

УДК 631.811

А. В. ЕМЕЛЬЯНОВА

5-АМИНОЛЕВУЛИНОВАЯ КИСЛОТА КАК ИНДУКТОР НАКОПЛЕНИЯ АНТОЦИАНОВ В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОГО РАПСА (*BRASSICA NAPUS*)

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: yashchuk.anna@mail.ru*

Установлено стимулирующее действие экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) в дозе 200 мг/л на накопление антоцианов, пролина и нековалентно связанного с белками гема в семядольных листьях 7-дневных растений озимого рапса. Отмечено ингибирующее действие экзогенной АЛК на содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов.

Ключевые слова: экзогенная 5-аминолевулиновая кислота (АЛК), стимулирующее действие АЛК, озимый рапс, накопление антоцианов, фотосинтетические пигменты, гем, содержание пролина.

A. V. YEMELYANAVA

5-AMINOLEVULINIC ACID AS INDUCTOR OF ANTHOCYANIN ACCUMULATION IN PLANTS OF WINTER RAPE (*BRASSICA NAPUS*)

*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: yashchuk.anna@mail.ru*

The stimulatory effect of exogenous 5-Aminolevulinic acid (200 mg/l) on the accumulation of anthocyanins, proline and non-covalently bound to proteins heme in cotyledons of 7-day-old plants of winter rape has been determined. Inhibitory effect of exogenous ALA on the content of chlorophyll *a*, *b* and carotenoids was observed.

Keywords: exogenous 5-Aminolevulinic acid (ALA), the stimulatory effect of ALA, winter rape, anthocyanin accumulation, photosynthetic pigments, heme, the content of proline.

Введение. Растения являются важным источником получения ряда соединений вторичного метаболизма, таких как эфирные масла, алкалоиды, стероиды, терпеноиды, а также антоцианы. Однако возможности получения этих соединений в достаточном количестве зачастую ограничены. На протяжении многих лет исследователи активно ведут поиск новых недорогих, доступных способов получения вторичных метаболитов и их новых источников, а также увеличения выхода этих соединений.

Антоцианы являются самой крупной группой водорастворимых пигментов в царстве растений [1]. Они содержатся практически во всех высших растениях, а также в низших растениях – водорослях, печеночниках и папоротниках. Как правило, антоцианы присутствуют в клеточном соке цветков, плодов и листьев растений, окрашивая их в красный, фиолетовый, голубой цвета и их различные сочетания, а также в стеблях, запасающих органах и корнях [2]. Синтезируются данные соединения в цитоплазме и депонируются в клеточные вакуоли при помощи глутатионовой помпы [3].

Антоцианы имеют огромное значение как для растений, так и для человека. Основная функция антоцианов в растениях – эффективная защита в стрессовых условиях. Потребность в антоцианах огромна. Они используются в фармацевтической промышленности, поскольку обладают антиоксидантными, противовоспалительными, антиконвульсивными и хемопротекторными свойствами, а кроме того, снижают риск сердечно-сосудистых заболеваний и риск возникнове-

ния некоторых видов злокачественных образований [1]. Антоцианы используются также в пищевой промышленности, где они разрешены в качестве пищевых добавок.

В связи с изложенным выше представляло интерес изучить возможность применения АЛК на растениях озимого рапса (*Brassica napus*) как модельной системе с целью повышения в них содержания антоцианов, а также выявить факторы, повышающие их накопление в присутствии АЛК, и проанализировать изменение содержания в этих растениях пролина, нековалентно связанного с белками гема, и фотосинтетических пигментов.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали 4–7-дневные проростки озимого рапса. Растения выращивали в лабораторных условиях до 7-дневного возраста либо на поверхности воды, либо в растворах АЛК (100–200 мг/л). Проращивание семян (по 50 штук в каждом варианте) осуществляли в пластиковых контейнерах на фильтровальной бумаге при температуре 26 ± 2 °С и освещении, создаваемом люминесцентными лампами типа ЛБ-40 (освещенность 3000–4900 лк). Полив растений осуществляли ежедневно.

В ходе экспериментов у 4–7-дневных проростков озимого рапса, выращиваемых на воде и в растворах АЛК (100–200 мг/л), определяли содержание антоцианов (как описано в работе [5]), пролина (согласно методике [6]), основных фотосинтетических пигментов – хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов (согласно уравнениям, представленным в работе [7]), нековалентно связанного с белками гема (согласно методу, описанному в работе [8]). Все данные представлены как средние арифметические и их стандартные отклонения, вычисленные по результатам трех независимых экспериментов. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали стандартный пакет программы Excel 2010 [9].

Результаты и их обсуждение. В результате анализа содержания антоциановых пигментов в 7-дневных проростках озимого рапса выявлено, что растения, обработанные АЛК (100–200 мг/л), формировали семядольные листья с фиолетовой окраской и имели чрезвычайно высокое содержание антоцианов по сравнению с таковым у контрольных образцов, выращенных на поверхности воды. Возрастание освещенности от 3000 до 4900 лк также стимулировало в среднем в 2 раза накопление антоцианов в обработанных АЛК растениях.

Изучение динамики накопления антоцианов показало, что их количество в семядольных листьях контрольных растений не изменялось в течение 7 дней и в среднем составляло 94 ± 4 мкмоль/г сырой массы (рис. 1). После обработки растений экзогенной АЛК в концентрации 200 мг/л

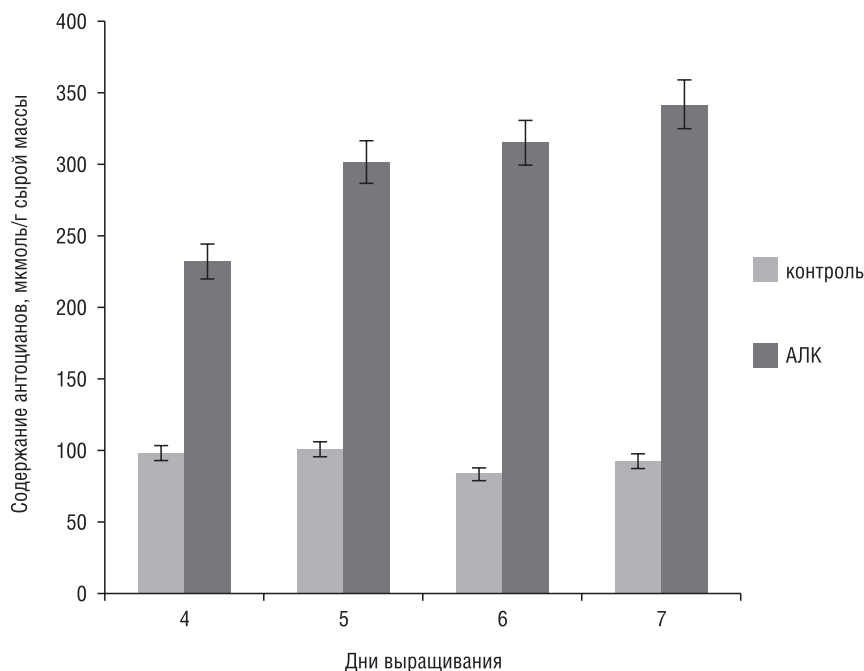


Рис. 1. Влияние экзогенной АЛК (200 мг/л) на содержание антоцианов в семядольных листьях растений озимого рапса, выращиваемых до 7-дневного возраста

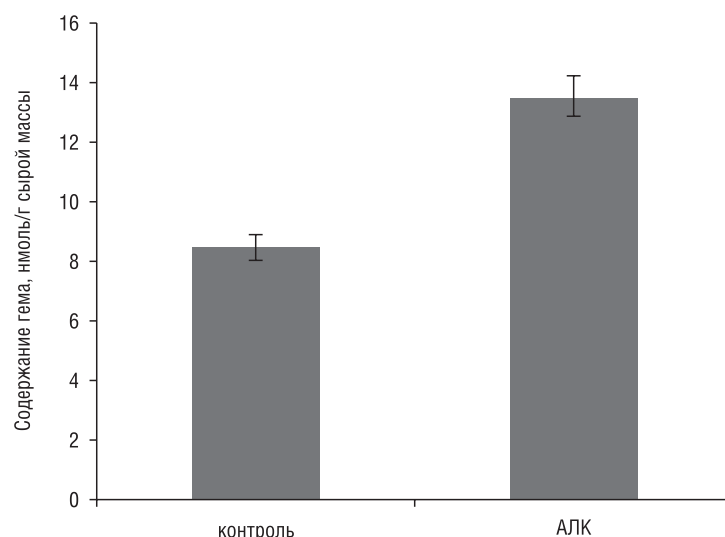


Рис. 2. Влияние экзогенной АЛК (200 мг/л) на количество нековалентно связанного с белками гема в 7-дневных проростках озимого рапса

и при освещенности 4900 лк наблюдали положительную динамику роста антоциановых пигментов по сравнению с контролем. Максимальное содержание антоцианов в обработанных растениях отмечалось на 7-й день вегетации (рис. 1). К этому периоду оно возрастало примерно в 3,5 раза по сравнению с таковым в контрольных образцах, выращенных на воде.

Поскольку АЛК является предшественником хлорофиллов и гема в биосинтезе [10], проведены опыты по определению этих пигментов в растениях озимого рапса, обработанных экзогенной АЛК. Анализ содержания основных фотосинтетических пигментов показал, что накопление хлорофиллов *a* и *b* в ходе вегетации значительно отставало от контроля (на 44 и 38 % к 4-му дню выращивания, на 37 и 27 % к 5-му дню, на 31 и 27 % к 6-му и на 24 и 21 % к 7-му дню развития), демонстрируя постепенное сокращение различий между контролем и опытом. Аналогичную картину наблюдали и в опытах с каротиноидами (см. таблицу).

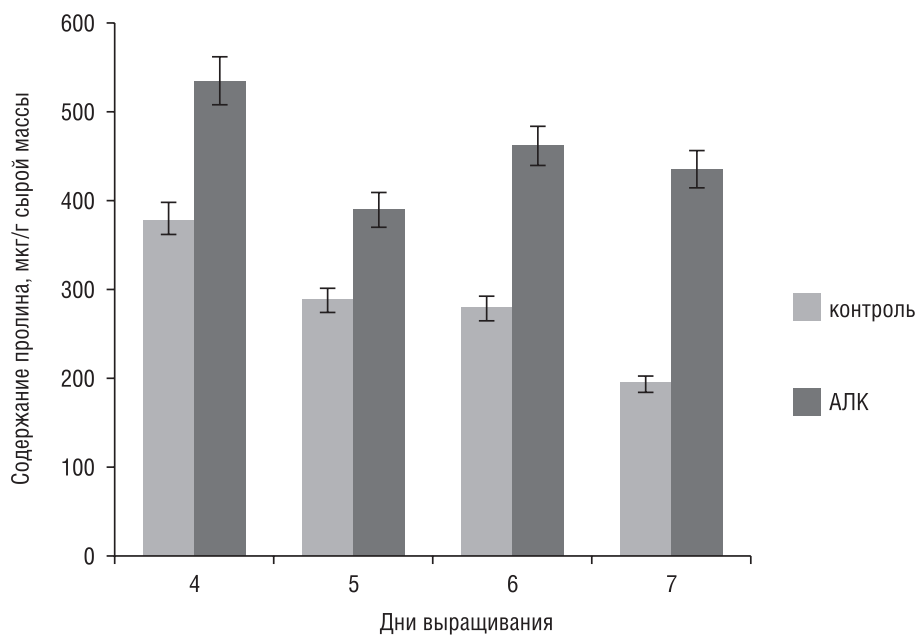


Рис. 3. Влияние экзогенной АЛК (200 мг/л) на накопление пролина в семядольных листьях растений озимого рапса, выращиваемых до 7-дневного возраста

**Относительное количество Хл *a*, Хл *b* и каротиноидов в семядольных
листьях озимого рапса, выращенных в растворе АЛК (200 мг/л), %**

День вегетации	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Каротиноиды
4-й	56	62	100
5-й	63	73	68
6-й	69	73	75
7-й	76	79	81

П р и м е ч а н и е. Данные приведены в сравнении с контролем.

При определении содержания нековалентно связанного с белками гема в 7-дневных проростках озимого рапса, выращенных на поверхности воды и в растворах АЛК с концентрацией 200 мг/л, отмечалось возрастание содержания гема на 60 % по сравнению с таковым у контрольных образцов, выращенных на поверхности воды (рис. 2).

Использование высокой концентрации экзогенной АЛК (200 мг/л) способствовало протеканию в растениях фотодинамических процессов, поэтому представлялось интересным изучить накопление универсального антистрессора – пролина в растениях, обработанных экзогенной АЛК. На 4-й день вегетации содержание пролина под действием АЛК составило 141 % от контроля, на 5-й день наблюдали незначительное снижение его уровня до 136 % от контроля, на 6-й день – до 165 %, в то время как на 7-й день вегетации озимого рапса содержание пролина составило 225 % по сравнению с таковым у контрольных растений (рис. 3).

Заключение. Установлено, что у растений озимого рапса, обработанных экзогенной АЛК (200 мг/л), более высокое содержание антоцианов, чем у контрольных образцов, выращенных на поверхности воды. Отмечено стимулирующее действие света высокой интенсивности на накопление антоцианов в растениях озимого рапса, обработанных АЛК. Обнаружено ингибирующее действие высоких концентраций экзогенной АЛК на содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов. Выявлено увеличение содержания пролина и нековалентно связанного с белками гема в растениях озимого рапса, выращенных на экзогенной АЛК, по сравнению с таковым у контрольных растений. Сделан вывод, что использование АЛК является эффективной стратегией, позволяющей существенно увеличить выход антоцианов, а растения озимого рапса могут рассматриваться как перспективный источник этих соединений.

Список использованной литературы

1. Gould, K. Anthocyanins. Biosynthesis, Functions and Application / K. Gould. – New York, 2009. – P. 200–202.
2. Lila, M. L. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach / M. L. Lila // J. Biomed. Biotechnol. – 2004. – Vol. 5. – P. 306–313.
3. A glutathione S-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene Bronze-2 / K. A. Marrs [et al.] // Nature. – 1995. – Vol. 375. – P. 397–400.
4. Xie, L. 5-Aminolevulinic acid promotes anthocyanin accumulation in Fuji apples / L. Xie // Plant Growth Regulation. – Vol. 69. – P. 295–303.
5. The systematic identification of flavonoids / T. J. Mabry [et al.]. – New York, 1970. – P. 261–266.
6. Rapid determination of free proline for water-stress studies / L. S. Bates [et al.] // Plant Soil. – 1973. – Vol. 39. – P. 205–207.
7. Шлык, А. А. Биохимические методы в физиологии растений / А. А. Шлык. – М., 1971. – С. 154–170.
8. Weinstein, J. D. Separate physiological roles and subcellular compartments for two tetrapyrrole biosynthetic pathways in *Euglena gracilis* / J. D. Weinstein // J. Biol. Chem. – 1983. – Vol. 258. – P. 6799–6807.
9. Алексейчук, Г. Н. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки / Г. Н. Алексейчук. – М., 2005. – 46 с.
10. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск, 2012. – С. 12–18.

Поступила в редакцию 26.04.2016