

Состав водорастворимых полисахаридов клеток каллусной ткани стебля *Heracleum sosnowskyi*

© 2025. Е. Н. Гордина, ст. преподаватель, А. А. Злобин, к. х. н., доцент,
Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
e-mail: gordina_elenabk.ru

Из каллусной ткани стебля борщевика Сосновского *Heracleum sosnowskyi* Manden. выделена фракция водорастворимых полисахаридов, экстрагируемых из клеток горячей водой. Показано, что главными компонентами углеводных цепей фракции водорастворимых полисахаридов каллуса являются остатки галактозы, арабинозы, а также остатки гликуроновых (D-галактуроновой и D-глюкуроновой) кислот, которые идентифицированы практически в равных количествах. В качестве минорных моносахаридов в состав каллусной ткани входят также остатки глюкозы, рамнозы, ксилозы и маннозы. С помощью методов ультрафильтрации и ионообменной хроматографии установлено, что данная фракция полисахаридов представлена гетерогенной смесью кислых полисахаридов, отличающихся по моносахаридному составу. Показано, что в её состав входят полисахариды, которые по набору нейтральных моносахаридных остатков соответствуют фракциям арабиногалактанов, входящих в состав протеогликанов, экстрагируемых из растения горячей водой. В то же время, они отличаются от арабиногалактанов нативного растения более высоким содержанием остатков арабинозы и галактозы, а также меньшим количеством остатков D-галактуроновой и D-глюкуроновой кислот. Установлено, что в состав фракции водорастворимых полисахаридов каллуса входят кислые полисахариды, которые по содержанию остатков D-галактуроновой кислоты и по соотношению нейтральных моносахаридных остатков близки к фракции пектиновых полисахаридов протопектинового комплекса клеточных стенок каллусной ткани, главные углеводные цепи которых содержат протяжённые области низкометилэтерифицированного 1,4- α -D-галактуронана и рамногалактуронана-I, а также боковые углеводные цепи, представленные арабианом, галактаном и/или арабиногалактаном. Показано, что полисахариды, входящие в состав фракции полисахаридов каллуса, содержат значительные количества соединений белковой природы, которые, вероятно, образуют с ними прочные комплексы или ковалентно связаны с их углеводными цепями.

Ключевые слова: каллусная ткань, водорастворимые полисахариды, арабиногалактаны, пектиновые полисахариды, хромато-масс-спектрометрия, ультрафильтрация, ионообменная хроматография.

The composition of water-soluble polysaccharides of *Heracleum sosnowskyi* stem callus cells

© 2025. E. N. Gordina ORCID: 0000-0002-7490-9132
A. A. Zlobin ORCID: 0000-0002-2129-8999
Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
e-mail: gordina_elenabk.ru

A fraction of water-soluble polysaccharides extracted from cells with hot water was isolated from the callus tissue of the stem of the *Heracleum sosnowskyi* Manden. It was shown that the main components of the carbohydrate chains of the water-soluble polysaccharides fraction of callus are galactose, arabinose, and glycuronic (D-galacturonic and D-glucuronic) acid residues, which were identified in almost equal amounts. Glucose, rhamnose, xylose, and mannose residues are also included as minor monosaccharides in callus. Using ultrafiltration and ion exchange chromatography methods, it was found that this polysaccharide fraction is represented by a heterogeneous mixture of acidic polysaccharides differing in monosaccharide composition. It is shown that its composition includes polysaccharides, which by the set of neutral monosaccharide residues correspond to the fractions of arabinogalactans, which are part of proteoglycans extracted from the plant with hot water. At the same time, they differ from native plant arabinogalactans in a higher content of arabinose and galactose residues, as well as lower amount of D-galacturonic and D-glucuronic acid residues. It was found that the fraction of water-soluble polysaccharides of callus includes acidic polysaccharides, which are close to the pectin polysaccharides fraction of protopectin complex of callus tissue cell walls in terms of the content of D-galacturonic acid residues and the ratio of neutral monosaccharide residues, the main carbohydrate chains of which contain extended regions of low-methylesterified 1,4- α -D-galacturonan and rhamnogalacturonan-I, as well as the side carbohydrate chains represented by arabinan, galactan and/or arabinogalactan. It was revealed that

polysaccharides included in the callus polysaccharide fraction contain significant amounts of protein compounds that probably form strong complexes with them or are covalently bound to their carbohydrate chains.

Keywords: callus tissue, water-soluble polysaccharides, arabinogalactans, pectin polysaccharides, chromatography-mass spectrometry, ultrafiltration, ion exchange chromatography.

Способность с высокой скоростью накапливать большое количество биомассы позволяет рассматривать борщевик Сосновского в качестве перспективного источника биологически активных веществ и водорастворимых полисахаридов (содержание легкогидролизуемых полисахаридов в стеблях борщевика может достигать 22,5%) [1]. Водные экстракты полисахаридов борщевика проявляют выраженное иммуностимулирующее и сосудорасширяющее действие, а также могут использоваться для лечения экзематозов и псориазов [2–5], а арабиногалактаны и пектиновые полисахариды борщевика оказывают стимулирующий эффект на ранних стадиях онтогенеза злаков и увеличивают продуктивность травянистых растений [6]. Вместе с тем использование данной агрокультуры на практике крайне затруднительно, т. к. она является агрессивным инвазивным видом [7, 8], для которого характерно быстрое и неконтролируемое распространение в естественных экосистемах. Кроме того, на фракционный состав фитополисахаридов и их характеристики оказывают влияние стадия вегетации и условия произрастания растений, а также тип растительных тканей, в которых они локализованы. В то же время, культуры дедифференцированных клеток и тканей растений синтезируют водорастворимые полисахариды, которые благодаря отсутствию организменного контроля и влияния почвенно-климатических условий отличаются относительно постоянными характеристиками [9], что позволяет использовать их для получения фитополисахаридов, обладающих определённым спектром биологической активности, обусловленным особенностями состава и структуры их углеводных цепей [10].

Цель данной работы – сравнение состава водорастворимых полисахаридов каллуса стебля борщевика Сосновского с составом арабиногалактанов надземной части нативного растения.

Объекты и методы исследования

Растительный материал. Для выделения водорастворимых полисахаридов использовали 21-суточную каллусную ткань борщевика Сосновского, которую выращивали в темноте

в термостате Binder (Германия) при $t=26$ °С. В качестве питательной среды применяли минеральную основу среды Мурасиге-Скуга [11], с добавлением сахарозы (30 г/л), глицина (2 мг/л), мио-инозита (100 мг/л), витаминов (B_1 , B_2 , B_3 , B_5 , B_6 , B_7 , B_9 и B_{12}) и фитогормонов (2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты – 2,0 мг/л и 6-бензиламинопурина – 0,1 мг/л) [12].

Выделение водорастворимых полисахаридов. Лиофилизированную каллусную ткань (36,79 г) обезжиривали кипящей смесью хлороформа и метанола (2:1 по объёму) в аппарате Сокслета и проводили истощающую экстракцию водорастворимых полисахаридов дистиллированной водой (порциями по 2 л) при $t=68$ °С [12]. Окончание экстракции полисахаридов определяли качественной реакцией с фенолом и концентрированной серной кислотой по методу Смита [13]. Объединённый экстракт концентрировали упариванием под вакуумом при $t=40$ °С, диализовали и осаждали полисахариды четырёхкратным объёмом 96% этанола. Осадок водорастворимых полисахаридов растворяли в минимальном объёме дистиллированной воды и лиофильно высушивали – фракция HscI (1248,0 мг).

Общие методы. Упаривание растворов проводили на роторном вакуумном испарителе ИКА НВ 10 basic (Германия). Центрифугирование растворов проводили на центрифуге Sigma 2-16 РК (Германия). Для диализа использовали плёнки из ацетата целлюлозы с отсекаемыми молекулярными массами 5–8 кДа (CelluSep H1, Бельгия). Высушивание образцов проводили с помощью лиофильной сушилки ALPHA 2-4LD plus (Германия).

Общее содержание гликуроновых кислот (UA) в образцах определяли спектрофотометрическим методом [14] по калибровочному графику для D-галактуроновой кислоты (10–100 мкг/мл), белка – с использованием реактива Фолина-Чиокалтеу [15] с калибровочным графиком для фракции V бычьего сывороточного альбумина (10–100 мкг/мл), а метоксильных групп – по методу [16] с использованием пентан-2,4-диона и калибровочного графика для метанола (10–80 мкг/мл). Измерения оптических плотностей растворов проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 (Япония).

Для обнаружения и количественного определения моносахаридов использовали газовую хромато-масс-спектрометрию (ГЖХ-МС). Моносахариды перед определением переводили в летучие триметилсилиловые эфиры [17] и полные ацетаты полиолов [18] после полного кислотного гидролиза 2М раствором трифторуксусной кислоты (ТФУ) при $t=100\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 4–5 ч.

Определение триметилсилиловых эфиров моносахаридов и ацетатов полиолов проводили на газовом хроматографе G2589A (Agilent Tech., США) с колонкой HP-5MS (0,25 мм × 30 м) (Hewlett-Packard, США) и масс-селективным детектором 5973 INERT (Agilent Tech., США). Скорость газа-носителя (гелия): 1,0 мл/мин (деление потока 1:20). Температура инжектора – 250 °С. Температурный режим термостата колонки: 175 °С (1 мин) → 250 °С (градиент – 3 °С/мин). Температура интерфейса – 230 °С. Температура ионного источника – 230 °С. Энергия ионизирующих электронов – 70 эВ. Сканируемый диапазон масс – 44–550 m/z . Объём вводимых проб – 1 мкл. Количественное содержание моносахаридов в виде ацетатов полиолов рассчитывали с использованием соответствующих молярных коэффициентов (внутренний стандарт миоинозит – 0,1 мг/мл).

Ультрафильтрация. Навеску водорастворимых полисахаридов HScI (885,6 мг) растворяли в 200 мл дистиллированной воды, фильтровали через мембрану Vivacell 250, ПЭС (Владисарт, Россия) с отсекаемой M_w – 100 кДа и лиофильно высушивали концентрат – фракция HScI-и (644,7 мг).

Ионообменная хроматография. Для разделения полисахаридов HScI-и (76,5 мг) использовали колонку (37±1,5 см) с ДЭАЭ-целлюлозой (Fluka, Швеция) в Cl⁻ форме. Ступенчатое элюирование полисахаридов проводили 0,01–0,5М растворами NaCl с объёмным расходом – 30 мл/ч. Контроль выхода фракций полисахаридов из колонки контролировали фенол-сернокислотным методом по Смитсу [13]. Фракции полисахаридов, элюируемые 0,01М, 0,1М, 0,2М и 0,3М растворами NaCl, диализовали и лиофильно высушивали: HScI-и-1d (4,7 мг), HScI-и-2d (14,5 мг), HScI-и-3d (24,0 мг) и HScI-и-4d (10,5 мг).

Результаты и обсуждение

Выход экстрагируемых водой полисахаридов (фракция водорастворимых полисахаридов HScI) из каллусной ткани стебля

борщевика составил 3,4%, что в 2,8 раза выше, чем выход полисахаридной фракции из надземной части нативного растения [19–21]. Как было показано ранее [21], из надземной части борщевика Сосновского водой экстрагируются главным образом арабиногалактановые белки. Было установлено, что фракция HScI включает значительное количество белковых веществ – до 17%. Фракция полисахаридов HScI характеризуется достаточно высоким содержанием гликуроновых кислот (табл.). Методом ГЖХ-МС триметилсилиловых (ТМС) эфиров в их составе идентифицированы остатки глюкуроновой (GlcA) и галактуриновой (GalA) кислот. При определении нейтральных моносахаридов, входящих в состав HScI, методом ГЖХ-МС в виде перацетатов полиолов показано, что главными компонентами углеводных цепей фракции водорастворимых полисахаридов являются остатки галактозы (Gal) и арабинозы (Ara). Кроме того, в состав фракции HScI входят остатки глюкозы (Glc), ксилозы (Xyl), рамнозы (Rha) и маннозы (Man). **В отличие от протеогликанов, экстрагируемых водой из надземной части борщевика Сосновского [21], полисахариды фракции HScI отличаются повышенным содержанием остатков Gal и Ara.**

Для удаления низкомолекулярных фрагментов фракцию водорастворимых полисахаридов HScI подвергали ультрафильтрации на мембране с отсекаемой среднемассовой молекулярной массой (M_w) 100 кДа. В результате получена фракция HScI-и, содержащая 4,4% белка, моносахаридный состав полисахаридов которой практически идентичен полисахаридам исходной фракции HScI (табл.).

При фракционировании HScI-и на ДЕАЭ-целлюлозе (Cl⁻ форма) были получены четыре различных по составу фракций полисахаридов. В отличие от фракций HScI-и-1-d и HScI-и-2-d, элюируемых 0,01 М и 0,1 М растворами NaCl, которые содержат незначительные количества остатков UA, фракции HScI-и-3-d и HScI-и-4-d, элюируемые 0,2 М и 0,3 М растворами NaCl, характеризуются повышенным их содержанием (табл.). В составе UA фракций HScI-и-1-d и HScI-и-2-d идентифицированы остатки GlcA и GalA. Во фракциях HScI-и-2-d и HScI-и-4-d идентифицированы остатки GalA, а остатки GlcA обнаружены в следовых количествах.

По набору нейтральных моносахаридных остатков HScI-и-1-d и HScI-и-2-d близки к соответствующим фракциям арабиногалактанов II, получаемым при ионообменной хро-

Состав фракций полисахаридов каллуса борщевика Сосновского
Composition of polysaccharides fractions of *Heracleum sosnowskyi* callus

Фракция Fraction	Выход, % Output, %	Содержание, % / Content, %								
		MeO ¹	UA ²	Ara ²	Gal ²	Rha ²	Xyl ²	Man ²	Glc ²	Σms ⁴
HScI	3,4 ³	1,0	26,3	20,6	36,6	0,6	6,2	1,1	8,6	68,2
HScI-u	72,8 ⁴	0,7	27,6	17,8	38,2	2,3	5,1	1,4	7,6	66,2
HScI-u-1-d	6,1 ⁴	–	12,9	18,7	36,2	0,8	2,9	4,6	23,9	39,9
HScI-u-2-d	19,0 ⁴	tr.	9,7	29,3	54,6	2,2	1,0	0,7	2,5	80,0
HScI-u-3-d	31,4 ⁴	2,0	34,0	20,8	33,3	2,7	0,7	0,8	7,7	78,3
HScI-u-4-d	13,7 ⁴	1,2	57,9	12,0	18,5	2,3	1,4	2,0	5,9	52,3

Примечание: ¹ – массовые проценты; ² – мольные проценты; ³ – в пересчёте на массу сухого вещества каллусной ткани; ⁴ – в пересчёте на массу полисахарида, взятого на ультрафильтрацию и ионообменную хроматографию; Σms – суммарное содержание моносахаридов; MeO – метоксильные группы; прочерк означает – не определено; tr. – следовые количества.

Note: ¹ – mass percentages; ² – molar percentages; ³ – in terms of the dry mass of callus tissue; ⁴ – in terms of the mass of the polysaccharide taken for ultrafiltration and ion exchange chromatography (in parentheses – yields in terms of the mass of the initial polysaccharide HScI); Σms – the total content of monosaccharides; MeO – methoxyl groups; a dash means undefined; tr. – trace amounts.

матографии полисахаридов, экстрагируемых водой из надземной части нативного растения [19]. Однако, в отличие от них, она характеризуется меньшим (в 2 раза) количеством остатков UA и более высоким количеством (в 2 раза) остатков Ara. **В то же время, по содержанию остатков UA и соотношению нейтральных моносахаридных остатков HScI-u-3-d и HScI-u-4-d близки к фракциям пектиновых полисахаридов, экстрагируемых из каллусной ткани борщевика Сосновского 0,7% водным раствором оксалата аммония [12].**

Все фракции содержат значительные количества белковых соединений: HScI-u-1-d – 19,0%, HScI-u-2-d – 16,1%, HScI-u-3-d – 12,1% и **HScI-u-4-d – 14,4%, которые, вероятно, образуют прочные комплексы с углеводными цепями или ковалентно связаны с ними.**

Заключение

Таким образом, экстракцией горячей водой из каллусной ткани борщевика выделена фракция водорастворимых полисахаридов с выходом, существенно превышающим выход водорастворимых полисахаридов из надземной части растения. Это позволяет рассматривать её в качестве перспективного источника для получения водорастворимых полисахаридов.

С помощью методов ультрафильтрации и ионообменной хроматографии показано, что главными компонентами фракции водорастворимых полисахаридов каллуса борщевика являются полисахариды, близкие по

моносахаридному составу арабиногалактану II надземной части нативного растения, а также пектиновым полисахаридам клеточных стенок каллуса.

Литература

1. Возняковский А.П., Карманов А.П., Неверовская А.Ю., Возняковский А.А., Кочева Л.С., Кидалов С.В. Биомасса борщевика Сосновского как сырьё для получения 2D углеродных наноструктур // *Химия растительного сырья*. 2020. № 3. С. 833–892. doi: 10.14258/jcrpm.2020047739
2. Kumar S., Gupta P., Sharma S., Kumar D. A review on immunostimulatory plants // *J. Chin. Integr. Med.* 2011. V. 9. No. 2. P. 117–128. doi: 10.3736/jcim20110201
3. Senejoux F., Demougeot C., Cuciureanu M., Miron A., Cuciureanu R., Berthelot A., Girard-Thernier C. Vaso-relaxant effects and mechanisms of action of *Heracleum sphondylium* (Apiaceae) in rat thoracic aorta // *J. Ethnopharmacol.* 2013. V. 147. P. 536–539. doi: 10.1016/j.jep.2013.03.030
4. Суханов А.И. Средство для лечения экзематозов // Патент RU 2057541 С1. Заявление: 92011705/14, 14.12.1992. Дата публикации: 10.04.1996. Бюлл. 32.
5. Суханов А.И. Способ лечения псориаза // Патент RU 2076726 С1. Заявление: 93015568/14, 22.03.1993. Дата публикации: 04.10.1997.
6. Михайлова Е.А., Щербакова Т.П., Шубаков А.А. Изучение эффективности применения препаратов пектиновых полисахаридов на разнотравье в условиях полевого опыта // *Научные достижения биологии, химии, физики: материалы международ. заочной науч.-практ. конф.* Новосибирск: Сибирская ассоциация консультантов, 2012. С. 41–46.

7. Ашихмина Т.Я., Товстик Е.В., Адамович Т.А. Экологические факторы, определяющие естественную и антропогенную инвазию борщевика Сосновского *Heracleum sosnowskyi* Manden., меры борьбы с ним (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2023. № 2. С. 20–31. doi: 10.25750/1995-4301-2023-2-020-031
8. Ашихмина Т.Я., Рутман В.В., Адамович Т.А., Товстик Е.В. Мониторинг распространения *Heracleum sosnowskyi* на урбанизированных территориях по данным дистанционного зондирования Земли // Теоретическая и прикладная экология. 2023. № 3. С. 73–80. doi: 10.25750/1995-4301-2023-3-073-080
9. Гюнтер Е.А., Попейко О.В., Оводов Ю.С. Модификация полисахаридов каллусной культуры *Silene vulgaris* (М.) Г. с помощью карбогидраз *in vitro* // Биохимия. 2007. Т. 72. № 9. С. 1238–1247.
10. Оводов Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах // Биоорганическая химия. 2009. Т. 35. № 3. С. 293–310.
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. No. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
12. Гордина Е.Н., Кузнецов С.П., Головченко В.В., Злобин А.А. Предварительная структурная характеристика полисахаридов, экстрагируемых из каллусной ткани стебля борщевика Сосновского *Heracleum Sosnowskyi* Manden. водным раствором оксалата аммония // Биоорганическая химия. 2019. Т. 45. № 6. С. 633–639. doi: 10.1134/S0132342319060186
13. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Anal. Chem.* 1956. V. 28. No. 3. P. 350–356. doi: 10.1021/ac60111a017
14. Usov A.T., Bilan M.I., Klochkova N.G. Polysaccharides of algae. 48. Polysaccharide composition of several calcareous red algae: isolation of alginate from *Corallina pilulifera* P. et R. (Rhodophyta, Corallinaceae) // *Bot. marina.* 1995. V. 38. P. 43–51. doi: 10.1515/botm.1995.38.1-6.43
15. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. V. 193. No. 1. P. 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6
16. Goldstein I.J., Hamilton J.K., Montgomery R., Smith F. Reduction of the products of periodate oxidation of carbohydrates. V. The constitution of cellulose // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. V. 79. No. 24. P. 6469–6473. doi: 10.1021/ja01581a029
17. Sweeley C.C., Bentley R., Makita M., Wells W.W. Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substances // *J. Am. Chem. Soc.* 1963. V. 85. No. 16. P. 2497–2507. doi: 10.1021/ja00899a032
18. York W.S., Darvil A.G., McNeil M., Stevenson T.T., Albersheim P. Isolation and characterization of plant cell walls and cell wall components // *Methods Enzymol.* 1986. V. 118. P. 3–40. doi: 10.1016/B978-0-12-743655-5.50007-5
19. Шахматов Е.Г., Михайлова Е.А., Макарова Е.Н. Структурно-химическая характеристика и биологическая активность полисахаридов *Heracleum Sosnowskyi* Manden // *Химия растительного сырья.* 2015. № 4. С. 15–22. doi: 10.14258/jcprm.201504878
20. Shakhmatov E.G., Atukmaev K.V., Makarova E.N. Structural characteristics of pectic polysaccharides and arabinogalactan proteins from *Heracleum sosnowskyi* Manden // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 136. P. 1358–1369. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.10.041
21. Shakhmatov E.G., Toukach P.V., Kuznetsov S.P., Makarova E.N. Structural characteristics of water-soluble polysaccharides from *Heracleum sosnowskyi* Manden // *Carbohydr. Polym.* 2014. V. 102. P. 521–528. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.12.001

References

1. Voznyakovsky A.P., Karmanov A.P., Novrovskaya A.V., Voznyakovsky A.A., Kocheva L.S., Kidalov S.V. Biomass *Sosnowskyi*'s hogweed as raw material for 2D the carbonic nanostructures obtaining // *Chemistry of raw plant material.* 2020. No. 3. P. 833–892 (in Russian). doi: 10.14258/jcprm.2020047739
2. Kumar S., Gupta P., Sharma S., Kumar D. Review of immunostimulant plants // *J. Chin. Integr. Med.* 2011. V. 9. No. 2. P. 117–128. doi: 10.3736/jcim20110201
3. Senejoux F., Demougeot C., Cuciureanu M., Miron A., Cuciureanu R., Berthelot A., Girard-Thernier C. Vasorelaxant effects and mechanisms of action of *Heracleum sphondylium* (Apiaceae) in rat thoracic aorta // *J. Ethnopharmacol.* 2013. V. 147. P. 536–539. doi: 10.1016/j.jep.2013.03.030
4. Sukhanov A.I. Agent for eczematosis treatment // Patent RU 2057541 C1. Application: 92011705/14, 12/14/1992. Date of publication: 04.10.1996. Bull. 32 (in Russian).
5. Sukhanov A.I. Method in psoriasis treatment // Patent RU 2076726 C1. Application: 93015568/14, 03.22.1993. Date of publication: 04.10.1997. (in Russian).
6. Mikhailova E.A., Shcherbakova T.P., Shubakov A.A. Study of the effectiveness of pectin polysaccharide preparations on grasses under field experiment conditions // *Scientific achievements in biology, chemistry, physics: materialy mezhdunarodnoy zaochnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii.* Novosibirsk: Siberian Association of Consultants Publ., 2012. P. 41–46 (in Russian).
7. Ashikhmina T.Ya., Tovstik E.V., Adamovich T.A. Ecological factors determining natural and anthropogenic invasion of *Heracleum sosnowskyi* Manden., measures to combat it (review) // *Theoretical and Applied Ecology.* 2023. No. 2. P. 20–31 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2023-2-020-031
8. Ashikhmina T.Ya., Rutman V.V., Adamovich T.A., Tovstik E.V. Monitoring the distribution of *Heracleum*

sosnowskyi in urban areas based on Earth remote sensing data // Theoretical and applied ecology. 2023. No. 3. P. 73–80 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2023-3-073-080

9. Gunter E.A., Popeyko O.V., Ovodov Yu.S. Modification of polysaccharides from callus culture of *Silene vulgaris* (M.) G. using carbohydrases *in vitro* // Biochemistry. 2007. V. 72. No. 9. P. 1238–1247 (in Russian).

10. Ovodov Yu.S. Current views on pectin substances // Bioorganic chemistry. 2009. V. 35. No. 3. P. 293–310 (in Russian).

11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15. No. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

12. Gordina E.N., Kuznetsov S.P., Golovchenko V.V., Zlobin A.A. Preliminary structural characteristic of polysaccharides extracted from the callus tissue of Sosnovskyi's Hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden) stem by aqueous ammonium oxalate // Bioorganic Chemistry. 2019. V. 45. No. 6. P. 633–639 (in Russian). doi: 10.1134/S0132342319060186

13. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances // Anal. Chem. 1956. V. 28. No. 3. P. 350–356. doi: 10.1021/ac60111a017

14. Usov A.T., Bilan M.I., Klochkova N.G. Polysaccharides of algae. 48. Polysaccharide composition of several calcareous red algae: isolation of alginate from *Corallina pilulifera* P. et R. (Rhodophyta, Corallinaceae) // Bot. marina. 1995. V. 38. P. 43–51. doi: 10.1515/botm.1995.38.1-6.43

15. Lowry O.H., Rosebrow N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chemistry. 1951. V. 193. No. 1. P. 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6

16. Goldstein I.J., Hamilton J.K., Montgomery R., Smith F. Reduction of the products of periodate oxidation of carbohydrates. V. The constitution of cellulose // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. No. 24. P. 6469–6473. doi: 10.1021/ja01581a029

17. Sweeley C.C., Bentley R., Makita M., Wells W.W. Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substances // J. Am. Chem. Soc. 1963. V. 85. No. 16. P. 2497–2507. doi: 10.1021/ja00899a032

18. York U.S., Darvil A.G., McNeil M., Stevenson T.T., Albersheim P. Isolation and characterization of plant cell walls and cell wall components // Methods Enzymol. 1986. V. 118. P. 3–40. doi: 10.1016/B978-0-12-743655-5.50007-5

19. Shakhmatov E.G., Mikhailova E.A., Makarova E.N. Structural-chemical characteristic and biological activity of polysaccharides from *Heracleum sosnowskyi* Manden // Chemistry of plant raw material. 2015. No. 4. P. 15–22 (in Russian). doi: 10.14258/jcprm.201504878

20. Shakhmatov E.G., Atukmaev K.V., Makarova E.N. Structural characteristics of pectic polysaccharides and arabinogalactan proteins from *Heracleum sosnowskyi* Manden // Carbohydr. Polym. 2016. V. 136. P. 1358–1369. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.10.041

21. Shakhmatov E.G., Tukach P.V., Kuznetsov S.P., Makarova E.N. Structural characteristics of water-soluble polysaccharides from *Heraculum sosnowskyi* Manden // Carbohydr. Polym. 2014. V. 102. P. 521–528. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.12.001