_____ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ _____ СТАТЬИ

УЛК 581.1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВКЛАДА КОМПОНЕНТОВ СО2/H2O ОБМЕНА В ПРОЦЕСС АДАПТАЦИИ К ЗАСУХЕ У КСЕРОГАЛОФИТОВ СЕМЕЙСТВА Снепородіасеае С РАЗНЫМ ТИПОМ ФОТОСИНТЕЗА

© 2020 г. З. Ф. Рахманкулова^{*a*, *}, Е. В. Шуйская^{*a*, **}, М. Ю. Прокофьева^{*a*}, А. М. Боровков^{*a*}, П. Ю. Воронин^{*a*}

 $^a \Phi$ едеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия *e-mail: zulfirar@mail.ru

**e-mail: evshuya@gmail.com Поступила в релакцию 17.07.2019 г. После доработки 30.10.2019 г. Принята к публикации 05.11.2019 г.

Исследовали компоненты СО₂/H₂O обмена (интенсивность видимого фотосинтеза, транспирации, темнового дыхания), а также эффективность фотосистемы І, интенсивность роста и содержание пролина у растений C₃-вида (Atriplex verrucifera), двух популяций C₄-вида (A. tatarica) и двух популяций промежуточного С₃-С₄-вида (Sedobassia sedoides) сем. Chenopodiaceae в процессе адаптации к ПЭГ-индуцированному умеренному осмотическому стрессу (-0.4...-0.5 МПа). В работе использовали две концентрации CO₂ (400 и 200 ppm), позволяющие исследовать устьичный и метаболический вклад в формирование механизмов засухоустойчивости и оценить чувствительность устьиц. В условиях умеренного водного дефицита С3-вид проявил черты засухоустойчивости, суккулентности и характеризовался нечувствительностью устьиц. На основе анализа ростовых характеристик выявлены межпопуляционные различия по продуктивности и устойчивости у С₄- и С₃-С₄-видов. У устойчивых к водному дефициту популяций, несмотря на разную природу углерод-концентрирующего механизма (у C_4 – аспартатный, у C_3 – C_4 – фотодыхательный) показаны общие черты: менее чувствительные устьица, наличие механизма стабилизации водного баланса клеток листьев, возможно, при участии пролина и циклического транспорта электронов. Реализация такой стратегии приводит к сохранению координации параметров CO₂/H₂O обмена, что обеспечивает меньшую вариабельность темнового дыхания и большую устойчивость растений к умеренному осмотическому стрессу. У неустойчивых популяций адаптация осуществляется, в первую очередь, за счет закрытия устьиц, что, возможно, приводит к рассогласованию параметров CO₂/H₂O обмена.

Ключевые слова: Atriplex verrucifera, Atriplex tatarica, Sedobassia sedoides, CO₂/H₂O обмен, углерод-концентрирующий механизм, транспирация, эффективность использования воды, пролин, циклический транспорт электронов, осмотический стресс

DOI: 10.31857/S0015330320030197

ВВЕДЕНИЕ

Засуха является одним из основных абиотических экологических стрессовых факторов, которые ограничивают рост и развитие растений, играют важную роль в географическом распространении видов. Актуальность изучения данного типа стресса возрастает в связи с глобальными климатическими изменениями и аридизацией климата. Способность растений адекватно отвечать на водный дефицит и вызванный им осмотический стресс, выживать в условиях осмотического стресса зависит от эффективности крайне энергозатратных защитных механизмов растений [1].

Энергетический обмен растений является многокомпонентным. Центральная роль в общей энергетике растений и в конструктивном обмене принадлежит фотосинтезу, состоящему из световых (ФС I и ФС II) и темновых биохимических процессов. Большая роль в обеспечении клетки энергией и метаболитами принадлежит также темновому митохондриальному дыханию. В условиях водного дефицита наблюдается ингибирование фотосинтетической активности и, часто, усиление диссипации энергии в ходе темнового дыхания [2]. Лимитирование фотосинтеза претерпевает последовательные фазы. На начальной стадии (устьичная фаза) происходит частичное или полное закрытие устьиц. Это тормозит газообмен и

Сокращение: УКМ – углерод-концентрирующий механизм.

снижает поступление CO_2 к центрам карбоксилирования. Далее в ходе неустьичной метаболической фазы наблюдается снижение активности ферментов цикла Кальвина [3].

Растения с С₃- и С₄-типом фотосинтетического метаболизма сильно отличаются по устойчивости к водному дефициту. Известно, что С₄-растения обладают эффективным фотосинтетическим аппаратом в теплых и засушливых условиях обитания. Преимущество С₄-растений, по сравнению С₃-видами, заключается в более эффективном фотосинтетическом механизме, который включает в себя дополнительную пространственно отделенную метаболическую надстройку к основному фотосинтетическому циклу Кальвина, связанную с функционированием фосфоенолпируваткарбоксилазы [4]. Данная надстройка является углерод-концентрирующим механизмом (УКМ), который позволяет более эффективно использовать свет и воду при высокой температуре и водном дефиците, в первую очередь, за счет почти полной рефиксации фотодыхательного СО₂. Высокая эффективность использования воды (WUE, англ.: water use efficiency) C_4 -растениями привела к общему мнению, что данный тип фотосинтеза устойчив к засухе [5]. Однако в последнее время появляется все больше информации о слабой засухоустойчивости некоторых С₄-видов [6-8]. По мнению Sage и McKown [6], некоторые уникальные функции С₄-фотосинтеза и более сложный биохимический путь могут снизить потенциал общей фенотипической пластичности и акклиматизации фотосинтеза к изменению окружающей среды. Ghannoum [7] считает, что причиной может быть ограниченная при С₄-фотосинтезе интенсивность фотодыхания или реакции Мелера, которые являются значительными альтернативными стоками электронов в условиях водного стресса. Согласно гипотезе Osborne и Sack [8], возможно, слабая координация между углеродконцентрирующим С₄-механизмом и гидравлической функцией приводит к слабой засухоустойчивости растений. На сегодняшний день противоречия относительно засухоустойчивости C₄-растений остаются нерешенными, несмотря на большой интерес к растениям с кооперативным типом фотосинтеза в связи с их значительным вкладом в глобальный обмен углерода и продовольственную безопасность [7] на фоне изменения климата, и многочисленными попытками биотехнологически улучшить С3-растения путем оверэкспрессии в них С₄-ферментов [9].

Показано, что снижение интенсивности C_4 -фотосинтеза в условиях водного дефицита, главным образом, является следствием метаболических ограничений в ассимиляции CO_2 , в то время как в C_3 -видах преобладающую роль в снижении фото-

синтеза, вызванного засухой, играет устьичное лимитирование [3, 7]. Водный дефицит также приводит к нарушению функционирования ФС II, нециклического транспорта электронов и активации циклического транспорта [10], в результате чего изменяется соотношение АТ Φ /НАД $\Phi \cdot$ Н. Э ϕ фективное регулирование работы ЭТЦ посредством активации альтернативных путей или циклического транспорта электронов имеет большое значение для выживания растений в стрессовых условиях, в том числе в условиях засухи [10]. Темновое митохондриальное дыхание в условиях дефицита воды может снижаться в результате уменьшения затрат на рост, а может усиливаться при возрастании затрат на поддержание и адаптационные механизмы [2].

Необходимым условием и важным этапом C_4 -эволюции является появление фотодыхательного углеродного насоса, так называемого C_2 -фотосинтеза, который использует фотодыхательный глициновый челнок для концентрирования CO_2 в клетках обкладки [11]. C_2 -фотосинтез рассматривается как связующее звено между C_3 - и C_4 -типами фотосинтеза [12]. С другой стороны, эволюционная траектория от C_3 - до C_4 -фотосинтеза через промежуточные C_3 - C_4 -виды с C_2 -фотосинтезом не так однозначна [8], и C_3 - C_4 -фотосинтез рассматривается как параллельный C_4 -фотосинтезу путь со своими характерными особенностями. C_3 - C_4 -промежуточные виды представляют большой интерес для изучения эволюции C_4 -фотосинтеза [11].

Известно, что эволюция C_4 фотосинтеза происходила при низкой атмосферной концентрации CO_2 [13] и высоком спросе на воду и, по мнению Osborne и Sack [8], сопровождалась одновременным улучшением углеродного и водного обмена растений. Отсутствие координации между механизмами усиления поступления углерода и потерей воды часто приводит к субоптимальным WUE и потерям фотосинтеза [14]. Дальнейшее изучение того, как эффективность водного обмена и фотосинтеза скоординированы внутри листьев, важно для изучения и прогнозирования физиологических последствий и производительности C_4 -фотосинтеза в условиях изменяющейся атмосферной концентрации CO_2 .

Особенностью растений семейства Маревые (*Chenopodiaceae*) — одного из самых больших семейств аридных и полуаридных территорий, является наличие видов ксерогалофитов с разным типом фотосинтетического метаболизма (C_3 , C_4 и C_3-C_4) и разной устойчивостью к засухе. В настоящее время виды *Chenopodiaceae* используются в экологическом восстановлении деградированных агроландшафтов, а также в производстве кормов на засушливых землях. В рамках данной работы планируется изучение C_3-, C_4- и C_3-C_4- (с C_2- фо-

тосинтезом) ксерогалофитов семейства *Chenopodiaceae* в условиях засухи и засоления. Особое внимание будет уделено изучению влияния изменяющейся атмосферной концентрации CO₂ на координацию между фотосинтетической и гидравлической функциями.

Цель работы — сравнение параметров CO_2/H_2O обмена и оценка степени их скоординированности у разных по устойчивости популяций C_3 -, C_4 - и C_3 - C_4 -видов семейства *Chenopodiaceae* в условиях умеренного ПЭГ-индуцированного водного дефицита при нормальной и низкой концентрации CO_2 .

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на растениях С₃-вида (лебеда бородавчатая, *Atriplex verrucifera* M. Bieb), двух популяций (П1 и П2) С₄-вида (лебеда татарская, *A. tatarica* L.) и двух популяций (М и П) промежуточного С₃-С₄-вида (седобассия очитковидная, *Sedobassia sedoides* (Pall.) Freitag & G. Kadereit) семейства Mapeвые (*Chenopodiaceae*) в процессе их адаптации к ПЭГ-индуцированному умеренному осмотическому стрессу (-0.4...-0.5 МПа).

Умеренный уровень осмотического стресса был выбран, поскольку (1) данные виды в естественных условиях произрастания продемонстрировали чувствительность и наличие морфологических и генетических различий между популяциями в условиях умеренной засухи [15]; (2) изучение низких и средних уровней засухи представляет особый интерес, т.к. они широко распространены по всему миру и при этом изучены в меньшей мере, чем экстремальные уровни стрессовых нагрузок [16]. Адаптация к умеренной засухе не является шоковой и позволяет лучше выявить и изучить адаптивные механизмы устойчивости.

Для проведения лабораторных экспериментов семена A. verrucifera, A. tatarica и S. sedoides проращивали в дистиллированной воде. Проростки в возрасте 3-4 дней пересаживали на перлит, пропитанный 50% питательным раствором Хогланда. Растения выращивали под люминесцентными лампами при плотности потоков квантов ФАР 200 мкмоль/(м² с), 16-часовом фотопериоде и температуре 25°С. Растения в возрасте 30 дней переносили на экспериментальные растворы (полив перлита). Опыт длился 5-6 дней. ПЭГ-6000 (осмотический потенциал $\psi_s = -0.4...-0.5$ МПа) вносили в поддоны опытных вариантов дважды. В качестве контроля использовали 50% раствор Хогланда. Для определения сухой биомассы растительные пробы высушивали двое суток при 80°С. Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива [17], результаты рассчитывали на 1 г сухой массы.

Для определения видимого фотосинтеза (A) и транспирации (Е) фрагмент листа помещали в термостатируемую при комнатной температуре листовую камеру и освещали оптоволоконным световодом от осветителя (KL 1500 LCD, "Shott", Германия) с галогеновой лампой (150 Вт, "Philips", Нидерланды) с интенсивностью ФАР в поле объекта 2000 мкмоль/(м² с). Стационарный СО₂/H₂O газообмен листа измеряли с помощью одноканального ИК-газоанализатора (LI-820, "LICOR", США) в открытой схеме. Транспирацию листа рассчитывали на основании разности влажности газа на входе и выходе из листовой камеры. В данной установке в опорном газовом потоке на входе в листовую камеру поддерживали известную постоянную влажность с помощью увлажнителя LI-610 ("LICOR", США). Для определения влажности на выходе из листовой камеры использовали психрометрический датчик HMP50 ("Vaisala INTERCAP", Финляндия). Эффективность использования воды (WUE) рассчитывали как отношение скорости видимого фотосинтеза к транспирации (А/Е). Интенсивность темнового дыхания (Rd) оценивали через 20 мин после выключения света.

Исследования A, E, WUE и Rd проводили при современной атмосферной (400 ppm) и низкой (200 ppm) концентрации CO_2 в измерительной камере (древняя концентрация CO_2 , при которой осуществлялось эволюционное развитие C_4 -линий в течение 30 миллионов лет), что позволило в ходе эксперимента искусственно управлять открытием устьиц, оценивать чувствительность устьичного аппарата к внешним воздействиям [8, 13], а также дифференцировать устьичный и метаболический вклад в засухоустойчивость.

Продуктивность оценивали по накоплению сухой биомассы, устойчивость — по степени снижения данного параметра при стрессе. Степень скоординированности CO_2/H_2O газообмена оценивали по вариабельности темнового дыхания, т.е. по величине стандартного отклонения от средней арифметической, а также по степени снижения WUE и ростовых параметров.

Эффективность ФС I оценивали по изменению окислительно-восстановительного потенциала Р700 и измеряли путем мониторинга оптической плотности листьев при 820 нм с использованием "dual-wavelength" системы импульсной модуляции ED-P700DW ("Heinz-Walz, Effeltrich", Германия) в сочетании с PAM101 ("Heinz-Walz", Германия) [10]. Кинетика окисления P700 измерялась при освещении дальним красным светом (720 нм, 17.2 Вт/м²). Максимальное окисление P700 определяли с использованием ксеноновой газоразрядной лампы (50 мс, 1500 Вт/м²; "Heinz-Walz", Германия) в присутствии дальнего красного света.

Во всех экспериментах было не менее трех биологических повторностей. Для факторного

(ANOVA) анализа использовали программу SigmaPlot12.0. На графиках приведены средние арифметические значения полученных величин и их стандартные ошибки. Различия считались достоверными при P < 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование ростовых параметров у С₃-, С₄и С₃--С₄-видов сем. Chenopodiaceae в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса

Исследовали сухую биомассу растений C_3 -вида (*Atriplex verucifera*), двух популяций C_4 -вида (*A. tatarica*) и двух популяций с разными подтипами промежуточного C_3 - C_4 -вида (*Sedobassia sedoides*) в процессе адаптации к ПЭГ-индуцированному умеренному осмотическому стрессу (-0.4...-0.5 МПа) (рис. 1).

В ходе проведенных экспериментов установлено, что в контрольных условиях более продуктивными были растения C_4 -вида *A. tatarica* и C_3 - C_4 -вида *S. sedoides*, у которых показатели сухой биомассы оказалась в 2–4 раза выше, чем у C_3 -вида *A. verrucifera* (рис. 1а–в). Между популяциями C_4 -вида наблюдались достоверные различия накопления сухой биомассы, растения популяции П2 были в 1.7 раз более продуктивными по сравнению с популяцией П1 (рис. 16).

В условиях умеренного осмотического стресса у *А. verrucifera* накопление сухой биомассы не отличалось от контроля (рис. 1а). У двух популяций *А. tatarica* установлены различия: если растения П1 в условиях осмотического стресса снижали сухой вес на 30%, то растения П2 – в 2.2 раза (рис. 16). Таким образом, выявленные различия между популяциями C₄-вида *А. tatarica* показывают, что П1 характеризуется меньшей продуктивностью, но большей устойчивостью к осмотическому стрессу, а П2 – наоборот, является более продуктивной, но менее устойчивой популяцией. У *S. sedoides* в условиях слабого осмотического стресса обе популяции снижали сухую биомассу примерно в 2 раза (рис. 1в).

Исследование CO₂/H₂O газообмена при разных концентрациях CO₂ (400 и 200 ppm) у C₃-вида (Atriplex verrucifera) в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса

Использование низкой концентрации CO₂ позволяет исследовать устьичный и метаболический вклад в засухоустойчивость вида, т.к. стимулирует открытие устьиц, а также дает возможность оценить чувствительность устьичного аппарата в целом. При снижении концентрации

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ том 67 № 3 2020



Рис. 1. Сухая биомасса надземной части растений С₃вида (*Atriplex verrucifera*) (a), растений из двух популяций П1 (*I*) и П2 (*2*) С₄-вида *Atriplex tatarica* (б) и двух популяций М (*I*) и П (*2*) С₃-С₄-вида *Sedobassia sedoides* (в) в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса. Достоверные различия на уровне P < 0.05 отмечены разными буквами.

 CO_2 в измерительной камере до 200 ppm в контрольных условиях ассимиляция CO_2 (интенсивность видимого фотосинтеза, A) у C_3 -вида (*A. verrucifera*) снижалась в 9 раз (рис. 2а). Такое значительное снижение связано как с устьичной, так и с метаболической компонентами. Устьичная компонента снижалась в 2 раза, поскольку наблюдалось 2-кратное снижение интенсивности транспирации при снижении концентрации CO_2 в измерительной камере (рис. 2б). Метаболическая компонента, как правило, связана с активностью



Рис. 2. Параметры CO_2/H_2O газообмена при разных концентрациях CO_2 у C_3 -вида (*A. verrucifera*) в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса: (а) – интенсивность видимого фотосинтеза, A; (б) – транспирация, E; (в) – темновое дыхание, Rd; (г) – эффективность использования воды, WUE. *I* – 400 ppm CO_2 ; *2* – 200 ppm CO_2 . Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне P < 0.05.

ферментов цикла Кальвина и в данном случае снижалась в 2 раза при 2-кратном снижении концентрации CO₂.

При действии умеренного осмотического стресса в условиях нормальной концентрации СО₂ (400 ppm) наблюдалось небольшое возрастание WUE (рис. 2г), что связано с увеличением интенсивности видимого фотосинтеза в 1.4 раза (рис. 2а). При этом интенсивность транспирации не изменялась, т.е. устьица проявляли нечувствительность к осмотическому стрессу (рис. 26). Увеличение интенсивности видимого фотосинтеза не сказалось на продуктивности (рис. 1а) и это, вероятно, связано с тем, что дополнительные ассимиляты диссипировались в ходе усиленного темнового дыхания (рис. 2в). Таким образом, для С₃-вида была характерна высокая чувствительность устьиц при низкой концентрации СО2, хотя и имела место не совсем характерная реакция, а именно закрытие устьиц. При этом в условиях осмотического стресса устьица проявляли нечувствительность.

Исследование CO₂/H₂O газообмена при разных концентрациях CO₂ (400 и 200 ppm) на примере двух популяций C₄-вида (Atriplex tatarica) в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса

У С₄-вида (*A. tatarica*) интенсивность видимого фотосинтеза была выше, чем у С₃-вида (*A. verrucifera*) (рис. 2а, 3а). В контрольных условиях при снижении концентрации CO₂ в измерительной камере до 200 ppm ассимиляция CO₂ у С₄-вида снижалась в П1 почти в 1.7 раз, в П2 — более чем в 2 раза (рис. 3а, д). Данное снижение обусловлено, в первую очередь, метаболической компонентой. Ожидаемое усиление транспирации при 200 ppm, связанное с искусственным открытием устьиц [13], произошло только в П2 (рис. 2е). У П1 устьи-



Рис. 3. Параметры CO_2/H_2O газообмена при разных концентрациях CO_2 у растений популяции П1 (a–r) и популяции П2 (д–з) C_4 -вида (*Atriplex tatarica*) в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса: (a, д) – интенсивность видимого фотосинтеза, А; (б, е) – транспирация, Е; (в, ж) – темновое дыхание, Rd; (г, з) – эффективность использования воды, WUE. *1* – 400 ppm CO_2 ; *2* – 200 ppm CO_2 . Достоверные различия (на уровне *P* < 0.05) внутри популяций отмечены разными латинскими буквами, между популяциями – звездочкой.

ца проявляли нечувствительность к низкой концентрации CO_2 (рис. 36). Можно предположить, что степень рассогласования компонентов энергетического и водного обмена и диссипации энергии у П1 при 200 ррт была ниже, чем у П2, поскольку колебания интенсивности темнового дыхания и снижение WUE было выражено в меньшей степени, чем у П2 (рис. 3в, г, ж, 3).

При действии умеренного осмотического стресса в условиях нормальной концентрации CO_2 (400 ppm) интенсивность видимого фотосинтеза в П1 не изменялась, а в П2 имело место достоверное снижение (рис. 3а, д), которое в значительной степени связано с закрытием чувствительных устьиц, поскольку транспирация в условиях осмотического стресса снижалась в 1.7 раз по сравнению с контрольным вариантом (рис. 3е). Изменение интенсивности видимого фотосинтеза в условиях ПЭГ-индуцированного стресса у П2 отразилось на продуктивности (рис. 16).

Таким образом, растения из двух исследуемых популяций С₄-вида продемонстрировали разные способы поддержания СО₂/H₂O газообмена листьев. Популяция П1 оказалась более устойчивой: в условиях осмотического стресса и низкой концентрации СО₂ (200 ррт) она характеризовалась нечувствительностью устьичного аппарата (рис. 3а, 3б). Снижение ассимиляции СО₂ почти в 2 раза при 200 ррт связано с метаболической компонентой. Вторая популяция П2 в контрольных условиях была более продуктивной по интенсивности фотосинтеза (рис. 3д) и накоплению сухой биомассы (рис. 1б). При действии 200 ррт устьица проявили чувствительность, наблюдалось их открытие (рис. 3е). Происходящее при этом снижение ассимиляции СО2 более чем в 2 раза связано, в первую очередь, с метаболической компонентой и недостатком в камере СО₂. Слабая устойчивость растений П2 к осмотическому стрессу проявилась через снижение интенсивности видимого фотосинтеза, главным образом, за счет устьичной составляющей, поскольку в данной популяции поддержание водного статуса листьев достигалось путем закрытия устьиц.

Исследование CO₂/H₂O газообмена при разных концентрациях CO₂ (400 и 200 ppm) на примере двух популяций промежуточного C₃-C₄- вида (Sedobassia sedoides) в условиях умеренного ПЭГ-индуцированного осмотического стресса

Интенсивность видимого фотосинтеза (A) при низкой концентрации CO_2 (200 ppm) в контрольных условиях снижалась у популяции M в 2 раза, а у популяции П – в 3 раза (рис. 4а, 4д), т.е. реакция растений на низкую концентрацию CO_2 у C_3 – C_4 -вида была подобной реакции C_4 -вида, несмотря на разную природу УКМ: у C_4 – ас-

партатный, а у C_3-C_4 — фотодыхательный. При этом абсолютные значения А были ниже у C_3-C_4 -вида (рис. За, Зд; 4а, 4д). Интенсивность транспирации при 200 ppm снижалась приблизительно в 2 раза в обеих популяциях, т.е. устьица проявляли чувствительность и закрывались (как у растений C_3 -вида *A. verrucifera*). Таким образом, снижение интенсивности видимого фотосинтеза у растений популяции M связано, в первую очередь, с устьичной составляющей, а у растений П — как с устьичной, так и с метаболической компонентами.

В условиях умеренного осмотического стресса при нормальной концентрации СО₂ (400 ppm) интенсивность видимого фотосинтеза у растений популяции М достоверно не изменялась, а у растений популяции П снижалась в 3 раза (рис. 4а, 4д). Снижение ассимиляции СО₂ у растений популяции П связано, в первую очередь, с закрытием устьиц, поскольку интенсивность транспирации при этом снижалась (относительно контрольного варианта) более чем в 2 раза (рис. 4е). У растений популяции М транспирация изменялась в меньшей степени (на 25%), т.е. устьица проявляли слабую чувствительность к ПЭГ-индуцированному стрессу (похожая реакция была у популяции П1 С₄-вида). У растений обеих популяций наблюдалась вариабельность темного дыхания (рис. 4в, ж). Популяции С₃-С₄-вида характеризовались самыми низкими значениями WUE (в контроле). При этом у растений популяции М эффективность использования воды не реагировала на низкую концентрацию СО₂ и на умеренный осмотический стресс, в то время как у растений популяции П при 200 ррт она снижалась в 2 раза, т.к. устьица проявляли чувствительность (рис. 4г, з). Таким образом, С₃-С₄-вид демонстрировал черты, сходные как с С₃-, так и с С₄-видами.

Содержание пролина у С₃-, С₄- и С₃--С₄-видов сем. Chenopodiaceae в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса

Самые низкие значения содержания пролина в контроле были у C_3 -вида *A. verrucifera* (рис. 5а), а воздействие умеренного осмотического стресса на него не выявило достоверных изменений. Содержание пролина у C_4 -вида *A. tatarica* в контроле было почти в 10 раз выше по сравнению с *A. verrucifera* (рис. 5а, б). В условиях осмотического стресса растения популяции П1 продемонстрировали возрастание содержания пролина в 1.5 раза, а в популяции П2 – на 20% (рис. 5б). У растений популяции М промежуточного C_3 - C_4 -вида *S. sedoides* содержание пролина в контроле было в 1.4 раза выше, чем у популяции П, и не изменялось в условиях ПЭГ-индуцированного осмотического стресса (рис. 5в). У растений популяции П



Рис. 4. Параметры CO_2/H_2O газообмена у растений популяции М (а–г) и популяции П (д–з) промежуточного C_3-C_4 -вида (*Sedobassia sedoides*) при разных концентрациях CO_2 в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса: (а, д) – интенсивность видимого фотосинтеза, А; (б, е) – транспирация, Е; (в, ж) – темновое дыхание, Rd; (г, з) – эффективность использования воды, WUE. *1* – 400 ppm CO_2 ; *2* – 200 ppm CO_2 . Достоверные различия (на уровне *P* < 0.05) внутри популяций отмечены разными латинскими буквами, между популяциями – звездочкой.

наблюдалось возрастание содержания пролина более чем в 2 раза в условиях стресса.

Эффективность ФС I и активность циклического транспорта электронов у C₃-, C₄- и C₃-C₄-видов сем. Chenopodiaceae в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса

Измерения ФС I показали, что значения времени выхода кинетической кривой окисления Р700 на плато у растений исследуемых видов отличались. У растений C_3 -вида, популяции П2 C_4 -вида и популяции П промежуточного C_3 - C_4 -вида этот показатель в условиях осмотического стресса не изменялся (рис. 6). У растений популяции П1 C_4 -вида наблюдалось его возрастание в условиях осмотического стресса в 1.7 раз (рис. 66), а у популяции М C_3 - C_4 -вида – в 1.6 раз (рис. 68).

ОБСУЖДЕНИЕ

Открытие или закрытие устьиц у растений обусловлено совокупностью действующих внешних и внутренних сигналов [18], а также чувствительностью устьиц, которая различается у разных видов [19]. Как известно, устьица открываются в ответ на свет (исключение составляют устьица САМ растений), низкую концентрацию СО₂, высокую температуру и низкий уровень дефицита давления пара, в то время как закрытие стимулируется низким освещением или темнотой, высоким уровнем CO_2 и дефицита давления пара [20]. Использование низкой концентрации СО2 в эксперименте при измерении СО₂/H₂O газообмена позволяет искусственно управлять открытием устьиц, оценивать устьичный и метаболический вклад в засухоустойчивость, тестировать чувствительность устьичного аппарата к внешним воздействиям [8, 13].

Используемый в нашей работе C₃-вид A. verrucifera является засухоустойчивым (ксерогалофитом), имеет черты суккулентности [15], характеризуется низкой скоростью роста. При концентрации СО₂ 200 ррт ожидаемого усиления транспирации, обусловленного искусственным открытием устьиц, характерного для С₃-растений [13], в нашем эксперименте не произошло. Имело место существенное снижение транспирации в 2 раза. что свидетельствует о высокой чувствительности устьиц и их быстром закрытии у С₃-вида (рис. 2б). Хотя эта реакция не характерна для С₃-вида, тем не менее, подобные результаты были ранее получены на пшенице [13]. У А. verrucifera при низкой концентрации СО₂ наблюдались большие колебания интенсивности темнового дыхания и снижение WUE (в 5 раз), что свидетельствует о рассогласовании процессов СО₂/H₂O газообмена (рис. 2в, г).



Рис. 5. Содержание пролина у растений С₃-вида (*Atriplex verrucifera*) (а), растений из двух популяций П1 (*1*) и П2 (*2*) С₄-вида *Atriplex tatarica* (б) и двух популяций М (*1*) и П (*2*) С₃-С₄-вида *Sedobassia sedoides* (в) в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса. Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне P < 0.05.

Таким образом, для C_3 -вида *A. verrucifera* характерна высокая чувствительность устьиц к низкой концентрации CO_2 и слабая чувствительность к умеренному осмотическому стрессу.

Как известно, C₄-растения имеют метаболические преимущества по сравнению с C₃-видами, благодаря наличию углерод-концентрирующего механизма, одного из наиболее конвергентных

307

эволюционных явлений в биологическом мире. Считается, что в ходе формирования С₄ фотосинтеза УКМ возник как минимум в 66 независимых эволюционных линиях [11]. Эволюционное развитие С₄-линий в течение 30 млн лет осуществлялось при относительно низких атмосферных концентрациях СО₂, примерно, в 2 раза ниже современного уровня, что привело к снижению проводимости устьиц, их более низкой чувствительности (более медленные реакции устьиц на затенение) и более высокой абсолютной эффективности использования воды, что в результате обеспечило преимущество С₄-видов по сравнению с С₃-растениями [13]. С целью выявления причин слабой засухоустойчивости С₄-растений и анализа вклала отлельных составляющих энергетического обмена в процессе адаптации исследовали действие умеренного осмотического стресса на рост, СО₂/H₂O газообмен листьев растений двух контрастных по продуктивности популяций (П1 и П2) ксерогалофита A. tatarica (С4 НАД-МЭ тип). Данные популяции в естественных условиях произрастания достоверно различались более чем в 2 раза по длине побегов (21 ± 0.8 и 48 ± 3.3 см) и в 10 раз по сырой и сухой биомассе $(0.9 \pm 0.1 \text{ и})$ 13.7 ± 3.0 г; 0.3 ± 0.01 и 2.9 ± 0.62 г, соответственно) [15]. При проведении модельных экспериментов в лабораторных условиях в ходе исследования влияния ПЭГ-индуцированной засухи на морфофизиологические параметры. были выявлены достоверные различия между исследуемыми популяциями. Так, в контрольных условиях более продуктивной по накоплению сухой биомассы была популяция П2 по сравнению с П1 (рис. 1б). В условиях умеренного осмотического стресса популяция П2 проявляла меньшую устойчивость и снижала накопление сухой биомассы в 2.2 раза. У менее продуктивной популяции П1 снижение ростовых параметров в условиях осмотического стресса было выражено в меньшей степени (на 30%). Таким образом, выявленные различия между популяциями C₄-вида A. tatarica показывают, что популяция П1 характеризуется меньшей продуктивностью, но большей устойчивостью к осмотическому стрессу, а П2, наоборот, является более продуктивной, но менее устойчивой популяцией (рис. 1б).

Растения из двух исследуемых популяций C_4 -вида продемонстрировали разные способы поддержания CO_2/H_2O газообмена листьев в условиях осмотического стресса и низкой концентрации CO_2 (200 ppm). Популяция П1 оказалась более устойчивой и характеризовалась нечувствительностью устьичного аппарата (рис. 3а, б). Снижение ассимиляции CO_2 при концентрации 200 ppm связано с метаболической компонентой, т.е. со снижением активности ферментов цикла Кальвина, вызванного нехваткой основного ресурса. У более



Рис. 6. Эффективность ФС I у растений С₃-вида (*Atriplex verrucifera*) (а), растений из двух популяций П1 (*I*) и П2 (*2*) С₄-вида *Atriplex tatarica* (б) и двух популяций М (*I*) и П (*2*) С₃–С₄-вида *Sedobassia sedoides* (в) в условиях ПЭГ-индуцированного умеренного осмотического стресса. Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне P < 0.05.

продуктивной (по интенсивности фотосинтеза и накоплению сухой биомассы), но менее устойчивой популяции П2 при действии 200 ppm CO_2 наблюдалось открытие устьиц, т.е. устьица проявляли чувствительность. Снижение ассимиляции CO_2 при этом также связано с метаболической компонентой. Слабая устойчивость к осмотическому стрессу проявлялась через снижение интенсивности видимого фотосинтеза, в первую очередь за счет устьичной составляющей, поскольку в популяции П2 поддержание водного

баланса листьев при стрессе достигалось путем закрытия устьиц. Таким образом, растения из менее устойчивой популяции П2 продемонстрировали высокую чувствительность устьиц, высокую степень рассогласования и диссипации, которая проявлялась в виде колебания интенсивности темнового дыхания при действии низкой концентрации CO_2 (рис. 3ж).

В условиях осмотического стресса у более устойчивой популяции A. tatarica имело место снижение водного потенциала (неопубликованные данные), усиление циклического транспорта электронов ФС I и увеличение содержания пролина. На С₄-растениях рода *Flaveria* установлено, что С₄-виды проявляют более высокую активность циклического переноса электронов, чем С₃-растения [21]. Это связано с тем, что у данных растений функционально активны как C₃-, так и С₄-цикл, что приводит к повышению энергетической стоимости ассимиляции СО2 по сравнению с С₃-видами. Как следствие, две дополнительные молекулы АТФ требуются для каждой молекулы CO₂, фиксированной в результате действия С₄-цикла. Предполагается, что дополнительные молекулы АТФ производятся с помощью циклического транспорта электронов ФС I, что способствует генерации градиента рН на тилакоидной мембране без образования НАД Φ ·Н [21]. В наших исследованиях показано, что в условиях осмотического стресса у популяции П1 A. tatarica наблюдалось значительное увеличение содержания пролина (рис. 5б) и возрастание эффективности ФС I (рис. 6б). Можно предположить, что главным фактором поддержания водного баланса листа при стрессе у данной популяции является снижение водного потенциала в подустьичной полости при участии пролина в условиях постоянной транспирации. Источником дополнительной энергии может быть циклический транспорт электронов ФС І. Таким образом, сравнивая C₃- и C₄-виды сем. *Chenopodiaceae* можно сказать, что при низкой и нормальной концентрациях СО2 С4-виды имеют преимущества по сравнению с С3-видами из-за высокой интенсивности ассимиляции СО2, более низкой чувствительности устьиц и более высокой абсолютной эффективности использования воды. У П1 – менее продуктивной, но более устойчивой С₄-популяции – высокие значения эффективности использования воды свидетельствуют о более высоком уровне согласования CO₂ и H₂O газообмена листьев. Как следует из изменений интенсивности темнового дыхания (повышенный уровень вариабельности), более высокий уровень рассогласования и диссипации у С3-видов имеет место в условиях низкой концентрации CO₂ и умеренного осмотического стресса, у С₄-видов – при низкой концентрации СО₂.

Интересной и перспективной моделью изучения возникновения и эволюционного преобразования С₄-пути являются промежуточные С₃-С₄-вилы. Показано, что одним из путей формирования углерод-концентрирующего механизма является видоизменение фотодыхания [11], направленное на возвращение фотодыхательного СО2, количество которого в условиях засухи и высокой температуры очень высоко [22]. Данный фотодыхательный углеродный насос, так называемый "С2-фотосинтез", использует фотодыхательный шаттл глицина для концентрирования СО₂ в клетках обкладки [11]. С₂-фотосинтез рассматривается как "эволюционный мост" между С₃- и С₄-растениями [12]. Данный путь на сегодняшний день показан и изучен на основе филогенетического анализа гликофитов рода *Flaveria* (сем. *Asteraceae*) [11, 23]. С₃-С₄-виды подразделяются на отдельные подтипы, соответствующие последовательным этапам С₄-эволюции: C_3 – прото-Кранц – C_2 (I и II тип) – C_4 -подобные – С₄ [11], и отражающие степень формирования С₄-углерод-концентрирующего механизма. Промежуточные C₃-C₄-виды с C₂-фотосинтезом определены также в сем. Chenopodiaceae [11]. В частности, представителем данного семейства является ксерогалофит Sedobassia sedoides (синоним *Bassia sedoides*), который был отнесен к C_3-C_4 промежуточным видам на основе анатомических особенностей [24], а также анализа газообмена и иммунолокализации глициндекарбоксилазы [25].

Paнee на примере двух популяций S. sedoides нами была показана генетическая пластичность в стрессовых условиях, которая проявлялась во внутривидовых различиях в устойчивости к осмотическому стрессу [26] и к засолению [27, 28]. С целью изучения механизмов засухоустойчивости на разных этапах формирования С₄-фотосинтеза в процессе эволюции мы исследовали две популяции М и П промежуточного C_3-C_4 -вида (S. sedoides), отличающиеся по продуктивности и устойчивости в естественных условиях произрастания. Предварительные эксперименты показали, что растения популяции М более продуктивны и устойчивы, а растения популяции П – низкопродуктивны и менее устойчивы [28]. В настоящих экспериментах при низкой концентрации СО2 обе популяции S. sedoides продемонстрировали связанное с метаболической и устьичной компонентами снижение интенсивности видимого фотосинтеза у растений популяции М в 2 раза, популяции П – в 3 раза. У обеих популяций наблюдалось рассогласование СО₂ обмена, что проявлялось в вариабельности темнового дыхания. Однако растения популяции М проявляли большую стабильность, так как у них WUE изменялось незначительно. У растений популяции П снижение WUE при низкой концентрации CO₂ свидетельствова-

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВКЛАДА КОМПОНЕНТОВ

Таблица 1. Сравнительная оценка вклада составляющих CO_2/H_2O обмена: видимого фотосинтеза, транспирации, темнового дыхания в механизмы засухоустойчивости, а также данные по биомассе, содержанию пролина, эффективности циклического транспорта электронов у C_3 - (*Atriplex verrucifera*), C_4 - (*A. tatarica*) и промежуточного C_3-C_4 - (*Sedobassia sedoides*) видов растений сем. *Chenopodiaceae* в условиях ПЭГ-индуцированного осмотического стресса при нормальной и низкой концентрации CO_2

	Снижение устойчивости к осмотическому стрессу		
Условия и итоговый вывод			
	С ₃ -вид (Atriplex verrucifera)	С ₄ -вид (Atriplex tatarica)	
		П1 (устойчивая популяция)	П2 (неустойчивая популяция)
Низкая концентрация CO ₂ (200 ppm)	Устьица чувствительные (закрываются). Темновое дыхание вариабельно. WUE снижается в 5 раз	Устьица нечувствительные. Темновое дыхание вариабельно. WUE снижается почти в 2 раза	Устьица чувствительные (открываются). Темновое дыхание вариабельно, может возрастать в 2–3 раза (дисси- пация). WUE снижается в 3 раза
Умеренный осмотиче- ский ПЭГ-индуцирован- ный стресс (при 400 ppm CO ₂)	Сухой вес не изменяется. Устьица нечувствительные Темновое дыхание вариабельно, возрастает (диссипация). Содержание пролина не изменя- ется. Циклический транспорт ФСІ не изменяется или снижается [29]. WUE не изменяется	Сухой вес снижается на 30%. Устьица нечувствительные. Водный потенциал снижается [не опубликованные данные]. Содержание пролина увеличива- ется в 1.5 раза. Циклический транспорт ФСІ уси- ливается в 1.7 раза. WUE не изменяется	Сухой вес снижается в 2 раза. Устьица чувствительные (закрыва- ются). Водный потенциал не изменяется [не опубликованные данные]. Содержание пролина увеличива- ется на 20%. Циклический транспорт ФС I не изменяется. WUE не изменяется
		С ₃ -С ₄ -вид	
		(Sedobassia sedoides)	
	-	Популяция М	Популяция П
Низкая концентрация CO ₂ (200 ppm)		Устьица чувствительные (закрыва- ются). WUE не изменяется	Устьица чувствительные (закрыва- ются). WUE снижается в 2 раза
Умеренный осмотиче- ский ПЭГ -индуцирован- ный стресс (при 400 ppm CO ₂)		Сухой вес снижается в 1.7 раза. Устьица менее чувствительные. Транспирация снижается на 20%. Темновое дыхание вариабельно. Содержание пролина высокое в контроле и не изменяется при осмо- тическом стрессе. Циклический транспорт ФС I уси- ливается в 1.6 раза. WUE не изменяется	Сухой вес снижается в 2 раза. Устьица более чувствительные (закрываются). Транспирация снижается в 2 раза. Темновое дыхание более вариа- бельно. Содержание пролина увели- чивается в 2 раза. Циклический транспорт ФСІ не изменяется. WUE не изменяется
Итоговый вывод о меха- низмах устойчивости:	Засухоустойчивый С ₃ -вид. Сукку- лентный. Устьица чувствительные к низкой концентрации СО ₂ и нечув- ствительные к осмотическому стрессу. Излишки энергии диссипи- руются через темновое дыхание	Несмотря на разную природу УКМ, у C ₄ - (аспартатный), у C ₃ C ₄ - (фотодыхательный) видов, механизмы устойчивости у устойчи- вых популяций сходны: устьица менее чувствительные к осмотиче- скому стрессу. Фактором поддержа- ния водного баланса листьев при стрессе может быть снижение вод- ного потенциала в подустьичной полости у C ₄ -растений при участии пролина в условиях постоянной транспирации. Источником допол- нительной энергии может быть цик- лический транспорт электронов ФС I	У неустойчивых популяций C ₄ - и C ₃ -C ₄ -видов в условиях осмотиче- ского стресса стабилизация водного баланса листьев достигается закры- ванием более чувствительных устьиц. Темновое дыхание вариа- бельно (результат метаболического и энергетического рассогласова- ния). Излишки энергии диссипиру- ются через темновое дыхание

Примечание. А – интенсивность видимого фотосинтеза, Е – интенсивность транспирации, WUE – эффективность использования воды. М – популяция Макан, П – популяция Подольск.

ло о значительном снижении ассимиляции CO₂ в большей степени за счет метаболической компоненты, в отличие от растений популяции М.

Сравнительная оценка вклада отдельных составляющих энергетического обмена: фотосистемы I и циклического транспорта электронов, видимого фотосинтеза, темнового дыхания у C_3 - (*Atriplex verrucifera*), C_4 - (*A. tatarica*) и промежуточного C_3 -- C_4 - (*Sedobassia sedoides*) видов сем. *Chenopodiaceae* в процесс адаптации к ПЭГиндуцированному осмотическому стрессу представлена в таблице 1. Подводя итог сравнительного анализа механизмов устойчивости у представителей разных видов, отличающихся типом фотосинтетического метаболизма, в условиях осмотического стресса можно сформулировать следующие выводы (табл. 1):

1. В условиях осмотического стресса С₃-вид данного семейства проявил черты засухоустойчивости, суккулентности и характеризовался нечувствительными устьицами. Излишки энергии диссипировались через темновое дыхание.

2. Несмотря на разную природу УКМ (у C_4 -вида – аспартатный, у C_3-C_4 – фотодыхательный), механизмы устойчивости у устойчивых популяций подобны: устьица в меньшей степени чувствительны к осмотическому стрессу. Важным фактором поддержания водного баланса клеток листа при стрессе был пролин. Источником дополнительной энергии может быть циклический транспорт электронов ФС I.

3. У неустойчивых популяций С₄- и С₃--С₄-видов в условиях осмотического стресса стабилизация водного баланса листьев достигалась закрыванием устьиц. Темновое дыхание было вариабельно (результат метаболического и энергетического рассогласования) и участвовало в диссипации излишней энергии.

Итак, главной причиной слабой засухоустойчивости некоторых популяций C_4 -ксерогалофитов сем. *Chenopodiaceae* является различие в способах поддержания водного баланса листьев. У неустойчивых популяций C_4 - и C_3 - C_4 -видов в условиях осмотического стресса отсутствует механизм стабилизации водного обмена листьев, который есть у устойчивых популяций с C_4 - и C_3 - C_4 -типом фотосинтеза и, несмотря на разную природу УКМ, имеет общие черты. Таким образом, в процессе эволюции совершенствовались УКМ (от фотодыхательного C_3 - C_4 к нормальному C_4) и механизм стабилизации H_2O обмена.

Работа выполнена при поддержке проекта Российского фонда фундаментальных исследований № 17-04-00853-а.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит какихлибо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ashraf M., Harris P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview // Photosynthetica. 2013. V. 51. P. 163. https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6
- 2. *Рахманкулова* 3.Ф. Взаимосвязь фотосинтеза и дыхания целого растения в норме и при неблагоприятных внешних условиях // Журн. общей биологии. 2002. Т. 63. № 3. С. 44.
- 3. *Frole K., Gilbert M.* Differences in drought sensitivities and photosynthetic limitations between co-occurring C₃ and C₄ (NADP-ME) Panicoid grasses // Ann. Bot. 2010. V. 105. P. 493. https://doi.org/10.1093/aob/mcp307
- Way D.A., Katul G.G., Manzoni S., Vico G. Increasing water use efficiency along the C₃-to-C₄ evolutionary pathway: A stomatal optimization perspective // J. Exp. Bot. 2014. V. 65. P. 3683. https://doi.org/10.1093/jxb/eru205
- 5. *Haxeltine A., Prentice I.C.,* BIOME3: An equilibrium terrestrial biosphere model based on ecophysiological constraints, resource availability, and competition among plant functional types // Global Biogeochem. Cycles. 1996. V. 10. P. 693.
- Sage R.F., McKown A.D. Is C₄ photosynthesis less phenotypically plastic than C₃ photosynthesis? // J. Exp. Bot. 2006. V. 57. P. 303. https://doi.org/10.1093/jxb/erj040
- Ghannoum O. C₄ photosynthesis and water stress // Ann. Bot. 2009. V. 103. P. 635. https://doi.org/10.1093/aob/mcn093
- Osborne C.P., Sack L. Evolution of C₄ plants: A new hypothesis for an interaction of CO₂ and water relations mediated by plant hydraulics // Phil. Trans. R. Soc. B. 2012. V. 367. P. 583. https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0261
- Shabala S. Learning from halophytes: Physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops // Ann. Bot. 2013. V. 112. P. 1209. https://doi.org/10.1093/aob/mct205
- Klughammer C., Schreiber U. Measuring P700 absorbance changes in the near infrared spectral region with a dual wavelength pulse modulation system // Photosynthesis: Mechanisms and Effects / Ed. Garab G. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. V. 5. P. 4357.
- Sage P.F., Sage T.L., Kocacinar F. Photorespiration and the evolution of X4 photosynthesis // Annu. Pev. Plant Biol. 2012. V. 63. P. 19. https://doi.ogr/ https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105511
- Khoshravesh R., Stinson C.R., Stata M., Busch F.A., Sage R.F., Ludwig M., Sage T.L. C₃-C₄ intermediacy in grasses: Organelle enrichment and distribution, glycine decarboxylase expression, and the rise of C₂ photosynthesis // J. Exp. Bot. 2016. V. 67. P. 3065. https://doi.org/10.1093/jxb/erw150
- 13. Taylor S.H., Aspinwall M.J., Blackman C.J., Choat B., Tissue D.T., Ghannoum O. CO₂ availability influences

hydraulic function of C_3 and C_4 grass leaves // J. Exp. Bot. 2018. V. 69. P. 2731. https://doi.org/10.1093/jxb/ery095

- Bellasio C., Quirk J., Buckley T.N., Beerling D.J. A dynamic hydro-mechanical and biochemical model of stomatal conductance for C₄ photosynthesis // Plant Physiol. 2017. V. 175. P. 104. https://doi.org/10.1104/pp.17.00666
- Шуйская Е.В., Рахманкулова З.Ф., Биктимерова Г.Я., Щербаков А.В., Федяев В.В., Суюндуков Я.Т., Усманов И.Ю. Эколого-физиологический анализ представителей сем. Chenopodiaceae на засоленных почвах Южного Урала // Растительные ресурсы. 2014. Т. 50. С. 614.
- Shavrukov Y. Salt stress or salt shock: Which genes are we studying? // J. Exp. Bot. 2013. V. 64. P. 119. https://doi.org/10.1093/jxb/ers316
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205.
- Blatt M.R. Cellular signaling and volume control in stomatal movements in plants // Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 2000. V. 16. P. 221. https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.16.1.221
- Lawson T. Guard cell photosynthesis and stomatal function // New Phytol. 2009. V. 181. P. 13. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02685.x
- Outlaw W.H. Jr. Integration of cellular and physiological functions of guard cells // Crit. Rev. Plant Sci. 2003. V. 22. P. 503.
 https://doi.org/10.1080/712608216
 - https://doi.org/10.1080/713608316
- Nakamura N., Iwano M., Havaux M., Yokota A., Munekage Y.N. Promotion of cyclic electron transport around photosystem I during the evolution of NADPmalic enzyme-type C photosynthesis in the genus *Flaveria* // New Phytol. 2013. V. 199. P. 832. https://doi.org/10.1111/nph.12296
- 22. *Vogan P.J., Sage R.F.* Effects of low atmospheric CO₂ and elevated temperature during growth on the gas exchange responses of C₃, C₃-C₄ intermediate, and C₄ species from three evolutionary lineages of C₄ photo-

synthesis // Oecologia. 2012. V. 169. P. 341. https://doi.org/10.1007/s00442-011-2201-z

- Sage R.F., Khoshravesh R., Sage T.L. From proto-Kranz to C₄ Kranz: Building the bridge to C₄ photosynthesis // J. Exp. Bot. 2014. V. 65. P. 3341. https://doi.org/10.1093/jxb/eru180
- 24. *Kadereit G., Freitag H.* Molecular phylogeny of Camphorosmeae (*Camphorosmoideae, Chenopodiaceae*): Implications for biogeography, evolution of C₄ photosynthesis and taxonomy // Taxon. 2011. V. 60. P. 51. https://doi.org/10.1002/tax.601006
- 25. Voznesenskaya E.V., Koteyeva N.K., Akhani H., Roalson E.H., Edwards G.E. Structural and physiological analyses in Salsoleae (*Chenopodiaceae*) indicate multiple transitions among C₃, intermediate, and C₄ photosynthesis // J. Exp. Bot. 2013. V. 64. P. 3583. https://doi.org/10.1093/jxb/ert191
- Shuyskaya E., Rakhmankulova Z., Voronin P., Kuznetsova N., Biktimerova G., Usmanov I. Salt and osmotic stress tolerance of the C₃-C₄ xero-halophyte Bassia sedoides from two populations differ in productivity and genetic polymorphism // Acta Physiol. Plant. 2015. V. 37. P. 236.
- Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Суюндуков Я.Т., Усманов И.Ю., Воронин П.Ю. Различия в устойчивости к осмотическому и ионному фактору солевого стресса двух экотипов С₃-С₄ ксерогалофита Bassia sedoides // Физиология растений. 2016. Т. 63. С. 372.
- 28. Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Воронин П.Ю., Веливецкая Т.А., Игнатьев А.В., Усманов И.Ю. Роль фотодыхания и циклического транспорта электронов в эволюции С₄ фотосинтеза на примере промежуточного С₃-С₄ вида Sedobassia sedoides // Физиология растений. 2018. Т. 65. С. 232.
- Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Воронин П.Ю., Усманов И.Ю. Сравнительное изучение устойчивости С₃ и С₄ ксеро-галофитов рода Atriplex в условиях водного дефицита и засоления // Физиология растений. 2019. Т. 66. С. 112.