

УДК 577.3:577.1:631.8

Н. Г. АВЕРИНА, З. БЕЙЗАИ, Р. А. ЩЕРБАКОВ

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ ЭКЗОГЕННОЙ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТОЙ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ ХЛОРИДОМ НАТРИЯ

(Представлено академиком И. Д. Волотовским)

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
averina@ibp.org.by; z.beyzaei@mail.com; sherbakov@ibp.org.by

Изучено влияние экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) на рост, активность нитратредуктазы (НР, КФ 1.6.6.1), накопление пролина и генерацию супероксид анион-радикала в проростках ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорт Гонар), выращенных в условиях засоления, создаваемого NaCl. Показано, что АЛК в концентрациях 20, 40 и 80 мг/л увеличивала длину проростков, уширяла листовую пластинку растений, подвергнутых действию 150 мМ NaCl, по сравнению с контрольными растениями, не обработанными АЛК. В присутствии индуктора НР – ее субстрата 20 мМ KNO₃, экзогенная АЛК стимулировала экспрессию *Nar 1* гена фермента, увеличивала содержание НР-белка и его активность в растениях, выращенных на 150 мМ NaCl. АЛК также индуцировала накопление свободного пролина и уменьшала способность растений генерировать супероксид анион-радикал. Таким образом, продемонстрировано, что наблюдаемые эффекты экзогенной АЛК на выращиваемые в условиях солевого стресса растения ячменя связаны со стимуляцией активности НР как на транскрипционном, так и на трансляционном уровнях и приводят к улучшению ростовых характеристик растений и повышению уровня антирадикальной защиты.

Ключевые слова: засоление, *Hordeum vulgare*, нитратредуктаза, 5-аминолевулиновая кислота.

N. G. AVERINA, Z. BEYZAEI, A. SHERBAKOV

MOLECULAR MECHANISMS OF REGULATION OF NITRATE REDUCTASE WITH EXOGENOUS 5-AMINOLEVULINIC ACID IN BARLEY SEEDLINGS GROWN UNDER SALINIZATION WITH NaClInstitute Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
averina@ibp.org.by; z.beyzaei@mail.com; sherbakov@ibp.org.by

The effect of exogenous 5-aminolevulinic acid (ALA) on the growth and activity of nitrate reductase (NR, EC 1.6.6.1), the synthesis of proline and the superoxide anion radical generation in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Gonar) seedlings grown under salinization with NaCl has been studied. The obtained data indicated that ALA (20, 40 and 80 mg L⁻¹) increased the elongation and leaf blade expansion of barley seedlings exposed to 150 mM NaCl as compared to control plants, which were not treated with ALA. In the presence of the NR inductor – its substrate 20mM KNO₃, exogenous ALA stimulated NR gene *Nar 1* expression, increased the NR-protein content and enzymatic activities in plants grown in 150 mM NaCl solution. ALA also induced the accumulation of free proline and decreased the generation of superoxide anion radicals. Thus, this study demonstrates that ALA effects on salt-stressed barley seedlings involves the stimulation of NR activities both at transcriptional and translational levels and leads to complex physiological modifications, such as the improvements of plant growth and antiradical defense.

Keywords: salinization, *Hordeum vulgare*, nitratereductase, 5-aminolevulinic acid.

Азот является одним из важнейших элементов, входящих в состав растительных организмов. Несимбиотические растения получают азот из почвы, где он представлен в основном в виде нитратов. Ассимиляция неорганического азота является одним из фундаментальных биологических процессов в природе, определяющих жизнедеятельность растительных организмов. Первым и одновременно ключевым ферментом в цепи восстановления нитрата до нитрита и далее до аммония является нитратредуктаза (НР, КФ 1.6.6.1-3) – индуцибельный белок, подверженный транскрипционной и посттрансляционной регуляции как эндогенными, так и внешними, экзо-

генными стимулами, такими как нитраты, нитриты, свет, циркадные ритмы и уровень Ca^{2+} [1]. Модифицирующее действие на НР оказывают фитогормоны – цитокинины увеличивают содержание мРНК НР, содержание белка и его активность [1]. В ячмене (*Hordeum vulgare* L.) функционируют два гена НР – ген *Nar 1*, который кодирует НАДН-специфичный фермент, присутствующий в листьях, и другой ген *Nar 7*, кодирующий НАД(Ф)Н-биспецифичную НР, локализованную в корнях [2]. НАДН-НР хорошо охарактеризована структурно, биохимически и генетически [3]. В высших растениях активность НР обеспечивается наличием субстрата фермента – солей нитрата. Нитрат (NO_3^-) функционирует также как сигнал, регулирующий метаболизм азота и углерода [4].

НР является мишенью для действия различных стрессоров окружающей среды, таких как тепловой шок, тяжелые металлы, водный дефицит, а также засоление [5]. Засоление – один из основных абиотических факторов, действие которого приводит к угнетению роста и развития растений, снижению эффективности фотосинтеза, дыхания и др. Информация о влиянии засоления на систему ассимиляции азота ограничена и противоречива. Высокий уровень активности НР в растениях солеустойчивых сортов, по сравнению с чувствительными к засолению растениями позволил сделать вывод, что фермент обеспечивает функционирование ряда механизмов, способствующих формированию солеустойчивости растений [5]. Повышение активности НР в условиях засоления растений может стать эффективной стратегией в формировании солеустойчивости сельскохозяйственных культур.

Одним из способов повышения устойчивости растений к солевому стрессу является использование регуляторов роста растений (РРР), таких как ауксины, гиббереллины, цитокинины, салициловая кислота и др. [6]. В частности, кинетин и бензиладенин ослабляли действие солевого стресса, усиливая ростовые процессы, увеличивая в растениях ячменя содержание фотосинтетических пигментов, свободных фенолов, аминокислот и активности пероксидазы [6]. В последние годы внимание многих исследователей сфокусировано на уникальном предшественнике хлорофилла и гема – 5-аминолевулиновой кислоте (АЛК), которая в низких концентрациях действует как РРР и антистрессор [7]. Экзогенная АЛК формирует устойчивость растений к солевому стрессу через уменьшение поглощения ионов Na^+ , возрастание скорости фотосинтеза, а также благодаря снижению уровня окислительных процессов путем уменьшения содержания активных форм кислорода и роста активности антиоксидантных ферментов [7]. Известно также, что экзогенная АЛК стимулирует активность НР в растениях кукурузы и в стареющих листьях капусты [8; 9]. Недавно нами было показано, что в присутствии нитрата экзогенная АЛК увеличивала активность НАДН-НР путем стимуляции экспрессии *Nar 1* гена фермента и возрастания содержания самого белка [10]. Однако информация о молекулярных механизмах действия АЛК на НР в условиях засоления растений не известна, что делает исследования в этом направлении особенно актуальными.

Механизмы росторегулирующих и антистрессовых свойств экзогенной АЛК интенсивно изучаются, что позволило установить возрастание в растениях, обработанных экзогенной АЛК, содержания цитокининов, усиление стабильности ряда белков [7]. В условиях стрессовых воздействий генерация супероксид анион-радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$) является первичной реакцией, приводящей к образованию активных форм кислорода и возникновению окислительного стресса [11]. Участие АЛК в контроле образования $\text{O}_2^{\bullet-}$ в растениях, выращиваемых в условиях засоления, до сих пор не изучено, что представляет определенный интерес при изучении антистрессовых механизмов действия АЛК.

Не менее интересна роль экзогенной АЛК в накоплении универсального стресс-протектора пролина. Данные о влиянии АЛК на изменение содержания пролина в растениях, подвергнутых засолению, противоречивы [12; 13]. Ранее Агтам и соавт. [12] сообщили об отсутствии каких-либо изменений в содержании пролина в растениях подсолнечника, выращиваемых в условиях засоления и при обработке листьев экзогенной АЛК. Напротив, Naeem и соавт. [13] наблюдали индукцию накопления осмолитов, таких как сахара, белки, свободные аминокислоты и пролин в растениях рапса, выращиваемых при 100 и 200 мМ NaCl в присутствии экзогенной АЛК. Ранее нами также было отмечено возрастание содержания пролина в растениях ячменя, выращенных

на водопроводной воде в присутствии экзогенной АЛК [7]. Однако влияние экзогенной АЛК на накопление пролина под действием соли в условиях субстратной активации НР не изучалось, что делает данный вопрос предметом дальнейшего исследования.

Цель работы – выяснение молекулярных механизмов действия экзогенной АЛК на нитратредуктазу в растениях ячменя, выращиваемых в условиях засоления, создаваемого NaCl, ее влияния на способность растений генерировать $O_2^{\bullet-}$ и накапливать пролин.

Материалы и методы исследования. В экспериментах использовали 7-дневные проростки ячменя (сорт Гонар). Растения выращивали под белыми люминесцентными лампами (ЛД-40; 160 мкмоль $m^{-2} c^{-1}$; 25 °С) в режиме 14 ч света/10 ч темноты на дистиллированной или водопроводной воде, либо их растворах. Опыты проводили на растениях, выращиваемых на 150 mM NaCl в присутствии индуктора НР – 20 mM KNO_3 (контрольные растения), к которым добавляли возрастающие количества АЛК (20, 40 и 80 мг/л). Растения срезали в возрасте 7 дней, листья выравнивали по длине над колеоптилем, отбрасывали 0,5 см сверху и использовали в анализе следующие 2-сантиметровые отрезки. Активность НР определяли по скорости накопления нитрита [14]. Общую активность НР определяли с буфером HEPES-KOH, содержащим ЭДТА. При анализе активной формы НР вместо ЭДТА добавляли $MgCl_2$. Генерацию $O_2^{\bullet-}$ в листьях определяли по восстановлению нитротетразолия синего [15]. Экстракцию и электрофорез белков в полиакриламидном геле и иммуноблоттинг проводили по [16], используя антитела для НР (Agrisera, Sweden). ПЦР в реальном времени проводили используя MiniOpticon ПЦР-систему (Bio-Rad, США). Тотальную РНК изолировали из свежих листьев с помощью Tri-реагента (Sigma-Aldrich, США) и количественно определяли, используя спектрофотометр ND-2000 (Thermo Scientific, США). Синтез кДНК осуществляли с помощью cDNA Reverse Transcription Kit (Fermentas, Литва). ПЦР реакцию проводили, используя Real Time 2×PCR Master Mix SYBR[®] kit (Thermo Scientific, США) с рассчитанными нами генспецифичными праймерами: 5' AAG GGA TAC GCA TAC TCA GG 3' (прямой) и 5' TGA GGT TCC AGA TGA GCT TC 3' (обратный) для *Nar 1* гена НАДН НР и 5' TAA GGG ACA TCA AGG AGA AG 3' (прямой), 5' AGT TGT AGG TCG TCT CGT G 3' (обратный) для гена *actin* как внутреннего стандарта. В работе приведены средние значения из 5–6 экспериментов и их стандартные ошибки.

Результаты и их обсуждение. Ранее нами было показано, что выращивание растений ячменя на 150 mM растворе NaCl снижало высоту растений на 37 %, а длину главного корня на 39 % по сравнению с растениями, выращиваемыми на воде [17]. Чтобы оценить влияние экзогенной АЛК на ростовые характеристики растений ячменя, выращиваемых в условиях засоления, последние обрабатывали раствором 150 mM NaCl в присутствии индуктора НР – 20 mM KNO_3 (контроль), в который добавляли возрастающие количества АЛК – 20, 40 и 80 мг/л (опытные варианты). Отмечено, что АЛК усиливала ростовые процессы (рис. 1, а), увеличивая высоту растений на 11 % при использовании 40 мг/л, а ширину листовой пластинки на 26 % при использовании 80 мг/л по сравнению с растениями варианта « $KNO_3 + NaCl$ » (таблица).

Далее был осуществлен анализ действия экзогенной АЛК на НР – экспрессию гена фермента, его активность и содержание в растениях ячменя, выращенных в присутствии NaCl. В листьях проростков, выращенных на дистиллированной воде в присутствии NaCl или АЛК, экспрессия гена *Nar 1* не детектируется (данные не приведены). Экспрессия гена *Nar 1* запускается только с помощью субстрата фермента – нитрата. С целью индукции экспрессии гена НР и синтеза НР-белка в растениях, выращиваемых на солевых растворах в присутствии АЛК, во все растворы добавляли 20 mM KNO_3 . Уровень экспрессии гена *Nar 1* в растениях варианта « $NaCl + KNO_3$ » служил базовым уровнем для вариантов, содержащих экзогенную АЛК (рис. 1, в)

На рис. 1, б показано, что возрастание концентрации экзогенной АЛК в растворах приводило к увеличению как общей активности НР, так и ее активной формы. В присутствии 80 мг/л АЛК активность НР возрастала на 34 и 38 % по сравнению с контрольными растениями соответственно.

С целью выяснения молекулярных механизмов действия экзогенной АЛК на активность НР был использован количественный ПЦР анализ – изучена экспрессия гена *Nar 1*, а также с помощью антител на НР проведена оценка содержания фермента в растениях. Добавка к растворам, содержащим 150 mM NaCl + 20 mM KNO_3 (контроль), возрастающих концентраций АЛК показа-

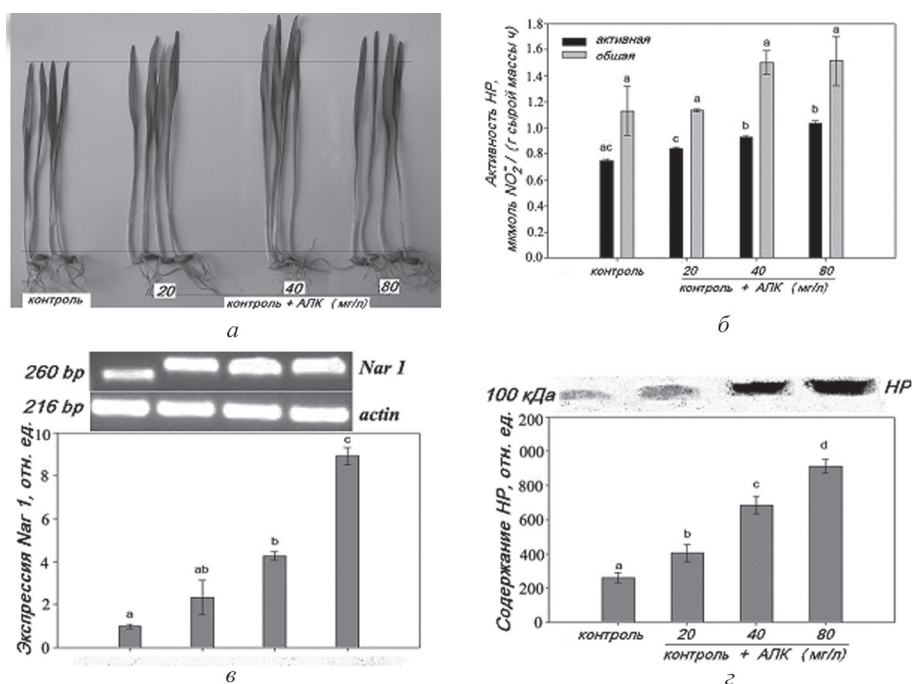


Рис. 1. Внешний вид (а), активность НР (б), уровень экспрессии *Nar 1* (в) и содержание НР (г) в растениях ячменя, выращенных на растворе «150 мМ NaCl + 20 мМ KNO₃» (контроль) с добавлением АЛК (20, 40 и 80 мг/л)

Влияние экзогенной АЛК на длину и ширину листьев 7-дневных растений ячменя, выращенных на растворах 150 мМ NaCl в присутствии 20 мМ KNO₃

KNO ₃ + NaCl (мМ)	АЛК (мг/л)	Высота (см)	Ширина (мм)
20 + 150	0	12,25 ± 0,39	4,00 ± 0,51
20 + 150	20	13,02 ± 0,57*	4,06 ± 0,56
20 + 150	40	13,56 ± 0,63*	4,75 ± 0,67*
20 + 150	80	12,92 ± 0,66*	5,04 ± 0,47*

Примечание. Представлены средние значения ±SD 4 независимых экспериментов. * – указывает на статистически значимые различия между контролем и опытом ($P < 0,05$).

ла отчетливое увеличение уровня экспрессии гена *Nar 1* (рис. 1, в). Использование 20, 40 и 80 мг/л АЛК привело к возрастанию количества мРНК-транскриптов НР в 3, 5 и 9 раз соответственно по отношению к таковому в растениях варианта «NaCl + KNO₃». В соответствии со стимулирующей экспрессии гена НР было отмечено и возрастание содержания фермента (рис. 1, г). Обработка растений 20, 40 и 80 мг/л АЛК привела к возрастанию содержания НР-белка на 60, 165 и 260 % соответственно по сравнению с контрольными растениями. Показана линейная корреляция между концентрациями АЛК, уровнями экспрессии гена НР (20–80 мг/л; $P = 0,001$, $r^2 = 0,778$) и содержанием фермента (20–80 мг/л; $P = 0,001$, $r^2 = 0,917$).

Ранее мы показали, что избыточное засоление, создаваемое NaCl, снижало активность НР [17]. Затем нами было продемонстрировано, что экзогенная АЛК стимулировала экспрессию субстрат-индуцибельного гена *Nar 1* фермента в проростках ячменя, выращиваемых при нормальных условиях в присутствии нитрата [10], что подтвердило результаты работы [9], в которой было показано увеличение уровня транскриптов НР в стареющих листьях капусты, обработанных экзогенной АЛК. Эти результаты указали на то, что экзогенная АЛК оказывает сильное регуляторное воздействие на экспрессию ядерного гена НР. Представленные выше данные показали, что экзогенная АЛК на ранних стадиях развития растений ячменя в условиях засоления в присутствии субстрата НР (NO₃⁻) значительно увеличивает активность фермента, причем как общую активность НР, так и ее активную форму (рис. 1, б). Возрастание при этом количества транскриптов фермента и его содержания указало на молекулярный механизм, с помощью кото-

рого экзогенная АЛК усиливает рост и развитие растений ячменя на ранних стадиях вегетации в условиях избыточного засоления – путем стимуляции экспрессии гена *Nar 1*, увеличения содержания фермента, его активности и тем самым ассимиляции неорганического азота. Maquyama-Nakashita и соавт. [18] продемонстрировали, что экзогенная АЛК увеличивала уровень транскриптов ряда генов, участвующих в ассимиляции серы в растениях *Arabidopsis thaliana*. Затем Czarneski и соавт. [19] показали, что биосинтез АЛК вносит определенный вклад в процесс пластидно-ядерной сигнализации. Наши результаты подтвердили, что экзогенная АЛК участвует в регуляции экспрессии ядерных генов, в частности, гена *Nar 1* НР.

Растения используют еще один механизм, с помощью которого формируется стрессоустойчивость – это способность к накоплению универсального стресс-протектора пролина. Пролин как совместимый осмолит защищает структуру белковых молекул, ДНК и мембран, является резервным источником углерода, азота, служит энергетическим субстратом, тушителем $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 и перехватчиком свободных радикалов [20]. С целью изучения влияния экзогенной АЛК на накопление пролина и способность растений генерировать $O_2^{\bullet-}$ в условиях засоления и субстратной активации НР с помощью 20 мМ KNO_3 , проростки ячменя выращивали на водопроводной воде. При оценке содержания пролина в качестве контрольных растений использовали два варианта – растения, выращенные на 150 мМ растворе NaCl, и растения, выращенные на растворе 150 мМ NaCl + 20 мМ KNO_3 . Опытные растения выращивали на растворах, содержащих 150 мМ NaCl + 20 мМ KNO_3 + АЛК (20, 40, 80 мг/л).

Данные, представленные на рис. 2, отчетливо показали увеличение содержания пролина в условиях засоления не только при добавлении к солевому раствору 20 мМ KNO_3 (124 % по сравнению с вариантом «NaCl»), но и возрастающую по величине стимуляцию его накопления в вариантах с экзогенной АЛК (20, 40 и 80 мг/л) по сравнению с растениями варианта «NaCl + KNO_3 ». Так, при использовании 80 мг/л АЛК стимуляция составила 77 %. Показана линейная корреляция между используемыми концентрациями АЛК и содержанием пролина (20–80 мг/л; $P = 0,001$, $r^2 = 0,839$).

Таким образом, сочетанное действие экзогенной АЛК и KNO_3 значительно увеличивало содержание пролина как по сравнению с чисто солевым раствором, так и по сравнению с растениями варианта «NaCl + KNO_3 ». Увеличение содержания пролина под действием экзогенной АЛК в условиях засоления растений может быть прямым следствием возрастания в них активности НР за счет стимуляции экспрессии гена *Nar 1*, увеличения содержания фермента и тем самым способности ассимилировать неорганический азот, первичным продуктом ассимиляции которого является глутаминовая кислота – предшественник пролина в биосинтезе.

Учитывая тот факт, что глутаминовая кислота является общим предшественником и пролина, и эндогенной АЛК, в качестве рабочей гипотезы можно предложить еще один механизм, согласно которому в присутствии экзогенной АЛК синтез эндогенной может частично подавляться и приводить к переключению метаболизма глутаминовой кислоты с пути синтеза хлорофилла и гема на путь синтеза пролина, приводя тем самым к стимуляции образования последнего и возрастанию солеустойчивости растений. Понижение способности растений накапливать эндогенную АЛК в присутствии экзогенной было отмечено нами в ходе выращивания 7-дневных растений ячменя в нормальных условиях. Так, при использовании 40 мг/л экзогенной АЛК способность растений накапливать эндогенную АЛК

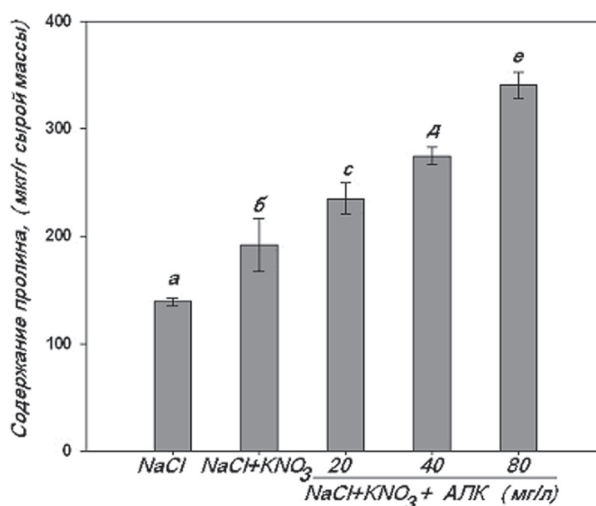


Рис. 2. Накопление пролина в растениях ячменя, выращенных на 150 мМ NaCl в присутствии 20 мМ KNO_3 и экзогенной АЛК (20, 40 и 80 мг/л). Разные маленькие буквы показывают статистически значимые различия между вариантами при $P \leq 0,05$

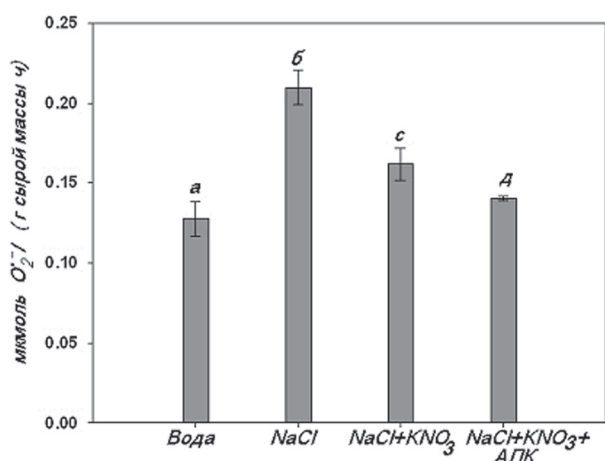


Рис. 3. Скорость генерации O₂^{•-} (мкмоль/г сырой массы ч) в отрезках листьев 7-дневных проростков ячменя, выращенных на поверхности воды, 150 мМ растворе NaCl, 150 мМ NaCl + 20 мМ KNO₃, а также на растворе 150 мМ NaCl + 20 мМ KNO₃ + 80 мг/л АЛК. Разные маленькие буквы показывают статистически значимые различия между вариантами при P ≤ 0,05

генной АЛК (80 мг/л) скорость образования O₂^{•-} возрастанием содержания пролина (рис. 2).

Заклучение. Таким образом, впервые показан один из молекулярных механизмов, с помощью которого экзогенная АЛК усиливает рост и развитие растений ячменя на ранних стадиях вегетации в условиях избыточного засоления – путем стимуляции экспрессии гена нитратредуктазы *Nar 1*, увеличения содержания фермента, его активности и тем самым ассимиляции неорганического азота. Использование двух агентов – нитрата и экзогенной АЛК, способствовало формированию высокой солеустойчивости растений ячменя на ранних стадиях их вегетации, проявившейся в стимуляции ростовых процессов, накоплении пролина, что в свою очередь привело к снижению уровня окислительного стресса путем уменьшения способности растений генерировать O₂^{•-}. Использование в качестве РРР экзогенной АЛК может явиться эффективной стратегией, позволяющей через воздействие на НР усиливать ассимиляцию неорганического азота и тем самым повышать стрессоустойчивость растений и их продуктивность.

Список использованной литературы

1. Garg, S. K. Role and hormonal regulation of nitrate / S. K. Garg // Plant Sci. Feed. – 2003. – Vol. 3. – P. 13–20.
2. Warner, R. L. Inheritance and expression of NAD(P)H nitrate reductase in barley / R. L. Warner, K. R. Narayanan, F. Kleinhofs // Theor. Appl. Genet. – 1987. – Vol. 74. – P. 714–717.
3. Campbell, W. H. Functional domains of assimilatory nitrate reductases and nitrite reductases / W. H. Campbell, K. R. Kinghorn // Trends Biochem. Sci. – 1990. – Vol. 15. – P. 315–319.
4. Foyer, C. H. Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants / C. H. Foyer, M. Parry, G. J. Noctor // J. Exp. Bot. – 2003. – Vol. 54. – P. 585–593.
5. Garg, N. Nitrate reductase activity in roots and leaves of chickpea cultivars under salt stress / N. Garg, R. Singla // Span. J. Agric. Res. – 2005. – Vol. 3. – P. 617–629.
6. Sarwat, M. I. Increasing salt tolerance in some barley genotypes (*Hordeum vulgare*) by using kinetin and benzyladenin / M. I. Sarwat, M. H. El-Sherif // World J. Agricult. Sci. – 2007. – Vol. 3. – P. 617–629.
7. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск: Беларус. навука, 2012.
8. Mishra, S. N. Stimulation of nitrate reductase activity by delta aminolevulinic acid in excised maize leaves / S. N. Mishra, H. S. Srivastava // Experientia. – 1983. – Vol. 39. – P. 1118–1120.
9. Effect of 5-aminolevulinic acid on leaf senescence and nitrogen metabolism of pakchoi under different nitrate levels / Z. Y. Wei [et al.] // J. Plant Nutr. – 2012. – Vol. 35. – P. 49–63.
10. Beyzaei, Z. Response of Nitrate Reductase to Exogenous Application of 5-Aminolevulinic Acid in Barley Plants / Z. Beyzaei, R. A. Sherbakov, N. G. Averina // J. Plant Growth Regul. – 2014. – Vol. 33. – P. 745–750.

падала на 16 % по сравнению с контролем, а при использовании 60 мг/л – на 38 %. В таких растениях отмечено и возрастание содержания пролина [7]. К сожалению, оценить АЛК-синтезирующую способность растений, выращиваемых в условиях засоления в присутствии экзогенной АЛК не представляется возможным, поскольку само засоление индуцирует синтез дополнительной АЛК. Не исключено, что в описанных выше условиях проведения эксперимента работают оба механизма.

Оценка способности растений генерировать O₂^{•-} показала значительное ее возрастание при использовании 150 мМ NaCl (на 55 % по сравнению с растениями, выращенными на воде). Скорость генерации O₂^{•-} снижалась на 14 % при добавлении к раствору соли 20 мМ KNO₃ (рис. 3), в присутствии которого уровень пролина возрастал на 35 % (рис. 2). При добавлении к варианту «NaCl + KNO₃» экзо- снижалась на 29 %, что также сопровождалось

11. *Hernández, J. A.* Salt stress-induced changes in superoxide dismutase isozymes in leaves and mesophyll protoplasts from *Vigna unguiculata* (L.) / J. A. Hernández, L. A. Del Rio, F. Sevilla // *Walp. New Phytol.* – 1994. – Vol. 126. – P. 37–44.
12. *Akram, N. A.* Aminolevulinic acid-induced changes in some key physiological attributes and activities of antioxidant enzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants under saline regimes / N. A. Akram, M. Ashraf, F. Al-Qurainy // *Sci. Hort.* – 2012. – Vol. 142. – P. 143–148.
13. 5-Aminolevulinic acid ameliorates salinity-induced metabolic, water-related and biochemical changes in *Brassica napus* L. / M. S. Naeem [et al.] // *Acta Physiol. Plant.* – 2011. – Vol. 33. – P. 517–528.
14. Salinity-induced changes in two cultivars of *Vigna radiata*: responses of antioxidative and proline metabolism / K. Sumithra [et al.] // *Plant Growth Regul.* – 2006. – Vol. 50. – P. 11–22.
15. Necessity of superoxide production for the development of etiolated wheat seedlings / B. Y. Shorning [et al.] // *Biochemistry (Moscow)*. – 2000. – Vol. 65. – P. 1357–1361.
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. Biol. Chem.* – 1983. – Vol. 258. – P. 6799–6807.
17. Роль метаболизма азота в формировании солеустойчивости растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum*) / Н. Г. Аверина [и др.] // *Физиология растений*. – 2014. – Т. 61. – С. 106–113.
18. Exogenous application of 5-aminolevulinic acid increases the transcript levels of sulfur transport and assimilatory genes, sulfate uptake, and cysteine and glutathione / A. Maruyama-Nakashita [и др.] // *Soil. Sci. Plant Nutr.* – 2010. – Vol. 56. – P. 281–288.
19. Evidence for a contribution of ALA synthesis to plastid-to-nucleus signaling / O. Czarnecki [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2012. – Vol. 3. – P. 236.
20. *Кузнецов, Вл. В.* Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / Вл. В. Кузнецов, Н. И. Шевякова // *Физиология растений*. – 1999. – Т. 46. – С. 321–336.

Поступило в редакцию 29.06.2015