

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н. И. Лобачевского»

На правах рукописи

ПЕЧЁРИНА АННА АЛЕКСАНДРОВНА

**Индукцируемые засолением дистанционные сигналы и их роль в изменении
активности фотосинтеза у картофеля**

1.5.2 – биофизика

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
зав. кафедрой биофизики ИББМ ННГУ
Воденеев Владимир Анатольевич

Нижний Новгород – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Влияние засоления на растения.....	11
1.1.1. Влияние засоления на рост, развитие и продуктивность растений	11
1.1.2. Влияние засоления на физиологические процессы	12
1.1.3. Временные особенности влияния засоления на фотосинтез.....	13
1.1.4. Изменение экспрессии генов	17
1.2. Осмотический, ионный и окислительный стресс, вызываемые засолением ...	19
1.2.1. Снижение водной проводимости.....	19
1.2.2. Ионный дисбаланс	21
1.2.3. Окислительный стресс при засолении	22
1.3. Сигналы, индуцируемые засолением.....	24
1.3.1. Сигналы, индуцированные при засолении, в корне	24
1.3.2. Распространяющиеся из корня в побег сигналы, зарегистрированные при засолении.....	29
1.3.3. Механизмы влияния распространяющихся сигналов на фотосинтез.....	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	36
2.1. Объекты исследования	36
2.2 Методы исследования.....	36
2.2.1. Генетическая трансформация растений картофеля.....	36
2.2.1.1. Условия культивирования <i>in vitro</i>	37
2.2.1.2. Агробактериальная трансформация картофеля	38
2.2.1.3. Молекулярно-генетический анализ для подтверждения вставки гена.....	39
2.2.1.4. CLSM для проверки трансформантов	41
2.2.2. Стимуляция.....	41
2.2.3. Измерение фотосинтетической активности	42
2.2.4. Измерение CWSI	43
2.2.5. Флуоресцентный имиджинг	43

2.2.5.1. Флуоресцентный имиджинг цитозольного pH	44
2.2.5.2. Флуоресцентный имиджинг цитозольного Ca^{2+}	45
2.2.5.3. Флуоресцентный имиджинг цитозольного H_2O_2	46
2.2.5.4. Флуоресцентный имиджинг Na^+	46
2.2.6. Ингибиторный анализ	47
2.2.7. Внеклеточная регистрация электрической активности	47
2.2.8. Регистрация изменения толщины стебля	48
2.2.9. Измерение концентрации Na^+ , K^+ и Cl^-	48
2.2.10. Статистический анализ	49
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	50
3.1. Получение и анализ свойств растений с ГКС	50
3.1.1. Характеристика растений с сенсором Pt-GFP	51
3.1.2. Характеристика растений с сенсором Case12	57
3.1.3. Характеристика растений с сенсором HyPer7	60
3.2. Изменение активности фотосинтеза, вызванное засолением	63
3.3. Роль ионного и осмотического компонентов засоления в изменении активности фотосинтеза	68
3.3.1. Роль накопления Na^+	68
3.3.2. Роль осмотического стресса в модуляции активности фотосинтеза	73
3.4. Индуцированная засолением регуляция фотосинтеза. Влияние распространяющихся из корня в побег сигналов	78
3.4.1. Индуцированные засолением дистанционные сигналы	78
3.4.2. Роль ионного и осмотического компонентов засоления в индукции различных сигналов	89
3.4.3. Влияние распространяющихся из корня в побег сигналов, вызванных засолением, на активность фотосинтеза	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	103
ВЫВОДЫ	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	106

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБК – абсцизовая кислота

АФК – активные формы кислорода

ГКС – генетически кодируемый сенсор

ИУК – индолилуксусная кислота

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РуБисКО – рибулозабисфосфаткарбоксилаза

Трис – трис(гидроксиметил)аминометан

ФСI – фотосистема I

ФСII – фотосистема II

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

Ca^{2+} – ионы кальция

CAS – хлоропластный сенсор Ca^{2+} (от англ. calcium-sensing receptor)

CIPK – CBL-взаимодействующая Ca^{2+} -зависимая протеинкиназа 11, 24 (от англ.

CBL (Calcineurin B-like protein)-interacting protein kinase)

Cl^- – ионы хлора

CLSM – конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (от англ. Confocal Laser Scanning Microscopy)

CWSI – индекс водного стресса растений (от англ. Crop Water Stress Index)

F_v/F_m – максимальный квантовый выход фотосистемы II

GLR – ионные каналы, подобные глутаматному рецептору (от англ. glutamate receptor-like ion channels)

GORK – K^+ -каналы наружного выпрямления (от англ. Gated outwardly-rectifying K^+ channel)

H_2O_2 – пероксид водорода

K^+ – ионы калия

MCA – белки Mid1-комплементарной активности (от англ. Mid1-Complementing Activity proteins)

Mg^{2+} – ионы магния

MS – среда Мурасиге и Скуга (от англ. Murashige and Skoog medium)

MSL – белки, подобные механочувствительным ионным каналам с малой проводимостью (от англ. small conductance mechanosensitive ion channel (MscS)-like proteins)

Na⁺ – ионы натрия

NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции (от англ. non-photochemical quenching)

NSCC – неселективный катионный канал (от англ. nonselective cation channel)

OSCA – управляемые пониженной гиперосмоляльностью Ca²⁺-проницаемые каналы (от англ. hyperosmolarity-gated calcium-permeable channel)

R – соотношение значений испускаемой флуоресценции ратиометрических флуоресцентных сенсоров, полученных при возбуждении светом с разными длинами волны (от англ. ratio)

RALF – пептид фактора быстрого подщелачивания (от англ. rapid alkalization factor)

RBOH – гомолог НАДФН-оксидазы окислительного взрыва (от англ. respiratory burst oxidase homolog)

SOS-путь – сигнальный путь повышенной чувствительности к соли (от англ. salt overly sensitive)

TPC – двухпоровые каналы (от англ. two-pore channel)

Φ_{PSII} – квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Засоление является одним из важнейших стрессовых абиотических воздействий для сельского хозяйства. Засоление вызывается как изменением климата, так и антропогенными причинами – главным образом, неправильным землепользованием и использованием солёных вод при недостатке пресной воды (Cheng et al., 2021; Gao et al., 2021; Mukhopadhyay et al., 2021). В результате, количество засоленных земель увеличивается с быстрой скоростью – до 1,5 млн га в год (Hossain, 2019). У культурных растений потеря урожайности при действии засоления может возрастать до 70% (Atta et al., 2023).

Засоление негативно влияет на морфологические параметры растения – уменьшается длина корней и нарушается их развитие (Saddiq et al., 2021; Bohle et al., 2024; Yun et al., 2024), снижается сырая (Abdel-Farid et al., 2020; Nefissi Ouertani et al., 2021; Khalilova et al., 2023) и сухая (Abdel-Farid et al., 2020; Saddiq et al., 2021) масса побега. Засоление приводит к ограничению водной проводимости (Lu, Fricke, 2023), подавлению активности фотосинтеза (Pan et al., 2021), падению синтеза углеводов и белков (Zörb et al., 2019), что приводит совместно с морфологическими нарушениями к снижению количества и качества урожая (Atta et al., 2023; Ahmed et al., 2024). Урожайность тесно связана с фотосинтетическими процессами (Zahra et al., 2022), поэтому изучению влияния засоления на фотосинтез уделяется много внимания (Chaves et al., 2009; Acosta-Motos et al., 2017; Wungrampha et al., 2018; Pan et al., 2021). Активность фотосинтеза подавляется во время засоления из-за ограничения устьичной проводимости (Hussain et al., 2021b) и токсичности накопленного Na^+ (Pan et al., 2021), приводящих к снижению активности ферментов цикла Кальвина-Бенсона (Aharon et al., 2003; Hussain et al., 2021b), подавлению системы защиты от избыточного освещения (Tsai et al., 2019; Zahra et al., 2022), падению содержания хлорофиллов (ElSayed et al., 2021) и ингибированию синтеза хлоропластных белков (Takahashi, Murata, 2005).

Засоление является комплексным стрессирующим воздействием, включающим ионный, осмотический и окислительный компоненты, причём

последний является следствием первых двух (Liang et al., 2018; Wang et al., 2022; Hualpa-Ramirez et al., 2024). Ионный компонент определяется как поступление в клетку Na^+ и Cl^- , а осмотический – как снижение этими ионами осмотического потенциала среды вне клетки; оба компонента активируют различные сигнальные системы в клетках и формируют исходящие из корня в побег сигналы, способные модулировать в побеге активность различных процессов (Pan et al., 2021).

У растений описаны дистанционные сигналы химической, электрической и гидравлической природы, которые могут активировать другие сигнальные системы внутри клетки и в системных тканях, как, например, Ca^{2+} -волны и АФК-волны (распространение повышения уровня активных форм кислорода) (Li et al., 2021). Экспериментально в ответ на засоление были зарегистрированы Ca^{2+} -волны (Choi et al., 2014; Graus et al., 2022; Allan et al., 2023), повышение уровня АФК (Monetti et al., 2014; Lim et al., 2019), изменение pH (Geilfus, Mühling, 2011; Geilfus, Mühling, 2014), увеличение концентрации сигнальных липидов (Darwish et al., 2009; Li et al., 2019), гидравлические сигналы (Kholodova et al., 2006; Katsuhara et al., 2011), изменение электрического потенциала (Bose et al., 2014; Graus et al., 2022). Однако подавляющее большинство работ выполнено на корнях или на культуре клеток, и недостаточно известно о сигналах, вызванных засолением, в побеге.

Влияние вызванных засолением дистанционных сигналов на активность фотосинтеза не исследовано, однако вызванные другими стимулами дистанционные сигналы могут изменять активность фотосинтеза (Sukhov, 2016; Szechyńska-Hebda et al., 2017; Sukhova et al., 2023). Кроме этого, исследования активности фотосинтеза проводят чаще всего спустя длительное время после начала засоления и связывают с ограничением устьичной проводимости, наступившим окислительным стрессом или изменением экспрессии генов (Kalaji et al., 2011; Mittal et al., 2012; Zhang et al., 2018). Ранние изменения активности фотосинтеза были исследованы в единичных работах, например, Martínez-Reñalver et al., 2012. Такие исследования раскрывают то, какие внутренние процессы могут влиять на ранние изменения активности фотосинтеза и может ли это влиять на чувствительность или формирование устойчивости к засолению у растения.

Изменение активности фотосинтеза и распространение сигналов при засолении практически не исследуется одновременно. Применение систем непрерывной регистрации флуоресценции хлорофилла для исследования активности фотосинтеза и использование растений с генетически кодируемыми флуоресцентными сенсорами для анализа сигнальных молекул с помощью систем флуоресцентного имиджинга могут помочь наиболее полно исследовать влияние распространяющихся из корня сигналов на активность фотосинтеза.

Цель и задачи исследования

Целью работы является анализ роли распространяющихся из корня в побег дистанционных сигналов в ранних изменениях активности фотосинтеза, вызванных засолением.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Создание растений картофеля с генетически кодируемыми флуоресцентными сенсорами, чувствительными к концентрации H^+ , Ca^{2+} и H_2O_2 ;
2. Изучение влияния засоления на динамику активности фотосинтеза;
3. Изучение роли накопления Na^+ и ограничения устьичной проводимости в изменении активности фотосинтеза;
4. Выявление сигналов в побеге, вызванных действием NaCl на корни;
5. Определение роли вызванных NaCl дистанционных сигналов в изменении активности фотосинтеза;
6. Выявление роли ионного и осмотического компонентов засоления в индукции распространяющейся в побег Ca^{2+} -волны.

Научная новизна

Для изучения изменения уровня pH, Ca^{2+} и H_2O_2 и впервые были созданы растения картофеля с генетически кодируемыми флуоресцентными сенсорами (ГКС) Pt-GFP, Case12 и HyPer7 соответственно. Впервые показано, что изменение активности фотосинтеза при обработке корней NaCl развивается в несколько фаз, наиболее ранняя из которых возникает через 10-20 минут после обработки. Показано, что индуцированный ионами Na^+ распространяющийся Ca^{2+} -сигнал играет важную роль в раннем снижении активности фотосинтеза.

Научно-практическая значимость

Полученные знания дополняют теоретические представления о механизмах изменения активности фотосинтеза на ранних стадиях засоления. Также полученные знания и исследованные подходы могут быть применены в отборе и создании устойчивых к засолению растений. Основные выводы и результаты работы могут быть использованы в учебном процессе в рамках курсов для студентов, обучающихся по биологическим специальностям.

Основные положения, выносимые на защиту

Обработка корней NaCl вызывает снижение активности фотосинтеза, развивающееся в три последовательные фазы. Первая фаза снижения активности фотосинтеза предшествует накоплению Na^+ в листе и снижению устьичной проводимости и вызывается исходящим из корня в побег Ca^{2+} -сигналом, который индуцируется в корне, главным образом, ионным компонентом засоления.

Личный вклад автора

Автор лично участвовал в планировании и проведении экспериментальных исследований, обработке полученных данных, анализе и обсуждении результатов, публикации полученных результатов в виде статей в научных журналах и представлении результатов исследований на научных конференциях.

Достоверность научных результатов

Достоверность научных результатов подтверждается их воспроизводимостью, обусловлена надёжностью применяемых экспериментальных методов исследования, а также согласованностью полученных данных с результатами исследований других авторов.

Апробация работы

Основные результаты работы представлялись на международных и всероссийских мероприятиях: Всероссийская конференция «Современные проблемы фотобиологии и биофотоники» (Нижний Новгород, 2024), International Conference on Plant Biology and Biotechnology (Казахстан, Алматы, 2024), Всероссийская школа-конференция молодых учёных «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2024, 2023, 2022, 2021, 2020, 2019,

2018), IV Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная 45-летию кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики ИГУ (Иркутск, 2023), Всероссийская научная конференция «Биология растений в эпоху глобальных изменений климата» (Уфа, 2023), Всероссийская научная конференция «Физиология растений и феномика как основа современных фитобиотехнологий» (Нижний Новгород, 2022), PLAMIC2022 (Санкт-Петербург, 2022), Пущинская школа-конференция молодых учёных с международным участием "Биология - наука XXI века" (Пущино, 2022, 2019), Всероссийская научная конференция "Экспериментальная биология растений и биотехнология: история и взгляд в будущее" (Москва, 2021), V российский симпозиум «Клеточная сигнализация: итоги и перспективы» (Казань, 2021), IV международная научная конференция "Наука будущего" (Москва, 2021), XXXI зимняя молодежная научная школа "Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии" (Москва, 2019), Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2018» (Москва, 2018).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 19 работ, включая 3 статьи в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), входящих в список ВАК.

Структура и объём диссертации

Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы. Объём составляет 156 страниц машинописного текста, иллюстрированного 34 рисунками и содержащего 3 таблицы. Список литературы включает 479 источника, в том числе 473 работ на иностранном языке.

Благодарности

Диссертационное исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-14-00388-П.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Влияние засоления на растения

1.1.1. Влияние засоления на рост, развитие и продуктивность растений

Засоление вызывает ионный, осмотический и окислительный стресс (Liang et al., 2018; Wang et al., 2022; Hualpa-Ramirez et al., 2024). Ионный стресс засоления проявляется в ионном дисбалансе, когда концентрация Na^+ увеличивается, а концентрация K^+ уменьшается, что сказывается на протекании различных процессов в растении (Isayenkov, Maathuis, 2019). Осмотический стресс засоления вызывается изменением осмолярности в среде вне корневой системы, которое создаётся избытком ионов Na^+ и Cl^- снаружи клеток, и является причиной водного стресса растений и закрытия устьиц (Yang, Guo, 2018; Pan et al., 2021; Zhou et al., 2024). Окислительный стресс – это следствие проявления ионного и осмотического воздействия засоления, при котором происходит накопление активных форм кислорода, которые также влияют на протекание различных процессов (Adem et al., 2014; Hasanuzzaman et al., 2021).

Засоление вызывает снижение роста и угнетение развития растения. Засоление препятствует развитию и росту корневых волосков, что рассматривается как адаптационная реакция, направленная на уменьшение площади поверхности, подверженной воздействию соли (Yun et al., 2024). У различных растений снижается сухой вес: кукурузы (Ben-Gal et al., 2008), ячменя (Nefissi Ouertani et al., 2021), томата (Abdel-Farid et al., 2020), пшеницы (Saddiq et al., 2021). Также уменьшается свежая масса листьев и корней, например, у ячменя (Nefissi Ouertani et al., 2021), томата (Abdel-Farid et al., 2020). Уменьшается длина листьев и корней (Nefissi Ouertani et al., 2021; Saddiq et al., 2021; Bohle et al., 2024).

Засоление у плодовых культур сказывается на качестве и количестве семян (Ahmed, Bot, 2009), снижает сухой вес у семян (Chen et al., 2010), снижает массу плодов, долю сухого вещества и содержание воды (Meza et al., 2020; Suarez et al., 2021; Kiferle et al., 2022; Li et al., 2023), снижает количество плодов (Meza et al., 2020; Ntanasi et al., 2024). У зерновых культур засоление снижает не только массу зерна (Abbas et al., 2013; Ahmed Kalhor et al., 2016; Mutlag, Mohammed, 2022), но

и количество зерна в метёлке и его прорастание (Zheng et al., 2021; Liu et al., 2022b; Mutlag, Mohammed, 2022; Zheng et al., 2023). Засоление значительно снижает содержание жиров, белков и клетчатки в зерне (Abbas et al., 2013) и амилозы и амилопектина в клубнях картофеля (Wang et al., 2023). Засоление, сопряженное с недостатком влаги, приводит к снижению урожайности листовых культур (Kurunc, 2021; Sharavdorj et al., 2024), однако на фоне недостатка полива слабое или умеренное засоление может повысить их урожайность, как, например, у шпината (Ors, Suarez, 2017).

В результате воздействия среднего уровня засоления происходит падение урожайности у пшеницы до 35% (Satir, Berberoglu, 2016; Sen et al., 2022), у сои до 40% (Hasanuzzaman et al., 2022), у картофеля до 50% (Chourasia et al., 2021), у кукурузы до 55% (Satir, Berberoglu, 2016; Cucci et al., 2019) и у риса до 66% (Zheng et al., 2023). Это объясняется тем, что подавляющая часть культурных растений, в том числе указанные выше, относятся к группе солечувствительных растений, или гликофитам, и они могут расти на почвах с максимальным уровнем засоления 300 мМ NaCl (Shannon, Grieve, 1998; Munns, Tester, 2008).

1.1.2. Влияние засоления на физиологические процессы

Большое влияние на вызванное засолением снижение продуктивности растения оказывают физиологические процессы, в основном, фотосинтез и регуляция открытия устьиц.

Урожайность тесно связана с фотосинтезом, который страдает во время засоления (Zahra et al., 2022). Долговременное снижение активности фотосинтеза происходит из-за снижения поступления CO_2 в следствие закрытия устьиц, индуцируемых засолением сигналов, снижения поступления воды или увеличения синтеза абсцизовой кислоты (АБК), так и из-за непосредственного действия Na^+ и Cl^- в листьях (Zörb et al., 2019; Pan et al., 2021; Quamruzzaman et al., 2021).

Засоление может приводить к закрытию устьиц и снижению газообмена, что снижает активность фотосинтеза. Такие причины снижения активности фотосинтеза называют устьичными ограничениями (Pan et al., 2021). Снижение

поступления CO_2 через устьяца снижает активность ферментов цикла Кальвина-Бенсона и увеличивает деградацию субъединиц рибулозобисфосфаткарбоксилазы (РуБисКО) (Aharon et al., 2003; Hussain et al., 2021b). Это приводит к ингибированию синтеза белков хлоропласта и подавлению светозависимых реакций (Takahashi, Murata, 2005). Общее действие снижения поступления CO_2 и нарушение ионного баланса, что называют неустычными ограничениями фотосинтеза, в листе приводит к ограничению потока электронов от фотосистемы II (ФСII) к фотосистеме I (ФСI), препятствию циклическому транспорту электронов вокруг ФСI и цитохрома *b6f*, нарушающему систему защиты от избыточного освещения, повреждению каротиноидов, снижению синтеза белка D1, увеличению нефотохимического тушения (NPQ). Ингибирование цепи переноса электронов приводит к псевдоциклическому транспорту электронов, что способствует избыточному накоплению АФК (Murata et al., 2007; Stepien, Johnson, 2009; Amirjani, 2010; Wang et al., 2011; Percey et al., 2016; Poór et al., 2019; Tsai et al., 2019; Zahra et al., 2022). Снижается как общее содержание хлорофилла (Ma et al., 2017; ElSayed et al., 2021), так и содержание хлорофилла *a* и *b* отдельно, что может происходить в первые часы засоления (Martínez-Peñalver et al., 2012; Mittal et al., 2012), при этом уровень остается стабильно низким до 45-90 дней воздействия засоления (Parvaiz Ahmad et al., 2012; Alharbi et al., 2022). Содержание каротиноидов может как повышаться (Cerqueira et al., 2019; Tammam et al., 2023), так и понижаться (Amirjani, 2010; Martínez-Peñalver et al., 2012; Mittal et al., 2012; Hannachi et al., 2022).

Предполагают, что неустычные ограничения фотосинтеза преобладают над устычными в условиях сильного и продолжительного засоления из-за клеточной дегидратации, ингибирующей синтез белка (Qin et al., 2010; Gandonou et al., 2018).

1.1.3. Временные особенности влияния засоления на фотосинтез

Фотосинтез может страдать как до закрытия устьиц, так и вследствие этого (Martínez-Peñalver et al., 2012; Hannachi et al., 2022). Существуют различные параметры, которые могут охарактеризовать протекание фотосинтетических реакций.

Основными составляющими, характеризующими нормальное протекание фотосинтеза, можно считать работу ФСІ и ФСІІ, которая может быть охарактеризована с помощью параметров флуоресценции хлорофилла, отражающих активность светозависимых реакций, ассимиляцию CO_2 и работу устьичного аппарата. ФСІІ, работу которой можно описать с помощью параметров максимальной эффективности ФСІІ (F_v/F_m), эффективного квантового выхода ФСІІ (Φ_{PSII}) и NPQ (Murchie, Lawson, 2013), является чувствительной к засолению структурой. Φ_{PSII} снижается через часы засоления (Martínez-Peñalver et al., 2012; Mittal et al., 2012) и остается стабильно низким долгое время наблюдения (Mittal et al., 2012; Yan et al., 2015). Например, у *Arabidopsis thaliana* фиксировали его снижение через 2 часа засоления (Martínez-Peñalver et al., 2012). NPQ, напротив, повышается и остается высоким все время воздействия засоления (Wu et al., 2012; Yan et al., 2015), и NPQ может изменяться даже раньше Φ_{PSII} (Martínez-Peñalver et al., 2012). F_v/F_m , отражающий целостность ФСІІ, изменяется позднее (Kalaji et al., 2011; Sarabi et al., 2019). У *Lonicera japonica* он начинает снижаться после 7 дней засоления (Yan et al., 2015), а у *Portulaca oleracea* – через 12 дней (Hnilickova et al., 2021). К сожалению, малое количество работ сконцентрировано на описании ранних изменений этих параметров (рис. 1.1).

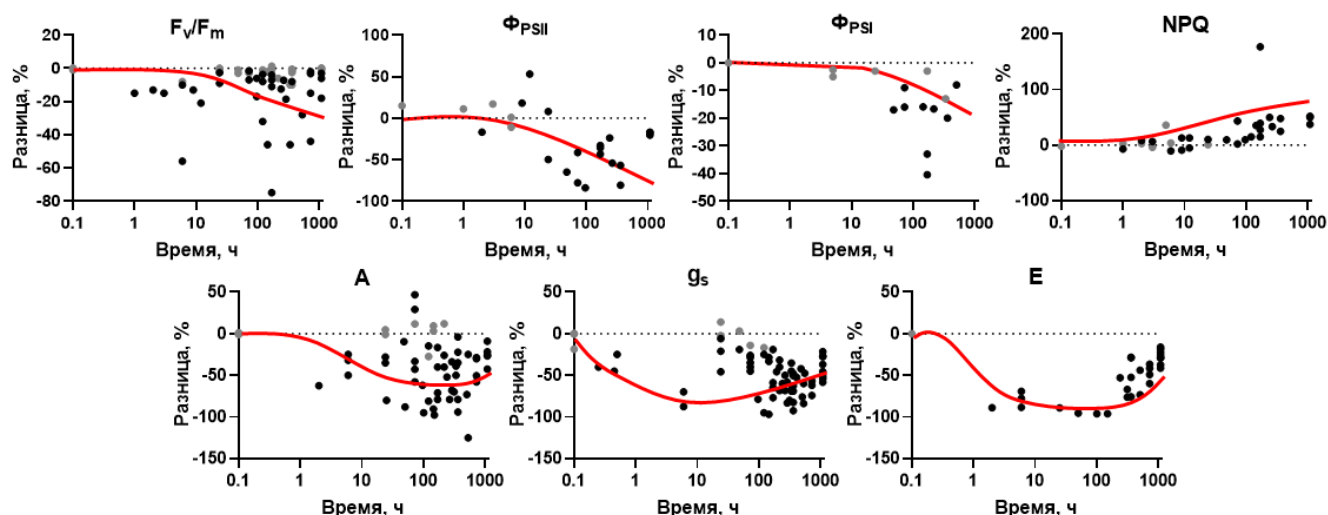


Рисунок 1.1. Изменение в % параметров флуоресценции хлорофилла (F_v/F_m , Φ_{PSII} , NPQ, Φ_{PSI}) и параметров газообмена и ассимиляции CO_2 (A, g_s и E) по сравнению с контролем при обработке растений, относящимся к гликофитам и солечувствительным сортам, 80-350 мМ NaCl (концентрации соответствуют умеренному и тяжелому уровням засоления почвы (Zörb et al., 2019)). Черный цвет

– статистически значимые изменения, серый цвет – изменения без статистической значимости. Графики построены на основе данных из статей:

F_v/F_m – Amirjani, 2010; Kalaji et al., 2011; Martínez-Peñalver et al., 2012; Parvaiz Ahmad et al., 2012; Wu et al., 2012; Yan et al., 2012; Sarkar et al., 2013; Vivek et al., 2013; Yan et al., 2015; Gao et al., 2016; Sun et al., 2016; Çiçek et al., 2018; Zhang et al., 2018; Cerqueira et al., 2019; Poór et al., 2019; Sarabi et al., 2019; Awlia et al., 2021; Bai et al., 2021; Hnilickova et al., 2021; Tammam et al., 2023.

Φ_{PSII} – Martínez-Peñalver et al., 2012; Mittal et al., 2012; Parvaiz Ahmad et al., 2012; Wu et al., 2012; Yan et al., 2015; Cerqueira et al., 2019; Poór et al., 2019; Falouti et al., 2022; Liu et al., 2023b.

NPQ – Backhausen et al., 2005; Martínez-Peñalver et al., 2012; Parvaiz Ahmad et al., 2012; Wu et al., 2012; Yan et al., 2015; Wicwarz et al., 2018; Zhang et al., 2018; Cerqueira et al., 2019; Awlia et al., 2021.

Φ_{PSI} – Szopkó et al., 2017; Wicwarz et al., 2018; Cerqueira et al., 2019; Poór et al., 2019; Nosek et al., 2021; Falouti et al., 2022; Chen et al., 2023.

A – Backhausen et al., 2005; Kalaji et al., 2011; Parvaiz Ahmad et al., 2012; Yan et al., 2012; Wu et al., 2012; Vivek et al., 2013; Sarkar et al., 2013; Yan et al., 2015; Gao et al., 2016; Sun et al., 2016; Gandonou et al., 2018; Zhang et al., 2018; Poór et al., 2019; Sarabi et al., 2019; Bai et al., 2021; Hnilickova et al., 2021; Hannachi et al., 2022; Zarbakhsh, Shahsavari, 2023.

g_s – Praxedes et al., 2010; Kalaji et al., 2011; Pandolfi et al., 2012; Parvaiz Ahmad et al., 2012; Wu et al., 2012; Yan et al., 2012; Yan et al., 2015; Gao et al., 2016; Sun et al., 2016; Redwan et al., 2017; Gandonou et al., 2018; Zhang et al., 2018; Cerqueira et al., 2019; Poór et al., 2019; Sarabi et al., 2019; Bai et al., 2021; Hnilickova et al., 2021; Hannachi et al., 2022; Zarbakhsh, Shahsavari, 2023.

E – Backhausen et al., 2005; Parvaiz Ahmad et al., 2012; Wu et al., 2012; Vivek et al., 2013; Poór et al., 2019; Sarabi et al., 2019; Bai et al., 2021; Hannachi et al., 2022; Zarbakhsh, Shahsavari, 2023.

Изменение работы ФСІ во время засоления описано меньше (рис. 1.1), по сравнению с ФСІІ. Однако по имеющимся данным можно судить, что эффективный квантовый выход ФСІ (Φ_{PSI}), с помощью которого можно охарактеризовать работу ФСІ, менее чувствителен к засолению, чем аналогичные для ФСІІ параметры – NPQ и Φ_{PSII} (Wicwarz et al., 2018; Poór et al., 2019; Falouti et al., 2022).

Засоление также может влиять на протекание газообмена и ассимиляцию CO_2 , что может негативно сказываться на протекании светозависимых реакций фотосинтеза. Ассимиляция CO_2 – это карбоксилирование рибулозо-1,5-бисфосфата, которое катализируется РуБисКО (Hikosaka, Tsujimoto, 2021). Протекание этого процесса может описать скорость ассимиляции CO_2 (A).

Скорость ассимиляции CO_2 , измеряемая как поглощение/обмен CO_2 (Hikosaka, Tsujimoto, 2021), снижается в первые часы засоления (Backhausen et al., 2005; Poór et al., 2019) и остается низкой все время наблюдения (Hannachi et al., 2022; Zarbakhsh, Shahsavar, 2023) (рис. 1.1). Работу устьиц можно описать с помощью параметров скорости транспирации (E) и устьичной проводимости (g_s) (Hikosaka, Tsujimoto, 2021). Скорость транспирации, то есть испарения воды с поверхности растения (Nilson, Assmann, 2007), может снижаться уже в первые часы засоления (Backhausen et al., 2005; Poór et al., 2019), хотя чаще всего её снижение регистрируют через несколько дней засоления (Wu et al., 2012; Vivek et al., 2013; Sarabi et al., 2019; Bai et al., 2021) (рис. 1.1). Устьичная проводимость оценивает скорость газообмена (т.е. поглощения CO_2) и транспирации (т.е. потери воды) через устьица листа, которая определяется степенью раскрытия устьиц (Lawson, Blatt, 2014). Разные авторы отмечают снижение g_s как в первые десятки минут и часы (Redwan et al., 2017; Poór et al., 2019), так и через несколько дней засоления (Gao et al., 2016; Cerqueira et al., 2019; Hnilickova et al., 2021) (рис. 1.1).

Кроме этих параметров также снижается проводимость мезофилла, обычно через несколько дней от начала засоления (Yan et al., 2012; Zhang et al., 2018; Cerqueira et al., 2019; Hnilickova et al., 2021; Zarbakhsh, Shahsavar, 2023), а также эффективность использования воды, повышение (Backhausen et al., 2005; Wu et al., 2012; Zhang et al., 2018; Sarabi et al., 2019) или понижение (Yan et al., 2012; Sun et al., 2016), которые также обычно регистрируют через несколько дней.

Накопление Na^+ в листьях дополнительно сказывается на транспирации и фотосинтезе, и так проявляется ионная компонента засоления (Ellouzi et al., 2014; Ran et al., 2022). Увеличивается синтез АФК и пролина, однако также и увеличивается активность антиоксидантных систем (Hnilickova et al., 2021; Kiferle et al., 2022). Количество сахаров увеличивается, что может быть связано с осмотической регулировкой при засолении (Gao et al., 2016; Hannachi et al., 2022; Tammam et al., 2023; Zarbakhsh, Shahsavar, 2023), но также может снижаться как, например, у риса, что может быть связано со снижением активности фотосинтеза (Amirjani, 2010; Poór et al., 2019).

1.1.4. Изменение экспрессии генов

При воздействии засоления активируется множество генов, включая ионные каналы, рецепторы, сигнальные молекулы и гены, участвующие в производстве совместимых растворенных веществ (Reddy et al., 2011).

Главным образом, изменяется экспрессия генов, ответственных за адаптацию растения к условиям засоления. Повышается уровень экспрессии генов Na^+/H^+ -антипортеров и в целом сигнального пути повышенной чувствительности к соли (SOS-пути); это событие необходимо растению для борьбы с избытком Na^+ в тканях (Rolly et al., 2020; Du et al., 2021; Sheikh-Mohamadi et al., 2022). Увеличивается экспрессия генов, связанных со стрессом: обильного белка позднего эмбриогенеза LEA15, фактора теплового шока HSF30, липоксигеназы LOXA и дегидрина TAS14 (Hoffmann et al., 2021). Но также могут активироваться гены, участвующие в реакции на другие стрессы, такие как атака патогенов или старение, а также в обмене белков (Legay et al., 2009). Увеличивается экспрессия генов, участвующих в хелатировании и хранении металлов (Heydarian et al., 2018). Повышается активность генов, участвующих во вторичном метаболизме и связанных с синтезом клеточной стенки и фенилпропаноидного пути (Heydarian et al., 2018; Hoffmann et al., 2021). Засоление усиливает активацию транскрипционных факторов, в том числе АБК-зависимых и АБК-опосредуемых. В обзоре Hussain et al., 2021a перечислены эти транскрипционные факторы; причем они вовлечены в регуляцию содержания хлорофилла и синтеза и ликвидации АФК и синтеза пролина, посредством чего у растения формируется устойчивость к засолению. Засоление вызывает изменение экспрессии генов антиоксидантных ферментов и транскрипционных факторов, модулирующих антиоксидантный ответ (Rolly et al., 2020; ElSayed et al., 2021; Che et al., 2022; Tang et al., 2023). Повышается экспрессия двух генов протеинфосфатазы 2С, которые экспрессируются в листьях и корнях, они могут обуславливать устойчивость к засолению (Wu et al., 2023).

Засоление приводит к снижению транскриптов, кодирующих белки, принадлежащие к ФСІ и ФСІІ, и синтез хлорофилла (Legay et al., 2009), а также снижается уровень транскрипции генов RbcL и RbcS, кодирующих РубисКО

(ElSayed et al., 2021). Экспрессия генов белков антенного комплекса регулируется длинными некодирующими РНК, в результате чего происходит настройка устойчивости к засолению (Zhao et al., 2024). Засоление затрагивает и гены, связанные с водным обменом: увеличивается экспрессия генов аквапоринов подсемейства внутренних белков плазматической мембраны (PIP) PIP1 и 2 (Nicolas-Espinosa et al., 2024).

Засоление изменяет экспрессию генов, ответственных за синтез фитогормонов – как тех, что связывают с реакцией на стресс, так и связанных с ростом и развитием. Так в условиях солевого стресса экспрессия генов ACS3 и ACS1 повышается, что указывает на увеличение выработки этилена. Аналогичным образом, гены, передающие сигналы об этилене, EIN2 и EIL1, демонстрировали повышенную экспрессию в условиях засоления (Zarei et al., 2024). Увеличивается экспрессия генов липоксиогеназы LOX, алленоксидсинтазы AOS, 12-оксофитодиенатредуктазы OPR3, коронатин-нечувствительного протеина COI1 и дефензина PDF1.2, которые связаны с биосинтезом жасмоновых кислот и с передачей сигналов с помощью них (Zhang et al., 2017). Засоление приводит к активации генов биосинтеза ауксина и увеличению экспрессии нитриламиногидролазы NIT2, которая гидролизует индол-3-ацетонитрил в индолилуксусную кислоту (ИУК) (Cackett et al., 2022). Также засоление активирует фактор транскрипции SOMBRERO в корневом чехлике, который необходим для базальной экспрессии мембранного транспортёра ауксина AUX1 на латеральной стороне корневого чехлика, что способствует корневому галотропизму (Zheng et al., 2024). Кроме генов синтеза ауксина также гены синтеза других важных для роста и развития гормонов активируются, например, цитокининов (Keshishian et al., 2018). Засоление подавляет транскрипцию рецептора, устойчивого к пиробактину/подобного резистентности к пиробактину PYR/PYL, вышестоящего регулятора сигнального пути АБК, что предотвращает нисходящую передачу сигнала АБК (Che et al., 2022).

Засоление способствует изменению метилирования нуклеиновых кислот и вспомогательных белков, что сказывается на экспрессии генов. Так оно

увеличивает уровень метилирования экзонов и способствует деметилированию некоторых коровых гистонов, что негативно сказывается на экспрессии генов (Bilichak et al., 2012). При засолении экспрессия генов протеиновых фосфатаз 2С ABI1 и ABI2, которые связаны с сигнальным путем АБК, тонко настраивается эпигенетическими механизмами регуляции, включающими ацетилирование гистонов (Kim et al., 2015). Метилирование мРНК, в частности аденозина, способствует большей стабильности мРНК и увеличению устойчивости растений к засолению (Hu et al., 2021).

1.2. Осмотический, ионный и окислительный стресс, вызываемые засолением

Перечисленные выше последствия засоления происходят из действия его ионного, осмотического и окислительного компонентов (Wang et al., 2022). Ионный компонент проявляется в непосредственном действии Na^+ и Cl^- на организм растения, и одно из главных последствий их накопления – нарушение ионного баланса (Lindberg, Premkumar, 2024). Осмотический компонент проявляется в изменении осмолярности среды вне корня, что приводит к снижению водной проводимости (Munns et al., 2020). Окислительный компонент проявляется в накоплении АФК, активируемом ионным и окислительным компонентами, и в изменении работы антиоксидантной системы (Hasanuzzaman et al., 2021). Все три компонента засоления могут оказывать влияние на экспрессию генов (Umezawa et al., 2002; Du et al., 2021; Sheikh-Mohamadi et al., 2022). Ниже представлены основные проявления этих событий.

1.2.1. Снижение водной проводимости

Засоление вызывает снижение водной проводимости у растений. Это происходит, в первую очередь, за счет создаваемого ионами Na^+ и Cl^- снижения осмолярности снаружи клеток корня, и таким образом происходит снижение водного потенциала корневой системы (Ellouzi et al., 2014; Rostampour et al., 2023) и снижение гидравлической проводимости корней (Boursiac et al., 2005; Sutka et al.,

2011; Calvo-Polanco et al., 2014; Kaneko et al., 2015). Вследствие этого снижается поступление воды в корни и из корней в побеги (Lu, Fricke, 2023).

Осмотическое воздействие засоления проявляется в снижении гидравлической проводимости корня и побега, что вызывается ингибированием аквапоринов (Boursiac et al., 2005; Horie et al., 2011; Domec et al., 2021). NaCl снижает фосфорилирование аквапоринов, например, остатка серина Ser283 аквапорина AtPIP2;1, который необходим для направления AtPIP2;1 к плазматической мембране (Prak et al., 2008). Также осмотический стресс может привести к перераспределению поступления воды: интенсивность трансцеллюлярного и симпластного транспорта воды в корнях снижается при, предположительно, параллельном увеличении апопластного транспорта в корнях (Suslov et al., 2024).

Засоление изменяет осмотический и водный потенциал листьев, скорость транспирации и относительное содержание воды в листьях (Amirjani, 2010; Ellouzi et al., 2014; Hnilickova et al., 2021). Снижение водного потенциала листьев и снижение относительного содержания воды в листьях приводит к потере тургора (Redwan et al., 2017), что, в свою очередь, приводит к закрытию устьиц и ограничению усвоения CO₂ и снижению скорости фотосинтеза. Растения реагируют посредством осмотической регуляции, обычно путем увеличения концентраций Na⁺ и Cl⁻ в своих тканях, хотя такое накопление неорганических ионов может вызвать дальнейшее снижение проводимости устьиц, серьезные токсические эффекты и повреждение клеток, а также инактивировать как фотосинтетический, так и дыхательный перенос электронов (James et al., 2002; Moradi, Ismail, 2007; Amirjani, 2010; Quamruzzaman et al., 2021).

Засоление сказывается на водном обмене не только как на физиологическом процессе, но оно также изменяет анатомические структуры, которые поддерживают его нормальное протекание. Например, у сорго засоление приводило к изменению гидравлической структуры листьев: более узкие клетки протоксилемы и метаксилемы, чем в контроле, уменьшение ширины листа и площади поперечного сечения, уменьшение количества жилок, участвующих в

переносе воды. При этом значения скорости осаждения воды тесно связаны с размером элементов протоксилемы (Baum et al., 2000). У ячменя снижение гидравлической проводимости при засолении важно для закрытия устьиц, снижение скорости транспирации благоприятно влияет на солеустойчивость, и происходит подавление экспрессии аквапоринов, что способствует снижению гидравлической проводимости всего растения (Vysotskaya et al., 2010). Однако у брокколи количество аквапоринов PIP1 и 2 на плазмалемме повышается при одновременном снижении проводимости устьиц (Nicolas-Espinosa et al., 2024). Долговременное влияние засоления на растение приводит к снижению транспирации не только из-за закрытия устьиц, но и из-за снижения их количества (Romero-Aranda et al., 2001) и уменьшения длины и ширины пары замыкающих клеток (Sun et al., 2016).

1.2.2. Ионный дисбаланс

Засоление приводит к накоплению Na^+ и Cl^- у различных растений (Romero-Aranda et al., 2001; Hnilíčková et al., 2019), а также к утечке K^+ . Накопление Na^+ в листьях у различных культур в среднем начиналось через 24 часа от начала засоления (Ellouzi et al., 2014; Peng et al., 2016; Ruwanpathirana et al., 2021).

Засоление, вызванное высокими концентрациями NaCl , может снижать рост за счет одновременного накопления высоких концентраций Na^+ и Cl^- , но действие этих двух ионов может различаться. Высокое содержание Na^+ препятствует усвоению K^+ и Ca^{2+} и нарушает эффективную регуляцию устьиц, что приводит к подавлению фотосинтеза и роста (Tavakkoli et al., 2010; Pan et al., 2021). Na^+ ингибирует белок D1, белок кислород-выделяющего комплекса (OEC1), субъединицы АТФ-синтазы, RuБисКО и фруктозо-1,6-бисфосфатазу (Yang et al., 2008; Kang et al., 2012; Pan et al., 2021). В нормальных условиях Cl^- участвует в регуляции многих процессов, включая фотосинтез, и доказательства его токсичности мало изучены; однако Cl^- вызывает деградацию хлорофилла и снижает активность фотосинтеза (Tavakkoli et al., 2010; Geilfus, 2018; Wang et al., 2020). Водный потенциал и осмотический потенциал побегов становится более

отрицательными с увеличением засоления, что связано с накоплением Na^+ и Cl^- в листьях (Gulzar et al., 2003).

Снижение K^+ в цитозоле влияет на работу множества ферментов, управляемых K^+ и участвующих в первичном метаболизме, цикле Кальвина-Бенсона, фенилпропаноидном пути, гликолизе и синтезе полиаминов и крахмала, также влияющих на фотосинтез (Zhao et al., 2020; Gupta et al., 2021;). Недостаток K^+ способствует ослаблению фиксации CO_2 в цикле Кальвина-Бенсона и увеличению продукции АФК (Wang et al., 2013a; Tighe-Neira et al., 2018; Zhao et al., 2020; Gupta et al., 2021). Ингибирование цепи переноса электронов, вызванное снижением скорости утилизации CO_2 , приводит к активации псевдоциклического переноса электронов, что способствует избыточному накоплению АФК и дальнейшему повреждению фотосинтетического аппарата (Stepien, Johnson, 2009; Percey et al., 2016; Zahra et al., 2022).

Засоление, вызванное избытком Na^+ и Cl^- , способствует накоплению других ионов. Так у брокколи в листьях накапливается не только Na^+ , но и медь и цинк (Nicolas-Espinosa et al., 2024). У ячменя и тритикале значительно увеличилась концентрация Mg^{2+} , что потенциально может быть связано с активацией генов, связанных с переносчиками Mg^{2+} в условиях засоления, а также железа и цинка (Rasouli et al., 2024).

1.2.3. Окислительный стресс при засолении

АФК, уровень которых усиливается при засолении, оказывают большее влияние на протекание различных физиологических процессов (Hossain, Dietz, 2016).

Клеточный метаболизм генерирует АФК с низкой скоростью в качестве обычного побочного продукта. Увеличение уровня АФК может привести к метаболическим нарушениям, повреждению клеток и преждевременному старению или некрозу. Чрезмерно накапливающиеся АФК могут реагировать с нуклеиновыми кислотами, белками, липидами и хлорофиллами. К основным АФК относятся нерадикальные молекулы, такие как синглетный кислород ($^1\text{O}_2$) и H_2O_2 ,

а также свободные радикалы, такие как супероксид ($O_2^{\bullet-}$) и гидроксильные радикалы ($\bullet OH$). Они продуцируются различными ферментами: гомологами НАДФН-оксидазы окислительного взрыва (RBOH), митохондриальной альтернативной оксидазой и пластидной терминальной оксидазой (Hossain, Dietz, 2016; Hasanuzzaman et al., 2021).

При изменении энергетического метаболизма усиление окислительного стресса приводит к большему накоплению АФК в растениях, что усиливает активность и синтез различных АФК-поглощающих ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы), ферментов аскорбат-глутатионового цикла (дегидроаскорбатредуктазы, монодегидроаскорбатредуктазы), глутатион-S-трансферазы, монооксигеназы цитохрома P450 и некоторых других белков, которые участвуют в поддержании уровня окислительно-восстановительного статуса белковой дисульфидизомеразы на оптимальном уровне (Hussain et al., 2021b). Активность антиоксидантных ферментов как правило повышается не сразу, а постепенно, и через несколько недель достигают максимума (Parvaiz Ahmad et al., 2012; Gao et al., 2015; ElSayed et al., 2021). Концентрация АФК у устойчивых и чувствительных растений отличается. Меньшее содержание АФК у устойчивых к засолению растений может быть объяснено изначально более активными ферментами системы ликвидации АФК (Esfandiari, Gohari, 2017). В то же время уменьшение количества изоформ RBOH, продуцирующих АФК, может быть потенциально связано с эволюцией толерантности растений к засолению. Кроме этого, у галофитов появились дополнительные целевые сайты фосфорилирования на N-концах RBOH, что потенциально модулирует активность ферментов и позволяет лучше контролировать их функцию, что приводит к более эффективной передаче сигналов АФК и адаптации к засолению (Liu et al., 2020).

Засоление вызывает снижение эффективности использования энергии при фотосинтезе (Zahra et al., 2022) и усиление фотодыхания (Kangasjarvi et al., 2012). В результате фотохимических реакций фотосинтеза образуются восстановительные эквиваленты (НАДФН), большинство которых используется в

цикле Кальвина-Бенсона. Однако при засолении происходит ингибирование ферментов цикла Кальвина-Бенсона, в результате чего накопленные восстановительные эквиваленты могут привести к перепроизводству АФК, которые вызывают фотоингибирование в ФСІ и ФСІІ, то есть зависящее от света снижение квантового выхода фотосинтеза из-за фотоокислительного повреждения белка D1 (Chaves et al., 2009; Goh et al., 2011; Cerqueira et al., 2019). Вероятно, за деактивацию H_2O_2 , влияющего на фотосинтез, отвечают митохондриальные глутатионпероксидазы (Lima-Melo et al., 2016). Работа цитохром-с-оксидазы и альтернативной оксидазы митохондрий также благоприятно сказывается на активности фотосинтеза при засолении (Analın et al., 2020; Challabathula et al., 2022).

Другие формы АФК, например, NO тоже имеют важное значение при засолении. NO повышает активность H^+ -АТФаз плазмалеммы и Na^+/H^+ -обменников, что способствует удалению Na^+ из цитозоля, повышает экспрессию кальмодулина, сенсорного белка, связывающего Ca^{2+} (De Vriese et al., 2018), и Ca^{2+} -протеинкиназы, а также индуцирует накопление осмолитов и антиоксидантов за счет усиления экспрессии их генов (Rezayian, Zarinkamar, 2023; Sharma et al., 2024).

1.3. Сигналы, индуцируемые засолением

1.3.1. Сигналы, индуцированные при засолении, в корне

Засоление оказывает ионное и осмотическое воздействие на клетки растения, и оно может ощущаться клеткой несколькими способами, вызывая различные местные и распространяющиеся сигналы. Еще до поступления Na^+ в клетку его присутствие в среде может ощущаться клеткой, как и снижение водного потенциала снаружи, создаваемого избытком Na^+ и Cl^- .

Снижение водного потенциала, вызванное NaCl, приводит к увеличению оттока воды из клетки и снижению потенциала давления и падению тургора (Ali et al., 2023b; Yu et al., 2024). Эти события приводят в первую очередь к генерации распространяющейся волны изменяющегося гидростатического давления — гидравлического сигнала (Zhao et al., 2020), который является самым быстрым

сигналом у растений (Gorgues et al., 2022). Также уменьшение поступления воды и увеличение ее оттока в клетках корня само по себе может быть сигналом для некоторых структур в побеге (Christmann et al., 2013). Снижение потенциала давления приводит к изменению связывания и расстояния между плазмалеммой и клеточной стенкой и изменению латерального натяжения мембраны, что ощущается механочувствительными катионными каналами, например, белками Mid1-комплементарной активности (MCA), белки, подобные механочувствительным ионным каналам с малой проводимостью (MSL), двухпоровые каналы тонопласта (TPC) и индуцированным гиперосмолярностью каналом (OSCA), что стимулирует приток Ca^{2+} в цитозоль (Choi et al., 2014; Hamilton et al., 2014; Ma et al., 2022). Роль MCA и MSL в ответе на засоление всё ещё остается под вопросом (Stephan et al., 2016), в отличие от OSCA. В OSCA1.2 у *A. thaliana* гидрофобный линкер между двумя длинными цитозольными спиралями, выступающий в липидный бислой как якорь, идентифицирован как уникальный структурный компонент и может служить датчиком осмотического стресса (Liu et al., 2018b). Изменение осмотического потенциала омывающего корни раствора чувствуется также рецепторной киназой FERONIA, вероятно, из-за изменения расстояния между клеточной стенкой и мембраной (Novaković et al., 2018), которая посредством малых ГТФаз Rho-семейства растений (ROP-ГТФаз) активирует RBON и генерацию АФК (Smokvarska et al., 2021; Smokvarska et al., 2023). Сгенерированный RBON H_2O_2 поступает в клетку через аквапорины (Dutta, 2023), а затем может активировать Ca^{2+} -проницаемые каналы, в первую очередь, аннексины (Laohavisit et al., 2013).

Na^+ снаружи клетки ощущается сенсорами засоления. Сфинголипиды гликозилинозитолфосфорилцерамиды (GIPC), которые широко распространены в плазматической мембране (составляют до 25% от всех липидов плазмалеммы), связываются с Na^+ , приводя к увеличению поверхностного потенциала. Эти события приводят к активации неизвестных Ca^{2+} -проницаемых каналов, вероятно, потенциалзависимых неселективных катионных каналов (NSCC), и притоку Ca^{2+} в клетку (Jiang et al., 2019; Ismail et al., 2020; Liu et al., 2021). Другим сенсором

засоления выступает рецепторная киназа FERONIA, которая может воспринимать не только изменения в клеточной стенке, вызванные осмотическим воздействием засоления. В клеточной стенке Na^+ конкурирует с Ca^{2+} , в следствие чего меняется сшивка пектинов. Малектиновый домен FERONIA связывает деметилэстерифицированную галактуроновую кислоту клеточной стенки и ощущает изменения этих сшивок (Rui, Dinneny, 2020). Взаимодействие FERONIA-пектин, по-видимому, сигнализирует о статусе клеточной стенки внутриклеточно также через функциональность ROP-ГТФаз (Feng et al., 2018; Gigli-Bisceglia et al., 2022). Схожим по механизму с FERONIA сенсором является комплекс Theseus1/Hercules, активация которого также приводит к увеличению поступления Ca^{2+} в цитозоль (Gigli-Bisceglia et al., 2022). Изменения структуры клеточной стенки может ощущать также не только сама FERONIA, но и комплекс из экстензинов с лейцин-богатыми повторами 1 или 3/4/5 (LRX1, LRX3/4/5) и пептидов фактора быстрого подщелачивания (RALF) 1 или 22/23 (RALF1, RALF22/23) соответственно: под действием засоления комплекс LRX-RALF распадается, и RALF соединяется с FERONIA, после чего FERONIA подвергается эндоцитозу и в образовавшихся микродоменах может активировать неизвестные регуляторные пути, которые приводят к снижению накопления АФК и уровня АБК, жасмоновой и салициловой кислот (Zhao et al., 2018; Liu et al., 2021; Zhao et al., 2021; Liu et al., 2024). Это взаимодействие RALF-FERONIA вызывает быстрое увеличение уровня Ca^{2+} в цитозоле (Liu et al., 2024). Точный механизм событий, происходящих в следствие взаимодействия RALF-FERONIA при засолении не известен. Известно, что взаимодействие FERONIA с RALF33 или RALF36, активируемых закислением апопласта при активации H^+ -АТФазы плазмалеммы пептидом, содержащий сульфатированный тирозин1, (PSY1), приводит к активации Ca^{2+} -проницаемых каналов, предположительно, механочувствительных каналов и циклических нуклеотид-зависимых каналов, и увеличению уровня Ca^{2+} в цитозоле (Gjetting et al., 2020). Увеличение уровня Ca^{2+} приводит к активации CBL (кальцийневрин-Б подобный белок)-взаимодействующей Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы 24 (CIPK24) и SOS2-подобной протеинкиназы 5 (PKS5) (она же

CIPK11), которые фосфорилирует остаток серина Ser931 С-конца H^+ -АТФазы плазмалеммы и таким образом ингибирует её (Fuglsang et al., 2007; Li et al., 2022), в следствие чего происходит ощелачивание апопласта (Gjetting et al., 2020). Также RALF может активировать другие протеинкиназы, например, взаимодействующую с рецептором серин/треониновую протеинкиназу, и вызывать фосфорилирование других аминокислотных остатков H^+ -АТФазы, например, аминокислотный остаток серина Ser899 (Haruta et al., 2015; Gjetting et al., 2020). Подобные события могут происходить и при засолении.

Основным путем поступления Na^+ в корень считают его вход через NSCC, которые либо не зависят от напряжения, либо слабо зависят от напряжения (Demidchik et al., 2002; Chen et al., 2007). Поступление Na^+ в клетку фиксируется через 4-5 минут после появления соли в окружающей корень среде (Wegner et al., 2011). Вход Na^+ в клетку вызывает деполяризацию плазмалеммы (Chen et al., 2007; Bose et al., 2014; Shabala et al., 2016a; Su et al., 2019). Из цитозоля Na^+ перекачивается либо в ксилему и в побег Na^+/H^+ -антипортером плазмалеммы SOS1 и катионным антипортёром CHX (Maathuis, 2014) или в вакуоль, что осуществляется Na^+/H^+ -антипортером тонопласта NHX (Apse, Blumwald, 2007; Ji et al., 2013; Wegner et al., 2021). Na^+ загружается из ксилемы в клетки листа через каналы NSCC и и высокоафинные транспортёры K^+ НКТ; Na^+/H^+ -антипортеры выводят Na^+ из цитозоля клеток листа во флоэму (Maathuis, 2014; Hanin et al., 2016).

Повышенный уровень Ca^{2+} в цитозоле может увеличивать уровень АФК путём активации RBOH (Huh et al., 2010; Li et al., 2021). В корне Ca^{2+} , проходящий через аннексины, которые были активированы H_2O_2 (Laohavisit et al., 2013), активирует SOS-путь выведения Na^+ из клетки. Прохождение Ca^{2+} через аннексин активирует соль-чувствительный белок 3 (SOS3) и SOS3-подобный Ca^{2+} -связывающий белок 8 (SCaBP8), которые отделяются от аннексина. Серин/треониновая протеинкиназа SOS2 совместно с SOS3 фосфорилирует Na^+/H^+ -антипортер плазмалеммы SOS1, снимая его аутоингибирование (Ali et al., 2023a). Также SOS2 может увеличить активность Na^+/H^+ -антипортера тонопласта (NHX), который также является участником SOS-пути выведения Na^+ из цитозоля

(Yamaguchi et al., 2003). Увеличение концентрации Ca^{2+} в цитозоле также может способствовать увеличению активности SOS1: Ca^{2+} активирует белки 14-3-3, которые взаимодействуют с PKS5 и репрессируют ее, активируя H^+ -АТФазы плазматической мембраны, что улучшает активность SOS1 (Li, Yang, 2023; Ma et al., 2019). Дополнительно Ca^{2+} , поступающий в клетку через относящиеся к NSCC ионные каналы, подобные глутаматному рецептору (GLR), может повышать экспрессию SOS1, SOS2 и SOS3, а также взаимодействовать с белком 14-3-3, что может способствовать выведению Na^+ из цитозоля и формированию ответа на засоление (Yu et al., 2022).

Засоление посредством Ca^{2+} и активатора фосфоинозитол-4-киназы массой 49 кДа (PIK-A49) повышает активность фосфоинозитол-4-киназы (Yang, Boss, 1994), благодаря чему фосфатидинозитол, который в обычных условиях ингибирует H^+ -АТФазу плазмалеммы, связываясь с аминокислотным остатком серина Ser931 на С-конце, фосфорилируется до фосфоинозитол-4-фосфата, который связывается с С-концом Na^+/H^+ -антипортера и активирует его (Dewald et al., 2001; Yang et al., 2021). Уменьшение количества фосфатидинозитола приводит к активации H^+ -АТФазы и повышению цитозольного pH, что положительно сказывается на активности SOS1 (Shabala, Yu, 2021). H^+ -АТФазу плазмалеммы также напрямую активируют по неизвестному механизму свободные ненасыщенные жирные кислоты (олеиновая кислота, линолевая кислота и линоленовая кислота), которые, вероятно, образуются вследствие дестабилизации мембран, уменьшения гидратации жирных кислот и вытеснения Ca^{2+} в мембранах, вызванного Na^+ (Han et al., 2017). Повышение активности H^+ -АТФазы плазмалеммы индуцирует реполяризацию мембранного потенциала в корне, приток Ca^{2+} через активированные каналы и предотвращает индуцированную NaCl потерю цитозольного K^+ через K^+ -каналы наружного выпрямления (GORK), снижающие активность каспазоподобных ферментов и предотвращающие клеточную гибель (Tracy et al., 2008; Ma et al., 2012; Laohavisit et al., 2013; Shabala, Yu, 2021). Также деполяризация тонопласта, создаваемая вакуолярными H^+ -АТФазами в результате активации SOS-пути, активирует TPC (Dindas et al., 2021)

и способствует увеличению уровня Ca^{2+} в цитозоле (Choi et al., 2014). Таким образом, одно повышение уровня Ca^{2+} может провоцировать последующее повышение его уровня.

Таким образом, в результате засоления в корне активируется повышение различных сигнальных молекул и состояний, которые могут функционировать как в одних сигнальных путях, так и в путях с противоположными эффектами.

1.3.2. Распространяющиеся из корня в побег сигналы, зарегистрированные при засолении

Засоление индуцирует различные сигналы, исходящие из корня в побег. Среди химических главных роль занимают Ca^{2+} -сигналы и АФК-сигналы. Ca^{2+} -сигналы – это самораспространяющаяся волна повышения уровня Ca^{2+} в цитозоле, опосредованная Ca^{2+} -проницаемыми каналами за счет внеклеточных и органелльных источников Ca^{2+} (Choi et al., 2014; Gilroy et al., 2016; Medvedev, 2018). АФК-сигнал – это самораспространяющаяся волна продукции АФК (H_2O_2 , O_2^\bullet), опосредованная активацией RBOH (Gilroy et al., 2016). В качестве химического сигнала также выделяют сигналинг фосфолипидов (фосфатидилиназитол гексафосфата, фосфатидилиназитол 4-фосфата, фосфатидилиназитол 4,5-бифосфата, фосфатидной кислоты, диацилглицеролпирофосфата), образуемых различными фосфолипазами и киназами из фосфоинозитола мембран (Munnik, Testerink, 2009), и сигнал распространяющегося и местного изменения рН апопласта, цитозоля, вакуоли и хлоропластов, за которые ответственны главным образом H^+ -АТФазы и ион/ H^+ -антипортеры (Felle, 2001; Raghavendra et al., 2023).

Выделяют также в качестве сигналов при засолении электрические сигналы и распространение гидравлических волн. Электрический сигнал – это распространяющееся изменение мембранного потенциала, которое может быть связано с изменением уровня Ca^{2+} или работой H^+ -АТФазы плазмалеммы (Choi et al., 2016). Засоление может вызывать местное изменение мембранного потенциала при поступлении Na^+ в клетку (Monetti et al., 2014; Su et al., 2019). Гидравлический сигнал – это быстро распространяющееся изменение водного потенциала или

давления, вызванное изменением водного натяжения, тургорного давления и осмотического потенциала (Malone, 1993; Christmann et al., 2013). Гидравлический сигнал индуцирует изменения водного потенциала, вызываемые снижением осмолярности снаружи клеток корня из-за избытка Na^+ и Cl^- (Zhao et al., 2020). Этот сигнал является самым быстрым дальнедействующим сигналом в растениях, его скорость превышает скорости других сигналов (Huber, Bauerle, 2016; Gorgues et al., 2022). В качестве сигнальных веществ могут выступать и фитогормоны, главную роль среди которых при засолении играет АБК (Fahad et al., 2015).

Разные типы сигналов имеют разную степень распространения из корня в побег при корневом засолении. Гидравлический сигнал распространяется в побег в первые секунды-минуты засоления (Kholodova et al., 2006), схожей способностью обладает Ca^{2+} -сигнал (Xiong et al., 2014). Информация про АФК-сигнал при засолении недостаточна, этот сигнал обнаруживали в суспензионной культуре клеток (Monetti et al., 2014; Formentin et al., 2018) и в побеге (Lim et al., 2019). Только в корне обнаруживали изменения рН цитозоля и апопласта (Katsuhara et al., 1997; Gao et al., 2004; Schulte et al., 2006; Rombolá-Caldentey et al., 2023) и изменение мембранного потенциала (Jayakannan et al., 2013; Shabala et al., 2016a; Su et al., 2019), что нельзя считать распространяющимся сигналом, однако эти события могут оказывать влияние на другие сигнальные системы.

1.3.3. Механизмы влияния распространяющихся сигналов на фотосинтез

Одним из вероятных механизмов модулирования ранних изменений фотосинтеза может происходить посредством исходящих из корня и распространяющихся по побегу сигналов. Ранее отмечалось, что в регуляции устьичной проводимости и фотосинтеза имеет место взаимодействие различных сигнальных молекул (Liu et al., 2022a).

Гидравлический сигнал приводит к увеличению в мезофилле уровня Ca^{2+} посредством MSL и, вероятно, MCA и киназы экстензиноподобных рецепторов, богатых пролином PERK некоторых других возможных каналов и входу Ca^{2+} в клетки мезофилла (Christmann et al., 2013; Shabala et al., 2016b). Также известно, что

изменения тургорного давления, которые вызываются гидравлическим сигналом, на больших расстояниях от места воздействия вызывают увеличение концентрации глутамата и локальную активацию каналов GLR, что наблюдалось в ответ на ожог, механическое повреждение и гипоосмотический стресс (Grenzi et al., 2023).

Ca^{2+} считается одной из важнейших сигнальных молекул, которая принимает участие как непосредственно в регуляции фотосинтетических процессов в хлоропласте, так и в регуляции фотосинтеза посредством доступности CO_2 через устьица. Хлоропласты – это органеллы растений, в которых содержится высокая концентрация Ca^{2+} (15 мМ), однако большая часть хлоропластного Ca^{2+} связана с отрицательно заряженными тилакоидными мембранами или с Ca^{2+} -связывающими белками, поэтому концентрация Ca^{2+} в свободной форме составляет около 150 нМ (Hochmal et al., 2015), что примерно соответствует его концентрации в цитозоле (Stael et al., 2012b). Ca^{2+} может поступать в строму из цитозоля через Ca^{2+} /тяжелые металлы АТФазы НМА1, малопроводящие механочувствительные ионные каналы или GLR (Stael, et al., 2012b; Nomura, Shiina, 2014; Pottosin, Shabala, 2016).

Повышение уровня Ca^{2+} , в том числе и внеклеточного, может ощущаться хлоропластным сенсором Ca^{2+} (CAS), расположенным на тилакоидной мембране (Li et al., 2022). N-конец CAS, содержащий домен связывания Ca^{2+} , вероятно, расположен на стромальной стороне тилакоидной мембраны и воспринимает повышение уровня Ca^{2+} в строме (Han et al., 2003). Одним из механизмов активации CAS также может включать гистонметилазу типа H4R3me2 (для гистона H4 аргинин-3 с симметричным диметилированием), связывающую аргининметилтрансферазу 5/Shk1 (CAU1) (Fu et al., 2013). Повышенный уровень внеклеточного Ca^{2+} снижает ассоциацию CAU1 с промотором CAS, что, следовательно, уменьшает метилирование гистонов хроматина CAS и устраняет подавление CAS (Fu et al., 2013; Fu et al., 2018; Li et al., 2022). Активированный CAS может инициировать сигнальный путь инозитол-1,4,5-трифосфата (Han et al., 2003), который, в свою очередь, активирует выход Ca^{2+} из внутренних депо клетки (Tang et al., 2007). Также CAS активирует генерацию АФК хлоропластами (Li et al., 2025), что также может приводить к увеличению уровня Ca^{2+} в цитозоле.

Основная роль CAS в снижении активности фотосинтеза – участие в формировании ретроградного сигнала (Nomura, Shiina, 2014) и в хлоропластной регуляции закрытия устьиц (Bai et al., 2022). Хлоропластная регуляция закрытия устьиц требует снижения пула пластохинонов, выработки H_2O_2 и NO листьями и фосфорилирования CAS и светособирающего комплекса II (Wang et al., 2016; Bai et al., 2022). CAS может быть фосфорилирован по аминокислотному остатку треонин-380, расположенному на С-конце вблизи домена, подобного роданезе (Li et al., 2022), протеинкиназой, переходящей в состояние 7, (STN7) при слабом освещении или 8, (STN8) при сильном освещении, а также неизвестной Ca^{2+} -зависимой протеинкиназой (Vainonen et al., 2008; Cutolo et al., 2019; Jonwal et al., 2022). Сообщалось, что STN8 может иметь сайты связывания с кальмодулином (Dell’Aglia et al., 2013), следовательно, эта киназа может быть зависима от Ca^{2+} . STN7 активизируется при чрезмерном снижении пула пластохинонов, которое происходит из-за коротковолнового ($\lambda < 650$ нм) излучения, возбуждающего преимущественно ФСII (Vener et al., 1997; Jonwal et al., 2022). STN7 также может фосфорилировать светособирающий комплекс II, в результате чего его взаимодействие с ФСII ослабляется, а сродство с ФСI увеличивается (Jonwal et al., 2022). Предположительно, CAS вызывает накопление H_2O_2 и NO в замыкающих клетках посредством активации, что далее запускает увеличение уровня цитозольного Ca^{2+} (Zhao et al., 2015; Li et al., 2022), так как H_2O_2 может проникать из хлоропластов в цитозоль через аквапорины (Mubarakshina-Borisova et al., 2012). Эти события, в конечном итоге, приводят к закрытию устьиц.

Кроме регуляции хлоропластного закрытия устьиц также сообщалось о взаимосвязи CAS и циклического транспорта электронов у *Chlamydomonas reinhardtii*: Ca^{2+} -активированный CAS взаимодействовал с PRG5 (белком регуляции протонного градиента 5)-подобным белком 1 (PGRL1) и, вероятно, с другими белками, характерными для разных стрессоров, образуя мультикомплекс, что поддерживает циклический транспорт электронов (Terashima et al., 2012). Непосредственно Ca^{2+} также может влиять на циклический транспорт электронов: другой его компонент – НАД(Ф)Н-дегидрогеназный комплекс – может Ca^{2+} -

зависимо фосфорилироваться, в результате чего также поддерживается циклический транспорт электронов (Wei et al., 2025).

Ca^{2+} может влиять на устьичную проводимость без CAS, что называется нехлоропластной регуляцией закрытия устьиц. При этом пути регуляции Ca^{2+} поступает в замыкающие клетки устьиц через NSCC и, активизируя Ca^{2+} -зависимые протеинкиназы, влияет на анионные каналы медленного типа 1 (SLAC1), через которые происходит утечка анионов и вследствие этого – деполяризация, которая приводит к открытию каналов GORK и утечке K^+ из клетки (Li et al., 2021). В итоге эти события приводят к закрытию устьиц.

Повышение уровня Ca^{2+} в строме может непосредственно негативно регулировать активность фруктоза-1,6-бисфосфатазы и седогептулоза-1,7-бисфосфатазы цикла Кальвина-Бенсона (Kreimer et al., 1988; Pottosin, Shabala, 2016). Кроме этого, некоторые хлоропластные белки могут Ca^{2+} -зависимо фосфорилироваться или иметь сайты связывания с Ca^{2+} , однако функциональная роль этих событий неизвестна. Так субъединицы FCI N (Reddy et al., 2002; Stael et al., 2012a) и H (Lunde et al., 2000) фосфорилируются Ca^{2+} -зависимо, субъединица ФСII PSBO имеет Ca^{2+} -связывающий сайт (Murray, Barber, 2006), а НАД⁺-киназа, участвующая в синтезе НАДФ⁺, защите хлоропластов от окислительного повреждения и в синтезе хлорофилла (Hochmal et al., 2015), имеет сайт связывания с кальмодулином (Dell’Aglia et al., 2013).

Кроме повышения уровня Ca^{2+} снижение гидравлической проводимости корня и побега может приводить к повышению уровня АФК в цитозоле за счёт ингибирования аквапоринов (Gilroy et al., 2016). АФК приводят к повышению синтеза АБК, которая через АТФ-содержащие кассетные транспортеры ABCG (Kurotori, Shinozaki, 2010) поступает в замыкающие клетки устьица и воспринимается рецепторами устойчивости к пиробактину (PYR)/PYR1-подобными (PYL)/регуляторными компонентами рецепторов АБК (RCAR) (Liu et al., 2022a). Кроме этого, в корнях в ответ на дефицит воды, вызванный осмотическим воздействием, синтезируется пептид CLAVATA3/окружающая эмбрион область 25 (CLE25), который транспортируется в замыкающие клетки,

способствуя синтезу АБК (Liu et al., 2022a). Рецепторы PYR/PYL/RCAR инактивируют фосфатазу 2C, в результате чего активируется протеинкиназа, связанная с сахарознеферментирующим белком 1 (SNF1) (Singh et al., 2017), которая фосфорилирует протеинкиназу открытого устьица 1 OST1 и посредством этого вызывает приток АФК через аквапорины (Groszmann et al., 2017; Sharipova et al., 2022). АФК в замыкающих клетках приводит к увеличению уровня Ca^{2+} , в результате чего происходит активация SLAC1 и GORK и закрытие устьиц (Singh et al., 2017; Liu et al., 2022a). Для АФК также выдвигалось предположение о возможном прямом контроле ими потоков ионов через тилакоидную мембрану, что может влиять на активность фотосинтеза (Pottosin, Shabala, 2016).

Другой путь, с помощью которого АФК могут влиять на активность фотосинтеза, – это система тиол-дисульфидного обмена, которая используется, например, для координации скоростей образования НАДФ⁺ и АТФ со скоростями их использования при фотосинтетическом усвоении углерода через посредничество тиоредоксинов (Foyer, 2018). H_2O_2 , кроме этого, способствует сукцинированию и ацетилированию некоторых белков, в том числе и большой и малой субъединиц РубисКО, однако функциональные последствия этих модификаций неизвестны (Zhou et al., 2018).

Распространяющиеся электрические потенциалы также способны влиять на активность фотосинтеза (Sukhova, Sukhov, 2021). Потенциал действия (быстрая импульсная деполяризация, вызываемая потоками K^+ , Ca^{2+} и Cl^-) и переменный потенциал (медленная волна деполяризации, вызванная инактивацией H^+ -АТФазы плазмалеммы) способны вызывать такие изменения (Szechyńska-Hebda et al., 2017). Если потенциалы действия могут влиять на активность фотосинтеза путём увеличения уровня Ca^{2+} и снижения уровня K^+ , влияние которых было описано выше, то переменные потенциалы могут влиять посредством снижения pH цитозоля из-за подавления H^+ -АТФазы (Sukhov et al., 2013; Sukhov et al., 2014).

Защелачивание цитозоля может приводить к ингибированию цитозольной карбоангидразы, зависимой от pH и играющей важную роль в проводимости мезофилла для CO_2 , из-за чего снижается активность ферментов цикла Кальвина-

Бенсона; также снижение ассимиляции CO_2 негативно влияет на транспорт электронов, что приводит к снижению Φ_{PSII} (Grams et al., 2009; Pavlovic et al., 2011). Закисление цитозоля может влиять на транспорт НАД⁺ белком-переносчиком нуклеотидов NDT1 в хлоропласты (Palmieri et al., 2009). НАДФ⁺ необходим для функционирования ФСII и синтеза АТФ, а снижение его содержания приводит к ингибированию фотосинтеза (Hashida, Kawai-Yamada, 2019). Недостаток НАД⁺ в хлоропластах может вызывать выработку гликоальдегида, ингибитора многих ферментов цикла Кальвина-Бенсона (Takahashi, Murata, 2005; Mano et al., 2009).

Снижение активности Н⁺-АТФазы также сопровождается защелачиванием апопласта, от чего может зависеть ассимиляция CO_2 (Шерстнева и др., 2015). Защелачивание апопласта снижает окислительно-восстановительный потенциал, что ослабляет передачу сигнала АФК и Ca^{2+} до эффекторов (Zhou et al., 2025) и повышает активность аскорбатоксидазы (Karpinska et al., 2018), а также изменяет активность апопластной инвертазы (Chikov, Akhtyamova, 2019) и повышает синтез (Geilfus et al., 2021) и компартментализацию АБК (Wilkinson, Davies, 2008), что может влиять на активность фотосинтеза.

Генерация и распространение переменного потенциала сопровождается изменением гидравлического давления, в результате чего увеличивается уровень АБК и жасмоновой кислоты, что приводит к закрытию устьиц и падению скорости ассимиляции CO_2 (Hlaváčková et al., 2006). Также жасмоновые кислоты напрямую ингибируют карбоксилазную активность РуБисКО и снижают способность к регенерации рибулозо-1,5-бисфосфата (Popova et al., 1988; Metodiev et al., 1996).

Таким образом, существуют потенциальные пути влияния некоторых распространяющихся сигналов на активность фотосинтеза. При засолении регистрируются распространяющиеся сигналы, которые могут влиять на активность фотосинтеза, однако экспериментальные исследования, доказывающие или опровергающие это, отсутствуют.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

Объектом исследования выступали растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский. Сорт Невский – это среднеранний сорт столового назначения, который был выведен Северо-Западным НИИСХ. Во взрослом состоянии – низкие сильноветвистые кусты. Обладает устойчивостью к фитофторозу, вирусным болезням, парше обыкновенной, раку картофеля. Предназначен для возделывания в Нечерноземье России (Лукаткин и др., 2005).

Растения возрастом 4 недели, выращенные на питательной среде MS в условиях *in vitro*, адаптировали в течение 1 недели в банках, наполненных стандартным раствором (1 мМ NaCl, 0,1 мМ CaCl₂, 0,1 мМ KCl) (Дитченко и др., 2002), и либо их использовали в экспериментах с оmyающими корни раствором (далее – микрорастения), либо их пересаживали в горшки размером 9×9×10 см с грунтом, содержащим 220 мг/л NH₄⁺NO₃, 200 мг/л P₂O₅, 250 мг/л K₂O и с содержанием Na⁺ 20 ммоль/кг сухого веса, pH 5,5–6,5, с поливом раз в 3 дня для получения клубней. Клубни высаживали в грунт для получения донорных растений, выращиваемых 4-5 недель. С донорных растений срезали побеги с четырьмя латеральными и одной апикальной почками, содержали в стандартном растворе в течение одной недели до образования корней и пересаживали в грунт, в котором выращивали ещё 2 недели. Растения выращивали при температуре 24°C и освещении люминесцентными лампами (OSRAM, ФРГ) с фотопериодом 16/8 часов свет/темнота и интенсивностью освещённости 60 мкмоль/м²с.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Генетическая трансформация растений картофеля

Растения картофеля, несущие гены pH-чувствительного сенсора Pt-GFP, Ca²⁺-чувствительного сенсора Case12 или H₂O₂-чувствительного сенсора HyPer7, получали методом генетической трансформации с помощью агробактерий (*Agrobacterium tumefaciens*). Факт вставки целевых генов подтверждали с помощью метода ПЦР и электрофореза в агарозном геле полученных ПЦР-продуктов.

Трансформанты анализировали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM710 (Carl Zeiss, ФРГ).

2.2.1.1. Условия культивирования *in vitro*

Микроклональное размножение и генетическую трансформацию картофеля проводили на среде MS с модифицированным составом (табл. 1).

Таблица 1

Пропись питательной среды на основе среды MS (Murasnige, Skoog, 1962)

Компонент	Количество вещества, мг/л
NH_4NO_3	1650
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
KNO_3	1900
CaCl_2	330
H_3BO_3	6,200
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,250
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,600
KI	0,830
$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	22,300
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,550
Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА)	37,250
Сахароза	30000
Агар	6500
Мезоинозит	100
Тиамин	0,500
Никотиновая кислота	0,500
Пиридоксин	0,500
Глицин	2

Микроклональное размножение проводили черенкованием, участки стеблей сажали в среду MS в стеклянных пробирках.

При проведении агробактериальной трансформации использовали среду для индукции органогенеза – среду MS с фитогормонами 6-бензиламинопурин (6-БАП) (3 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л).

Растения культивировали при температуре 24°C и освещении

люминесцентными лампами (OSRAM, ФПГ) с фотопериодом 16/8 часов свет/темнота и интенсивностью освещённости 60 мкмоль/м²с.

2.2.1.2. Агробактериальная трансформация картофеля

Для генетической трансформации картофеля использовали штамм агробактерий AGL0, несущий в случае гена Pt-GFP плазмиду pART27-ptGFP (NanoLight Technology, США) с генами устойчивости к канамицину nptII в Т-регионе и устойчивости к спектиномицину aadA вне Т-региона, в случае HyPer7 – плазмиду pART27-HyPer7 (NanoLight Technology, США; Евроген, Россия) с генами nptII и aadA, расположенными там же, и в случае Case12 – бинарный вектор pH7WG2-Case12 (Invitrogen, США; Евроген, Россия), содержащий также ген устойчивости к гигромицину В Hyg в Т-регионе и ген устойчивости к стрептомицину и спектиномицину вне Т-региона. Гены Pt-GFP, HyPer7 и Case12 находились под промоторами промотора вируса табачной мозаики CaMV 35S.

Агробактерии размножали методом штриха на твёрдой питательной среде, содержащей 10 г/л пептона, 10 г/л дрожжей, 5 г/л NaCl и 15 г/л агара. Перед генетической трансформацией картофеля делали ночную культуру агробактерий: высевали бактерии с твердой питательной среды в безагарозную среду того же состава, содержащую дополнительно 100 мг/л рифампицин для селекции только агробактерий и 100 мг/л спектиномицина для селекции только агробактерий, несущих плазмиды pART27 или pH7WG2, и помещали в орбитальный шейкер Innova 40 (New Brunswick Scientific, США) со скоростью вращения 250 оборотов в минуту на 14-16 часов до достижения оптической мутности 2,8 МкФ, что было измерено с помощью денситометра DEN-1 (Biosan, Латвия).

Полученную агробактериальную суспензию наносили на среду для индукции органогенеза в чашках Петри методом бактериального газона и клали экспланты – сегменты стебля размером 3-5 мм без почек. Чашки с эксплантами помещали на 2 дня в темноту при температуре 24°C. Затем экспланты пересаживали на среду для индукции органогенеза, содержащую дополнительно антибиотики: селективный – 100 мг/л канамицин (в случае генов Pt-GFP и Hyper7) или 20 мг/л гигромицин В (в

случае Case12) и элиминирующий – чередующиеся с каждой пересадкой 600 мг/л Амоксиклав (Sandoz, d.d., Словения) и 600 мг/л Тиментин (HiMedia, Индия). Экспланты пересаживали на среду указанного состава 1 раз в неделю. Первые 4 недели экспланты содержали в темноте, затем культивировали в стандартных условиях. Полученные регенеранты пересаживали в пробирки со средой MS.

2.2.1.3. Молекулярно-генетический анализ для подтверждения вставки гена

Перед проведением ПЦР выделяли ДНК методом замораживания-оттаивания из листьев предположительно трансгенных растений (Fulton et al., 1995). 100-200 мг листьев растирали их до однородного состояния с помощью пестика в 750 мкл реактива MicroPrep Buffer для выделения растительной ДНК и встряхивали на орбитальном шейкере MS 3 basic (IKA, ФРГ). Реактив MicroPrep Buffer смешивали из реактивов 5% N-лаурилсаркозин натриевая соль, буфера для выделения ДНК (0,35 М сорбитол, 0,1 М трис(гидроксиметил)аминометан (Трис), 0,05 М ЭДТА, pH=7,5) и буфера для лизиса ядер (2 М NaCl, 0,2 М Трис, 0,05 М ЭДТА, 0,055 М цетилтриметиламмоний бромид, pH=7,5) в соотношении 1:2,5:2,5. Далее пробирки инкубировали на водяной бане 45 минут при +65°C. В пробирки добавляли 700 мкл хлороформа, встряхивали на орбитальном шейкере и центрифугировали в центрифуге MiniSpin Plus (Eppendorf, ФРГ) 5 минут при 10000 оборотов в минуту. Далее отбирали 500 мкл верхней водной фазы в новую пробирку, добавляли 330 мкл изопропанола и центрифугировали 5 минут при 10000 оборотов в минуту. Супернатант сливали, осадок в пробирках промывали 500 мкл 80% этилового спирта и снова проводили центрифугирование при тех же условиях. Осадок высушивали в термостате при +37°C, добавляли 30 мкл деионизированной воды (mQ) и приливали по 1 мкл РНКазы. Смеси инкубировали 30 минут при +37°C.

Полученные смеси проверяли на наличие ДНК с помощью капельного однолучевого спектрофотометра NanoVue Plus (GE, США). Реакционные смеси готовили на деионизированной воде с добавлением 5x смеси для ПЦР ScreenMix (Евроген, Россия), содержащей Taq ДНК-полимеразу, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, Mg^{2+} , реакционный буфер и краситель для

нанесения при проведения электрофоретического анализа, и 25х смеси праймеров (Евроген, Россия). Состав праймеров представлен в таблице 2.

Таблица 2

Праймеры исследуемых генов для ПЦР

Ген	Длина целевого ампликона, п.н.	Праймеры (5'-3')	
Pt-GFP	464	прямой	ATGAACCGCAACGTGCTGAA
		обратный	TACACCAGATCCACTTCGCC
Case12	1044	прямой	AGGTCACGCAGTCAGAGCTA
		обратный	ACTCGGAATGCCTCACGGAT
HyPer7	998	прямой	AGGAGTTGGATGCCGTTAGC
		обратный	CAGCATGTGGTCGTTTTTCGG

Для ПЦР использовали в качестве проб деионизированную воду как отрицательный контроль, плазмиду pART27-ptGFP, pART27-HyPer7 или pH7WG2-Case12 как положительный контроль на наличие искомого гена, контроль на отсутствие гена в растении (нетрансформированное растение сорта Невский) и опытные пробы предположительно трансформированных растений. ПЦР проводили в амплификаторе C1000™ Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Программа ПЦР для различных генов указана в таблице 3.

Таблица 3

Условия проведения ПЦР (Температура, °C; Время, с; Количество циклов)

Этап	Pt-GFP	Case12	HyPer7
Нагрев	+95; 180; 1	+95; 300; 1	+94; 120; 1
Денатурация	+95; 60; 28	+95; 60; 28	+94; 40; 25
Отжиг праймеров	+55; 30; 28	+60; 60; 28	+60; 40; 25
Элонгация	+72; 60; 28	+72; 60; 28	+72; 120; 25
Достройка концов	+72; 450; 1	+72; 300; 1	+72; 300; 1
Охлаждение	+12	+12	+12

По окончании реакции проводили электрофорез ПЦР-продуктов в 1% агарозном геле на основе трис-ацетатного буфера (0,8 мМ Трис, 0,02 мМ ЭДТА, 0,624 мМ ледяная уксусная кислота), содержащем 0,5 мкг/мл этидия бромид. ПЦР-продукты в геле детектировали с помощью гельдокументирующей системы

Quantum-ST4-3020/WL/LC/20M (Vilber Lourmat, Франция), а изображения получали в программе Quantum-Capt (Vilber Lourmat, Франция).

2.2.1.4. CLSM для проверки трансформантов

Флуоресцентные изображения клеток трансформантов и спектры флуоресценции сенсоров в растении получали с помощью лазерной сканирующей системы LSM710 (Carl Zeiss, ФРГ) при облучении клеток лазерами с длинами волн 405 и 488 нм для Pt-GFP и HyPer7 или 488 нм для Case12 с помощью объектива Plan-Apochromat 20x/0.5 или Plan-Neofluar 10x/0.3. Флуоресценцию сенсоров принимали в диапазоне 505-525 нм. Изображения обрабатывали с помощью программного обеспечения Zen 2.1 (Carl Zeiss, ФРГ).

2.2.2. Стимуляция

В течение исследования было проведено несколько типов стимуляций сигналов. Для проверки работы сенсоров в трансформантах проводили стимуляцию листа для проверки местных и распространяющихся сигналов и корня для проверки сигнала в нем. Локальная стимуляция листа была проведена в нескольких вариантах:

1. Абаксиальная сторона листа периодически охлаждалась (до 16,4, 9,4, 4,9 и 3°C в течение 2 минут для каждого варианта с периодичностью 5 минут) или нагревалась (до 34,7, 42,9, 50,7 и 59,1°C в течение 2 минут для каждого варианта с периодичностью 5 минут) с помощью элемента Пельтье;
2. Отделённые листья охлаждали до 9,4 °C в течение 3 минут, а затем через 7 минут нагревали до 42,9 °C в течение 3 минут с помощью элемента Пельтье;
3. Кончик листа площадью 1 см² нагревали керамическим нагревательным элементом в течение четырёх минут до +52°C;
4. Лист площадью 0,5-1 см² подвергался ожогу открытым пламенем;
5. Лист площадью 0,5-1 см² подвергался обработке раствором 10% H₂O₂ и 0,05% модифицированного гептаметилтрисилоксана (Сильвет 408) или раствором 0,05% Сильвет 408 в качестве контроля;

Температуру при нагревании или охлаждении контролировали с помощью термоимиджера Testo 885 (Testo, ФРГ), полученные изображения обрабатывали в программе IRSoft (Testo, ФРГ).

Стимуляция корня для проверки работы сенсоров в трансформантах проводилась с помощью растворов ионофора 500 мкМ а23187 (Sigma-Aldrich, США) в стандартном растворе, дополненном 5 мМ CaCl₂, 10% H₂O₂ или индуктора АФК 1 мМ параквата (Sigma-Aldrich, США) в стандартном растворе; контролем выступала обработка стандартным раствором.

Засоление симулировали обработкой раствором NaCl. В экспериментах с развитыми растениями в горшок приливали 100 мл 400 мМ NaCl до содержания Na⁺ 150 ммоль/кг сухого веса. В экспериментах с микрорастениями использовали раствор 100 и 200 мМ NaCl, а для проверки роли Na⁺ и осмотического компонента засоления – 200 мМ KCl и 400 мМ сорбитола соответственно, эти растворы обладают той же осмолярностью, что и раствор 200 мМ NaCl.

2.2.3. Измерение фотосинтетической активности

Активность фотосинтеза определяли с помощью регистрации динамики флуоресценции хлорофилла фотосистемы II на установках IMAGING-PAM M-Series (Heinz Walz GmbH, ФРГ) и PlantExplorerPro+ (PhenoVation, Нидерланды). Были измерены параметры F_v/F_m , Φ_{PSII} и NPQ, которые рассчитывались встроенным программным обеспечением по формулам (Maxwell, Johnson, 2000):

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m,$$

где F_0 – минимальная флуоресценция хлорофилла в адаптированном к темноте состоянии, F_m – максимальный выход флуоресценции хлорофилла;

$$\Phi_{PSII} = (F_m' - F)/F_m',$$

где F и F_m' – текущий и максимальный выход флуоресценции хлорофилла в условиях освещения;

$$NPQ = (F_m - F_m')/F_m'.$$

Перед измерением параметров активности фотосинтеза на установке IMAGING-PAM M-Series растения адаптировали в темноте 30 минут, на установке

PlantExplorerPro+ – 15 минут. Затем использовали белый актиничный свет для поддержания фотосинтеза, который представлял собой сумму потоков фотонов от диодов с максимумами излучения при 455, 525 и 660 нм, плотность потоков фотонов составляла 270 или 136 мкмоль/м²с соответственно. Насыщающие импульсы генерировались при освещении диодом с длиной волны 635 нм, плотностью потока фотонов 2881 мкмоль/м²с и продолжительностью 300 мс. Полученные изображения были обработаны в программе ImagingWin v2.41a FW MULTI RGB (Heinz Walz GmbH, ФРГ) или Data Analysis 4.6.7-64b (PhenoVation, Нидерланды) соответственно.

2.2.4. Измерение CWSI

Изменение интенсивности транспирации листьев оценивали с помощью индекса водного стресса (CWSI). Изменение транспирации прямо коррелирует с изменением температуры поверхности листа (Lopez-Lopez et al., 2011; Tian et al., 2020), поэтому с помощью CWSI можно оценить изменение относительной транспирации (Zhou et al., 2021). Также была выявлена корреляция между CWSI с устьичной проводимостью (Ru et al., 2020; Liao et al., 2024; Ramos-Fernández et al., 2024). Для расчёта CWSI получали термограммы листа, а также сухого и влажного стандартов с помощью термоимиджера Testo 885. Термограммы обрабатывали в программе IRTSoft, CWSI рассчитывали по формуле (Jackson et al., 1981):

$$CWSI = (T_{\text{сухой}} - T) / (T_{\text{сухой}} - T_{\text{влажный}}),$$

где T – температура поверхности листа, $T_{\text{сухой}}$ – температура сухого стандарта, $T_{\text{влажный}}$ – температура влажного стандарта.

2.2.5. Флуоресцентный имиджинг

Изменение уровня pH, Ca²⁺, H₂O₂ и Na⁺ определяли по изменению флуоресценции генетически кодируемых флуоресцентных сенсоров Pt-GFP, Case12 и HyPer7 и флуоресцентных зондов Fluo4 AM (Molecular Probes, США) и CoroNa Green AM (Thermo Fisher Scientific, США) с помощью различных детектирующих флуоресценцию систем.

2.2.5.1. Флуоресцентный имиджинг цитозольного pH

Уровень pH и его изменение определяли по изменению испускаемой флуоресценции ратиометрического флуоресцентного pH-чувствительного сенсора Pt-GFP.

Отдельные органы развитых растений или целые микрорастения анализировали в установке флуоресцентного имиджинга DVS-03 (Курчатовский комплекс кристаллографии и фотоники НИЦ «Курчатовский институт» Москва, Россия). Флуоресценцию сенсора возбуждали диодами с длиной волны 395/25 нм и 490/20 нм, флуоресцентный сигнал принимали с помощью CMOS-камеры Prime 95B (Teledyne Photometrics, США) с фильтром 535/43 нм. Флуоресцентные изображения получали с экспозицией 2 с с частотой 10-15 с в программе Micro-Manager 1.4. Затем изображения обрабатывали в программе ImageJ 1.52p: очищали изображения от фоновой засветки и делили изображения, полученные при освещении диодом 490/20 нм, на изображения, полученные при освещении диодом 395/25 нм для получения соотношения сигналов F490/F395 (R).

Развитые растения и микрорастения анализировали в установке PlantExplorerPro+. Флуоресценцию сенсора возбуждали с помощью диодов с длиной волны 390-420 нм и 445-475 нм, сигнал принимали с помощью CMOS-камеры с фильтром 530/40 нм. Флуоресцентные изображения получали с экспозицией 250 мс. Изображения получали в программе Data Analysis 4.6.7-64b, а обрабатывали в программе ImageJ 1.52p: делили изображения, полученные при освещении диодом 445-475 нм, на изображения, полученные при освещении диодом 390-420 нм для получения соотношения сигналов F445-475/F390-420 (также R).

Все детектирующие установки использовали для калибрования флуоресцентного сигнала Pt-GFP в растении. Целые листья или целое микрорастение инкубировали в темноте в течение 4 часов в буферных растворах на основе стандартного раствора с 40 mM $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, 40 mM 3-(N-морфолино)пропансульфоновой кислотой, 40 mM 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислотой, 40-80 mM Трис и протонофором 125 мкМ

карбонилцианид 3-хлорфенилгидразоном (КЦХФГ) с pH от 4,0 до 9,0. Флуоресцентные изображения получали и обрабатывали, как описано выше. На основе значений соотношения сигналов R для разных приборов с помощью программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., США) получали уравнение зависимости флуоресценции Pt-GFP R от pH цитозоля на основе уравнения сигмоиды Больцмана (GraphPad Curve Fitting Guide, 2014):

$$R = R_{\text{Bottom}} + (R_{\text{Top}} - R_{\text{Bottom}}) \cdot (1 + 10(\log EC50 - \text{pH}) \cdot \text{HillSlope})^{-1},$$

где R_{Bottom} - значение R на нижнем плато, R_{Top} - значение R на верхнем плато, $\log EC50$ – логарифм эффективной концентрации (50%), при которой R имеет среднее значение в диапазоне от R_{Bottom} до R_{Top} (для Pt-GFP принят как 7,3 согласно статье (Schulte et al., 2006)), HillSlope – наклон Хилла.

На основе уравнения полученной кривой было получено уравнение зависимости pH цитозоля от флуоресценции Pt-GFP R, которое использовалось в экспериментах для перевода флуоресцентного сигнала сенсора в значения pH или изменения pH:

$$\text{pH} = \log EC50 - \text{HillSlope}^{-1} \cdot \lg((R_{\text{Top}} - R) / (R - R_{\text{Bottom}})).$$

2.2.5.2. Флуоресцентный имиджинг цитозольного Ca^{2+}

Флуоресцентный имиджинг изменения уровня Ca^{2+} проводили с помощью Ca^{2+} -чувствительного флуоресцентного сенсора Case12, а также с помощью флуоресцентного зонда Fluo4 AM, который загружали в участок стебля размером 1,5 см возле корня тремя циклами вакуумной инфльтрации в течение 5 минут при давлении 0,2 атмосферы с последующей отмывкой дистиллированной водой 3 раза. В целом микрорастении имиджинг осуществлялся в установке DVS-03. Флуоресценцию сенсора и зонда возбуждали диодом 490/20 нм, флуоресцентный сигнал принимали с помощью CMOS-камеры Prime 95B с фильтром 535/43 нм. Флуоресцентные изображения получали с экспозицией 2 с с частотой 10 с в программе Micro-Manager 1.4 и затем обрабатывали в программе ImageJ 1.52p – очищали изображения от фоновой засветки.

2.2.5.3. Флуоресцентный имиджинг цитозольного H_2O_2

Изменение уровня H_2O_2 в цитозоле определяли по изменению испускаемой флуоресценции ратиометрического сенсора HyPer7. Целые микрорастения анализировали в установке DVS-03. Флуоресценцию сенсора возбуждали диодами с длиной волны 395/25 нм и 490/20 нм, флуоресцентный сигнал принимали с помощью CMOS-камеры Prime 95B с фильтром 535/43 нм. Флуоресцентные изображения получали с экспозицией 2 с с частотой 15 с в программе Micro-Manager 1.4. Затем изображения обрабатывали в программе ImageJ 1.52p: очищали изображения от фоновой засветки и делили изображения, полученные при освещении диодом 490/20 нм, на изображения, полученные при освещении диодом 395/25 нм для получения соотношения сигналов F490/F395 (R).

2.2.5.4. Флуоресцентный имиджинг Na^+

Изменение уровня Na^+ в клетках и органах растений визуализировали с помощью флуоресцентного Na^+ -чувствительного зонда CoroNa Green AM. Раствор 20 мкМ CoroNa Green AM загружали через корень микрорастения тремя циклами вакуумной инфльтрации в течение 5 минут при давлении 0,2 атмосферы. После этого корни промывали трижды дистиллированной водой.

Динамику изменения Na^+ в корнях регистрировали в установке DVS-03. Флуоресценцию зонда возбуждали диодом 490/20 нм, флуоресцентный сигнал принимали с помощью CMOS-камеры Prime 95B с фильтром 535/43 нм. Флуоресцентные изображения получали с экспозицией 2 с с частотой 10 с в программе Micro-Manager 1.4 и затем обрабатывали в программе ImageJ 1.52p – очищали изображения от фоновой засветки.

Флуоресцентные изображения клеток и тканей корня и стебля получали с помощью CLSM с объективом Plan-Apochromat 20×/0,5. Флуоресценцию зонда возбуждали лазером с длиной волны 488 нм, сигнал принимали в диапазоне 505-525 нм. Флуоресцентные изображения обрабатывали в программе Zen 2.1.

2.2.6. Ингибиторный анализ

Для оценки влияния ингибиторов на активность фотосинтеза, CWSI, накопление Na^+ , уровень pH, Ca^{2+} и H_2O_2 использовали ингибитор Ca^{2+} -проницаемых каналов – 1 мМ LaCl_3 (лантана хлорид (Sigma-Aldrich, США)), ингибитор H^+ -АТФаз Р-типа – 2,5 мМ Na_3VO_4 (натрия ортованадат (Sigma-Aldrich, США)), ингибитор фосфатидилинозитол-4-киназы – 40 мкМ $\text{C}_6\text{H}_5\text{AsO}$ (фениларсин оксид (MacIin, КНР)), ингибитор Na^+/H^+ -обменников – 0,1 мМ $\text{C}_6\text{H}_8\text{ClN}_7\text{O}$ (амилорида гидрохлорид (TCI, Япония)), ингибитор НАДФН-оксидаз – 40 мкМ $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClI}$ (дифенилиодониума хлорид (Sigma-Aldrich, США)). Стоковые растворы $\text{C}_6\text{H}_5\text{AsO}$, $\text{C}_6\text{H}_8\text{ClN}_7\text{O}$ и $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClI}$ готовили на основе 100% диметилсульфоксида, растворы всех ингибиторов, которыми обрабатывали растения, готовили на основе стандартного раствора. В качестве контроля для $\text{C}_6\text{H}_5\text{AsO}$, $\text{C}_6\text{H}_8\text{ClN}_7\text{O}$ и $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClI}$ использовали конечную концентрацию диметилсульфоксида в стандартном растворе. Ингибиторы загружали в растение с помощью инкубации корней целого микрорастения, или участка стебля размером 1,5 см для LaCl_3 в течение двух часов. Na_3VO_4 также загружали в отделённые листья взрослого растения через черешок вакуумной инфльтрацией в течение 5 минут при давлении 0,2 атмосферы.

2.2.7. Внеклеточная регистрация электрической активности

Внеклеточные электрические потенциалы измеряли с помощью Ag^+/AgCl электродов ЭВЛ-1МЗ (Гомельский завод измерительных приборов, Белоруссия), заполненных 3М KCl, высокоомного усилителя ИПЛ-113 (Семико, Россия) и компьютера. Электроды расставляли в случае экспериментов с элементом Пельтье и с керамическим резистором следующим образом: электрод сравнения устанавливали в землю горшка, в котором росло растение, а измерительные электроды – на листе, на который оказывается воздействие. В случае с экспериментами с микрорастениями установка электродов была следующей:

1. электрод сравнения устанавливали на самый верхний лист, один измерительный электрод – в раствор, омывающий корни, второй – на стебле в 1 см от корня, третий – на стебле в 8 см от корня;

2. электрод сравнения устанавливали в раствор, омывающий корни, один измерительный электрод – в раствор, омывающий самый верхний лист, второй – на стебле в 11 см от корня, третий – на стебле в 8 см от корня.

2.2.8. Регистрация изменения толщины стебля

Прохождение гидравлических сигналов по стеблю микрорастения определяли по изменению толщины стебля, которое измеряли с помощью системы, включающей лазерный дистанционный сенсор (SICK, ФРГ), блока оценки данных AOD1 (SICK, ФРГ) и аналого-цифровых преобразователей LTR12 в крэйте LTR-EU-2-5 (L-Card, Россия). Частота записи составляла 10 Гц. Данные записывали с помощью программы L Card Measurement Studio 1.1.0 (L-Card, Россия).

2.2.9. Измерение концентрации Na^+ , K^+ и Cl^-

Концентрацию Na^+ , K^+ и Cl^- определяли с помощью селективных макроэлектродов в листьях. Перед измерениями была проведена пробоподготовка: листья были высушены при температуре 70°C в течение 48 часов и измельчены. Стандартную навеску растворяли в стандартном объёме дистиллированной воды и нагревали при температуре $+90^\circ\text{C}$ в течение трёх часов.

Содержание Na^+ в листьях и почве определяли с помощью Ag^+/AgCl ион-селективного стеклянного электрода ЭЛИС-112 Na (НПО «Измерительные технологии», Россия) и Ag^+/AgCl электрода сравнения ЭЛИС-1М3.1, заполненного 3М KCl (НПО «Измерительные технологии», Россия). Перед измерением активности иона pH раствора доводили выше 8 парами аммиака.

Содержание K^+ определяли с использованием ион-селективного твердотельного электрода ЭЛИС-121K (НПО «Измерительные технологии», Россия) и Ag^+/AgCl электрода сравнения ЭЛИС-1М3.1, заполненного 1М Li_2SO_4 .

Концентрацию Cl^- определяли с помощью ион-селективного твердотельного электрода ЭЛИС-131Cl (НПО «Измерительные технологии», Россия) и Ag^+/AgCl электрода сравнения ЭЛИС-1М3.1, заполненного 1М KNO_3 .

Электроды были подключены к высокоомному усилителю ИПЛ-112

(«Семико», Россия). Полученные значения активности ионов были преобразованы в молярную концентрацию, пересчитанную на сухой вес.

2.2.10. Статистический анализ

Каждая серия экспериментов состояла не менее чем из 5 повторностей. В результатах представлены типичные записи отдельных измерений, средние значения, ошибки среднего, которые отображены в форме планок погрешностей. Анализируемые данные соответствовали нормальному распределению. Значимость различий определялась с помощью t-теста Стьюдента и методом двухфакторного дисперсионного анализа с поправкой Бонферрони с использованием программы GraphPad Prism 8. Уровень статистической значимости был установлен при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Получение и анализ свойств растений с ГКС

Первым этапом работ стало создание растений с ГКС, чувствительными к сигнальным молекулам. Для регистрации цитозольного pH использовали ратиометрический сенсор Pt-GFP, который обладает широким диапазоном pH-чувствительности – от 3,8 до 8,2 (Martinière et al., 2013). Pt-GFP имеет два пика в спектре поглощения флуоресценции – 390 и 475 нм – и пик эмиссии флуоресценции при длине волны 508 нм (Schulte et al., 2006). Изменение уровня Ca^{2+} в цитозоле определяли с помощью изменения флуоресценции сенсора Case12, который имеет пик на спектре поглощения флуоресценции при 490 нм и пик испускания флуоресценции – при 516 нм (Souslova et al., 2007). Изменение уровня АФК в цитозоле регистрировали с помощью pH-нечувствительного и H_2O_2 -чувствительного ратиометрического сенсора HyPer7. Он имеет пики на спектре поглощению флуоресценции при 400 и 499 нм и пик испускания флуоресценции при 516 нм (Pak et al., 2020). Растения с генетически кодируемыми сенсорами создают с помощью генетической трансформации, в частности с помощью агробактериальной трансформации.

Получение трансформантов большинства двудольных растений основано на способности соматических тканей к образованию новых побегов или корней, поэтому их в основном используют в качестве эксплантов при генетической трансформации. Новые органы могут образовываться через стадию каллусообразования – образования группы недифференцированных клеток – (непрямой органогенез) или минуя эту стадию (прямой органогенез) (Бутенко, 1999). Для индукции органогенеза картофеля применяют несколько типов сред на основе питательной среды MS, содержащие фитогормоны цитокинин 6-БАП и гормон ауксиновой природы НУК или ИУК (Hussain et al., 2005; Borna et al., 2010; Onamu et al., 2012; Широких и др., 2014; Munir et al., 2016). Среди гормонов ауксиновой природы для питательной среды для регенерации была выбрана ИУК, так как НУК вызывала преимущественно образование каллусов, но не побегов.

В результате агробактериальной трансформации картофеля было получено

18 регенерантов для гена Pt-GFP, 5 – для гена Case12 и 19 – для гена HyPer7.

3.1.1. Характеристика растений, трансформированных геном Pt-GFP

Характеризация полученных растений с ГКС включала три этапа: контроль наличия гена в геноме, анализ параметров флуоресценции трансформантов и анализ возможности регистрации сигнала сенсоров.

Для регенерантов по гену Pt-GFP была сделана ПЦР (рис. 3.1А), в результате которой было установлено, что у 17 из 18 регенерантов есть вставка гена Pt-GFP. Затем флуоресцентный сигнал всех трансформантов был проверен с помощью CLSM (рис. 3.1Б). Флуоресцентный сигнал в клетках трансформированных растений локализуется по краям клеток, то есть в цитозоле, и в ядрах, что типично для генетически кодируемых сенсоров без направляющей последовательности (Luther et al., 2021).

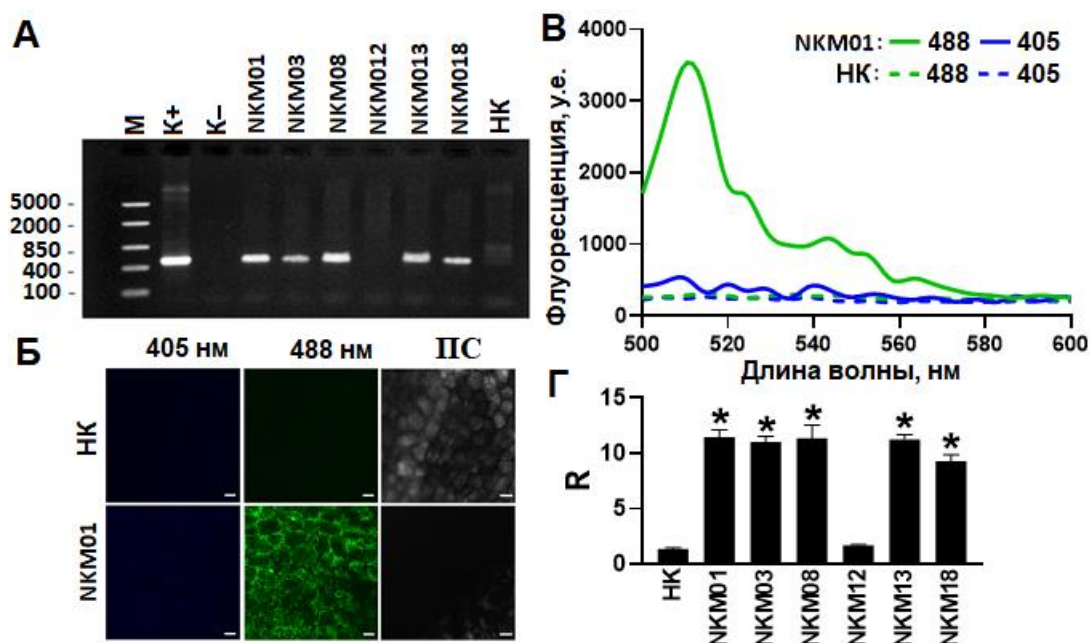


Рисунок 3.1. Характеристика созданных растений картофеля с сенсором Pt-GFP: А – Результаты электрофореза в агарозном геле продуктов ПЦР гена Pt-GFP из различных трансформантов (NKM01-NKM18), нетрансформированного картофеля (HK) и вектора pART27-ptGFP (K+); также представлены: М – маркер длин ДНК; К– – отрицательный контроль (без матрицы); Б – Анализ наличия флуоресценции сенсора Pt-GFP на адаксиальной стороне листа растения линии NKM01 и HK (при $\lambda_{ex}=405$ нм, $\lambda_{ex}=488$ нм); также представлены структуры ткани в проходящем свете (ПС); бар 20 мкм; В – Спектры испускания флуоресценции сенсора Pt-GFP в клетках стебля растения линии NKM01 и HK

Г – Сравнение R (сигнал, представленный в виде соотношения флуоресценции сенсора при $\lambda_{ex}=488$ и $\lambda_{ex}=405$ нм, принимаемой при 515 нм) мезофилла листа разных трансформационных линий (NKM01-NKM18) и НК.

* – статистически значимые различия с НК, $p<0,05$

При облучении клеток, трансформированных геном Pt-GFP, светом с длиной волны 405 и 488 нм был зафиксирован характерный для этого сенсора пик при 508 нм на спектре эмиссии, при этом при возбуждении флуоресценции светом с длиной волны 488 нм эмиссионный пик был с большей интенсивностью, что согласуется со спектральными характеристиками Pt-GFP (рис. 3.1В). Дальнейшие эксперименты проводили на растениях трансформационной линии 1 (NKM01). Выбор этой линии был основан на результатах выраженности характерного пика эмиссии Pt-GFP в тканях трансформированных растений (рис. 3.1Г).

Растения линии NKM01 использовали для их апробации в экспериментах для определения изменения уровня pH цитозоля в месте воздействия и в нераздражаемых областях при локальном воздействии. Перед проведением экспериментов были получены калибровочные зависимости отношения сенсора R от pH цитозоля, флуоресценция Pt-GFP была переведена в значения pH (рис. 3.2).

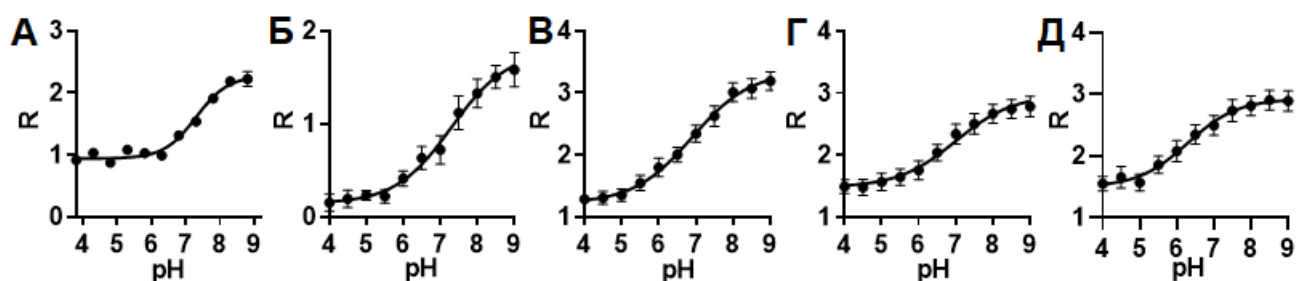


Рисунок 3.2. Калибровочные зависимости флуоресценции Pt-GFP (R) от pH цитозоля в целых листьях развитых растений для DVS03 (А) и PlantExplorerPro+ (Б), в листьях (В), в стебле (Г) (для PlantExplorerPro+) и корнях (Д) (для DVS03) микрорастений

Ступенчатое охлаждение и нагревание элементом Пельтье всего листа развитого растения приводило к изменениям pH цитозоля. Во время охлаждения листа происходило быстрое снижение флуоресценции Pt-GFP (рис. 3.3А), которое соответствовало закислению цитозоля. Величина сдвига pH напрямую зависела от степени охлаждения, а изменённый pH восстанавливался до исходного уровня

после окончания действия раздражителя (рис. 3.3Б). Максимальное охлаждение листа до 9°C снижало рН цитозоля на 0,21. При этом у нетрансформированного картофеля не происходило изменения автофлуоресценции (рис. 3.3В). Помимо изменения внутриклеточного рН, охлаждение вызывало временную деполяризацию мембран клеток листа, максимальная амплитуда которой составляла 30 мВ (рис. 3.3Б).

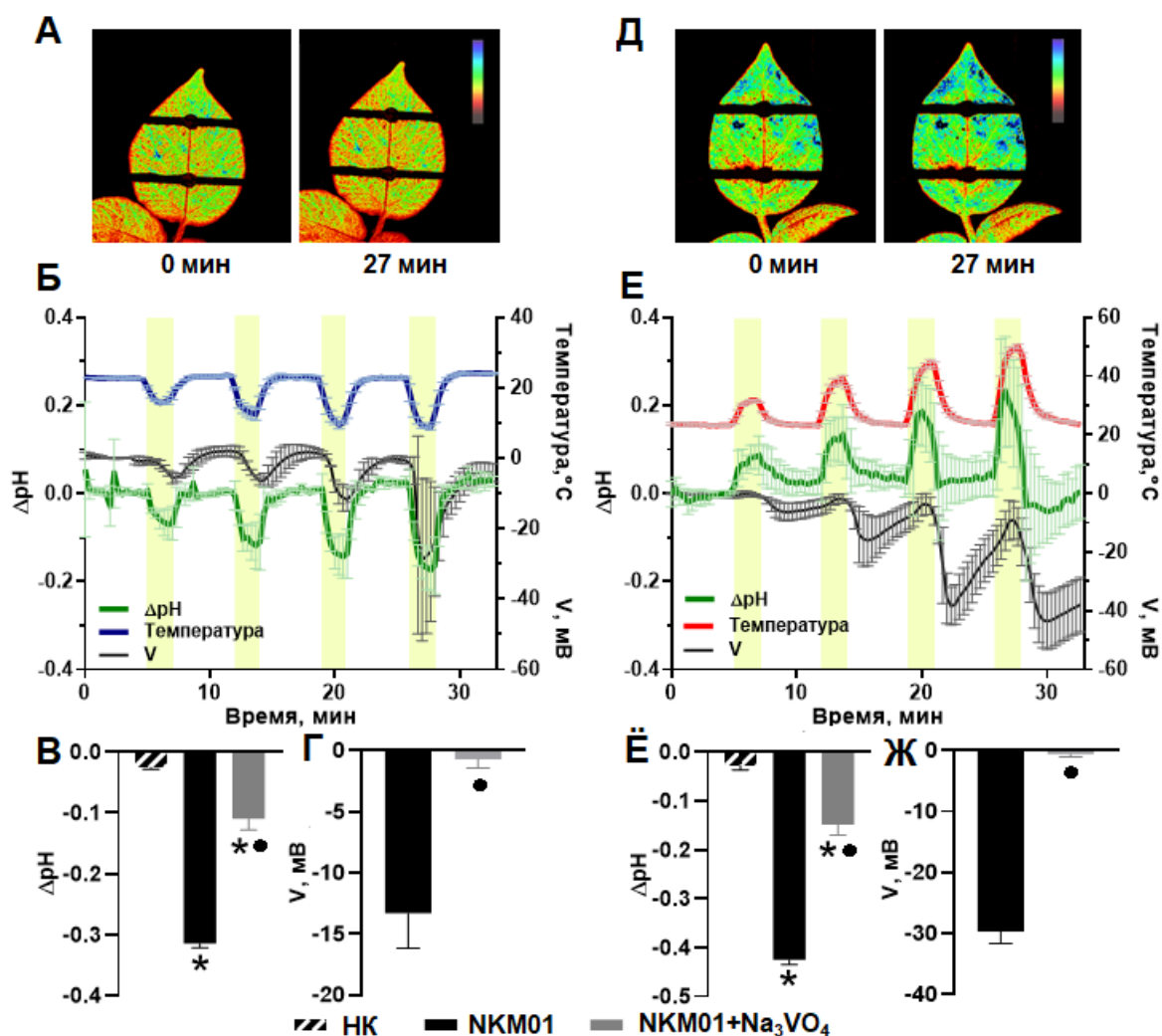


Рисунок 3.3. Вызванные температурой изменения рН цитозоля (ΔpH) и электрических потенциалов (V) в месте воздействия. Поверхность всего листа ступенчато с нарастанием силы воздействия либо охлаждалась (А, Б, В, Г), либо нагревалась (Д, Е, Ё, Ж). Псевдоцветные изображения демонстрируют изменение соотношения R до воздействия (0 мин) и во время максимального изменения температуры (27 мин) при охлаждении (А: охлаждение до 9°C на 27 мин) и нагревании (Д: нагревание до +50°C на 27 мин). На графиках Б и Е демонстрируется изменение температуры поверхности листа, ΔpH и V при охлаждении (Б) и нагревании (Г) листа. Жёлтыми прямоугольниками выделены области изменения температуры элемента Пельтье. Амплитуды ΔpH и V для нетрансформированного картофеля (НК), NKM01 и NKM01, обработанного Na₃VO₄ (NKM01+Na₃VO₄),

представлены также для охлаждения до 9,4°C (В – амплитуда закисления, Г – амплитуда V) и для нагревания до 42,9°C (Ё – амплитуда закисления, Ж – амплитуда V).

* – статистически значимые различия с НК, $p < 0,05$

• – статистически значимые различия NKM0+Na₃VO₄ с NKM01, $p < 0,05$

Закисление цитозоля, зарегистрированное в наших экспериментах в случае охлаждения листа картофеля, соответствует направлению холодových сдвигов pH для *Vigna radiata* и *Arabidopsis thaliana* (Yoshida, 1994; Yoshida et al., 1999; Kawamura, 2008; Kadohama et al., 2013; Barnes et al., 2016). Зарегистрированная величина сдвига pH у растений картофеля в целом несколько меньше, чем у *Vigna radiata* (снижение на 0,6 через 4 часа охлаждения при 0°C) (Yoshida, 1994), у *Annona cherimola* (снижение на 0,72 через 3 дня охлаждения при 6°C) (Muñoz et al., 2001) и у *Arabidopsis thaliana* (снижение на 0,1-0,3 через 1 час охлаждения при 4°C) (Barnes et al., 2016). Различия могут быть обусловлены как большей силой и продолжительностью охлаждения (Muñoz et al., 2001), так и разной чувствительностью растений разных видов к охлаждению.

Снижение pH цитозоля при охлаждении могло быть вызвано подавлением активности H⁺-АТФазы плазмалеммы (Kinoshita et al., 1995), что также вызывает развитие деполяризации (Bobik et al., 2010; Muzi et al., 2016). Использование ингибитора H⁺-АТФаз ортованадата натрия подтвердило это предположение: ингибитор подавлял амплитуды закисления цитозоля и деполяризации (рис. 3.3В и Г). Снижение активности H⁺-АТФазы плазмалеммы, вызванное охлаждением, могло быть связано с притоком Ca²⁺ в клетку (Kinoshita et al., 1995). Наряду с H⁺-АТФазой плазмалеммы в ответ на холодовой стресс, по-видимому, участвует и вакуолярная H⁺-АТФаза, так как ранее регистрировали также увеличение pH вакуоли наряду со снижением цитозольного pH (Yoshida et al., 1999; Kawamura, 2008). Другим способом влияния низких температур на активность H⁺-АТФазы может быть увеличение жесткости плазматической мембраны (Lindberg et al., 2005; Yan et al., 2009; Shi et al., 2015; Niu, Xiang, 2018).

Нагревание вызывало, напротив, увеличение уровня флуоресценции Pt-GFP (рис. 3.3Д), что соответствовало повышению pH цитозоля (рис. 3.3Е). При этом

изменения автофлуоресценции тканей листа также были незначительными на фоне изменения флуоресценции Pt-GFP (рис. 3.3Ё). Цитозольный pH увеличивался максимально на 0,3, что сопровождалось гиперполяризацией мембраны (рис. 3.3Е). Эти изменения цитозольного pH могли быть вызваны как прямым воздействием температуры на липидную матрицу мембраны (Niu, Xiang, 2018), так и регуляцией активности путем обратимого фосфорилирования H^+ -АТФазы плазмалеммы (Janicka-Russak, Kabała, 2012).

При достижении температуры 35-40°C начиналось быстрое закисление цитозоля и деполяризация мембраны, максимальная амплитуда которой составляла 35 мВ; при этом нагревание вызывало генерацию переменного потенциала (рис. 3.3Е). Схожие изменения происходили в нераздражённых областях листа при локальном ожоге кончика листа нагревательным элементом (рис. 3.4А). Локальное нагревание вызывало небольшое повышение температуры в области О1, близкой к зоне воздействия (рис. 3.4Б и В), однако схожие изменения pH – сначала повышение, затем снижение – со снижением амплитуды и сдвигом изменений наблюдались в более отдаленной области О2 (рис. 3.4Г).

Глубокая волна деполяризации – переменного потенциала (Yan et al., 2009; Yudina et al., 2020) – распространялась за пределы стимулированной зоны (рис. 3.4В и Г). Генерация переменного потенциала связана с инактивацией H^+ -АТФазы плазмалеммы, происходящей при превышении пороговой температуры (Zhao et al., 2011) или при длительном воздействии субпороговых температур (Mariamma et al., 1997; Zhang et al., 2006). В условиях действия ингибитора Na_3VO_4 происходило снижение амплитуды закисления цитозоля и деполяризации, что доказывает роль H^+ -АТФазы плазмалеммы в этих событиях (рис. 3.3Ё и Ж). Инактивация H^+ -АТФазы плазмалеммы и последующее закисление цитозоля могли быть результатом более ранних быстрых событий: изменения свойств мембран и активации сигнального каскада с участием липидных мессенджеров, высвобождения Ca^{2+} и генерации АФК (Li et al., 2018; Niu, Xiang, 2018). Изменения pH, связанные с распространением сигналов на большие расстояния, были описаны ранее и представляют собой временное закисление цитозоля, что соответствует

нашим результатам, наряду с защелачиванием апапласта (Wilkinson, 1999; Felle, 2001; Wegner, Zimmermann, 2004; Vodeneev et al., 2011; Sukhov et al., 2015; Zhao et al., 2015; Muzi et al., 2016; Geilfus, 2017).

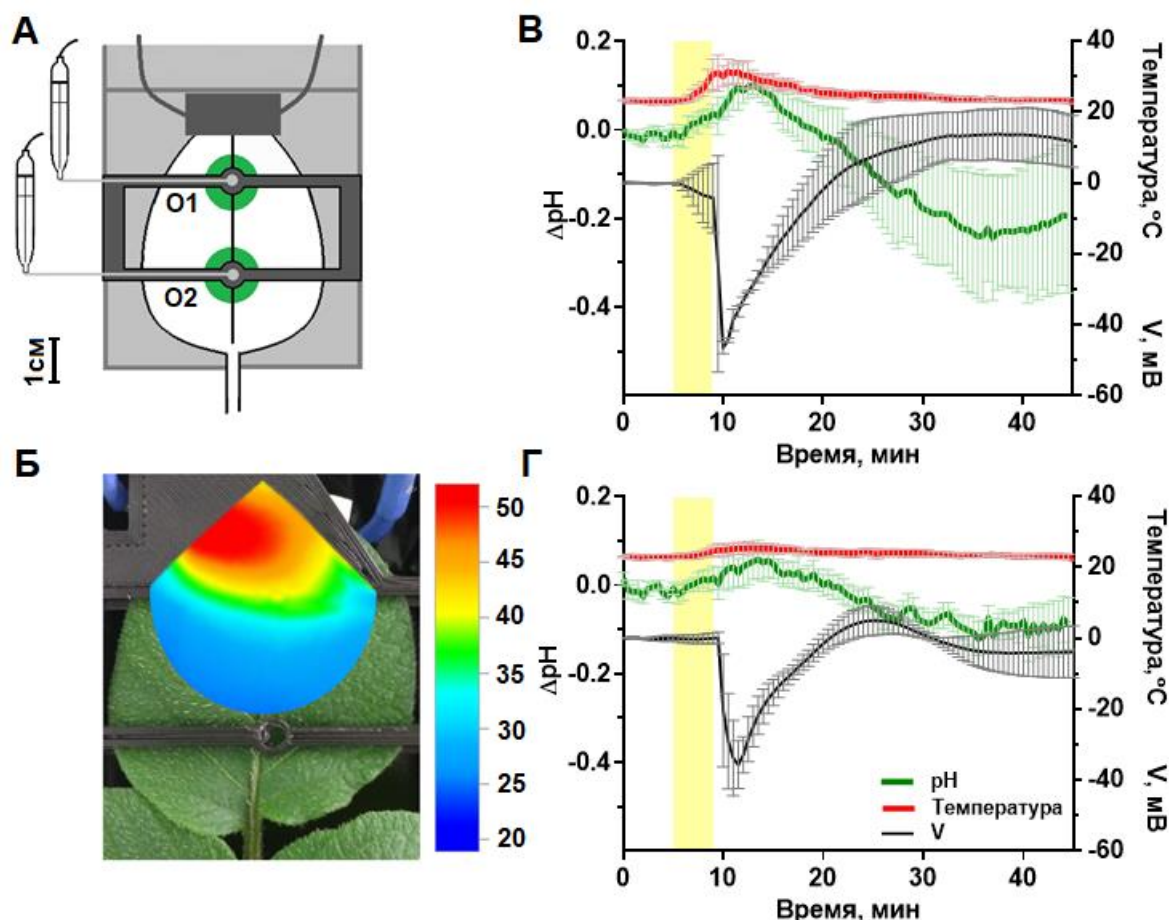


Рисунок 3.4. Вызванные ожогом нагревательным элементом изменения pH цитозоля. На схеме А представлены области измерения pH цитозоля (O1 и O2) и установки измерительных электродов. Нагревательный элемент располагался на кончике листа, температура поверхности листа на пике нагревания (+52°C) представлена на термограмме (Б). Амплитуда изменения pH (ΔpH) и электрических потенциалов (V) была большей в зоне O1 (В) по сравнению с O2 (Г). Жёлтым прямоугольником выделена область продолжительности нагревания

Проведённые эксперименты с созданными растениями картофеля с pH-чувствительным флуоресцентным сенсором Pt-GFP показали возможность использования этих растений для изучения изменения pH цитозоля как в месте воздействия, так и в нераздраженных частях растения при прохождении распространяющихся сигналов о стрессовом воздействии.

3.1.2. Характеристика растений, трансформированных геном Case12

Анализ ПЦР показал, что в случае генетической трансформации геном Case12 в 5 регенерантах из 5 была обнаружена вставка гена (рис. 3.5А). Сенсор Case12 в отсутствие Ca^{2+} имеет низкую интенсивность испускаемой флуоресценции, при этом его диапазон чувствительности к Ca^{2+} составляет 0,1-1000 мкМ (Souslova et al., 2007); и так как концентрация Ca^{2+} в цитозоле составляет 0,1 мкМ (Stael et al., 2012b), что находится на грани диапазона чувствительности сенсора, то уровень флуоресценции сенсора минимален. При связывании чувствительных доменов Case12 с Ca^{2+} интенсивность флуоресценции сенсора увеличивается до 12 раз (Souslova et al., 2007). CLSM позволила зафиксировать разницу испускаемой флуоресценции трансформанта по сравнению с контролем без стимулирующего воздействия (рис. 3.5Б и В).

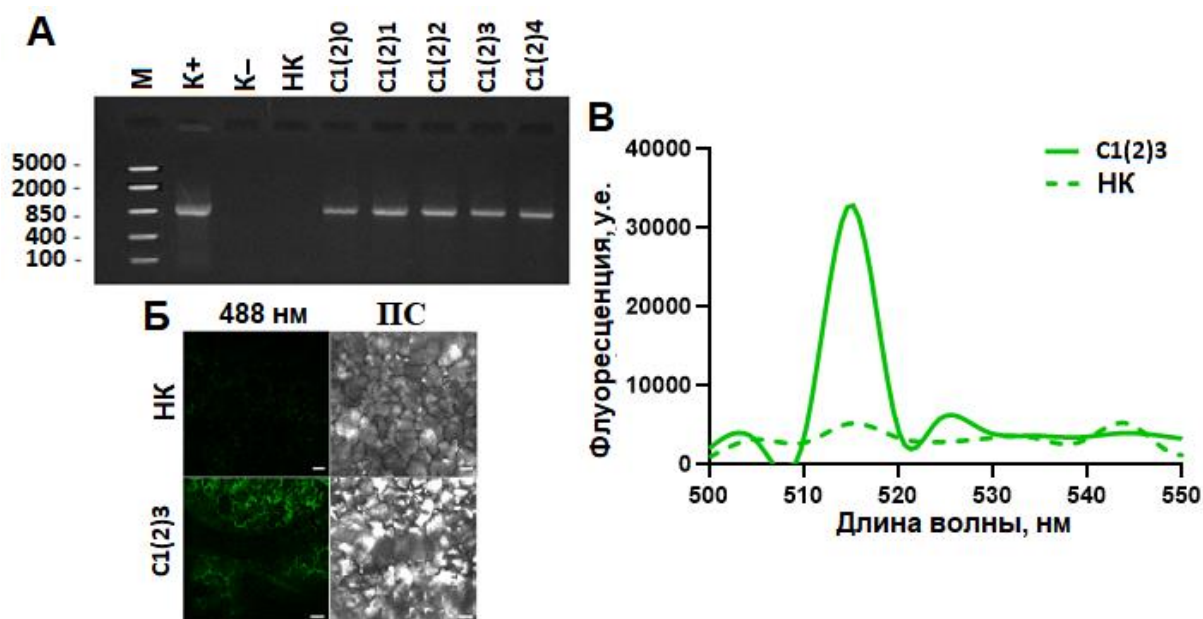


Рисунок 3.5. Характеристика растений картофеля с сенсором Case12:

А – Результаты электрофореза в агарозном геле продуктов ПЦР гена Case12 из различных трансформантов (C1(2)0-C1(2)4), нетрансформированного картофеля (НК) и вектора pH7WG2-Case12 (K+); также представлены: М – маркер длин ДНК; К– – отрицательный контроль (без матрицы);

Б – Анализ наличия флуоресценции сенсора Case12 на адаксиальной стороне листа растения линии C1(2)3 и НК при $\lambda_{\text{ex}}=488$ нм; также представлены структуры ткани в проходящем свете (ПС); бар 20 мкм;

В – Спектры испускания флуоресценции сенсора Case12 в клетках листа растения линии C1(2)3 и НК

Case12 реагировал увеличением флуоресценции в ответ на добавление ионофора а23187 (рис. 3.6). Схожая реакция другого Ca^{2+} -чувствительного сенсора на это же вещество была обнаружена в корне *A. thaliana* (Monshausen et al., 2009).

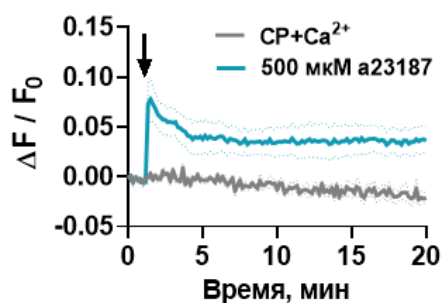


Рисунок 3.6. Вызванные 500 мкМ а23187 изменения флуоресценции Case12 ($\Delta F/F_0$) в корнях растения линии С1(2)3. В качестве контроля использовали стандартный раствор, содержащий 5 мМ CaCl_2 (CP+ Ca^{2+}). Стрелкой указан момент добавления

Многие воздействия индуцируют повышение уровня Ca^{2+} , что должно привести к увеличению флуоресценции Case12. Чтобы определить трансформационную линию с самой высокой интенсивностью испускаемой флуоресценции, на один из листьев микрорастения наносили ожог, а изменение флуоресценции регистрировали в разных зонах стебля и в листьях (рис. 3.7А и Б).

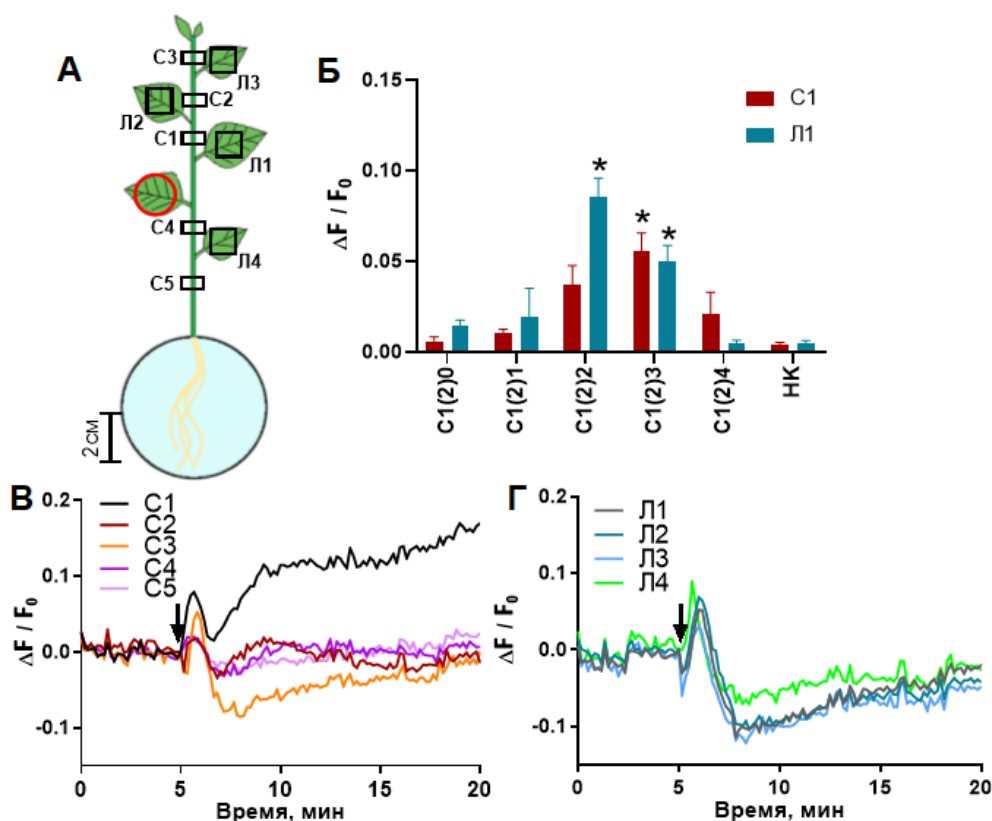


Рисунок 3.7. Вызванные ожогом изменения флуоресценции Case12 ($\Delta F/F_0$, где F – принимаемый при 535 нм сигнал при $\lambda_{\text{ex}}=490$ нм).

А – схема расположения областей интереса (С1-С5 и Л1-Л4), красной окружностью выделен лист, подвергшийся ожогу;

Б – Амплитуда $\Delta F/F_0$ в областях С1 и Л1 разных трансформационных линий (С1(2)0-С1(2)4) и в нетрансформированном картофеле (НК); * – статистически значимые различия с НК, $p < 0,05$.

В – $\Delta F/F_0$ Case12 в стебле, а также в листьях (Г) для линии С1(2)3. Стрелкой указан момент нанесения воздействия. Представлена типичная запись

Линия С1(2)3 была выбрана для проведения дальнейших экспериментов, так как у неё была максимальная флуоресценция Case12 как в листьях, так и в стебле. Ожог листа вызывал распространение волны изменения флуоресценции сенсора по стеблю как в сторону апикальной почки, так и в сторону корня (рис. 3.7В), а также в листьях (рис. 3.7Г). Аналогичная реакция была зафиксирована в жилке при ожоге пламенем листа у *Vicia faba* (Furch et al., 2009) и у *Arabidopsis thaliana* с распространением в нераздражаемые цветки (Grenzi et al., 2023), в стебле при ожоге нагревательным элементом листа у гороха (Khlopkov et al., 2021), в листе при ожоге его кончика нагревательным элементом у картофеля (Fisahn et al., 2004), во всем растении при ожоге листа у *Arabidopsis thaliana* (Jakšová et al., 2021), а также у *Arabidopsis thaliana* при ожоге листа светом, проходящем через каплю воды (Kuang et al., 2025). Генерация и распространение Ca^{2+} -волны при ожоге связаны с изменением электрических потенциалов плазмалеммы, точнее с генерацией переменного потенциала, который может влиять на потенциал-активируемые Ca^{2+} -проницаемые каналы; кроме этого, ожог вызывает изменения гидравлического давления, что может восприниматься механочувствительными Ca^{2+} -проницаемыми каналами (Hlaváčková et al., 2006; Furch et al., 2009; Huber, Bauerle, 2016). После быстрого увеличения флуоресценции сенсора происходило резкое её падение, которое также наблюдалось в случае различных воздействий в других исследованиях (Bose et al., 2011; Jakšová et al., 2021; Alcon, Xiong, 2023). Снижение флуоресценции могло быть связано как с фотовыгоранием флуоресцентного сенсора (Scheenen et al., 1996; Czymmek et al., 2025), так и с быстрым удалением Ca^{2+} из цитозоля до концентраций ниже константы диссоциации сенсора (van der Linden et al., 2025).

Таким образом растения трансформационной линии С1(2)3 можно использовать для изучения распространения волн Ca^{2+} в разных органах растения.

3.1.3. Характеристика растений, трансформированных геном HyPer7

Для HyPer7 было обнаружено, что 16 из 19 регенерантов имели вставку целевого гена (рис. 3.8А).

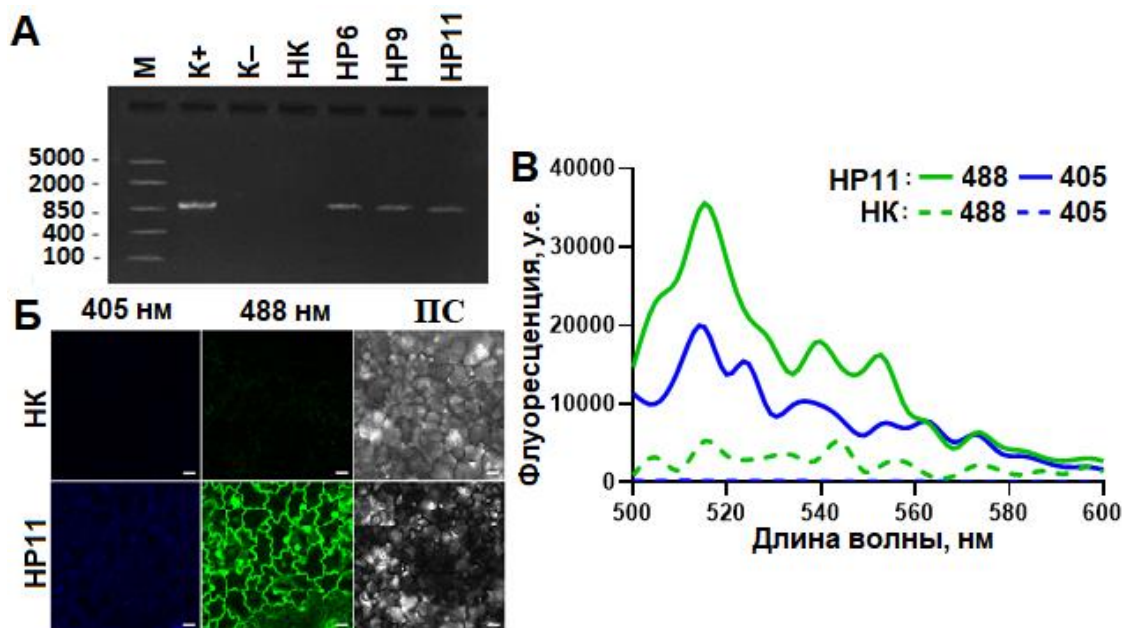


Рисунок 3.8. Характеристика растений картофеля с сенсором HyPer7:

А – Результаты электрофореза в агарозном геле продуктов ПЦР гена HyPer7 из различных трансформантов (HP6, HP9, HP11), нетрансформированного картофеля (HK) и вектора pART27-HyPer7 (K+); также представлены: М – маркер длин ДНК; К– – отрицательный контроль (без матрицы);

Б – Анализ наличия флуоресценции сенсора HyPer7 на адаксиальной стороне листа растения линии HP11 и HK (при $\lambda_{\text{ex}}=405$ нм, $\lambda_{\text{ex}}=488$ нм); также представлены структуры ткани в проходящем свете (ПС); бар 20 мкм;

В – Спектры испускания флуоресценции сенсора HyPer7 в клетках листа растения линии HP11 и HK

Флуоресцентный сигнал в клетках трансформантов также локализовался в цитозоле и ядре (рис. 3.8Б), спектры испускания флуоресценции при возбуждении лазерами с длиной волны 405 и 488 нм имели характерный пик при 515 нм (рис. 3.8В).

Трансформационную линию для дальнейших экспериментов отбирали с помощью активации сенсора в листе при добавлении 10% (3М) H_2O_2 со

смачивателем Сильвет 408. HyPer7 с помощью чувствительных доменов ОхуR детектирует H_2O_2 (Pak et al., 2020), который способен диффундировать через плазмалемму и аквапорины в клетку (Bienert, Chaumont, 2014; Černý et al., 2018). Ранее для растений *Arabidopsis thaliana* (Haber et al., 2021) и картофеля (Hipsch et al., 2021) уже применяли высокие концентрации H_2O_2 (0,5-1 М) для проверки функционирования редокс-чувствительного флуоресцентного сенсора. Добавление H_2O_2 вызывало видимое повышение флуоресценции сенсора в листе у нескольких линий (рис. 3.9А).

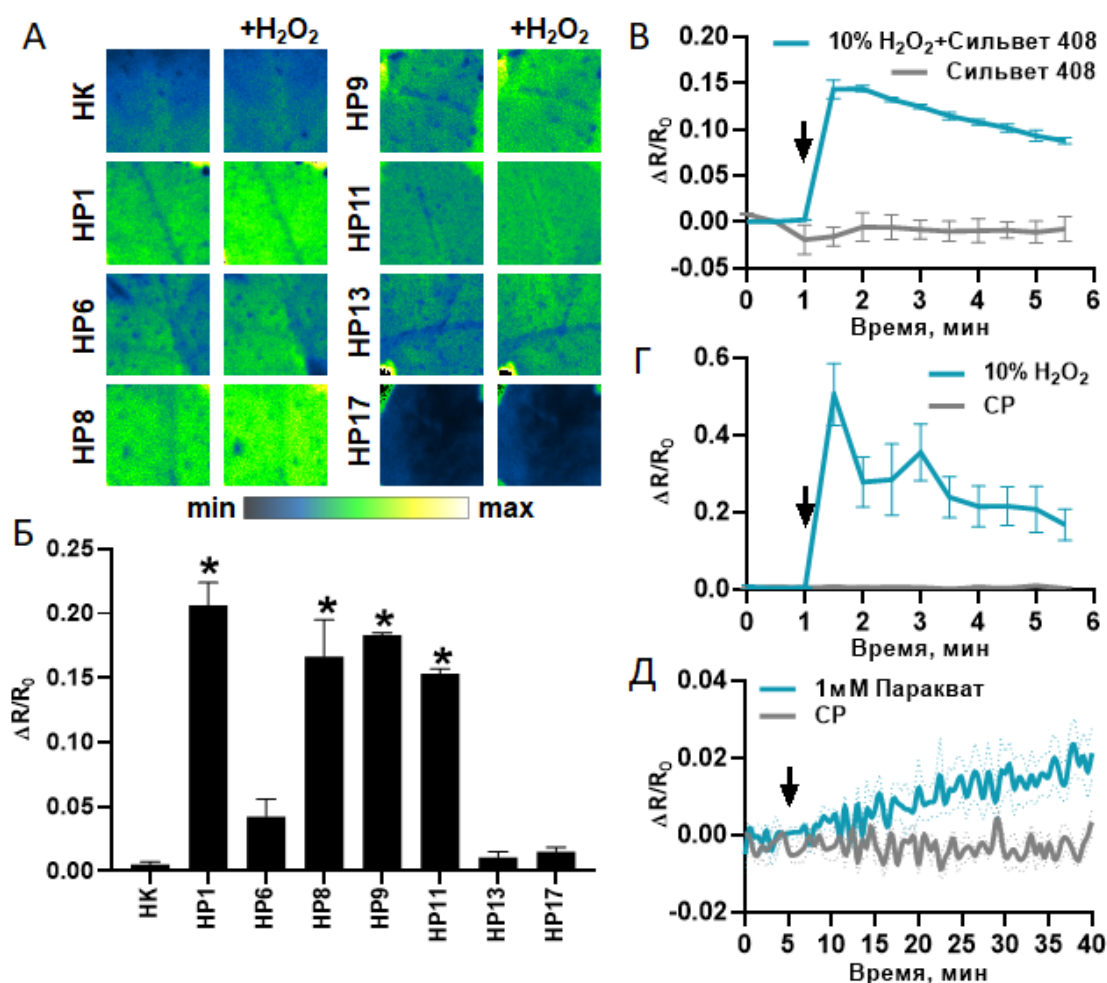


Рисунок 3.9. Реакция флуоресценции сенсора HyPer7 ($\Delta R/R_0$, где R – сигнал, представленный в виде соотношения флуоресценции сенсора при $\lambda_{ex}=395$ и $\lambda_{ex}=490$ нм, принимаемой при 535 нм) на обработку H_2O_2 . Псевдоцветные изображения (А) демонстрируют реакцию сенсора HyPer7 в листе у разных трансформационных линий (HP1-HP17) и в нетрансформированном картофеле (НК), а на диаграмме (Б) представлено сравнение амплитуд их $\Delta R/R_0$.

* – статистически значимые различия с НК, $p < 0,05$.

Нанесение на лист (В) картофеля (линия HP11) 10% H_2O_2 с 0,05% Сильвет 408 и приливание к корням 10% H_2O_2 (Г) (синий цвет) приводят к повышению $\Delta R/R_0$. На

той же трансформационной линии также представлены вызванные добавлением 1 mM параквата изменения $\Delta R/R_0$ (Д). Контрольная обработка – серый цвет. Стрелкой указан момент добавления

Таким образом были выбраны 4 линии, имеющие достоверно значимое повышение флуоресценции в ответ на обработку (рис. 3.9Б); флуоресценция сенсора со временем падала (рис. 3.9В), что вероятно связано с восстановлением HyPer7 или его выгоранием. Добавление H_2O_2 к корням приводило также к увеличению интенсивности флуоресценции сенсора (рис. 3.9Г), как и обработка корней индуктором АФК 1 mM паракватом (Bulgakov et al., 2012; Moustaka et al., 2015; Dmitrieva et al., 2021) (рис. 3.9Д). В результате этих экспериментов для дальнейшей работы была выбрана линия НР11.

На растениях линии НР11 был проделан аналогичный линии С1(2)3 эксперимент с ожогом пламенем листа для определения уровня флуоресцентного сигнала и его распространения (рис. 3.10А). Сигнал регистрировался во всём побеге, его распространение в ответ на стимул фиксировали как в стебле (рис. 3.10Б), так и в листьях (рис. 3.10В).

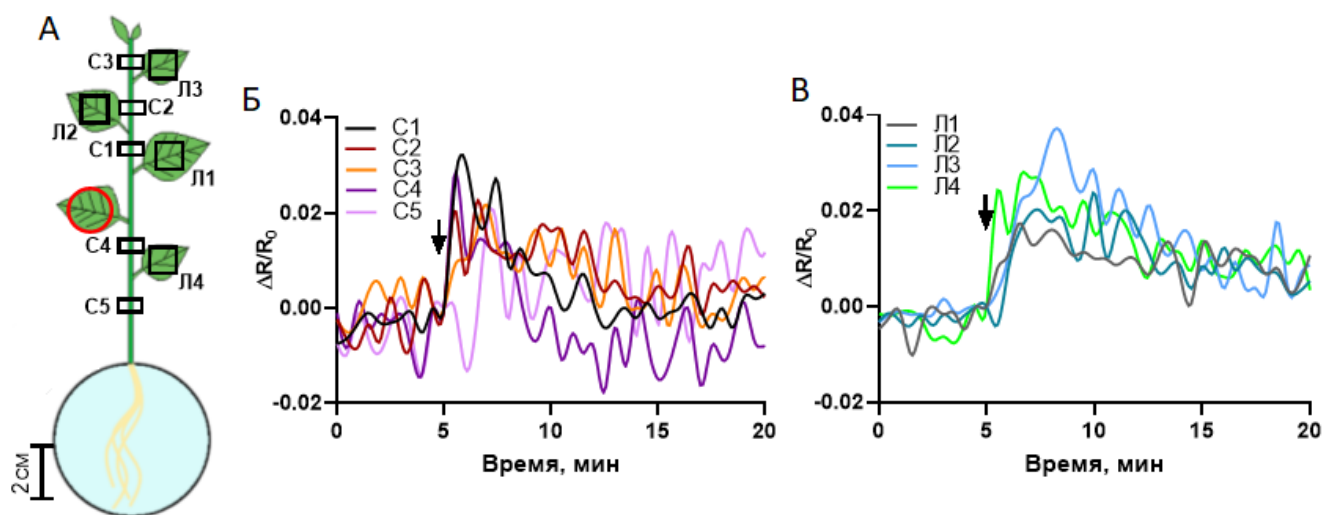


Рисунок 3.10. Вызванные ожогом изменения флуоресценции HyPer7 ($\Delta R/R_0$) у растения линии НР11.

А – схема расположения областей интереса (С1-С5 и Л1-Л4), красной окружностью выделен лист, подвергшийся ожогу;

Б – Изменение $\Delta R/R_0$ в стебле, а также в листьях – В. Представлена типичная запись. Стрелкой указан момент добавления

Обнаруженное нами повышение уровня H_2O_2 и распространение волны АФК

в интактные зоны в ответ на локальный ожог было также зарегистрировано только для *Arabidopsis thaliana* и *Taraxacum officinale* в листе (Szechyńska-Hebda et al., 2022). Ожог можно рассматривать как комбинацию механического и высокотемпературного воздействия. Для механического повреждения (Suzuki et al., 2013; Fichman et al., 2019; Lew et al., 2020) и для локального нагревания (Suzuki et al., 2013) были показаны генерация волны АФК и её распространение в нераздражённые области растения. При локальном ожоге, который является повреждающим воздействием, генерация сигнала АФК связана с повышением уровня Ca^{2+} в цитозоле (Huber, Bauerle, 2016; Choi et al., 2017).

Таким образом, растения линии HP11 показали возможность регистрировать распространяющиеся сигналы АФК при локальном воздействии. Растения этой линии использовали в последующих экспериментах.

В результате выполнения этого блока работ с помощью агробактериальной трансформации были созданы растения картофеля, экспрессирующие гены флуоресцентных сенсоров Pt-GFP, Case12 или HyPer7. Вставка целевых генов в трансформантах была подтверждена с помощью электрофореза в агарозном геле из ПЦР-продуктов, а спектральные свойства сенсоров и их локализация в клетках была исследована с помощью CLSM. Индукция сигналов с помощью тестовых воздействий подтвердила возможность использования растений с такими сенсорами для изучения сигнальных систем Ca^{2+} , АФК. Далее в исследовании влияния засоления на сигнальные системы картофеля использовали растения трансформационных линий НКМ01 с рН-чувствительным сенсором Pt-GFP, C1(2)3 с Ca^{2+} -чувствительным сенсором Case12 и HP11 с H_2O_2 -чувствительным сенсором HyPer7.

3.2. Изменение активности фотосинтеза, вызванное засолением

Фотосинтез имеет важное значение для урожайности и при этом является одним из самых чувствительных к стрессорам, в том числе и к засолению, процессов у растений (Chauhan et al., 2023). В работе было проанализировано

влияние засоления у развитых растений возрастом 7-8 недель и микрорастений возрастом 5 недель на параметры флуоресценции хлорофилла: F_v/F_m , Φ_{PSII} и NPQ. Для анализа использовали у развитых растений лист среднего яруса (рис. 3.11A), у микрорастений – также среднего яруса, расположенного на расстоянии 8-8,5 см от корня (рис. 3.12A).

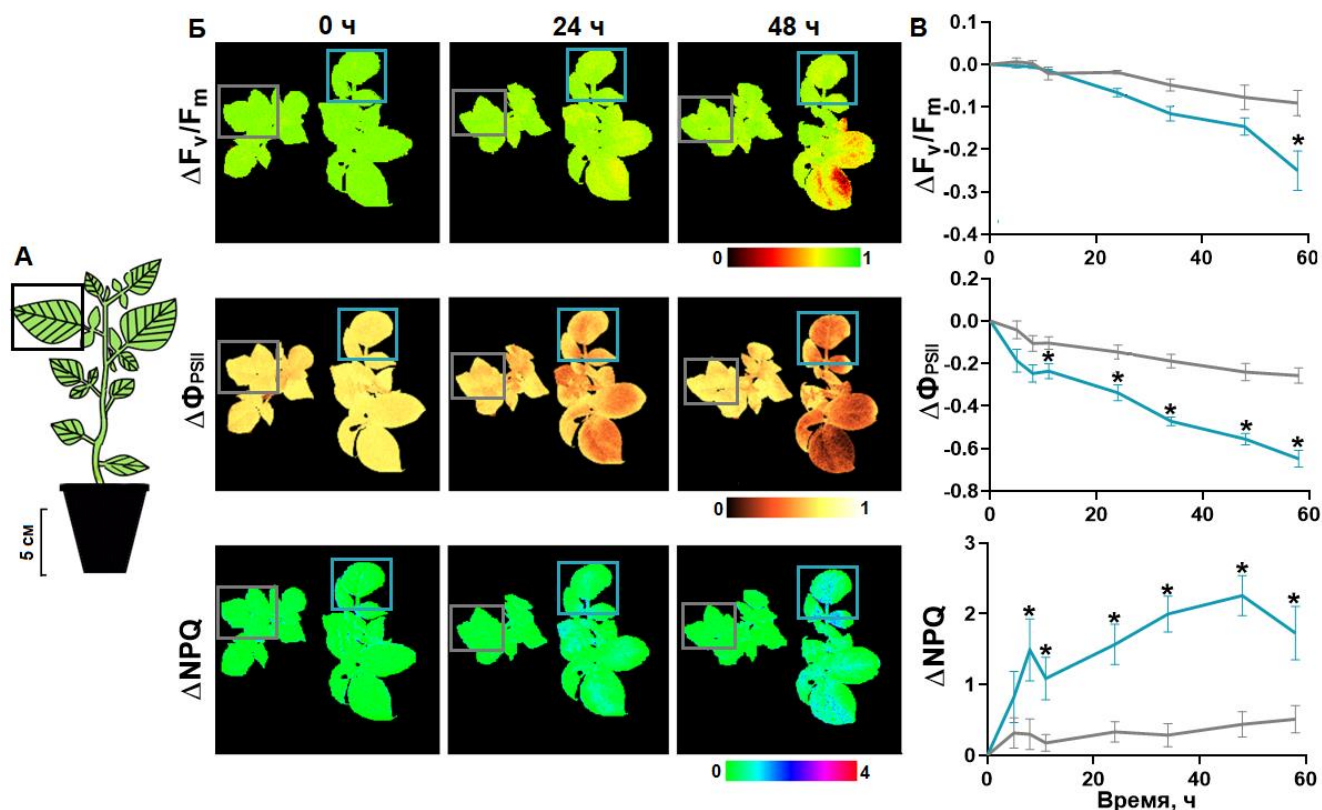


Рисунок 3.11. Влияние NaCl на параметры флуоресценции хлорофилла в листьях развитых растений картофеля (A). Прямоугольником выделен исследованный лист. Изменения F_v/F_m , Φ_{PSII} и NPQ демонстрируются как визуализация всего растения в псевдоцветовой шкале в контрольных (серый цвет) и обработанных солью (синий цвет) растениях в трех временных точках (0, 24 и 48 часов) (Б), а также в виде изменений относительно значений до нанесения воздействия (В).

* – статистически значимые различия с контролем, $p < 0,05$

Засоление у развитых растений и микрорастений картофеля ранее всего влияло на параметры использования энергии поглощенного света. При обработке почвы раствором NaCl содержание Na^+ увеличивалось до 150 ммоль/кг сухого веса, что приводило к различным негативным последствиям также в других исследованиях (Ropelewska, Zapotoczny, 2017). Вследствие этой обработки Φ_{PSII} , отражающий эффективность использования поглощенной энергии света ФСП, снижался через 10 часов засоления, а NPQ, характеризующий тепловые потери

энергии поглощенного света, напротив, повышался (рис. 3.11Б и В). Максимальная амплитуда угнетения составляла 0,38 для Φ_{PSII} и 1,4 для NPQ. Стоит отметить, что снижение активности фотосинтеза происходило немонотонно: можно выделить две последовательные фазы, которые особенно хорошо заметны для NPQ.

При обработке корней микрорастений растворами 100 мМ (рис. 3.12Б) и 200 мМ (рис. 3.12В) NaCl параметры использования энергии поглощенного света изменялись схоже: амплитуда повышения NPQ достигала 2,2-3,5, а амплитуда снижения Φ_{PSII} – 0,29-0,32. Происходило падение Φ_{PSII} и повышение NPQ через 1 час после начала обработки NaCl. В этом случае активность фотосинтеза также падала в две последовательные фазы, что хорошо заметно в изменениях Φ_{PSII} и NPQ.

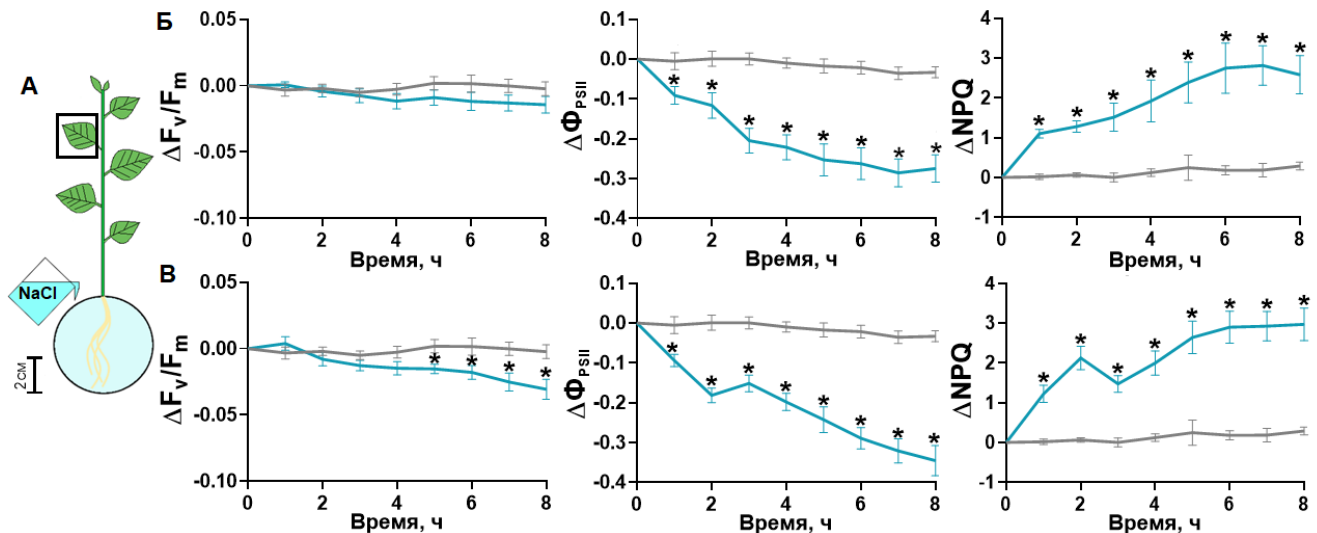


Рисунок 3.12. Изменение активности фотосинтеза в листе микрорастения (А) во время обработки 100 мМ (Б) и 200 мМ (В) NaCl. Контроль включал растения, обработанные СР (серая линия). Данные представляют разницу в F_v/F_m , Φ_{PSII} или NPQ между временными точками до и после обработки.

* – статистически значимые различия с контролем, $p < 0,05$

Засоление приводило также к снижению F_v/F_m , отражающего целостность структуры ФСII и являющегося индикатором фотоингибирования (Гольцев и др., 2016). У развитых растений F_v/F_m снижался только через 56 часов от начала засоления, и амплитуда его снижения достигала 0,2, при этом тенденция к снижению была зарегистрирована через 24 часа от начала засоления (рис. 3.11В). Одновременно с этим снижением наблюдалось также падение уровня NPQ, что

может быть объяснено снижением способности к фотозащите (способности рассеивать тепло), а также ограничением ассимиляции CO_2 и дисбалансом фотохимической активности в фотосистеме II (Shin et al., 2021; Zuo, 2025). Этот дисбаланс связан с фотоингибированием реакционного центра и уменьшением транстилакоидного градиента рН, вызванного снижением скорости линейного переноса электронов или перекисным окислением липидов мембраны (Kalaji et al., 2014).

У микрорастений F_v/F_m начинал снижаться через 5 часов после добавления только 200 мМ NaCl (рис. 3.12В), следовательно, при обработке 100 мМ NaCl (рис. 3.12Б) наступления структурных изменений фотосинтетического аппарата не происходило. У микрорастений по сравнению с развитыми растениями на фоне снижения F_v/F_m не происходило падения NPQ, что может свидетельствовать о том, что увеличение NPQ могло происходить за счёт фотоингибиторного компонента qI , который отражает, в основном, фотоокислительное повреждение белка D1 реакционного центра ФСII (Murchie, Ruban, 2020), а не компонента фотозащиты qE , уровня которого могло не хватить для защиты фотосистем, в следствие чего падает F_v/F_m (Zuo, 2025).

Для выявления наиболее ранних изменений активности фотосинтеза была выполнена регистрация Φ_{PSII} и NPQ с высоким временным разрешением, для чего в качестве модельного объекта использовали микрорастения картофеля. При обработке 200 мМ NaCl Φ_{PSII} статистически значимо снижался через 110 мин обработки солью, а NPQ повышался уже через 23 минуты (рис. 3.13).

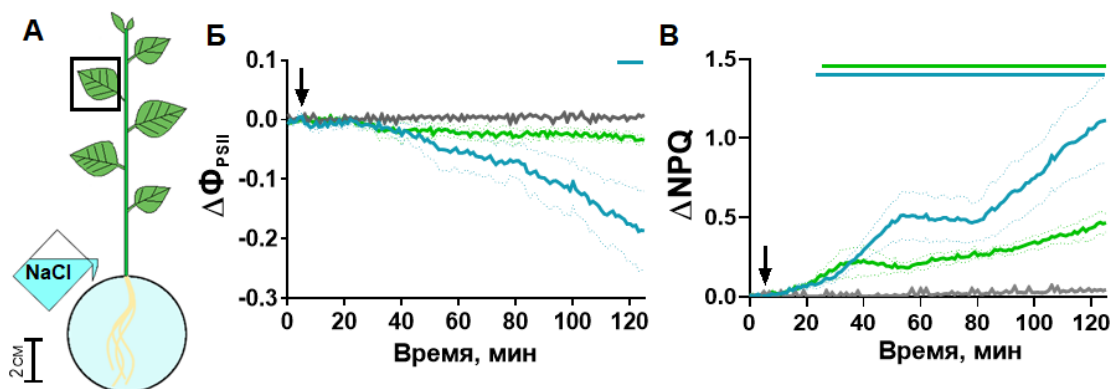


Рисунок 3.13. Влияние обработки NaCl на активность фотосинтеза в листе микрорастения (А) в течение 2 часов. Данные представляют разницу в Φ_{PSII} (Б) или

NPQ (B) между временными точками до и после обработки 100 мМ (зелёная линия) или 200 мМ (синяя линия). Стрелкой указан момент добавления; прямые линии указывают временной диапазон с наличием статистически значимых различий с контролем, $p < 0,05$

Обработка 100 мМ NaCl не вызывала снижение Φ_{PSII} , а NPQ статистически значимо повышался через 26 минут. Таким образом, ответ фотосинтеза на обработку NaCl включает не только описанные выше две фазы, но и раннюю фазу, характеризующуюся статистически значимым повышением NPQ.

Выявленная динамика снижения активности фотосинтеза не противоречила предыдущим исследованиям, однако такие ранние изменения Φ_{PSII} и NPQ были зарегистрированы впервые: у *Arabidopsis thaliana* Φ_{PSII} снижался через 10-12 часов, NPQ повышался через 2-6 часов, а F_v/F_m снижался только через 8-12 часов при обработке 100-150 мМ NaCl (Stepien, Johnson, 2009); у томата Φ_{PSII} был снижен через 6 часов обработки 100 и 250 мМ NaCl, тогда как F_v/F_m через такое же время был снижен только для 250 мМ NaCl (Poór et al., 2019); у растений картофеля, подобных нашим микрорастениям, Φ_{PSII} и F_v/F_m снижались через 3 дня, а NPQ повышался через 4 дня обработки 100 мМ NaCl (Kolomeichuk et al., 2020); у *Lonicera japonica* Φ_{PSII} падал через 3-11 дней, а NPQ повышался через 3 дня обработки 300 мМ NaCl при неизменном F_v/F_m (Yan et al., 2015); у кукурузы через 20 часов обработки 120-200 мМ NaCl падал F_v/F_m (Shabala et al., 1998).

Исследование активности фотосинтеза при засолении в динамике в течение 2 (рис. 3.13) и 8 (рис. 3.12) часов позволило выявить трехфазные изменения активности фотосинтеза: у микрорастений картофеля первая фаза начиналась примерно через 20 минут засоления, вторая – через 60-70 минут, а третья – через 4 часа. Засоление может различными путями влиять на активность фотосинтеза. Во-первых, непосредственно Na^+ подавляет активность ряда ферментов, в том числе цикла Кальвина-Бенсона, биосинтеза хлорофилла, ферментов, входящих в состав фотосинтетического аппарата и мембран тилакоидов (Yang et al., 2008; Kang et al., 2012; Pan et al., 2021). Во-вторых, засоление приводит к изменению соотношения K^+/Na^+ , что негативно влияет на течение многих метаболических зависимых от K^+

процессов в клетке: цикла Кальвина-Бенсона, фенилпропаноидного пути, гликолиза, синтеза крахмала (Wang et al., 2013a; Almeida et al., 2017; Tighe-Neira et al., 2018; Zhao et al., 2020; Gupta et al., 2021). В-третьих, осмотическая составляющая засоления может влиять на водный баланс растения, в связи с чем проявляются транспирационные ограничения фотосинтеза (Stepien, Johnson, 2009; Amirjani, 2010; Sarabi et al., 2019; Pan et al., 2021). В-четвёртых, засоление может вызывать генерацию различных локальных и распространяющихся сигналов в растении (Choi et al., 2014; Ismail et al., 2020), которые могут модулировать активность фотосинтеза (Białasek et al., 2017; Sukhov et al., 2019). В следующих главах будут проверены все эти гипотезы и будут определены возможные механизмы, влияющие на снижение активности фотосинтеза.

3.3. Роль ионного и осмотического компонентов засоления в изменении активности фотосинтеза

Засоление — это сложное стессирующее воздействие, включающее осмотический и ионный компоненты. Отличительной чертой осмотического компонента является снижение водного потенциала, вызванное Na^+ и Cl^- , что негативно влияет на водный баланс растения и может отрицательно модулировать активность фотосинтеза (Maathuis, 2014; Zhao et al., 2020). Поглощение Na^+ и нарушение ионного баланса вызывает ионный стресс, что также может негативно влиять на активность ферментов и протекание процессов, связанных с фотосинтезом (Garthwaite et al., 2005; Maathuis, 2014; Wu et al., 2018). В этой главе будет изучено возможное влияние ионного и осмотического компонентов засоления на активность фотосинтеза.

3.3.1. Роль накопления Na^+

Высокие внеклеточные концентрации Na^+ , обусловленные высоким градиентом электрохимического потенциала Na^+ , приводят к его поступлению в цитозоль клеток корня, в основном через каналы NSCC (Demidchik et al., 2002; Chen et al., 2007). Выведение Na^+ из цитозоля осуществляется Na^+/H^+ -антипортерами (Ji

et al., 2013; Maathuis, 2014).

Флуоресцентный зонд CoroNa Green AM использовали для визуализации Na^+ в корнях и стебле. Флуоресцентные изображения корней и стебля через разное время после добавления 200 мМ NaCl к корням микрорастения получали с помощью CLSM (рис. 3.14). Корни и кусочки стебля инкубировали в растворе CoroNa Green AM после обработки NaCl для визуализации накопленного Na^+ .

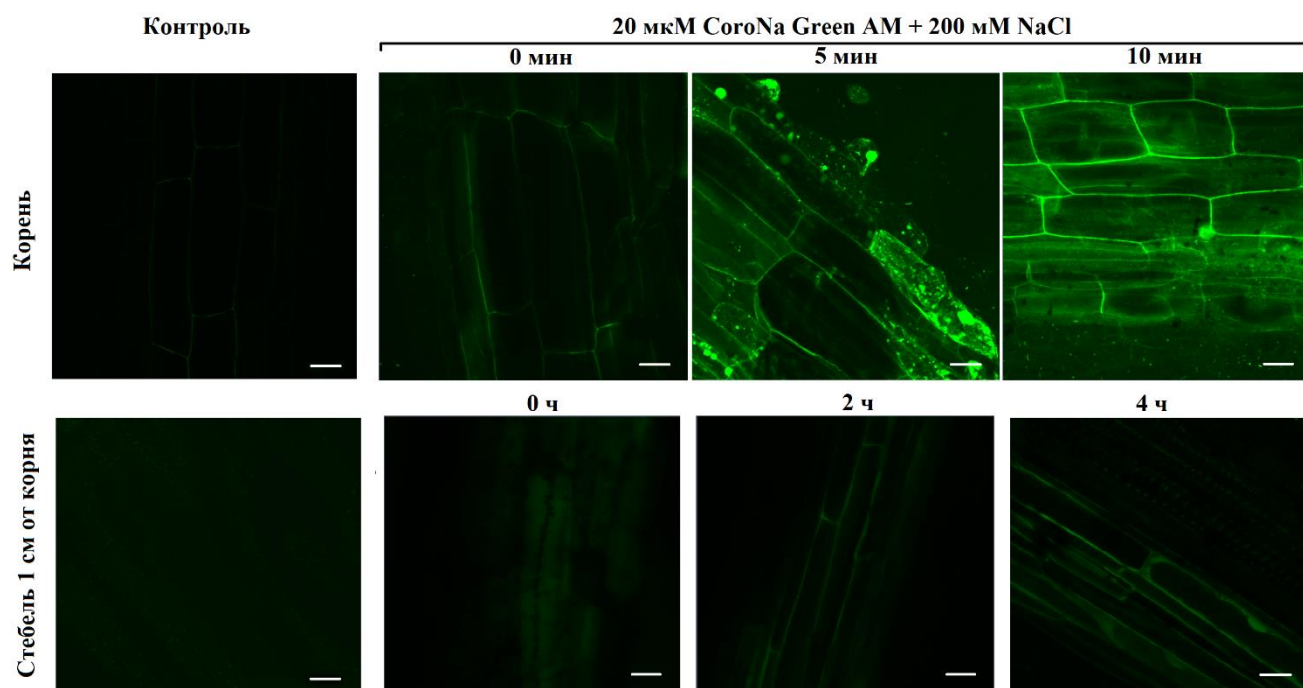


Рисунок 3.14. Изменение флуоресценции CoroNa Green AM в корне (зона дифференциации) и стебле при обработке 200 мМ NaCl. Бар 20 мкм

В корне флуоресценция зонда не повышалась сразу после обработки раствором NaCl; её увеличение была зафиксировано через 5 минут. Это согласуется с предыдущими исследованиями, когда в корнях кукурузы флуоресценция этого же сенсора отсутствовала через 1 минуту после обработки NaCl и была обнаружена через 5 минут (Wegner et al., 2011), а также Na^+ обнаруживали в корневой ксилеме ячменя и кукурузы через 4-5 минут после начала засоления (Läuchli et al., 1971; Lynch, Läuchli, 1984). В стебле микрорастения флуоресценцию зонда обнаружили через 2 часа после обработки NaCl (рис. 3.14).

Обработка корней микрорастения, в которое предварительно загружали зонд, растворами 100 и 200 мМ NaCl приводила к резкому увеличению уровня флуоресценции зонда, который нарастал с течением времени наблюдения (рис.

3.15А); при этом уровень флуоресценции при обработки раствором 200 мМ NaCl был выше, однако без статистически значимых различий. Похожее резкое увеличение Na^+ в цитозоле, зарегистрированное в динамике, было обнаружено у гороха, который также является гликофитом, как и картофель (Sun et al., 2017). Флуоресцентный зонд CoroNa Green AM имеет в своём составе ацетоксиметилловые эфиры для проникновения в клетку (Meier et al., 2006), которые отщепляются эстеразами в цитозоле, и благодаря чему зонд становится способным флуоресцировать (Park et al., 2009). Однако внеклеточные эстеразы также могут удалять эти эфиры (Kuchitsu et al., 2002), благодаря чему CoroNa Green AM мог связаться с Na^+ вне клетки и из-за чего уровень флуоресценции зонда мог увеличиться сразу после добавления NaCl в раствор, омывающий корни.

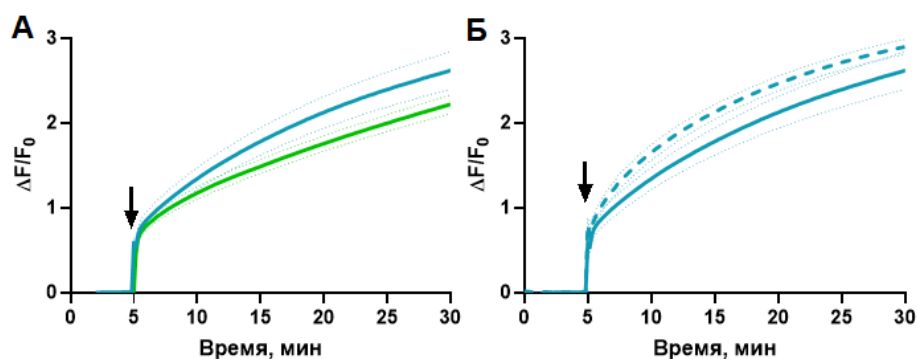


Рисунок 3.15. Относительное изменение флуоресценции Na^+ -чувствительного зонда CoroNa Green AM в корне при засолении. Представлены обработка 100 (зелёная линия) и 200 (синяя линия) мМ NaCl (А), а также обработка 200 мМ NaCl в присутствии ингибитора 0,1 мМ амилорида (пунктирная линия) (Б). Момент обработки указан стрелкой

Содержание Na^+ в цитозоле меняется из-за его поступления и выведения. Добавление к корням микрорастения амилорида – ингибитора Na^+/H^+ -антипортёров – показало один из главных путей выведения Na^+ из цитозоля посредством SOS1: применение ингибитора приводило к более высокому уровню флуоресценции CoroNa Green AM в ответ на обработку 200 мМ NaCl (рис. 3.15Б).

При определении концентрации Na^+ статистически значимые различия с контролем в листе микрорастения, в котором исследовалась активность фотосинтеза, были обнаружены через 6 часов после начала засоления (рис. 3.16А). Этим же методом было исследовано изменение концентрации K^+ и Cl^- , однако

статистически значимых изменений обнаружено не было. У развитого растения концентрация Na^+ в исследуемом листе повышалась через 11 часов, при этом концентрация K^+ не изменялась, а концентрация Cl^- повышалась через 48 часов после начала засоления (рис. 3.16Б).

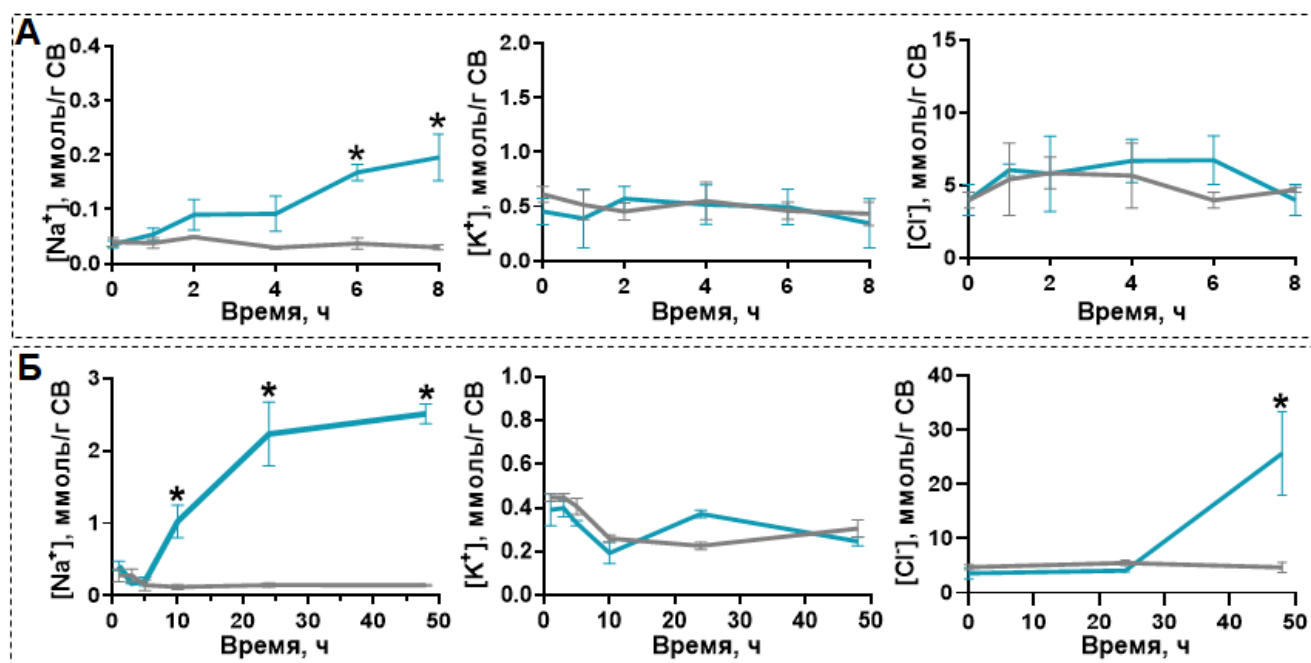


Рисунок 3.16. Накопление Na^+ , K^+ и Cl^- в листе у микрорастений (А) и развитых растений (Б) при засолении. Контроль – серый цвет.

* – статистически значимые различия с контролем, $p < 0,05$

В ранее опубликованных работах можно отметить зависимость скорости накопления Na^+ от вида, размера объекта и концентрации NaCl . У риса увеличение концентрации Na^+ в листьях было зарегистрировано через 24 часа после обработки 200 мМ NaCl (Amirjani, 2010) и 5 дней после обработки 150 мМ NaCl (Tu et al., 2014), у хлопка - через 24 часа после добавления 200 мМ NaCl (Peng et al., 2016), у кукурузы – через 2 дня после обработки 150 мМ NaCl (Gao et al., 2016), у картофеля - через 7 дней после обработки 180 мМ NaCl (Jaarsma et al., 2013), у пшеницы - через 14 дней после добавления 150 мМ NaCl (Ibrahimova et al., 2021), у ячменя - через 15 дней после обработки 250 мМ NaCl (Falakboland et al., 2017) и через 14 дней после обработки 200 мМ NaCl (Cuin et al., 2003), у гороха - через 14 дней после обработки 100 мМ NaCl (Sun et al., 2017). В большинстве работ указанные временные точки были единственными исследованными точками или наиболее

ранними, что не позволяет установить время поступления и накопления Na^+ в побеге. В редких работах оценивалась подробная динамика накопления Na^+ (Gao et al., 2016; Peng et al., 2016). Так у растений риса (Amirjani, 2010) и хлопка (Peng et al., 2016) Na^+ обнаруживали в листьях через 24 часа засоления, а также через 10 часов у взрослых растений картофеля, что соответствует полученным нами результатам.

При засолении не было обнаружено снижения концентрации K^+ в листьях. В отдельных работах были описаны подобные результаты, например, уровень не менялся у гороха спустя 14 дней после обработки 100 мМ NaCl (Sun et al., 2017), у табака через 6 дней после обработки 150 мМ NaCl (Yue et al., 2012) и кукурузы в течение 7 дней после обработки 150 мМ NaCl (Gao et al., 2016), однако чаще уровень K^+ в листьях снижался как, например, для пшеницы через 14 дней после обработки 150 мМ NaCl (Ibrahimova et al., 2021), ячменя через 15 дней после обработки 250 мМ NaCl (Falakboland et al., 2017) и риса через 24 часа после обработки 200 мМ NaCl (Amirjani, 2010) и 7 дней после обработки 120 мМ NaCl (Sarkar et al., 2013).

Концентрация Cl^- повышалась только через 48 часов почвенного засоления. В листьях *Glycine max* концентрация этого иона была повышена вместе с Na^+ через 28 дней обработки растворами 40-120 мМ NaCl (Onodera et al., 2019), у *Brassica napus* незначительно повышалась вместе с Na^+ через 4 дня обработки растворами 150-300 мМ NaCl (Sun et al., 2015), у гибрида *Populus euphratica* также незначительно повышалась вместе с Na^+ через 4 дня обработки раствором 200 мМ NaCl (Chen et al., 2001). Во всех перечисленных примерах Cl^- накапливался в меньшей степени в листьях и побеге в целом, чем Na^+ .

Сопоставление динамики накопления Na^+ и изменения активности фотосинтеза свидетельствует о том, что высокие концентрации Na^+ в листьях не могут быть непосредственной причиной ранних изменений активности фотосинтеза. В наших экспериментах F_v/F_m у микрорастений начинал снижаться через 5 часов после обработки NaCl (рис. 3.12Б), а начало статистически значимого накопления Na^+ в листьях происходило через 6 часов. Однако повышение без

статистической значимости Na^+ в листьях по сравнению с контрольной обработкой происходило через 2 часа, что схоже с бифазной динамикой накопления Na^+ и Cl^- , описанной для гибрида *Populus euphratica* (Chen et al., 2001); также вероятно наличие статистически значимого повышения Na^+ в листе для этой временной точки (рис. 3.16А). При засолении у развитых растений F_v/F_m статистически значимо снижался через 56 часов после начала засоления, однако тенденция к его снижению наблюдалась уже через 24 часа после начала засоления (рис. 3.11В). При этом начало статистически значимого накопления Na^+ в исследуемом листе произошло через 10 часов от начала засоления, а Cl^- – через 48 часов (рис. 3.16Б), что совпадает с динамикой падения F_v/F_m .

Описанная динамика накопления Na^+ в листьях картофеля и снижения активности фотосинтеза подтверждается исследованной динамикой у других растений-гликофитов. Так у кукурузы F_v/F_m начинал снижаться через 3 дня после обработки 150 мМ NaCl, а концентрация Na^+ начинала повышаться в листьях через 2 дня (Gao et al., 2016), а у *Arabidopsis thaliana* концентрация Na^+ начинала повышаться в листьях через 4 дня, а F_v/F_m начинал снижаться через 8 дней после обработки 150 мМ NaCl, при этом другие параметры активности фотосинтеза – NPQ и Φ_{PSII} – изменялись через 2 дня (Stepien, Johnson, 2009).

Накопление Na^+ в листьях может быть индуктором третьей фазы снижения активности фотосинтеза, которая характеризуется сниженным F_v/F_m . Негативные эффекты избытка Na^+ на параметры флуоресценции хлорофилла могут быть связаны с ингибированием ферментов цикла Кальвина-Бенсона и белков хлоропласта (Yang et al., 2008; Kang et al., 2012; Pan et al., 2021).

3.3.2. Роль осмотического стресса в модуляции активности фотосинтеза

Осмотическая составляющая засоления в основном влияет на водный баланс растения, в связи с чем проявляются транспирационные ограничения фотосинтеза (Sarabi et al., 2019). Водный гомеостаз листьев, изменяющийся под действием осмотического компонента, оценивался по изменению транспирации, которая в нашей работе оценивалась с помощью индекса CWSI.

Начальный период изменения CWSI был зарегистрирован с большим временным разрешением. Обработка раствором 200 мМ NaCl приводила у микрорастений к снижению CWSI. Единичные статистически значимые различия по сравнению с контролем были зарегистрированы уже через 60 минут, а стабильное статистически значимое снижение было зарегистрировано через 90 минут (рис. 3.17А). В случае длительной регистрации значимые различия у микрорастений были зарегистрированы через 2 часа и сохранялись в течение всего периода наблюдения (рис. 3.17Б).

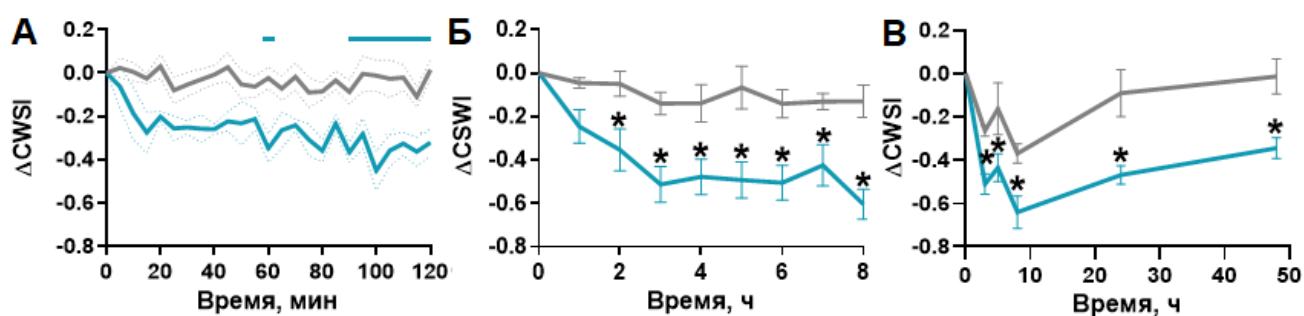


Рисунок 3.17. Изменение параметра CWSI у микрорастений (А и Б), а также у развитых растений (В). Контрольная обработка – серый цвет.

* – статистически значимые различия с контролем, прямые линии указывают временной диапазон с наличием статистически значимых различий с контролем, $p < 0,05$

При засолении CWSI у развитых растений снижался через 3 часа после обработки NaCl (рис. 3.17В). Выявленная дневная динамика снижения транспирации у необработанного NaCl растения является типичной и встречается также у других растений (Dayer et al., 2020; Ta et al., 2011; Wang et al., 2013b; Yang et al., 2012).

Динамика изменений транспирации при засолении, описанная в других исследованиях, была различна: у взрослых растений картофеля снижалась через 3 часа после обработки 300 мМ NaCl (Backhausen et al., 2005), у микрорастений картофеля была снижена через 48 часов после добавления 200 мМ NaCl (Zhu et al., 2021), у томата была снижена через 6 часов после обработки 100 и 250 мМ NaCl (Poór et al., 2019), у растений табака снижалась через 12 часов после обработки 150 мМ NaCl (Wang et al., 2020). Во всех перечисленных примерах были также снижены скорость ассимиляции CO_2 , F_vF_m и Φ_{PSII} и повышен NPQ, что свидетельствует о

снижении активности фотосинтеза.

Снижение устьичной проводимости вызывает сокращение поступления CO_2 (Stepien, Johnson, 2009; Amirjani, 2010; Pan et al., 2021). Уменьшение поступления CO_2 в клетки приводит к снижению скоростей реакций цикла Кальвина-Бенсона и, соответственно, снижению потребления АТФ и НАДФН (Aharon et al., 2003), что может привести к увеличению NPQ (Li et al., 2008; Stepien, Johnson, 2009). Конкурирование NPQ с фотохимическими механизмами за поглощенную энергию на фоне фотоингибирования может привести к снижению Φ_{PSII} (Chaves et al., 2009). Однако и высокий NPQ может ограничивать эффективность ассимиляции CO_2 за счёт удержания зеаксантина и субъединицы S ФСП, входящей в состав светособирающего комплекса II и, вероятно, контролирующей взаимодействие между белками ФСП (Hubbart et al., 2012; Murchie, Ruban, 2020).

Статистически значимые изменения CWSI (рис. 3.17А и Б) у микрорастения произошли позже, чем начинались первые изменения активности фотосинтеза (рис. 3.12 и 3.13), поэтому снижение проводимости устьиц не может быть индуктором первой фазы изменения активности. Сопоставление временной динамики указывает на роль снижения устьичной проводимости в индукции второй фазы ответа фотосинтеза. У развитых растений CWSI, напротив, снижался быстрее (рис. 3.17В), чем начинались статистически значимые различия параметров NPQ и Φ_{PSII} (рис. 3.11).

Роль осмотического и ионного компонента засоления в изменении активности фотосинтеза и транспирации оценивали с помощью обработки микрорастений не только раствором NaCl, но и также сорбитолом эквивалентной по осмолярности концентрации для создания осмотического воздействия и раствором KCl для установления роли Na^+ в изменениях этих физиологических процессов. Сорбитол – это проникающий в клетку осмолитик (Bündig et al., 2016), что позволяет нам сопоставлять его осмотические эффекты с NaCl (Arif et al., 2023).

Обработка 200 мМ NaCl и 400 мМ сорбитола оказывала схожее действие на Φ_{PSII} и NPQ (рис. 3.18А), при этом статистически значимые различия с контрольной обработкой обнаруживались раньше у обработки сорбитолом по сравнению с

обработкой NaCl, тогда как для KCl таких различий обнаружено не было. Активность фотосинтеза в течение двух часов засоления у микрорастений картофеля падает в две фазы, границы которых определяли по изменению NPQ. Для сравнения эффектов обработок были анализированы амплитуды через 50 минут засоления для первой фазы и через 120 минут для второй фазы. В результате амплитуды Φ_{PSII} и NPQ при обработке NaCl и сорбитолом статистически значимо не различались, тогда как KCl различался с ними в первую фазу снижения активности фотосинтеза для Φ_{PSII} и во вторую фазу для Φ_{PSII} и NPQ (рис. 3.18Б).

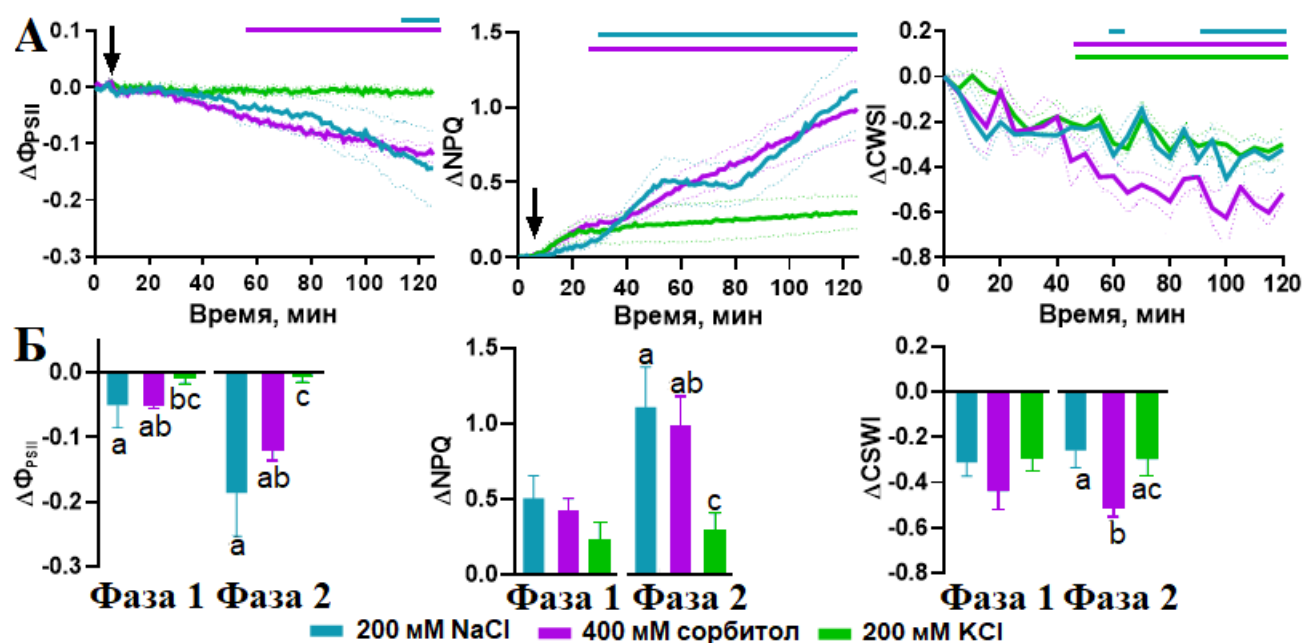


Рисунок 3.18. Изменение активности фотосинтеза (Φ_{PSII} и NPQ) и индекса CWSI у микрорастений в ответ на добавление NaCl, KCl или сорбитола в динамике (А) и через 50-60 (Фаза 1) и 120 минут (Фаза 2) после начала обработки (Б). Стрелкой указан момент добавления.

прямые линии указывают временной диапазон с наличием статистически значимых различий с контролем, разные буквы обозначают статистически значимые различия между обработкой NaCl, сорбитолом и KCl, $p < 0,05$

В случае CWSI сорбитол и KCl, напротив, оказывали схожий эффект: статистически значимые различия с контрольной обработкой обнаруживались раньше, чем для NaCl, – уже через 45 минут от начала обработки (рис. 3.18А). При этом статистически значимых различий между обработками растворами NaCl, KCl и сорбитола через 60 минут обнаружено не было, тогда как для второй фазы снижения активности фотосинтеза сорбитол статистически значимо различался с

другими обработками (рис. 3.18Б).

В литературе описываются разные варианты по силе воздействия NaCl, KCl и сорбитола: обработка *Arabidopsis thaliana* 200 мМ NaCl оказывало более мощное действие на активность фотосинтеза, чем 400 мМ сорбитол (Zhang, Xing, 2008), также у *Arabidopsis thaliana* 75 мМ NaCl и 150 мМ сорбитол оказывали схожее действие на F_v/F_m , а 75 мМ KCl действовал слабее (Kunz et al., 2014), 400 мМ сорбитол оказывал более мощное действие, чем 200 мМ NaCl у *Physcomitrella patens* (Azzabi et al., 2012), у *Micrasterias denticulata* 339 мМ сорбитол оказывал более мощное действие, а 200 мМ KCl в зависимости от продолжительности обработки оказывал меньшее, сходное или большее влияние, чем 200 мМ NaCl (Affenzeller et al., 2009). В наших экспериментах 400 мМ сорбитол мог оказывать более сильное осмотическое воздействие, так как несмотря на то, что сорбитол – проникающий в клетку осмолитик (Roy et al., 2011), у растений осмотическая регуляция происходит большей частью за счёт поступления избыточных ионов в клетку и только небольшая доля приходится на органические вещества (Munns et al., 2020). При сопоставлении эффектов, создаваемых этими обработками, проявляется мощное влияние осмотической компоненты на активность фотосинтеза. Однако 200 мМ KCl должен был иметь ту же осмолярность, что и 200 мМ NaCl и 400 мМ сорбитол, однако он оказывал самое слабое влияние на Φ_{PSII} и NPQ в первые 2 часа после обработки. Например, у растений *Capsicum annuum* было обнаружено, что обработка 60 мМ KCl по сравнению с 60 мМ NaCl оказывала меньшее негативное влияние на ассимиляцию CO₂ и устьичную проводимость (Martínez-Ballesta et al., 2004), что могло происходить и в наших экспериментах. Однако все обработки показали схожее влияние на CWSI и, следовательно, транспирацию и степень закрытия устьиц, которые большей частью зависят от осмотического стресса. Следовательно, существует вклад Na⁺ в начальное – первые 30-40 минут засоления – снижение активности фотосинтеза, которое не может быть объяснено только осмотическим воздействием засоления.

Ионный и осмотический компоненты засоления негативно влияют на активность фотосинтеза на разных этапах. Главным образом, накопление Na⁺ в

листьях задействовано в третьей фазе снижения активности фотосинтеза, когда происходит падение F_v/F_m , отражающего степень повреждения фотосинтетического аппарата. Вторая фаза снижения активности фотосинтеза может быть объяснена снижением устьичной проводимости. Начальное падение активности фотосинтеза не может быть объяснено ни накоплением Na^+ , ни устьичными ограничениями фотосинтеза.

3.4. Индуцированная засолением регуляция фотосинтеза. Влияние распространяющихся из корня в побег сигналов

Вероятной причиной модуляции первой фазы могут быть исходящие из корня в побег индуцированные засолением сигналы. В этой главе приведено описание NaCl -индуцированных сигналов, роль компонентов засоления в их генерации и влияние этих сигналов на активность фотосинтеза.

3.4.1. Индуцированные засолением дистанционные сигналы

Засоление индуцирует различные локальные и распространяющиеся из корня в побег сигналы. Среди дистанционных сигналов выделяют сигналы гидравлической, электрической и химической природы, которые могут взаимодействовать друг с другом (Huber, Bauerle, 2016; Johns et al., 2021). Наличие дистанционных сигналов определяли в корне и побеге в разных зонах (рис. 3.19, 3.22А, 3.24А).

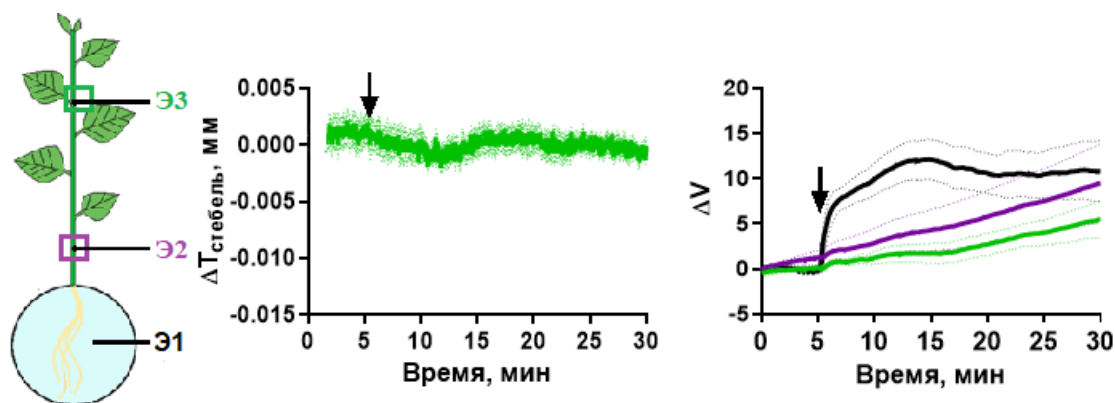


Рисунок 3.19. Изменение толщины стебля ($\Delta T_{\text{стебель}}$) и электрических потенциалов (ΔV) в побеге при обработке NaCl . Цвета линий соответствуют цвету областей на схеме А. На схеме также указаны места установки измерительных электродов (Э1,

Э2, Э3). Стрелкой указан момент обработки

Гидравлический сигнал – это быстро распространяющаяся волна изменения водного потенциала или давления, вызванная изменением водного натяжения, тургорного давления и осмотического потенциала (Malone, 1993; Christmann et al., 2013). Как правило, распространяющийся гидравлический сигнал регистрируют в ответ на локальное повреждение (Malone, 1993). В этом случае возникает волна повышенного давления. Увеличение осмолярности внешнего раствора вызывает отток воды из растения вследствие изменения разности водного потенциала (Graus et al., 2022), что вызывает волну пониженного давления (Malone, 1992).

Гидравлический сигнал может быть зарегистрирован не только непосредственно датчиком давления (Katsuhara et al., 2011; Wegner et al., 2011), но и косвенно - по изменению толщины стебля и листьев (Neumann et al., 1988; Graus et al., 2022). Такой подход был применён в наших исследованиях: прохождение гидравлического сигнала по побегу детектировали по изменению толщины стебля на расстоянии 8 см от корня. Уменьшение толщины стебля происходило через 3-5 минут после обработки NaCl (рис. 3.19).

В работах, где использовали датчики давления для непосредственного измерения тургорного давления, фиксировали почти моментальное падение тургорного давления в ответ на обработку NaCl (Kholodova et al., 2006; Katsuhara et al., 2011; Wegner et al., 2011), а также уменьшение толщины листьев в ответ на осмотическое воздействие: маннитол (Malone, 1992) или NaCl (Graus et al., 2022).

Электрический сигнал – это распространяющееся изменение мембранного потенциала, которое может быть связано с изменением уровня Ca^{2+} или работой H^+ -АТФазы плазмалеммы (Choi et al., 2016). Однако засоление может вызывать локальное изменение мембранного потенциала, вызванное непосредственно Na^+ , – деполяризацию (Monetti et al., 2014; Su et al., 2019). Только последнее событие было зарегистрировано при обработке NaCl (рис. 3.19): в растворе, омывающем корни микрорастения, с помощью поверхностных макроэлектродов была обнаружена практически моментальная гиперполяризация с максимальной амплитудой 12 мВ;

в побеге изменения электрических потенциалов обнаружено не было. Ранее при использовании микроэлектродной техники была зарегистрирована деполяризация в клетках, непосредственно контактирующих с NaCl, у *Arabidopsis thaliana* (Jayakannan et al., 2013; Salvador-Recatalà, 2016; Su et al., 2019), кукурузы (Hua et al., 2008; Wegner et al., 2011), ячменя (Shabala et al., 2016a; Wegner et al., 2011), табака (Monetti et al., 2014). Так как наши результаты оказались нетипичными, мы провели дополнительные эксперименты для проверки корректности регистрации: в этом случае приливали раствор 200 мМ NaCl к листу микрорастения, в результате чего была зарегистрирована выраженная деполяризация в месте воздействия без распространения в стебель (рис. 3.20). Следовательно, в корне была зарегистрирована именно гиперполяризация в ответ на NaCl.

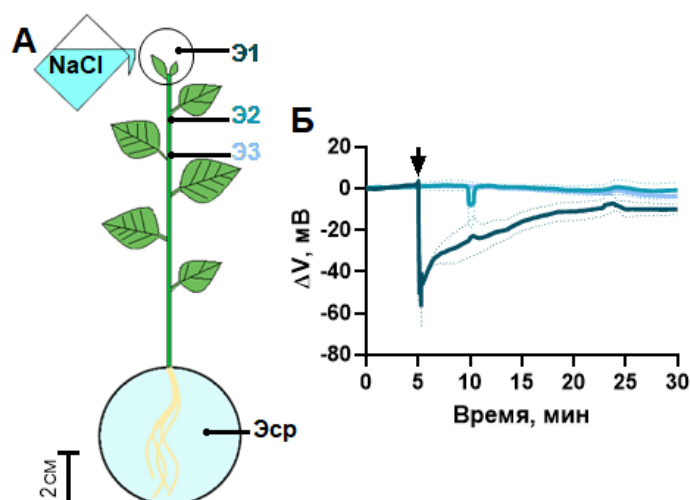


Рисунок 3.20. Вызванное обработкой листа раствором 200 мМ NaCl изменение электрического потенциала (ΔV) в побеге. На схеме А указаны места установки электрода сравнения (Эср) и измерительных электродов (Э1, Э2, Э3) (Б). Стрелкой указан момент добавления

Среди химических сигналов в качестве основных рассматривают Ca^{2+} -сигналы и АФК-сигнал. Ca^{2+} -сигнал — это самораспространяющаяся волна повышения уровня Ca^{2+} в цитозоле, опосредованная Ca^{2+} -проницаемыми каналами за счет внеклеточных и органелльных источников Ca^{2+} (Choi et al., 2014; Gilroy et al., 2016). Микрорастения с сенсором Case12 (C1(2)3) имели несколько отличающуюся в динамике, записаной в течение двух часов, реакцию NPQ на NaCl с нетрансформированным растением, NKM01 и HP11 (рис. 3.21). Полученные результаты могут быть объяснены тем, что Case12 выступает буфером Ca^{2+} из-за

наличия кальмодулина в его строении, поэтому одновременно с визуализацией Ca^{2+} Case12 может менять его пространственно-временную динамику (Rose et al., 2014).

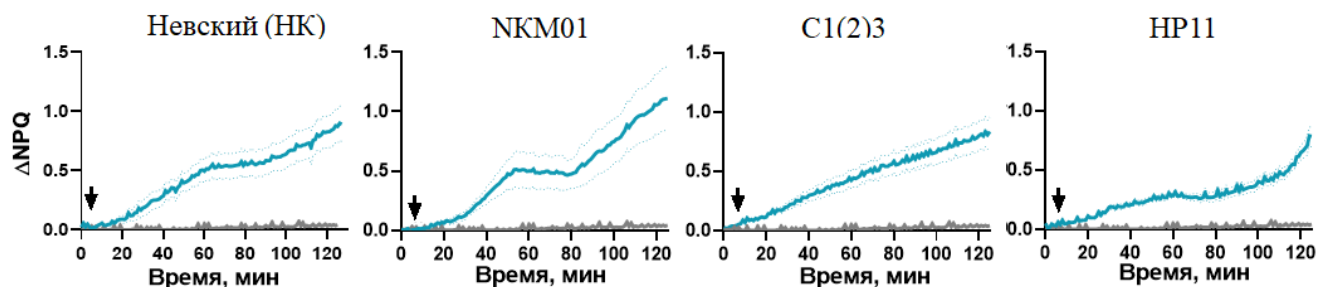


Рисунок 3.21. Изменение NPQ в листе микрорастения разных трансформационных линий в течение 2 часов обработки NaCl. Данные представляют разницу в NPQ между временными точками до и после обработки. Стрелкой указан момент добавления. Контроль – серый цвет

Увеличение уровня Ca^{2+} смотрели в разных областях корня и стебля (рис. 3.22A).

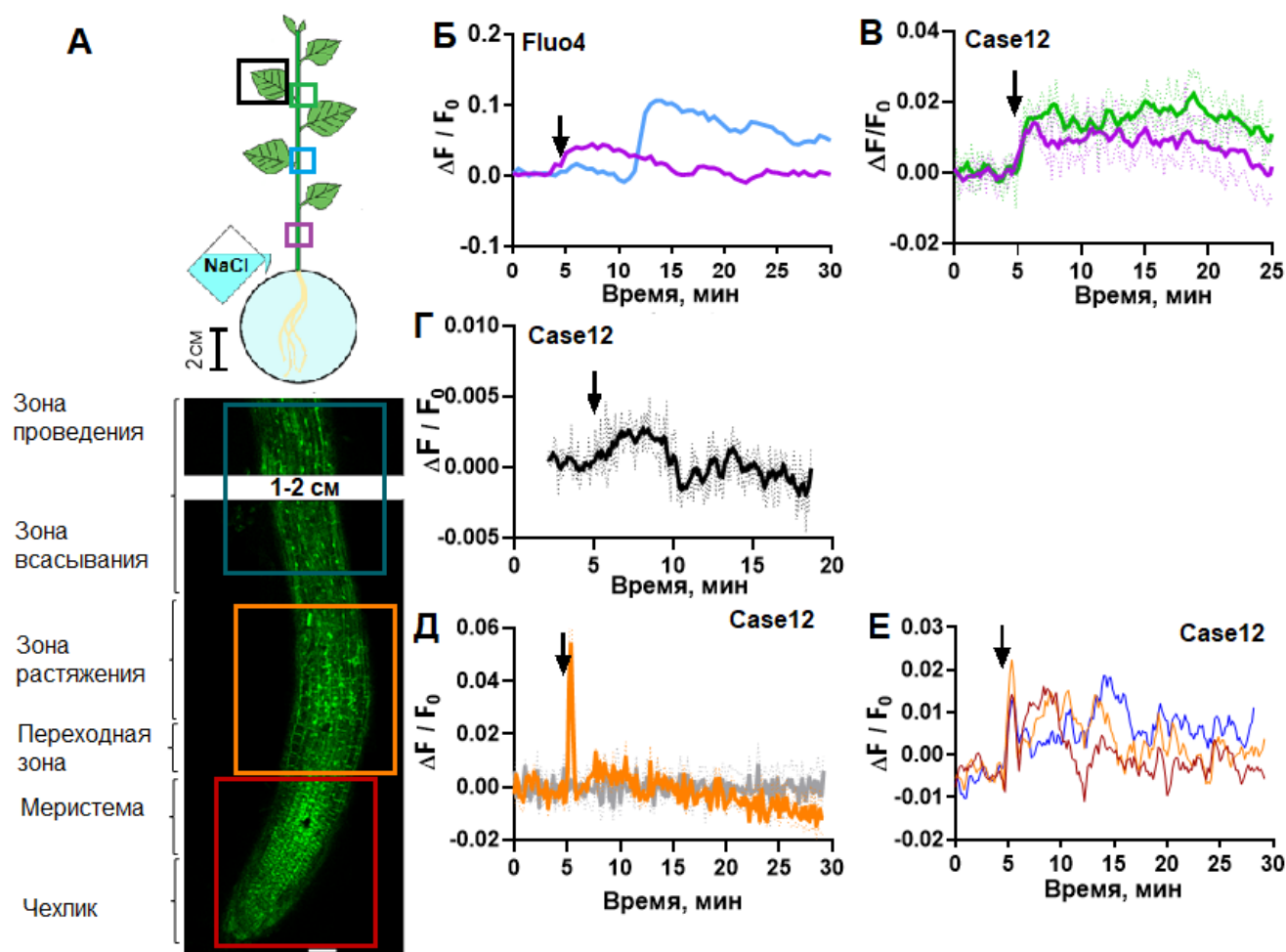


Рисунок 3.22. Изменение флуоресценции Ca^{2+} -чувствительных сенсоров в различных областях побега и корня (бар 100 мкм) микрорастения, указанных на схеме А, при обработке NaCl. Регистрировались изменение флуоресценции Fluo4 AM (Б) и Case12 (В, Г, Д, Е (представлены типичные записи)), соотнесённое к

уровню до воздействия. Контрольная обработка – серый цвет. Цвета линий соответствуют цвету областей на схеме А. Стрелкой указан момент добавления

В ответ на обработку NaCl происходило быстрое – в течение первых нескольких секунд – повышение уровня Ca^{2+} в стебле, определённое с помощью флуоресцентного зонда Fluo4 AM (рис. 3.22Б) и флуоресцентного генетически кодируемого сенсора Case12 (рис. 3.22В). Флуоресцентные сенсоры показали схожую реакцию: первое повышение уровня Ca^{2+} в участке побега, расположенном в 1 см от корня, регистрировалось практически моментально после начала обработки NaCl, второе повышение начиналось через 3-4 минуты. Скорость распространения сигнала составляла около 900 мкм/с, что находится в диапазоне ранее зарегистрированных скоростей этого сигнала при засолении у растений *A. thaliana* (Choi et al., 2014; Steinhorst et al., 2022). В листе, в котором регистрировали активность фотосинтеза, наблюдалось схожее изменение уровня Ca^{2+} , однако с меньшей амплитудой (рис. 3.22Г).

В корне выбрали три области интереса, для которых ранее в литературе были описаны свои особенности. Первая область – кончик корня, включающий чехлик и меристему. Ранее в меристеме было обнаружено локальное индуцированное засолением увеличение уровня глутамата, который активирует GLR, что увеличивало потоки Ca^{2+} в сравнении с другими зонами. Также это увеличение уровня глутамата может опосредовать большую чувствительность меристемы к засолению по сравнению с другими зонами корня (Shabala et al., 2016a; Yu et al., 2022). Вторая область включала переходную зону, зону растяжения и раннюю зону всасывания. В ранней зоне всасывания была обнаружена самая ранняя Na^+ -зависимая генерация Ca^{2+} -сигнала, который распространялся в сторону кончика и к побегу, и поэтому эту зону называли « Na^+ -чувствительной нишей» (Steinhorst et al., 2022). Также ранняя генерация Ca^{2+} -сигнала была обнаружена в зоне растяжения (Krogman et al., 2020), поэтому эти зоны корня были объединены в одну исследуемую область. Третья область включала зоны всасывания и зону проведения корня – область на протяжении 1-2 см от границы со второй областью. Ранее отмечалось, что эта зона характеризуется более высокой активностью H^+ -

АТФаз, что снижает глубину деполяризации, вызванной Na^+ (Shabala et al., 2016a).

В корне в разных зонах было зафиксировано 3 повышения уровня Ca^{2+} в течение 25 минут наблюдения после начала засоления (рис. 3.22Д и Е). Первое повышение было зарегистрировано через несколько секунд после добавления NaCl к корням, оно характеризовалось самой большой амплитудой и было самым коротким по продолжительности. Второе повышение начиналось через 1,5-2 минуты после начала засоления и практически сразу после окончания первого повышения. Третье повышение происходило через 6-7 минут после начала засоления, а в зоне дифференциации – через 7-8 минут, то есть наблюдалось распространение волны Ca^{2+} по корню (рис. 3.22Е).

Генерация и распространение по корню волны Ca^{2+} в ответ на обработку NaCl – часто регистрируемое событие, обнаруженное ранее у *A. thaliana* при обработке 75 мМ (Steinhorst et al., 2022), 100 мМ (Gao et al., 2004; Choi et al., 2014; Allan et al., 2023), 150 мМ (Krogman et al., 2020), 200 мМ (Corso et al., 2018), 220 мМ NaCl (Laohavisit et al., 2013); ячменя при обработке 250 мМ NaCl (Giridhar et al., 2022); табака при обработке 200 мМ NaCl (Monetti et al., 2014). Распространение этого сигнала в побег также ранее было зарегистрировано, однако большинство исследований были проделаны на проростках *A. thaliana* (Tracy et al., 2008; Xiong et al., 2014; Liu et al., 2018a; Jiang et al., 2019; Giridhar et al., 2022).

Засоление может индуцировать не только Ca^{2+} -сигнал, но и АФК-сигнал – самораспространяющуюся волну продукции АФК, опосредованную активацией RВОН (Gilroy et al., 2016). С помощью H_2O_2 -чувствительного сенсора HyPer7 было визуализировано повышение уровня H_2O_2 в клетках стебля (рис. 3.23Б) и корня (рис. 3.23В). В побеге был зарегистрирован повышенный уровень H_2O_2 только в области, отдалённой от корня на 1 см. В корне сигнал АФК генерировался в первые секунды засоления, продолжительность повышения составляла 5-6 минут. Ранее в литературе описывали повышение уровня АФК в ответ на обработку NaCl в клеточных культурах (Monetti et al., 2014; Formentin et al., 2018), также был описан сигнал в побеге (Lim et al., 2019). В корне АФК-сигнал был зарегистрирован в одной статье в кончике кукурузы (Pandolfi et al., 2010), либо вообще отсутствовал

для *A. thaliana* и ячменя (Lim et al., 2019; Bohle et al., 2024).

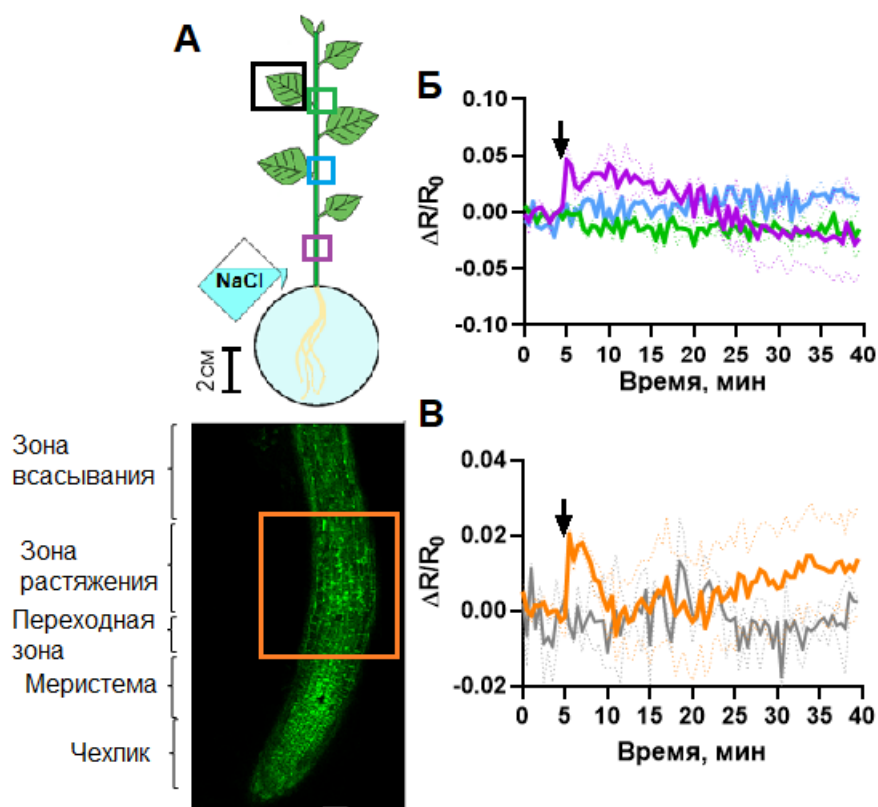


Рисунок 3.23. Изменение флуоресценции H_2O_2 -чувствительного сенсора HyPer7 в различных областях побега и корня (бар 100 мкм) микрорастения, указанных на схеме А, при обработке NaCl. Регистрировались изменение соотношения флуоресценции HyPer7 в корне (Б) и стебле (В), соотнесённое к уровню до воздействия. Контрольная обработка – серый цвет. Цвета линий соответствуют цвету областей на схеме А. Стрелкой указан момент добавления

К сигналам химической природы также иногда относят протонный сигнал – распространяющееся или локальное изменение рН апопласта, цитозоля и хлоропластов, за которые ответственны главным образом H^+ -АТФазы и ион/ H^+ -антипортеры (Felle, 2001; Raghavendra et al., 2023). Для исследования изменений цитозольного рН использовали рН-чувствительный флуоресцентный ратиометрический сенсор Pt-GFP.

Изменения цитозольного рН наступали через 5 часов в листе микрорастения, в котором определяли изменения параметров флуоресценции хлорофилла: наблюдалось начало устойчивого закисления цитозоля (рис. 3.24Б). У развитых растений в исследуемом листе устойчивое закисление цитозоля начиналось через 9 часов (рис. 3.24В). В стебле микрорастения изменения регистрировали раньше –

через 4 часа (рис. 3.24Г).

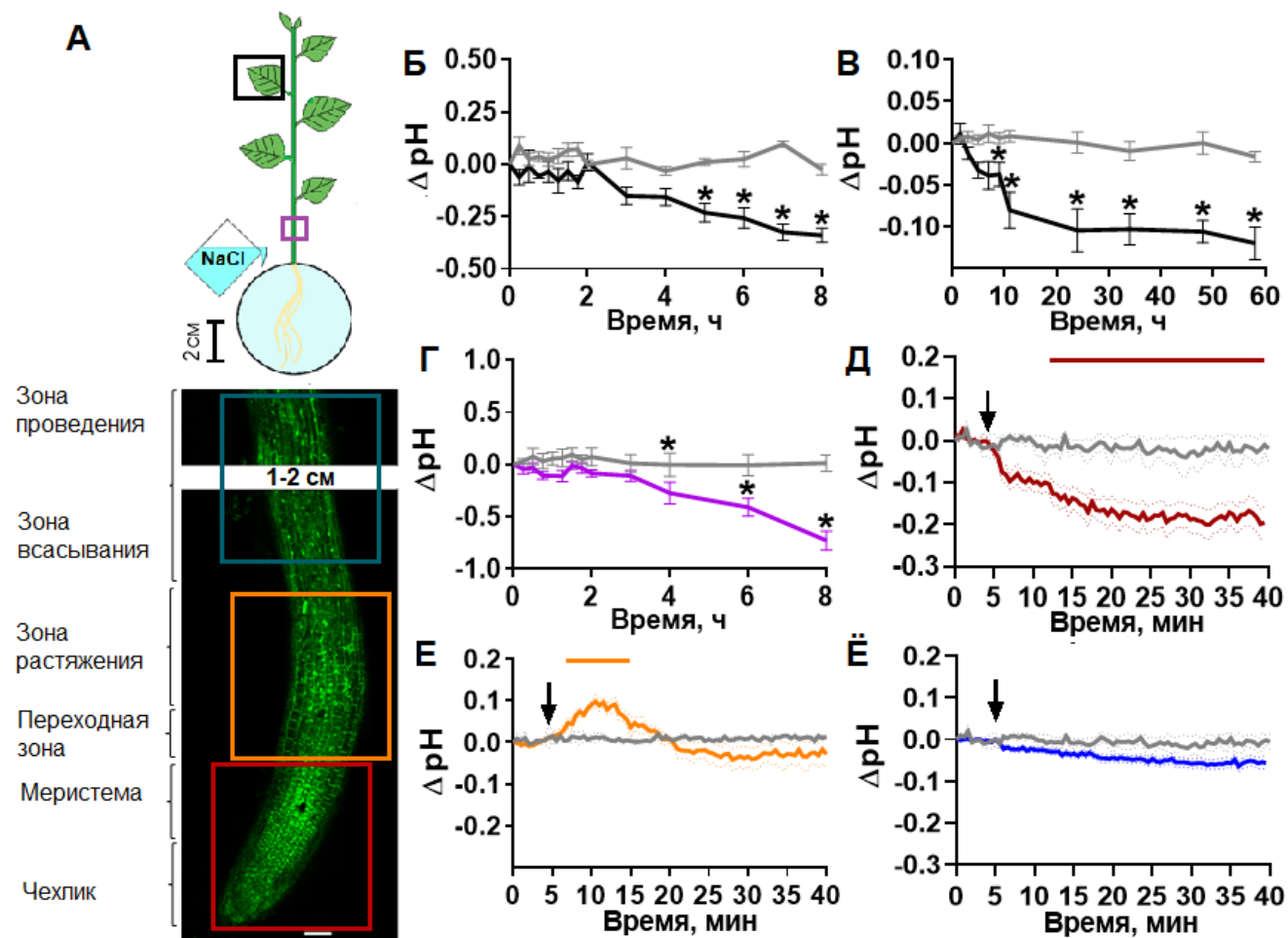


Рисунок 3.24. Изменения рН цитозоля (ΔpH) при засолении в разных зонах, отмеченных на схеме А: в листе микрорастения (Б) и развитого растения (В), в стебле микрорастения (Г) и в корне (Д, Е, Ё). Контрольная обработка – серый цвет. Цвета линий соответствуют цвету областей на схеме А. Стрелкой указан момент добавления.

* – статистически значимые различия с контролем, прямые линии указывают временной диапазон с наличием статистически значимых различий с контролем, $p < 0,05$

В корне, напротив, изменения цитозольного рН наступали быстро. В области корня микрорастения, которая включала чехлик и меристему, наблюдалось устойчивое закисление цитозоля с амплитудой 0,2, статистически значимо начинавшееся через 7 минут после начала засоления; при этом тенденция к закислению начиналась через 2 минуты после добавления NaCl (рис. 3.24Д). В анатомически близкой области, которая включает зону растяжения и захватывает раннюю зону всасывания, наблюдалось кратковременное защелачивание цитозоля с амплитудой 0,1, начинавшееся через 2-2,5 минуты после начала засоления; через

7 минут от начала засоления происходило снижение рН цитозоля максимально на 0,13 (рис. 3.24Е). В области корня, включающей зоны всасывания и проведения, достоверно значимых изменений рН не было зарегистрировано (рис. 3.24Ё).

Представленные в литературе данные большей частью противоречивы и малочисленны относительно изменения рН цитозоля и апопласта в разных органах и зонах одного органа. В нашей работе было обнаружено стойкое закисление цитозоля кончика корня. Ранее в этой зоне у проростка ячменя было зарегистрировано стойкое повышение рН цитозоля с максимальной амплитудой 0,8 (Katsuhara et al., 1997), у *Vigna mungo* в цитозоле не происходило ранних (в течение 2,5 часов засоления) изменений рН, при этом в вакуоли происходило защелачивание (Nakamura et al., 1992), а у *A. thaliana* было зафиксировано быстрое и стойкое подщелачивание митохондрий (Sun et al., 2021) и закисление цитозоля на 0,1 рН (Guo et al., 2009).

Мы обнаружили кратковременное переходное защелачивание цитозоля в зоне растяжения и в ранней зоне всасывания. Быстрое стойкое подщелачивание цитозоля с максимальной амплитудой 0,08 также было обнаружено у *A. thaliana* в частично перекрывающейся зоне исследования: в области меристемы и зоне удлинения корня (Rombolá-Caldentey et al., 2023).

В зонах всасывания и проведения мы не обнаружили статистически значимых изменений рН цитозоля, что также частично подтверждается ранее опубликованными работами: у *A. thaliana* в зоне всасывания корня не было обнаружено изменения рН в цитозоле, однако рН в везикулах транс-Гольджи повышался на 0,3 (McKay et al., 2022); в корневых волосках этой зоны не было обнаружено изменения рН цитозоля (Halperin et al., 2003); в гипокотиле было обнаружено незначительное закисление цитозоля с максимальной амплитудой 0,04 (Schulte et al., 2006) и защелачивание апопласта с амплитудой до 0,4 и закисление цитозоля с амплитудой до 0,2 (Gao et al., 2004); в апопласте корней *V. faba* не происходило изменение рН (Meyer et al., 2025).

Такое различие в ответах в разных зонах корня может быть объяснено влиянием других сигналов, которые возникали в ответ на засоление раньше, чем

изменялся pH цитозоля. Хотя в нашем исследовании не было обнаружено разницы в характеристиках увеличения уровня Ca^{2+} в разных зонах корня (рис. 3.22E), разница может быть, например, в активируемых Ca^{2+} -проницаемых каналах и механизмах изменения активности H^+ -АТФазы. Так, известно, что в зрелой зоне корня, включающей зону всасывания и проведения, H^+ -АТФазы обладают более высокой активностью по сравнению с другими зонами корня (Shabala et al., 2016a), что может объяснить отсутствие изменения pH в этой зоне. Ранее в меристеме было обнаружено увеличение уровня глутамата в ответ на засоление (Shabala et al., 2016a; Yu et al., 2022), при этом разные GLR локализованы в разных тканях и зонах корня (Vincill et al., 2013). В ранней зоне всасывания была обнаружена группа первично-реагирующих клеток, которая генерировала усиленный локальный Na^+ -зависимый Ca^{2+} -сигнал (Steinhorst et al., 2022). Вероятно, Ca^{2+} увеличивает активность H^+ -АТФазы посредством репрессии CIPK11 протеином 14-3-3 (Ma et al., 2019; Li, Yang, 2023) или активации фосфоинозитол-4-киназы (Shabala, Yu, 2021). О локализации фосфоинозитол-4-киназ в различных органах слабо известно. Можно предположить, что они локализуются во всех органах растения, однако некоторые изоформы обнаруживали только в активно делящихся клетках корня (Lin et al., 2019).

Негативная регуляция H^+ -АТФазы плазмалеммы может происходить, главным образом, посредством FERONIA (Gjetting et al., 2020). Локализация FERONIA была обнаружена во всех зонах корня (Dong et al., 2019), однако её экспрессия и экспрессия Hercules понижена выше зоны растяжения корня (Aglyamova et al., 2022). Также pH цитозоля может снижаться из-за увеличения активности Na^+/H^+ -антипортёров (Guo et al., 2009; Sze, Chanroj, 2018). SOS1 преимущественно экспрессируется в кончике корня, а Na^+/H^+ -антипортёр тонопласта – во всех зонах корня кроме кончика (Shi et al., 2002). Однако для гликофитов Na^+/H^+ -антипортёры тонопласта играют второстепенную роль в выведении Na^+ из цитозоля (Morgan et al., 2022), в отличие от галофитов, у которых они хорошо активируются (Shabala et al., 2020). Следовательно, системы, которые могут способствовать закислению цитозоля, слабо представлены в зонах

всасывания и проведения корня.

В литературе отсутствуют данные по изменению рН цитозоля или апопласта листа при корневом засолении целого растения, однако известно, что при непосредственном контакте листа *V. faba* с NaCl происходило практически моментальное повышение рН апопласта эпидермиса, палисадного мезофилла и замыкающих клеток устьиц (Geilfus, Mühling, 2011; Geilfus, Mühling, 2014), непосредственный контакт клеточной культуры листа винограда вызывал также ощелачивание апопласта (Ismail et al., 2014), а протопластов риса – закисление цитозоля через 200 секунд после начала обработки (Kader et al., 2007). В целом, эти события могут подтвердить обнаруженные нами поздние изменения рН в стебле и в листьях, что может свидетельствовать о том, что в побеге закисление цитозоля и защелачивание апопласта связано с накоплением Na^+ и Cl^- в тканях. Закисление цитозоля клеток листа могло быть связано с накоплением Na^+ в побеге, повышением активности Na^+/H^+ -антипортёра (Guo et al., 2009; Sze, Chanroj, 2018) и снижением активности H^+ -АТФазы плазмалеммы, причинами которого могут быть снижение активности дыхания и/или снижения экспрессии генов, кодирующих H^+ -АТФазы (Pitann et al., 2009; Ma et al., 2010). Устойчивое закисление цитозоля могло быть связано с ингибированием декарбоксилирующей малатдегидрогеназы (Kumar et al., 2000; Saha et al., 2012), а также глутаматдекарбоксилазы (Al-Khayri et al., 2024), являющихся компонентами биохимического рН-стата (Wegner, Shabala, 2020).

Засоление в наших экспериментах вызывало в корнях генерацию изменения электрического потенциала, увеличение уровня Ca^{2+} и H_2O_2 в цитозоле и изменения цитозольного рН, отличные для каждой из исследованных зон корня. Было зарегистрировано, что из корня в побег распространялись только гидравлические волны и волны изменения Ca^{2+} в цитозоле. В дальнейших главах будет предпринята попытка выяснить механизмы генерации описанных в корне и побеге событий.

3.4.2. Роль ионного и осмотического компонентов засоления в индукции различных сигналов

Засоление вызывает системный ответ как в корне, находящимся в прямом контакте с засоленной средой, так и в побеге, частично из-за распространяющихся сигналов (Zhao et al., 2020; Sheldon, Munns, 2023). Осмотический и ионный компоненты засоления по-разному воспринимаются и вызывают распространяющиеся и локальные сигналы (Wang et al., 2022; Banik, Dutta, 2023).

Для изучения влияния осмотического воздействия и Na^+ на активацию различных сигнальных систем в корне и побеге, как и в случае с изучением их влияния на активность фотосинтеза, применяли обработку NaCl , сорбитолом и KCl , и регистрировали сигналы в разных зонах микрорастения (рис. 3.25А).

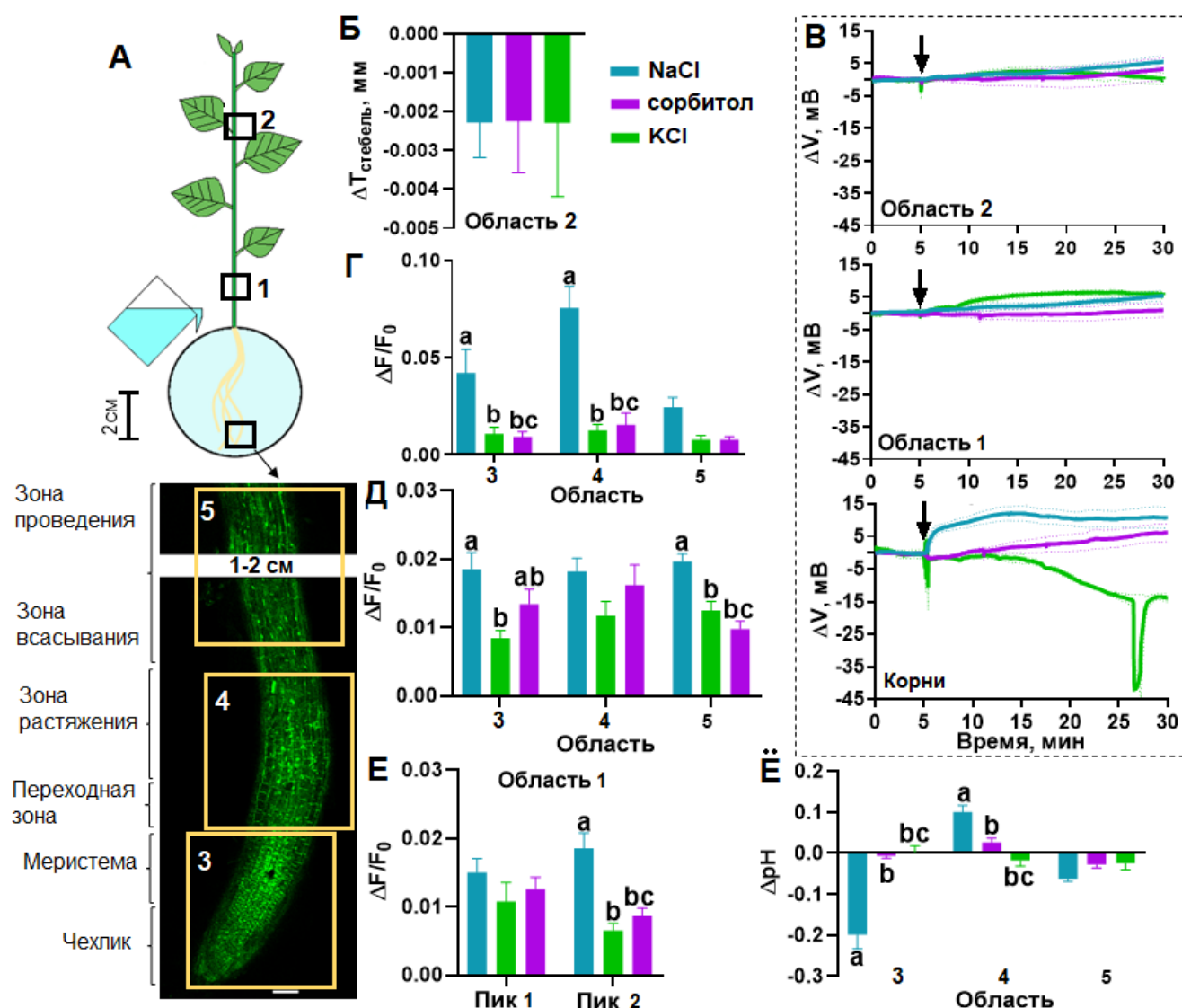


Рисунок 3.25. Влияние ионного и осмотического компонентов на сигнальные системы микрорастений картофеля, которые анализировались в различных

областях побега и корня (бар 100 мкм), указанных на схеме А. Представлены амплитуды изменения, соотнесённое к уровню до воздействия, толщины стебля ($\Delta T_{\text{стебель}}$) (Б), изменения электрических потенциалов (ΔV) (В), амплитуды первого (Г) и второго (Д) изменения уровня Ca^{2+} в корне и в стебле (Е) (изменение флуоресценции Case12 - $\Delta F/F_0$) и pH (Ё) в цитозоле. Стрелкой указан момент добавления.

Разные буквы обозначают статистически значимые различия между обработкой NaCl, сорбитолом и KCl, $p < 0,05$

Гидравлический сигнал в побеге был зарегистрирован при всех видах обработки (рис. 3.25Б), и статистически значимых различий между ними не было обнаружено, что подтверждает осмотическую природу этого сигнала.

Электрические потенциалы в побеге и корне не менялись под воздействием сорбитола (рис. 3.25В). KCl в отличие от NaCl и сорбитола вызывал спонтанную генерацию распространяющихся импульсов в корне и побеге. Ранее другие исследователи сообщали, что NaCl вызывал деполяризацию в корне (Monetti et al., 2014), а сорбитол – гиперполяризацию с небольшой амплитудой (Monetti et al., 2014; Liu et al., 2023a).

Ca^{2+} -сигнал был зарегистрирован во всех вариантах обработки: амплитуда сигнала при обработке NaCl была выше, чем для сорбитола и KCl, особенно в корне в случае первого быстрого (рис. 3.25Г) и второго (рис. 3.25Д) повышения уровня Ca^{2+} . Na^+ может активировать Ca^{2+} -проницаемые каналы, связываясь с GIPC (Jiang et al., 2019; Ismail et al., 2020) или активируя FERONIA или FERONIA-подобные киназы (Gigli-Bisceglia et al., 2022), что может приводить к первому повышению уровня Ca^{2+} в корне. Последующие повышения могут быть опосредованы активацией аннексинов, в чём могут участвовать оба компонента засоления (Huh et al., 2010; Davies, 2014; Ma et al., 2019; Li, Yang, 2023), или TPC (Choi et al., 2014).

В стебле были обнаружены статистически значимые различия между обработками только для второго повышения, то есть обработка NaCl индуцировала Ca^{2+} -сигнал с большей амплитудой, чем остальные обработки (рис. 3.25Е). Ранее для *A. thaliana* (Schmöckel et al., 2015; van Dieren et al., 2024), ячменя (Giridhar et al., 2022) и картофеля (van Dieren et al., 2024) был зарегистрировано повышение Ca^{2+} в ответ на обработку осмолитиками, которое было по уровню меньше, чем при

обработке NaCl. Сравнения влияния NaCl и KCl на Ca^{2+} -сигнал ранее не проводилось. Первое повышение уровня Ca^{2+} в стебле могло быть связано с прохождением гидравлического сигнала, когда происходит активация механочувствительных Ca^{2+} -проницаемых каналов (Choi et al., 2016), а второе, вероятно, могло быть самораспространяющейся Ca^{2+} -волной, которую запускают Na^+ -индуцированные механизмы.

Обработка растворами NaCl, KCl и сорбитола также показала разную реакцию рН цитозоля в корне (рис. 3.25Б). В зоне всасывания корня не было найдено статистически значимых различий для обработки сорбитолом и KCl с обработкой NaCl, то есть все три обработки в этих исследуемых областях не вызывали ранних изменений цитозольного рН. Однако в областях 3 и 4 корня (рис. 3.25А) обработка KCl и сорбитолом вызывала изменения рН цитозоля с низкой амплитудой и показала статистически значимые различия по сравнению с обработкой NaCl (рис. 3.25Б). Это подтверждается и примерами ранее сделанных работ, например, 100 мМ NaCl вызывал закисление цитозоля у протопластов риса, а в ответ на обработку 200 мМ сорбитола изменения рН не наблюдалось (Kader et al., 2007). Следовательно, наблюдаемые изменения цитозольного рН в корне являются зависимыми от Na^+ .

В листе, в котором определяли изменение активности фотосинтеза, цитозоль закислялся только в ответ на обработку NaCl (рис. 3.26). Можно полагать, что снижение рН цитозоля было связано с влиянием избытка Na^+ . Начало закисления цитозоля листа совпадает с началом статистически значимого снижения F_v/F_m и началом третьей фазы снижения фотосинтеза.

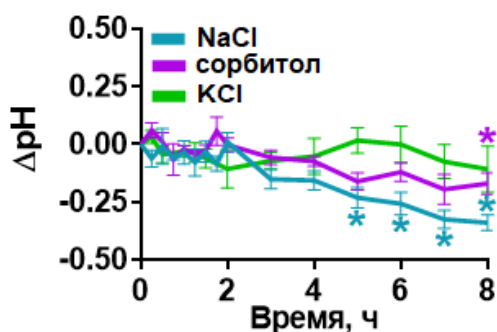


Рисунок 3.26. Влияние NaCl, KCl и сорбитола на рН цитозоля в листе.

* – статистически значимые различия с контролем, $p < 0,05$

Для определения более подробных механизмов возникновения Ca^{2+} - и АФК-сигналов и изменений цитозольного pH применяли ингибиторный анализ. Ca^{2+} -сигнал подавляли с помощью ингибитора Ca^{2+} -проницаемых каналов хлорида лантана (LaCl_3) (De Vriese et al., 2018). Так как Na^+ может проникать в клетку через некоторые Ca^{2+} -проницаемые каналы (Tracy et al., 2008), было проведено исследование накопления Na^+ и Cl^- в исследуемом листе микрорастения (рис. 3.27А и Б). Применение этого ингибитора не влияло на накопление Na^+ и Cl^- в листе.

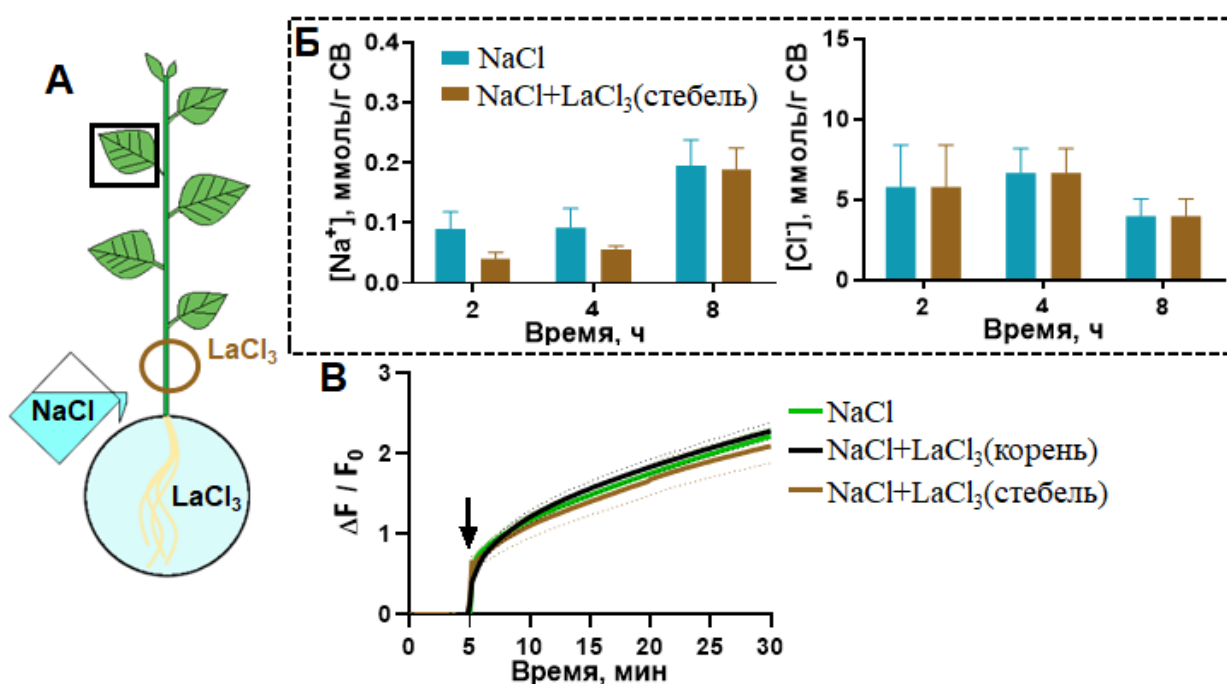


Рисунок 3.27. Зависимость накопления ионов при засолении от обработки LaCl_3 . LaCl_3 загружали через корень и стебель, что отмечено на схеме А. Представлено накопление Na^+ и Cl^- в анализируемом листе микрорастения при обработке 200 мМ NaCl , а также изменение уровня Na^+ в корне, выраженное в изменении флуоресценции CoroNa Green AM, соотнесённой к уровню до воздействия, при обработке 100 мМ NaCl . Стрелкой указан момент добавления

Также была исследована динамика поступления Na^+ в клетки корня при обработке ингибитором LaCl_3 корней микрорастения для блокирования генерации Ca^{2+} -сигнала и через стебель на высоте 1 см от корня для блокирования распространения Ca^{2+} -сигнала в побег (рис. 3.27В). Ни одна из обработок LaCl_3 не показала статистически значимых различий с растениями, не обработанным ингибитором. Таким образом, применение LaCl_3 не влияло на поступление Na^+ в растение и его накопление.

Влияние LaCl_3 на Ca^{2+} -сигнал смотрели в трёх областях корня (рис. 3.28А) для определения механизма генерации повышений уровня Ca^{2+} .

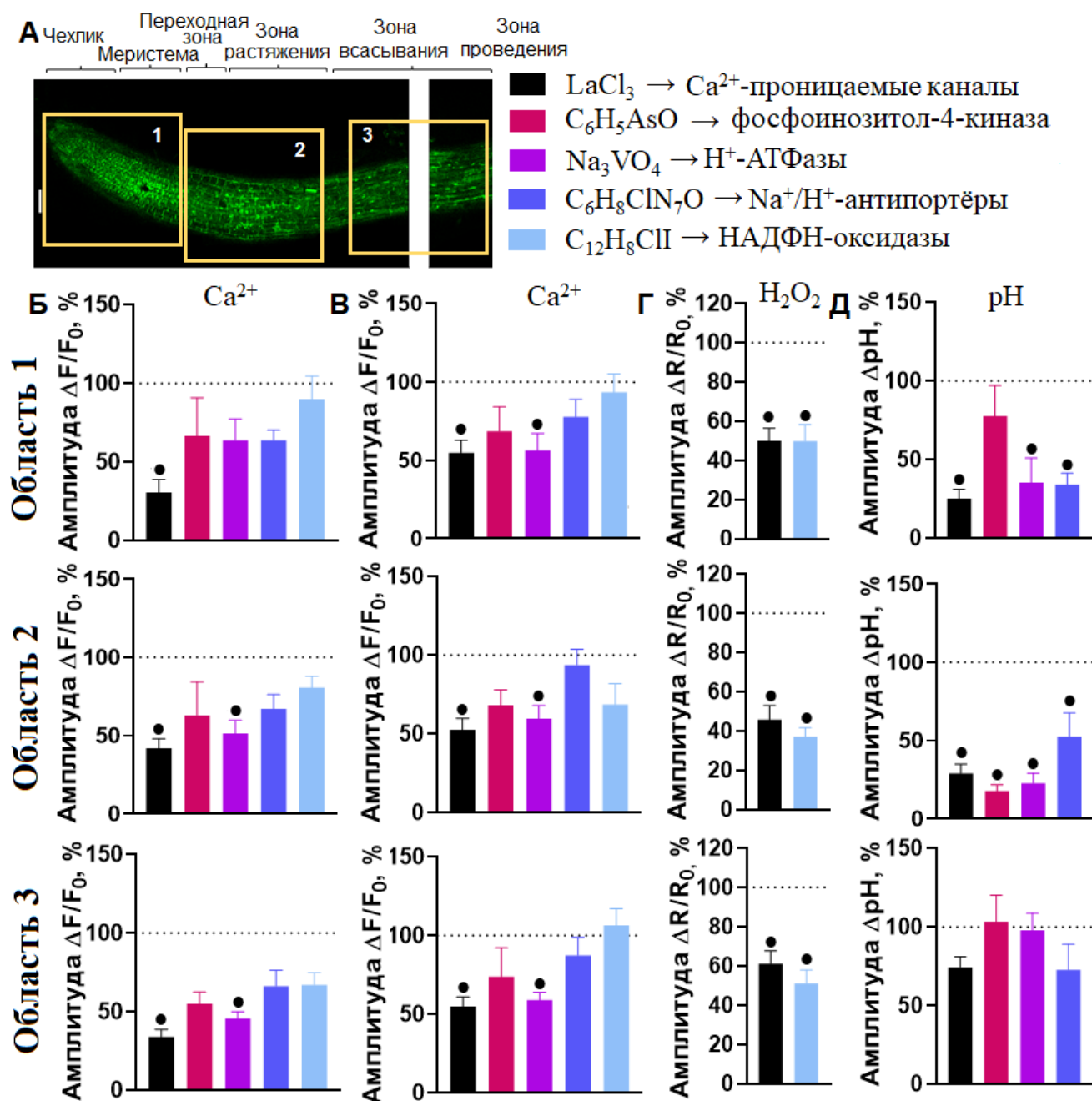


Рисунок 3.28. Влияние ингибиторов в разных областях корня (бар 100 мкм) микрорастения картофеля (А) на амплитуды первого (Б) и второго (В) повышения уровня Ca^{2+} ($\Delta F/F_0$), повышения уровня H_2O_2 ($\Delta R/R_0$) (Г) и изменения pH (Д), индуцированные NaCl, в цитозоле в процентах от обработки NaCl.

• – статистически значимые различия оригинальных значений с обработкой NaCl, $p < 0,05$

LaCl_3 подавлял амплитуду первого (рис. 3.28Б) и второго (рис. 3.28В) повышения Ca^{2+} в цитозоле во всех зонах. Также LaCl_3 подавлял амплитуду повышения уровня H_2O_2 в цитозоле во всех исследованных областях (рис. 3.28Г),

следовательно, повышение уровня АФК в корне зависело от повышения уровня Ca^{2+} . LaCl_3 также подавлял амплитуду закисления в кончике корня и защелачивания в области 2 (рис. 3.28Д). Ранее уже отмечали связь сигналов Ca^{2+} и изменения цитозольного рН в ответ на различные стимулы (Behera et al., 2018). Следовательно, наблюдаемые изменения рН цитозоля в корне зависят от сигнала Ca^{2+} . Предполагается, что повышение уровня Ca^{2+} может быть вызвано избытком АФК (Li et al., 2021). Ранее было показано для риса, что при засолении в корне сначала идет повышение уровня Ca^{2+} , а потом уже АФК, вызванное Ca^{2+} (Zhang et al., 2015). Следовательно, вероятно, что последующие повышения уровня Ca^{2+} в корне могут быть вызваны АФК. Ингибитор НАДФН-оксидаз хлорид дифенилиодония ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClI}$) подавляет активность НАДФН-оксидаз – основного источника АФК, поэтому его применяли для исследования причин увеличения уровня Ca^{2+} и H_2O_2 в цитозоле. Хлорид дифенилиодония подавлял амплитуду повышения уровня H_2O_2 во всех исследованных областях корня (рис. 3.28Г), следовательно, его уровень зависел от активности НАДФН-оксидаз. Однако этот ингибитор не влиял на амплитуды повышений уровня Ca^{2+} в корне (рис. 3.28Б, В), следовательно, АФК не могли быть причиной повышения уровня Ca^{2+} в корне.

Как было определено ранее, амплитуда закисления кончика и защелачивания меристемы и ранней зоны дифференциации зависели от Na^+ и ингибитора LaCl_3 . Изменения рН цитозоля в корне происходили позже первого повышения уровня Ca^{2+} , следовательно, первого повышения уровня Ca^{2+} в корне могло вызывать закисление и защелачивание цитозоля с помощью разных механизмов. Также само изменение рН могло вызывать последующие изменения уровня Ca^{2+} . Для определения возможного влияния изменения уровня рН на повышения уровня Ca^{2+} в цитозоле применяли ингибитор H^+ -АТФаз Р-типа ортованадат натрия (Na_3VO_4). Ортованадат натрия подавлял амплитуду изменения рН в областях 1 и 2, следовательно, изменения рН цитозоля зависели от работы H^+ -АТФазы плазмалеммы (рис. 3.28Д). Также амплитуды повышения Ca^{2+} подавлялись во всех исследуемых областях корня (рис. 3.28Б, В).

Полученные результаты для первого повышения уровня Ca^{2+} могут быть

объяснены тем, что кроме ингибирования H^+ -АТФаз ортованадат натрия также может повышать уровень АФК и увеличивать активность протеиновых серин/треониновых фосфатаз и Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы, в результате чего активируются митогенактивируемые протеинкиназы (Lin et al., 2009). Также ингибирование H^+ -АТФазы плазмалеммы ортованадатом натрия вызывает деполяризацию трансмембранного электрического потенциала (Cocucci et al., 1980). Вероятно, это изменение потенциала покоя может негативно влиять на потенциал-активируемые Ca^{2+} -проницаемые каналы (Véry, Davies, 2000).

Возникновение последующего повышения Ca^{2+} может быть объяснено угнетением работы H^+ -АТФазы и закислением цитозоля в зонах 1 и 2. Известно, что у млекопитающих есть рН-чувствительные каналы GLR, а также некоторые из этих каналов у *A. thaliana* чувствительны к ингибированию H^+ -АТФазы плазмалеммы (Shao et al., 2020). С другой стороны, повышение активности H^+ -АТФазы плазмалеммы может индуцировать реполяризацию мембранного потенциала в зоне 2, что может приводить к притоку Ca^{2+} через потенциал-активированные каналы (Shabala, Yu, 2021; Tracy et al., 2008). Другой механизм увеличения уровня Ca^{2+} может включать TPC (Choi et al., 2014; Evans et al., 2016), которые активируются изменением потенциала тонопласта, создаваемым вакуолярной H^+ -АТФазой (Dindas et al., 2021; Ismail et al., 2020), и эта активация может усиливаться посредством АФК (Evans et al., 2016). При этом H^+ -АТФаза и Na^+/H^+ -обменник тонопласта активируются посредством SOS-пути, в котором немаловажную роль играет высокий уровень цитозольного Ca^{2+} (Silva, Gerós, 2009). Однако H^+ -АТФаза тонопласта является нечувствительной к ортованадату натрия (Villegas et al., 2000), поэтому этот механизм может частично объяснить увеличение уровня Ca^{2+} .

Само Ca^{2+} -индуцированное изменение рН цитозоля может вызываться разными причинами: изменением активности Na^+/H^+ -антипортёров (Ali et al., 2023a), ингибированием PKS5 (Ma et al., 2019; Li, Yang, 2023), что приводит к защелачиванию цитозоля, активацией FERONIA (Gjetting et al., 2020), что вызывает закислению цитозоля, или повышением активности фосфоинозитол-4-киназы

(Shabala, Yu, 2021), что приводит к увеличению рН цитозоля. Применение ингибитора Na^+/H^+ -антипортёров амилорида ($\text{C}_6\text{H}_8\text{ClN}_7\text{O}$) снизило амплитуду изменения рН цитозоля в области 1 и 2 (рис. 3.28Д), но не повлияло статистически значимо на амплитуды повышения уровня Ca^{2+} (рис. 3.28Б, В). Ранее было показано, что обработка амилоридом без статистически значимых различий увеличивала накопление Na^+ в корнях (рис. 3.15Б). Эти результаты показывают, что в изменениях рН цитозоля в кончике, в области зоны растяжения и ранней зоны дифференциации корня могли зависеть от работы Na^+/H^+ -антипортёров.

Другой возможный Ca^{2+} -зависимый механизм повышения рН цитозоля в области 2 может быть связан с изменением активности фосфоинозитол-4-киназы. Чтобы проверить роль фосфоинозитол-4-киназы в регуляции активности H^+ -АТФазы плазмалеммы использовали ингибитор фениларсин оксид ($\text{C}_6\text{H}_5\text{AsO}$). Как и предполагалось, обработка этим ингибитором со статистической значимостью снижала амплитуду защелачивания цитозоля в области 2 (рис. 3.28Д). Следовательно, повышение рН цитозоля в этой зоне зависело от работы фосфоинозитол-4-киназы.

Таким образом, в корне первое повышение уровня Ca^{2+} могло быть причиной защелачивания цитозоля меристемы и ранней зоны всасывания, которое происходило благодаря повышению активности фосфоинозитол-4-киназы. Также оно было причиной закисления кончика корня, которое, вероятно, вызывалось повышением активности Na^+/H^+ -антипортёров и снижением активности H^+ -АТФаз, индуцированного FERONIA. Изменение активности H^+ -АТФаз в свою очередь могло быть модулятором последующих повышений уровня Ca^{2+} в цитозоле.

Чтобы определить могли ли изменения уровня Ca^{2+} , АФК и рН в корне быть причиной повышения уровня Ca^{2+} в побеге, также применяли ингибиторный анализ. LaCl_3 вызывал подавление только второго повышения уровня Ca^{2+} в стебле, как и ортованадат натрия и хлорид дифенилиодония (рис. 3.29). Следовательно, как и предполагалось ранее, первое повышение уровня Ca^{2+} в стебле могло быть связано с прохождением гидравлического сигнала: из-за изменения тургора клеток могли активироваться механочувствительные Ca^{2+} -проницаемые каналы (Choi et

al., 2016). LaCl_3 подавляет большинство каналов, чувствительных к растяжению (De Vriese et al., 2018), однако для быстрого механоактивируемого канала не было обнаружено влияния LaCl_3 на его проводимость (Tran et al., 2017), следовательно, гидравлический сигнал мог активировать эти каналы и вызвать первое повышение уровня Ca^{2+} в побеге. Второе повышение уровня Ca^{2+} , как и предполагалось, могло быть самораспространяющейся Ca^{2+} -волной, зависимой от изменения активности H^+ -АТФаз корня и увеличения уровня АФК.

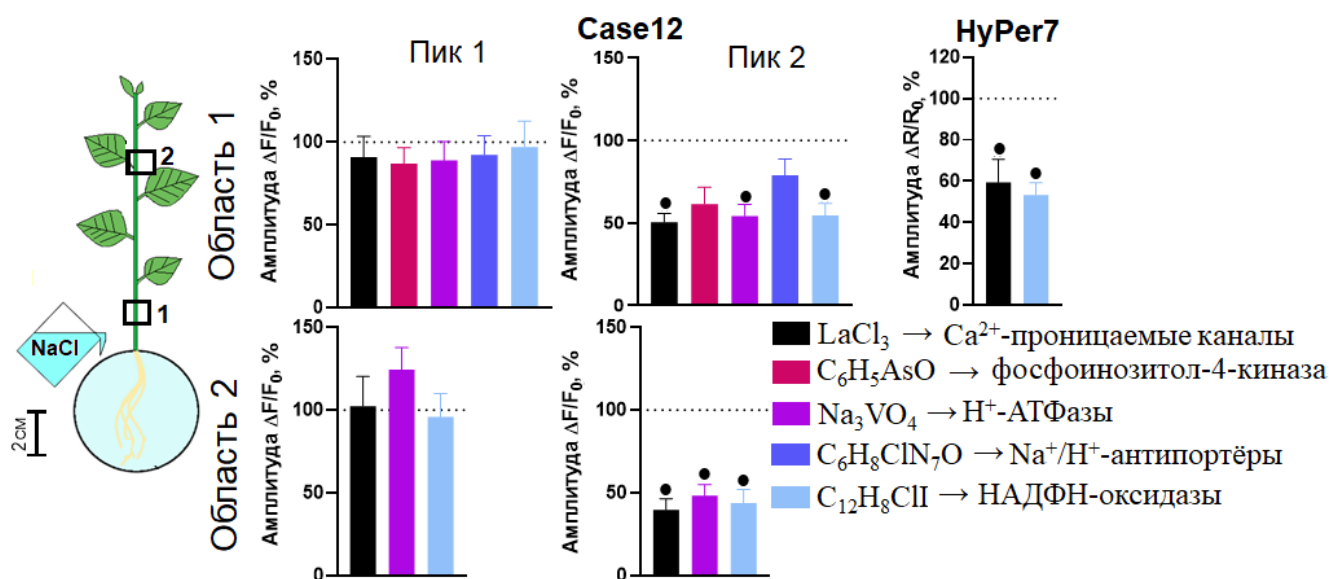


Рисунок 3.29. Влияние ингибиторов на NaCl -индуцированные Ca^{2+} -сигнал и АФК-сигнал в стебле микрорастений картофеля. Приведены амплитуды уровня Ca^{2+} ($\Delta F/F_0$) и H_2O_2 ($\Delta R/R_0$) в цитозоле в процентах от обработки NaCl .

• – статистически значимые различия оригинальных значений с обработкой NaCl , $p < 0,05$

Хлорид лантана и хлорид дифенилиодония вызывали подавление увеличения уровня H_2O_2 в стебле (рис. 3.29). Это увеличение H_2O_2 в стебле могло быть связано с увеличением уровня Ca^{2+} только в корне, так как вызванное гидравлической волной повышение уровня Ca^{2+} в стебле, которое могло бы быть причиной увеличения уровня АФК там же, происходило во всём побеге (рис. 3.22Б, В), а повышение уровня H_2O_2 – только в области, близкой к корню (рис. 3.23Б).

С другой стороны, в побеге могло не происходить H_2O_2 -зависимого увеличения уровня Ca^{2+} , так как такой зависимости в корне не было обнаружено (рис. 3.28Б, В). Хлорид дифенилиодония является селективным ингибитором всех

флавопротеинов, реагируя с их гемовыми и флавиновыми кофакторами (Reis et al., 2020), он также ингибирует НАДН-дегидрогеназу, синтазу оксида азота, глюкозофосфатдегидрогеназу, ксантиноксидазу, митохондриальный комплекс I и цитохром P-450-редуктазу (Kleniewska et al., 2012). Возможно, этот ингибитор может влиять на активность некоторых Ca^{2+} -проницаемых каналов растений, как, например, это было показано для Ca^{2+} -каналов L типа и RyR крыс (Le et al., 2024) и Ca^{2+} -АТФазы быков (Tazzeo et al., 2009).

Таким образом, при засолении Ca^{2+} -сигнал индуцируется как осмотическим компонентом засоления, так и ионным, однако распространению по стеблю способствует именно индукция Na^+ . В стебле начальное повышение уровня Ca^{2+} индуцируется гидравлическим сигналом, а второе повышение представляло собой распространяющуюся Na^+ -индуцированную Ca^{2+} -волну, зависящую от активности H^+ -АТФазы в корне.

3.4.3. Влияние распространяющихся из корня в побег сигналов, вызванных засолением, на активность фотосинтеза

Ранее было определено, что обработка NaCl вызывает распространение из корня в побег гидравлического сигнала и Ca^{2+} -сигнала. Эти сигналы могут модулировать первую фазу изменения активности фотосинтеза.

Гидравлический сигнал, как было определено ранее, может быть причиной первого повышения уровня Ca^{2+} в побеге, сам он может способствовать закрытию устьиц, а также может повышать чувствительность устьиц к химическим сигналам (Jia, Zhang, 2008). Так как не существует способа блокировать распространение этого сигнала, далее проверяли влияние Ca^{2+} на активность фотосинтеза с помощью хлорида лантана.

Прежде чем провести эксперименты по влиянию LaCl_3 проверяли подавляет ли ингибитор прохождение Ca^{2+} -сигнала в стебле при обработке ингибитором участка стебля. В итоге обработка ингибитором подавляла второй пик Ca^{2+} -сигнала в побеге (рис. 3.30).

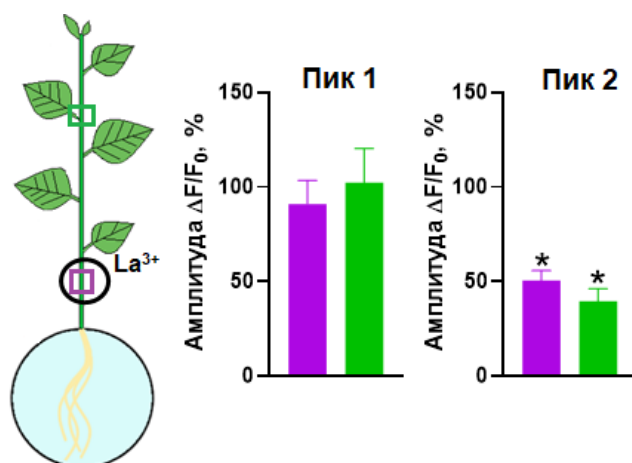


Рисунок 3.30. Влияние ингибитора LaCl_3 на флуоресценцию Case12 в разных областях стебля. Цвета столбцов соответствуют цвету областей на схеме. Окружностью выделено место загрузки LaCl_3 . * – статистически значимые различия оригинальных значений от обработки NaCl без обработки LaCl_3 , $p < 0,05$.

Далее проверяли роль Ca^{2+} -сигнала в изменении активности фотосинтеза микрорастений картофеля не только при обработке 200 мМ NaCl, но и также при обработке 400 мМ сорбитолом и 200 мМ KCl. Ингибирование Ca^{2+} -сигнала повлияло на изменение активности фотосинтеза только при обработке NaCl (рис. 3.31).

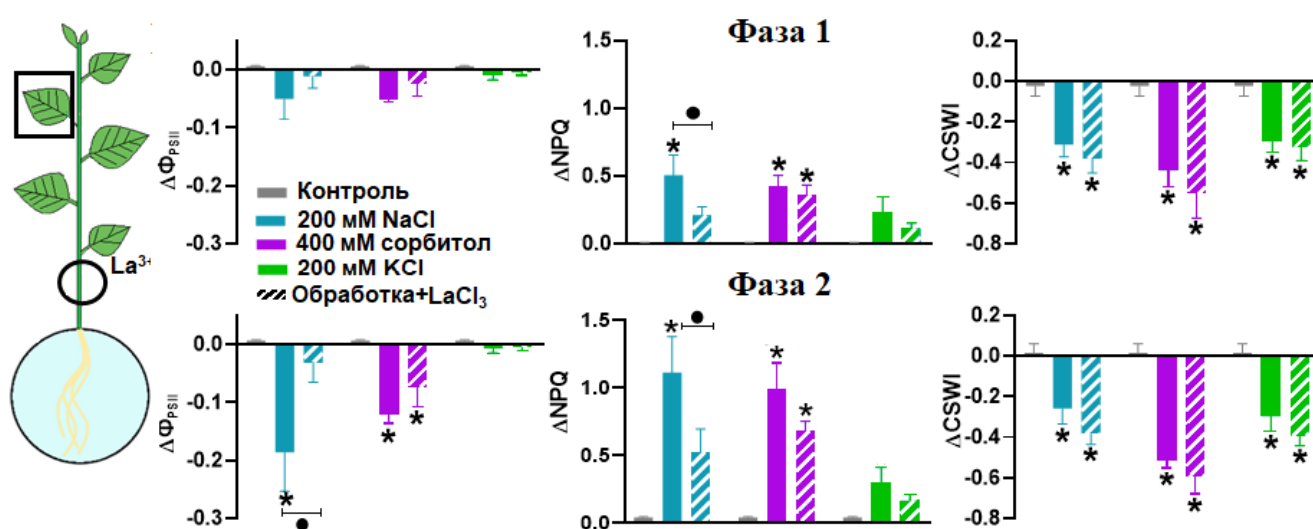


Рисунок 3.31. Влияние LaCl_3 на параметры флуоресценции хлорофилла (Φ_{PSII} и NPQ) и индекс CWSI в исследуемом листе микрорастения в первую фазу (50-60 минут) и вторую фазу (120 мин) снижения активности фотосинтеза.

* – статистически значимые различия с контролем,

• – статистически значимые различия с La^{3+} , $p < 0,05$

LaCl_3 вызывал подавление амплитуды повышения NPQ, вызванного NaCl, в первую и вторую фазу падения активности фотосинтеза и падение амплитуды

снижения Φ_{PSII} во вторую фазу. Следовательно, Ca^{2+} -сигнал, способствовавший начальному снижению активности фотосинтеза, главным образом индуцировался ионной компонентой засоления, что соответствует второму повышению уровня Ca^{2+} в побеге, зависящего от Na^+ , активности H^+ -АТФаз и АФК. $LaCl_3$ не влиял на изменения индекса CWSI (рис. 3.31), следовательно, изменения устьичной проводимости не зависели от распространяющейся Ca^{2+} -волны и были, вероятно, обусловлены гидравлической волной.

Таким образом, Ca^{2+} мог влиять негативно на активность фотосинтеза в первую и вторую фазы посредством снижения активности фруктоза-1,6-бисфосфатазы и седогептулоза-1,7-бисфосфатазы цикла Кальвина-Бенсона (Kreimer et al., 1988; Pottosin, Shabala, 2016) или, возможно, регулирования белков фотосистем (Lunde et al., 2000; Murray, Barber, 2006; Stael et al., 2012a; Dell’Aglia et al., 2013).

Через 4 и 8 часов обработки $NaCl$, KCl и сорбитолом $LaCl_3$ не оказывал влияния на параметры флуоресценции хлорофилла кроме случая обработки $NaCl$ и F_v/F_m : ингибитор вызывал статистически значимое увеличение амплитуды снижения F_v/F_m , вызванного $NaCl$ (рис. 3.32). Это может свидетельствовать как о важности Ca^{2+} -индуцированного снижения активности фотосинтеза на ранних этапах засоления, так и на дальнейшее протекание фотосинтетических процессов.

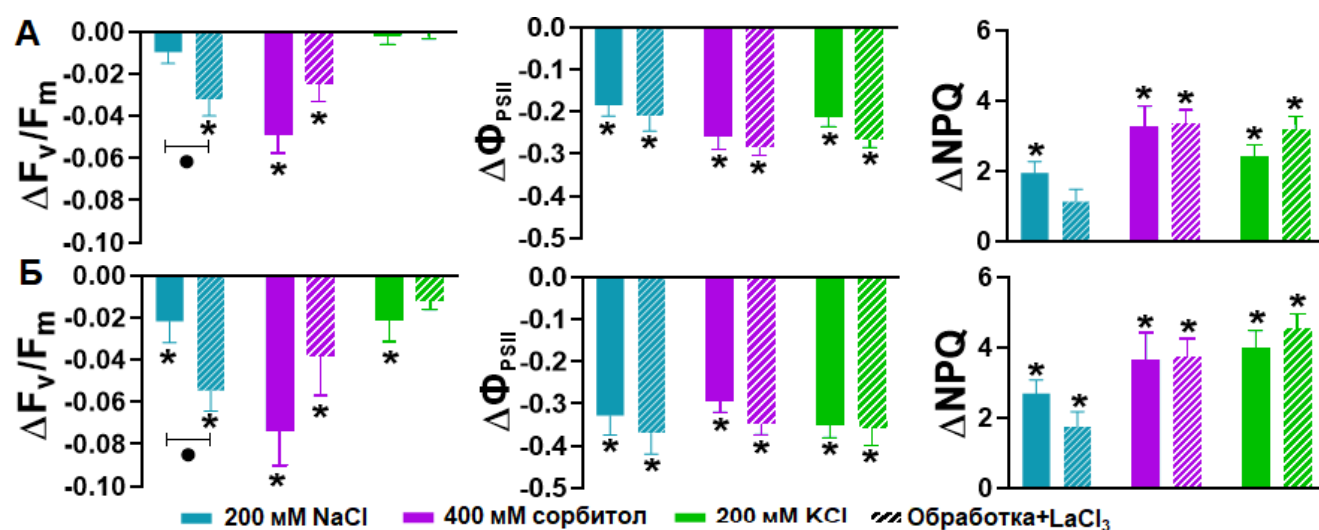


Рисунок 3.32. Влияние La^{3+} спустя 4 (А) и 8 (Б) часов обработки на изменения параметров флуоресценции хлорофилла: F_v/F_m , Φ_{PSII} и NPQ .

* – статистически значимые различия с контролем,

• – статистически значимые различия с La^{3+} , $p < 0,05$

Ca^{2+} -зависимое снижение активности фотосинтеза может быть подготовительным этапом перед непосредственным осмотическим и ионным воздействием засоления. Последующее снижение поступления CO_2 могло бы привести к ингибированию фотосинтетического транспорта электронов и цикла Кальвина-Бенсона и, как следствие, нарушению производства и потребления энергии. Образовавшийся избыток энергии фотонов мог бы привести к перепроизводству АФК, которые вызывают окислительное повреждение ФСII и ФСI (Shimakawa et al., 2017). Таким образом, снижение активности фотосинтеза, вызванное Ca^{2+} -сигналом, до падения поступления CO_2 в клетки может быть защитным механизмом от избытка АФК.

Изменения активности фотосинтеза первой и второй фаз, которые не зависели от Ca^{2+} , могут быть объяснены другими механизмами. Кроме распространяющегося Ca^{2+} -сигнала был зафиксирован гидравлический сигнал. Этот сигнал может быть воспринят в листьях механочувствительными каналами, в результате чего повышается уровень Ca^{2+} (Christmann et al., 2013; Shabala et al., 2016b). Большинство Ca^{2+} -проницаемых каналов подавляется La^{3+} (De Vriese et al., 2018), следовательно, гидравлическим сигналом в листе могут активироваться те же каналы, что и участвовали в первом повышении уровня Ca^{2+} в стебле. Осмотический компонент засоления также вызывает снижение гидравлической проводимости корня и побега, в следствие чего может происходить повышение уровня АФК в цитозоле за счёт ингибирования аквапоринов (Gilroy et al., 2016), что может привести к увеличению уровня АБК и к закрытию устьиц (Kuromori, Shinozaki, 2010; Groszmann et al., 2017; Sharipova et al., 2022). Также выдвигалось предположение, что АФК могут контролировать потоки ионов через тилакоидную мембрану, что может влиять на активность фотосинтеза (Pottosin, Shabala, 2016).

Кроме этих сигналов известно о влиянии изменения pH цитозоля на активность фотосинтеза. Например, у *Saintpaulia sp.* закисление цитозоля, вызванное быстрым понижением температуры, вызывало снижение флуоресценции хлорофилла (Kadohama et al., 2013), у кукурузы закисление цитозоля, вызванное электрическим сигналом при нагревании, влияло на

фотохимический квантовый выход ФСII (Grams et al., 2009), а у *Brassica napus* закисление цитозоля, вызванное дефицитом K^+ , приводило к нарушению регулирования рН хлоропластов, снижению активности РуБисКО и способности к фотосинтезу (Hu et al., 2023). Ca^{2+} -сигналы связывают с изменениями цитозольного и апопластного рН посредством изменения активности H^+ -АТФаз (Felle, 2001; Kader, Lindberg, 2010), поэтому можно предположить модулирование активности фотосинтеза посредством закисления цитозоля как совместно, так и отдельно от Ca^{2+} -сигнала. Однако мы не обнаружили ранних изменений цитозольного рН в листьях и в побеге, рН снижался в этих зонах только через 4-5 часов (рис. 3.25Б, В). Следовательно, протонная сигнальная система не является промежуточным звеном между Ca^{2+} -сигналами и фотосинтезом, а изменение активности H^+ -АТФаз в листе не влияет на начальные изменения активности фотосинтеза.

В хлоропласте также могут происходить изменения рН, связанные с процессами в цитозоле и влияющие на активность фотосинтеза. Снижение уровня ощелачивания в строме снижает фиксацию CO_2 и снижает активность ферментов цикла Кальвина-Бенсона фруктозобифосфатазы и рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы (Trinh, Masuda, 2022). Такое изменение рН стромы может происходить из-за ингибирования K^+/H^+ -антипортёров KEA1 и KEA2 внешней мембраны хлоропласта посредством Na^+ (Aranda Sicilia et al., 2021). Этот путь может быть задействован в третью фазу снижения активности фотосинтеза. Другие катион/ H^+ -антипортёры, локализованные на внешней мембране, могут влиять на рН стромы и оказывать негативное влияние на F_v/F_m и NPQ (Trinh, 2021; Trinh et al., 2025), однако пути их регуляции при засолении неизвестны.

Засоление вызывало распространяющиеся из корня в побег гидравлический сигнал и Ca^{2+} -сигнал. Также в корне обработка NaCl вызывала увеличение уровня АФК и изменения цитозольного рН, которые могли повлиять на амплитуду Ca^{2+} -сигнала. Распространяющийся Ca^{2+} -сигнал, главным образом, индуцированный Na^+ , вносит основной вклад в раннее снижение активности фотосинтеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты данной работы демонстрируют подавляющее действие засоления на активность фотосинтеза в листьях картофеля. Проведённое исследование выявило ранние изменения активности фотосинтеза, вызванные засолением, которые проходили в три фазы. Проведённый комплексный анализ позволил предположить, чем было индуцировано формирование каждой из этих фаз.

Начало накопления Na^+ в листьях совпадало с началом последней фазы снижения активности фотосинтеза, и оно может выступать индуктором этой фазы (рис. 4.1). Избыток Na^+ может угнетать активность фотосинтеза путём ингибирования кислород-выделяющего комплекса и ферментов цикла Кальвина-Бенсона (Yang et al., 2008; Kang et al., 2012; Pan et al., 2021).

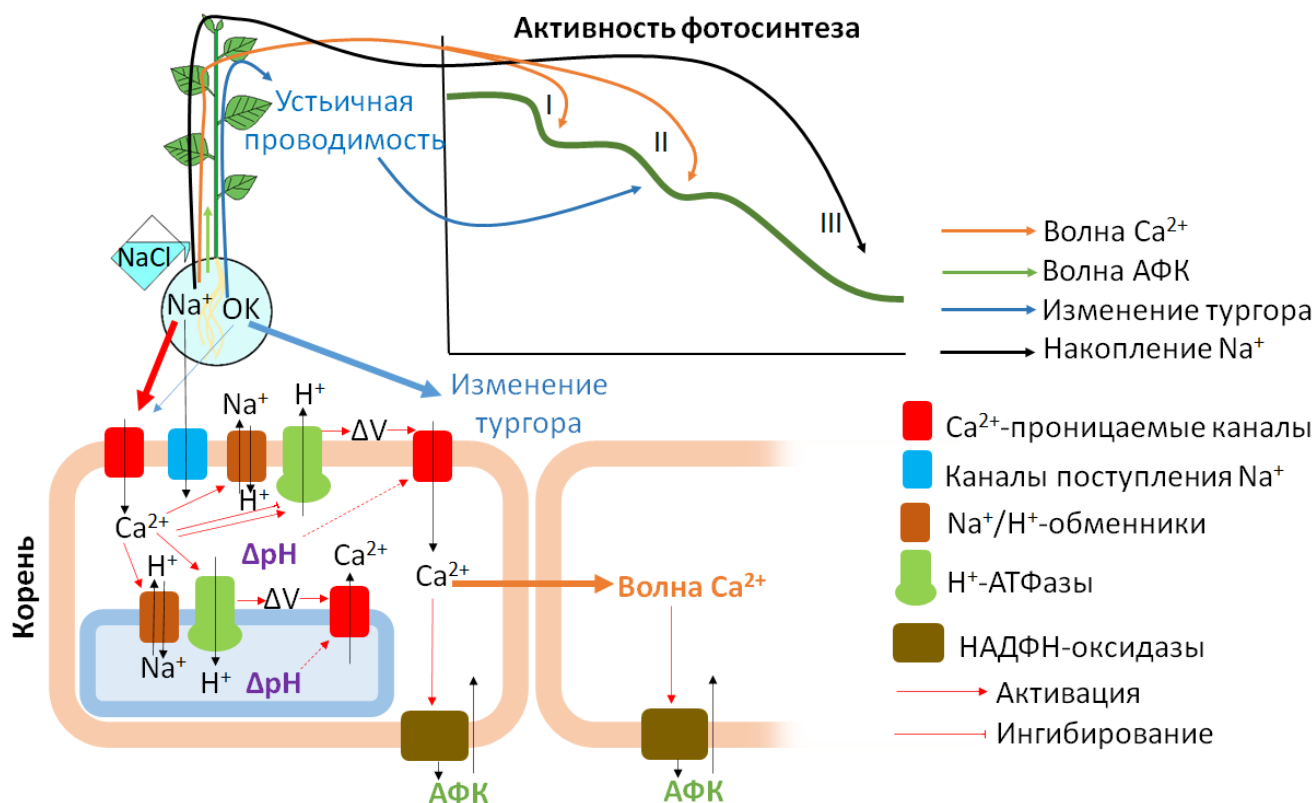


Рисунок 4.1. Предполагаемая схема ранних изменений активности фотосинтеза, вызванных ионным (Na^+) и осмотическим (ОК) компонентами засоления

Наряду с ионной составляющей, осмотический компонент засоления также оказывает негативное влияние на активность фотосинтеза. Падение устьичной проводимости, которое по времени наступления соответствует второй фазе снижения активности фотосинтеза, может частично её опосредовать. Сокращение

поступления CO_2 вызывает снижение активности ферментов цикла Кальвина-Бенсона и подавление светозависимых реакций вследствие этого (Aharon et al., 2003; Li et al., 2008; Pan et al., 2021).

Наиболее раннее снижение активности фотосинтеза не может быть вызвано накоплением Na^+ или ограничением устьичной проводимости, поскольку они происходят позже, но это снижение может быть индуцировано сигналами, исходящими из корня. В корне были зарегистрированы изменения уровня Ca^{2+} , H_2O_2 и цитозольного pH с помощью созданных растений с флуоресцентными сенсорами. В побег распространялись гидравлическая волна и Ca^{2+} -волна. Индукция распространяющейся в побег Ca^{2+} -волны вызывалась осмотическим компонентом засоления и, в большей мере, Na^+ . Механизм индукции Ca^{2+} -волны с помощью Na^+ также включал изменение активности H^+ -АТФазы в корне и НАДФН-оксидаз. Распространяющаяся Ca^{2+} -волна в побеге вносит основной вклад в первую фазу снижения активности фотосинтеза, наиболее вероятно, за счёт прямого влияния на светозависимые реакции или путём снижения активности ферментов цикла Кальвина-Бенсона (Kreimer et al., 1988; Pottosin, Shabala, 2016).

Можно полагать, что вызванное распространяющимися из корня в побег сигналами снижение активности фотосинтеза имеет значение для формирования устойчивости растения. Осмотический и ионный компоненты засоления могут приводить к возникновению окислительного стресса, который вызывает серьезные повреждения, в том числе хлоропластных ферментов и структур. Продукция АФК в хлоропластах зависит от активности фотосинтеза, и предварительное снижение активности фотосинтеза, вызванное Ca^{2+} -сигналом, может предотвратить избыточную продукцию АФК и дальнейшее повреждение фотосинтетического аппарата (Foyer, Hanke, 2022). Таким образом, механизмы индукции, генерации и распространения сигналов при засолении, а также пути их влияния на активность физиологических процессов требуют дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Созданы растения картофеля с генетически кодируемыми флуоресцентными сенсорами, чувствительными к концентрации H^+ (Pt-GFP), Ca^{2+} (Case12) и H_2O_2 (HyPer7) в цитозоле.
2. Действие NaCl на корни картофеля вызывает снижение активности фотосинтеза, которое происходит в три фазы. Первая фаза, характеризующаяся переходным увеличением NPQ и снижением Φ_{PSII} , начинается у микрорастений через 20 минут после обработки. Вторая фаза характеризуется повторным ростом NPQ и выраженным снижением Φ_{PSII} , у микрорастений она начинается через 60-70 минут. В третью фазу наряду с изменениями NPQ и Φ_{PSII} происходит снижение F_v/F_m , что происходило через 4-5 часов после обработки.
3. Засоление вызывало накопление Na^+ в листьях и снижение устьичной проводимости. Сопоставление динамики параметров флуоресценции хлорофилла с динамикой снижения устьичной проводимости и накопления Na^+ свидетельствует об их роли в индукции второй и третьей фазы снижения активности фотосинтеза соответственно.
4. Обработка NaCl корней вызывает распространение в побеге Ca^{2+} -волны, а также переходное уменьшение толщины стебля, которое может быть связано с распространением гидравлической волны. Электрический сигнал в побеге отсутствовал. АФК-волна, представленная повышением уровня H_2O_2 , распространялась в побег на расстояние не более нескольких сантиметров от корня.
5. Распространяющаяся Ca^{2+} -волна вызывает формирование первой фазы снижения активности фотосинтеза, что подтверждается значительным угнетением этой фазы ответа фотосинтеза при блокировании Ca^{2+} -волны.
6. Как ионный, так и осмотический компоненты засоления индуцируют Ca^{2+} -волну, однако Na^+ вносит основной вклад в индукцию этого сигнала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-Пресс, 1999. 152 с.
2. Гольцев В.Н., Каладжи Х.М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С.И. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений // Физиология Растений. 2016. Т. 63, № 6. С. 881-907.
3. Дитченко Т.И., Кудряшов А.П., Юрин В.М. Модификация активности протонного насоса плазмалеммы растительной клетки под действием производных 1,2,4-триазола // Доклады Национальной Академии Наук Беларуси. 2002. Т. 46, №1. С. 78-82.
4. Лукаткин А.С., Кочетков Н.С., Зубарев А.А. Картофель в Мордовии: настоящее и будущее. С.: Изд-во Мордов. ун-та, 2005. 2004 с.
5. Шерстнева О.Н., Сурова Л.М., Воденеев В.А., Плотникова Ю.И., Бушуева А.В., Сухов В.С. Роль внутри- и внеклеточных протонов в индукции фотосинтетического ответа вариабельным потенциалом в проростках гороха // Биологические Мембраны: Журнал Мембранной и Клеточной Биологии. 2015. Т. 32, №5-6. С. 446-454.
6. Широких И.Г., Бакулина А.В., Огородникова С.Ю., Баранова Е.Н., Лундовских И.А., Гулевич А.А. Влияние встройки Fe-COD1 гена на рост, перекислый гомеостаз и состояние пигментного комплекса трансгенных растений картофеля // Агрохимия. 2014. Т. 8. С. 72-78.
7. Abbas G., Saqib M., Rafique Q., Rahman A., Akhtar J., Anwar-Ul-Haq M., Nasim M. Effect of salinity on grain yield and grain quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Pakistan Journal of Agricultural Research. 2013. V. 50, I. 1. P. 185-189.
8. Abdel-Farid I.B., Marghany M.R., Rowezek M.M., Sheded M.G. Effect of salinity stress on growth and metabolomic profiling of *Cucumis sativus* and *Solanum lycopersicum* // Plants. 2020. V. 9, I.11. P. 1–19.
9. Acosta-Motos J., Ortuño M., Bernal-Vicente A., Diaz-Vivancos P., Sanchez-Blanco M., Hernandez J. Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms //

Agronomy. 2017. V. 7, I. 18.

10. Adem G.D., Roy S.J., Zhou M., Bowman J.P., Shabala S. Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley // BMC Plant Biology. 2014. V. 14, I. 113.
11. Affenzeller M.J., Darehshouri A., Andosch A., Lütz C., Lütz-Meindl U. Salt stress-induced cell death in the unicellular green alga *Micrasterias denticulate* // Journal of Experimental Botany. 2009. V. 60, I. 3. P. 939-954.
12. Aglyamova A., Petrova N., Gorshkov O., Kozlova L., Gorshkova T. Growing Maize Root: Lectins Involved in Consecutive Stages of Cell Development // Plants. 2022. V. 11, I. 1799.
13. Aharon R., Shahak Y., Wininger S., Bendov R., Kapulnik Y., Galili G. Overexpression of a plasma membrane aquaporin in transgenic tobacco improves plant vigor under favorable growth conditions but not under drought or salt stress // Plant Cell. 2003. V. 15, I. 2. P. 439-447.
14. Ahmed M., Toth Z., Decsi K. The impact of salinity on crop yields and the confrontational behavior of transcriptional regulators, nanoparticles, and antioxidant defensive mechanisms under stressful conditions: a review // International Journal of Molecular Science. 2024. V. 25, I. 5.
15. Ahmed Kalhoro N., Rajpar I., Ali Kalhoro S., Ali A., Raza S., Ahmed M., Ali Kalhoro F., Ramzan M., Wahid F. Effect of Salts Stress on the Growth and Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) // American Journal of Plant Sciences. 2016. V. 07, I.15. P. 2257–2271.
16. Ahmed S., Bot, P.J. Effect of soil salinity on the yield and yield components of mungbean // Pakistan Journal of Botany. 2009. V. 41, I. 1. P. 263-268.
17. Alcon C., Xiong T.C. Calcium Live Imaging at Multi-Scales from Cellular to Organ Level in *Arabidopsis thaliana* // Methods in Molecular Biology. 2023. V. 2642. P. 85-95.
18. Alharbi K., Al-Osaimi A.A., Alghamdi B.A. Sodium Chloride (NaCl)-Induced Physiological Alteration and Oxidative Stress Generation in *Pisum sativum* (L.): A Toxicity Assessment // ACS Omega. 2022. V. 7, I. 24. P. 20819-20832.

19. Ali A., Petrov V., Yun D.J., Gechev T. Revisiting plant salt tolerance: novel components of the SOS pathway // *Trends in Plant Science*. 2023. V. 28, P. 1060-1069.
20. Ali O., Cheddadi I., Landrein B., Long Y. Revisiting the relationship between turgor pressure and plant cell growth // *New Phytologist*. 2023. V. 238, I. 1. P. 62-69.
21. Al-Khayri J.M., Abdel-Haleem M., Khedr E.H. Harnessing GABA Pathways to Improve Plant Resilience Against Salt Stress // *Horticulturae*. 2024. V. 10, I. 12.
22. Allan C., Tayagui A., Hornung R., Nock V., Meisrimler C.N. A dual-flow RootChip enables quantification of bi-directional calcium signaling in primary roots // *Frontiers in Plant Science*. 2023. V. 13.
23. Almeida D.M., Margarida Oliveira M., Saibo N.J.M. Regulation of Na⁺ and K⁺ homeostasis in plants: Towards improved salt stress tolerance in crop plants // *Genetics and Molecular Biology*. 2017. V. 40, I. 1. P. 326-345.
24. Amirjani M.R. Effect of NaCl on Some Physiological Parameters of Rice // *EJBS*. 2010. V. 3, I. 1. P. 6-16.
25. Analin B., Mohanan A., Bakka K., Challabathula D. Cytochrome oxidase and alternative oxidase pathways of mitochondrial electron transport chain are important for the photosynthetic performance of pea plants under salinity stress conditions // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2020. V. 154. P. 248-259.
26. Apse M.P., Blumwald E. Na⁺ transport in plants // *FEBS Letters*. 2007. V. 581, I. 12. P. 2247-2254.
27. Aranda Sicilia M.N., Sánchez Romero M.E., Rodríguez Rosales M.P., Venema K. Plastidial transporters KEA1 and KEA2 at the inner envelope membrane adjust stromal pH in the dark // *New Phytologist*. 2021. V. 229, I. 4. P. 2080-2090.
28. Arif Y., Singh S., Siddiqui H., Shiraz M., Mir A.R., Alam P., Hayat S. Comparative study of stress generated by osmolytes on the growth, photosynthesis and metabolic responses in *Nigella sativa* // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2023. V. 52.
29. Atta K., Mondal S., Gorai S., Singh A.P., Kumari A., Ghosh T., Roy A., Hembram S., Gaikwad D.J., Mondal S., Bhattacharya S., Jha U.C., Jespersen D. Impacts of salinity stress on crop plants: improving salt tolerance through genetic and molecular dissection // *Frontiers in Plant Science*. 2023, V. 14.

30. Awlia M., Alshareef N., Saber N., Korte A., Oakey H., Panzarová K., Trtílek M., Negrão S., Tester M., Julkowska M.M. Genetic mapping of the early responses to salt stress in *Arabidopsis thaliana* // Plant Journal. 2021. V. 107, I. 2. P. 544-563.
31. Azzabi G., Pinnola A., Betterle N., Bassi R., Alboresi A. Enhancement of non-photochemical quenching in the bryophyte *Physcomitrella patens* during acclimation to salt and osmotic stress // Plant and Cell Physiology. 2012. V. 53, I. 10. P. 1815-1825.
32. Backhausen J.E., Klein M., Klocke M., Jung S., Scheibe R. Salt tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L. var. Désirée) plants depends on light intensity and air humidity // Plant Science. 2005. V. 169, I. 1. P. 229-237.
33. Bai R., Bai C., Han X., Liu Y., Yong J.W.H. The significance of calcium-sensing receptor in sustaining photosynthesis and ameliorating stress responses in plants // Frontiers in Plant Science. 2022. V. 13.
34. Bai R., Lin Y., Jiang Y. Diverse genotypic variations of photosynthetic capacity, transpiration and antioxidant enzymes of lily hybrids to increasing salinity stress // Scientia Horticulturae. 2021. V. 280.
35. Banik S., Dutta D. Membrane Proteins in Plant Salinity Stress Perception, Sensing, and Response // Journal of Membrane Biology. 2023. V. 256, I. 2. P. 109-124.
36. Barnes A.C., Benning C., Roston R.L. Chloroplast Membrane Remodeling during Freezing Stress Is Accompanied by Cytoplasmic Acidification Activating SENSITIVE TO FREEZING2 // Plant Physiology. 2016. V. 171, I. 3. P. 2140-2149.
37. Baum S.F., Tran P.N., Silk W.K. Effects of salinity on xylem structure and water use in growing leaves of sorghum // New Phytologist. 2000. V. 146. P. 119-127.
38. Behera S., Xu Z., Luoni L., Bonza M.C., Doccia F.G., De Michelis M.I., Morris R.J., Schwarzländer M., Costa A. Cellular Ca^{2+} Signals Generate Defined pH Signatures in Plants // The Plant Cell. 2018. V. 30, I. 11. P. 2704-2719.
39. Ben-Gal A., Ityel E., Dudley L., Cohen S., Yermiyahu U., Presnov E., Zigmond L., Shani U. Effect of irrigation water salinity on transpiration and on leaching requirements: A case study for bell peppers // Agricultural Water Management. 2008. V. 95, I. 5. P. 587-597.
40. Białasek M., Górecka M., Mittler R., Karpiński S. Evidence for the involvement of

- electrical, calcium and ROS signaling in the systemic regulation of non-photochemical quenching and photosynthesis // *Plant and Cell Physiology*. 2017. V. 58, I. 2. P. 207-215.
41. Bienert G.P., Chaumont F. Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide // *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 2014. V. 1840, I. 5. P. 1596-1604.
 42. Bilichak A., Illynskyy Y., Hollunder J., Kovalchuk I. The progeny of *Arabidopsis thaliana* plants exposed to salt exhibit changes in DNA methylation, histone modifications and gene expression // *PLoS ONE*. 2012. V. 7, I. 1.
 43. Bobik K., Duby G., Nizet Y., Vandermeeren C., Stiernet P., Kanczewska J., Boutry M. Two widely expressed plasma membrane H⁺-ATPase isoforms of *Nicotiana tabacum* are differentially regulated by phosphorylation of their penultimate threonine // *The Plant Journal*. 2010. V. 62, I. 2. P. 291-301.
 44. Bohle F., Klaus A., Ingelfinger J., Tegethof H., Safari N., Schwarzländer M., Hochholdinger F., Hahn M., Meyer A.J., Acosta I.F., Müller-Schüssele S.J. Contrasting cytosolic glutathione redox dynamics under abiotic and biotic stress in barley as revealed by the biosensor Grx1-roGFP2 // *Journal of Experimental Botany*. 2024. V. 75, I. 8. P. 2299-2312.
 45. Borna R.S., Hoque M.I., Sarker R.H. Agrobacterium-mediated Genetic Transformation for Local Cultivars of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Using Marker Genes // *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. 2010. V. 20, I. 2. P. 145-155.
 46. Bose J., Pottosin I.I., Shabala S.S., Palmgren M.G., Shabala S. Calcium Efflux Systems in Stress Signaling and Adaptation in Plants // *Frontiers in Plant Science*. 2011. V. 2.
 47. Bose J., Shabala L., Pottosin I., Zeng F., Velarde-Buendía A.M., Massart A., Poschenrieder C., Hariadi Y., Shabala S. Kinetics of xylem loading, membrane potential maintenance, and sensitivity of K⁺-permeable channels to reactive oxygen species: Physiological traits that differentiate salinity tolerance between pea and barley // *Plant, Cell and Environment*. 2014. V. 37, I. 3. P. 589-600.
 48. Boursiac Y., Chen S., Luu D.T., Sorieul M., Van Den Dries N., Maurel C. Early effects of salinity on water transport in *Arabidopsis* roots. Molecular and cellular features

of aquaporin expression // *Plant Physiology*. 2005. V. 139, I. 2. P. 790-805.

49. Bulgakov V.P., Gorpenchenko T.Y., Veremeichik G.N., Shkryl Y.N., Tchernoded G.K., Bulgakov D.V., Aminin D.L., Zhuravlev Y.N. The rolB Gene Suppresses Reactive Oxygen Species in Transformed Plant Cells through the Sustained Activation of Antioxidant Defense // *Plant Physiology*. 2012. V. 158, I. 3. P. 1371-1381.

50. Bündig C., Blume C., Peterhänsel C., Winkelmann T. Changed composition of metabolites in *Solanum tuberosum* subjected to osmotic stress in vitro: Is sorbitol taken up? // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2016. V. 127, I. 1. P. 195-206.

51. Cackett L., Cannistraci C.V., Meier S., Ferrandi P., Pěňčík A., Gehring C., Novák O., Ingle R.A., Donaldson L. Salt-Specific Gene Expression Reveals Elevated Auxin Levels in *Arabidopsis thaliana* Plants Grown Under Saline Conditions // *Frontiers in Plant Science*. 2022. V. 13.

52. Calvo-Polanco M., Sánchez-Romera B., Aroca R. Mild salt stress conditions induce different responses in root hydraulic conductivity of *Phaseolus vulgaris* over-time // *PLoS ONE*. 2014. V. 9, I. 3.

53. Černý M., Habánová H., Berka M., Luklová M., Brzobohatý B. Hydrogen peroxide: Its role in plant biology and crosstalk with signalling networks // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. V. 19, I. 9.

54. Cerqueira J.V.A., Silveira J.A.G., Carvalho F.E.L., Cunha J.R., Lima Neto M.C. The regulation of P700 is an important photoprotective mechanism to NaCl-salinity in *Jatropha curcas* // *Physiologia Plantarum*. 2019. V. 167, I. 3. P. 404-417.

55. Challabathula D., Analin B., Mohanan A., Bakka K. Differential modulation of photosynthesis, ROS and antioxidant enzyme activities in stress-sensitive and -tolerant rice cultivars during salinity and drought upon restriction of COX and AOX pathways of mitochondrial oxidative electron transport // *Journal of Plant Physiology*. 2022. V. 268.

56. Chauhan J., Prathibha M.D., Singh P., Choyal P., Mishra U.N., Saha D., Kumar R., Anuragi H., Pandey S., Bose B., Mehta B., Dey P., Dwivedi K.K., Gupta N.K., Singhal R.K. Plant photosynthesis under abiotic stresses: Damages, adaptive, and signaling mechanisms // *Plant Stress*. 2023. V. 10.

57. Chaves M.M., Flexas J., Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress:

regulation mechanisms from whole plant to cell // *Annals of Botany*. 2009. V. 103, I. 4. P. 551-560.

58. Che Y., Yao T., Wang H., Wang Z., Zhang H., Sun G., Zhang H. Potassium ion regulates hormone, Ca^{2+} and H_2O_2 signal transduction and antioxidant activities to improve salt stress resistance in tobacco // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2022. V. 186. P. 40-51.

59. Chen S., Li J., Wang S., Hüttermann A., Altman A. Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of *Populus euphratica*; a hybrid in response to increasing soil NaCl // *Trees*. 2001. V. 15, I. 3. P. 186-194.

60. Chen W., Hou Z., Wu L., Liang Y., Wei C. Effects of salinity and nitrogen on cotton growth in arid environment // *Plant and Soil*. 2010. V. 326, I. 1. P. 61-73.

61. Chen X., Han H., Cong Y., Li X., Zhang W., Wan W., Cui J., Xu W., Diao M., Liu H. The Protective Effect of Exogenous Ascorbic Acid on Photosystem Inhibition of Tomato Seedlings Induced by Salt Stress // *Plants*. 2023. V. 12, I. 6.

62. Chen Z., Pottosin I.I., Cuin T.A., Fuglsang A.T., Tester M., Jha D., Zepeda-Jazo I., Zhou M., Palmgren M.G., Newman I.A., Shabala S. Root plasma membrane transporters controlling K^+/Na^+ homeostasis in salt-stressed barley // *Plant Physiology*. 2007. V. 145, I. 4. P. 1714-1725.

63. Cheng M., Wang H., Fan J., Wang X., Sun X., Yang L., Zhang S., Xiang Y., Zhang F. Crop yield and water productivity under salty water irrigation: A global meta-analysis // *Agricultural Water Management*. 2021. V. 256.

64. Chikov V.I., Akhtyamova G.A. Photorespiration and Its Role in the Regulation of Photosynthesis and Plant Productivity // *American Journal of Plant Sciences*. 2019. V. 10, I. 12. P. 2179-2202.

65. Choi W.G., Hilleary R., Swanson S.J., Kim S.H., Gilroy S. Rapid, Long-Distance Electrical and Calcium Signaling in Plants // *Annual Review of Plant Biology*. 2016. V. 67. P. 287-307.

66. Choi W.G., Miller G., Wallace I., Harper J., Mittler R., Gilroy S. Orchestrating rapid long-distance signaling in plants with Ca^{2+} , ROS and electrical signals // *Plant Journal*. 2017. V. 90, I. 4. P. 698-707.

67. Choi W.G., Toyota M., Kim S.H., Hilleary R., Gilroy S. Salt stress-induced Ca^{2+} waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014. V. 111, I. 17. P. 6497-6502.
68. Chourasia K.N., Lal M.K., Tiwari R.K., Dev D., Kardile H.B., Patil V.U., Kumar A., Vanishree G., Kumar D., Bhardwaj V., Meena J.K., Mangal V., Shelake R.M., Kim J.Y., Pramanik D. Salinity stress in potato: Understanding physiological, biochemical and molecular responses // *Life*. 2021. V. 11, I. 6.
69. Christmann A., Grill E., Huang J. Hydraulic signals in long-distance signaling // *Current Opinion in Plant Biology*. 2013. V. 16, I. 3. P. 293-300.
70. Çiçek N., Oukarroum A., Strasser R.J., Schansker G. Salt stress effects on the photosynthetic electron transport chain in two chickpea lines differing in their salt stress tolerance // *Photosynthesis Research*. 2018. V. 136, I. 3. P. 291-301.
71. Cocucci M., Ballarin-Denti A., Marrè M.T. Effects of orthovanadate on H^+ secretion, K^+ uptake, electric potential difference and membrane ATPase activities of higher plant tissues // *Plant Science Letters*. 1980. V. 17. P. 391-400.
72. Corso M., Doccia F.G., De Melo R.J.F., Costa A., Verbruggen N. Endoplasmic reticulum-localized CCX2 is required for osmotolerance by regulating ER and cytosolic Ca^{2+} dynamics in *Arabidopsis* // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018. V. 115, I. 15. P. 3966-3971.
73. Cucci G., Lacolla G., Boari F., Mastro M.A., Cantore V. Effect of water salinity and irrigation regime on maize (*Zea mays* L.) cultivated on clay loam soil and irrigated by furrow in Southern Italy // *Agricultural Water Management*. 2019. V. 222. P. 118-124.
74. Cuin T.A., Miller A.J., Laurie S.A., Leigh R.A. Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves // *Journal of Experimental Botany*. 2003. V. 54, I. 383. P. 657-661.
75. Cutolo E., Parvin N., Ruge H., Pirayesh N., Roustan V., Weckwerth W., Teige M., Grieco M., Larosa V., Vothknecht U. The high light response in *Arabidopsis* requires the calcium sensors protein CAS, a target of STN7- and STN8-mediated phosphorylation // *Frontiers in Plant Science*. 2019. V. 10.

76. Czymmek K.J., Benitez-Alfonso Y., Burch-Smith T., Di Costanzo L.F., Drakakaki G., Facette M., Kierzkowski D., Klebanovych A., Radin I., Roychoudhry S., McFarlane H.E. Best practices in plant fluorescence imaging and reporting: A primer // *The Plant Cell*. 2025. V. 37, I. 7.
77. Darwish E., Testerink C., Khalil M., El-Shihy O., Munnik T. Phospholipid Signaling Responses in Salt-Stressed Rice Leaves // *Plant and Cell Physiology*. 2009. V. 50, I. 5. P. 986-997.
78. Davies J.M. Annexin-mediated calcium signalling in plants // *Plants*. 2014. V. 3, I. 1.
79. Dayer S., Herrera J.C., Dai Z., Burlett R., Lamarque L.J., Delzon S., Bortolami G., Cochard H., Gambetta G.A. The sequence and thresholds of leaf hydraulic traits underlying grapevine varietal differences in drought tolerance // *Journal of Experimental Botany*. 2020. V. 71, I. 14. P. 4333-4344.
80. De Vriese K., Costa A., Beeckman T., Vanneste S. Pharmacological strategies for manipulating plant Ca^{2+} signalling // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. V. 19, I. 5).
81. Dell'Aglio E., Giustini C., Salvi D., Brugière S., Delpierre F., Moyet L., Baudet M., Seigneurin-Berny D., Matringe M., Ferro M., Rolland N., Curien G. Complementary biochemical approaches applied to the identification of plastidial calmodulin-binding proteins // *Molecular BioSystems*. 2013. V. 9, I. 6.
82. Demidchik V., Bowen H.C., Maathuis F.J.M., Shabala S.N., Tester M.A., White P. J., Davies J.M. *Arabidopsis thaliana* root non-selective cation channels mediate calcium uptake and are involved in growth // *Plant Journal*. 2002. V. 32, I. 5. P. 799-808.
83. Dewald D.B., Torabinejad J., Jones C.A., Shope J.C., Cangelosi A.R., Thompson J.E., Prestwich G.D., Hama H. Rapid Accumulation of Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate and Inositol 1,4,5-Trisphosphate Correlates with Calcium Mobilization in Salt-Stressed *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. 2001. V. 126. P. 759-769.
84. Dindas J., Dreyer I., Huang S., Hedrich R., Roelfsema M.R.G. A voltage-dependent Ca^{2+} homeostat operates in the plant vacuolar membrane // *New Phytologist*. 2021. V. 230, I. 4. P. 1449-1460.

85. Dmitrieva V.A., Domashkina V.V., Ivanova A.N., Sukhov V.S., Tyutereva E.V., Voitsekhovskaja O.V. Regulation of plasmodesmata in *Arabidopsis* leaves: ATP, NADPH and chlorophyll b levels matter // *Journal of Experimental Botany*. 2021. V. 72, I. 15. P. 5534-5552.
86. Domec J.C., King J.S., Carmichael M.J., Overby A.T., Wortemann R., Smith W. K., Miao G., Noormets A., Johnson D.M. Aquaporins, and not changes in root structure, provide new insights into physiological responses to drought, flooding, and salinity // *Journal of Experimental Botany*. 2021. V. 72, I. 12. P. 4489-4501.
87. Dong Q., Zhang Z., Liu Y., Tao L., Liu H. FERONIA regulates auxin-mediated lateral root development and primary root gravitropism // *FEBS Letters*. 2019. V. 593, I. 1. P. 97-106.
88. Du X., Yu R., Shi C., Wang Y., Meng R., Shi W., Jin M., Wei X., Sun T. Comparative transcriptomics reveals osmotic and ionic stress key genes contributing to the difference in the salinity tolerance of two pak choi cultivars // *Environmental and Experimental Botany*. 2021. V. 191, I. 104621.
89. Dutta D. Interplay between membrane proteins and membrane protein-lipid pertaining to plant salinity stress // *Cell Biochemistry and Function*. 2023. V. 41, I. 4. P. 399-412.
90. Ellouzi H., Hamed K.B., Hernández I., Cela J., Müller M., Magné C., Abdelly C., Munné-Bosch S. A comparative study of the early osmotic, ionic, redox and hormonal signaling response in leaves and roots of two halophytes and a glycophyte to salinity // *Planta*. 2014. V. 240, I. 6. P. 1299-1317.
91. ElSayed A.I., Rafudeen M.S., Gomaa A.M., Hasanuzzaman M. Exogenous melatonin enhances the reactive oxygen species metabolism, antioxidant defense-related gene expression, and photosynthetic capacity of *Phaseolus vulgaris* L. to confer salt stress tolerance // *Physiologia Plantarum*. 2021. V. 173, I. 4. P. 1369-1381.
92. Esfandiari E., Gohari G. Response of ROS-Scavenging systems to salinity stress in two different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2017. V. 45, I. 1. P. 287-291.
93. Evans M.J., Choi W.-G., Gilroy S., Morris R.J. A ROS-Assisted Calcium Wave

- Dependent on the AtRBOHD NADPH Oxidase and TPC1 Cation Channel Propagates the Systemic Response to Salt Stress // *Plant Physiology*. 2016. V. 171, I. 3. P. 1771-1784.
94. Fahad S., Hussain S., Matloob A., Khan F.A., Khaliq A., Saud S., Hassan S., Shan D., Khan F., Ullah N., Faiq M., Khan M.R., Tareen A.K., Khan A., Ullah A., Ullah N., Huang J. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review // *Plant Growth Regulation*. 2015. V. 75, I. 2. P. 391-404.
 95. Falakboland Z., Zhou M., Zeng F., Kiani-Pouya A., Shabala L., Shabala S. Plant ionic relation and whole-plant physiological responses to waterlogging, salinity and their combination in barley // *Functional Plant Biology*. 2017. V. 44, I. 9. P. 941-953.
 96. Falouti M., Ellouzi H., Bounaouara F., Farhat N., Aggag A.M., Debez A., Rabhi M., Abdelly C., Slama I., Zorrig W. Higher activity of PSI compared to PSII accounts for the beneficial effect of silicon on barley (*Hordeum vulgare* L.) plants challenged with salinity // *Photosynthetica*. 2022. V. 60, I. 4. P. 508-520.
 97. Felle H.H. pH Signal and Messenger in Plant Cells // *Plant Biology*. 2001. V. 3. P. 577-591.
 98. Feng W., Kita D., Peaucelle A., Cartwright H.N., Doan V., Duan Q., Liu M.C., Maman J., Steinhorst L., Schmitz-Thom I., Yvon R., Kudla J., Wu H.M., Cheung A.Y., Dinneny J.R. The FERONIA Receptor Kinase Maintains Cell-Wall Integrity during Salt Stress through Ca^{2+} Signaling // *Current Biology*. 2018. V. 28, I. 5. P. 666-675.
 99. Fichman Y., Miller G., Mittler R. Whole-Plant Live Imaging of Reactive Oxygen Species // *Molecular Plant*. 2019. V. 12, I. 9. P. 1203-1210.
 100. Fisahn J., Herde O., Willmitzer L., Peña-Cortés H. Analysis of the Transient Increase in Cytosolic Ca^{2+} during the Action Potential of Higher Plants with High Temporal Resolution: Requirement of Ca^{2+} Transients for Induction of Jasmonic Acid Biosynthesis and PINII Gene Expression // *Plant and Cell Physiology*. 2004. V. 45, I. 4. P. 456-459.
 101. Formentin E., Sudiro C., Ronci M.B., Locato V., Barizza E., Stevanato P., Ijaz B., Zottini M., De Gara L., Lo Schiavo F. H_2O_2 signature and innate antioxidative profile make the difference between sensitivity and tolerance to salt in rice cells // *Frontiers in Plant Science*. 2018. V. 871.

102. Foyer C.H. Reactive oxygen species, oxidative signaling and the regulation of photosynthesis // *Environmental and Experimental Botany*. 2018. V. 154. P. 134-142.
103. Foyer C.Y., Hanke G. ROS production and signaling in chloroplasts: cornerstones and evolving concepts // *The Plant Journal*. 2022. V. 111, I. 2. P. 642-661.
104. Fu Y., Ma H., Chen S., Gu T., Gong J. Control of proline accumulation under drought via a novel pathway comprising the histone methylase CAU1 and the transcription factor ANAC055 // *Journal of Experimental Botany*. 2018. V. 69, I. 3. P. 579-588.
105. Fu Y.L., Zhang G.B., Lv X.F., Guan Y., Yi H.Y., Gong J.M. *Arabidopsis* Histone Methylase CAU1/PRMT5/SKB1 Acts as an Epigenetic Suppressor of the Calcium Signaling Gene CAS to Mediate Stomatal Closure in Response to Extracellular Calcium // *The Plant Cell*. 2013. V. 25, I. 8. P. 2878-2891.
106. Fuglsang A.T., Guo Y., Cuin T.A., Qiu Q., Song C., Kristiansen K.A., Bych K., Schulz A., Shabala S., Schumaker K.S., Palmgren M.G., Zhub J.K. *Arabidopsis* protein kinase PKS5 inhibits the plasma membrane H⁺-ATPase by preventing interaction with 14-3-3 protein // *Plant Cell*. 2007. V. 19, I. 5. P. 1617-1634.
107. Fulton T.M., Chunwongse J., Tanksley S.D. Microprep Protocol for Extraction of DNA from Tomato and other Herbaceous Plants // *Plant Molecular Biology Reporter*. 1995. V. 13, I. 3. P. 207-209.
108. Furch A.C.U., Van Bel A.J.E., Fricker M.D., Felle H.H., Fuchs M., Hafke J.B. Sieve element Ca²⁺ channels as relay stations between remote stimuli and sieve tube occlusion in *Vicia faba* // *Plant Cell*. 2009. V. 21, I. 7. P. 2118-2132.
109. Gandonou C.B., Prodjinoto H., Zanklan S.A., Wouyou A.D., Lutts S., Montcho D.H., Komlan F.A., Mensah A.C.G. Effects of salinity stress on growth in relation to gas exchanges parameters and water status in amaranth (*Amaranthus cruentus*) // *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 2018. V. 10, I. 3. P. 19-27.
110. Gao D., Knight M.R., Trewavas A.J., Sattelmacher B., Plieth C. Self-reporting arabidopsis expressing pH and [Ca²⁺] indicators unveil ion dynamics in the cytoplasm and in the apoplast under abiotic stress // *Plant Physiology*. 2004. V. 134, I. 3. P. 898-908.

111. Gao H.J., Yang H.Y., Bai J.P., Liang X.Y., Lou Y., Zhang J.L., Wang D., Zhang J. L., Niu S.Q., Chen Y.L. Ultrastructural and physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L) plantlets to gradient saline stress // *Frontiers in Plant Science*. 2015. V. 5.
112. Gao Y., Lu Y., Wu M., Liang E., Li Y., Zhang D., Yin Z., Ren X., Dai Y., Deng D., Chen J. Ability to remove Na⁺ and retain K⁺ correlates with salt tolerance in two maize inbred lines seedlings // *Frontiers in Plant Science*. 2016. V. 7.
113. Gao Y., Shao G., Wu S., Xiaojun W., Lu J., Cui J. Changes in soil salinity under treated wastewater irrigation: A meta-analysis // *Agricultural Water Management*. 2021. V. 255.
114. Garthwaite A.J., von Bothmer R., Colmer T.D. Salt tolerance in wild *Hordeum* species is associated with restricted entry of Na⁺ and Cl⁻ into the shoots // *Journal of Experimental Botany*. 2005. V. 56, I. 419. P. 2365-2378.
115. Geilfus C.M. Review on the significance of chlorine for crop yield and quality // *Plant Science*. 2018. V. 270. P. 114-122.
116. Geilfus C.M., Mühling K.H. Real-time imaging of leaf apoplastic pH dynamics in response to NaCl stress // *Frontiers in Plant Science*. 2011. V. 2.
117. Geilfus C.M., Mühling K.H. Microscopic and macroscopic monitoring of adaxial-abaxial pH gradients in the leaf apoplast of *Vicia faba* L. as primed by NaCl stress at the roots // *Plant Science*. 2014. V. 223. P. 109-115.
118. Geilfus C.M. The pH of the Apoplast: Dynamic Factor with Functional Impact Under Stress // *Molecular Plant*. 2017. V. 10, I. 11. P. 1371-1386.
119. Geilfus C.M., Zhang X., Mithöfer A., Burgel L., Bárdos G., Zörb C. Leaf apoplastic alkalization promotes transcription of the ABA-synthesizing enzyme Vp14 and stomatal closure in *Zea mays* // *Journal of Experimental Botany*. 2021. V. 72, I. 7. P. 2686-2695.
120. Gigli-Bisceglia N., van Zelm E., Huo W., Lamers J., Testerink C. *Arabidopsis* root responses to salinity depend on pectin modification and cell wall sensing // *Development (Cambridge)*. 2022. V. 149, I. 12.
121. Gilroy S., Białasek M., Suzuki N., Górecka M., Devireddy A.R., Karpiński S., Mittler R. ROS, calcium, and electric signals: Key mediators of rapid systemic signaling in plants // *Plant Physiology*. 2016. V. 171, I. 3. P. 1606-1615.

122. Giridhar M., Meier B., Imani J., Kogel K.H., Peiter E., Vothknecht U.C., Chigri F. Comparative analysis of stress-induced calcium signals in the crop species barley and the model plant *Arabidopsis thaliana* // BMC Plant Biology. 2022. V. 22, I. 1.
123. Gjetting S.K., Mahmood K., Shabala L., Kristensen A., Shabala S., Palmgren M., Fuglsang A.T. Evidence for multiple receptors mediating RALF-triggered Ca^{2+} signaling and proton pump inhibition // Plant Journal. 2020. V. 104, I. 2. P. 433-446.
124. Goh C., Ko S.M., Ko S., Koh S., Kim Y., Bae H. Photosynthesis and environments: Photoinhibition and repair mechanisms in plants// Journal of Plant Biology. 2011. V. 55. P. 93-101
125. Gorgues L., Li X., Maurel C., Martinière A., Nacry P. Root osmotic sensing from local perception to systemic responses // Stress Biology. 2022. V. 2, I. 1.
126. Grams T.E.E., Lautner S., Felle H.H., Matyssek R., Fromm J. Heat-induced electrical signals affect cytoplasmic and apoplastic pH as well as photosynthesis during propagation through the maize leaf // Plant, Cell & Environment. 2009. V. 32, I. 4. P. 319-326.
127. GraphPad Curve Fitting Guide [Электронный ресурс]. 2014. Режим доступа: <https://static1.squarespace.com/static/564884dfe4b0734a6c40a22a/t/568a924c1115e06a4a3059bf/1451921996551/Prism-6-Curve-Fitting-Guide.pdf>
128. Graus D., Li K., Rathje J.M., Ding M., Krischke M., Müller M.J., Cuin T.A., Al-Rasheid K.A.S., Scherzer S., Marten I., Konrad K.R., Hedrich R. Tobacco leaf tissue rapidly detoxifies direct salt loads without activation of calcium and SOS signaling // New Phytologist. 2022. V. 237, I. 1. P. 217-231.
129. Grenzi M., Buratti S., Parmagnani A.S., Abdel Aziz I., Bernacka-Wojcik I., Resentini F., Šimura J., Doccia F.G., Alfieri A., Luoni L., Ljung K., Bonza M.C., Stavriniidou E., Costa A. Long-distance turgor pressure changes induce local activation of plant glutamate receptor-like channels // Current Biology. 2023. V. 33, I. 6. P. 1019-1035.
130. Groszmann M., Osborn H.L., Evans J.R. Carbon dioxide and water transport through plant aquaporins // Plant Cell and Environment. 2017. V. 40, I. 6. P. 938-961.
131. Gulzar S., Khan M.A., Ungar I.A. Effects of salinity on growth, ionic content, and

plant-water status of *Aeluropus lagopoides* // Communications in Soil Science and Plant Analysis. 2003. V. 34, I. 11-12. P. 1657-1668.

132. Guo K., Babourina O., Rengel Z. Na⁺/H⁺ antiporter activity of the SOS1 gene: lifetime imaging analysis and electrophysiological studies on *Arabidopsis* seedlings // Physiologia Plantarum. 2009. V. 137, I. 2. P. 155-165.

133. Gupta A., Shaw B.P., Sahu B.B. Post-translational regulation of the membrane transporters contributing to salt tolerance in plants // Functional Plant Biology. 2021. V. 48, I. 12. P. 1199-1212.

134. Haber Z., Lampl N., Meyer A.J., Zelinger E., Hipsch M., Rosenwasser S. Resolving diurnal dynamics of the chloroplastic glutathione redox state in *Arabidopsis* reveals its photosynthetically derived oxidation // The Plant Cell. 2021. V. 33, I. 5. P. 1828-1844.

135. Halperin S.J., Gilroy S., Lynch J.P. Sodium chloride reduces growth and cytosolic calcium, but does not affect cytosolic pH, in root hairs of *Arabidopsis thaliana* L. // Journal of Experimental Botany. 2023. V. 54, I. 385. P. 1269-1280.

136. Hamilton E., Schlegel A., Haswell E. United in Diversity: Mechanosensitive Ion Channels in Plants // Annual Review of Plant Biology. 2015. V. 66, I. 1. P. 113-137.

137. Han S., Tang R., Anderson L.K., Woerner T.E., Pei Z.M. A cell surface receptor mediates extracellular Ca²⁺ sensing in guard cells // Nature. 2003. V. 425. P. 196-200.

138. Han X., Yang Y., Wu Y., Liu X., Lei X., Guo Y. A bioassay-guided fractionation system to identify endogenous small molecules that activate plasma membrane H⁺-ATPase activity in *Arabidopsis* // Journal of Experimental Botany. 2017. V. 68, I. 11. P. 2951-2962.

139. Hanin M., Ebel C., Ngom M., Laplace L., Masmoudi K. New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding // Frontiers in Plant Science. 2016. V. 7.

140. Hannachi S., Steppe K., Eloudi M., Mechi L., Bahrini I., Van Labeke M.C. Salt stress induced changes in photosynthesis and metabolic profiles of one tolerant ('Bonica') and one sensitive ('Black Beauty') eggplant cultivars (*Solanum melongena* L.) // Plants. 2022. V. 11, I. 5.

141. Haruta M., Gray W.M., Sussman M.R. Regulation of the plasma membrane proton pump (H^+ -ATPase) by phosphorylation // *Current Opinion in Plant Biology*. 2015. V. 28. P. 68-75.
142. Hasanuzzaman M., Parvin K., Islam Anee T., Awal Chowdhury Masud A., Nowroz F. Salt Stress Responses and Tolerance in Soybean // *Plant Stress Physiology - Perspectives in Agriculture*. 2022.
143. Hasanuzzaman M., Raihan M.R.H., Masud A.A.C., Rahman K., Nowroz F., Rahman M., Nahar K., Fujita M. Regulation of reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under salinity // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. V. 22, I. 17.
144. Hashida S.N., Kawai-Yamada M. Inter-Organelle NAD Metabolism Underpinning Light Responsive NADP Dynamics in Plants // *Frontiers in Plant Science*. 2019. V. 10.
145. Heydarian Z., Yu M., Gruber M., Coutu C., Robinson S.J., Hegedus D.D. Changes in gene expression in *Camelina sativa* roots and vegetative tissues in response to salinity stress // *Scientific Reports*. 2018. V. 8, I. 1.
146. Hikosaka K., Tsujimoto K. Linking remote sensing parameters to CO_2 assimilation rates at a leaf scale // *Journal of Plant Research*. 2021. V. 134, I. 4. P. 695-711.
147. Hipsch M., Lampl N., Zelinger E., Barda O., Waiger D., Rosenwasser S. Sensing stress responses in potato with whole-plant redox imaging // *Plant Physiology*. 2021. V. 187, I. 2. P. 618-631.
148. Hlaváčková V., Krchňák P., Nauš J., Novák O., Špundová M., Strnad M. Electrical and chemical signals involved in short-term systemic photosynthetic responses of tobacco plants to local burning // *Planta*. 2006. V. 225, I. 1. P. 235-244.
149. Hniličková H., Hnilička F., Orsák M., Hejtnáček V. Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na^+ and K^+ content in selected plant species // *Plant, Soil and Environment*. 2019. V. 65, I. 2. P. 90-96.
150. Hnilickova H., Kraus K., Vachova P., Hnilicka F. Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. // *Plants*. 2021. V. 10, I. 5.
151. Hochmal A.K., Schulze S., Trompelt K., Hippler M. Calcium-dependent regulation

- of photosynthesis // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2015. V. 1847, I. 9. P. 993-1003.
152. Hoffmann J., Berni R., Suter F.M., Gutsch A., Hausman J.F., Saffie-Siebert S., Guerriero G. The effects of salinity on the anatomy and gene expression patterns in leaflets of tomato cv. Micro-tom // *Genes*. 2021. V. 12, I. 8.
153. Horie T., Kaneko T., Sugimoto G., Sasano S., Panda S.K., Shibasaka M., Katsuhara M. Mechanisms of Water Transport Mediated by PIP Aquaporins and Their Regulation Via Phosphorylation Events Under Salinity Stress in Barley Roots // *Plant and Cell Physiology*. 2011. V. 52, I. 4. P. 663-675.
154. Hossain M.S. Present Scenario of Global Salt Affected Soils, its Management and Importance of Salinity Research // *International Research Journal of Biological Sciences*. 2019. V. 1, I. 1.
155. Hossain M.S., Dietz K.J. Tuning of redox regulatory mechanisms, reactive oxygen species and redox homeostasis under salinity stress // *Frontiers in Plant Science*. 2016. V. 7.
156. Hu J., Cai J., Park S.J., Lee K., Li Y., Chen Y., Yun J.Y., Xu T., Kang H. N6-Methyladenosine mRNA methylation is important for salt stress tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Journal*. 2021. V. 106, I. 6. P. 1759-1775.
157. Hu W., Gu H., Wang K., Lu Z., Li X., Cong R., Ren T., Lu J. Potassium deficiency stress reduces Rubisco activity in *Brassica napus* leaves by subcellular acidification decreasing photosynthetic rate // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2023. V. 201.
158. Hua J.M., Wang X.L., Fu-Qin Z., Feng Y., Ke F. Effects of NaCl and Ca²⁺ on Membrane Potential of Epidermal Cells of Maize Roots // *Agricultural Sciences in China*. 2008. V. 7, I. 3. P. 291-296.
159. Hualpa-Ramirez E., Carrasco-Lozano E.C., Madrid-Espinoza J., Tejos R., Ruiz-Lara S., Stange C., Norambuena L. Stress salinity in plants: New strategies to cope with in the foreseeable scenario // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2024. V. 208.
160. Hubbart S., Ajigboye O.O., Horton P., Murchie E.H. The photoprotective protein PsbS exerts control over CO₂ assimilation rate in fluctuating light in rice // *The Plant Journal*. 2012. V. 71. P. 402-412.

161. Huber A.E., Bauerle T.L. Long-distance plant signaling pathways in response to multiple stressors: The gap in knowledge // *Journal of Experimental Botany*. 2016. V. 67, I. 7. P. 2063-2079.
162. Huh S.M., Noh E.K., Kim H.G., Jeon B.W., Bae K., Hu H.C., Kwak J.M., Park O. K. *Arabidopsis* annexins AnnAt1 and AnnAt4 interact with each other and regulate drought and salt stress responses // *Plant and Cell Physiology*. 2010. V. 51, I. 9. P. 1499-1514.
163. Hussain I., Muhammad A., Hamid Chaudhry Z., Asghar R., Saqlan Naqvi S.R., Rashid H. Morphogenic potential of three potato (*Solanum tuberosum*) cultivars from diverse explants, a prerequisite in genetic manipulation // *Pakistan Journal of Botany*. 2005. V. 37, I. 4. P. 889-898.
164. Hussain Q., Asim M., Zhang R., Khan R., Farooq S., Wu J. Transcription factors interact with ABA through gene expression and signaling pathways to mitigate drought and salinity stress // *Biomolecules*. 2021. V. 11, I. 8.
165. Hussain S., Hussain S., Ali B., Ren X., Chen X., Li Q., Saqib M., Ahmad N. Recent progress in understanding salinity tolerance in plants: Story of Na⁺/K⁺ balance and beyond // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2021. V. 160. P. 239-256.
166. Ibrahimova U., Zivcak M., Gasparovic K., Rastogi A., Allakhverdiev S.I., Yang X., Brestic M. Electron and proton transport in wheat exposed to salt stress: is the increase of the thylakoid membrane proton conductivity responsible for decreasing the photosynthetic activity in sensitive genotypes? // *Photosynthesis Research*. 2021. V. 150, I. 1-3. P. 195-211.
167. Isayenkov S.V., Maathuis F.J.M. Plant salinity stress: Many unanswered questions remain // *Frontiers in Plant Science*. 2019. V. 10.
168. Ismail A., El-Sharkawy I., Sherif S. Salt stress signals on demand: Cellular events in the right context // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. V. 21, I. 11.
169. Ismail A., Seo M., Takebayashi Y., Kamiya Y., Eiche E., Nick P. Salt adaptation requires efficient fine-tuning of jasmonate signalling // *Protoplasma*. 2014. V. 251, I. 4. P. 881-898.
170. Jaarsma R., de Vries R.S.M., de Boer A.H. Effect of Salt Stress on Growth, Na⁺

Accumulation and Proline Metabolism in Potato (*Solanum tuberosum*) Cultivars // PLoS ONE. 2013. V. 8, I. 3.

171. Jackson R.D., Idso S.B., Reginato R.J., Pinter P.J. Canopy temperature as a crop water stress indicator // Water Resources Research. 1981. V. 17, I. 4. P. 1133-1138.

172. Jakšová J., Rác M., Bokor B., Petřík I., Novák O., Reichelt M., Mithöfer A., Pavlovič A. Anaesthetic diethyl ether impairs long-distance electrical and jasmonate signalling in *Arabidopsis thaliana* // Plant Physiology and Biochemistry. 2021. V. 169. P. 311-321.

173. James R.A., Rivelli A.R., Munns R., von Caemmerer S. Factors affecting CO₂ assimilation, leaf injury and growth in salt-stressed durum wheat // Functional Plant Biology. 2002. V. 29, I. 12. P. 1393-1403.

174. Janicka-Russak M., Kabała K. Absciscic acid and hydrogen peroxide induce modification of plasma membrane H⁺-ATPase from *Cucumis sativus* L. roots under heat shock // Journal of Plant Physiology. 2012. V. 169, I. 16. P. 1607-1614.

175. Jayakannan M., Bose J., Babourina O., Rengel Z., Shabala S. Salicylic acid improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by restoring membrane potential and preventing salt-induced K⁺ loss via a GORK channel // Journal of Experimental Botany. 2013. V. 64, I. 8. P. 2255-2268.

176. Ji H., Pardo J.M., Batelli G., Van Oosten M.J., Bressan R.A., Li X. The salt overly sensitive (SOS) pathway: Established and emerging roles // Molecular Plant. 2013. V. 6, I. 2. P. 275-286.

177. Jia W., Zhang J. Stomatal movements and long-distance signaling in plants // Plant Signaling & Behavior. 2008. V. 3, I. 10. P. 772-777.

178. Jiang Z., Zhou X., Tao M., Yuan F., Liu L., Wu F., Wu X., Xiang Y., Niu Y., Liu F., Li C., Ye R., Byeon B., Xue Y., Zhao H., Wang H.N., Crawford B.M., Johnson D.M., Hu C., Pei C., Zhou W., Swift G.B., Zhang H., Do-Dinh T., Hu Z., Siedow J.N., Pei Z. M. Plant cell-surface GIPC sphingolipids sense salt to trigger Ca²⁺ influx // Nature. 2019. V. 572, I. 7769. P. 341-346.

179. Johns S., Hagihara T., Toyota M., Gilroy S. The fast and the furious: rapid long-range signaling in plants // Plant Physiology. 2021. V. 185, I. 3. P. 694-706.

180. Jonwal S., Verma N., Sinha A.K. Regulation of photosynthetic light reaction proteins via reversible phosphorylation // *Plant Science*. 2022. V. 321, I. 111312.
181. Kader M.A., Lindberg S., Seidel T., Golldack D., Yemelyanov V. Sodium sensing induces different changes in free cytosolic calcium concentration and pH in salt-tolerant and -sensitive rice (*Oryza sativa*) cultivars // *Physiologia Plantarum*. 2007. V. 130, I. 1. P. 99-111.
182. Kader M., Lindberg S. Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress // *Plant Signaling and Behavior*. 2010. V. 5, I. 3. P. 233-238.
183. Kadohama N., Goh T., Ohnishi M., Fukaki H., Mimura T., Suzuki Y. Sudden Collapse of Vacuoles in *Saintpaulia* sp. Palisade Cells Induced by a Rapid Temperature Decrease // *PLoS ONE*. 2013. V. 8, I. 2.
184. Kalaji H.M., Govindjee G., Bosa K., Kościelniak J., Zuk-Gołaszewska K. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces // *Environmental and Experimental Botany*. 2011. V. 73, I. 1. P. 64-72.
185. Kalaji H.M., Schansker G., Ladle R.J., Goltsev V., Bosa K., Allakhverdiev S.I., Brestic M., Bussotti F., Calatayud A., Dąbrowski P., Elsheery N.I., Ferroni L., Guidi L., Hogewoning S.W., Jajoo A., Misra A.N., Nebauer S.G., Pancaldi S., Penella C., Poli D., Pollastrini M., Romanowska-Duda Z.B., Butkowska B., Serodio J., Suresh K., Slulc W., Tambussi E., Yanniccari M., Zivcak M. Frequently asked questions about *in vivo* chlorophyll fluorescence: practical issues // *Photosynthesis Research*. 2014. V. 122, I. 2. P. 121-158.
186. Kaneko T., Horie T., Nakahara Y., Tsuji N., Shibasaka M., Katsuhara M. Dynamic regulation of the root hydraulic conductivity of barley plants in response to salinity/osmotic stress // *Plant and Cell Physiology*. 2015. V. 56, I. 5. P. 875-882.
187. Kang G., Li G., Zheng B., Han Q., Wang C., Zhu Y., Guo T. Proteomic analysis on salicylic acid-induced salt tolerance in common wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) // *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*. 2012. V. 1824, I. 12. P. 1324-1333.
188. Karpinska B., Zhang K., Rasool B., Pastok D., Morris J., Verrall S.R., Hedley P.E., Hancock R.D., Foyer C.H. The redox state of the apoplast influences the acclimation of

photosynthesis and leaf metabolism to changing irradiance // *Plant, Cell & Environment*. 2018. V. 41, I. 5. P. 1083-1097.

189. Kangasjarvi S., Neukermans J., Li S., Aro E.M., Noctor G. Photosynthesis, photorespiration, and light signalling in defence responses // *Journal of Experimental Botany*. 2012. V. 63. P. 1619-1636

190. Katsuhara M., Rhee J.Y., Sugimoto G., Chung G.C. Early response in water relations influenced by NaCl reflects tolerance or sensitivity of barley plants to salinity stress via aquaporins // *Soil Science and Plant Nutrition*. 2011. V. 57, I. 1. P. 50-60.

191. Katsuhara M., Yazaki Y., Sakano K., Kawasaki T. Intracellular pH and Proton-Transport in Barley Root Cells under Salt Stress: *in Vivo* 31 P-NMR Study // *Plant and Cell Physiology*. 1997. V. 38, I. 2. P. 155-160.

192. Kawamura Y. Chilling induces a decrease in pyrophosphate-dependent H^+ - accumulation associated with a ΔpH vac-stat in mung bean, a chill-sensitive plant // *Plant, Cell & Environment*. 2008. V. 31, I. 3. P. 288-300.

193. Keshishian E.A., Hallmark H.T., Ramaraj T., Plačková L., Sundararajan A., Schilkey F., Novák O., Rashotte A.M. Salt and oxidative stresses uniquely regulate tomato cytokinin levels and transcriptomic response // *Plant Direct*. 2018. V. 2, I. 7.

194. Khalilova L.A., Lobreva O.V., Nedelyaeva O.I., Karpichev I.V., Balnokin Y.V. Involvement of the Membrane Nanodomain Protein, AtFlot1, in Vesicular Transport of Plasma Membrane H^+ -ATPase in *Arabidopsis thaliana* under Salt Stress // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. V. 24, I. 2.

195. Khlopkov A., Sherstneva O., Ladeynova M., Grinberg M., Yudina L., Sukhov V., Vodeneev V. Participation of calcium ions in induction of respiratory response caused by variation potential in pea seedlings // *Plant Signaling and Behavior*. 2021. V. 16, I. 4.

196. Kholodova V.P., Meshcheryakov A.B., Rakitin V.Y., Karyagin V.V., Kuznetsov V.V. Hydraulic signal as a “primary messenger of water deficit” under salt stress in plants // *Doklady Biological Sciences*. 2006. V. 407, I. 1. P. 155-157.

197. Kiferle C., Gonzali S., Beltrami S., Martinelli M., Hora K., Holwerda H.T., Perata P. Improvement in fruit yield and tolerance to salinity of tomato plants fertigated with micronutrient amounts of iodine // *Scientific Reports*. 2022. V. 12, I. 1.

198. Kim J.M., Sasaki T., Ueda M., Sako K., Seki M. Chromatin changes in response to drought, salinity, heat, and cold stresses in plants // *Frontiers in Plant Science*. 2015. V.6.
199. Kinoshita T., Nishimura M., Shimazaki K. Cytosolic Concentration of Ca^{2+} Regulates the Plasma Membrane H^+ -ATPase in Guard Cells of Fava Bean // *The Plant Cell*. 1995. V. 7, I. 8. P. 1333-1342.
200. Kleniewska P., Piechota A., Skibska B., Gorąca A. The NADPH Oxidase Family and its Inhibitors // *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2012. V. 60, I. 4. P. 277-294.
201. Kolomeichuk L.V., Efimova M.V., Zlobin I.E., Kreslavski V.D., Murgan O.K., Kovtun I.S., Khripach V.A., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I. 24-Epibrassinolide alleviates the toxic effects of NaCl on photosynthetic processes in potato plants // *Photosynthesis Research*. 2020. V. 146, I. 1-3. P. 151-163.
202. Kreimer G., Melkonian M., Holtum J.A.M., Latzko E. Stromal Free Calcium Concentration and Light-Mediated Activation of Chloroplast Fructose-1,6-Bisphosphatase // *Plant Physiology*. 1988. V. 86. P. 423-428.
203. Krogman W., Sparks J.A., Blancaflor E.B. Cell type-specific imaging of calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* seedling roots using GCAMP3 // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. V. 21, I. 17. P. 1-15.
204. Kuang D., Romand S., Zvereva A.S., Marchesano B.M.O., Grenzi M., Buratti S., Yang Q., Zheng K., Valadorou D., Mylle E., Benedikty Z., Trtilek M., Nenie M., Spetea C., Van Damme D., Wurzinger B., Schwarzländer M., Teige M., Costa A., Stael S. Burning glass effect of water droplets triggers an ER-derived calcium response in the chloroplast stroma of *Arabidopsis thaliana* leaves // *Current Biology*. 2025. V. 35, I. 11. P. 2642-2685.
205. Kuchitsu K., Ward J.M., Allen G.J., Schelle I., Schroeder J.I. Loading acetoxymethyl ester fluorescent dyes into the cytoplasm of *Arabidopsis* and *Commelina* guard cells // *New Phytologist*. 2002. V. 153, I. 3. P. 527-533.
206. Kumar R.G., Shah K., Dubey R.S. Salinity induced behavioural changes in malate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase activities in rice seedlings of differing salt tolerance // *Plant Science*. 2000. V. 156, I. 1. P. 23-34.

207. Kunz H.H., Gierth M., Herdean A., Satoh-Cruz M., Kramer D.M., Spetea C., Schroeder J.I. Plastidial transporters KEA1, -2, and -3 are essential for chloroplast osmoregulation, integrity, and pH regulation in *Arabidopsis* // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2014. V. 111, I. 20. P. 7480-7485.
208. Kuromori T., Shinozaki K. ABA transport factors found in *Arabidopsis* ABC transporters // Plant Signaling and Behavior. 2010. V. 5, I. 9. P. 1124-1126.
209. Kurunc A. Effects of water and salinity stresses on growth, yield, and water use of iceberg lettuce // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021. V. 101, I. 13. P. 5688-5696.
210. Laohavisit A., Richards S.L., Shabala L., Chen C., Colaço R.D.D.R., Swarbreck S. M., Shaw E., Dark A., Shabala S., Shang Z., Davies J.M. Salinity-induced calcium signaling and root adaptation in *Arabidopsis* require the calcium regulatory protein annexin // Plant Physiology. 2013. V. 163, I. 1. P. 253-262.
211. Läuchli A., Spurr A.R., Epstein E. Lateral Transport of Ions into the Xylem of Corn Roots // Plant Physiology. 1971. V. 48, I. 2. P. 118-124.
212. Lawson T., Blatt M.R. Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency // Plant Physiology. 2014. V. 164, I. 4. P. 1556-1570.
213. Le Q.A., Trinh T.N., Luong P.K., Anh V.T., Van Tran, H.N., Kim J.C., Woo, S.H. The NADPH oxidase inhibitor diphenyleneiodonium suppresses Ca^{2+} signaling and contraction in rat cardiac myocytes // The Korean Journal of Physiology & Pharmacology. 2024. V. 28, I. 4. P. 335-344.
214. Legay S., Lamoureux D., Hausman J.F., Hoffmann L., Evers D. Monitoring gene expression of potato under salinity using cDNA microarrays // Plant Cell Reports. 2009. V. 28, I. 12. P. 1799-1816.
215. Lew T.T.S., Koman V.B., Silmore K.S., Seo J.S., Gordiichuk P., Kwak S.Y., Park M., Ang M.C.Y., Khong D.T., Lee M.A., Chan-Park M.B., Chua N.H., Strano M.S. Real-time detection of wound-induced H_2O_2 signalling waves in plants with optical nanosensors // Nature Plants. 2020. V. 6, I. 4. P. 404-415.

216. Li B., Gao K., Ren H., Tang W. Molecular mechanisms governing plant responses to high temperatures // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2018. V. 60, I. 9. P. 757-779.
217. Li B., Hou L., Song C., Wang Z., Xue Q., Li Y., Qin J., Cao N., Jia C., Zhang Y., Shi W. Biological function of calcium-sensing receptor (CAS) and its coupling calcium signaling in plants // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2022. V. 180. P. 74-80.
218. Li H., Hou X., Bertin N., Ding R., Du T. Quantitative responses of tomato yield, fruit quality and water use efficiency to soil salinity under different water regimes in Northwest China // *Agricultural Water Management*. 2023. V. 277.
219. Li H., Testerink C., Zhang Y. How roots and shoots communicate through stressful times // *Trends in Plant Science*. 2021. V. 26, I. 9. P. 940-952.
220. Li J., Yang Y. How do plants maintain pH and ion homeostasis under saline-alkali stress? // *Frontiers in Plant Science*. 2023. V. 14.
221. Li Q., Liu B., Wu Y., Zou Z. Interactive Effects of Drought Stresses and Elevated CO₂ Concentration on Photochemistry Efficiency of Cucumber Seedlings // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2008. V. 50, I. 10. P. 1307-1317.
222. Li R., Zhang Y., Du X., Wang X., Liu W., Huang L. Calcium-sensing receptor AcCaS regulates chloroplast immunity in kiwifruit by competitively binding with Ca²⁺ or the Psa effector // *Horticulture Research*. 2025.
223. Li W., Song T., Wallrad L., Kudla J., Wang X., Zhang W. Tissue-specific accumulation of pH-sensing phosphatidic acid determines plant stress tolerance // *Nature Plants*. 2019. V. 5, I. 9. P. 1012-1021.
224. Liang W., Ma X., Wan P., Liu L. Plant salt-tolerance mechanism: A review // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018. V. 495, I. 1. P. 286-291.
225. Liao Q., Gu S., Gao S., Du T., Kang S., Tong L., Ding R. Crop water stress index characterizes maize productivity under water and salt stress by using growth stage-specific non-water stress baselines // *Field Crops Research*. 2024. V. 317.
226. Lim S.D., Kim S.H., Gilroy S., Cushman J.C., Choi W.G. Quantitative ROS bioreporters: A robust toolkit for studying biological roles of ROS in response to abiotic and biotic stresses // *Physiologia Plantarum*. 2019. V. 165, I. 2. P. 356-368.
227. Lima-Melo Y., Carvalho F.E.L., Martins M.O., Passaia G., Sousa R.H.V., Neto M.

- C.L., Margis-Pinheiro M., Silveira J.A.G. Mitochondrial GPX1 silencing triggers differential photosynthesis impairment in response to salinity in rice plants // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2016. V. 58, I. 8. P. 737-748.
228. Lin C.W., Lin C.Y., Chang C.C., Lee R.H., Tsai T.M., Chen P.Y., Chi W.C., Huang H.J. Early signalling pathways in rice roots under vanadate stress // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2009. V. 47, I. 5. P. 369-376.
229. Lin F., Krishnamoorthy P., Schubert V., Hause G., Heilmann M., Heilmann I. A dual role for cell plate-associated PI4K β in endocytosis and phragmoplast dynamics during plant somatic cytokinesis // *The EMBO Journal*. 2019. V. 38, I. 4.
230. Lindberg S., Banas A., Stymne S. Effects of different cultivation temperatures on plasma membrane ATPase activity and lipid composition of sugar beet roots // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2005. V. 43, I. 3. P. 261-268.
231. Lindberg S., Premkumar A. Ion Changes and Signaling under Salt Stress in Wheat and Other Important Crops // *Plants*. 2024. V. 13, I. 1.
232. Liu H., Li Y., Peng T., Xue S. Transmembrane potential, an indicator in situ reporting cellular senescence and stress response in plant tissues // *Plant Methods*. 2023. V. 19, I. 1.
233. Liu H., Song S., Zhang H., Li Y., Niu L., Zhang J., Wang W. Signaling Transduction of ABA, ROS, and Ca²⁺ in Plant Stomatal Closure in Response to Drought // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. V. 23, I. 23.
234. Liu J., Zhang W., Long S., Zhao C. Maintenance of cell wall integrity under high salinity // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. V. 22, I. 6.
235. Liu L., Jiang Z., Zhang S., Zhao H., Yang W., Siedow J.N., Pei Z.M. Both NaCl and H₂O₂ long-term stresses affect basal cytosolic Ca²⁺ levels but only NaCl alters cytosolic Ca²⁺ signatures in arabidopsis // *Frontiers in Plant Science*. 2018. V. 871.
236. Liu M., Yu H., Ouyang B., Shi C., Demidchik V., Hao Z., Yu M., Shabala S. NADPH oxidases and the evolution of plant salinity tolerance // *Plant Cell and Environment*. 2020. V. 43, I. 12. P. 2957-2968.
237. Liu M.C.J., Yeh F.L.J., Yvon R., Simpson K., Jordan S., Chambers J., Wu H.M., Cheung A.Y. Extracellular pectin-RALF phase separation mediates FERONIA global

signaling function // Cell. 2024. V. 187, I. 2. P. 312-330.

238. Liu X., Wang J., Sun L. Structure of the hyperosmolality-gated calcium-permeable channel OSCA1.2 // Nature Communications. 2018. V. 9, I. 1.

239. Liu X., Xu X., Ji M., Amombo E., Fu J. Growth, Photosynthesis, and Gene Expression of Bermudagrass in Response to Salinity and Shade Stress // Journal of the American Society for Horticultural Science. 2023. V. 148, I. 1. P. 1-8.

240. Liu Y., Cao X., Yue L., Wang C., Tao M., Wang Z., Xing B. Foliar-applied cerium oxide nanomaterials improve maize yield under salinity stress: Reactive oxygen species homeostasis and rhizobacteria regulation // Environmental Pollution. 2022. V. 299.

241. Lopez-Lopez R., Arteaga R., Sanchez-Cohen I., Ojeda W., Gonzalez-Lauck V. Evapotranspiration and Crop Water Stress Index in Mexican Husk Tomatoes (*Physalis ixocarpa* Brot) // Evapotranspiration - From Measurements to Agricultural and Environmental Applications. 2011.

242. Lu Y., Fricke W. Salt Stress—Regulation of Root Water Uptake in a Whole-Plant and Diurnal Context // International Journal of Molecular Sciences. 2023. V. 24, I. 9.

243. Lunde C., Jensen P.E., Haldrup A., Knoetzel J., Scheller H.V. The PSI-H subunit of photosystem I is essential for state transitions in plant photosynthesis // Nature. 2000. V. 408, I. 6812. P. 613-615.

244. Luther D.C., Jeon T., Goswami R., Nagaraj H., Kim D., Lee Y.W., Rotello V.M. Protein Delivery: If Your GFP (or Other Small Protein) Is in the Cytosol, It Will Also Be in the Nucleus // Bioconjugate Chemistry. 2021. V. 32, I. 5. P. 891-896.

245. Lynch J., Läuchli A. Potassium transport in salt-stressed barley roots // Planta. 1984. V. 161. I. 4. P. 295-301.

246. Ma L., Liu X., Lv W. Yang Y. Molecular Mechanisms of Plant Responses to Salt Stress // Frontiers in Plant Science. 2022. V. 13.

247. Ma L., Ye J., Yang Y., Lin H., Yue L., Luo J., Long Y., Fu H., Liu X., Zhang Y., Wang Y., Chen L., Kudla J., Wang Y., Han S., Song C.P., Guo Y. The SOS2-SCaBP8 Complex Generates and Fine-Tunes an AtANN4-Dependent Calcium Signature under Salt Stress // Developmental Cell. 2019. V. 48, I. 5. P. 697-709.

248. Ma L., Zhang H., Sun L., Jiao Y., Zhang G., Miao C., Hao F. NADPH oxidase

- AtrbohD and AtrbohF function in ROS-dependent regulation of Na⁺/K⁺ homeostasis in *Arabidopsis* under salt stress // Journal of Experimental Botany. 2012. V. 63, I. 1. P. 305-317.
249. Ma N., Hu C., Wan L., Hu Q., Xiong J., Zhang C. Strigolactones improve plant growth, photosynthesis, and alleviate oxidative stress under salinity in rapeseed (*Brassica napus* L.) by regulating gene expression // Frontiers in Plant Science. 2017. V. 8.
250. Ma X., Deng L., Li J., Zhou X., Li N., Zhang D., Lu Y., Wang R., Sun J., Lu C., Zheng X., Fritz E., Hüttermann A., Chen S. Effect of NaCl on leaf H⁺-ATPase and the relevance to salt tolerance in two contrasting poplar species // Trees. 2010. V. 24, I. 4. P. 597-607.
251. Maathuis F.J.M. Sodium in plants: Perception, signalling, and regulation of sodium fluxes // Journal of Experimental Botany. 2014. V. 65, I. 3. P. 849-858.
252. Malone M. Kinetics of wound-induced hydraulic signals and variation potentials in wheat seedlings // Planta. 1992. V. 187. P. 505-510.
253. Malone M. Hydraulic signals // Philosophical Transactions Of The Royal Society B. 1993. V. 341. P. 33-39.
254. Mano J., Miyatake F., Hiraoka E., Tamoi M. Evaluation of the toxicity of stress-related aldehydes to photosynthesis in chloroplasts // Planta. 2009. V. 230, I. 4. P. 639-648.
255. Mariamma M., Muthukumar B., Gnanam A. Thermotolerance and effect of heat shock on the stability of the ATPase enzyme in rice // Journal of Plant Physiology. 1997. V. 150, I. 6. P. 739-742.
256. Martínez-Peñalver A., Graña E., Reigosa M.J., Sánchez-Moreiras A.M. Early photosynthetic response of *Arabidopsis thaliana* to temperature and salt stress conditions // Russian Journal of Plant Physiology. 2012. V. 59, I. 5. P. 640-647.
257. Martinière A., Bassil E., Jublanc E., Alcon C., Reguera M., Sentenac H., Blumwald E., Paris N. *In vivo* intracellular pH measurements in tobacco and *Arabidopsis* reveal an unexpected pH gradient in the endomembrane system // Plant Cell. 2013. V. 25, I. 10. P. 4028-4043.
258. Martínez-Ballesta M.C., Martínez V., Carvajal M. Osmotic adjustment, water

- relations and gas exchange in pepper plants grown under NaCl or KCl // *Environmental and Experimental Botany*. 2004. V. 52, I. 2. P. 161-174.
259. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide // *Journal of Experimental Botany*. 2000. V. 51, I. 345. P. 659-668.
260. McKay W.D., McFarlane E.H., Qu Y., Situmorang A., Gilliam M., Wege S. Plant Trans-Golgi Network/Early Endosome pH regulation requires Cation Chloride Cotransporter (CCC1) // *Elife*. 2022. V. 11.
261. Medvedev S. Principles of calcium signal generation and transduction in plant cells // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2018. V. 65, I. 6. P. 771-783.
262. Meier S.D., Kovalchuk Y., Rose C.R. Properties of the new fluorescent Na⁺ indicator CoroNa Green: Comparison with SBFI and confocal Na⁺ imaging // *Journal of Neuroscience Methods*. 2006. V. 155, I. 2. P. 251-259.
263. Metodiev M.V., Tsonev T.D., Popova L.P. Effect of jasmonic acid on the stomatal and nonstomatal limitation of leaf photosynthesis in barley leaves // *Journal of Plant Growth Regulation*. 1996. V. 15, I. 2. P. 75-80.
264. Meyer P., Hendgen M., Geilfus C.M. Influence of sulphate and other anions on leaf apoplastic pH and stomatal closure in *Vicia faba* under salinity stress // *Environmental and Experimental Botany*. 2025. V. 233.
265. Meza S.L.R., Egea I., Massaretto I.L., Morales B., Purgatto E., Egea-Fernández J. M., Bolarin M.C., Flores F.B. Traditional Tomato Varieties Improve Fruit Quality Without Affecting Fruit Yield Under Moderate Salt Stress // *Frontiers in Plant Science*. 2020. V. 11.
266. Mittal S., Kumari N., Sharma V. Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2012. V. 54. P. 17-26.
267. Monetti E., Kadono T., Tran D., Azzarello E., Arbelet-Bonnin D., Biligui B., Briand J., Kawano T., Mancuso S., Bouteau F. Deciphering early events involved in hyperosmotic stress-induced programmed cell death in tobacco BY-2 cells // *Journal of Experimental Botany*. 2014. V. 65, I. 5. P. 1361-1375.
268. Monshausen G.B., Bibikova T.N., Weisenseel M.H., Gilroy S. Ca²⁺ regulates

reactive oxygen species production and pH during mechanosensing in arabidopsis roots // *Plant Cell*. 2009. V. 21, I. 8. P. 2341-2356.

269. Moradi F., Ismail A.M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice // *Annals of Botany*. 2007. V. 99, I. 6. P. 1161-1173.

270. Morgan S.H., Kader M.A., Lindberg S. Cytosolic Sodium Influx in Mesophyll Protoplasts of *Arabidopsis thaliana*, wt, *sos1:1* and *nhx1* Differs and Induces Different Calcium Changes // *Plants*. 2022. V. 11, I. 24.

271. Moustaka J., Tanou G., Adamakis I.D., Eleftheriou E., Moustakas M. Leaf Age-Dependent Photoprotective and Antioxidative Response Mechanisms to Paraquat-Induced Oxidative Stress in *Arabidopsis thaliana* // *International Journal of Molecular Sciences*. 2015. V. 16, I.6.

272. Mubarakshina-Borisova M.M., Kozuleva M.A., Rudenko N.N., Naydov I.A., Klenina I.B., Ivanov B.N. Photosynthetic electron flow to oxygen and diffusion of hydrogen peroxide through the chloroplast envelope via aquaporins // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2012. V. 1817, I. 8. P. 1314-1321.

273. Mukhopadhyay R., Sarkar B., Jat H. S., Sharma P.C., Bolan N.S. Soil salinity under climate change: Challenges for sustainable agriculture and food security // *Journal of Environmental Management*. 2021. V. 280.

274. Munir F., Hayashi S., Batley J., Naqvi S.M.S., Mahmood T. Germin-like protein 2 gene promoter from rice is responsive to fungal pathogens in transgenic potato plants // *Functional and Integrative Genomics*. 2016. V. 16, I. 1. P. 19-27.

275. Munnik T., Testerink C. Plant phospholipid signaling: “In a nutshell.” // *Journal of Lipid Research*. 2009. V. 50. P. 260-265.

276. Munns R., Passioura J.B., Colmer T.D., Byrt C.S. Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil // *New Phytologist*. 2020. V. 225, I. 3. P. 1091-1096.

277. Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // *Annual Review of Plant Biology*. 2008. V. 59. P. 651-681).

278. Muñoz T., Ruiz-Cabello J., Molina-García A.D., Escribano M.I., Merodio C.

Chilling Temperature Storage Changes the Inorganic Phosphate Pool Distribution in Cherimoya (*Annona cherimola*) Fruit // Journal of the American Society for Horticultural Science. 2001. V. 126, I. 1. P. 122-127.

279. Murasnige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tohaoco Tissue Cultures // Physiologia Plantarum. 1962. V. 15. P. 473-497.

280. Murata N., Takahashi S., Nishiyama Y., Allakhverdiev S.I. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics. 2007. V. 1767, I. 6. P. 414-421.

281. Murchie E.H., Lawson T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications // Journal of Experimental Botany. 2013. V. 64, I. 13. P. 3983-3998.

282. Murchie E.H., Ruban A.V. Dynamic non-photochemical quenching in plants: from molecular mechanism to productivity // The Plant Journal. 2020. V. 101, I. 4. P. 885-896.

283. Murray J.W., Barber J. Identification of a Calcium-Binding Site in the PsbO Protein of Photosystem II // Biochemistry. 2006. V. 45, I. 13. P. 4128-4130.

284. Mutlag N.A., Mohammed A.K. Effect of Salt Stress on Yield And Its Components of Four Cultivars of Barley // Iraqi Journal of Agricultural Sciences. 2022. V. 53, I. 3. P. 645-653.

285. Muzi C., Camoni L., Visconti S., Aducci P. Cold stress affects H⁺-ATPase and phospholipase D activity in *Arabidopsis* // Plant Physiology and Biochemistry. 2016. V. 108. P. 328-336.

286. Nakamura Y., Ogawa T., Kasamo K., Sakata M., Ohta E. Changes in the Cytoplasmic and Vacuolar pH in Intact Cells of Mung Bean Root-Tips under High-NaCl Stress at Different External Concentrations of Ca²⁺ Ions // Plant and Cell Physiology. 1992. V. 33, I. 7. P. 849-858.

287. Nefissi Ouertani R., Abid G., Karmous C., Ben Chikha M., Boudaya O., Mahmoudi H., Mejri S., Jansen R.K., Ghorbel A. Evaluating the contribution of osmotic and oxidative stress components on barley growth under salt stress // AoB PLANTS. 2021. V. 13, I. 4.

288. Neumann P.M., Van Volkenburgh E., Cleland R.E. Salinity Stress Inhibits Bean

Leaf Expansion by Reducing Turgor, Not Wall Extensibility // *Plant Physiology*. 1988. V. 88, I. 1. P. 233-237.

289. Nicolas-Espinosa J., Yepes-Molina L., Martinez-Bernal F., Fernandez-Pozurama M., Carvajal M. Deciphering the effect of salinity and boron stress on broccoli plants reveals that membranes phytosterols and PIP aquaporins facilitate stress adaptation // *Plant Science*. 2024. V. 338.

290. Nilson S.E., Assmann S.M. The control of transpiration. Insights from *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. 2007. V. 143, I. 1. P. 19-27.

291. Niu Y., Xiang Y. An Overview of Biomembrane Functions in Plant Responses to High-Temperature Stress // *Frontiers in Plant Science*. 2018. V. 9.

292. Nomura H., Shiina T. Calcium signaling in plant endosymbiotic organelles: Mechanism and role in physiology // *Molecular Plant*. 2014. V. 7, I. 7. P. 1094-1104.

293. Nosek M., Gawrońska K., Rozpądek P., Sujkowska-Rybikowska M., Miszalski Z., Kornaś A. At the edges of photosynthetic metabolic plasticity—on the rapidity and extent of changes accompanying salinity stress-induced *cam* photosynthesis withdrawal // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. V. 22, I. 16.

294. Novaković L., Guo T., Bacic A., Sampathkumar A., Johnson K.L. Hitting the wall—sensing and signaling pathways involved in plant cell wall remodeling in response to abiotic stress // *Plants*. 2018. V. 7, I. 4.

295. Ntanasi T., Savvas D., Karavidas I., Papadopoulou E.A., Mazahrirh N., Fotopoulos V., Aliferis K.A., Sabatino L., Ntatsi G. Assessing Salinity Tolerance and Fruit Quality of Pepper Landraces // *Agronomy*. 2024. V. 14, I. 2.

296. Onamu R., Legaria J.P., Sahagún J.C., Rodríguez J.L., Pérez J.N. *In vitro* Regeneration and Agrobacterium-mediated Transformation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars Grown in Mexico // *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. 2012. V. 22, I. 2. P. 93-105.

297. Onodera M., Nakajima T., Nanzyo M., Takahashi T., Xu D., Homma K., Kokubun M. Regulation of root-to-leaf Na and Cl transport and its association with photosynthetic activity in salt-tolerant soybean genotypes // *Plant Production Science*. 2019. V. 22, I. 2. P. 262-274.

298. Ors S., Suarez D.L. Spinach biomass yield and physiological response to interactive salinity and water stress // *Agricultural Water Management*. 2017. V. 190. P. 31-41.
299. Pak V.V., Ezeriņa D., Lyublinskaya O.G., Pedre B., Tyurin-Kuzmin P.A., Mishina N.M., Thauvin M., Young D., Wahni K., Martínez Gache S.A., Demidovich A.D., Ermakova Y.G., Maslova Y.D., Shokhina A.G., Eroglu E., Bilan D.S., Bogeski I., Michel T., Vríz S., Messens J., Belousov, V.V. Ultrasensitive Genetically Encoded Indicator for Hydrogen Peroxide Identifies Roles for the Oxidant in Cell Migration and Mitochondrial Function // *Cell Metabolism*. 2020. V. 31, I. 3. P. 642-653.
300. Palmieri F., Rieder B., Ventrella A., Blanco E., Do P.T., Nunes-Nesi A., Trauth A. U., Fiermonte G., Tjaden J., Agrimi G., Kirchberger S., Paradies E., Ferni, A.R., Neuhaus H.E. Molecular identification and functional characterization of *Arabidopsis thaliana* mitochondrial and chloroplastic NAD⁺ carrier proteins // *Journal of Biological Chemistry*. 2009. V. 284, I. 45. P. 31249-31259.
301. Pan T., Liu M., Kreslavski V.D., Zharmukhamedov S.K., Nie C., Yu M., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I., Shabala S. Non-stomatal limitation of photosynthesis by soil salinity // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2021. V. 51, I. 8. P. 791-825.
302. Pandolfi C., Mancuso S., Shabala S. Physiology of acclimation to salinity stress in pea (*Pisum sativum*) // *Environmental and Experimental Botany*. 2012. V. 84. P. 44-51.
303. Pandolfi C., Pottosin I., Cuin T., Mancuso S., Shabala S. Specificity of polyamine effects on NaCl-induced ion flux kinetics and salt stress amelioration in plants // *Plant and Cell Physiology*. 2010. V. 51, I. 3. P. 422-434.
304. Park M., Lee H., Lee J.S., Byun M.O., Kim B.G. In Planta Measurements of Na⁺ Using Fluorescent Dye CoroNa Green // *Journal of Plant Biology*. 2009. V. 52, I. 4. P. 298-302.
305. Parvaiz Ahmad H.K.R., Kumar A., Ashraf M., Akram N. A. Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.) // *African Journal of Biotechnology*. 2012. V. 11, I. 11.
306. Pavlovic A., Slovakova L., Pandolfi C., Mancuso S. On the mechanism underlying

- photosynthetic limitation upon trigger hair irritation in the carnivorous plant Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis) // Journal of Experimental Botany. 2011. V. 62, I. 6. P. 1991-2000.
307. Peng Z., He S., Sun J., Pan Z., Gong W., Lu Y., Du X. Na⁺ compartmentalization related to salinity stress tolerance in upland cotton (*Gossypium hirsutum*) seedlings // Scientific Reports. 2016. V. 6.
308. Percey W.J., McMinin A., Bose J., Breadmore M.C., Guijt R.M., Shabala S. Salinity effects on chloroplast PSII performance in glycophytes and halophytes // Functional Plant Biology. 2016. V. 43, I. 11. P. 1003-1015.
309. Pitann B., Schubert S., Mühling K.H. Decline in leaf growth under salt stress is due to an inhibition of H⁺-pumping activity and increase in apoplastic pH of maize leaves // Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 2009. V. 172, I. 4. P. 535-543.
310. Poór P., Borbély P., Czékus Z., Takács Z., Ördög A., Popović B., Tari I. Comparison of changes in water status and photosynthetic parameters in wild type and abscisic acid-deficient sitiens mutant of tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Rheinlands Ruhm) exposed to sublethal and lethal salt stress // Journal of Plant Physiology. 2019. V. 232. P. 130-140.
311. Popova L.P., Tsonev Ts.D., Vaklinova S.G. Changes in Some Photosynthetic and Photorespiratory Properties in Barley Leaves after Treatment with Jasmonic Acid // Journal of Plant Physiology. 1988. V. 132, I. 3. P. 257-261.
312. Pottosin I., Shabala S. Transport Across Chloroplast Membranes: Optimizing Photosynthesis for Adverse Environmental Conditions // Molecular Plant. 2016. V. 9, I. 3. P. 356-370.
313. Prak S., Hem S., Boudet J., Viennois G., Sommerer N., Rossignol M., Maurel C., Santoni V. Multiple phosphorylations in the C-terminal tail of plant plasma membrane aquaporins: Role in subcellular trafficking of AtPIP2;1 in response to salt stress // Molecular and Cellular Proteomics. 2008. V. 7, I. 6. P. 1019-1030.
314. Praxedes S.C., de Lacerda C., DaMatta F.M., Prisco J.T., Gomes-Filho E. Salt tolerance is associated with differences in ion accumulation, biomass allocation and photosynthesis in cowpea cultivars // Journal of Agronomy and Crop Science. 2010. V.

196, I. 3. P. 193-204.

315. Qin J., Dong W.Y., He K.N., Yu Y., Tan G.D., Han L., Dong M., Zhang Y.Y., Zhang D., Li A.Z., Wang Z.L. NaCl salinity-induced changes in water status, ion contents and photosynthetic properties of *Shepherdia argentea* (Pursh) Nutt. Seedlings // Plant, Soil and Environment. 2010. V. 56, I. 7. P. 325-332.

316. Quamruzzaman M., Manik S.M.N., Shabala S., Zhou M. Improving Performance of Salt-Grown Crops by Exogenous Application of Plant Growth Regulators // Biomolecules. 2021. V. 11, I. 6.

317. Raghavendra A.S., Ye W., Kinoshita T. Editorial: pH as a signal and secondary messenger in plant cells // Frontiers in Plant Science. 2023. V. 14.

318. Ramos-Fernández L., Gonzales-Quiquia M., Huanuqueño-Murillo J., Tito-Quispe D., Heros-Aguilar E., Flores del Pino L., Torres-Rua A. Water Stress Index and Stomatal Conductance under Different Irrigation Regimes with Thermal Sensors in Rice Fields on the Northern Coast of Peru // Remote Sensing. 2024. V. 16, I. 5.

319. Ran X., Wang X., Huang X., Ma C., Liang H., Liu B. Study on the Relationship of Ions (Na, K, Ca) Absorption and Distribution to Photosynthetic Response of *Salix matsudana* Koidz Under Salt Stress // Frontiers in Plant Science. 2022. V. 13.

320. Rasouli F., Yun P., Kiani-Pouya A., Movahedi A., Rasouli M., Salehi M., Shabala S. One size does not fit all: Different strategies employed by triticale and barley plants to deal with soil salinity // Environmental and Experimental Botany. 2024. V. 218.

321. Reddy A.S.N., Ali G.S., Celesnik H., Day I.S. Coping with stresses: Roles of calcium- and calcium/calmodulin-regulated gene expression // Plant Cell. 2011. V. 23, I. 6. P. 2010-2032.

322. Reddy V.S., Ali G.S., Reddy A.S.N. Genes Encoding Calmodulin-binding Proteins in the Arabidopsis Genome // Journal of Biological Chemistry. 2002. V. 277, I. 12. V. 9840-9852.

323. Redwan M., Spinelli F., Marti L., Bazihizina N., Azzarello E., Mancuso S., Masi E. Investigation of root signaling under heterogeneous salt stress: A case study for *Cucumis sativus* L. // Environmental and Experimental Botany. 2017. V. 143. P. 20-28.

324. Reis J., Massari M., Marchese S., Ceccon M., Aalbers F.S., Corana F., Valente S.,

- Mai A., Magnani F., Mattevi A. A closer look into NADPH oxidase inhibitors: Validation and insight into their mechanism of action // *Redox Biology*. 2020. V. 32.
325. Rezayian M., Zarinkamar F. Nitric oxide, calmodulin and calcium protein kinase interactions in the response of *Brassica napus* to salinity stress // *Plant Biology*. 2023. V. 25, I. 3. P. 411-419.
326. Rolly N.K., Imran Q.M., Lee I.J., Yun B.W. Salinity stress-mediated suppression of expression of salt overly sensitive signaling pathway genes suggests negative regulation by AtbZIP62 transcription factor in *Arabidopsis thaliana* // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. V. 21, I. 5.
327. Rombolá-Caldentey B., Andrés Z., Waadt R., Quintero F.J., Schumacher K., Pardo J.M. Salinity-Induced Cytosolic Alkaline Shifts in *Arabidopsis* Roots Require the SOS Pathway // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. V. 24, I. 4.
328. Romero-Aranda R., Soria T., Cuartero J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions // *Plant Science*. 2001. V. 160. P.265-272.
329. Ropelewska E., Zapotoczny P. A calorimetric assessment of the effects of sodium chloride and sodium bromide on the microbiological and thermokinetic characteristics of soil // *Geoderma*. 2017. V. 288. P. 1-7.
330. Rose T., Goltstein P.M., Portugues R., Griesbeck O. Putting a finishing touch on GECIs // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2014. V. 7.
331. Rostampour P., Hamidian M., Movahhedi Dehnavi M., Saeidimajd G.A. Evaluation of osmoregulation and morpho-physiological responses of *Borago officinalis* under drought and salinity stress with equal osmotic potential // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2023. V. 106.
332. Roy R., Agrawal V., Gupta S.C. Mannitol, polyethylene glycol and NaCl induced polypeptide changes during in vitro culture of three tomato cultivars // *Biologia Plantarum*. 2011. V. 55, I. 3. P. 591-595.
333. Ru C., Hu X., Wang W., Ran H., Song T., Guo Y. Evaluation of the Crop Water Stress Index as an Indicator for the Diagnosis of Grapevine Water Deficiency in Greenhouses // *Horticulturae*. 2020. V. 6, I. 4.

334. Rui Y., Dinneny J.R. A wall with integrity: surveillance and maintenance of the plant cell wall under stress // *New Phytologist*. 2020. V. 225, I. 4. P. 1428-1439.
335. Ruwanpathirana G.P., Plett D.C., Williams R.C., Davey C.E., Johnston L.A., Kronzucker H.J. Continuous monitoring of plant sodium transport dynamics using clinical PET // *Plant Methods*. 2021. V. 17, I. 1.
336. Saddiq M.S., Iqbal S., Hafeez M.B., Ibrahim A.M.H., Raza A., Fatima E.M., Baloch H., Jahanzaib, Woodrow P., Ciarmiello L.F. Effect of salinity stress on physiological changes in winter and spring wheat // *Agronomy*. 2021. V. 11, I. 6.
337. Saha P., Kunda P., Biswas A.K. Influence of sodium chloride on the regulation of Krebs cycle intermediates and enzymes of respiratory chain in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) seedlings // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2012. V. 60. P. 214-222.
338. Salvador-Recatalà V. The AKT2 potassium channel mediates NaCl induced depolarization in the root of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Signaling and Behavior*. 2016. V. 11, I. 4.
339. Sarabi B., Fresneau C., Ghaderi N., Bolandnazar S., Streb P., Badeck F.W., Citerne S., Tangama M., David A., Ghashghaie J. Stomatal and non-stomatal limitations are responsible in down-regulation of photosynthesis in melon plants grown under the saline condition: Application of carbon isotope discrimination as a reliable proxy // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. V. 141. P. 1-19.
340. Sarkar R.K., Mahata K.R., Singh D.P. Differential responses of antioxidant system and photosynthetic characteristics in four rice cultivars differing in sensitivity to sodium chloride stress // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2013. V. 35, I. 10. P. 2915-2926.
341. Satir O., Berberoglu S. Crop yield prediction under soil salinity using satellite derived vegetation indices // *Field Crops Research*. 2016. V. 192. P. 134-143.
342. Scheenen W.J.J.M., Makings L.R., Gross L.R., Pozzan T., Tsien R.Y. Photodegradation of indo-1 and its effect on apparent Ca^{2+} concentrations // *Chemistry & Biology*. 1996. V. 3, I. 9. P. 765-774.
343. Schmöckel S.M., Garcia A.F., Berger B., Tester M., Webb A.A.R., Roy S.J. Different NaCl-induced calcium signatures in the *Arabidopsis thaliana* ecotypes Col-0 and C24 // *PLoS ONE*. 2015. V. 10, I. 2.

344. Schulte A., Lorenzen I., Böttcher M., Plieth C. A novel fluorescent pH probe for expression in plants // *Plant Methods*. 2006. V. 2, I. 1.
345. Sen A., Islam M.M., Zaman E., Ghosh U.K., Momtaz M.B., Islam M.A., Urmi T. A., Mamun M.A.A., Rahman M.M., Kamal M.Z.U., Rahman G.K.M.M., Haque M.M., Murata Y. Agro-Morphological, Yield and Biochemical Responses of Selected Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes to Salt Stress // *Agronomy*. 2022. V. 12, I. 12.
346. Shabala L., Zhang J., Pottosin I., Bose J., Zhu M., Fuglsang A.T., Velarde-Buendia A., Massart A., Hill C.B., Roessner U., Bacic A., Wu H., Azzarello E., Pandolfi C., Zhou M., Poschenrieder C., Mancuso S., Shabala S. Cell-type-specific H⁺-ATPase activity in root tissues enables K⁺ retention and mediates acclimation of barley (*Hordeum vulgare*) to salinity Stress // *Plant Physiology*. 2016. V. 172, I. 4. P. 2445-2458.
347. Shabala S., Chen G., Chen Z., Pottosin I. The energy cost of the tonoplast futile sodium leak // *New Phytologist*. 2020. V. 225, I. 3. P. 1105-1110.
348. Shabala S.N., Shabala S.I., Martynenko A.I., Babourina O., Newman I.A. Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na⁺ accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves: A comparative survey and prospects for screening // *Australian Journal of Plant Physiology*. 1998. V. 25, I. 5. P. 609-616.
349. Shabala S., White R.G., Djordjevic M.A., Ruan Y.L., Mathesius U. Root-to-shoot signalling: Integration of diverse molecules, pathways and functions // *Functional Plant Biology*. 2016. V. 43, I. 2. P. 87-104.
350. Shabala S., Yu M. Phosphoinositides: Emerging players in plant salinity stress tolerance // *Molecular Plant*. 2021. V. 14, I. 12. P. 1973-1975.
351. Shannon M.C., Grieve C.M. Tolerance of vegetable crops to salinity // *Scientia Horticulturae*. 1998. V. 78, I. 1-4. P. 5-38.
352. Shao Q., Gao Q., Lhamo D., Zhang H., Luan S. Two glutamate- and pH-regulated Ca²⁺ channels are required for systemic wound signaling in *Arabidopsis* // *Science Signaling*. 2020. V. 13, I. 640.
353. Sharavdorj K., Byambadorj S.O., Jang Y., Ahn Y., Cho J.W. Evaluating the Effects of Long-Term Salinity Stress on the Growth and Physiology of Mono and Mixed Crops // *Agronomy*. 2024. V. 14, I. 2.

354. Sharipova G., Ivanov R., Veselov D., Akhiyarova G., Seldimirova O., Galin I., Fricke W., Vysotskaya L., Kudoyarova G. Effect of Salinity on Stomatal Conductance, Leaf Hydraulic Conductance, HvPIP2 Aquaporin, and Abscissic Acid Abundance in Barley Leaf Cells // International Journal of Molecular Sciences. 2022. V. 23, I. 22.
355. Sharma G., Sharma N., Ohri P. Harmonizing hydrogen sulfide and nitric oxide: A duo defending plants against salinity stress // Nitric Oxide. 2024. V. 144. P. 1-10.
356. Sheikh-Mohamadi M.H., Etemadi N., Aalifar M., Pessarakli M. Salt stress triggers augmented levels of Na⁺, K⁺ and ROS alters salt-related gene expression in leaves and roots of tall wheatgrass (*Agropyron elongatum*) // Plant Physiology and Biochemistry. 2022. V. 183. P. 9-22.
357. Shelden M.C., Munns R. Crop root system plasticity for improved yields in saline soils // Frontiers in Plant Science. 2023. V. 14.
358. Shi H., Quintero F.J., Pardo J.M., Zhu J.K. The Putative Plasma Membrane Na⁺/H⁺ Antiporter SOS1 Controls Long-Distance Na⁺ Transport in Plants // The Plant Cell. 2002. V. 14, I. 2. P. 465-477.
359. Shi Y., Ding Y., Yang S. Cold Signal Transduction and its Interplay with Phytohormones During Cold Acclimation // Plant and Cell Physiology. 2015. V. 56, I. 1. P. 7-15.
360. Shimakawa G., Matsuda Y., Nakajima K., Tamoi M., Shigeoka S., Miyake C. Diverse strategies of O₂ usage for preventing photooxidative damage under CO₂ limitation during algal photosynthesis //Scientific Reports. 2017. V. 7.
361. Shin Y.K., Bhandari S.R., Lee J.G. Monitoring of Salinity, Temperature, and Drought Stress in Grafted Watermelon Seedlings Using Chlorophyll Fluorescence // Frontiers in Plant Science. 2021. V. 12.
362. Silva P., Gerós H. Regulation by salt of vacuolar H⁺-ATPase and H⁺-pyrophosphatase activities and Na⁺/H⁺ exchange // Plant Signaling & Behavior. 2009. V. 4, I. 8. P. 718-726.
363. Singh R., Parihar P., Singh S., Mishra R.K., Singh V.P., Prasad S.M. Reactive oxygen species signaling and stomatal movement: Current updates and future perspectives // Redox Biology. 2017. V. 11. P. 213-218.

364. Smokvarska M., Bayle V., Maneta-Peyret L., Fouillen L., Poitout A., Dongois A., Fiche J.B., Gronnier J., Garcia J., Höfte H., Nolmann M., Zipfel C., Maurel C., Moreau P., Jaillais Y., Martiniere A. The receptor kinase FERONIA regulates phosphatidylserine localization at the cell surface to modulate ROP signaling // *Science Advances*. 2023. V. 9, I. 14.
365. Smokvarska M., Jaillais Y., Martiniere A. Function of membrane domains in rho-of-plant signaling // *Plant Physiology*. 2021. V. 185, I. 3. P. 663-681.
366. Souslova E.A., Belousov V.V., Lock J.G., Strömlad S., Kasparov S., Bolshakov A.P., Pinelis V.G., Labas Y.A., Lukyanov S., Mayr L.M., Chudakov D.M. Single fluorescent protein-based Ca^{2+} sensors with increased dynamic range // *BMC Biotechnology*. 2007. V. 7.
367. Stael S., Rocha A.G., Wimberger T., Anrather D., Vothknecht U.C., Teige M. Cross-talk between calcium signalling and protein phosphorylation at the thylakoid // *Journal of Experimental Botany*. 2012. V. 63, I. 4. P. 1725-1733.
368. Stael S., Wurzinger B., Mair A., Mehlmer N., Vothknecht U.C., Teige M. Plant organellar calcium signalling: An emerging field // *Journal of Experimental Botany*. 2012. V. 63, I. 4. P. 1525-1542.
369. Steinhorst L., He G., Moore L.K., Schültke S., Schmitz-Thom I., Cao Y., Hashimoto K., Andrés Z., Piepenburg K., Ragel P., Behera S., Almutairi B.O., Batistič O., Wyganowski T., Köster P., Edel K.H., Zhang C., Krebs M., Jiang C., Guo Y., Quintero F.J., Bock R., Kudla J. A Ca^{2+} -sensor switch for tolerance to elevated salt stress in *Arabidopsis* // *Developmental Cell*. 2022. V. 57, I. 17. P. 2081-2094.
370. Stephan A.B., Kunz H.H., Yang E., Schroeder J.I. Rapid hyperosmotic-induced Ca^{2+} responses in *Arabidopsis thaliana* exhibit sensory potentiation and involvement of plastidial KEA transporters // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016. V. 113, I. 35.
371. Stepien P., Johnson G.N. Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte *Arabidopsis* and the halophyte *Thellungiella*: Role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink // *Plant Physiology*. 2009. V. 149, I. 2. P. 1154-1165.

372. Su N., Wu Q., Chen J., Shabala L., Mithöfer A., Wang H., Qu M., Yu M., Cui J., Shabala S. GABA operates upstream of H⁺-ATPase and improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by enabling cytosolic K⁺ retention and Na⁺ exclusion // *Journal of Experimental Botany*. 2019. V. 70, I. 21. P. 6349-6361.
373. Suarez D.L., Celis N., Ferreira J.F.S., Reynolds T., Sandhu D. Linking genetic determinants with salinity tolerance and ion relationships in eggplant, tomato and pepper // *Scientific Reports*. 2021. V. 11, I. 1.
374. Sukhov V. Electrical signals as mechanism of photosynthesis regulation in plants // *Photosynthesis Research*. 2016. V. 130. P. 373-387.
375. Sukhov V.S., Sherstneva O.N., Surova L.M., Rumiantsev E.A., Vodeneev V.A. Influence of a variation potential on photosynthesis in pumpkin seedlings (*Cucurbita pepo* L.) // *Biophysics*. 2013. V. 58, I. 3. P. 361-365.
376. Sukhov V., Shrstneva O., Surova L., Katicheva L., Vodeneev V. Proton cellular influx as a probable mechanism of variation potential influence on photosynthesis in pea // *Plant, Cell & Environment*. 2014. V. 37, I. 11. P. 2532-2541.
377. Sukhov V., Sukhova E., Vodeneev V. Long-distance electrical signals as a link between the local action of stressors and the systemic physiological responses in higher plants // *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2019. V. 146. P. 63-84.
378. Sukhov V., Surova L., Sherstneva O., Katicheva L., Vodeneev V. Variation potential influence on photosynthetic cyclic electron flow in pea // *Frontiers in Plant Science*. 2015. V. 5.
379. Sukhova E.M., Yudina L.M., Sukhov V.S. Changes in Activity of the Plasma Membrane H⁺-ATPase as a Link Between Formation of Electrical Signals and Induction of Photosynthetic Responses in Higher Plants // *Biochemistry (Moscow)*. 2023. V. 88, I. 10. P. 1488-1503.
380. Sukhova E., Sukhov V. Electrical Signals, Plant Tolerance to Actions of Stressors, and Programmed Cell Death: Is Interaction Possible? // *Plants*. 2021. V. 10, I. 8.
381. Sun X., Feng X., Li C., Zhang Z., Wang L. Study on salt tolerance with YHem1 transgenic canola (*Brassica napus*) // *Physiologia Plantarum*. 2015. V. 154, I. 2. P. 223-242.

382. Sun Y., Liang W., Cheng H., Wang H., Lv D., Wang W., Liang M., Miao C. NADPH Oxidase-derived ROS promote mitochondrial alkalization under salt stress in *Arabidopsis* root cells // *Plant Signaling & Behavior*. 2021. V. 16, I. 3.
383. Sun Y., Lindberg S., Shabala L., Morgan S., Shabala S., Jacobsen S.E. A comparative analysis of cytosolic Na⁺ changes under salinity between halophyte quinoa (*Chenopodium quinoa*) and glycophyte pea (*Pisum sativum*) // *Environmental and Experimental Botany*. 2017. V. 141. P. 154-160.
384. Sun Z.W., Ren L.K., Fan J.W., Li Q., Wang K.J., Guo M.M., Wang L., Li J., Zhang G.X., Yang Z.Y., Chen F., Li X. Salt response of photosynthetic electron transport system in wheat cultivars with contrasting tolerance // *Plant, Soil and Environment*. 2016. V. 62, I. 11. P. 515-521.
385. Suslov M., Daminova A., Egorov J. Real-Time Dynamics of Water Transport in the Roots of Intact Maize Plants in Response to Water Stress: The Role of Aquaporins and the Contribution of Different Water Transport Pathways // *Cells*. 2024. V. 13, I. 2.
386. Sutka M., Li G., Boudet J., Boursiac Y., Doumas P., Maurel C. Natural variation of root hydraulics in *Arabidopsis* grown in normal and salt-stressed conditions // *Plant Physiology*. 2011. V. 155, I. 3. P. 1264-1276.
387. Suzuki N., Miller G., Salazar C., Mondal H.A., Shulaev E., Cortes D.F., Shuman J.L., Luo X., Shah J., Schlauch K., Shulaev V., Mittler R. Temporal-spatial interaction between reactive oxygen species and abscisic acid regulates rapid systemic acclimation in plants // *Plant Cell*. 2013. V. 25, I. 9. P. 3553-3569.
388. Sze H., Chanroj S. Plant Endomembrane Dynamics: Studies of K⁺/H⁺ Antiporters Provide Insights on the Effects of pH and Ion Homeostasis // *Plant Physiology*. 2018. V. 177, I. 3. P. 875-895.
389. Szechyńska-Hebda M., Lewandowska M., Karpiński S. Electrical signaling, photosynthesis and systemic acquired acclimation // *Frontiers in Physiology*. 2017. V. 8.
390. Szechyńska-Hebda M., Lewandowska M., Witoń D., Fichman Y., Mittler R., Karpiński S.M. Aboveground plant-to-plant electrical signaling mediates network acquired acclimation // *Plant Cell*. 2022. V. 34, I. 8. P. 3047-3065.
391. Szopkó D., Darkó E., Molnár I., Kruppa K., Háló B., Vojtkó A., Molnár-Láng M.,

- Dulai S. Photosynthetic responses of a wheat (Asakaze)–barley (Manas) 7H addition line to salt stress // *Photosynthetica*. 2017. V. 55, I. 2. P. 317-328.
392. Ta T.H., Shin J.H., Ahn T.I., Son J.E. Modeling of transpiration of paprika (*Capsicum annuum* L.) plants based on radiation and leaf area index in soilless culture // *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2011. V. 52, I. 3. P. 265-269.
393. Takahashi S., Murata N. Interruption of the Calvin cycle inhibits the repair of Photosystem II from photodamage // *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*. 2005. V. 1708, I. 3. P. 352–361.
394. Tammam A., El-Aggan W., Helaly A., Badr G., El-Dakak R. (2023). Proteomics and photosynthetic apparatus response to vermicompost attenuation of salinity stress *Vicia faba* leaves // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2023. V. 45, I. 1.
395. Tang R.H., Han S., Zheng H., Cook C.W., Choi C.S., Woerner T.E., Jackson R. B., Pei Z.M. Coupling Diurnal Cytosolic Ca^{2+} Oscillations to the CAS-IP3 Pathway in *Arabidopsis* // *Science*. 2007. V. 315, I. 5817. P. 1423-1426.
396. Tang Y., Peng J., Lin J., Zhang M., Tian Y., Shang Y., Chen S., Bao X., Wang Q. A HD-Zip I transcription factor from physic nut, JcHDZ21, confers sensitive to salinity in transgenic *Arabidopsis* // *Frontiers in Plant Science*. 2023. V. 14.
397. Tavakkoli E., Rengasamy P., McDonald G.K. High concentrations of Na^+ and Cl^- ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress // *Journal of Experimental Botany*. 2010. V. 61, I. 15. P. 4449-4459.
398. Tazzeo T., Worek F., Janssen L. The NADPH oxidase inhibitor diphenyleneiodonium is also a potent inhibitor of cholinesterases and the internal Ca^{2+} pump // *British Journal of Pharmacology*. 2009. V. 158, I. 3. P. 790-796.
399. Terashima M., Petroustos D., Hüdig M., Tolstygina I., Trompelt K., Gäbelein P., Fufezan C., Kudla J., Weinl S., Finazzi G., Hippler M. Calcium-dependent regulation of cyclic photosynthetic electron transfer by a CAS, ANR1, and PGRL1 complex // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. V. 109, I. 43. P. 17717-17722.
400. Tian F., Hou M., Qiu Y., Zhang T., Yuan Y. Salinity stress effects on transpiration and plant growth under different salinity soil levels based on thermal infrared remote (TIR) technique // *Geoderma*. 2020. V. 357.

401. Tighe-Neira R., Alberdi M., Arce-Johnson P., Romero J., Reyes-Díaz M., Rengel Z., Inostroza-Blancheteau C. Role of potassium in governing photosynthetic processes and plant yield // *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. 2018. P. 191-203.
402. Tracy F.E., Gilliam M., Dodd A.N., Webb A.A.R., Tester M. NaCl-induced changes in cytosolic free Ca^{2+} in *Arabidopsis thaliana* are heterogeneous and modified by external ionic composition // *Plant, Cell and Environment*. 2008. V. 31, I. 8. P. 1063-1073.
403. Tran D., Galletti R., Neumann E.D., Dubois A., Sharif-Naeini R., Geitmann A., Frachisse J.M., Hamant O., Ingram G.C. A mechanosensitive Ca^{2+} channel activity is dependent on the developmental regulator DEK1 // *Nature Communications*. 2017. V. 8, I. 1.
404. Trinh M.D.L., Esmailpournmoghadam E., Sato R., Miyake C., Palmgren M., Masuda S. Chloroplast envelope-localized DLDG1 modulates H^+ translocation across thylakoid membranes via plastidial ATP synthase // *Plant Physiology*. 2025. V. 199, I. 1.
405. Trinh M., Hashimoto A., Kono M., Takaichi S., Nakahira Y., Masuda S. Lack of plastid-encoded Ycf10, a homolog of the nuclear-encoded DLG1 and the cyanobacterial PxcA, enhances the induction of non-photochemical quenching in tobacco // *Plant Direct*. 2021. V. 5, I. 12.
406. Trinh M.D.L., Masuda S. Chloroplast pH Homeostasis for the Regulation of Photosynthesis // *Frontiers in Plant Science*. 2022. V. 13.
407. Tsai Y.C., Chen K.C., Cheng T.S., Lee C., Lin S.H., Tung C.W. Chlorophyll fluorescence analysis in diverse rice varieties reveals the positive correlation between the seedlings salt tolerance and photosynthetic efficiency // *BMC Plant Biology*. 2019. V. 19, I. 1.
408. Tu Y., Jiang A., Gan L., Hossain M., Zhang J., Peng B., Xiong Y., Song Z., Cai D., Xu W., Zhang J., He Y. Genome duplication improves rice root resistance to salt stress // *Rice*. 2014. V. 7, I. 1. P. 1-13.
409. Umezawa T., Mizuno K., Fujimura T. (2002). Discrimination of genes expressed in response to the ionic or osmotic effect of salt stress in soybean with cDNA-AFLP // *Plant, Cell and Environment*. 2002. V. 25, I. 12. P. 1617-1625.

410. Vainonen J., Paakkari V., Aro E.M. CaS – A Novel Phosphoprotein in Thylakoids of *Arabidopsis thaliana* // Photosynthesis. Energy from the Sun. 2008. P. 1145-1148.
411. van der Linden F.H., Thornquist S.C., Beek R.M., Huijts J.Y., Hink M.A., Gadella T.W.J., Maimon G., Goedhart J. A green lifetime biosensor for calcium that remains bright over its full dynamic range // BioRxiv. 2025.
412. van Dieren A., Schwarzenbacher R.E., Sonnewald S., Bittner A., Vothknecht U.C. Analysis of abiotic and biotic stress-induced Ca^{2+} transients in the crop species *Solanum tuberosum* // Scientific Reports. 2024. V. 14, I. 1.
413. Vener A., van Kan P., Rich P., Ohad I., Andersson B. Plastoquinol at the quinol oxidation site of reduced cytochrome *bf* mediates signal transduction between light and protein phosphorylation: Thylakoid protein kinase deactivation by a single-turnover flash // Proceedings of the National Academy of Science. 1997. V. 94, I. 4. P. 1585-1590.
414. Véry A.A., Davies J.M. Hyperpolarization-activates calcium channels at the tip of *Arabidopsis* root hairs // PNAS. 2000. V. 97, I. 17. P. 9801-9806.
415. Villegas M., Sommarin M., Brodelius P.E. Effect of sodium orthovanadate on benzophenthridine alkaloid formation in cell suspension cultures of *Eschscholtzia californica* // Plant Physiology and Biochemistry. 2000. V. 38, I. 3. P. 233-241.
416. Vincill E.D., Clarin A.E., Molenda J.N., Spalding E.P. Interacting Glutamate Receptor-Like Proteins in Phloem Regulate Lateral Root Initiation in *Arabidopsis* // The Plant Cell. 2013. V. 25, I. 4. P. 1304-1313.
417. Vivek P.J., Tuteja N., Soniya E.V. CDPK1 from Ginger Promotes Salinity and Drought Stress Tolerance without Yield Penalty by Improving Growth and Photosynthesis in *Nicotiana tabacum* // PLoS ONE. 2013. V. 8, I. 10.
418. Vodeneev V.A., Akinchits E.K., Orlova L.A., Sukhov V.S. The role of Ca^{2+} , H^{+} , and Cl^{-} ions in generation of variation potential in pumpkin plants // Russian Journal of Plant Physiology. 2011. V. 58, I. 6. P. 974-981.
419. Vysotskaya L., Hedley P.E., Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Morris J., Jones H.G. (2010). Effect of salinity on water relations of wild barley plants differing in salt tolerance // AoB Plants. 2010.

420. Wang C.F., Han G.L., Yang Z.R., Li Y.X., Wang B.S. Plant Salinity Sensors: Current Understanding and Future Directions // *Frontiers in Plant Science*. 2022. V. 13.
421. Wang H., Li J., Liu H., Chen S., Zaman Q., Rehman M., El-Kahtany K., Fahad S., Deng G., Yang J. Variability in morpho-biochemical, photosynthetic pigmentation, enzymatic and quality attributes of potato for salinity stress tolerance // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2023. V. 203.
422. Wang L., Xu J.Y., Jia W., Chen Z., Xu Z.C. Chloride salinity in a chloride-sensitive plant: Focusing on photosynthesis, hormone synthesis and transduction in tobacco // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2020. V. 153. P. 119-130.
423. Wang M., Zheng Q., Shen Q., Guo S. The critical role of potassium in plant stress response // *International Journal of Molecular Sciences*. 2013. V. 14, I. 4.
424. Wang W., He E., Chen J., Guo Y., Chen J., Liu X., Zheng H. The reduced state of the plastoquinone pool is required for chloroplast-mediated stomatal closure in response to calcium stimulation // *The Plant Journal*. 2016. V. 86, I. 2. P. 132-144.
425. Wang W., Wang R., Yuan Y., Du N., Guo W. Effects of salt and water stress on plant biomass and photosynthetic characteristics of Tamarisk (*Tamarix Chinensis* Lour.) seedlings // *African Journal of Biotechnology*. 2011. V. 10, I. 78. P. 17981-17989.
426. Wang X., Zhang W., Liu X. Daily variations in transpiration rate and water potential of Robinia pseudoacacia // *Agriculture & Environment*. 2013. V. 11, I. 1. P. 999-1005.
427. Wegner L.H., Shabala S. Biochemical pH clamp: the forgotten resource in membrane bioenergetics // *New Phytologist*. 2020. V. 225, I. 1. P. 37-47.
428. Wegner L.H., Stefano G., Shabala L., Rossi M., Mancuso S., Shabala S. Sequential depolarization of root cortical and stelar cells induced by an acute salt shock - implications for Na⁺ and K⁺ transport into xylem vessels // *Plant, Cell and Environment*. 2011. V. 34, I. 5. P. 859-869.
429. Wegner L.H., Zimmermann U. Bicarbonate-Induced Alkalinization of the Xylem Sap in Intact Maize Seedlings as Measured in Situ with a Novel Xylem pH Probe // *Plant Physiology*. 2004. V. 136, I. 3. P. 3469-3477.
430. Wegner L., Li X., Zhang J., Yu M., Shabala S. Biochemical and biophysical pH

clamp controlling Net H⁺ efflux across the plasma membrane of plant cells // New Phytologist. 2021. V. 230. P. 408-415.

431. Wei Y., Zhang T., Yao T., Wang Z., Che Y., Zhang H. The impact of Ca²⁺ on the protective mechanisms of the photosystem under drought stress // Journal of Plant Interactions. 2025. V. 20, I. 1.

432. Wiciarz M., Niewiadomska E., Kruk J. Effects of salt stress on low molecular antioxidants and redox state of plastoquinone and P700 in *Arabidopsis thaliana* (glycophyte) and *Eutrema salsugineum* (halophyte) // Photosynthetica. 2018. V. 56, I. 3. P. 811-819.

433. Wilkinson S. PH as a stress signal // Plant Growth Regulation. 1999. V. 29, I. ½. P. 87-99.

434. Wilkinson S., Davies W.J. Manipulation of the apoplastic pH of intact plants mimics stomatal and growth responses to water availability and microclimatic variation // Journal of Experimental Botany. 2008. V. 59, I. 3. P. 619-631.

435. Wu H., Shabala L., Shabala S., Giraldo J.P. Hydroxyl radical scavenging by cerium oxide nanoparticles improves *Arabidopsis* salinity tolerance by enhancing leaf mesophyll potassium retention // Environmental Science: Nano. 2018. V. 5, I. 7. P. 1567-1583.

436. Wu X., Zhu Z., Li X., Zha D. Effects of cytokinin on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidative system in seedlings of eggplant (*Solanum melongena* L.) under salinity stress // Acta Physiologiae Plantarum. 2012. V. 34, I. 6. P. 2105-2114.

437. Wu Z., Luo L., Wan Y., Liu F. Genome-wide characterization of the PP2C gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.) and the identification of candidate genes involved in salinity-stress response // Frontiers in Plant Science. 2023. V. 14.

438. Wungrampha S., Joshi R., Singla-Pareek S.L., Pareek A. Photosynthesis and salinity: are these mutually exclusive? // Photosynthetica. 2018. V. 56. P. 366-381.

439. Xiong T.C., Ronzier E., Sanchez F., Corratgé-Faillie C., Mazars C., Thibaud J.B. Imaging long distance propagating calcium signals in intact plant leaves with the BRET-based GFP-aequorin reporter // Frontiers in Plant Science. 2014. V. 5.

440. Yamaguchi T., Apse M.P., Shi H., Blumwald E. Topological analysis of a plant

vacuolar Na^+/H^+ antiporter reveals a luminal C terminus that regulates antiporter cation selectivity // PNAS. 2003. V. 100, I. 21. P. 12510-12515.

441. Yan K., Chen P., Shao H., Zhao S., Zhang L., Zhang L., Xu G., Sun J. Responses of Photosynthesis and Photosystem II to Higher Temperature and Salt Stress in Sorghum // Journal of Agronomy and Crop Science. 2012. V. 198, I. 3. P. 218-225.

442. Yan K., Wu C., Zhang L., Chen X. Contrasting photosynthesis and photoinhibition in tetraploid and its autodiploid honeysuckle (*Lonicera japonica* thunb.) under salt stress // Frontiers in Plant Science. 2015. V. 6.

443. Yan X., Wang Z., Huang L., Wang C., Hou R., Xu Z., Qiao X. Research progress on electrical signals in higher plants // Progress in Natural Science. 2009. V. 19, I. 5. P. 531-541.

444. Yang S.J., Zhang Y.J., Sun M., Goldstein G., Cao K.F. Recovery of diurnal depression of leaf hydraulic conductance in a subtropical woody bamboo species: embolism refilling by nocturnal root pressure // Tree Physiology. 2012. V. 32, I. 4. P. 414-422.

445. Yang W., Boss W.F. Regulation of phosphatidylinositol 4-kinase by the protein activator PIK-A49. Activation requires phosphorylation of PIK-A49 // Journal of Biological Chemistry. 1994. V. 269, I. 5. P. 3852-3857.

446. Yang X., Liang Z., Wen X., Lu C. Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine leads to increased tolerance of photosynthesis to salt stress in transgenic tobacco plants // Plant Molecular Biology. 2008. V. 66, I. 1-2. P. 73-86.

447. Yang Y., Guo Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses // New Phytologist. 2018. V. 217, I. 2. P. 523-539.

448. Yang Y., Han X., Ma L., Wu Y., Liu X., Fu H., Liu G., Lei X., Guo Y. Dynamic changes of phosphatidylinositol and phosphatidylinositol 4-phosphate levels modulate H^+ -ATPase and Na^+/H^+ antiporter activities to maintain ion homeostasis in *Arabidopsis* under salt stress // Molecular Plant. 2021. V. 14, I. 12. P. 2000-2014.

449. Yoshida S. Low Temperature-Induced Cytoplasmic Acidosis in Cultured Mung Bean (*Vigna radiata* [L.] Wilczek) Cells // Plant Physiology. 1994. V. 104, I. 4. P. 1131-1138.

450. Yoshida S., Hotsubo K., Kawamura Y., Murai M., Arakawa K., Takezawa D. Alterations of Intracellular pH in Response to Low Temperature Stresses // *Journal of Plant Research*. 1999. V. 112, I. 2. P. 225-236.
451. Yu B., Chao D.Y., Zhao Y. How plants sense and respond to osmotic stress // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2024. V. 66, I. 3. P. 394-423.
452. Yu B., Liu N., Tang S., Qin T., Huang J. Roles of Glutamate Receptor-Like Channels (GLRs) in Plant Growth and Response to Environmental Stimuli // *Plants*. 2022. V. 11, I. 24.
453. Yudina L., Sherstneva O., Sukhova E., Grinberg M., Mysyagin S., Vodeneev V., Sukhov V. Inactivation of H⁺-ATPase participates in the influence of variation potential on photosynthesis and respiration in peas // *Plants*. 2020. V. 9, I. 11. P. 1-21.
454. Yue Y., Zhang M., Zhang J., Duan L., Li Z. SOS1 gene overexpression increased salt tolerance in transgenic tobacco by maintaining a higher K⁺/Na⁺ ratio // *Journal of Plant Physiology*. 2012. V. 169, I. 3. P. 255-261.
455. Yun P., Kaya C., Shabala S. Hormonal and epigenetic regulation of root responses to salinity stress // *The Crop Journal*. 2024. V. 12, I. 5. P. 1309-1320.
456. Zahra N., Al Hinai M.S., Hafeez M.B., Rehman A., Wahid A., Siddique K.H.M., Farooq M. Regulation of photosynthesis under salt stress and associated tolerance mechanisms // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2022. V. 178. P. 55-69.
457. Zarbakhsh S., Shahsavar A.R. Exogenous γ -aminobutyric acid improves the photosynthesis efficiency, soluble sugar contents, and mineral nutrients in pomegranate plants exposed to drought, salinity, and drought-salinity stresses // *BMC Plant Biology*. 2023. V. 23, I. 1.
458. Zarei S., Ehsanpour A.A., Javadirad S.M. *In vitro* impact of Pyrazinamide (PZA), AgNO₃ and salinity on the expression of ACS3, ACO1, EIN2, and EIL1 genes in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2024. V. 156, I. 2.
459. Zhang H., Zhang Q., Zhai H., Li Y., Wang X., Liu Q., He S. Transcript profile analysis reveals important roles of jasmonic acid signalling pathway in the response of sweet potato to salt stress // *Scientific Reports*. 2017. V. 7.

460. Zhang J.H., Liu Y.P., Pan Q.H., Zhan J.C., Wang X.Q., Huang W.D. Changes in membrane-associated H⁺-ATPase activities and amounts in young grape plants during the cross adaptation to temperature stresses // *Plant Science*. 2006. V. 170, I. 4. P. 768-777.
461. Zhang L., Xing D. Rapid determination of the damage to photosynthesis caused by salt and osmotic stresses using delayed fluorescence of chloroplasts // *Photochemical and Photobiological Sciences*. 2008. V. 7, I. 3. P. 352-360.
462. Zhang Y., Kaiser E., Zhang Y., Yang Q., Li T. Short-term salt stress strongly affects dynamic photosynthesis, but not steady-state photosynthesis, in tomato (*Solanum lycopersicum*) // *Environmental and Experimental Botany*. 2018. V. 149. P. 109-119.
463. Zhang Y., Wang Y., Taylor J.L., Jiang Z., Zhang S., Mei F., Wu Y., Wu P., Ni J. Aequorin-based luminescence imaging reveals differential calcium signalling responses to salt and reactive oxygen species in rice roots // *Journal of Experimental Botany*. 2015. V. 66, I. 9. P. 2535-2545.
464. Zhao C., Jiang W., Zayed O., Liu X., Tang K., Nie W., Li Y., Xie S., Li Y., Long T., Liu L., Zhu Y., Zhao Y., Zhu J.K. The LRXs-RALFs-FER module controls plant growth and salt stress responses by modulating multiple plant hormones // *National Science Review*. 2021. V. 8, I. 1.
465. Zhao C., Zayed O., Yu Z., Jiang W., Zhu P., Hsu C.C., Zhang L., Andy Tao W., Lozano-Durán R., Zhu J.K. Leucine-rich repeat extensin proteins regulate plant salt tolerance in Arabidopsis // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018. V. 115, I. 51. P. 13123-13128.
466. Zhao C., Zhang H., Song C., Zhu J.K., Shabala S. Mechanisms of Plant Responses and Adaptation to Soil Salinity // *The Innovation*. 2020. V. 1, I. 1.
467. Zhao D.J., Chen Y., Wang Z.Y., Xue L., Mao T.L., Liu Y.M., Wang Z.Y., Huang L. High-resolution non-contact measurement of the electrical activity of plants in situ using optical recording // *Scientific Reports*. 2015. V. 5, I. 1.
468. Zhao X., Shi Y., Chen L., Sheng F., Zhou H. Secondary Structure Changes and Thermal Stability of Plasma Membrane Proteins of Wheat Roots in Heat Stress // *American Journal of Plant Sciences*. 2011. V. 2, I. 6. P. 816-822.
469. Zhao Y., Liu Y., Zhang F., Wang Z.Y., Mysore K.S., Wen J., Zhou C. The long

noncoding RNA LAL contributes to salinity tolerance by modulating LHCb1s' expression in *Medicago truncatula* // Communications Biology. 2024. V 7, I. 1.

470. Zheng C., Liu C., Liu L., Tan Y., Sheng X., Yu D., Sun Z., Sun X., Chen J., Yuan D., Duan M. Effect of salinity stress on rice yield and grain quality: A meta-analysis // European Journal of Agronomy. 2023. V. 144.

471. Zheng C., Zhou G., Zhang Z., Li W., Peng Y., Xie X. Moderate Salinity Stress Reduces Rice Grain Yield by Influencing Expression of Grain Number- and Grain Filling-Associated Genes // Journal of Plant Growth Regulation. 2021. V. 40, I. 3. P. 1111-1120.

472. Zheng L., Hu Y., Yang T., Wang Z., Wang D., Jia L., Xie Y., Luo L., Qi W., Lv Y., Beeckman T., Xuan W., Han Y. A root cap-localized NAC transcription factor controls root halotropic response to salt stress in Arabidopsis // Nature Communications. 2024. V. 15, I. 1.

473. Zhou H., Finkemeier I., Guan W., Tossounian M., Wei B., Young D., Huang J., Messens J., Yang X., Zhu J., Wilson M.H., Shen W., Xie Y., Foyer C.H. Oxidative stress-triggered interactions between the succinyl- and acetyl-proteomes of rice leaves // Plant, Cell & Environment. 2018. V. 41, I. 5. P. 1139-1153.

474. Zhou H., Shi H., Yang Y., Feng X., Chen X., Xiao F., Lin H., Guo Y. Insights into plant salt stress signaling and tolerance // Journal of Genetics and Genomics. 2024. V. 51, I. 1. V. 16-34.

475. Zhou M., Ye J.Y., Shi Y.J., Jiang Y.J., Zhuang Y., Zhu Q.Y., Liu X.X., Ding Z.J., Zheng S.J., Jin C.W. Apoplastic pH is a chemical switch for extracellular H₂O₂ signaling in abscisic acid-mediated inhibition of cotyledon greening // New Phytologist. 2025. V. 245, I. 6. P. 2600-2615.

476. Zhou Z., Majeed Y., Diverres Naranjo G., Gambacorta E.M.T. Assessment for crop water stress with infrared thermal imagery in precision agriculture: A review and future prospects for deep learning applications // Computers and Electronics in Agriculture. 2021. V. 182, I. 106019.

477. Zhu X., Hong X., Liu X., Li S., Yang J., Wang F., Yue Y., Zhang N., Si H. Calcium-dependent protein kinase 32 gene maintains photosynthesis and tolerance of potato in

response to salt stress // *Scientia Horticulturae*. 2021. V. 285.

478. Zörb C., Geilfus C.M., Dietz K.J. Salinity and crop yield // *Plant Biology*. 2019. V. 21. P. 31-38.

479. Zuo G. Non-photochemical quenching (NPQ) in photoprotection: insights into NPQ levels required to avoid photoinactivation and photoinhibition // *New Phytologist*. 2025. V. 246, I. 5. P. 1967-1974.