

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ АККЛИМАЦИИ К ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ
НА МЕХАНИЗМЫ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ У ВИДОВ
С РАЗНЫМ ТИПОМ ФОТОСИНТЕЗА: *Sedobassia sedoides* (C₃–C₄)
И *Bassia prostrata* (C₄-НАДФ)¹

© 2023 г. Е. В. Шуйская^а, *, З. Ф. Рахманкулова^а, М. Ю. Прокофьева^а, В. В. Казанцева^а,
Н. Ф. Лунькова^а, Л. Т. Саидова^а

^а Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: evshuya@gmail.com

Поступила в редакцию 02.03.2023 г.

После доработки 30.03.2023 г.

Принята к публикации 30.03.2023 г.

Исследовали действие засухи на морфофизиологические, биохимические и молекулярно-генетические параметры растений *Sedobassia sedoides* (Pall.) Freitag & G. Kadereit с промежуточным C₃–C₄-типом фотосинтеза и *Bassia prostrata* (L.) A. J. Scott с C₄-НАДФ-типом фотосинтеза, выращенные при разных температурах (25 и 30°C). Снижение биомассы, содержания воды и эффективности квантового выхода ФС II (Φ_{ФСII}), а также усиление экспрессии гена *psbA*, кодирующего белок D1 ФС II, при действии засухи наблюдалось у обоих видов, независимо от температуры выращивания. В условиях засухи при 25°C у обоих видов наблюдалось снижение содержания фотосинтетических ферментов рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О) и фосфоенолпируваткарбоксилазы (ФЕПк), которое у *S. sedoides* сопровождалось значительным усилением экспрессии генов *rbcL* и *PPDK*. Акклимация растений *S. sedoides* к повышенной температуре приводила к усилению активности циклического транспорта электронов ФС I, а также к смягчению негативного действия засухи на световые реакции фотосинтеза (снижение NPQ) и содержание фермента ФЕПк на фоне сдвига ионного баланса за счет снижения содержания калия. *B. prostrata* проявил большую засухоустойчивость и характеризовался большей термоллабильностью фотосинтетических ферментов, изменения в содержании и соотношении которых позволили данному виду поддерживать рост в условиях засухи при разной температуре.

Ключевые слова: *Bassia prostrata*, *Sedobassia sedoides*, Chenopodiaceae, осмотический стресс, РБФК/О, ФЕПк, фотосистемы I и II, экспрессия генов

DOI: 10.31857/S0015330323600195, **EDN:** QXDQTT

ВВЕДЕНИЕ

Изменение климата является одной из самых серьезных экологических проблем. Экстремально жаркие и засушливые периоды становятся более частыми и продолжительными во всем мире, и прогнозируется их дальнейшее усиление с повышением температуры [1–3]. Засуха снижает активность фотосинтеза, содержание пигментов, ухудшает целостность мембран, осмотическую регуляцию, что ограничивает рост, развитие и урожайность растений [1]. Снижение фотосинтеза может быть следствием “устычных” или “неустычных” (метаболических) ограничений [4]. Дефицит воды ведет к снижению нециклического

транспорта электронов и фотохимической эффективности ФС II, часто за счет деградации белка D1, который является самым уязвимым среди внутренних компонентов ФС II [5]. Также осмотический стресс может вызвать активацию циклического транспорта электронов (ЦТЭ) ФС I [6]. При этом влияние засухи на экспрессию генов, кодирующих основные компоненты фотосистем, может быть как стимулирующим [7], так и подавляющим [8]. Снижение доступности CO₂ вследствие устьичных ограничений в тканях листа может вести к снижению активности ключевого фермента фотосинтеза рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О), в зависимости от интенсивности засухи и видовых различий [9]. Засуха также по-разному влияет на экспрессию генов *rbcL* и *RbcS* [3, 10], и снижение содержания РБФК/О может быть, в том числе,

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0015330323600195 для авторизованных пользователей.

следствием усиления процессов деградации белка, вызванных стрессовыми условиями. Показано, что РБФК/О может использоваться растениями как запас азота/аминокислот, который выводится из хлоропластов и хранится в вакуолях, в стрессовых условиях РБФК/О активно расщепляется протеазами и направляется в другие органы для поддержания синтеза белков [11, 12]. Вторым ключевым ферментом фотосинтеза у C_4 -видов является фосфоенолпируваткарбоксилаза (ФЕПк), изменение содержания и активности которого, в условиях засухи, сопряжено с изменением содержания и активности РБФК/О у разных видов как в сторону увеличения [13], так и в сторону понижения [14]. Показано, что внедрение гена C_4 -ФЕПк в C_3 -растения увеличивает их засухоустойчивость [15]. Еще одним важным ферментом C_4 -пути является фосфатдикиназа (PPDK), которая присутствует в хлоропластах и цитоплазме как C_4 -, так и C_3 -растений, и участвует в ассимиляции азота, синтезе жирных кислот и осмотически активных соединений [16]. Накопление данного фермента индуцируется различными абиотическими стрессами, в том числе и засухой [16].

Большинство растений независимо от типа фотосинтеза демонстрируют значительную способность приспосабливать свои фотосинтетические характеристики к температуре окружающей среды, что называется температурной акклимацией. При этом C_4 -растения, по сравнению с C_3 -видами, изначально лучше адаптированы к более высоким температурам [17]. Повышение температуры выращивания вызывает у растений увеличение оптимальной температуры фотосинтеза и делает фотосинтетический аппарат более устойчивым к тепловому стрессу [18]. Повышение устойчивости обусловлено оптимизацией работы наиболее уязвимых к увеличению температуры систем, которыми являются кислород-выделяющий комплекс в фотосистеме II (ФС II), система генерации АТФ и фиксация углерода РБФК/О из-за РБФК/О-активазы [18], в том числе за счет увеличения активности циклического транспорта электронов (ЦТЭ) ФС I для поддержания синтеза АТФ [17]. Тепловой стресс также активизирует термочувствительные ферменты и экспрессию большинства генов, участвующих в энергетическом и липидном обмене, биосинтезе пигментов и фотосинтезе [18]. Так, биохимические характеристики РБФК/О могут меняться под действием температуры, что способствует акклимации растения к изменениям температуры [19]. C_4 -растения имеют свои особенности биохимических ограничений при повышенной температуре. Показано, что скорость фиксации CO_2 РБФК/О у видов с малатным (НАДФ) C_4 -типом фотосинтеза выше при любой температуре, чем у C_3 - и промежуточных C_3 – C_4 (C_2)-видов, при этом при повышении

температуры скорость фиксации CO_2 РБФК/О у всех видов увеличивается и разница между видами с разным типом фотосинтеза также увеличивается [20, 21]. Молекулярно-генетические исследования показали, что тепловой стресс вызывает быстрое перепрограммирование экспрессии широкого спектра генов, имеющих решающее значение для снижения негативного эффекта температурного воздействия, однако до сих пор относительно мало известно об изменении экспрессии пластидного генома, хотя компоненты фотосинтетического аппарата являются основными мишенями термического повреждения [22].

Путь C_4 -фотосинтеза опирается на скоординированную систему анатомических и биохимических признаков, которые обеспечивают концентрирование CO_2 вокруг РБФК/О в клетках обкладки проводящих пучков, что предотвращает реакцию окисления РБФК/О и тем самым подавляет фотодыхание, делая C_4 -растения более успешными в открытых и теплых местообитаниях по сравнению с C_3 -видами [2, 23]. Считается, что C_4 -фотосинтез формировался постепенно у C_3 -видов через промежуточные стадии C_3 – C_4 -фотосинтеза [23, 24]. Рассматриваются четыре отдельных этапа эволюционного перехода от C_3 - к C_4 -фотосинтезу (промежуточного C_3 – C_4 -фотосинтеза): прото-Кранц – C_2 (Тип I и II) – C_4 -like фотосинтез, в ряду которых идет нарастание C_4 -особенностей [25]. При этом есть точка зрения, что C_2 -фотосинтез является стабильным эволюционным состоянием и не всегда ведет к C_4 -фотосинтезу [26, 27]. Растения с промежуточным C_3 – C_4 -фотосинтезом используют фотодыхательный углеродный насос, или глициновый челнок, для захвата CO_2 , высвобождаемого в результате фотодыхательной активности мезофилла, и транспортировки его в клетки обкладки проводящих пучков для повторного использования в цикле Кальвина. При этом происходит усиление активности циклического транспорта электронов ФС I в связи с увеличением потребности в АТФ, необходимого для функционирования глицинового челнока [24]. Наличие высокого уровня внутривидового и внутривидового фотосинтетического разнообразия и пластичности показано для разных C_3 – C_4 -видов, что усложняет определение принадлежности растений к разным типам C_2 -фотосинтеза [23, 26, 28]. В то же время, присущая C_2 -растениям физиологическая пластичность, позволяющая им обитать в широких экологических диапазонах [27]. Несмотря на общее предпочтение более теплого климата, C_2 -растения встречаются в более прохладных регионах, чем C_4 -виды [23]. Сравнительный анализ адаптации C_2 - и C_4 -растений близких видов одного семейства к повышенной температуре и засухе ранее не проводился.

Целью данной работы было изучение способности растений C_3 – C_4 (C_2)-вида *Sedobassia sedoides* и C_4 -НАДФ-вида *Bassia prostrata* к акклимации к повышенной температуре и ее влияния на устойчивость к осмотическому стрессу.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал и условия эксперимента.

Семена галофитов *Sedobassia sedoides* (Pall.) Freitag & G. Kadereit (*Bassia sedoides* (Pall.) Asch) и *Bassia prostrata* (L.) A.J. Scott (*Kochia prostrata* (L.) Schrad.) (подсемейство Chenopodiaceae) были собраны в естественных местообитаниях Прикаспийской низменности (Волгоградская область). Семена замачивали в дистиллированной воде для проращивания. 3–4-дневные проростки высаживали на перлит, пропитанный 50% раствором Хогланда. После появления настоящих листьев для оптимального роста в питательный раствор Хогланда добавляли NaCl до конечной концентрации 50 мМ. Растения выращивали в двух отдельных камерах температурой 25°C и 30°C под люминесцентными лампами при плотности потоков квантов ФАР 200 мкмоль/(м² с), 16-часовом фотопериоде. После 30 дней выращивания часть растений поливали 15.8% раствором ПЭГ6000 в течение 4 дней. Всего было 4 группы растений каждого вида: (1) контрольные растения, выращенные при 25°C без обработки ПЭГ; (2) растения, выращенные при 25°C и 4-дневной обработке ПЭГ; (3) растения, выращенные при 30°C без обработки ПЭГ; (4) растения, выращенные при 30°C и 4-дневной обработке ПЭГ.

Определение содержания воды, пролина и ионов натрия и калия. Для определения сухой биомассы растительные пробы высушивали при 80°C до постоянной массы. Содержание воды (W) рассчитывали по формуле и выражали в г H₂O/г сухой массы:

$$W = (FW - DW)/DW, \quad (1)$$

где FW – сырая биомасса, DW – сухая биомасса.

Содержание ионов натрия и калия в побегах определяли в водной вытяжке высушенных образцов (100 мг) на пламенном фотометре ФПА-2-01 (“АООТ ЗОМЗ”, Россия) и выражали в ммоль/г сухой массы.

Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива по методу Bates [29] с модификациями. В качестве анализируемых экстрактов использовали водные вытяжки высушенного и растертого материала. Результаты рассчитывали на 1 г сухой массы.

Фотосистема I. Изменение окислительно-восстановительного потенциала P700 измеряли путем мониторинга оптической плотности листьев при 820 нм с использованием dual-wavelength си-

стемы импульсной модуляции ED-P700DW (“Heinz-Walz, Effeltrich”, Германия) в сочетании с PAM-101 (“Heinz-Walz”, Германия). 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.

Фотосистема II. Определение квантового выхода флуоресценции ФС II адаптированного к темноте (20 мин) фрагмента листа осуществляли с помощью PAM-флуориметра (PAM-101, “Heinz-Walz”, Германия). Измеряли темновой максимальный квантовый выход флуоресценции ФС II (F_v/F_m). Измерение проводили с досветкой образца слабым модулированным потоком красного света, которое осуществлялось АЦПУ (PDA-100, “Walz”, Германия), преобразующим первичный сигнал от PAM-101 на компьютер со специализированным программным интерфейсом. Расчет показателей проводили на основании текущего значения минимальной (F_0) и максимальной (F_m) флуоресценции адаптированного к темноте листа по формуле:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m. \quad (2)$$

Эффективный квантовый выход фотохимии ФС II при заданной интенсивности света рассчитывали по формуле:

$$\Phi_{\text{ФС II}} = F'_q/F'_m, \quad (3)$$

где F'_q – фотохимическое тушение флуоресценции открытым реакционным центром ФС II, а F'_m – максимальная флуоресценция после световой адаптации.

Нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла (NPQ) рассчитывали по формуле:

$$NPQ = (F_m - F'_m)/F'_m. \quad (4)$$

Определение содержания белков рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О) и фосфоенолпируваткарбоксилазы (ФЕПк) с помощью вестерн-блоттинга. Тотальный белок экстрагировали из 0.2–0.5 г надземной части растения, которую измельчали в жидком азоте и 1–2 мл экстракционного буфера, содержащего 50 мМ Tris-HCl (pH 8), 10 мМ MgCl₂, 0.3 мМ ЭДТА, 2% поливинилпирролидона и 5 мМ дитиотреитол. Гомогенат центрифугировали при 12000 g в течение 15 мин при 4°C (центрифуга MiniSpin, “Eppendorf”, Германия). Содержание белка определяли по методу Бредфорд, используя бычий сывороточный альбумин (“Sigma-Aldrich”, США) в качестве стандарта.

Анализ содержания белков РБФК/О и ФЕПк проводили с помощью иммуоферментного анализа по стандартной методике [30] с использованием коммерческих поликлональных антител против

белков большой субъединицы (L) (БС) РБФК/О (RbcL, AS03037, “Agrisera”, Швеция) и ФЕПк (PEPC, AS09458, “Agrisera”, Швеция). Разделение суммарных белков (10–15 мкг тотального белка в слоте) проводили с помощью 10% денатурирующего гель-электрофореза (SDS-PAGE) по методу Laemmli [31] с использованием маркеров стандартной молекулярной массы (“BioRad”, США). После проведения электрофореза белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану (“Amersham, GE Healthcare”, Великобритания), используя прибор для мокрого блоттинга (“BioRad”, США) согласно стандартному протоколу. Белки БС РБФК/О и ФЕПк визуализировали при помощи кроличьих иммуноглобулинов, конъюгированных с флуоресцентными красителями люминолом и кумариновой кислотой (“Sigma”, США) и пленки Retina XBE (Германия). Интенсивность полос в вестерн-блоттинге оценивали с помощью программы ImageJ 1.37v (США) и выражали относительно среднего уровня ($n = 3$) для контрольных растений, который был взят за 100%. Анализ проводили не менее 3 раз.

Выделение РНК проводили фенол-хлороформной экстракцией с осаждением при помощи LiCl. Для экстракции РНК использовали смесь буфера (0.1 М LiCl, 0.1 М Трис-НCl (pH 7.5), 1% SDS, 10 мМ ЭДТА (pH 8)) с подкисленным фенолом (pH 4.5) в соотношении 1 : 1, разогретым до 90°C на водяной бане (“WB-4MS”, Biosan, Латвия). К измельченной растительной ткани (400–500 мг) добавляли экстракционную смесь в соотношении 1 : 3. Для разделения фракций использовали хлороформ (500 мкл). Пробы центрифугировали в течение 15 мин при 12000 g (MiniSpin, “Eppendorf”, Германия) при комнатной температуре. После третьего центрифугирования в супернатант добавляли 10 М LiCl до конечной концентрации 2.5 М LiCl и оставляли на ночь при 4°C. На следующий день РНК осаждали центрифугированием и промывали однократно 2 М LiCl и двукратно 80% этанолом. Осадок растворяли в 100 мкл воды, свободной от РНКаз. Концентрацию выделенной РНК определяли с помощью спектрофотометра NanoDrop 1000 (“ThermoScientific”, США). Очистку РНК от геномной ДНК проводили согласно стандартному протоколу “ThermoScientific” (США) с использованием DNase I и RiboLock (“ThermoScientific”, США).

Обратную транскрипцию проводили в два этапа. На первом этапе осуществляли отжиг праймеров для синтеза первой цепи тотальной кДНК на РНК матрице (Олиго(dT)₁₅ праймер и Random(dN)₁₀ праймер (“Евроген”, Россия)) в течение 5 мин при 65°C (термостат ТТ-2 Термит, “ДНК-Технология”, Россия). На втором этапе осуществляли обратную транскрипцию при помощи обратной транскриптазы MMLV (“Евроген”, Россия), дНТФ (“ThermoScientific”, США), добавляя RiboLock

(“ThermoScientific”, США). Концентрацию полученной кДНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoDrop 1000 (“ThermoScientific”, США).

Праймеры для ПЦР (Дополнительные материалы, табл. 1) были подобраны с использованием Pick Primers NCBI (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD) с функцией проверки специфичности пары праймеров (“Primer Pair Specificity Checking Parameters”) и SnapGene Viewer (4.2.11) на нуклеотидных последовательностях, доступных в базе NCBI: праймеры к генам *rbcL Sedobassia sedoides* (AY270063.1), *Bassia prostrata* (AY270104.1), *PPDK Bienertia sinuspersici* (MK674493.1), *psaA Bassia littorea* (OK539756.1) и *Chenopodium quinoa* (LOC32958941), *psaB C. quinoa* (LOC32958940), *psbA Bassia scoparia* (AY251266.1) и *C. quinoa* (LOC32959011), *CAB C. quinoa* (LOC110735177). В качестве референсных генов использовали *UBQ10 C. quinoa* (LOC110721034) и *b-Tubulin C. quinoa* (XM_021890176).

Проверку праймеров и определение размера ампликона проводили с помощью ПЦР (ТП4-ПЦР-01-Термик, “ДНК-Технология”, Россия) и электрофореза в 2% агарозном геле. Уровень экспрессии исследуемых генов оценивали методом ПЦР в режиме реального времени (ОТ-кПЦР) с помощью амплификатора Light Cycler96 (“Roche”, Швейцария) с использованием красителя SybrGreen I (“Евроген”, Россия). Данные по результатам ОТ-кПЦР анализировали в программе Light Cycler96 SoftwareVersion 1.1. Уровни транскриптов указаны относительно контрольных растений.

Статистический анализ. Во всех экспериментах было не менее трех биологических повторностей. Для корреляционного и факторного (ANOVA) анализа использовали программу SigmaPlot 12.0. На графиках приведены средние арифметические значения полученных величин и их стандартные ошибки. Различия считались достоверными при $P < 0.05$ (тест Тьюки). Для многофакторного анализа методом главных компонент (PCA) было использовано программное обеспечение R (версия 3.6.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Биомасса, содержание воды, пролина и ионов

В контрольных условиях растения однолетнего вида *S. sedoides* характеризовались большей биомассой, чем растения многолетнего вида *B. prostrata* (рис. 1а). В условиях засухи наблюдалось 2-кратное снижение сухой биомассы (DW) у обоих видов независимо от температуры выращивания (рис. 1а). Выращивание растений *S. sedoides* и *B. prostrata* при повышенной температуре без обработки ПЭГ не приводило к изменению накоп-

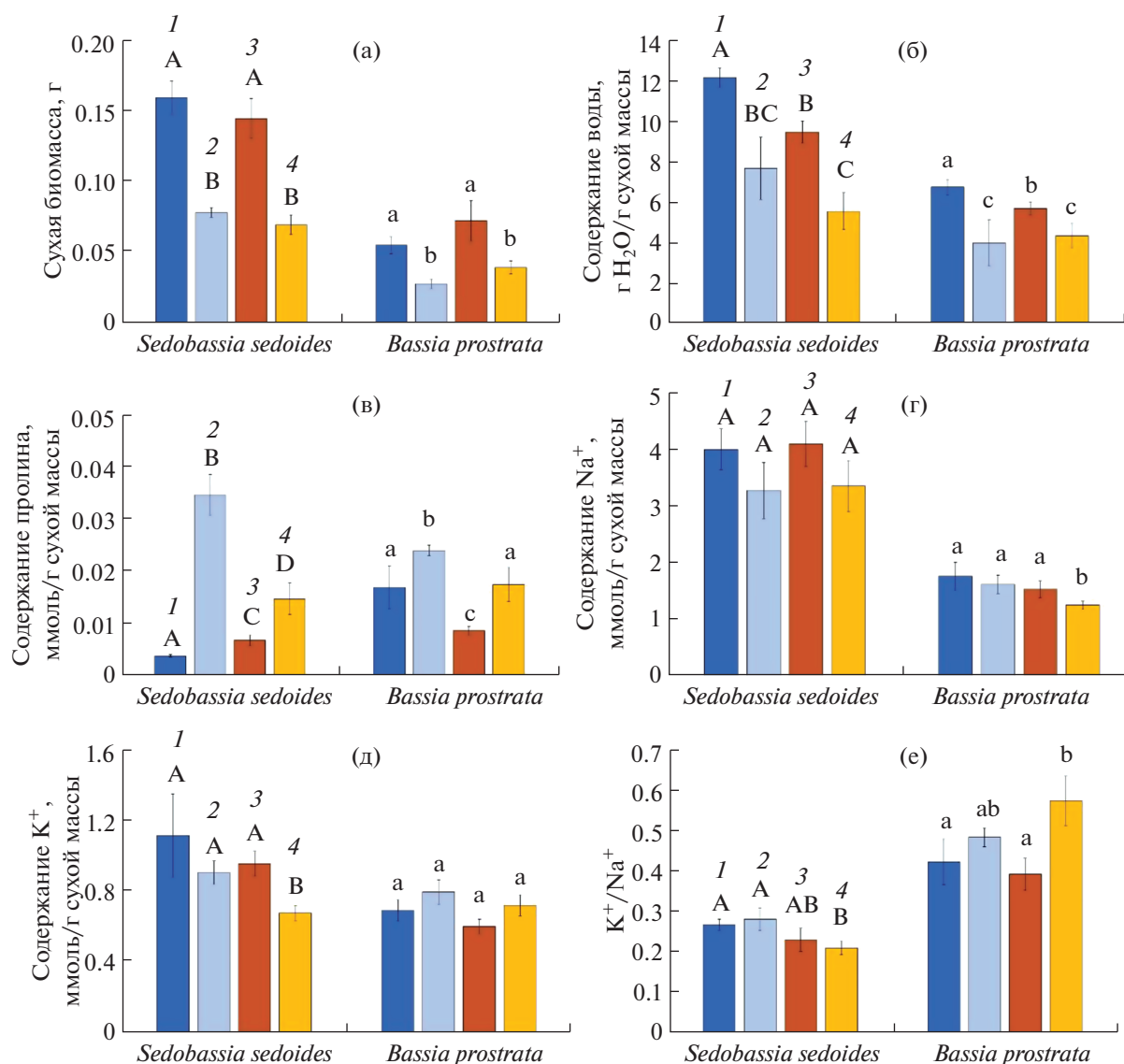


Рис. 1. Накопление сухой биомассы (а), содержание воды (б), пролина (в), ионов натрия (г) и калия (д), и отношение K^+/Na^+ (е) у растений *Sedobassia sedoides* и *Bassia prostrata*, выращенных при разных температурах и кратковременном действии ПЭГ-индуцированной засухи. (1) Контрольные растения, выращенные при 25°C без обработки ПЭГ; (2) растения, выращенные при 25°C и 4-дневной обработке ПЭГ; (3) растения, выращенные при 30°C без обработки ПЭГ; (4) растения, выращенные при 30°C и 4-дневной обработке ПЭГ. Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $P < 0.05$.

ления сухой биомассы по сравнению с контрольными растениями у обоих видов (рис. 1а).

Содержание воды (W) в побегах контрольных растений *B. prostrata* было почти в 2 раза ниже, чем в побегах растений *S. sedoides* (рис. 1б). Воздействие на растения засухой при нормальной температуре выращивания (25°C) приводило к снижению содержания воды в побегах обоих видов растений на 67–70%. В условиях повышенной температуры (30°C) без обработки ПЭГ содержание воды в побегах *S. sedoides* и *B. prostrata* было на 20–30% ниже, чем в контроле, а действие засухи при этой температуре в большей степени влияло

на снижение содержания воды в побегах *S. sedoides*, чем у растений *B. prostrata* (рис. 1б).

Содержание пролина (Pro) в побегах контрольных растений *S. sedoides* было в 4.5 раза ниже, чем в контрольных растениях *B. prostrata* (рис. 1в). В условиях засухи при 25°C у растений *S. sedoides* наблюдалось повышение содержания пролина в 9.4 раза, а у растений *B. prostrata* – в 1.4 раза. При акклимации к повышенной температуре (30°C) у растений *S. sedoides* содержание пролина повышалось почти в 2 раза, в то время как у растений *B. prostrata* происходило его 2-кратное снижение, по сравнению с контролем. Воздействие засухи

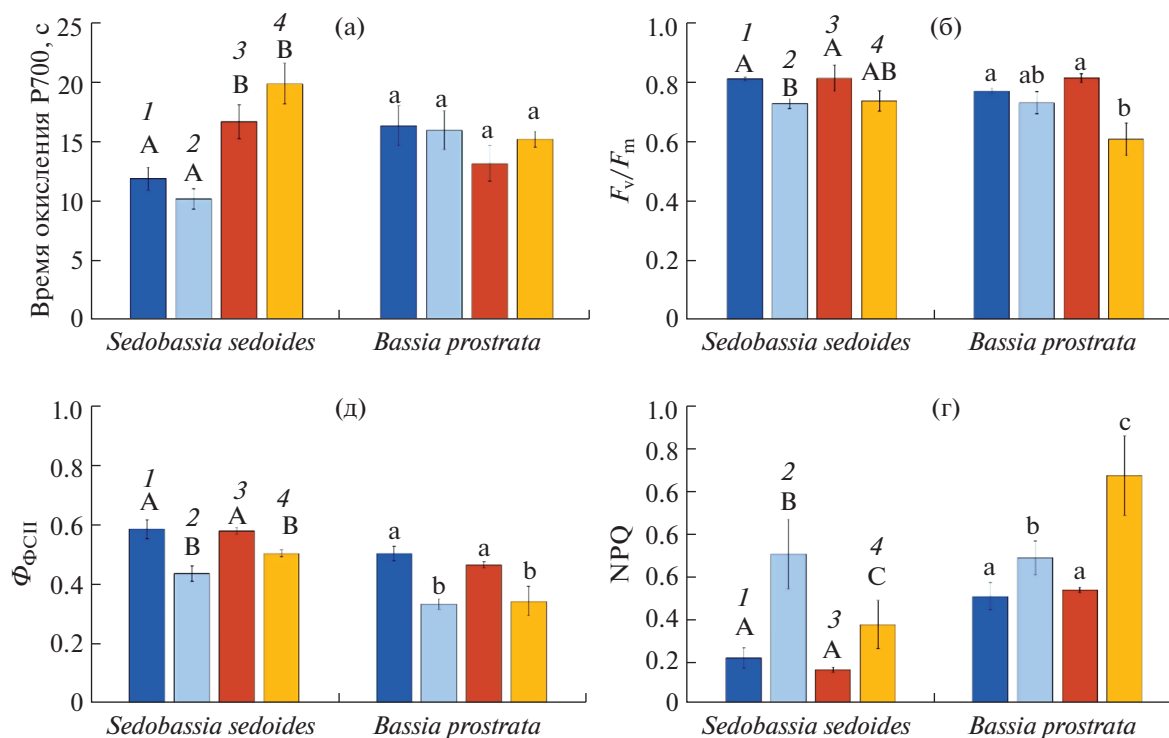


Рис. 2. Фотосинтетические параметры у растений *Sedobassia sedoides* и *Bassia prostrata*, выращенных при разных температурах и кратковременном действии ПЭГ-индуцированной засухи. (а) Активность циклического транспорта электронов ФС I; (б) максимальный квантовый выход ФС II (F_v/F_m); (в) эффективный квантовый выход фотохимии ФС II при заданной интенсивности света (Φ_{PSII}); (г) нефотохимическое тушение флуоресценции ФС II (NPQ). (1) Контрольные растения, выращенные при 25°C без обработки ПЭГ; (2) растения, выращенные при 25°C и 4-дневной обработке ПЭГ; (3) растения, выращенные при 30°C без обработки ПЭГ; (4) растения, выращенные при 30°C и 4-дневной обработке ПЭГ. Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $P < 0.05$.

после акклимации к повышенной температуре приводило к увеличению содержания пролина примерно в 2 раза (относительно растений, выращенных при 30°C без обработки ПЭГ; рис. 1в) у обоих видов.

Содержание Na^+ и K^+ в побегах контрольных растений *S. sedoides* было выше, чем в побегах контрольных растений *B. prostrata* в 2.3 и 1.6 раза соответственно (рис. 1г, д). В условиях засухи при 25°C, а также при повышенной температуре без обработки ПЭГ изменений в содержании Na^+ и K^+ в растениях обоих видов не наблюдалось. При действии засухи при 30°C достоверное снижение содержания Na^+ наблюдалось только у растений *B. prostrata* (рис. 1г), а K^+ только у растений *S. sedoides* (рис. 1д). Отношение K^+/Na^+ в побегах контрольных растений *S. sedoides* было в 1.6 ниже, чем в контрольных растениях *B. prostrata* (рис. 1е). Изменения в отношении ионов K^+/Na^+ наблюдались только в условиях засухи при 30°C как у растений *B. prostrata* (повышение в 1.5 раза относительно контрольных растений и выращенных при 30°C без обработки ПЭГ), так и у растений *S. sedoides* (снижение в 1.3 раза по сравнению с растениями, выращенными при 25°C) (рис. 1е).

Активность циклического транспорта электронов ФС I и эффективность функционирования ФС II

В контрольных условиях активность циклического транспорта электронов (ЦТЭ) ФС I у растений *S. sedoides* была ниже, чем у *B. prostrata* (рис. 2а). Засуха не оказала влияния на активность ЦТЭ при 25°C. Акклимация к повышенной температуре привела к усилению активности циклического транспорта электронов ФС I у растений *S. sedoides*, до значений, характерных для C_4 -видов, уровень которого сохранился и при действии засухи (при 30°C). У растений *B. prostrata* активность ЦТЭ оставалась постоянной при всех видах воздействия (рис. 2а).

Эффективность максимального квантового выхода фотосинтеза ФС II у растений обоих видов снижалась при воздействии засухи: у *S. sedoides* достоверно при 25°C, у *B. prostrata* при 30°C, но не изменялась при выращивании при повышенной температуре без воздействия засухи (рис. 2б). Эффективность квантового выхода (Φ_{PSII}), т.е. эффективность фотохимии ФС II при данной интенсивности освещения достоверно снижалась относительно контроля у обоих видов при действии засухи независимо от температуры выра-

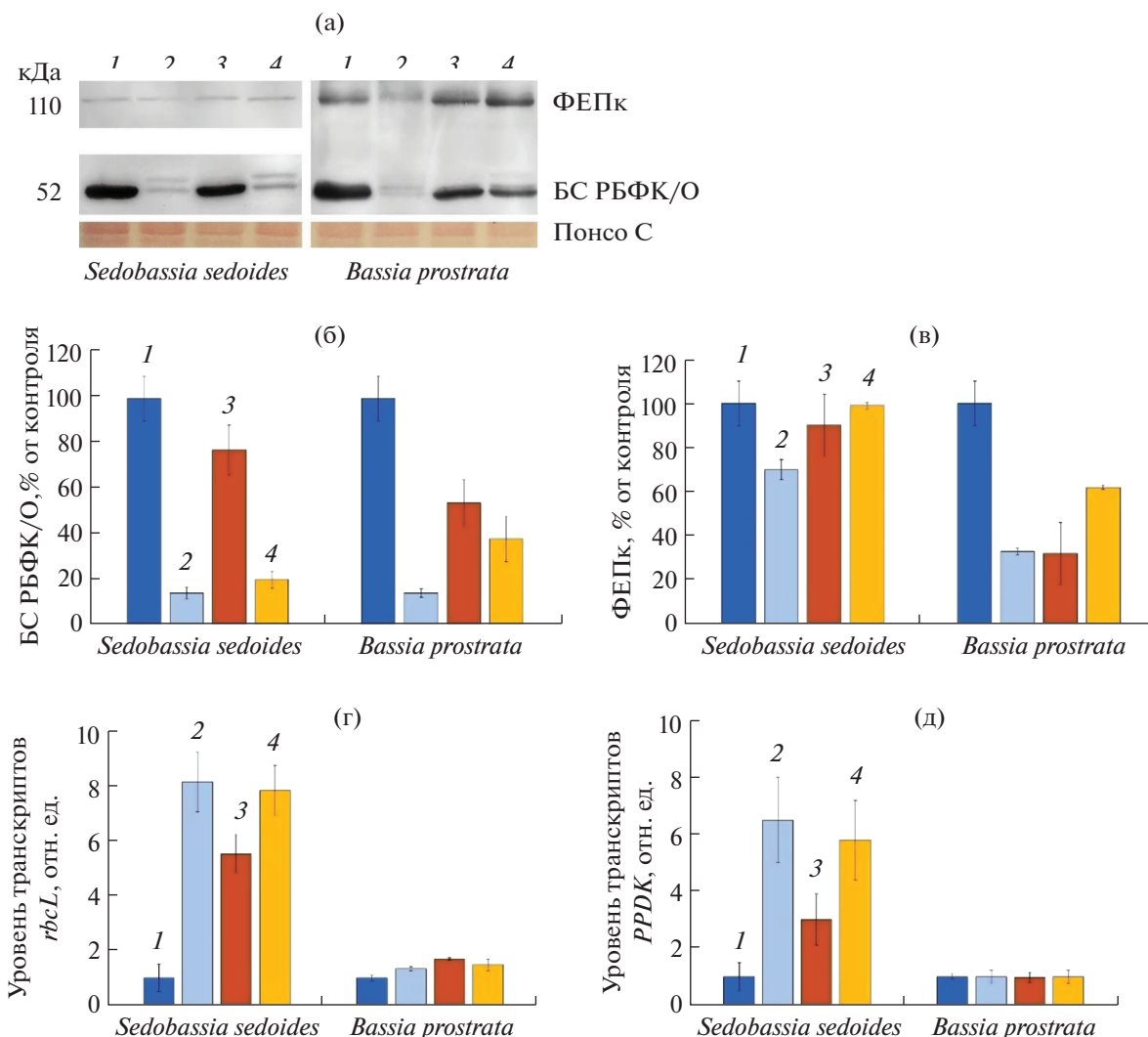


Рис. 3. Результаты вестерн-блоттинга белков БС РБФК/О (большая субъединица) (а, б), ФЕПк (а, в) и экспрессии генов *rbcL* (БС РБФК/О) (г) и *PPDK* (пируватфосфатдикиназа) (д) в побегах растений *Sedobassia sedoides* и *Bassia prostrata*, выращенных при разных температурах и кратковременном действии ПЭГ-индуцированной засухи. (1) Контрольные растения, выращенные при 25°C без обработки ПЭГ; (2) растения, выращенные при 25°C и 4-дневной обработке ПЭГ; (3) растения, выращенные при 30°C без обработки ПЭГ; (4) растения, выращенные при 30°C и 4-дневной обработке ПЭГ.

щивания (рис. 2в). Нефотохимическое тушение флуоресценции ФС II (NPQ) значительно возросло в условиях засухи: у растений *S. sedoides* больше при 25°C, а у растений *B. prostrata* больше при 30°C (рис. 2г).

Содержание фотосинтетических ферментов

При воздействии засухи у растений *S. sedoides* содержание БС РБФК/О снижалось на 80–85% независимо от температуры выращивания. У растений *B. prostrata* воздействие засухи при 25°C приводило также к снижению содержания БС РБФК/О на 85%. При акклимации к повышенной температуре содержание БС РБФК/О снижалось на 20% у *S. sedoides* и 45% у *B. prostrata* (рис. 3а, б). В

условиях засухи при повышенной температуре содержание БС РБФК/О у *B. prostrata* оставалось таким же, как при выращивании при повышенной температуре без засухи (рис. 3а, б). Содержание ФЕПк у *S. sedoides* изменялось только в условиях засухи при 25°C, тогда как у *B. prostrata* содержание ФЕПк значительно снижалось при всех вариантах воздействия. Однако при воздействии засухи при повышенной температуре содержание ФЕПк оказалось в 2 раза выше, чем при действии данных факторов по отдельности (рис. 3а, в).

Экспрессия генов фотосинтетических белков

Засуха вызывала 8-кратное увеличение накопления транскриптов гена *rbcL* у растений *S. sedoides*

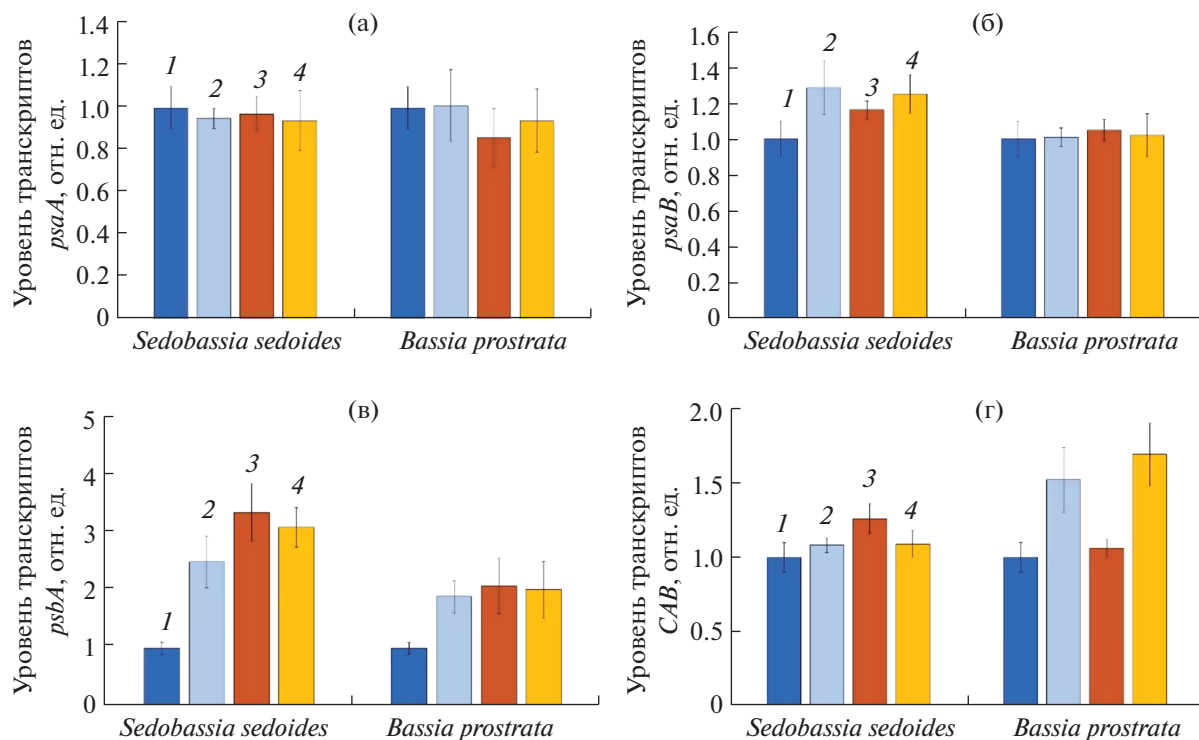


Рис. 4. Экспрессия генов *psaA* и *psaB* (апопротеины A1 и A2 ФС I) (а, б), *psbA* (белок D1 ФС II) (в) и *CAB* (хлорофилл *a/b*-связывающего белка LHCB/CAB ФС II) в побегах растений *Sedobassia sedoides* и *Bassia prostrata*, выращенных при разных температурах и кратковременном действии ПЭГ-индуцированной засухи. (1) Контрольные растения, выращенные при 25°C без обработки ПЭГ; (2) растения, выращенные при 25°C и 4-дневной обработке ПЭГ; (3) растения, выращенные при 30°C без обработки ПЭГ; (4) растения, выращенные при 30°C и 4-дневной обработке ПЭГ.

и незначительное повышение у растений *B. prostrata* независимо от температуры (рис. 3г). Аклимация к повышенной температуре привела к 6-кратному увеличению накопления транскриптов гена *rbcL* у *S. sedoides* и 70% накоплению у *B. prostrata*. Накопление транскриптов гена *PPDK* увеличилось в 6 раз при действии засухи и в 3 раза при акклимации к повышенной температуре у растений *S. sedoides* (рис. 3д). У *B. prostrata* количество транскриптов гена *PPDK* не изменялось при изменении условий. Количество транскриптов генов *psaA* и *psaB*, кодирующих апопротеины A1 и A2 ФС I соответственно, оставалось неизменным во всех вариантах эксперимента у обоих видов (рис. 4а, б). Количество транскриптов гена *psbA*, кодирующего белок D1 ФС II, у *S. sedoides* увеличивалось относительно контроля в среднем в 3 раза, а у *B. prostrata* в среднем в 2 раза при всех видах воздействия (рис. 4в). Накопление транскриптов гена *CAB* (хлорофилл *a/b*-связывающего белка LHCB/CAB ФС II) наблюдалось у *B. prostrata* при действии засухи, независимо от температуры, тогда как у *S. sedoides* оставалось неизменным (рис. 4г).

личий между растениями *S. sedoides*, выращенных при 25 и 30°C без воздействия засухи, но отделил от них растения, подвергнутые засухе первой основной компонентой (PC1), которая отражает 46.2% от общей вариации (рис. 5а). Основными элементами PC1 были эффективность ФС II и значения NPQ, а также содержание БС РБФК/О и пролина (табл. 1). PCA также показал четкое различие между эффектом засухи при 25 и 30°C на *S. sedoides* по второй основной компоненте (PC2), которая отражает 21.87% от общей вариации (рис. 5а). Основными элементами PC2 были эффективность ФС I (циклический транспорт), содержание K^+ , отношения K^+/Na^+ и содержание основного фермента C_4 -цикла ФЕПк. Первых двух основных компонент достаточно для объяснения 68% изменений от общей вариации. Для *B. prostrata* многофакторный анализ методом главных компонент не показал четких различий между растениями при разных вариантах воздействия (рис. 5б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Засуха является одним из самых распространенных факторов окружающей среды, ограничивающих фотосинтез и рост растений. У обоих изученных видов *S. sedoides* и *B. prostrata* в условиях

PCA анализ

Многофакторный анализ методом главных компонент (PCA) не показал значительных раз-

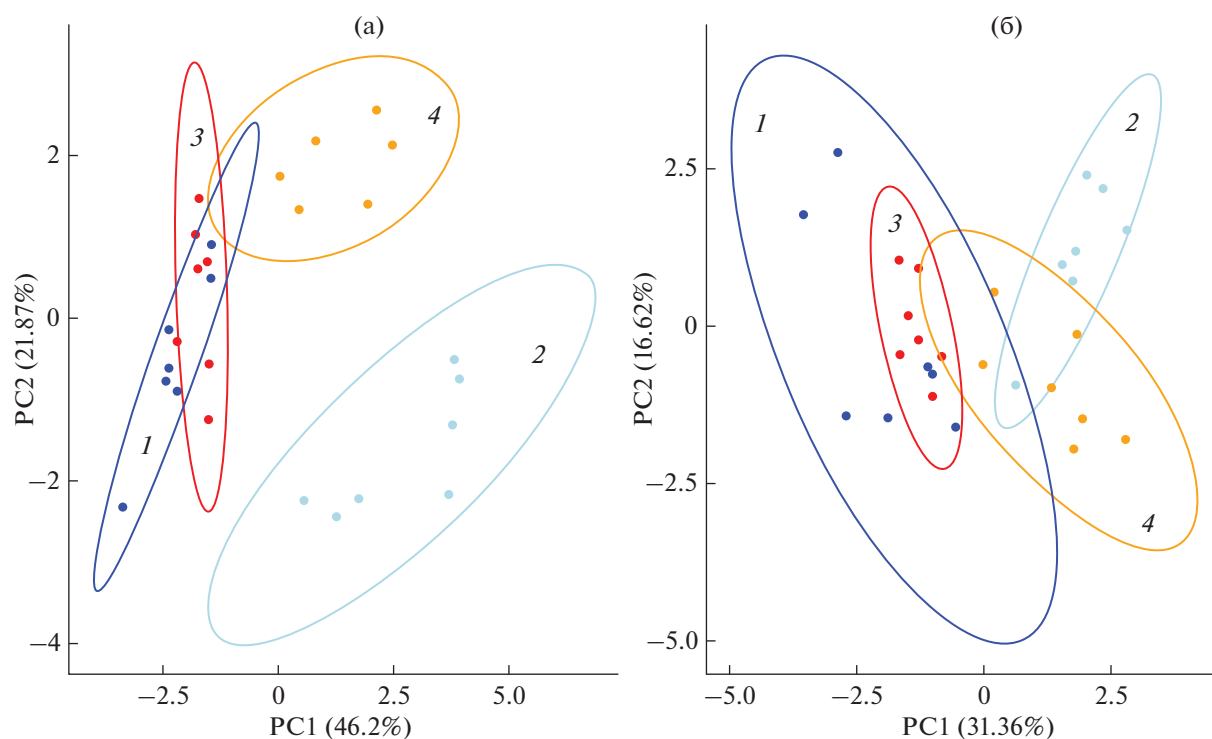


Рис. 5. Многофакторный анализ методом главных компонент (PCA) физиологических параметров, участвующих в процессе адаптации растений *Sedobassia sedoides* (а) и *Bassia prostrata* (б) к повышенной температуре и кратковременному действию ПЭГ-индуцированной засухи. (1) Контрольные растения, выращенные при 25°C без обработки ПЭГ; (2) растения, выращенные при 25°C и 4-дневной обработке ПЭГ; (3) растения, выращенные при 30°C без обработки ПЭГ; (4) растения, выращенные при 30°C и 4-дневной обработке ПЭГ.

Таблица 1. Факторные нагрузки физиологических параметров на главные компоненты (PC1 и PC2) многофакторного анализа (PCA) растений *Sedobassia sedoides* и *Bassia prostrata*, выращенных при разных температурах (25 и 30°C) и кратковременном действии ПЭГ-индуцированной засухи

Параметры	<i>Sedobassia sedoides</i>		<i>Bassia prostrata</i>	
	PC1	PC2	PC1	PC2
Содержание воды	–0.321	–0.225	–0.325	–0.226
Содержание пролина	0.372	–0.132	0.290	0.077
Содержание Na ⁺	–0.288	–0.142	–0.194	0.629
Содержание K ⁺	–0.218	–0.489	0.282	0.208
K ⁺ /Na ⁺	0.057	–0.386	0.356	–0.426
ЦТЭ (ФС I)	–0.013	0.542	0.093	0.333
ФС II	–0.387	–0.067	–0.238	0.053
NPQ	0.391	0.025	0.351	–0.270
Φ _{ФСII}	–0.322	0.228	–0.391	–0.093
Содержание РБФК/О	–0.379	–0.021	–0.434	–0.260
Содержание ФЕПк	–0.270	0.415	–0.190	–0.244

Примечание. Полужирным шрифтом показаны наиболее значимые параметры. ЦТЭ (ФС I) – активность циклического транспорта электронов фотосистемы I; ФС II – максимальный квантовый выход флуоресценции фотосистемы II; NPQ – нефотохимическое тушение; Φ_{ФСII} – эффективный квантовый выход фотохимии ФС II.

засухи при 25°C наблюдалось снижение биомассы и содержания воды в побегах (рис. 1). Однако различия между видами в увеличении содержания пролина (рис. 1), широко используемого в качестве маркера осмотического стресса [32], свидетельствуют о большем влиянии засухи на растения *S. sedoides*, чем *B. prostrata*. Фотосинтез рассматривается в числе первичных физиологических процессов, на которые влияет дефицит воды [9]. Наиболее чувствительной к стрессовым воздействиям является ФС II, что часто выражается в деградации белка D1 [5, 18]. У C₃–C₄-вида *S. sedoides* наблюдалось снижение эффективности ФС II на свету ($\Phi_{\text{ФСII}}$) и 3.3-кратное усиление NPQ, что привело к достоверному снижению максимального квантового выхода ФС II (рис. 2). Повышение значений NPQ указывает на более высокое рассеивание (диссипацию) световой энергии в виде тепла при осмотическом стрессе [33]. При этом, наблюдалось значительное усиление экспрессии гена *psbA*, кодирующего D1 белок (рис. 4). Кроме того, значительный эффект засухи проявился в резком (на 85%) снижении содержания основного фермента цикла Кальвина РБФК/О у *S. sedoides* (рис. 3). Известно, что реакция растений на засуху видоспецифична и варьирует от незначительных изменений содержания и активности РБФК/О до их резкого снижения [9]. При этом у *S. sedoides* снижение содержания БС РБФК/О не было следствием снижения экспрессии гена *rbcL*, наоборот, наблюдалось 6-кратное увеличение его экспрессии, что характерно для некоторых C₃-видов в условиях засухи [3, 10]. Данная диспропорция между содержанием транскриптов *rbcL* и белка БС РБФК/О может быть следствием посттранскрипционной регуляции [34] или усиления процессов деградации белка, вызванного стрессовыми условиями, когда РБФК/О активно расщепляется протеазами и направляется в другие органы растения для поддержания синтеза белков [11, 12]. Косвенным свидетельством усиления процесса деградации у *S. sedoides* может быть увеличение экспрессии гена *PPDK* в условиях засухи (рис. 4), так как PPDK участвует в ассимиляции азота и может играть важную роль в транспорте аминокислот и значительно ускорять мобилизацию азота из листьев [16].

У C₄-НАДФ-вида *B. prostrata* засуха оказала менее негативное влияние на эффективность ФС II, что выражалось в меньшем изменении диссипации (NPQ) (рис. 2). При этом наблюдалось усиление экспрессии гена *CAB*, кодирующего хлорофилл *a/b*-связывающий белок (LHCB/CAB) ФС II, регуляция которого считается одним из важных механизмов регуляции функции хлоропластов в ответ на воздействие стрессовых факторов [18]. При схожем с *S. sedoides* снижении содержания БС РБФК/О, накопление транскриптов гена *rbcL* у

B. prostrata было значительно ниже, а экспрессия гена *PPDK* не изменилась, но происходило более значительное снижение содержания ФЕПк (рис. 3). Выявленные различия реакции ФЕПк и PPDK между видами, вероятно, связаны с различиями их функций: у C₄-видов данные белки являются ключевыми фотосинтетическим ферментами, а у C₃-видов и, возможно, у C₃–C₄-видов, при стрессе выполняют в основном защитные функции [35].

Акклимация к повышенной температуре привела к небольшому снижению содержания воды в побегах, что, однако, не отразилось на накоплении сухой биомассы у обоих видов (рис. 1). Выращивание при 30°C также не повлияло на эффективность ФС II у растений *S. sedoides* и *B. prostrata* (рис. 2), но вызывало 2–4-кратное увеличение накопление транскриптов гена *psbA* (рис. 4), в то время как количество транскриптов генов ФС I *psaA* и *psaB* у обоих видов оставалось неизменным. При этом у C₃–C₄-вида *S. sedoides* наблюдалось увеличение активности ЦТЭ ФС I практически до уровня C₄-НАДФ-вида *B. prostrata* (рис. 2). Считается, что увеличение ЦТЭ при высокой температуре может компенсировать протонную утечку тилакоидов, позволяя продолжать синтез АТФ [17]. Выращивание при 30°C привело к снижению содержания БС РБФК/О у обоих видов, но более значимо (в 2 раза) у *B. prostrata* (рис. 3). Вероятно, это связано с увеличением скорости фиксации CO₂ РБФК/О при повышении температуры, характерное для всех видов растений и, в особенности, для видов с малатным (НАДФ) C₄-типом фотосинтеза [20, 21]. Свидетельством не стресс-индуцированного снижения содержания РБФК/О может быть сохранение накопления биомассы на уровне контрольных растений (рис. 1), а также результаты РСА (рис. 5). Так, многофакторный анализ не показал четкого разделения растений, выращенных при 25 и 30°C без воздействия засухи для обоих видов. На отсутствие значительного стресса указывает и снижение содержания пролина у *B. prostrata* по сравнению с контролем и относительно небольшое повышение этого показателя у *S. sedoides* (рис. 1). Более высокий уровень содержания БС РБФК/О у *S. sedoides* при повышенной температуре, чем у *B. prostrata*, вероятно, поддерживается более значительным усилением экспрессии гена *rbcL* (рис. 3). У *B. prostrata* при этом снижается содержание не только РБФК/О, но и C₄-фермента ФЕПк, что позволяет поддерживать оптимальное для фотосинтеза соотношение РБФК/О/ФЕПк.

Несмотря на множественные свидетельства более негативного влияния на растения комбинированного стресса повышенной температуры и засухи, чем каждого из этих воздействий по отдельности [3, 36], у *S. sedoides* выращивание при 30°C смягчило негативное действие засухи на

ФС II, что выражалось в меньшей диссипации энергии (рис. 2г) и нивелировала негативный эффект на содержание ФЕПк (рис. 3). Однако данные изменения не отразились на накоплении биомассы при засухе (рис. 1), вероятно, в результате одинакового действия засухи на содержание БС РБФК/О и эффективность ФС II, независимо от температуры выращивания (рис. 2, 3). Таким образом, акклимация к повышенной температуре *S. sedoides* позволила избежать дополнительного негативного эффекта засухи, вызвав изменения в защитных реакциях процесса фотосинтеза и в поддержании водного баланса. При значительном снижении содержания воды в побегах *S. sedoides*, вызванном засухой, при 30°C наблюдалось значительно меньшее накопление пролина (в 2.5 раза по сравнению с контрольными растениями), снижение содержания калия и отношения K^+/Na^+ (рис. 1, табл. 1). Это может свидетельствовать об уменьшении роли пролина в осморегуляции и изменении ионного баланса в пользу Na^+ , что более характерно для галофитов [37] и, в частности, у *S. sedoides* большее накопление Na^+ (в 3.5 раза) относительно K^+ в контрольных условиях (рис. 1). Именно различия в активности ЦТЭ, содержании K^+ и ФЕПк являются основными факторами четкого разделения второй главной компонентой PC2 растений C_3 – C_4 -вида *S. sedoides*, выращенных при разной температуре в условиях засухи (рис. 5, табл. 1).

У C_4 -НАДФ-вида *B. prostrata* так же, как у C_3 – C_4 -вида *S. sedoides*, не наблюдалось дополнительного негативного влияния совместного действия повышенной температуры и засухи на накопление сухой биомассы, однако механизмы поддержания роста были другими. Засуха при 30°C привела к усилению диссипации энергии и, соответственно, к снижению максимальной эффективности ФС II (рис. 2), но, при этом, оказала менее негативный эффект на содержание фотосинтетических ферментов РБФК/О и ФЕПк (рис. 3). У C_4 -видов марианских адаптаций к стрессовым условиям связывают именно со значительной биохимической адаптацией: изменениями содержания РБФК/О и ферментов C_4 -цикла, а также активацией осморегуляции [17, 38]. Значительный климатический ареал C_4 -НАДФ-вида *B. prostrata* от южных полупустынь (Средняя Азия, Иран, Монголия, Китай) до северных лесостепей Евразии [39], вероятно, обусловлен именно широкой термоллабильностью фотосинтетических ферментов. Акклимация растений *B. prostrata* к повышенной температуре привела к восстановлению содержания пролина до уровня контрольных растений, снижению содержания натрия и повышению отношения K^+/Na^+ в условиях засухи (рис. 1), то есть способствовала усилению роли ионов калия в водно-ионном балансе, что характерно для ксерофитных видов. О большей

засухоустойчивости C_4 -НАДФ-вида *B. prostrata*, по сравнению с C_3 – C_4 -видом *S. sedoides*, свидетельствует меньшее содержание воды и более высокое отношение K^+/Na^+ в контрольных условиях (рис. 1), а также отсутствие четких различий в PCA анализе (рис. 5).

Таким образом, C_3 – C_4 -вид *S. sedoides* оказался менее засухоустойчивым при обоих температурных режимах выращивания. Засуха негативно повлияла как на содержание основного фотосинтетического фермента, так и на эффективность ФС II, вызвав при этом значительное усиление экспрессии соответствующих генов *rbcL* и *psbA*. При этом акклимация растений *S. sedoides* к повышенной температуре привела к усилению активности циклического транспорта электронов ФС I, а также к смягчению негативного действия засухи на световые реакции фотосинтеза и содержание фермента ФЕПк на фоне сдвига ионного баланса в сторону натрия. У C_4 -НАДФ-вида *B. prostrata* усилилась роль ионов калия в осморегуляции в условиях засухи при повышенной температуре. В целом, *B. prostrata* характеризуется более термоллабильными фотосинтетическими ферментами, изменения в содержании и соотношении которых позволяют данному виду поддерживать рост в условиях засухи при разной температуре.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 21-54-50006 ЯФ а) и в рамках государственного задания (тема № 122042700044-6).

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. IPCC. Future global climate: Scenario-based projections and near-term information // Climate change 2021: The physical science basis. Contribution of working group I to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change / V. Masson-Delmotte, P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Pean, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekci, R. Yu, B. Zhou (Eds.). Cambridge University Press, 2021. P. 553.
2. Sonmez M.C., Ozgur R., Uzilday D., Turkan I., Ganie S.A. Redox regulation in C_3 and C_4 plants during climate change and its implications on food security // Food Energy Secur. 2022. V. 12: e387. <https://doi.org/10.1002/fes3.387>
3. Raja V., Qadir S.U., Alyemeni M.N., Ahmad P. Impact of drought and heat stress individually and in combination on physio-biochemical parameters, antioxidant responses, and gene expression in *Solanum lycopersicum* // 3 Biotech. 2020. V. 10. P. 208. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02206-4>

4. Ripley B., 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>
5. Alyammahi O., Gururani M.A. Chlorophyll-*a* fluorescence analysis reveals differential response of photosynthetic machinery in melatonin-treated oat plants exposed to osmotic stress // *Agronomy*. 2020. V. 10. P. 1520.
<https://doi.org/10.3390/agronomy10101520>
6. Rakhmankulova Z.F., Shuyskaya E.V., Prokofieva M.Yu., Borovkov A.M., Voronin P.Yu. Comparative contribution of CO₂/H₂O exchange components to the process of adaptation to drought in xero-halophytes from the family Chenopodiaceae with different types of photosynthesis // *Russ. J. Plant Physiol.* 2020. V. 67. P. 494.
<https://doi.org/10.1134/S102144372003019X>
7. Zhang Q., Huang J., Ke W., Cai M., Chen G., Peng C. Responses of *Sphagneticola trilobata*, *Sphagneticola calendulacea* and their hybrid to drought stress // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 11288.
<https://doi.org/10.3390/ijms222011288>
8. da Silva M.C., Pinto P.I.S., Guerra R., Duarte A., Power D.M., Marques N.T. Gene transcripts responsive to drought stress identified in *Citrus macrophylla* bark tissue transcriptome have a modified response in plants infected by *Citrus tristeza virus* // *Sci. Hortic.* 2023. V. 307. P. 111526.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111526>
9. Galmés J., Aranjuelo I., Medrano H., Flexas J. Variation in Rubisco content and activity under variable climatic factors // *Photosynth. Res.* 2013. V. 117. P. 73.
<https://doi.org/10.1007/s11120-013-9861-y>
10. Amoah J.N., Seo Y.W. Effect of progressive drought stress on physio-biochemical responses and gene expression patterns in wheat // *3 Biotech.* 2021. V. 11. P. 440.
<https://doi.org/10.1007/s13205-021-02991-6>
11. He Y., Yu Ch., Zhou L., Chen Y., Liu A., Jin J., Hong J., Qi Y., Jiang D. Rubisco decrease is involved in chloroplast protrusion and Rubisco-containing body formation in soybean (*Glycine max.*) under salt stress // *Plant Physiol. Biochem.* 2014. V. 74: 118e124.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.11.008>
12. Yoshitake Y., Nakamura S., Shinozaki D., Izumi M., Yoshimoto K., Ohta H., Shimojima M. RCB-mediated chlorophagy caused by oversupply of nitrogen suppresses phosphate-starvation stress in plants // *Plant Physiol.* 2021. V. 185. P. 318.
<https://doi.org/10.1093/plphys/kiaa030>
13. AbdElgawad H., Avramova V., Baggerman G., Van Raemdonck G., Valkenbrog D., Van Ostade X., Guisez Y., Prinsen E., Asard H., Ende W., Beemster G. Starch biosynthesis is crucial for maintaining photosynthesis and leaf growth under drought stress // *Authorea*. 2020.
<https://doi.org/10.22541/au.158498002.27084474>
14. Hussain T., Koyro H.-W., Zhang W., Liu X., Gul B. Liu X. Low salinity improves photosynthetic performance in *Panicum antidotale* under drought stress // *Front. Plant Sci.* 2020. V. 11. P. 481.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00481>
15. Jeanneau M., Vidal J., Gousset-Dupont A., Lebouteiller B., Hodges M., Gerentes D., Perez P. Manipulating PEPC levels in plants // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53. P. 1837.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erf061>
16. Yadav S., Rathore M.S., Mishra A. The pyruvate-phosphate dikinase (C₄-SmPPDK) gene from *Suaeda monoica* enhances photosynthesis, carbon assimilation, and abiotic stress tolerance in a C₃ plant under elevated CO₂ conditions // *Front. Plant Sci.* 2020. V. 11. P. 345.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00345>
17. Yamori W., Hikosaka K., Way D.A. Temperature response of photosynthesis in C₃, C₄, and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation // *Photosynth. Res.* 2014. V. 119. P. 101.
<https://doi.org/10.1007/s11120-013-9874-6>
18. Allakhverdiev S.I., Kreslavski V.D., Fomina I.R., Los D.A., Klimov V.V., Mimuro M., Mohanty P., Carpentier R. Inactivation and repair of photosynthetic machinery under heat stress // *Photosynthesis: overviews on recent progress and future perspective*. IK International Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi, 2012. P. 189
19. Cavanagh A.P., Kubien D.S. Can phenotypic plasticity in Rubisco performance contribute to photosynthetic acclimation? // *Photosynth. Res.* 2014. V. 119. P. 203.
<https://doi.org/10.1007/s11120-013-9816-3>
20. Sharwood R.E., Ghannoum O., Kapralov M.V., Gunn L.H., Whitney S.M. Temperature responses of Rubisco from Paniceae grasses provide opportunities for improving C₃ photosynthesis // *Nat. Plants*. 2016. V. 2. P. 16186.
<https://doi.org/10.1038/nplants.2016.186>
21. Moore C.E., Meacham-Hensold K., Lemonnier P., Slatery R.A., Benjamin C., Bernacchi C.J., Lawson T., Cavanagh A.P. The effect of increasing temperature on crop photosynthesis: from enzymes to ecosystems // *J. Exp. Bot.* 2021. V. 72. P. 2822.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erab090>
22. Danilova M.N., Kudryakova N.V., Andreeva A.A., Doroshenko A.S., Pojidaeva E.S., Kusnetsov V.V. Differential impact of heat stress on the expression of chloroplast-encoded genes // *Plant Physiol. Biochem.* 2018. V. 129. P. 90.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.023>
23. Lundgren M.R., Christin P.-A. Despite phylogenetic effects, C₃–C₄ lineages bridge the ecological gap to C₄ photosynthesis // *J. Exp. Bot.* 2017. V. 68. P. 241.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erw451>
24. Munekage Y.N., Taniguchi Y.Y. A scheme for C₄ evolution derived from a comparative analysis of the closely related C₃, C₃–C₄ intermediate, C₄-like, and C₄ species in the genus *Flaveria* // *Plant Mol. Biol.* 2022. V. 110. P. 445.
<https://doi.org/10.1007/s11103-022-01246-z>
25. 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>
26. Lundgren M.R. C₂ photosynthesis: a promising route towards crop improvement? // *New Phytol.* 2020. V. 228. P. 1734.
<https://doi.org/10.1111/nph.16494>
27. Walsh C.A., Bräutigam A., Roberts M.R., Lundgren M.R. Evolutionary implications of C₂ photosynthesis: how complex biochemical trade-offs may limit C₄ evolu-

- tion // J. Exp. Bot. 2023. V. 74. P. 707.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erac465>
28. Rakhmankulova Z.F., Shuyskaya E.V., Khalilova L.A., Orlova Y.V., Burundukova O.L., Velivetskaya T.A., Ignat'ev A.V. Ultra- and mesostructural response to salinization in two populations of C_3 – C_4 intermediate species *Sedobassia sedoides* // Russ. J. Plant Physiol. 2020. V. 67. P. 835.
<https://doi.org/10.1134/S1021443720040135>
 29. 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.
<https://doi.org/10.1007/BF00018060>
 30. Пожидаева Е.С. Вестерн-блот-гибридизация // Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / Под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. Москва: Бином. Лаборатория знаний. 2011. С. 228.
 31. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. V. 227. P. 680.
<https://doi.org/10.1038/227680a0>
 32. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // Trends Plant Sci. 2010. V. 15. P. 89.
 33. Brestic M., Zivcak M. PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in plants: protocols and applications // Molecular stress physiology of plants / Eds. G.R. Rout, A.B. Das. Dordrecht: Springer, 2013. P. 87.
<https://doi.org/10.1007/978-81-322-0807-5>
 34. Kusnetsov V.V. Chloroplasts: structure and expression of the plastid genome // Russ. J. Plant Physiol. 2018. V. 65. P. 465.
<https://doi.org/10.1134/S1021443718030044>
 35. Singh J., Garai S., Das S., Thakur J.K., Tripathy B.C. Role of C_4 photosynthetic enzyme isoforms in C_3 plants and their potential applications in improving agronomic traits in crops // Photosynth. Res. 2022. V. 154. P. 233.
<https://doi.org/10.1007/s11120-022-00978-9>
 36. Xu Z.Z., Zhou G.S. Combined effects of water stress and high temperature on photosynthesis, nitrogen metabolism and lipid peroxidation of a perennial grass *Leymus chinensis* // Planta. 2006. V. 224. P. 1080.
<https://doi.org/10.1007/s00425-006-0281-5>
 37. Flowers T.J., Colmer T.D. Plant salt tolerance: adaptation in halophytes // Ann. Bot. 2015. V. 115. P. 327.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcu267>
 38. Liu H., Osborne C.P. Water relations traits of C_4 grasses depend on phylogenetic lineage, photosynthetic pathway, and habitat water availability // J. Exp. Bot. 2015. V. 66. P. 761.
 39. Dzyubenko N.I., Soskov Yu.D., Khusainov S.Kh., Agaev M.G. Morphology and geography of the ecotypes *Kochia prostrata* (L.) Schrad. from Middle Asia, Kazakhstan and Mongolia // Sel'skokhozyaistvennaya Biol. 2009. V. 44 (5). P. 25.