

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 631.811

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-155-162

Поступила в редакцию 15.09.2017

Received 15.09.2017

А. В. Емельянова¹, Л. В. Обуховская², Н. Г. Аверина¹

¹*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

ФОТОСИНТЕЗ И ДЫХАНИЕ В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОГО РАПСА (*BRASSICA NAPUS*), ОБОГАЩЕННЫХ АНТОЦИАНАМИ, ПОД ВЛИЯНИЕМ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Аннотация. Изучены структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата, активность дыхательного процесса, содержание хлорофиллов, гема, а также активность дыхательного гемсодержащего фермента – цитохром *c*-оксидазы в семядольных листьях 7-дневных растений озимого рапса (*Brassica napus*), выращенных на растворе 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК 200 мг/л) и обогащенных антоцианами, по сравнению с контрольными растениями. Показано, что экзогенная АЛК нарушает структуру фотосинтетического аппарата и понижает его фотосинтетическую активность. Установлено снижение содержания белков пигмент-белковых комплексов фотосистем (ФС) I и II, особенно светособирающих комплексов ФС II, составляющих внешнюю мобильную антенну. Вместе с тем отмечено значительное стимулирующее действие АЛК на дыхательную активность проростков озимого рапса, а также на увеличение содержания нековалентно связанного с белками гема и повышение активности цитохром *c*-оксидазы.

Ключевые слова: 5-аминолевулиновая кислота, *Brassica napus*, гем, цитохром *c*-оксидаза, дыхание, фотосинтез

Для цитирования: Емельянова, А. В. Фотосинтез и дыхание в растениях озимого рапса (*Brassica napus*), обогащенных антоцианами, под влиянием 5-аминолевулиновой кислоты / А. В. Емельянова, Л. В. Обуховская, Н. Г. Аверина // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 155–162. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-155-162

H. V. Yemelyanova¹, L. V. Obukhovskaya², N. G. Averina¹

¹*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

PHOTOSYNTHESIS AND RESPIRATION IN WINTER RAPE PLANTS (*BRASSICA NAPUS*) ENRICHED WITH ANTHOCYANIN'S UNDER INFLUENCE OF 5-AMINOLEVULINIC ACID

Abstract. The stimulating effect of 5-aminolevulinic acid (ALA) at a concentration of 200 mg/l on respiratory activity was established by accumulating non-covalently bound to the proteins heme and increasing the activity of the heme-containing enzyme cytochrome *c*-oxidase, as well as increasing the rate of oxygen absorption in the respiration of winter rape with high content of anthocyanin's. The inhibitory effect of ALA on the structural organization and photosynthetic activity of the photosynthetic apparatus was revealed. A decrease in the level of photosynthetic pigments – chlorophyll *a* and *b*, reduction in protein content of chlorophyll-protein complexes of two photosystems, as well as decrease in the ability of plants to release oxygen were demonstrated.

Keywords: 5-aminolevulinic acid, *Brassica napus*, heme, cytochrome *c*-oxidase, respiration, photosynthesis

For citation: Yemelyanova H. V., Obukhovskaya L. V., Averina N. G. Photosynthesis and respiration in winter rape plants (*Brassica napus*) enriched with anthocyanins under influence of 5-aminolevulinic acid. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 155–162 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-155-162

Введение. Огромное значение для жизнедеятельности всех растительных организмов имеют процессы фотосинтеза и дыхания. Эти два окислительно-восстановительных процесса, идущих в несколько стадий, обеспечивают растение веществами, а также энергией, которые необходимы для его роста и развития. Важное значение для этих процессов имеет целостность и структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата и дыхательного комплекса. Существуют различные стресс-факторы, негативное действие которых вызывает повреждение струк-

турных элементов фотосинтетического аппарата и аппарата дыхания. В стрессовых условиях процессы фотосинтеза и дыхания в растительных организмах сопровождаются образованием активных форм кислорода (АФК), которые могут разрушать клеточные мембраны, инициируя перекисное окисление липидов мембран, а также повреждать ДНК и денатурировать белки, связанные с электрон-транспортными цепями хлоропластов и митохондрий, нарушая тем самым нормальное функционирование процессов фотосинтеза и дыхания [1]. Однако стрессовым воздействиям в растительной клетке противостоит антиоксидантная защитная система, компонентами которой являются специфические ферменты, а также низкомолекулярные соединения, в том числе антоцианы.

Антоцианы (гликозиды антоцианидинов) представляют собой производные катиона флавилия (2-фенилбензопирилия) и относятся к наиболее распространенной и многочисленной группе фенольных соединений – флавоноидам [2]. Это нефотосинтетические пигменты, которые накапливаются в вакуолях клетки, а также встречаются в кристаллическом виде в некоторых видах растений. Биосинтез антоцианов строго контролируется и часто происходит в тканях, удаленных от тех, которые связаны с синтезом других флавоноидов [3]. Антоциановые пигменты являются наиболее универсальными из всех пигментов и обладают огромным разнообразием функций, многие из которых связаны в первую очередь с ответом растений на стрессовые воздействия. Показано, что антоцианы во многих видах растений уменьшают как частоту, так и степень фотоингибирования, а также ускоряют восстановление фотосинтетического аппарата растений [4]. При высокой освещенности антоцианы действуют как оптический фильтр, защищая уже насыщенную электрон-транспортную цепь от избыточных квантов света с высокой энергией. Они снижают накопление супероксид анион-радикала, ослабляя тем самым структурное повреждение клеточных мембран [5]. Показано, что очищенные растворы антоцианов удаляют практически все виды активных форм кислорода и азота с эффективностью в 4 раза большей, чем аскорбат и α -токоферол [6]. Кроме того, антоцианы принимают участие в процессе дыхания растений в качестве переносчиков электронов [7]. Антоциановые пигменты в ходе ацилирования активно поглощают в УФ-области, защищая растения (в частности, генетический аппарат) от губительного воздействия УФ-лучей [8].

Большое значение антоцианы имеют и для человека. Они активно используются в фармакологической, косметической и пищевой промышленности в качестве биологически активных компонентов и натуральных красителей. Антоцианы обладают широким спектром биологической активности, демонстрируя окислительно-восстановительные, антиоксидантные, противовоспалительные, нейропротектные свойства, а кроме того, они снижают риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных образований, улучшают зрение и состояние сосудов. В настоящее время проводится множество исследований по поиску новых, дешевых и доступных источников антоцианов, а также соединений, стимулирующих их синтез. Имеется ряд публикаций о стимуляции накопления антоцианов под действием 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) в кожуре яблок [9] и в листьях голосеменного реликтового растения гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba*) [10]. Нами установлено, что при выращивании растений озимого рапса на растворах АЛК в концентрациях от 50 до 200 мг/л в семядольных листьях, а также в гипокотелях накапливаются значительные по сравнению с контрольными растениями количества антоцианов [11]. АЛК – универсальный предшественник в биосинтезе всех циклических и линейных тетрапирролов, в том числе хлорофиллов (Хл) и гемов. Она является естественным метаболитом и агентом, формирующим устойчивость растений к абиотическим факторам среды, а также стимулятором роста и развития растений [12].

Цель данной работы – изучение влияния 5-аминолевулиновой кислоты на фотосинтез, дыхание и содержание участвующих в этих процессах пигментов – хлорофиллов, гема и белковых компонентов пигмент-белковых комплексов фотосинтетического аппарата, а также активности цитохром *c*-оксидазы в растениях озимого рапса, обогащенных антоцианами.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали 4–7-дневные проростки растений озимого рапса (*Brassica napus*) сорта Зорны, которые выращивали в лабораторных условиях либо на воде, либо на растворе АЛК (200 мг/л). Семена проращивали в пласти-

ковых контейнерах на фильтровальной бумаге при температуре 26 ± 2 °С и освещении люминесцентными лампами типа ЛД-40 (освещенность 4900 лк). Для анализа использовали семядольные листья проростков.

Содержание основных фотосинтетических пигментов – Хл *a* и Хл *b* определяли согласно методу, приведенному в работе [13]. Пигменты экстрагировали 85 %-ным щелочным ацетоном (ацетон:NH₄OH). Содержание Хл оценивали по спектрам поглощения экстрактов листьев.

Активность дыхания регистрировали с использованием системы PlantVital 5030 (Германия). Половину семядольного листа озимого рапса помещали на электрод в камеру прибора. Измерение проводили сначала в темноте (измерение дыхательной активности), затем при освещении камеры (измерение фотосинтетической активности). Скорость дыхания (потребление кислорода) и скорость фотосинтеза (выделение кислорода) оценивали в мкмоль O₂/(мг·с) [14].

Содержание белков пигмент-белковых комплексов (ПБК) фотосистем (ФС) I и II определяли с помощью вестерн-блот анализа. Экстракцию из проростков озимого рапса белков и их электрофоретическое разделение в полиакриламидном геле и иммуноблотинг проводили согласно методике, описанной в работе [15]. Белки экстрагировали раствором, содержащим 56 мМ ДТТ, 56 мМ Na₂CO₃, 12 %-ную сахарозу, 2 мМ ЕДТА и 2 % SDS-Na. Гомогенат центрифугировали при 12 000 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную фракцию использовали для денатурирующего гель-электрофореза. После разделения белков осуществляли их перенос с геля на нитроцеллюлозную мембрану. Содержание белков на нитроцеллюлозной мембране определяли с помощью антител на белок D1 (реакционный центр ФС II), а также на белки светособирающих комплексов ФС I (Lhca1, Lhca2, Lhca3, Lhca4) и ФС II (Lhcb1, Lhcb2, Lhcb5, Lhcb6).

Содержание нековалентно связанного с белками гема определяли согласно методу, приведенному в работе [16]. Пигменты из гомогената растительной ткани экстрагировали щелочным ацетоном. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 8000 об/мин. Осадок промывали щелочным ацетоном и центрифугировали до полного удаления хлорофилла. Затем осадок промывали 2 раза смесью ацетон:НСl:DMCO (10:0,5:2, V:V:V) по 5 мл, выдерживали 5 мин в холодильнике (или на льду) и центрифугировали при 7000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант сливали во флаконы объемом 50 мл, добавляли 3 мл диэтилового эфира, 2 мл насыщенного NaCl, 10 мл дистиллированной воды и давали отстояться. Затем снимали верхнюю фракцию эфира, содержащую гем, и добавляли к ней 0,7 мл спирта. Экстракт наносили на заполненную сефарозой колонку и последовательно промывали ее 5 мл смеси диэтиловый эфир:этанол (3:1, V:V), 4 мл смеси диэтиловый эфир:этанол (1:1, V:V) и 3 мл этанола. Гем промывали 6 мл смеси этанол:уксусная кислота:H₂O (9:1:1, V:V:V). Элюат собирали в эппендорфы (6 шт.), по 1 мл в каждый. Количество гема определяли спектрофотометрически при длине волны 398 нм и выражали в нмоль/г сырой массы (при расчетах использовали молярный коэффициент экстинкции 144 мМ⁻¹·см⁻¹).

Активность цитохром *c*-оксидазы (ЦО) оценивали согласно методу, описанному в работе [17]. Навеску растительного материала экстрагировали на холоду 0,1 М К₂Na-фосфатным буфером, содержащим Тритон X-100. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 13 000 об/мин. Полученный супернатант использовали для анализа. Активность фермента определяли спектрофотометрически при длине волны 550 нм. Активность ЦО рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции 29,5 мМ⁻¹·см⁻¹.

Статистические данные обрабатывали с помощью программы Excel 2010. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Ранее нами показано, что в семядольных листьях растений озимого рапса, выращенных на растворе АЛК 200 мг/л, накапливаются избыточные количества антоцианов, в 3,5 раза превышающие их содержание в контрольных растениях [11]. Поскольку АЛК является предшественником Хл и гемов, с помощью биосинтеза изучена возможность использования экзогенной АЛК в образовании Хл *a*, Хл *b* и гема в растениях озимого рапса, выращенных на растворе АЛК 200 мг/л, а также в контрольных растениях. Обработка АЛК не привела к возрастанию содержания пигментов хлорофильной природы, напротив, отмечалась тенденция к уменьшению их количества по сравнению с контролем. Так, снижение уровня Хл *a* по отношению к контролю на 4-й день вегетации составило 44 %, на 5-й – 37, на 6-й и 7-й – 31 и 24 % соот-

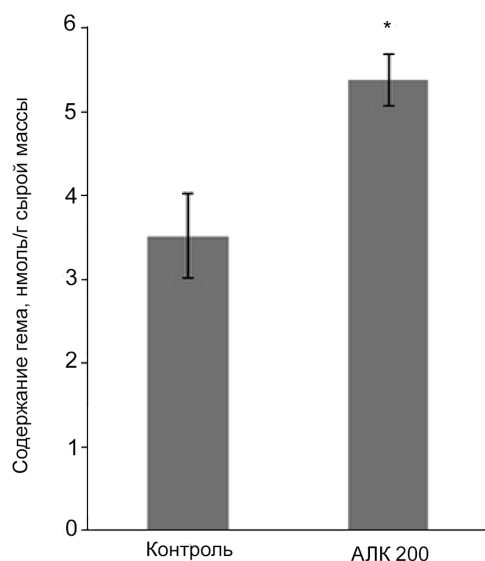


Рис. 1. Влияние экзогенной АЛК (200 мг/л) на содержание гема в семядольных листьях 7-дневных растений озимого рапса. * – различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,05$

Fig. 1. Effect of exogenous ALA (200 mg/l) on heme content in cotyledon leaves of 7-day-old winter rape plants. * – differences in comparison with the control are significant at $p < 0.05$

Дефицит Хл *a* и Хл *b* на всех стадиях развития проростков варианта «АЛК» свидетельствует о том, что экзогенная аминокислота либо не использовалась в синтезе этих пигментов, либо использовалась в очень ограниченных количествах. Отмеченное нами ингибирование скорости накопления Хл в присутствии экзогенной АЛК могло быть вызвано подавлением в этих условиях синтеза эндогенной АЛК в результате избыточного накопления гема – ингибитора ключевого фермента синтеза АЛК – глут-тРНК редуктазы [12]. Функционирование этого механизма может рассматриваться в качестве защитного против избыточного накопления в присутствии экзогенной АЛК порфиринов-фотосенсибилизаторов. Противоположное влияние экзогенной АЛК на синтез двух тетрапиролов – Хл и гема, еще раз подтверждает высказанную нами ранее концепцию о независимом функционировании, физическом разделении и разных механизмах контроля систем синтеза Хл и гема в хлоропласте, начиная от образования АЛК [12]. Разная компартиментализация обеих систем в структуре хлоропласта недавно была подтверждена Czarneski с соавт. [19].

Неспособность экзогенной АЛК восполнять уровень Хл хотя бы до значений контрольных проростков может быть также связана с субстратным ингибированием АЛК-дегидратазы – фермента, осуществляющего конденсацию двух молекул АЛК с образованием порфобилиногена. Изучение этого вопроса станет предметом наших дальнейших исследований.

Поскольку Хл и гем являются непосредственными участниками фотосинтеза и дыхания, изучены также активность обоих процессов, состав Хл-белковых комплексов фотосинтетического аппарата и активность ключевого гемсодержащего дыхательного фермента ЦО.

Опыты по определению содержания белков ПБК фотосинтетического аппарата в проростках озимого рапса показали, что обработка экзогенной АЛК приводит к снижению содержания белка D1 ФС II на 48 % по сравнению с контролем. Также отмечено снижение содержания белков светособирающих комплексов ФС I (Lhca1 – на 73 %, Lhca2 – на 51, Lhca3 – на 56, Lhca4 – 65 %) и ФС II (Lhcb1 – на 27 %, Lhcb2 – на 33, Lhcb5 – на 70, Lhcb6 – на 59 %) по сравнению с их содержанием в растениях, выращенных на воде (рис. 2). Следует отметить наибольшее влияние АЛК на мобильную внешнюю антенну ФС II – белки Lhcb1 и Lhcb2 (рис. 2), которые, входя в состав тримера, могут мигрировать от ФС II в область ФС I и ассоциироваться с ее внешней антенной.

Также при выращивании растений на растворе экзогенной АЛК выявлено снижение в них уровня Хл *b* по сравнению с контролем на 38 % на 4-й день вегетации озимого рапса и на 27 % на 5-й и 6-й дни. Как и в случае Хл *a*, наименьшая разница между вариантами отмечалась на 7-й день вегетации – уровень Хл *b* снизился на 21 % относительно такового в контрольных образцах.

Оценено также содержание нековалентно связанного с белками гема в 7-дневных проростках растений озимого рапса, выращенных на воде и на растворе АЛК. Установлено, что содержание гема в проростках, выращенных на растворе АЛК, возросло на 58 % относительно контроля – до $5,38 \pm 0,3$ нмоль/г сырой массы (рис. 1).

Нековалентно связанный с белками гем (гем *a*- и *b*-типа) составляет основную часть клеточного гема. Так, на его долю приходится 2/3 от общего количества митохондриального гема, а в хлоропластах его содержание в 3 раза превышает количество ковалентно связанного гема (гема *c*) [18]. Нековалентно связанный с белками гем является компонентом цитохромов, пероксидаз и цитохром *c*-оксидазы. Отмеченное нами значительное возрастание уровня гема может сказаться на содержании, а следовательно, и на активности ключевого дыхательного фермента ЦО и ферментов, участвующих в детоксикации H_2O_2 .

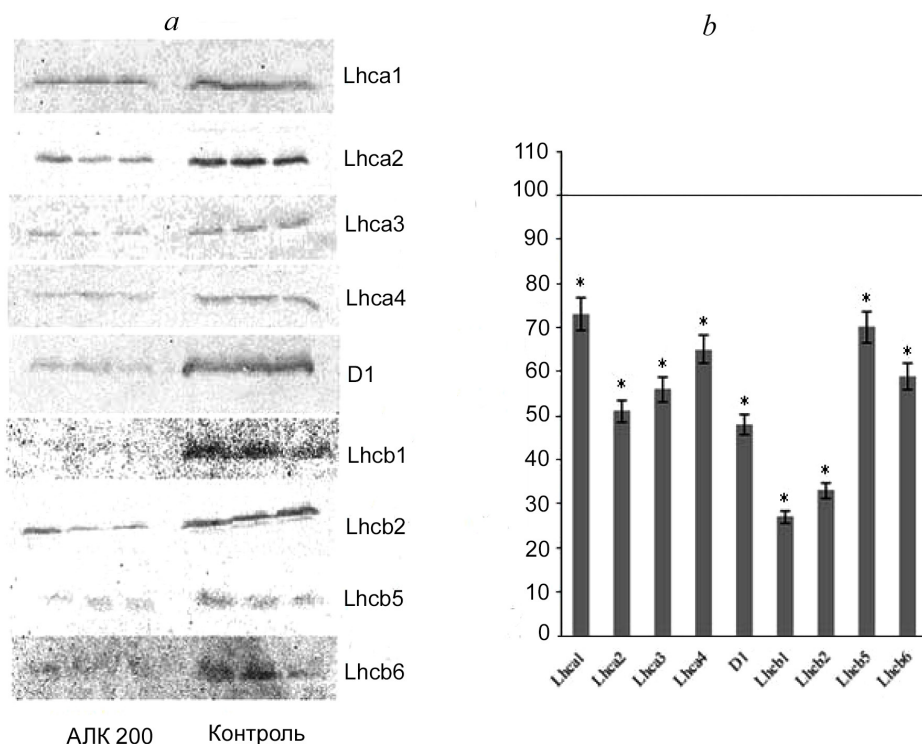


Рис. 2. Вестерн-блот анализ белков ПБК фотосинтетического аппарата растений озимого рапса, выращенных на воде и растворе АЛК 200 мг/л (а), а также количественная оценка их содержания (b). За 100 % принято содержание белков ПБК в контроле. * – различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,05$

Fig. 2. Western -blot analysis of PPC proteins of the photosynthetic apparatus of winter rape plants grown on water and on solution of ALA 200 mg/l (a) and a quantitative assessment of their content (b). 100 % corresponds to the content of PPC proteins in the control. * – differences in comparison with the control are significant at $p < 0.05$

Значительное снижение содержания этих белков может отрицательно сказываться на перераспределении энергии между двумя ФС.

В опытах, проведенных с целью изучения активности дыхания и скорости чистой продукции кислорода в семядольных листьях озимого рапса, установлено, что в растениях, выращенных на экзогенной АЛК, фотосинтетическая активность на 22 % ниже по сравнению с контролем (в среднем $0,0074$ мкмоль $O_2/(мг \cdot с)$). Вместе с тем обработка экзогенной АЛК оказала существенное влияние на дыхательную активность проростков. Скорость потребления кислорода в опытных растениях составила $0,0105$ мкмоль $O_2/(мг \cdot с)$, что в 1,9 раза превышало таковую в контрольных растениях.

Коэффициент фотосинтетической эффективности (рассчитывается как скорость выделения кислорода/скорость темнового дыхания) оказался на 44 % ниже в растениях варианта «АЛК», что подтверждает отмеченную выше стимуляцию дыхательной активности и ингибирование фотосинтетической в опытных растениях (рис. 3, а).

Представленный на рис. 3, b показатель активности дыхательного гемсодержащего фермента ЦО в варианте «АЛК» составил $15,72 \pm 5,9$ нмоль/(мкг белка·мин), что в 5 раз больше, чем в контрольных растениях, выращенных на воде.

Ранее нами был выявлен комплекс метаболических перестроек защитной системы растений озимого рапса, выращенных на растворе экзогенной АЛК в концентрациях, характерных для ее действия как фотодинамического гербицида (50–200 мг/л). Эти изменения проявились в накоплении эффективных антиоксидантов – антоцианов (вследствие возрастания активности ключевого фермента биосинтеза антоцианов дигидрофлавонолредуктазы), а также в стимуляции образования антистрессора пролина и возрастании антирадикальной и антиоксидантной активности [20].

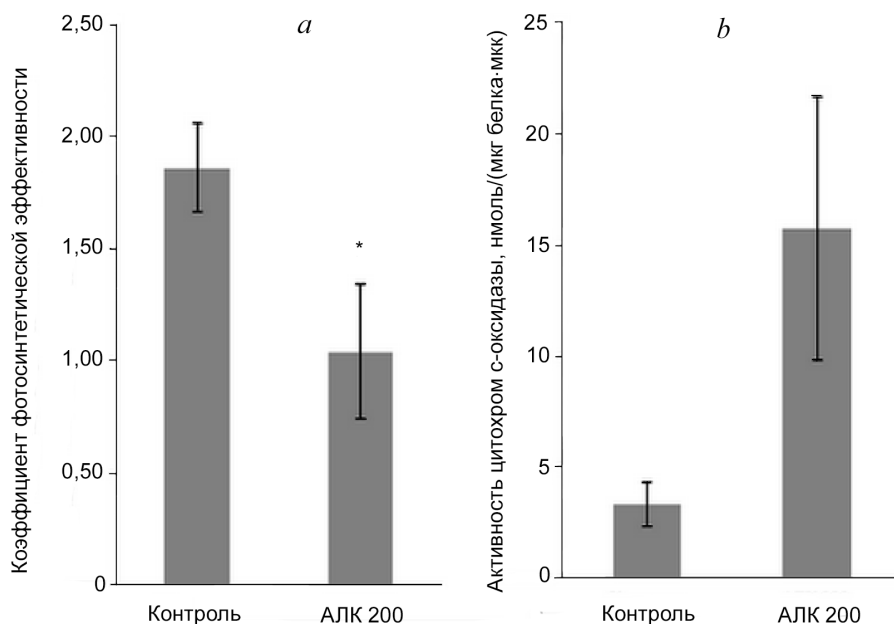


Рис. 3. Влияние экзогенной АЛК (200 мг/л) на коэффициент фотосинтетической эффективности (а) и активность цитохром с-оксидазы (b) в семядольных листьях 7-дневных растений озимого рапса. * – различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,05$

Fig. 3. The influence of exogenous ALA (200 mg/l) on the factor of photosynthetic efficiency (a) and cytochrome c-oxidase activity (b) in cotyledon leaves of 7-day-old winter rape plants. * – differences in comparison with the control are significant at $p < 0.05$

В ходе исследований установлено снижение в растениях, обработанных 200 мг/л АЛК, содержания Хл а, Хл b и ассоциированных с ними белков двух ФС, приведшее к снижению эффективности фотосинтеза и, следовательно, к продукции энергетического субстрата – молекул АТФ. В этих условиях интенсификация дыхательного процесса как основного источника энергии при сниженном фотосинтезе обеспечивалась повышением уровня компонента дыхательных цитохромов – гема, а также активацией гемсодержащего фермента ЦО.

Заключение. Выявлено, что в растениях озимого рапса, выращенных на растворе экзогенной АЛК в концентрации 200 мг/л и обогащенных антоцианами, ингибирование фотосинтеза обусловлено снижением уровня фотосинтетических пигментов, а также способности формировать структурные компоненты фотосинтетического аппарата – ПБК ФС I и II. В варианте «АЛК» отмечено развитие компенсаторных реакций, выражающихся в возмещении нарушений фотосинтетической функции. В частности, показано увеличение под действием АЛК дыхательной активности, обеспечиваемой стимуляцией биосинтеза нековалентно связанного с белками гема и возрастанием активности гемсодержащего фермента ЦО.

Список использованных источников

1. Møller, I. M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species / I. M. Møller // *Annu. Rev. of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 52. – P. 561–591.
2. Чупахина, Г. Н. Природные антиоксиданты (экологический аспект) / Г. Н. Чупахина, П. В. Масленников, Л. Н. Скрыпник. – Калининград : Балт. федер. ун-т, 2011. – 112 с.
3. Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintinia serrata* A. Cunn / K. S. Gould [et al.] // *J. of Experimental Botany*. – 2000. – Vol. 51, N 347. – P. 1107–1115.
4. Field, T. S. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood / T. S. Field, D. W. Lee, N. M. Holbrook // *Plant Physiology*. – 2001. – Vol. 127, N 2. – P. 566–574.
5. Neill, S. O. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? / S. O. Neill, K. S. Gould // *Functional Plant Biology*. – 2003. – Vol. 30, N 8. – P. 865–873.
6. Wang, H. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins / H. Wang, G. Cao, R. L. Prior // *J. of Agr. and Food Chemistry*. – 1997. – Vol. 45, N 2. – P. 304–309.
7. Карабанов, И. А. Флавоноиды в мире растений / И. А. Карабанов. – Минск : Ураджай, 1981. – 80 с.

8. Giusti, M. M. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins / M. M. Giusti, L. E. Rodriguez-Saona, R. E. Wrolstad // *J. of Agr. and Food Chemistry*. – 1999. – Vol. 47, N 11. – P. 4631–4637.
9. 5-Aminolevulinic acid promotes anthocyanin accumulation in Fuji apples / L. Xie [et al.] // *Plant Growth Regulation*. – 2013. – Vol. 69, N 3. – P. 295–303.
10. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the antioxidant system in Ginkgo biloba leaves / F. Xu [et al.] // *African J. of Biotechnology*. – 2009. – Vol. 8, N 16. – P. 3769–3776.
11. Емельянова, А. В. Роль экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты в индукции накопления антоцианов в растениях озимого рапса / А. В. Емельянова // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук*. – 2016. – № 3. – С. 66–69.
12. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 413 с.
13. Шлык, А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев / А. А. Шлык // *Биохимические методы в физиологии* : сб. ст. / отв. ред. О. А. Павлинова. – М., 1971. – С. 154–170.
14. Использование экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты для восстановления дыхания и фотосинтеза у растений озимого рапса (*Brassica napus*), выращиваемых на сульфонилмочевинном гербициде / Н. Г. Аверина [и др.] // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук*. – 2015. – № 3. – С. 23–27.
15. Kruse, E. Coproporphyrinogen III oxidase from barley and tobacco – sequence analysis and initial expression studies / E. Kruse, H-P. Mock, B. Grimm // *Planta*. – 1995. – Vol. 196, N 4. – P. 796–803.
16. Weinstein, J. D. Separate physiological roles and subcellular compartments for two tetrapyrrole biosynthetic pathways in *Euglena gracilis* / J. D. Weinstein, S. I. Beale // *J. of Biol. Chemistry*. – 1983. – Vol. 258, N 11. – P. 6799–6807.
17. Role of sugars and organic acids in regulating the concentration and activity of the alternative oxidase in *Poa annua* roots / F. F. Millenaar [et al.] // *J. of Experimental Botany*. – 2002. – Vol. 53, N 371. – P. 1081–1088.
18. Яронская, Е. Б. Молекулярно-мембранные механизмы регуляции биосинтеза тетрапирролов в растениях : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.02 ; 03.00.04 / Е. Б. Яронская. – Минск, 2008. – 407 л.
19. An Arabidopsis GluTR binding protein mediates spatial separation of 5-aminolevulinic acid synthesis in chloroplast / O. Czarnecki [et al.] // *Plant Cell*. – 2011. – Vol. 23, N 12. – P. 4476–4491.
20. Индукция накопления антоцианов и состояние защитной системы в растениях озимого рапса, обработанных 5-аминолевулиновой кислотой / Н. Г. Аверина [и др.] // *Физиология растений*. – 2017. – Т. 64, № 3. – С. 173–182.

References

1. Møller I. M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, vol. 52, pp. 561–591. DOI: 10.1146/annurev.arplant.52.1.561
2. Chupakhina G. N., Maslennikov P. V., Skrypnik L. N.. *Natural antioxidants (ecological aspect)*. Kaliningrad, Baltic Federal University, 2011. 112 p. (in Russian).
3. Gould K. S., Markham K. R., Smith R. H., Goris J. J. Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintinia serrata* A. Cunn. *Journal of Experimental Botany*, 2000, vol. 51, no. 347, pp. 1107–1115. DOI: 10.1093/jexbot/51.347.1107
4. Feild T. S., Lee D. W., Holbrook N. M. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiology*, 2001, vol. 127, no. 2, pp. 566–574. DOI: 10.1104/pp.127.2.566
5. Neill S. O., Gould K. S. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Functional Plant Biology*, 2003, vol. 30, no. 8, pp. 865–873. DOI: 10.1071/FP03118
6. Wang H., Cao G., Prior R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, vol. 45, no. 2, pp. 304–309. DOI: 10.1021/jf960421t
7. Karabanov I. A. *Flavonoids in the world of plant*. Minsk, Uradzhai Publ., 1981. 80 p. (in Russian).
8. Giusti M. M., Rodriguez-Saona L. E., Wrolstad R. E. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, vol. 47, no. 11, pp. 4631–4637. DOI: 10.1021/jf981271k
9. Xie L., Wang Z. H., Cheng X. H., Gao J. J., Zhang Z. P., Wang L. J. 5-Aminolevulinic acid promotes anthocyanin accumulation in Fuji apples. *Plant Growth Regulation*, 2013, vol. 69, no. 3, pp. 295–303. DOI: 10.1007/s10725-012-9772-5
10. Xu F., Chang J., Cheng Sh.Y., Zhu J., Li L. L., Wang Y., Cheng H. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the antioxidant system in Ginkgo biloba leaves. *African Journal of Biotechnology*, 2009, vol. 8, no. 16, pp. 3769–3776.
11. Emel'yanova A. V. The role of exogenous 5-aminolevulinic acid in inducing the accumulation of anthocyanins of plants winter rape. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Ceryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, no. 3, pp. 66–69 (in Russian).
12. Averina N. G., Yaron'skaya E. B. *Biosynthesis of tetrapyrroles in plants*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 413 p. (in Russian).
13. Shlyk A. A. Determination of chlorophylls and carotenoids in extracts of green leaves. *Biokhimicheskie metody v fiziologii: sbornik statei* [Biochemical methods in plant physiology: a collection of articles], 1971, pp. 154–170 (in Russian).
14. Averina N. G., Shcherbakov R. A., Vershilovskaya I. V., Domanskaya I. N. The use of exogenous 5-aminolevulinic acid of respiration and photosynthesis in plants of winter rape (*Brassica napus*) grown on a sulfonylurea herbicide. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Ceryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2015, no. 3, pp. 23–27 (in Russian).

15. Kruse E., Mock H-P., Grimm B. Coproporphyrinogen III oxidase from barley and tobacco – sequence analysis and initial expression studies. *Planta*, 1995, vol. 196, pp. 796–803. DOI: 10.1007/BF01106776
16. Weinstein J. D., Beale S. I. Separate physiological roles and subcellular compartments for two tetrapyrrole biosynthetic pathways in *Euglena gracilis*. *Journal of Biological Chemistry*, 1983, vol. 258, no. 11, pp. 6799–6807.
17. Millenaar F. F., Gonzalez-Meler M. A., Siedow J. N., Wagner A. M., Lambers H. Role of sugars and organic acids in regulating the concentration and activity of the alternative oxidase in *Poa annua* roots. *Journal of Experimental Botany*, 2002, vol. 53, no. 371, pp. 1081–1088. DOI: 10.1093/jexbot/53.371.1081
18. Yaronskaya E. B. *Molecular-membrane mechanisms of biosynthesis regulation of tetrapyrroles in plants*. Ph. D. Thesis. Minsk, 2008. 407 p. (in Russian).
19. Czarnecki O., Hedtke B., Melzer M., Rothbart M., Richter A., Schroter Y., Pfannschmidt T., Grimm B. An Arabidopsis GluTR binding protein mediates spatial separation of 5-aminolevulinic acid synthesis in chloroplast. *Plant Cell*, 2011, vol. 23, no. 12, pp. 4476–4491. DOI: 10.1105/tpc.111.086421
20. Averina N. G., Sherbakov R. A., Yemelyanova H. V., Domanskaya I. N., Usatov A. V. Induction of anthocyanin accumulation and status of protective system in winter rape plants treated with 5-aminolevulinic acid. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2017, vol. 64, no. 3, pp. 310–318. DOI: 10.1134/s1021443717030025

Информация об авторах

Емельянова Анна Викторовна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yashchuk.anna@mail.ru.

Обуховкая Людмила Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники имени Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nan.botany@yandex.by.

Аверина Наталия Георгиевна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: averina_ng@tyt.by.

Information about the authors

Hanna V. Yemelyanova – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yashchuk.anna@mail.ru.

Lyudmila V. Obukhovskaya – Ph. D. (Biol.), Leading Scientific Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nan.botany@yandex.by.

Natalia G. Averina – D. Sc. (Biol.), Chief Researcher, Professor. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: averina_ng@tyt.by.