.
- Dinand, E., Excoffier, G., Lienart, Y., and Vignon, M.R. (1997) Two rhamnogalacturonide tetrasaccharides isolated from semi-retted flax fibers are signaling molecules in *Rubus fruticosus* L. cells, *Plant Physiol.*, **115**, 793–801.
- Boudart, G., Dechamp-Guillaume, G., Lafitte, C., Ricart, G., Barthe, J.-P., Mazau, D., and Esquerre-Tugaye, M.-T. (1995) Elicitors and suppressors of hydroxyproline-rich glycoprotein accumulation are solubilized from plant cell walls by endopolygalacturonase, *Biochem. J.*, **232**, 449–457.
- Marfa, V., Gollin, D.J., Eberhard, S., Mohnen, D., Danill, A., and Albersheim, P. (1991) Oligogalacturonides are able to induce flowers to form on tobacco explants, *Plant J.*, **1**, 217–225.

16. Albersheim, P., and Darvill, A.G. (1985) Oligosaccharins, *Sci. Am.*, **253**, 58–64.
17. Ryan, C.A. (1987) Oligosaccharide signaling in plants, *Annu. Rev. Cell Biol.*, **3**, 295–317.
18. Усов А.И. (1993) Олигосахарины – новый класс сигнальных молекул в растениях, *Успехи химии*, **62**, 1119–1144.
19. Озерецковская О.Л., Роменская И.Г. (1996) Олигосахарины как регуляторные молекулы растений, *Физиология растений*, **43**, 743–752.
20. Ridley, B.L., O'Neill, M.A., and Mohnen, D. (2001) Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling, *Phytochem.*, **57**, 929–967.
21. Горшкова Т.А. (2007) *Растительная клеточная стенка как динамичная система*, Наука, Москва.
22. Davis, K.R., and Hahlbrock, K. (1987) Induction of plant defense responses in cultured parsley cells by plant cell wall fragments, *Plant Physiol.*, **85**, 1286–1290.
23. Bellincampi, D., Salvi, G., De Lorenzo, G., Cervone, F., Marfa, V., Eberhard, S., Darvill, A., and Albersheim, P. (1993) Oligogalacturonides inhibit the formation of roots on tobacco explants, *Plant J.*, **4**, 207–213.
24. Legendre, L., Yueh, Y.G., Crain, R., Haddock, N., Heinsteinn, P.F., and Low, P.S. (1993) Phospholipase C activation during elicitation of the oxidative burst in cultured plant cells, *J. Biol. Chem.*, **268**, 24559–24563.
25. Altamura, M.M., Zaghi, D., Salvi, G., De Lorenzo, G., and Bellincampi, D. (1998) Oligogalacturonides stimulate pericycle cell wall thickening and cell divisions leading to stoma formation in tobacco leaf explants, *Planta*, **204**, 429–436.
26. Bruce, R., and West, C. (1989) Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor beans, *Plant Physiol.*, **91**, 889–897.
27. Tong, C., Labavitch, J., and Yang, S. (1986) The induction of ethylene production from pear cell culture by cell wall fragments, *Plant Physiol.*, **81**, 929–930.
28. Simpson, S.D., Ashford, D.A., Harvey, D.J., and Bowles, D.J. (1998) Short chain oligogalacturonides induce ethylene production and expression of the gene encoding aminocyclopropane 1-carboxylic acid oxidase in tomato plants, *Glycobiology*, **8**, 579–583.
29. Falasca, G., Capitani, F., Della Rovere, F., Zaghi, D., Franchin, C., Biondi, S., and Altamura, M.M. (2008) Oligogalacturonides enhance cytokinin-induced vegetative shoot formation in tobacco explants, inhibit polyamine biosynthetic gene expression, and promote long-term remobilisation of cell calcium, *Planta*, **227**, 835–852.
30. Thain, J.F., Gubb, J.K., and Wildon, D.C. (1995) Depolarization of tomato leaf cells by oligogalacturonide elicitors, *Plant Cell Environ.*, **18**, 211–214.
31. McDougall, G.J., and Fry, S.C. (1988) Inhibition of auxin-stimulated growth of pea stem segments by a specific nonasaccharide of xyloglucan, *Planta*, **175**, 412–416.
32. Warneck, H., and Seitz, H.U. (1993) Inhibition of gibberellic acid-induced elongation-growth of pea epicotyls by xyloglucan oligosaccharides, *J. Exp. Bot.*, **44**, 1105–1109.
33. Warneck, H.M., Haug, T., and Seitz, H.U. (1996) Activation of cell wall-associated peroxidase isoenzymes in pea epicotyls by a xyloglucan-derived nonasaccharide, *J. Exp. Bot.*, **47**, 1897–1904.
34. McDougall, G.J., and Fry, S.C. (1990) Xyloglucan oligosaccharides promote growth and activate cellulase: evidence for a role of cellulase in cell expansion, *Plant Physiol.*, **93**, 1042–1048.
35. Pavlova, Z.N., Ash, A.O., Vnuckova, V.A., Babakov, A.V., Torgov, V.I., Nechaev, O.A., Usov, A.I., and Shibaev, V.N. (1992) Biological activity of a synthetic pentasaccharide fragment of xyloglucan, *Plant Sci.*, **85**, 131–134.
36. Заботина О.А., Аюпова Д.А., Ларская И.А., Николаева О.Г., Петровиичева Г.А., Заботин А.И. (1998) Физиологически активные олигосахариды, накапливающиеся в корнях озимой пшеницы в ходе низкотемпературной адаптации, *Физиология растений*, **45**, 262–269.
37. Zabolina, A.I., Barisheva, T.S., Trofimova, O.I., Toroschina, T.E., Larskaya, I.A., and Zabolina, O.A. (2009) Oligosaccharin and ABA synergistically affect the acquisition of freezing tolerance in winter wheat, *Plant Physiol. Biochem.*, **47**, 854–858.
38. Cutillas-Iturralde, A., Fulton, D.C., Fry, S.C., and Lorences, E.P. (1998) Xyloglucan-derived oligosaccharides induce ethylene synthesis in persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit, *J. Exp. Bot.*, **49**, 701–706.
39. Kakosova, A., Dignonnet, C., Goffner, D., and Liskova, D. (2013) Galactoglucomannan oligosaccharides are assumed to affect tracheary element formation via interaction with auxin in *Zinnia* xylogenic cell culture, *Plant Cell Rep.*, **32**, 479–487.
40. Kollarova, K., Vatehova, Z., Slovakova, L., and Liskova, D. (2010) Interaction of galactoglucomannan oligosaccharides with auxin in mung bean primary root, *Plant Physiol. Biochem.*, **48**, 401–406.
41. Melotto, E., Greve, L.C., and Labavitch, J.M. (1994) Cell wall metabolism in ripening fruit: biologically active pectin oligomers in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits, *Plant Physiol.*, **106**, 575–581.
42. Лозовая В.В., Заботина О.А., Румянцев Н.И., Малихов Р.Г., Жихарева М.В. (1993) Стимуляция образования корней на тонкослойных эксплантах гречихи фрагментами пектинов из клеточной стенки стебля гороха, *Доклады РАН*, **328**, 126–140.
43. Zabolina, O.A., Gurjanov, O.P., Ibragimova, N.N., Ayupova, D.A., and Lozovaya, V.V. (1998) Rhizogenesis in buckwheat thin-cell-layer explants: effect of plant oligosaccharides, *Plant Sci.*, **135**, 195–201.
44. Ларская И.А., Барышева Т.С., Заботин А.И., Горшкова Т.А. (2015) Характер участия олигосахарина OS-RG в ИУК-индуцируемом формировании адвентивных корней, *Физиология растений*, **62**, 186–194.
45. Ochoa-Villarreal, M., Aispuro-Hernandez, E., Vargas-Arispuro, I., and Martinez-Tellez, M.A. (2012) Plant cell wall polymers: function, structure and biological activity of their derivatives, in *Polymerization*, vol. 4 (De Souza Gomes, A., ed.), InTech, pp. 63–86.
46. Schroder, R., and Knoop, B. (1995) An oligosaccharide growth-factor in plant suspension-cultures – a proposed structure, *J. Plant Physiol.*, **146**, 139–147.
47. Fry, S.C. (1986) *In vivo* formation of xyloglucan nonasaccharide: a possible biologically-active cell-wall fragment, *Planta*, **169**, 443–453.
48. Kabel, M.A., Schols, H.A., and Voragen, A.G.J. (2001) Mass determination of oligosaccharides by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry following HPLC, assisted by on-line desalting and automated sample handling, *Carbohydr. Polymers*, **44**, 161–165.
49. Matamoros Fernandez, L.E., Obel, N., Scheller, H.V., and Roepstorff, P. (2003) Characterization of plant oligosaccharides by matrix-assisted laser desorption/ionization and electrospray mass spectrometry, *J. Mass. Spectrom.*, **38**, 427–437.
50. Bauer, S. (2012) Mass spectrometry for characterizing plant cell wall polysaccharides, *Front Plant Sci.*, **3**, 45–50.
51. Schols, H.A., Voragen, A.G.J., and Colquhoun, I.J. (1994) Isolation and characterization of rhamnogalacturonan oligomers, liberated during degradation of pectic hairy regions by rhamnogalacturonase, *Carbohydr. Res.*, **256**, 97–111.
52. Jia, Z., Cash, M., Darvill, A.G., and York, W.S. (2005) NMR characterization of endogenously O-acetylated

- oligosaccharides isolated from tomato (*Lycopersicon esculentum*) xyloglucan, *Carbohydr. Res.*, **340**, 1818–1825.
53. Toukach, F.V., and Ananikov, V.P. (2013) Recent advances in computational predictions of NMR parameters for the structure elucidation of carbohydrates: methods and limitations, *Chem. Soc. Rev.*, **42**, 8376–8415.
 54. Augur, C., Yu, I., Sakai, K., Ogawa, T., Sina, P., Darvill, A.G., and Albersheim, P. (1992) Further studies of the ability of xyloglucan oligosaccharides to inhibition auxin-stimulated growth, *Plant Physiol.*, **99**, 180–185.
 55. Branca, C., De Lorenzo, G., and Cervone, F. (1988) Competitive inhibition of the auxin-induced elongation by α -D-oligogalacturonides in pea stem segments, *Physiol. Plant.*, **72**, 499–504.
 56. Auxtova-Samajova, O., Liskova, D., Kakoniova, D., Kubackova, M., Karacsonyi, S., and Bilisics, L. (1996) Inhibition of auxin stimulated short-term elongation growth of pea stem segments by galactoglucomannan-derived oligosaccharides, *J. Plant Physiol.*, **147**, 611–613.
 57. Boller, T., and Felix, G. (2009) A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern recognition receptors, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **60**, 379–400.
 58. Tor, M., Lotze, M.T., and Holton, N. (2009) Receptor-mediated signaling in plants: molecular patterns and programmes, *J. Exp. Bot.*, **60**, 3645–3654.
 59. Malinovsky, F.G., Fangel, J.U., and Willats, W.G.T. (2014) The role of the cell wall in plant immunity, *Front Plant Sci.*, **5**, 1–11.
 60. Zabotin, A.I., Barisheva, T.S., Larskaya, I.A., Toroshina, T.E., Trofimova, O.I., Hahn, M.G., and Zabolina, O.A. (2005) Oligosaccharin – a new systemic factor in the acquisition of freeze tolerance in winter plants, *Plant Biosys.*, **139**, 36–41.
 61. Domann, P.J., Pardos-Pardos, A.C., Fernandes, D.L., Spencer, D.I.R., Radcliffe, C.M., Royle, L., Dwek, R.A., and Rudd, P.M. (2007) Separation-based glycoproteomics approaches using fluorescent labels, *Practical Proteomics*, **1**, 70–76.
 62. Wuhler, M. (2013) Glycomics using mass spectrometry, *Glycoconj. J.*, **30**, 11–22.
 63. Kristic, J., Vuckovic, F., Menni, C., Klaric, L., Keser, T., Beccheli, I., Pucic-Bakovic, M., Novokmet, M., Mangino, M., Thaqi, K., Rudan, P., Novokmet, N., Sarac, J., Missoni, S., Kolcic, I., Polasek, O., Rudan, I., Campbell, H., Hayward, C., Aulchenko, Y., Valdes, A., Wilson, J.F., Gornik, O., Primorac, D., Zoldos, V., Spector, T., and Lauc, G. (2014) Glycans are a novel biomarker of chronological and biological ages, *J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci.*, **69**, 779–789.
 64. Hudak, J.E., and Bertozzi, C.R. (2014) Glycotherapy: new advances inspire a reemergence of glycans in medicine, *Chem. Biol.*, **21**, 16–37.
 65. Moloshok, T., Pearce, G., and Ryan, C.A. (1992) Oligouronide signaling of proteinase inhibitor genes in plants: structure-activity relationships of di- and trigalacturonic acids and their derivatives, *Arch. Biochem. Biophys.*, **294**, 731–734.
 66. Low, P.S., and Merida, J.R. (1996) The oxidative burst in plant defense: function and signal transduction, *Physiol. Plant.*, **96**, 533–542.
 67. Никифорова В.Ю., Миляева Э.Л., Родионова Н.А. (1995) Влияние олигогалактуроновых кислот на переход растений от вегетативного морфогенеза к репродуктивному, *Доклады РАН*, **343**, 831–833.
 68. Roberts, A.W., Donovan, S.G., and Haigler, C.H. (1997) A secreted factor induces cell expansion and formation of metaxylem-like tracheary elements in xylogenic suspension cultures of *Zinnia*, *Plant Physiol.*, **115**, 683–692.
 69. Spiro, M.D., Ridley, B.L., Eberhard, S., Kates, K.A., Mathieu, Y., O'Neill, M.A., Mohren, D., Guern, J., Darvill, A., and Albersheim, P. (1998) Biological activity of reducing-end-derivatized oligogalacturonides in tobacco tissue cultures, *Plant Physiol.*, **116**, 1289–1298.
 70. Ryan, C.A. (1992) The search for the proteinase inhibitor-inducing factor, *Plant Mol. Biol.*, **19**, 123–133.
 71. Navazio, L., Moscatiello, R., Bellincampi, D., Baldan, B., Meggio, F., Brini, M., Bowler, C., and Mariani, P. (2002) The role of calcium in oligogalacturonide-activated signaling in soybean cells, *Planta*, **215**, 596–605.
 72. McDougall, G.J., and Fry, S.C. (1989) Structure-activity relationships for xyloglucan oligosaccharides with antiauxin activity, *Plant Physiol.*, **189**, 883–887.
 73. Zablackis, E., York, W.S., Pauly, M., Hantus, S., Reiter, W.-D., Chapple, C.C.S., Albersheim, P., and Darvill, A. (1996) Substitution of L-fucose by L-galactose in cell walls of *Arabidopsis mur1*, *Science*, **272**, 1808–1810.
 74. Аш О.А., Лоскутова Н.А., Павлова З.Н., Абрамычева Н.Ю., Внучкова В.А., Бабаков А.В., Муромцев Г.С., Мельникова Т.Н., Нечаев О.А., Торгов В.И., Усов А.И., Шибяев В.Н. (1995) Новые физиологические эффекты олигосахаридных фрагментов растительного ксилоглюкана, *Доклады РАН*, **340**, 427–429.
 75. Dixon, R.A., Jennings, A.C., Davies, L.A., Gerrish, G., and Murthy, D.L. (1989) Elicitor-active components from french bean hypocotyls, *Physiol. Mol. Plant Path.*, **34**, 99–115.
 76. Gonzalez-Perez, L., Vazquez-Glaria, A., Perrotta, L., Acosta, A., Scriven, S.A., Herbert, R., Cabrera, J.C., Francis, D., and Rogers, H.J. (2012) Oligosaccharins and Pectimorf® stimulate root elongation and shorten the cell cycle in higher plants, *Plant Growth Reg.*, **68**, 211–221.
 77. McDougall, G.J., and Fry, S.C. (1991) Xyloglucan nonasaccharide, a naturally-occurring oligosaccharin, arises *in vivo* by polysaccharide breakdown, *Plant Physiol.*, **137**, 332–336.
 78. Frankova, L., and Fry, S.C. (2013) Biochemistry and physiological roles of enzymes that “cut and paste” plant cell-wall polysaccharides, *J. Exp. Bot.*, **64**, 3519–3550.
 79. Bonnin, E., Garnier, C., and Ralet, M.-C. (2014) Pectin-modifying enzymes and pectin-derived materials: applications and impacts, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **98**, 519–532.
 80. Miller, A.R. (1989) Oxidation of cell wall polysaccharides by hydrogen peroxide: a potential mechanism for cell wall breakdown in plants, *Biochem. Biophys. Res Commun.*, **26**, 238–244.
 81. Tabbi, G., Fry, S.C., and Bonomo, R.P. (2001) ESR study of the non-enzymic scission of xyloglucan by an ascorbate-H₂O₂-copper system: the involvement of the hydroxyl radical and the degradation of ascorbate, *J. Inorg. Biochem.*, **84**, 179–187.
 82. Dumville, J.C., and Fry, S.C. (2000) Uronic acid-containing oligosaccharins: their biosynthesis, degradation and signaling roles in non-diseased plant tissues, *Plant Physiol. Biochem.*, **38**, 125–140.
 83. Elboutachfai, R., Delattre, C., Michaudc, P., Courtois, B., and Courtois, J. (2008) Oligogalacturonans production by free radical depolymerization of polygalacturonan, *Int. J. Biol. Macromol.*, **43**, 257–261.
 84. Bacic, A., Harris, P.J., and Stone, B.A. (1988) Structure and function of plant cell walls, *Biochem. Plants*, **14**, 297–371.
 85. Wolf, S., Hematy, K., and Heofte, H. (2012) Growth control and cell wall signaling in plants, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **63**, 381–407.
 86. Тарчевский И.А. (1993) *Катаболизм и стресс у растений. 52 Тимирязевские чтения*, Наука, Москва.
 87. MacDougall, A.J., Rigby, N.M., Needs, P.W., and Selvendran, R.R. (1992) Movement and metabolism of oligogalacturonide elicitors in tomato shoots, *Planta*, **188**, 566–574.

88. Warneck, H.M., Fulton, D.C., Seitz, H.U., and Fry, S.C. (1998) Transport, degradation and cell wall-integration of XXFGol, a growth-regulating nonasaccharide of xyloglucan, in pea stems, *Planta*, **204**, 78–85.
89. Faugeron, C., Sakr, S., Lhernould, S., Michalski, J.C., Delrot, S., and Morvan, H. (1999) Long-distance transport and metabolism of unconjugated N-glycans in tomato plants, *J. Exp. Bot.*, **50**, 1669–1675.
90. Baydoun, E.A.H., and Fry, S.C. (1985) The immobility of pectic substances in injured tomato leaves and its bearing on the identity of the wound hormone, *Planta*, **165**, 269–276.
91. Smith, R.C., and Fry, S.C. (1991) Endotransglycosylation of xyloglucans in plant cell suspension cultures, *Biochem. J.*, **279**, 529–535.
92. Cosio, E.G., Frey, T., and Ebel, J. (1992) Identification of a high-affinity binding protein for a hepta-beta-glucoside phytoalexin elicitor in soybean, *Eur. J. Biochem.*, **204**, 1115–1123.
93. Vargas-Rechia, C., Reicher, F., Sierakowski, M.R., Heyraud, A., Driguez, H., and Lienart, Y. (1998) Xyloglucan octasaccharide XXLgol derived from the seeds of *Hymenaea courbaril* acts as a signaling molecule, *Plant Physiol.*, **116**, 1013–1021.
94. He, Z.-H., Fujiki, M., and Kohorn, B.D. (1996) A cell wall-associated, receptor-like protein kinase, *J. Biol. Chem.*, **127**, 19789–19793.
95. Decreux, A., and Messiaen, J. (2005) Wall associated kinase WAK1 interacts with cell wall pectins in a calcium-induced conformation, *Plant Cell Physiol.*, **46**, 268–278.
96. Kohorn, B.D., Johansen, S., Shishido, A., Todorova, T., Martinez, R., Defeo, E., and Obregon, P. (2009) Pectin activation of MAP kinase and gene expression is WAK2 dependent, *Plant J.*, **60**, 974–982.
97. Decreux, A., Thomas, A., Spies, B., Brasseur, R., van Cutsem, P., and Messiaen, J. (2006) *In vitro* characterization of the homogalacturonan binding domain of the wall-associated kinase WAK1 using site-directed mutagenesis, *Phytochemistry*, **67**, 1068–1079.
98. Brutus, A., Sicilia, F., Macone, A., Cervone, F., and De Lorenzo, G. (2010) A domain swap approach reveals a role of the plant wall-associated kinase 1 (WAK1) as a receptor of oligogalacturonides, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **107**, 9452–9457.
99. Ferrari, S., Savatin, D.V., Sicilia, F., Gramegna, G., Cervone, F., and De Lorenzo, G. (2013) Oligogalacturonides: plant damage-associated molecular patterns and regulators of growth and development, *Front Plant Sci.*, **4**, 49–54.
100. Mathieu, Y., Kurkdijan, A., Xia, H., Guern, J., Koller, A., Spiro, M.D., O’Neil, M., Albersheim, P., and Darvill, A. (1991) Membrane responses induced by oligogalacturonides in suspension-cultured tobacco cells, *Plant J.*, **1**, 333–343.
101. Mathieu, Y., Guern, J., Spiro, M.D., O’Neill, M.A., Kates, K., Darvill, A.G., and Albersheim, P. (1998) The transient nature of the oligogalacturonide-induced ion fluxes of tobacco cells is not correlated with fragmentation of the oligogalacturonides, *Plant J.*, **16**, 305–311.
102. Messiaen, J., and Van Cutsem, P. (1994) Pectic signal transduction in carrot cells: membrane, cytosolic and nuclear responses induced by oligogalacturonides, *Plant Cell Physiol.*, **35**, 677–689.
103. Moscattello, R., Mariani, P., Sanders, D., and Maathuis, F.J. (2006) Transcriptional analysis of calcium-dependent and calcium-independent signaling pathways induced by oligogalacturonides, *J. Exp. Bot.*, **57**, 2847–2865.
104. Kohorn, B.D., and Kohorn, S.L. (2012) The cell wall-associated kinases, WAKs, as pectin receptors, *Front. Plant Sci.*, **3**, 1–5.
105. Farmer, E.E., Moloshok, T.D., Saxton, M.J., and Ryan, C.A. (1991) Oligosaccharide signaling in plants. Specificity of oligouronide-enhanced plasma membrane protein phosphorylation, *J. Biol. Chem.*, **266**, 3140–3145.
106. Reymond, P., Kunz, B., Paul-Pletzer, K., Grimm, R., Eckerskorn, C., and Farmer, E.E. (1996) Cloning of a cDNA encoding a plasma membrane associated, uronide binding phosphoprotein with physical properties similar to viral movement proteins, *Plant Cell*, **8**, 2265–2276.
107. Raffaele, S., Bayer, E., Lafarge, D., Cluzet, S., Retana, S.G., Boubekur, T., Leborgne-Castel, N., Carde, J.-P., Lherminier, J., Noirot, E., Satiat-Jeunemaitre, B., Laroche-Traineau, J., Moreau, P., Otti, T., Maule, A.J., Reymond, P., Simon-Plas, F., Farmer, E.E., Bessoule, J.-J., and Mongrand, S. (2009) Remorin a solanaceae protein resident in membrane rafts and plasmodesmata, impairs potato virus X movement, *Plant Cell*, **21**, 1541–1555.
108. Bariola, P.A., Retelska, D., Stasiak, A., Kammerer, R.A., Fleming, A., Hijri, M., Frank, S., and Farmer, E.E. (2004) Remorins form a novel family of coiled coil-forming oligomeric and filamentous proteins associated with apical, vascular and embryonic tissues in plants, *Plant Mol. Biol.*, **55**, 579–594.
109. Raffaele, S., Mongrand, S., Gamas, P., Niebel, A., and Ott, T. (2007) Genome-wide annotation of remorins, a plant-specific protein family: evolutionary and functional perspectives, *Plant Physiol.*, **145**, 593–600.
110. Vaid, N., Macovel, A., and Tuteja, N. (2013) Knights in action: lectin receptor-like kinases in plant development and stress responses, *Mol. Plant.*, **6**, 1405–1418.
111. Gouget, A., Senchou, V., Govers, F., Sanson, A., Barre, A., Rouge, P., Pont-Lezica, R., and Canut, H. (2006) Lectin receptor kinases participate in protein-protein interactions to mediate plasma membrane-cell wall adhesions in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, **140**, 81–90.
112. Casasoli, M., Spadoni, S., Lilley, K.S., Cervone, F., De Lorenzo, G., and Mattei, B. (2008) Identification by 2-D DIGE of apoplastic proteins regulated by oligogalacturonides in *Arabidopsis thaliana*, *Proteomics*, **8**, 1042–1054.
113. Kaku, H., Nishizawa, Y., Ishii-Minami, N., Akimoto-Tomiya, C., Dohmae, N., Takio, K., Minami, E., and Shibuya, N. (2006) Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11086–11091.
114. Lorences, E., and Fry, S. (1993) Xyloglucan oligosaccharides with at least two α -D-xylose residues act as acceptor substrates for xyloglucan endotransglycosylase and promote the depolymerization of xyloglucan, *Physiol. Plant.*, **88**, 105–112.
115. Loreti, E., Bellincampi, D., Millet, C., Alpi, A., and Perata, P. (2002) Elicitors of defence responses repress a gibberellin signaling pathway in barley embryos, *J. Plant Physiol.*, **159**, 1383–1386.
116. Savatin, D.V., Ferrari, S., Sicilia, F., and De Lorenzo, G. (2011) Oligogalacturonide auxin antagonism does not require posttranscriptional gene silencing or stabilization of auxin response repressors in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, **157**, 1163–1174.
117. Bellincampi, D., Cardarelli, M., Zaghi, D., Serino, G., Salvi, G., Gatz, C., Cervone, F., Altamura, M.M., Costantino, P., and Lorenzo, G.D. (1996) Oligogalacturonides prevent rhizogenesis in *rol B* transformed tobacco explants by inhibiting auxin-induced expression of the *rol B* gene, *Plant Cell*, **8**, 477–487.
118. Mauro, M.L., De Lorenzo, G., Costantino, P., and Bellincampi, D. (2002) Oligogalacturonides inhibit the induction of late but not of early auxin-responsive genes in tobacco, *Planta*, **215**, 494–501.

119. Richterova-Kucerova, D., Kollarova, K., Zelko, I., Vatehova, Z., and Liskova, D. (2012) How do galactoglucomannan oligosaccharides regulate cell growth in epidermal and cortical tissues of mung bean seedlings, *Plant Physiol. Biochem.*, **57**, 154–158.
120. Zabolina, O.A., and Zabolin, A.I. (2010) Biologically active oligosaccharide functions in plant cell: updates and prospects, in *Oligosaccharides: sources, properties and applications* (Gordon, N.S., ed.), Nova Science Publishers Inc., N.Y., pp. 1–34.
121. Augur, C., Benhamou, N., Darvill, A., and Albersheim, P. (1993) Purification, characterization and cell wall localization of an α -fucosidase that inactivates a xyloglucan oligosaccharin, *Plant J.*, **3**, 415–426.
122. De la Torre, F., Sampedro, J., Zarra, I., and Revilla, G. (2002) AtFXG1, an *Arabidopsis* gene encoding α -L-fucosidase active against fucosylated xyloglucan oligosaccharides, *Plant Physiol.*, **128**, 247–255.
123. Sampedro, J., Sieiro, C., Revilla, G., Gonzalez-Villa, T., and Zarra, I. (2001) Cloning and expression pattern of a gene encoding an α -xylosidase active against xyloglucan oligosaccharides from *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, **126**, 910–920.
124. Garcia-Romera, I., and Fry, S.C. (1995) The longevity of biologically active oligosaccharide in rose cell cultures: degradation by exopolysaccharuronase, *J. Exp. Bot.*, **46**, 1853–1867.
125. Fry, S.C., Aldington, S., Hetherington, P.R., and Aitken, J. (1993) Oligosaccharides as signals and substrates in the plant cell wall, *Plant Physiol.*, **103**, 1–5.
126. Ramirez, A., Cruz, N., and Franchialfaro, O. (2003) Uso de bioestimuladores en la produccion de guayaba (*P. guajava* L.) mediante el enraizamiento de esquejes, *Cultivos Tropicales*, **24**, 59–63.
127. Baque, M.A., Shiragi, M.H.K., Lee, E.-J., and Paek, K.-Y. (2012) Elicitor effect of chitosan and pectin on the biosynthesis of anthraquinones, phenolics and flavonoids in adventitious root suspension cultures of *Morinda citrifolia* (L.), *Austr. J. Crop Sci.*, **6**, 1349–1355.
128. Носов А.М. (1991) *Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений*, Наука, Москва.
129. Praveen, N., and Murthy, H.N. (2010) Production of withanolide-a from adventitious root cultures of *Withania somnifera*, *Acta Physiol. Plant.*, **32**, 1017–1022.
130. Kaida, R., Sugawara, S., Negoro, K., Maki, H., Hayashi, T., and Kaneko, T.S. (2010) Acceleration of cell growth by xyloglucan oligosaccharides in suspension-cultured tobacco cells, *Mol. Plant.*, **3**, 549–554.
131. Nieves, N., Poblete, A., Cid, M., Lezcano, Y., Gonzalez-Olmedo, J.L., and Cabrera, J.C. (2006) Evaluacion del Pectimorf como complemento del 2,4-D en el proceso de embriogenesis somatica en cana de azucar, *Cultivos Tropicales*, **27**, 25–30.
132. Allegre, M., Heloir, M.C., Trouvelot, S., Daire, X., Pugin, A., Wendehenne, D., and Adrian, M. (2009) Are grapevine stomata involved in the elicitorinduced protection against downy mildew, *Mol. Plant Microbe Interact.*, **22**, 977–986.
133. Aziz, A., Heyraud, A., and Lambert, B. (2004) Oligogalacturonide signal transduction, induction of defense-related responses and protection of grapevine against *Botrytis cinerea*, *Planta*, **218**, 767–774.
134. Garcia-Sahagun, M.L., Martinez-Juarez, V., Avendaño-Lopez, A.N., Padilla-Sahagun, M.C., and Izquierdo-Oviedo, H. (2009) Accion de oligosacaridos en el rendimiento y calidad de tomate, *Revista Fitotecnia Mexicana*, **32**, 295–301.
135. Marina-de la Huerta, C., Fernandez, L., Saborit, M., Castillo, P., and Nieto, M. (2005) Comportamiento de la planta de cana de azucar tratada con ENERPLANT cultiva en suelos vertisoles, *Revista Electronica Granma Ciencia*, **9**, 1–6.
136. Jeurink, P.V., van Esch, B.C., Rijnierse, A., Garssen, J., and Knippels, L.M.J. (2013) Mechanisms underlying immune effects of dietary oligosaccharides, *Am. J. Clin. Nutr.*, **98**, 572S–577S.
137. Ninonuevo, M.R., and Lebrilla, C.B. (2009) Mass spectrometric methods for analysis of oligosaccharides in human milk, *Nutr. Rev.*, **67**, 216–226.
138. Roberford, M. (2007) Prebiotics: the concept revisited, *J. Nutr.*, **137**, 830S–837S.
139. Casci, T., and Rastall, R.A. (2006) Manufacture of prebiotic oligosaccharides, in *Prebiotics: development and application* (Gibson, G.R., and Rastall, R.A., eds), John Wiley & Sons Ltd, Chichester, pp. 29–56.
140. Вальшев А.В., Головченко В.В. (2012) Пребиотическая активность пектинов и их производных, *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*, **3**, 1–8.
141. Rycroft, C.E., Jones, M.R., Gibson, G.R., and Rastall, R.A. (2001) A comparative *in vitro* evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides, *J. Appl. Microbiol.*, **91**, 878–887.
142. Hartemink, R., van Laere, K.M.J., Mertens, A.K.C., and Rombouts, F.M. (1996) Fermentation of xyloglucan by intestinal bacteria, *Anaerobe*, **2**, 223–230.
143. Van Laere, K.M.J., Hartemink, R., Bosveld, M., Schols, H.A., and Voragen, A.G.J. (2000) Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria, *J. Agricult. Food Chem.*, **48**, 1644–1652.
144. Garthoff, J.A., Heemskerck, S., Hempenius, R.A., Lina, B.A.R., Krul, C.A.M., and Koeman, J.H. (2010) Safety evaluation of pectin derived acidic oligosaccharides (pAOS): genotoxicity and sub-chronic studies, *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, **57**, 31–42.
145. Li, T., Li, S., Du, L., Wang, N., Guo, M., Zhang, J., and Zhang, H. (2010) Effects of haw pectic oligosaccharide on lipid metabolism and oxidative stress in experimental hyperlipidemia mice induced by high-fat diet, *Food Chem.*, **121**, 1010–1013.
146. Olano-Martin, E., Williams, M.R., Gibson, G.R., and Rastall, R.A. (2003) Pectins and pectic-oligosaccharides inhibit *Escherichia coli* O157:H7 Shiga toxin as directed towards the human colonic cell line HT29, *FEMS Microbiol. Lett.*, **218**, 101–105.
147. Trevisi, P., De Filippi, S., Minieri, L., Mazzoni, M., Modesto, M., Biavati, B., and Bosi, P. (2008) Effect of fructo-oligosaccharides and different doses of *Bifidobacterium animalis* in a weaning diet on bacterial translocation and Toll-like receptor gene expression in pig, *Nutrition*, **24**, 1023–1029.
148. Guggenbichler, J.P., Bettignies-Dutz, A., Meissner, P., Schellmoser, S., and Jurenitsch, J. (1997) Acidic oligosaccharides from natural sources block adherence of *Escherichia coli* on uroepithelial cells, *Pharmac. Pharmacol. Lett.*, **7**, 35–38.
149. Onumpai, C., Kolida, S., Bonnini, E., and Rastall, R. (2011) Utilization and selectivity of pectin fractions with various structures, *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, 5747–5754.
150. Vos, A.P., van Esch, E.C.A.M., Stahl, B., M'Rabet, L., Folkerts, G., Nijkamp, F.P., and Garssen, J. (2007) Dietary supplementation with specific oligosaccharide mixtures decreases parameters of allergic asthma in mice, *Int. Immunopharmacol.*, **7**, 1582–1587.
151. Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Song, H., and Tian, Y. (2008) Inhibitory effect of wheat bran feruloyl oligosaccharides on oxidative DNA damage in human lymphocytes, *Food Chem.*, **109**, 129–136.
152. Wu, J.H., Xu, C., Shan, C.Y., and Tan, R.X. (2006) Antioxidant properties and PC12 cell protective effects of

- APS-1 a polysaccharide from *Aloe vera* var. *chinensis*, *Life Sci.*, **78**, 622–630.
153. Chun-hui, L., Chang-hai, W., Zhi-liang, X., and Yi, W. (2007) Isolation, chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharides from the gel and the skin of *Aloe barbadensis* Miller irrigated with sea water, *Process Biochem.*, **42**, 961–970.
 154. Uhlenbruk, G., Beuth, J., Oette, K., Roszkowski, W., Ko, H.L., and Pulverer, G. (1986) Prevention of experimental liver metastases by arabinogalactan, *Naturwissenschaften*, **73**, 626–627.
 155. Медведева Е.Н., Бабкин В.А., Остроухова Л.А. (2003) Арабиногалактан лиственницы – свойства и перспективы использования, *Химия раст. сырья*, **1**, 27–37.
 156. Gronhaug, T.E., Ghildyal, P., Barsett, H., Michaelsen, T.E., Morris, G., and Diallo, D. (2010) Bioactive arabinogalactans from the leaves of *Opilia celidifolia* Endl. ex Walp. (Opiliaceae), *Glycobiology*, **20**, 1654–1664.
 157. Попов С.В., Оводов Ю.С. (2013) Полипотентность иммуномодулирующего действия пектинов, *Биохимия*, **78**, 1053–1068.
 158. Попов, S.V., Ovodova, R.G., Golovchenko, V.V., Khranova, D.S., Markov, P.A., Smirnov, V.V., Shashkov, A.S., and Ovodov, Y.S. (2014) Pectic polysaccharides of the fresh plum *Prunus domestica* L. isolated with a simulated gastric fluid and their anti-inflammatory and antioxidant activities, *Food Chem.*, **143**, 106–113.
 159. Vos, A.P., Haarman, M., van Ginkel, J.-W.H., Knol, J., Stahl, B., Boehm, G., M'Rabet, L., Nijkamp, F.P., and Garssen, J. (2007) Dietary supplementation of neutral and acidic oligosaccharides enhances Th1-dependent vaccination responses in mice, *Pediatric Allergy Immunol.*, **18**, 304–312.
 160. Barondes, S.H., Castronovo, V., Cooper, D.N.W., Cummings, R.D., Drickmer, K., and Feizi, T. (1994) Galectins – family of animal beta-galactoside-binding lectins, *Cell*, **76**, 597–598.
 161. Рапопорт Е.М., Курмышкина О.В., Бовин Н.В. (2008) Галектины млекопитающих: структура, углеводная специфичность и функции, *Биохимия*, **73**, 483–497.
 162. Glinky, V.V., and Raz, A. (2009) Modified pectin anti-metastatic properties: one bullet, multiple targets, *Carb. Res.*, **344**, 1788–1791.
 163. Takenaka, Y., Fukumori, T., and Raz, A. (2002) Galectin-3 and metastasis, *Glycoconj. J.*, **19**, 543–549.
 164. Gunning, A.P., Bongaerts, R.J.M., and Morris, V.J. (2009) Recognition of galactan components of pectin by galectin-3, *FASEB J.*, **23**, 415–424.
 165. Hagmar, B., Ryd, W., and Skomedal, H. (1991) Arabinogalactan blockade of experimental metastases to liver by murine hepatoma, *Invasion Metastasis*, **11**, 348–355.
 166. Hauer, J., and Anderer, F.A. (1993) Mechanism of stimulation of human natural killer cytotoxicity by arabinogalactan from *Larix occidentalis*, *Cancer Immunol. Immunother.*, **36**, 237–244.
 167. Miller, M.C., Klyosov, A., and Mayo, K.H. (2009) The alpha-galactomannan Davanat binds galectin-1-associated different from the conventional galectin carbohydrate binding domain, *Glycobiology*, **19**, 1034–1045.
 168. Tevyashova, A.N., Olsufyeva, E.N., Preobrazhenskaya, M.N., Klyosov, A.A., Zomer, E., and Platt, D. (2007) New conjugates of antitumor antibiotic doxorubicin with water-soluble galactomannan: synthesis and biological activity, *Russ. J. Bioorgan. Chem.*, **33**, 139–145.
 169. Lubrano, C., Flavet, L., Saintigny, G., and Robin, J. (2007) Methods of treating aging of skin with oligosaccharides in cosmetic or dermatological compositions that stimulate adhesion of keratinocytes to major proteins of the dermoepidermal junction and restore epidermal cohesion, United States Patent No. US 2007/0293433A1.
 170. Fiehn, O. (2002) Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes, *Plant Mol. Biol.*, **48**, 155–171.
 171. Лохов П.Г., Арчаков А.И. (2008) Масс-спектрометрические методы в метаболомике, *Биомедицинская химия*, **54**, 497–511.
 172. Pabst, M., and Altmann, F. (2011) Glycan analysis by modern instrumental methods, *Proteomics*, **11**, 631–643.
 173. Adamczyk, B., Tharmalingam, T., and Rudd, P.M. (2011) Glycans as cancer biomarkers, *Biochim. Biophys. Acta*, **1820**, 1347–1353.
 174. Тарчевский И.А. (2002) *Сигнальные системы клеток растений*, Наука, Москва.

PLANT OLIGOSACCHARIDES – OUTSIDERS AMONG ELICITORS?

I. A. Larskaya, T. A. Gorshkova*

*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences,
ul. Lobachevskogo 2/31, Kazan 420111, Russia;
E-mail: gorshkova@kibb.knc.ru*

Received February 9, 2015
Revision received March 16, 2015

This review substantiates the need to study the plant oligoglycome. Available information on oligosaccharines – physiologically active fragments of plant cell wall polysaccharides – is summarized. The diversity of such compounds in chemical composition and origin and proved biological activity is highlighted. At the same time, plant oligosaccharides can be considered as outsiders among elicitors of various natures in the research of recent decades. The review discusses the reasons for such attitude, which are largely connected with the difficulties in isolation and identification. Together with that, approaches are suggested whose potentials can be used to study oligosaccharines. The topics of oligosaccharide metabolism in plants, including ways of formation, transport, and inactivation, are presented, together with data on biological activity and interaction with plant hormones. Current viewpoints on the mode of action – perception, signal transduction, possible targets – are considered. The potential to use such compounds in medicine, agriculture, and biotechnology is discussed.

Key words: plant oligosaccharides, oligosaccharines, cell wall, oligoglycome