

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.3:577.1:631.8
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-135-146>

Поступила в редакцию 22.11.2021
Received 22.11.2021

Н. Г. Аверина¹, С. М. Савина¹, И. А. Дремук¹, А. В. Емельянова¹,
Ю. В. Прищепчик¹, А. В. Усатов²

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

²Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ВЛИЯНИЕ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ С РАЗНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АНТОЦИАНОВ В КОЛЕОПТИЛЯХ

Аннотация. Изучен ряд физиолого-биохимических характеристик двух сортов озимой пшеницы – с красными (Эт W5) и зелеными (Влади) coleoptiles. Сорт Эт W5 с высоким содержанием в coleoptiles антоцианов (в среднем 412 ± 52 мкмоль/г сырой массы), хлорофиллов (Хл) и каротиноидов и низким – гема и пролина обладал высокой морозостойкостью (88 % выживших растений, подвергшихся воздействию температуры -8 °С в течение 5 ч в возрасте 7 дней), а также высокой способностью к продолжению роста и развития после перенесенного охлаждения. Сорт Влади с низким содержанием антоцианов (в среднем $12,5 \pm 1,2$ мкмоль/г сырой массы), Хл и каротиноидов, но с более высокими, чем у сорта Эт W5, уровнями гема и пролина в coleoptiles, характеризовался низкой морозостойкостью (80 % выживших растений) и слабой способностью к продолжению роста и развития после перенесенного охлаждения. Замачивание на 2 ч семян пшеницы в растворе экзогенной АЛК (50 мг/л) перед высевом способствовало повышению всхожести семян обоих сортов, а у растений сорта Эт W5 – увеличению их длины (на 10 %) и содержания антоцианов в coleoptiles (в 1,4 раза), а также повышению морозоустойчивости (до 97 %). Под воздействием АЛК морозоустойчивость растений сорта Влади возрастала до 93 %.

Ключевые слова: растения озимой пшеницы, сорта Эт W5 и Влади, coleoptiles, морозоустойчивость, рост, адаптация, антоцианы, хлорофиллы *a* и *b*, гем, пролин, 5-аминолевулиновая кислота

Для цитирования: Влияние 5-аминолевулиновой кислоты на физиолого-биохимические характеристики сортов озимой пшеницы с разным содержанием антоцианов в coleoptiles / Н. Г. Аверина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 2. – С. 135–146. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-135-146>

Natalia G. Averina¹, Sviatlana M. Savina¹, Irina A. Dremuk¹, Hanna V. Yemelyanova¹,
Yuliya V. Pryshchepchik¹, Alexandr V. Usatov²

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

²South Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

INFLUENCE OF 5-AMINOLEVULINIC ACID ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF WINTER WHEAT VARIETIES WITH DIFFERENT LEVELS OF ANTHOCYANINS IN COLEOPTILES

Abstract. Physiological and biochemical characteristics of two varieties of winter wheat seedlings with red (Et W5) and green (Vladi) coleoptiles have been studied. Variety Et W5 with high content of anthocyanins (on average 412 ± 52 $\mu\text{mol/g}$ fr wt), chlorophylls (Chl) and carotenoids and a low level of heme and proline in coleoptiles had high frost resistance (88 % of surviving plants exposed to temperatures of -8 °C for 5 h at the age of 7 days) and a high ability to continue growth and development after undergoing cooling. Variety Vladi with a low content of anthocyanins (on average 12.5 ± 1.2 $\mu\text{mol/g}$ fr wt), Chl and carotenoids, but a higher level of heme and proline in coleoptiles compared to varieties Et W5 had low level of frost resistance (80 % of surviving plants) and was characterized by a low ability to continue growth and development after undergoing cooling. Soaking wheat seeds in a solution of exogenous ALA (50 mg/l) for 2 h before sowing increased the germination of seeds of both varieties, enhanced the length of plants of the Et W5 variety by 10 %, 1.4 times the content of anthocyanins in the coleoptiles of this variety plants and also increased their frost resistance up to 97 %. Under action of ALA frost resistance of Vladi seedlings increased up to 93 %.

Keywords: winter wheat plants, varieties Et W5 and Vladi, coleoptiles, frost resistance, growth, adaptation, anthocyanins, chlorophylls *a* and *b*, heme, proline, 5-aminolevulinic acid

For citation: Averina N. G., Savina S. M., Dremuk I. A., Yemelyanova H. V., Pryshchepchik Yu. V., Usatov A. V. Influence of 5-aminolevulinic acid on physiological and biochemical characteristics of winter wheat varieties with different levels of anthocyanins in coleoptiles. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 2, pp. 135–146 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-135-146>

Введение. Вторичные метаболиты растений – флавоноиды принадлежат к наиболее распространенному и многочисленному классу растительных полифенолов. Важнейшими представителями флавоноидов являются антоцианы – нефотосинтетические, водорастворимые пигменты, которые играют важную роль в развитии растений, их защите от патогенов и неблагоприятных факторов внешней среды [1]. Они накапливаются в вакуолях и окрашивают плоды, листья, цветы, зерна в розовый, красный, голубой, фиолетовый цвета и их различные сочетания. Антоцианы обладают огромным разнообразием физиологических функций, что определяет их высокую значимость в мире растений, животных и человека [1]. Они активно используются в фармакологической, косметической и пищевой промышленности в качестве натуральных красителей и биологически активных соединений, обладающих окислительно-восстановительными, антиоксидантными, противовоспалительными и нейропротекторными свойствами.

В растениях антоцианы уменьшают степень фотоингибирования, а также ускоряют восстановление фотосинтетического аппарата растений [2]. Они активно поглощают излучение в УФ-области, защищая растения от губительного действия УФ-лучей [3]. Молекулы антоцианов благодаря наличию в их структуре ароматических колец и свободных гидроксильных групп легко вступают в свободнорадикальные реакции, связывают активные формы кислорода и перекисные радикалы, образующиеся при стрессовых воздействиях, выполняя при этом роль низкомолекулярных антиоксидантов [4, 5]. Очищенные растворы антоцианов удаляют практически все виды активных форм кислорода и азота с эффективностью в 4 раза большей, чем аскорбат и α -токоферол [6].

Наиболее перспективным представляется использование антоцианов в качестве антистрессоров в сельскохозяйственном производстве, в частности в растениеводстве, что позволит повысить устойчивость растений, произрастающих в условиях неблагоприятных факторов внешней среды [7, 8]. Низкотемпературный стресс является чрезвычайно важным фактором, ограничивающим развитие и урожайность сельскохозяйственных культур, реализацию их биологического потенциала. Показано, что при низкотемпературном стрессе в растениях усиливается накопление антоцианов [9], повышается экспрессия генов ключевых ферментов и транскрипционных факторов пути биосинтеза флавоноидов – *PAL*, *CHS*, *CHI*, *DFR*, *PAP1*, *HY5* [9, 10], возрастают их содержание и активность, что в целом приводит к повышению низкотемпературной устойчивости растений [11]. Индукция накопления антоцианов в хозяйственно ценных сельскохозяйственных культурах, в том числе в озимых, может явиться весьма эффективным способом повышения холодо- и морозоустойчивости растений. 5-Аминолевулиновая кислота (АЛК) – предшественник циклических и линейных тетрапирролов – также является экологически чистым природным регулятором роста растений, антистрессором [12] и высокоэффективным индуктором накопления антоцианов. АЛК усиливает обусловленную антоцианами окраску плодов, улучшает товарный вид и вкусовые качества яблок [13], персиков [14], груш [15], китайской сливы [16]. В кожуре яблок и в листьях реликтового растения Гингко билоба, а также в растениях озимого рапса, обработанных АЛК, отмечено повышение экспрессии генов ключевых ферментов системы биосинтеза антоцианов – *PAL*, *CHS*, *CHI*, *DFR* [17] и гена регуляторного фактора *HY5* [18]. Использование АЛК в качестве индуктора накопления антоцианов может стать эффективным приемом повышения холодо- и морозоустойчивости растений.

Большое внимание уделяется также изучению влияния антоцианов на формирование стрессоустойчивости разных тканей и органов растений. Наиболее подходящим объектом для таких исследований является пшеница, гены которой, контролирующие пигментацию отдельных ее органов, таких как колеоптили (*Rc*-гены), стебли (*Pc*), зерно (*R*), перикарп (*Pp*), пыльники (*Pan*) и др. [19, 20], расшифрованы и установлена их регуляторная природа [20, 21]. Важная роль в формировании устойчивости растений к абиотическим и биотическим факторам внешней среды отводится колеоптилям пшеницы. Так, показана защитная роль антоцианов, содержащихся в колеоптилях проростков пшеницы, выращиваемых в присутствии ионов Cd [22]. Проростки близко изогенных линий пшеницы с интенсивно окрашенными в красный цвет колеоптилями и высоким содержанием антоцианов обладали большей устойчивостью к засухе по сравнению с растениями со слабо окрашенными органами и низким уровнем в них антоцианов [23]. Отмечена защита корневой системы и побегов от засухи в присутствии антоцианов в колеоптилях пшеницы [24].

Сообщается, что пшеница с интенсивно окрашенными колеоптилями обладает высокой устойчивостью к заражению головней [25]. Особый интерес представляет озимая пшеница, которая является основной и важнейшей культурой в сельском хозяйстве многих стран – России, США, Канады, а также Беларуси, находящейся в зоне неустойчивого или рискованного земледелия. Зимостойкость озимой пшеницы является одной из важнейших характеристик ее адаптивности. Данные о наличии связи между содержанием антоцианов в колеоптилях и морозоустойчивостью растений пшеницы (при воздействии отрицательных температур) отсутствуют. Представляло значительный интерес провести сравнительный анализ ряда физиолого-биохимических характеристик проростков двух сортов озимой пшеницы с разной окраской и содержанием антоцианов в колеоптилях, оценить степень морозоустойчивости таких растений, изучить влияние экзогенной АЛК на дополнительное накопление антоцианов в колеоптилях растений с разным исходным уровнем антоцианов и на морозоустойчивость таких растений.

Объекты и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали 7–10-дневные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) двух сортов: Эт W5 (с красной окраской колеоптилей) и Влади (с зеленой окраской колеоптилей). Семена пшеницы высаживали в грунт «Восторг» и выращивали в лабораторных условиях при температуре $+25 \pm 2$ °С под люминесцентными лампами белого света (Philips TL-D 36W/765) в режиме 14 ч света/10 ч темноты до 7–10-дневного возраста, оценивая в них морфометрические и ряд биохимических показателей. В опытах с экзогенной АЛК семена пшеницы предварительно замачивали в дистиллированной воде (контроль) или в растворе АЛК в концентрации 50 мг/л, выдерживали в течение 2 ч при температуре $+25 \pm 2$ °С, а затем высаживали в грунт «Восторг» и выращивали при описанных выше условиях до 10-дневного возраста.

Длину колеоптилей и общую длину проростков над зерновкой измеряли с помощью линейки.

Для моделирования стрессовых условий 7–8-дневные проростки помещали в климатическую камеру (ClimaCell, Чехия) и выдерживали при температуре -8 °С в течение 5 ч. Затем проростки переносили в нормальные условия выращивания при $+25 \pm 2$ °С на 24 ч, оценивали относительное содержание выживших и погибших проростков и доращивали их до 10-х суток, чтобы оценить способность проростков к продолжению роста и развития после перенесенного охлаждения.

Содержание антоцианов определяли согласно методу [26]. Навеску 0,1 г свежего растительного материала растирали в 0,5 мл 1 %-ного HCl. Остаток в ступке еще раз смывали 0,5 мл раствора. К экстракту добавляли 1 мл хлороформа и центрифугировали в течение 10 мин при скорости 12 000 g и температуре 4 °С. Супернатант отбирали и измеряли оптическую плотность при 525 нм на спектрофотометре Solar PB 2201. Содержание антоцианов рассчитывали в мкмоль на 1 г сырой массы (в эквиваленте цианидин-3-глюкозида), используя коэффициент молярной экстинкции $31,6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Для определения содержания пролина навеску листьев ячменя (0,1 г) фиксировали жидким азотом, растирали в 1 мл 3 %-ной сульфосалициловой кислоты и центрифугировали в течение 10 мин при скорости 13 000 g. К супернатанту (0,25 мл) добавляли равные объемы ледяной уксусной кислоты и кислого нингидринового реагента (0,25 г нингидрина в 10 мл раствора, содержащего ледяную уксусную кислоту, дистиллированную воду и 85 %-ную ортофосфорную кислоту в соотношении 6:3:1). Пробы инкубировали 1 ч при 90 °С. От оптической плотности раствора при 515 нм [27] переходили к содержанию пролина, используя калибровочную кривую.

Содержание Хл и каротиноидов в колеоптилях определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [28]. Пигменты экстрагировали из свежего растительного материала 100 %-ным ацетоном, содержащим CaCO₃ (из расчета 0,1 г навески листьев + 2 мл ацетона + 100 мг CaCO₃). Разделение Хл и каротиноидов осуществляли на хроматографе высокого давления Shimadzu Prominence LC-20 (Япония) с хроматографической колонкой Nucleodur C18 Gravity (тип C18, размер частиц 3 мкм, длина 15 см) фирмы Macherey-Nagel (Германия). В качестве элюента А использовали раствор, содержащий 90 % ацетонитрила, 9,9 % фильтрованной H₂O и 0,1 % триэтиламина, в качестве элюента В – 100 %-ный этилацетат. Скорость потока элюентов составляла 0,5 мл/мин. Регистрацию пигментов проводили при спектре поглощения от 200 до 700 нм,

используя детектор с диодной матрицей. Идентификацию пиков осуществляли по спектрам поглощения [28]. Для визуализации профиля хроматограммы выделяли спектр поглощения при 440 нм. Для количественного определения Хл и каротиноидов использовали площади пиков хроматограммы.

Содержание пигментов (табл. 1) рассчитывали по формуле $C_{\text{пигм}} = S_{440} F_{\text{пигм}} V / V_{\text{инъекц}} m$, где $C_{\text{пигм}}$ – содержание пигмента (мкг/г сырой массы); S_{440} – площадь пика поглощения при 440 нм; $F_{\text{пигм}}$ – фактор (коэффициент) для расчета концентрации Хл и каротиноидов; V – объем супернатанта (2 мл); $V_{\text{инъекц}}$ – объем инъекции (20 мкл), m – масса сухого вещества в 0,1 г навески.

Т а б л и ц а 1. Последовательность выхода пигментов из колонки и факторы для расчета концентрации Хл и каротиноидов

Table 1. Sequence of exit of pigments from the column and factors for calculating the concentration of Chl and carotenoids

Пигмент	Фактор
Неоксантин	$65 \cdot 10^{-9}$
Виолксантин	$44 \cdot 10^{-9}$
Антраксантин	$56 \cdot 10^{-9}$
Лютеин	$45 \cdot 10^{-9}$
Зеаксантин	$81 \cdot 10^{-9}$
Хлорофилл <i>b</i>	$182 \cdot 10^{-9}$
Хлорофилл <i>a</i>	$189 \cdot 10^{-9}$
β -Каротин	$88 \cdot 10^{-9}$

Содержание нековалентно связанного с белками гема определяли согласно [29]. Из навески 0,5 г растительного материала колеоптилей извлекали Хл и свободный гем в смесь ацетон:0,1 н NH_4OH (9:1, v:v). Из оставшихся осадков с использованием смеси кислого ацетона (0,5 мл концентрированной HCl в 10 мл ацетона) и ДМСО экстрагировали гем, нековалентно связанный белками. Гем переводили в диэтиловый эфир, после чего концентрировали на колонке с ДЭАЭ-сефарозой CL-6В, элюировали смесью 96 %-ный этанол:ледяная уксусная кислота:вода (81:9:10, v:v:v) и по спектрам поглощения при $\lambda = 398$ нм определяли его количество (молярный коэффициент экстинкции $144 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Для статистической обработки экспериментальных данных и учета полученных результатов использовали стандартные пакеты программ Excel 2010, SigmaPlot 10.0 и статистические методы, принятые в области биологических исследований. Статистическая обработка данных состояла в определении средней квадратичной ошибки их среднего. Приведены средние значения из 3–7 независимых экспериментов и их стандартные ошибки.

Результаты и их обсуждение. Оценка содержания антоцианов в колеоптилях 7-дневных проростков двух сортов озимой пшеницы показала, что у сорта Эт W5 с красными колеоптилями оно составило в среднем $411,7 \pm 51,6$ мкмоль/г сырой массы, что практически в 33 раза превышало таковое у сорта Влади с зелеными колеоптилями – $12,5 \pm 1,2$ мкмоль/г сырой массы.

В 7-дневном возрасте растения двух сортов незначительно отличались по морфометрическим характеристикам. Так, средняя высота надземной части проростков у сорта Эт W5 составляла $12,2 \pm 1,0$ см, а у сорта Влади – $13,1 \pm 0,7$ см (рис. 1). Высота колеоптилей у проростков этих сортов – $2,5 \pm 0,7$ и $2,3 \pm 0,7$ см соответственно (рис. 2).

Наряду с этим была проведена оценка морозоустойчивости изучаемых сортов. Проростки озимой пшеницы в возрасте 7–8 дней выдерживали в течение 5 ч при температуре -8 °С. Сразу после выноса растений из камеры подсчитывали упавшие стебли, а на следующие сутки после воздействия отрицательной температуры – относительное содержание погибших проростков. Оба сорта показали разную морозоустойчивость: высокую – у Эт W5 (88 % выживших проростков), более низкую – у Влади (80 % выживших проростков) (рис. 3).

Одним из показателей морозоустойчивости растений, их способности к адаптации в условиях смены режима выращивания является их способность к продолжению роста и развития после

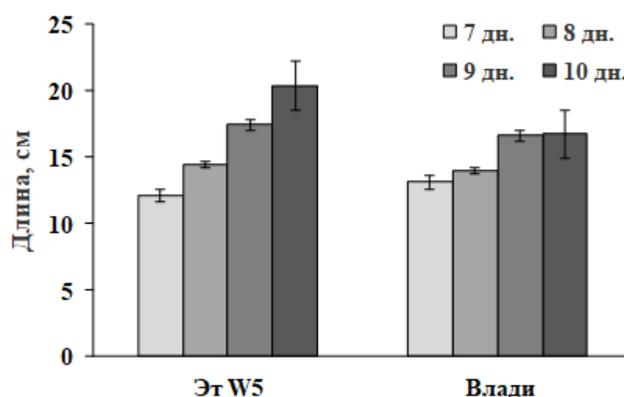


Рис. 1. Длина надземной части проростков у сортов Эт W5 и Влади, которые в 7-дневном возрасте помещали в морозильную камеру при -8°C на 5 ч, а затем переносили в нормальные условия выращивания (до 10-х суток)

Fig. 1. The length of the above-ground part of the seedlings in varieties Et W5 and Vladi, which at 7 days of age were placed in a freezer at -8°C for 5 h, and again transferred to normal growing conditions (up to 10 days)

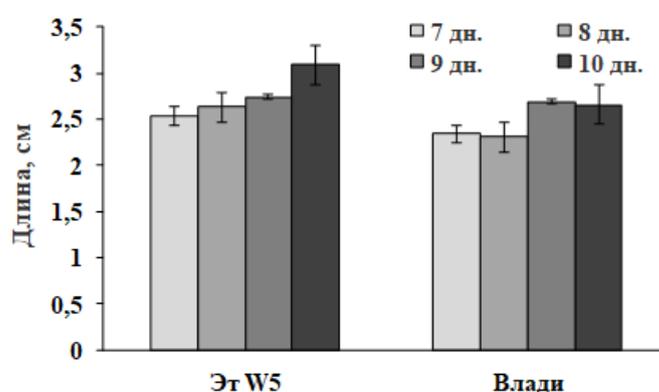


Рис. 2. Длина coleoptилей у проростков сортов Эт W5 и Влади, которые в 7-дневном возрасте помещали в морозильную камеру при -8°C на 5 ч, а затем переносили в нормальные условия выращивания (до 10-х суток)

Fig. 2. The length of coleoptiles in seedlings of varieties Et W5 and Vladi, which at 7 days of age were placed in a freezer at -8°C for 5 h, and then transferred again to normal growing conditions (up to 10 days)

перенесенного охлаждения. Наблюдение за ростом растений после перенесенного в возрасте 7 дней охлаждения показало следующую картину. Через сутки после воздействия охлаждения прирост надземной части растений у сорта Эт W5 составил 2,3 см, у проростков сорта Влади – 0,9 см (см. рис. 1). Между 2-ми и 3-ми сутками после перенесенного охлаждения (9- и 10-дневные растения) прирост надземной части проростков у сорта Эт W5 с красными coleoptилями составил 2,95 см, в то время как у растений сорта Влади с зелеными coleoptилями прироста практически не наблюдалось (лишь 0,09 см прироста). Через 3 сут после охлаждения прирост длины проростков у сорта Влади в среднем составил 3,4 см, что было значительно ниже, чем у сорта Эт W5 (8,2 см).

Похожая картина наблюдалась и при оценке ростовых характеристик coleoptилей. После переохлаждения прирост coleoptилей у сорта Эт W5 на 10-е сутки вегетации в среднем составил 0,55 см, а у сорта Влади – 0,32 см (рис. 2). Таким образом, проростки с красными coleoptилями показали высокую способность к сохранению жизнеспособности после перенесенного охлаждения.

В coleoptилях проростков изучаемых сортов было изучено содержание фотосинтетических пигментов – Хл *a*, Хл *b* и каротиноидов. В 7-дневных проростках Эт W5 среднее содержание Хл *a* составило 212 ± 16 мкг/г сырой массы, Хл *b* – 83 ± 6 мкг/г сырой массы. Во всех экспериментах у проростков сорта Влади, обладающего низкой морозоустойчивостью, содержание Хл *a* и Хл *b* оказывалось всегда ниже по сравнению с их содержанием у сорта Эт W5 – в среднем 179 ± 19 и 68 ± 7 мкг/г сырой массы соответственно.

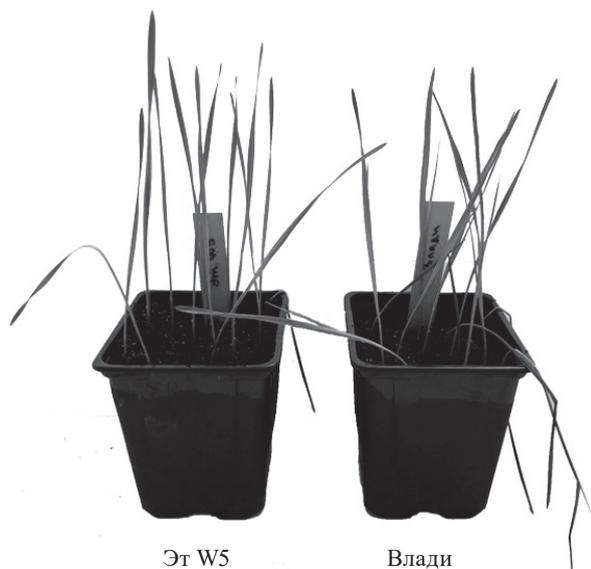


Рис. 3. Внешний вид 8-дневных проростков озимой пшеницы сортов Эт W5 и Влади, которые в 7-дневном возрасте находились в морозильной камере при -8°C в течение 5 ч (результаты индивидуального опыта)

Fig. 3. Appearance of 8-day-old seedlings of winter wheat varieties Et W5 and Vladi, which at 7 days of age were placed in a freezer at -8°C for 5 h (results of individual experience)

с этим гем осуществляет тонкий контроль за образованием и активностью ряда ферментов, которые принимают участие в биосинтезе тетрапирролов и, в частности, осуществляют синтез АЛК [12].

Оценен уровень нековалентно связанного с белками гема, который составляет основную часть клеточного гема, а в хлоропластах в 3 раза превышает количество ковалентно связанного с белками гема. Содержание гема у сорта Эт W5 оказалось низким ($5,0 \pm 1,6$ нмоль/г сырой массы – 100 %) по сравнению с сортом Влади ($6,8 \pm 0,9$ нмоль/г сырой массы – 135 %). Хотя различия между вариантами недостоверны, не исключено, что гем, входящий в состав пероксидаз и каталазы, участвует в формировании стрессоустойчивости растений сорта Влади.

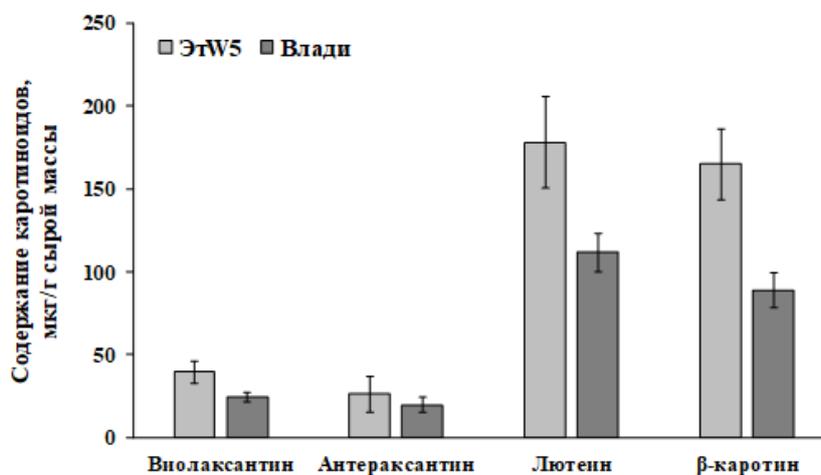


Рис. 4. Содержание ксантофиллов и β-каротина в coleoptiles 8-дневных проростков озимой пшеницы сортов Эт W5 и Влади

Fig. 4. Content of xanthophylls and β-carotene in coleoptiles of 8-day-old seedlings of winter wheat varieties Et W5 and Vladi

Общее содержание каротиноидов у сорта Эт W5 с красными coleoptilyami и высоким содержанием антоцианов было значительно выше (409 ± 63 мкг/г сырой массы), чем в coleoptilyakh проростков сорта Влади (246 ± 26 мкг/г сырой массы). Такой же характер распределения между сортами наблюдали и при оценке содержания индивидуальных каротиноидов, ксантофиллов – виолаксантина, антраксантина, лютеина, а также бескислородного каротиноида β-каротина (рис. 4). Показатели содержания фотосинтетических пигментов коррелировали с показателями морозоустойчивости изучаемых сортов озимой пшеницы, что может указывать на важную роль фотосинтетических пигментов, а следовательно, и фотосинтеза в формировании морозоустойчивости.

Изучено также содержание еще одного важнейшего продукта в системе синтеза тетрапирролов – гема. Гемсодержащие белки участвуют в связывании кислорода, дыхании, детоксикации активных форм кислорода, входя в состав пероксидаз и каталазы, а также в транспорте электронов в ходе окислительного и фотосинтетического фосфорилирования (цитохромы) и восстановлении нитратов высшими растениями (нитратредуктаза и нитритредуктаза). Наряду

В следующей серии экспериментов нами было изучено содержание универсального стресс-протектора пролина. Пролин является обязательным компонентом растительной клетки, а в условиях стресса его содержание многократно возрастает. В настоящее время он рассматривается как универсальный антистрессор, который выполняет целый ряд защитных функций, выступая, в частности, в качестве тушителя синглетного кислорода и H_2O_2 , а также перехватчика свободных радикалов [30, 31]. Как и в случае с гемом, низкий уровень пролина (89 ± 18 мкг/г сырой массы – 100 %) наблюдали в coleoptiles сорта Эт W5 в возрасте 8 дней (рис. 5). Уровень пролина в coleoptiles сорта Влади, обладающего низкой морозоустойчивостью, составил 212 ± 15 мкг/г сырой массы – 238 % по сравнению с его содержанием у сорта Эт W5. По-видимому, в условиях низкого уровня антоцианов основную роль в морозоустойчивости растений играет универсальный антистрессор пролин, который в условиях стресса выполняет функцию основного защитного агента.

В отдельной серии экспериментов с предварительным (в течение 2 ч) замачиванием семян пшеницы перед посевом в растворе экзогенной АЛК (50 мг/л – опыт) либо в воде (контроль) было показано незначительное повышение длины проростков (до 10 %) и длины coleoptiles (до 15 %) у пшеницы сорта Эт W5 в возрасте 7 дней. По-видимому, стимуляция ростовых процессов связана с известным проявлением экзогенной АЛК свойств регулятора роста растений [12]. Обработка АЛК увеличивала также всхожесть семян: от 65 % в контрольных растениях до 80 % у сорта Влади и, соответственно, от 95 до 100 % у сорта Эт W5.

Содержание антоцианов в coleoptiles 8-дневных растений сортов Эт W5 и Влади возрастало по сравнению с контрольными вариантами каждого сорта (табл. 2). В coleoptiles сорта Эт W5 содержание антоцианов в среднем составило 592 мкмоль/г сырой массы. Под действием АЛК окраска coleoptiles данного сорта становилась более интенсивной. Напротив, у сорта Влади визуальных изменений в окраске coleoptiles под действием АЛК не зафиксировано. Среднее содержание антоцианов в coleoptiles этого сорта так и осталось низким и составило в среднем 22 мкмоль/г сырой массы.

Содержание Хл *a* в coleoptiles 8-дневных проростков пшеницы сорта Эт W5 снижалось под действием АЛК на 19 % по сравнению с контролем и практически не изменялось у сорта Влади (меньше лишь на 4 %) (рис. 5, *b*). Такая же картина наблюдалась и в случае Хл *b*, содержание которого в coleoptiles сорта Эт W5 после обработки АЛК снизилось на 16 %, а у сорта Влади – на 8 %. Ранее на растениях озимого рапса нами было показано, что при их выращивании на растворе АЛК в концентрации 200 мг/л содержание Хл значительно снижается на ранних стадиях развития проростков, что сопровождается накоплением антоцианов [32]. Одной из причин являлось снижение под действием высокой концентрации экзогенной АЛК активности ряда

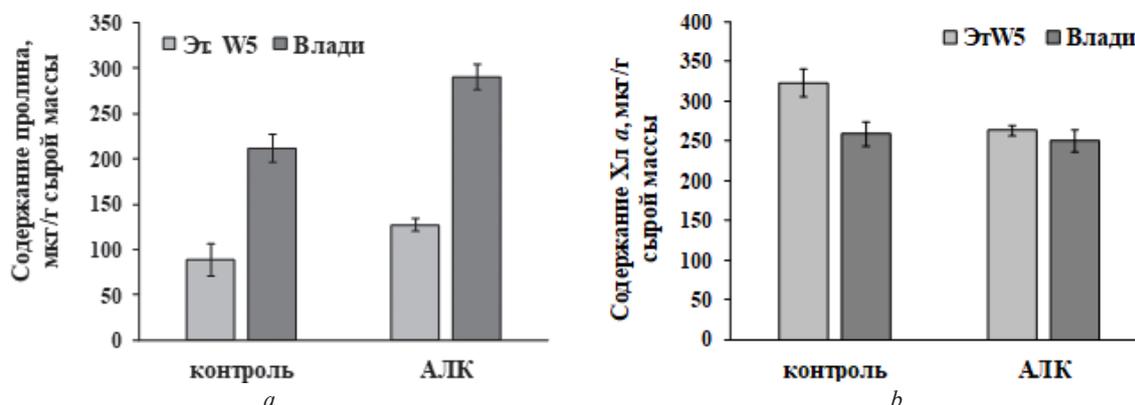


Рис. 5. Содержание пролина (*a*) и Хл *a* (*b*) в coleoptiles 8-дневных проростков озимой пшеницы сортов Эт W5 и Влади, семена которых предварительно перед посевом замачивали в течение 2 ч в растворе АЛК в концентрации 50 мг/л или в воде (контроль)

Fig. 5. The content of proline (*a*) and Chl *a* (*b*) in coleoptiles of 8-day-old seedlings of winter wheat varieties Et W5 and Vladi, the seeds of which were soaked before sowing for 2 h in a solution of ALA with a concentration of 50 mg/l, or in water (control)

ферментов, принимающих участие в образовании Хл, что рассматривалось нами как один из защитных механизмов, контролирующих образование порфиринов-фотосенсибилизаторов из экзогенной АЛК. Следует отметить, что максимальное снижение содержания Хл наблюдалось у сорта Эт W5 с высоким содержанием антоцианов. В работе [33] высказано предположение, что пластидно-ядерная сигнализация, управляющая экспрессией ядерных генов пути биосинтеза антоцианов и фотосинтетических генов, оказывает противоположное действие на оба процесса, что, возможно, и приводит к снижению содержания Хл в ходе параллельного накопления антоцианов у Эт W5.

Т а б л и ц а 2. Содержание антоцианов (мкмоль/г сырой массы) в coleoptiles 8-дневных проростков пшеницы сортов Эт W5 и Влади, семена которых перед посевом предварительно замачивали в течение 2 ч в растворах АЛК в концентрации 50 мг/л либо в воде (контроль)

Table 2. The content of anthocyanins (μ mol/g fr wt) in coleoptiles of 8-day-old wheat seedlings of varieties Et W5 and Vladi, the seeds of which were soaked before sowing for 2 hours in ALA solutions at a concentration of 50 mg/l, or in water (control)

Концентрация АЛК, мг/л	Эт W5	Влади
0 (контроль)	411,7 ± 51,6	12,5 ± 1,2
50	591,6 ± 78,6	21,6 ± 7,5

Нами отмечено также устойчивое снижение содержания каротиноидов в coleoptiles сорта Эт W5, выращенного из семян, обработанных АЛК. Так, содержание ксантофиллов в среднем составило 57 % от контроля, β -каротин – 65, общее содержание каротиноидов – 64 %. В то же время в coleoptiles сорта Влади содержание лютеина, β -каротин и общее содержание каротиноидов превышало их содержание в контроле на 19, 34 и 19 % соответственно.

Достоверных различий и четкой картины влияния АЛК на содержание гема в coleoptiles растений озимой пшеницы сортов Эт W5 и Влади не зафиксировано. Так, воздействие АЛК способствовало снижению содержания гема в coleoptiles сорта Эт W5 на 10 %, у сорта Влади – на 3 % по сравнению с соответствующими контролями. В то же время обработка АЛК привела к отчетливому повышению содержания пролина в coleoptiles обоих сортов – на 38 мкг/г сырой массы у сорта Эт W5 и на 78 мкг/г сырой массы у сорта Влади после обработки (рис. 5).

Оценка влияния АЛК на морозоустойчивость растений показала повышение этого показателя у растений сорта Эт W5 до 97 %, а у растений сорта Влади до 93 %.

Заключение. Таким образом, изучены два сорта озимой пшеницы – с красными (Эт W5) и зелеными (Влади) coleoptiles. Сорт Эт W5 с содержанием антоцианов в coleoptiles в среднем 412 ± 52 мкмоль/г сырой массы обладал высоким уровнем морозостойкости (88 % выживших растений в возрасте 7–8 дней, подвергшихся воздействию температуры -8 °C в течение 5 ч) и высокой способностью к продолжению роста и развития после перенесенного охлаждения. Так, через 3 сут после охлаждения прирост длины проростков в среднем составил 8,2 см. Растения сорта Влади с зелеными coleoptiles, низким содержанием антоцианов в coleoptiles ($12,5 \pm 1,2$ мкмоль/г сырой массы) и более низким уровнем морозостойкости (80 % выживших растений) характеризовались низкой способностью к продолжению роста и развития после перенесенного охлаждения – через 3 сут после охлаждения прирост длины проростков у этого сорта составил 3,4 см.

Содержание Хл *a* и Хл *b* в coleoptiles растений сорта Влади, обладающего низкой морозоустойчивостью, оказывалось в среднем на 17 % ниже, чем у сорта Эт W5. Как общее содержание каротиноидов, так и содержание ксантофиллов – виолаксантина, антраксантина, лютеина и бескислородного β -каротин – было высоким у сорта Эт W5 (409 ± 63 мкг/г сырой массы) и низким у сорта Влади (246 ± 26 мкг/г сырой массы), что в целом указывает на важную роль фотосинтетических пигментов, а следовательно, и фотосинтеза в формировании морозоустойчивости.

Отмечена тенденция к повышению содержания гема в coleoptiles проростков сорта Влади (до 133 %) по сравнению с его содержанием в coleoptiles растений сорта Эт W5. Такую же картину наблюдали и при оценке содержания в coleoptiles универсального стресс-протектора

пролина. Его уровень также был выше у сорта Влади (212 мкг/г сырой массы) по сравнению с обогащенным антоцианами сортом Эт W5 (89 мкг/г сырой массы). Полученные результаты указывают на то, что при низком уровне антоцианов основную роль в морозоустойчивости растений играет универсальный антистрессор пролин, который в условиях стресса выполняет функцию защитного агента. Вместе с тем высокое содержание антоцианов, а также фотосинтетических пигментов в колеоптилях растений озимой пшеницы на фоне низких уровней гема и пролина обеспечивает проросткам высокую морозоустойчивость и способность к последующей адаптации после перенесенного охлаждения.

Показано, что замачивание семян пшеницы в растворе экзогенной АЛК (50 мг/л) на 2 ч перед высевом повышает всхожесть семян обоих сортов, а у сорта Эт W5 на 10 % увеличивает длину растений и на 15 % длину колеоптилей. В колеоптилях растений этого сорта отмечено возрастание содержания антоцианов в 1,4 раза, а также повышение морозоустойчивости таких растений до 97 % (у растений сорта Влади – до 93 %), что делает привлекательным использование АЛК как эффективный прием для повышения морозоустойчивости растений озимой пшеницы.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке БРФФИ (договор № Б20ГРМГ-001) в рамках международного проекта «Расшифровка взаимозависимых механизмов управления биосинтезом хлорофилла и антоцианов в условиях абиотического стресса». Авторы также выражают искреннюю благодарность кандидату биологических наук, доценту С. И. Гордею – руководителю отдела озимых зерновых культур в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» за предоставление семян сортов озимой пшеницы.

Acknowledgements. The work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (contract no. B20GRMG-001) within the framework of the international project “Deciphering the interdependent mechanisms for controlling the biosynthesis of chlorophyll and anthocyanins under abiotic stress”. The authors also express their sincere gratitude to Candidate of Biological Sciences, Associate Professor S. I. Gordey, Head of the Department of Winter Grain Crops at the Republican Unitary Enterprise “Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Agriculture” for providing seeds of winter wheat varieties.

Список использованных источников

- Peer, W. A. Flavonoids as signal molecules: targets of flavonoid action / W. A. Peer, A. S. Murphy // The science of flavonoids / ed. by P. E. Grotewald. – New York, 2008. – P. 239–268.
- Feild, T. S. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood / T. S. Feild, D. W. Lee, N. M. Holbrook // Plant Physiol. – 2001. – Vol. 127, N 2. – P. 566–574. <https://doi.org/10.1104/pp.010063>
- 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. Agric. Food Chem. – 1999. – Vol. 47, N 11. – P. 4631–4637. <https://doi.org/10.1021/jf981271k>
- Shi, M. Z. Biosynthesis and metabolic engineering of anthocyanins in *Arabidopsis thaliana* / M. Z. Shi, D. Y. Xie // Recent Pat. Biotechnol. – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 47–60. <https://doi.org/10.2174/1872208307666131218123538>
- Zhao, H. J. Protective effects of exogenous antioxidants and phenolic compounds on photosynthesis of wheat leaves under high irradiance and oxidative stress / H. J. Zhao, Q. Zou // Photosynthetica. – 2002. – Vol. 40, N 4. – P. 523–527. <https://doi.org/10.1023/a:1024339716382>
- Wang, H. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins / H. Wang, G. Cao, R. L. Prior // J. Agric. Food Chem. – 1997. – Vol. 45, N 2. – P. 304–309. <https://doi.org/10.1021/jf960421t>
- Chalker-Scott, L. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? / L. Chalker-Scott // Adv. Bot. Res. – 2002. – Vol. 37. – P. 103–127. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(02\)37046-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(02)37046-0)
- Chalker-Scott, L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses / L. Chalker-Scott // Photochem. Photobiol. – 1999. – Vol. 70, N 1. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1999.tb01944.x>
- Both HY5 and HYH are necessary regulators for low temperature-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* seedlings / Y. Zhang [et al.] // J. Plant Physiol. – 2011. – Vol. 168, N 4. – P. 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.07.025>
- Accumulation of PAL transcript and PAL activity as affected by heat-conditioning and low-temperature storage and its relation to chilling sensitivity in mandarin fruits / M. T. Sanchez-Ballesta [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2000. – Vol. 48, N 7. – P. 2726–2731. <https://doi.org/10.1021/jf991141r>
- Flavonoids are determinants of freezing tolerance and cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* / E. Schulz [et al.] // Sci. Rep. – 2016. – Vol. 6, N 1. – P. 34027. <https://doi.org/10.1038/srep34027>
- Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапиролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 413 с.
- 5-Aminolevulinic acid promotes anthocyanin accumulation in Fuji apples / L. Xie [et al.] // Plant Growth Regul. – 2013. – Vol. 69, N 3. – P. 295–303. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9772-5>

14. The mechanism analysis of anthocyanin accumulation in peach accelerated by ALA / L. Guo [et al.] // *Acta Hort. Sinica*. – 2013. – Vol. 40, N 6. – P. 1043–1050.
15. Effects of bagging and exogenous 5-aminolevulinic acid treatment on coloration of ‘Yunhongli 2’ / C. C. Xiao [et al.] // *Nanjing Agricult. Univ.* – 2012. – Vol. 35. – P. 25–29.
16. 5-Aminolevulinic acid affects fruit coloration, growth, and nutrition quality of Litchi chinensis Sonn. cv. Feizixiao in Hainan, tropical China / S. Feng [et al.] // *Sci. Hort.* – 2015. – Vol. 193. – P. 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.010>
17. Effects of 5-aminolevulinic acid on chlorophyll, photosynthesis, soluble sugar and flavonoids of *Ginkgo biloba* / F. Xu [et al.] // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. – 2011. – Vol. 39, N 1. – P. 41–47. <https://doi.org/10.15835/nbha3915880>
18. Молекулярно-генетические механизмы регуляции дигидрофлавонол редуктазы и транскрипционного фактора HУ5 экзогенной 5-аминолевулиновой кислотой в проростках озимого рапса / Н. Г. Аверина [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 3. – С. 317–324.
19. Himi, E. Colour genes (*R* and *Rc*) for grain and coleoptile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat / E. Himi, A. Nisar, K. Noda // *Genome*. – 2005. – Vol. 48, N 4. – P. 747–754. <https://doi.org/10.1139/g05-026>
20. Молекулярно-генетические механизмы формирования окраски плодов и семян растений / В. Ф. Аджиева [и др.] // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2015. – Т. 19, № 5. – С. 561–573.
21. Shoeva, O. Y. The specific features of anthocyanin biosynthesis regulation in wheat / O. Y. Shoeva, E. K. Khlestkina // *Advances in wheat genetics: from genome to field : proc. of 12th Int. wheat genetics symp.* / ed. : Y. Ogiwara, S. Takumi, H. Handa. – Tokyo, 2015. – P. 147–157.
22. Shoeva, O. Y. Anthocyanins participate in the protection of wheat seedlings against cadmium stress / O. Y. Shoeva, E. K. Khlestkina // *Cereal Res. Comm.* – 2018. – Vol. 46, N 2. – P. 242–252. <https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.070>
23. Relationship between anthocyanin biosynthesis and abiotic stress in wheat / O. Y. Tereshchenko [et al.] // *Proceedings of the 15th EWAC conference, November 7–11, 2011, Novi Sad, Serbia* / ed. : A. Börner, B. Kobijlski. – Novi Sad, 2011. – P. 72–75.
24. Anthocyanins participate in protection of wheat seedlings from osmotic stress / O. Y. Shoeva [et al.] // *Cereal Res. Comm.* – 2017. – Vol. 45, N 1. – P. 47–56. <https://doi.org/10.1556/0806.44.2016.044>
25. Bogdanova, E. D. Resistance of common wheat to bunt / E. D. Bogdanova, A. T. Sarbaev, K. K. Makhmudova // *Proceedings of the Research Conference on Genetics*. – Moscow, 2002. – P. 43–44.
26. Mabry, T. J. The systematic identification of flavonoids / T. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas. – Berlin : Springer, 1970. – 354 p.
27. Misra N., Gupta A. K. Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram / N. Misra, A. K. Gupta // *Plant Sci.* – 2005. – Vol. 169, N 2. – P. 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.013>
28. Rodriguez-Amaya, D. B. HarvestPlus handbook for carotenoid analysis / D. B. Rodriguez-Amaya, M. Kimura. – Washington : HarvestPlus, 2004. – 63 p.
29. Weinstein, J. D. Separate physiological roles and subcellular compartments for two tetrapyrrole biosynthetic pathways in *Euglena gracilis* / J. D. Weinstein, S. I. Beale // *J. Biol. Chem.* – 1983. – Vol. 258, N 11. – P. 6799–6807. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)32293-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)32293-2)
30. Кузнецов, Вл. В. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / Вл. В. Кузнецов, Н. И. Шевякова // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321–336.
31. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implication in plant growth and abiotic stress tolerance / P. V. K. Kishor [et al.] // *Curr. Sci.* – 2005. – Vol. 88, N 3. – P. 424–438.
32. 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.
33. The genomes uncoupled – dependent signaling pathway coordinates plastid biogenesis with the synthesis of anthocyanins / A. S. Richter [et al.] // *Phil. Trans. Royal Soc. B: Biol. Sci.* – 2020. – Vol. 375, N 1801. – Art. ID 20190403. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0403>

References

1. Peer W. A., Murphy A. S. Flavonoids as signal molecules: targets of flavonoid action. *The Science of Flavonoids*. New York, 2008, pp. 239–268.
2. 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. <https://doi.org/10.1104/pp.010063>
3. 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. <https://doi.org/10.1021/jf981271k>
4. Shi M. Z., Xie D. Y. Biosynthesis and metabolic engineering of anthocyanins in *Arabidopsis thaliana*. *Recent Patents on Biotechnology*, 2014, vol. 8, no. 1, pp. 47–60. <https://doi.org/10.2174/1872208307666131218123538>
5. Zhao H. J., Zou Q. Protective effects of exogenous antioxidants and phenolic compounds on photosynthesis of wheat leaves under high irradiance and oxidative stress. *Photosynthetica*, 2002, vol. 40, no. 4, pp. 523–527. <https://doi.org/10.1023/a:1024339716382>

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. <https://doi.org/10.1021/jf960421t>
7. Chalker-Scott L. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances in Botanical Research*, 2002, vol. 37, pp. 103–127. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(02\)37046-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(02)37046-0)
8. Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology*, vol. 70, no. 1, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1999.tb01944.x>
9. Zhang Y., Zheng S., Liu Z., Wang L., Bi Y. Both HY5 and HYH are necessary regulators for low temperature-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 2011, vol. 168, no. 4, pp. 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.07.025>
10. Sanchez-Ballesta M. T., Zacarias L., Granell A., Lafuente M. T. Accumulation of PAL transcript and PAL activity as affected by heat-conditioning and low-temperature storage and its relation to chilling sensitivity in mandarin fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, vol. 48, no. 7, pp. 2726–2731. <https://doi.org/10.1021/jf991141r>
11. Schulz E., Tohge T., Zuther E., Fernie A. R., Hinch D. K. Flavonoids are determinants of freezing tolerance and cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, no. 1, p. 34027. <https://doi.org/10.1038/srep34027>
12. Averina N. G., Yaronskaya E. B. *Tetrapyrroles biosynthesis in plants*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 413 p. (in Russian).
13. Xie L., Wang Z. H., Cheng X. H., Gao J. J., Zhang Z. P., Wang L. 5-Aminolevulinic acid promotes anthocyanin accumulation in Fuji apples. *Plant Growth Regulation*, 2013, vol. 69, pp. 295–303. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9772-5>
14. Guo L., Cai Z. X., Zhang B. B., Xu J. L., Song H. F., Ma R. J. The mechanism analysis of anthocyanin accumulation in peach accelerated by ALA. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, vol. 40, no. 6, pp. 1043–1050.
15. Xiao C. C., Zhang S. L., Hu H. J., Tian R., Wu J., Yang Z. J. Effects of bagging and exogenous 5-aminolevulinic acid treatment on coloration of ‘Yunhongli 2’. *Nanjing Agricultural University*, 2012, vol. 35, pp. 25–29.
16. Feng S., Li M. F., Wu F., Li W. L., Li S. P. 5-Aminolevulinic acid affects fruit coloration, growth, and nutrition quality of Litchi chinensis Sonn. cv. Feizixiao in Hainan, tropical China. *Scientia Horticulturae*, 2015, vol. 193, pp. 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.010>
17. Xu F., Cheng S. Y., Zhu J., Zhang W., Wang Y. Effects of 5-aminolevulinic acid on chlorophyll, photosynthesis, soluble sugar and flavonoids of *Ginkgo biloba*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2011, vol. 39, no. 1, pp. 41–47. <https://doi.org/10.15835/nbha3915880>
18. Averina N. G., Emel’yanova A. V., Kalyaga T. G., Savina S. M. Molecular mechanisms of regulation of dihydroflavonol reductase and HY5 transcription factor by exogenous 5-aminolevulinic acid in winter rape seedlings. *Doklady Natsional’noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 3, pp. 317–324 (in Russian).
19. Himi E., Nisar A., Noda K. Colour genes (*R* and *Rc*) for grain and coleoptile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat. *Genome*, 2005, vol. 48, no. 4, pp. 747–754. <https://doi.org/10.1139/g05-026>
20. Adzhieva V. F., Babak O. G., Shoeva O. Yu., Kil’chevskii A. V., Khlestkina E. K. Molecular genetic mechanisms of the formation of the color of fruits and seeds of plants. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* [Vavilov journal of genetics and breeding], 2015, vol. 19, no. 5, pp. 561–573 (in Russian).
21. Shoeva O. Y., Khlestkina E. K. The specific features of anthocyanin biosynthesis regulation in wheat. *Advances in wheat genetics: from genome to field: Proceedings of the 12th International wheat genetics symposium*. Tokyo, 2015, pp. 147–157.
22. Shoeva O. Y., Khlestkina E. K. Anthocyanins participate in the protection of wheat seedlings against cadmium stress. *Cereal Research Communications*, 2018, vol. 46, no. 2, pp. 242–252. <https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.070>
23. Tereshchenko O. Y., Khlestkina E. K., Gordeeva E. I., Arbutzova V. S., Salina E. A. Relationship between anthocyanin biosynthesis and abiotic stress in wheat. *Proceedings of the 15th EWAC conference, November 7–11, 2011, Novi Sad, Serbia*. Novi Sad, 2011, pp. 72–75.
24. Shoeva O. Y., Gordeeva E. I., Arbutzova V. S., Khlestkina E. K. Anthocyanins participate in protection of wheat seedlings from osmotic stress. *Cereal Research Communications*, 2017, vol. 45, no. 1, pp. 47–56. <https://doi.org/10.1556/0806.44.2016.044>
25. Bogdanova E. D., Sarbaev A. T., Makhmudova K. K. Resistance of common wheat to bunt. *Proceedings of the research conference on genetics*. Moscow, 2002, pp. 43–44.
26. Mabry T. J., Markham K. R., Thomas M. B. *The systematic identification of flavonoids*. Berlin, Springer Publ., 1970. 354 p.
27. Misra N., Gupta A. K. Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant Science*, 2005, vol. 169, no. 2, pp. 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.013>
28. Rodriguez-Amaya D. B., Kimura M. *HarvestPlus handbook for carotenoid analysis*. Washington, HarvestPlus, 2004. 63 p.
29. Weinstein J. D., Beale Weinstein 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. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)32293-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)32293-2)
30. Kuznetsov V. I., Shevyakova N. I. Proline under stress: biological role, metabolism, regulation. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 1999, vol. 46, no. 2, pp. 321–336 (in Russian).
31. Kavi Kishor P. B., Sangam S., Amrutha R. N., Sri Laxmi P., Naidu K. R., Rao K. R., Rao S., Reddy K. J., Theriappan P., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implication in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 2005, vol. 88, no. 3, pp. 424–438.

32. Averina N. G., Shcherbakov R. A., Emel'yanova A. V., Domanskaya I. N., Usatov A. V. Induction of anthocyanin accumulation and the state of the protective system in winter rapeseed plants treated with 5-aminolevulinic acid. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 2017, vol. 64, pp. 1–10 (in Russian).

33. Richter A. S., Tohge T., Femie A. R., Grimm B. The genomes uncoupled – dependent signaling pathway coordinates plastid biogenesis with the synthesis of anthocyanins. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2020, vol. 375, no. 1801, art. ID 20190403. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0403>

Информация об авторах

Аверина Наталья 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

Савина Светлана Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: svetlanapavluchkova@yandex.ru

Дремук Ирина Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irinadremuk@yandex.ru

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

Прищепчик Юлия Владимировна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yuliya_prishchepchik@mail.ru

Усатов Александр Вячеславович – д-р биол. наук, профессор. Южный федеральный университет (ул. Большая Садовая, 105/42, Ростов-на-Дону, Российская Федерация). E-mail: usatova@mail.ru

Information about the authors

Natalia G. Averina – D. Sc. (Biol.), Professor, Chief 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: averina_ng@tyt.by

Sviatlana M. Savina – Ph. D. (Biol.), Senior 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: svetlanapavluchkova@yandex.ru

Irina A. Dremuk – Ph. D. (Biol.), Senior 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: irinadremuk@yandex.ru

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

Yuliya V. Prishchepchik – 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: yuliya_prishchepchik@mail.ru

Alexandr V. Usatov – D. Sc. (Biol.), Professor. Southern Federal University (105/42, Bolshaya Sadovaya Str., Rostov-on-Don, Russian Federation). E-mail: usatova@mail.ru