

УДК 575.133

UDC 575.133

03.00.00 Биологические науки

Biological sciences

**СОДЕРЖАНИЕ РЕДУЦИРУЮЩИХ
САХАРОВ И АКТИВНОСТЬ β -ГЛИКОЗИДАЗ
У ВНЕЯДЕРНЫХ ХЛОРОФИЛЬНЫХ
МУТАНТОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА**

**THE REDUCING SUGARS CONTENT AND β -
GLYCOSIDES ACTIVITY IN NONNUCLEAR
CHLOROPHYLL MUTANTS OF SUNFLOWER**

Азарин Кирилл Витальевич
к.б.н., с.н.с., SPIN – код: 6673-9940
e-mail: azkir@rambler.ru
*Южный федеральный университет, Россия,
344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

Azarin Kirill Vitalievich
Cand.Biol.Sci., SPIN – code: 6673-9940
e-mail: azkir@rambler.ru
*Southern Federal University, Russia, 344090, Rostov-
on-Don, Stachki av., 194/1*

Усатов Александр Вячеславович
д.б.н., профессор, SPIN – код: 1644-8303
e-mail: usatova@mail.ru
*Южный федеральный университет, Россия,
344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

Usatov Alexander Vyacheslavovich
Dr. Biol.Sci., professor, SPIN –code: 1644-8303
e-mail: usatova@mail.ru
*Southern Federal University, Russia, 344090, Rostov-
on-Don, Stachki av., 194/1*

Дремук Ирина Александровна
к.б.н., м.н.с., SPIN – код: 1962-8656
e-mail: irinadremuk@yandex.ru
*Институт биофизики и клеточной инженерии
НАНБ, Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул.
Академическая, 27*

Dremuk Irina Alexandrovna
Cand.Biol.Sci., SPIN – code: 1962-8656
e-mail: irinadremuk@yandex.ru
*Institute of Biophysics and Cell Engineering of NAS of
Belarus, Belarus, 220072, Minsk, Academicheskaya
st., 27*

В Южном федеральном университете на генетической основе одной инбредной линии № 3629 подсолнечника, с помощью индуцированного нитрозометилмочевинной, создана коллекция пластидных мутантов с различной степенью хлорофильной недостаточности, которая, связана со снижением их фотосинтетической активности. Было установлено, что чем меньше содержание хлорофиллов в мутантных пластидах, тем ниже концентрация сахаров в тканях растений. Так, например, на протяжении всего периода роста растений для белых (1,0-3,0 % хлорофиллов a+b от контроля) *var-10*, *var-17* и желтых (6,0-9,5 % хлорофиллов a+b от контроля) *var-29*, *var-33* участков листьев пестролистных мутантов в зависимости от фазы развития и содержания зеленых пигментов характерно пониженное (в 2-7 раз) содержание сахаров. Желто-зеленым (75,5 % хлорофиллов a+b от контроля) листьям мутанта *en:chlorina-7* соответствует более высокий уровень углеводов, хотя он также уступает в 1,5-2 раза линии № 3629. Поскольку моносахара также являются продуктами гидролитических реакций, катализируемых β -гликозидазами, контролируемые ядерными генами, был исследован уровень активности водорастворимых β -галактозидазы (β -Д-галактозид-галактогидролаза, КФ 3.2.1.23) и β -глюкозидазы (β -Д-глюкозид-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.21) в зависимости от фазы развития, содержания хлорофиллов и редуцирующих сахаров в листьях мутантов, которые превышали соответствующие показатели контрольной линии

In the Southern Federal University on the genetic basis of sunflower inbred line 3629, a collection of plastid mutants with varying degrees of chlorophyll deficiency was created by inducing N-nitrosomethylurea. Chlorophyll content was associated with their photosynthetic activity. It was found that the lower the chlorophylls content in mutant plastids, the lower the sugar concentration in plant tissues. For example, during the entire period of plant growth for whites (1.0-3.0 % chlorophylls a+b from control) *var-10*, *var-17* and yellows (6.0-9.5 % chlorophylls a+b from control) *var-29*, *var-33* leaf areas of variegated mutants depending on the development phase and the content of green pigments are characterized by a low (2-7 fold) sugar content. Yellow-green (75.5% chlorophylls a + b from control) leaves of *en:chlorina-7* contain a higher level of carbohydrates, although it is 1.5-2 fold lower than at line 3629. Monosaccharides are products of hydrolytic reactions catalyzed by β -glycosidases. It was shown, that the activity level of β -galactosidase and β -glucosidase exceeded the corresponding indicators of the control at 1.5-2 and 2-7 fold, respectively. Similarly to enzymes from the water-soluble fraction, membrane-bound β -glycosidases also showed increased activity in the leaves of the investigated mutants, compared to the control green plants of 3629. Consequently, the activity of β -glycosidases increases dramatically in leaf tissues with deficiency of photosynthetic. Thus, chlorophyll mutations can lead to a change in the expression of nuclear genes, resulting in a significant increase in the activity of β -glycosidases in the mutant

№ 3629 в 1,5-2 и в 2-7 раза, соответственно. Аналогично ферментам из водорастворимой фракции мембраносвязанные β-гликозидазы пластид также продемонстрировали повышенную активность в листьях исследованных мутантов, по сравнению с контрольными зелеными растениями линии № 3629. Следовательно, активность β-гликозидаз резко возрастает в тканях, в которых наблюдается дефицит продуктов фотосинтеза. Таким образом, пластидные хлорофильные мутации могут приводить к изменению экспрессии ядерных генов, в результате чего происходит значительное увеличение активности β-гликозидаз в самих мутантных органеллах

organelles themselves

Ключевые слова: ВНЕЯДЕРНЫЕ ПЕСТРОЛИСТНЫЕ МУТАНТЫ, В-ГЛИКОЗИДАЗЫ, РЕДУЦИРУЮЩИЕ САХАРА, ПОДСОЛНЕЧНИК

Keywords: NONNUCLEAR CHLOROPHYLL MUTANTS, B-GLYCOSIDASES, REDUCING SUGARS, SUNFLOWER

Doi: 10.21515/1990-4665-131-040

Введение

В Южном федеральном университете на генетической основе одной инбредной линии подсолнечника с помощью индуцированного нитрозометилмочевинной мутагенеза создана коллекция внеядерных хлорофильных мутантов с различной степенью выраженности хлорофильной недостаточности [1, 2, 3]. Выделенные мутанты были отнесены к двум фенотипическим классам – мутанты с желто-зеленой окраской листьев типа *chlorina* и пестролистные химеры *variegated* с желтыми или белыми секторами на листьях растений. Полногеномное секвенирование хлоропластной ДНК исходной инбредной линии и ряда внеядерных мутантов подтвердило пластидную природу хлорофильных дефектов [4].

Ранее было показано, что в зависимости от содержания хлорофиллов в мутантных пластидах наблюдается различная степень нарушения структуры фотосинтетического аппарата и снижение активности световых и темновых стадий фотосинтеза [5, 6]. Особенно эта зависимость наглядно выражена у пестролистных химер, у которых в мутантной ткани с возрастом протекает интенсивная внутриклеточная вакуолизация.

В связи с тем, что летальные мутации пластогенов, приводят в процессе роста пестролистных растений к активации катаболических реакций в мутантной ткани, а гликозидазы растений, контролируемые ядерными генами, представляют обширную и разнообразную группу гидролитических ферментов, катализирующих гидролиз гликозидных связей в различных углеводсодержащих биополимерах [7], представлял интерес изучить зависимость уровней активности β -глюкозидазы и β -галактозидазы от фенотипического выражения хлорофильных дефектов и содержания редуцирующих сахаров у внеядерных хлорофильных мутантов подсолнечника.

Материал и методы

Для определения активности водорастворимых и связанных с мембранами хлоропластов β -гликозидаз, а также содержания редуцирующих сахаров использовали зрелые листья исходной линии 3629, пластидного мутанта *en:chlorina-7* и мутантные (белые и желтые) сектора листьев внеядерных хлорофильных химер *var-10*, *var-17*, *var-29*, *var-33* из генетической коллекции подсолнечника Южного федерального университета, выращенных в полевых условиях. Все изученные хлорофильные мутанты были выделены после индуцированного N-нитрозо-N-метилмочевинной мутагенеза одной инбредной линии 3629.

Ферментные препараты водорастворимых β -глюкозидазы (β -Д-глюкозид-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.21) и β -галактозидазы (β -Д-галактозид-галактогидролаза, КФ 3.2.1.23) готовили, гомогенизируя листовую ткань на холоду в экстрагирующей среде, содержащей 10 Мм диэтилдитиокарбамат натрия. Экстракты центрифугировали 15 мин при 15000 об/мин и фильтровали через колонку (2,8x16,5 см), наполненную молселектом Г-15. Ферментативную реакцию проводили в 0,05 М фосфатно-цитратном буфере pH 5,0 для β -глюкозидазы и pH 3,5 β -галактозидазы. Субстратами для определения β -глюкозидазной активности

служили 4-нитрофенил- или 4-метилумбеллиферил- β -Д-глюкозид, в-галактозидазной активности – 4-нитрофенил- или 4-метилумбеллиферил- β -Д-галактозид. Количество освобожденного продукта ферментативной реакции определяли на фотоэлектроколориметре КФК-2МП (4-нирофенол) или на спектрофлюориметре Hitachi-650-60 (4-метилумбеллиферил). Содержание водорастворимого белка определяли по методу Лоури [8].

Активность хлоропластных β -гликозидаз изучали в суспензии пластид, фракция которых была получена методом седиментации [9]. В качестве субстратов использовали 4-метилумбеллиферил- β -Д-гглюко- и галактозид. Определение содержания белков в хлоропластах проводили с помощью модифицированного метода Лоури [10].

Водную вытяжку редуцирующих сахаров получали при инкубировании гомогенатов свежей ткани листьев в водяной бане в течение 1 ч при 75-80°C. Концентрацию редуцирующих сахаров определяли, используя микрометод [11].

Определение количества хлорофилла в 85 %-ной ацетоновой вытяжке проводили на спектрофотометре СФ-26 по методике [12].

Все данные представлены как средние арифметические и их стандартные отклонения, вычисленные из трех независимых опытов. Различия считали статистически достоверными при $p = 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Различная степень хлорофильной недостаточности в мутантных пластидах подсолнечника, очевидно, должна коррелировать со снижением восстановленных сахаров, являющихся первичными продуктами фотосинтеза.

В таблице 1 приведены результаты определения редуцирующих сахаров в процессе вегетации растений. В данном эксперименте использовали как белые участки листьев пестролистной линии *var-10*, содержащей лишь следы хлорофилла, так и зеленые участки тех же

листьев с нормальным количеством зеленых пигментов. Для сравнения была взята листовая ткань мутанта *en:chlorina-7* с пониженным содержанием хлорофилла (70-80 % от контрольных значение растений линии 3629).

Таблица 1 - Содержание редуцирующих сахаров (% к сухому весу) в листьях хлорофильных мутантов подсолнечника на различных стадиях развития

Линия, фенотип ткани	Фаза развития			
	3-4 пара листьев	7-8 пара листьев	Бутонизация	Цветение
3629, зеленая	3,8±0,36	4,6±0,22	4,9±0,36	2,4±0,11
<i>en:chlorina-7</i> , желто-зеленая	1,9±0,11	2,2±0,12	2,9±0,29	1,5±0,06
<i>var-10</i> , зеленая	2,3±0,19	3,1±0,18	3,9±0,22	1,9±0,0,07
<i>var-10</i> , белая	0,6±0,07	0,7±0,05	1,7±0,06	0,8±0,03
<i>var-17</i> , белая	0,8±0,05	0,9±0,02	1,4±0,03	0,9±0,05
<i>var-29</i> , желтая	1,1±0,05	1,3±0,07	1,9±0,06	1,2±0,06
<i>var-33</i> , желтая	1,4±0,10	1,7±0,09	2,2±0,17	1,3±0,05

Исследование уровня восстанавливаемых сахаров показало, что мутантные участки листьев пестролистных химер *var-10*, *var-17*, *var-29* и *var-33* на всех фазах развития по этому показателю значительно уступают зеленым тканям. Интересно отметить, что содержание сахаров в мутантных секторах листьев линии *var-10* было в 2,5-4,5 раза ниже, чем в соседних зеленых участках листьев той же линии (табл. 1). Зеленой и желто-зеленой тканям мутантных линий *var-10* и *en:chlorina-7* соответствует достаточно высокий уровень углеводов, хотя все же он снижен по сравнению с линией 3629. Максимальное количество углеводов у всех изученных линий, накапливается в фазе бутонизации. Последующее уменьшение их содержания, вероятно, связано с усиленной утилизацией углеводов в репродуктивных органах в фазу цветения.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии прямой связи между активностью фотосинтезирующей системы и содержанием углеводов: чем больше выражена хлорофильная недостаточность в мутантных пластидах, тем ниже концентрация сахаров в тканях растений.

Поскольку моносахара также являются продуктами гидролитических реакций, катализируемыми β -гликозидазами, а галактоза и глюкоза представляют моносахара большинства гликозидов, олиго- и полисахаридов, в мутантных тканях различных линий в течение вегетации растений была определена активность водорастворимых β -галакто- и β -глюкозидаз.

В таблицах 2, 3 приведены результаты определения удельной активности водорастворимых β -галакто- и β -глюкозидаз в мутантных тканях различных линий подсолнечника в процессе вегетации растений. Наиболее высокие значения удельной активности β -галактозидазы получены для мутантной ткани пестролистных линий *var-10*, *var-17*, *var-29* и *var-33*. Активность β -галактозидазы в этих тканях превышает активность фермента в зеленых тканях растений контрольной линии 3629 в 2-3 раза (за исключением фазы цветения). Интересно отметить, что показатели активности β -галактозидазы из мутантной и зеленой тканей одного и того же пестролистного растения (линия *var-10*) различаются в 2-2,5 раза.

Таблица 2 – Активность водорастворимой β -галактозидазы в листьях пластомных мутантов подсолнечника на различных стадиях развития растений

Линия, фенотип ткани	Фаза развития			
	3-4 пара листьев	5-6 пара листьев	Бутонизация	Цветение
3629, зеленая	3,33±0,32	3,27±0,22	4,73±0,36	7,75±0,56
<i>en:chlorina-7</i> , желто-зеленая	3,01±0,27	3,42±0,38	3,19±0,24	6,26±0,31
<i>var-10</i> , зеленая	4,75±0,66	3,22±0,77	2,93±0,31	6,12±0,49
<i>var-10</i> , белая	11,26±1,02	6,83±0,74	7,75±0,54	15,25±1,87
<i>var-17</i> , белая	10,08±1,14	6,52±0,45	8,24±0,52	12,10±1,53
<i>var-29</i> , желтая	6,31±0,86	5,78±0,50	6,47±0,49	10,54±0,72
<i>var-33</i> , желтая	7,23±0,79	6,37±0,76	7,81±0,82	9,75±2,53

Различия между контрольной линией 3629 и мутантом *en:chlorina-7* выявляются на более поздних этапах развития растений, начиная с фазы бутонизации. Однако, они не столь значительны: активность β -

галактозидазы у *en:chlorina-7* ниже, чем у растений линии 3629 в 1,2-1,5 раза.

Таким образом, прослеживается определенная закономерность: уровень удельной активности β -галактозидазы находится в зависимости от степени хлорофильной недостаточности и концентрации редуцирующих сахаров в мутантных тканях подсолнечника.

Таблица 3 – Активность водорастворимой β -глюкозидазы в листьях пластомных мутантов подсолнечника на различных стадиях развития растений

Линия, фенотип ткани	Фаза развития			
	3-4 пара листьев	5-6 пара листьев	Бутонизация	Цветение
3629, зеленая	0,57±0,05	0,41±0,03	0,33±0,06	1,34±0,11
<i>en:chlorina-7</i> , желто-зеленая	0,33±0,04	0,77±0,34	0,37±0,04	0,87±0,05
<i>var-10</i> , зеленая	0,8±0,11	0,51±0,19	0,26±0,02	1,51±0,09
<i>var-10</i> , белая	2,14±0,28	2,86±0,51	2,33±0,33	3,78±0,47
<i>var-17</i> , белая	2,34±0,22	3,03±0,50	3,25±1,05	3,23±0,23
<i>var-29</i> , желтая	1,58±0,06	1,6±0,11	1,14±0,12	2,19±0,13
<i>var-33</i> , желтая	1,35±0,14	1,92±0,40	0,98±0,18	1,42±0,37

Еще более наглядно указанная закономерность проявляется у изученных форм подсолнечника при сравнении динамики β -глюкозидазы (табл. 3). Удельная активность водорастворимой β -глюкозидазы в мутантных тканях пестролистных форм *var-10*, *var-17*, *var-29* и *var-33* выше, чем в зеленых (3629, *var-10*) в 2-7 раза.

В хлоропластах подсолнечника нам удалось идентифицировать как β -галакто-, так и β -глюкозидазную активности. В связи с этим представлял особый интерес выявить зависимость между степенью хлорофильной недостаточности и уровнем активности β -гликозидаз, локализованных непосредственно в мутантных пластидах.

С этой целью были выделены фракции пластидных мембран контрольной линии 3629, нескольких пестролистных мутантов и желто-зеленого мутанта *en:chlorina-7*. Удельная активность мембран-связанных

β -гликозидаз и содержание хлорофилла в пластидах изучаемых линий приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Активность хлоропластных β -гликозидаз и содержание хлорофилла в листьях пластомных мутантов подсолнечника

Линия, фенотип ткани	Активность (мкМ/мин мг белка) $\times 10^{-3}$		Содержание хлорофилла (мг/г сухого веса)
	β -галактозидаза	β -глюкозидаза	
3629, зеленая	2,11 \pm 0,20	5,53 \pm 1,16	7,33 \pm 0,63
<i>en:chlorina-7</i> , желто-зеленая	2,29 \pm 0,22	6,24 \pm 0,84	5,54 \pm 0,46
<i>var-10</i> , зеленая	2,06 \pm 0,39	4,85 \pm 0,68	6,91 \pm 0,52
<i>var-10</i> , белая	5,81 \pm 1,16	15,15 \pm 1,58	0,15 \pm 0,06
<i>var-17</i> , белая	6,15 \pm 1,60	16,8 \pm 2,37	0,25 \pm 0,09
<i>var-29</i> , желтая	3,77 \pm 0,34	11,45 \pm 2,55	0,66 \pm 0,23
<i>var-33</i> , желтая	4,35 \pm 1,13	12,25 \pm 1,57	0,70 \pm 0,18

Аналогично ферментам из водорастворимой фракции мембраносвязанные β -гликозидазы пластид проявляют повышенную активность в мутантных тканях пестролистных линий по сравнению с контрольными значениями, причем уровень удельной активности β -гликозидаз коррелирует с уровнем содержания хлорофилла (табл. 4).

Таким образом, различные формы β -гликозидаз независимо от их локализации в клетке подчиняются общей закономерности: их активность резко возрастает в тканях, в которых наблюдается дефицит продуктов фотосинтеза. При этом в мутантных тканях происходит интенсификация автолитических процессов, проявляющихся в вакуолизации внутриклеточных структур, достигая своего крайнего выражения, когда вакуоль занимает все внутриклеточное пространство, а находящиеся в ней органеллы, подвергаются лизису. Вместе с тем, увеличение активности происходит лишь в том случае, когда нарушения внутренних структур пластид достаточно глубоки, как это имеет место в мутантных участках

пестролистных химер. Если же изменения в хлоропластах не столь глубоки как например у мутантов *chlorina*, то данный эффект не проявляется. По-видимому, существуют некоторые критические концентрации фотосинтетических продуктов, и в первую очередь, моносахаров, которые инициируют рост активности β -гликозидаз. В связи с тем, что данные ферменты, кодируются ядерными генами, представленные данные также указывают на существование обратной регуляторной связи между пластидами и ядром. Нарушения в генетическом материале пластид могут приводить к изменению экспрессии ядерных генов, в результате чего происходит существенное увеличение активности β -гликозидаз в самих мутантных органеллах.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-54-04075.

Литература

1. Белецкий Ю.Д. Искусственные мутации хлоропластов у высших растений / Ростов-на-Дону: «РГУ». 1989. 80 с.
2. Усатов А.В., Таран С.Ф., Гуськов Е.П. Зависимость пластидного мутагенеза, индуцированного N-нитрозо-N-метилмочевинной, от возраста прорастающих семян подсолнечника в момент обработки // Генетика. 1995. Т. 31. С. 222–227.
3. Усатов А.В., Разорителява Е.К., Машкина Е.В., Улитчева И.И. Спонтанные и индуцированные нитрозометилмочевинной реверсии пластомных хлорофильных мутантов подсолнечника *Helianthus annuus* // Генетика. 2004. Т. 40. С. 248-255.
4. Markin N., Usatov A., Logacheva M., Vasilenko V., Klimenko A., Kolokolova N., Bibov M., Getmantseva L. Variability of Chloroplast DNA of Extranuclear Sunflower Mutants // American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 2016. Vol. 12. № 1. P. 72-78.
5. Усатов А.В., Рассадина В.В., Аверина Н.Г., Лежнева Л.А., Дудко Ю.С., Машкина Е.В., Прихоженко Э.Я., Колоколова Н.С. Структурно - функциональные особенности мутантных пластид внеядерных пестролистных форм подсолнечника // Физиол. растений. 2004. Т. 51. № 2. С. 175-183.
6. Рассадина В.В., Усатов А.В., Федоренко Г.М., Аверина Н.Г. Активность системы биосинтеза хлорофилла и структурно-функциональная организация хлоропластов в пластомном мутанте подсолнечника *en:chlorina-5* // Физиол. растений. 2005. Т. 52. №5. С. 683-693.
7. Кесслер Р.М., Колоколова Н.С. β -Гликозидазы высших растений / Ростов-на-Дону: «РГУ». 1993. 144 с.

8. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall K. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. N 1. P. 256.
9. Турищева М.С., Таран С.Ф., Белецкий Ю.Д., Белкина Г.Г., Одинцова М.С. Структура и функции хлоропластов у жизнеспособных пластомных мутантов подсолнечника // Физиол. растений, 1987. Т. 34. № 6. С. 1097-1102.
10. Markwell M., Haas S., Bieber L., Tolbert N. A modification of the Lowry Procedure to Simplify Protein Determination in Membrane and Lipoprotein Samples // Anal. Biochem. 1978. V. 87. P. 206-210.
11. Арасимович В.В. Методы определения сахаров / Методы биохимического исследования растений. М.: «Колос». 1972. С. 141.
12. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений / М.: «Высшая школа». 1975. 392с.

References

1. Beleckij Ju.D. Iskusstvennye mutacii hloroplastov u vysshih rastenij / Rostov-na-Donu: «RGU». 1989. 80 s.
2. Usatov A.V., Taran S.F., Gus'kov E.P. Zavisimost' plastidnogo mutageneza, inducirovannogo N-nitrozo-N-metilmochevinoj, ot vozrasta prorstajushhih semjanok podsolnechnika v moment obrabotki // Genetika. 1995. T. 31. S. 222–227.
3. Usatov A.V., Razoriteleva E.K., Mashkina E.V., Ulitcheva I.I. Spontannye i inducirovannye nitrozometilmochevinoj reversii plastomnyh hlorofil'nyh mutantov podsolnechnika Helianthus annuus // Genetika. 2004. T. 40. S. 248-255.
4. Markin N., Usatov A., Logacheva M., Vasilenko V., Klimenko A., Kolokolova N., Bibov M., Getmantseva L. Variability of Chloroplast DNA of Extranuclear Sunflower Mutants // American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 2016. Vol. 12. № 1. P. 72-78.
5. Usatov A.V., Rassadina V.V., Averina N.G., Lezhneva L.A., Dudko Ju.S., Mashkina E.V., Prihozhenko Je.Ja., Kolokolova N.S. Strukturno - funkcional'nye osobennosti mutantnyh plastid vnejadernyh pestrolistnyh form podsolnechnika // Fiziol. rastenij. 2004. T. 51. № 2. S. 175-183.
6. Rassadina V.V., Usatov A.V., Fedorenko G.M., Averina N.G. Aktivnost' sistemy biosinteza hlorofilla i strukturno-funkcional'naja organizacija hloroplastov v plastomnom mutante podsolnechnika en:chlorina-5 // Fiziol. rastenij. 2005. T. 52. №5. S. 683-693.
7. Kessler R.M., Kolokolova N.S. β -Гликозидазы высших растений / Rostov-na-Donu: «RGU». 1993. 144 s.
8. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall K. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. N 1. P. 256.
9. Turishheva M.S., Taran S.F., Beleckij Ju.D., Belkina G.G., Odincova M.S. Структура i funkcii hloroplastov u zhiznesposobnyh plastomnyh mutantov podsolnechnika // Fiziol. rastenij, 1987. Т. 34. № 6. S. 1097-1102.
10. Markwell M., Haas S., Bieber L., Tolbert N. A modification of the Lowry Procedure to Simplify Protein Determination in Membrane and Lipoprotein Samples // Anal. Biochem. 1978. V. 87. P. 206-210.
11. Arasimovich V.V. Metody opredelenija saharov / Metody biohimicheskogo issledovaniya rastenij. М.: «Kolos». 1972. S. 141.
12. Gavrilenco V.F., Ladygina M.E., Handobina L.M. Bol'shoj praktikum po fiziologii rastenij / М.: «Vysshaja shkola». 1975. 392s.