

ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ CO₂ И ТЕМПЕРАТУРЫ НА РАСТЕНИЯ С РАЗНЫМ ТИПОМ ФОТОСИНТЕЗА: КИНОА (C₃) И АМАРАНТ (C₄)

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

^а Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: zulfirar@mail.ru

Поступила в редакцию 02.05.2023 г.

После доработки 10.05.2023 г.

Принята к публикации 11.05.2023 г.

Исследовали термоустойчивость растений с разным типом фотосинтеза *Chenopodium quinoa* Willd. (C₃) и *Amaranthus retroflexus* L. (C₄-НАД) к кратковременной повышенной температуре (35°C, eT) при естественной (400 ppm, aCO₂) и повышенной (800 ppm, eCO₂) концентрации CO₂. Анализировали ростовые параметры, содержание воды, пролина, МДА, параметры CO₂/H₂O газообмена, функционирование ФС I и ФС II, содержание ключевых фотосинтетических (РБФК/О, ФЕПк) и фотодыхательных (ГДК) ферментов. В контрольных условиях у растений C₄-вида, по сравнению с C₃-видом, показаны более высокие значения прироста сухой биомассы, интенсивности видимого фотосинтеза, транспирации, активности ФС I и более низкое содержание пролина. Фотосинтетический и устьичный аппарат обоих видов был чувствителен к eT, что проявлялось в снижении интенсивности видимого фотосинтеза и транспирации. Кроме того, у C₃-вида наблюдалось подавление световых реакций (ФС II) и интенсивности фотодыхания (по ГДК), а у C₄-вида – увеличение содержания пролина. В условиях eCO₂ у C₃-вида наблюдалось снижение интенсивности фотодыхания, а у C₄-вида окислительный стресс (2-кратное увеличение содержания МДА) сопровождался снижением интенсивности видимого фотосинтеза, транспирации и возрастом интенсивности темнового митохондриального дыхания. Смягчающий эффект eCO₂ на термоустойчивость данных C₃- и C₄-растений не установлен. При совместном действии eCO₂ и eT у обоих видов имели место окислительный стресс, снижение эффективности ФС II и видимого фотосинтеза, а также активация темнового дыхания. Однако наблюдались и отличия: у C₃-вида окислительный стресс сопровождался снижением прироста сухой биомассы и содержания воды в тканях, а также подавлением фотодыхания, а у C₄-вида – снижением интенсивности транспирации и возрастом содержания ФЕПк. Снижение WUE при совместном действии eCO₂ и eT у растений C₄-вида было менее значительным, чем у C₃-вида. Обсуждается разная реакция растений киноа (C₃) и амаранта (C₄) на совместное действие климатических факторов: повышенной температуры и концентрации CO₂.

Ключевые слова: *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium quinoa*, амарант, киноа, окислительный и тепловой стресс, РБФК/О, ФЕПк, ГДК, фотосистемы I и II, WUE (water use efficiency)

DOI: 10.31857/S0015330323600353, EDN: ICAOVY

ВВЕДЕНИЕ

В ближайшие годы прогнозируется возрастание частоты экстремальных явлений и климатических колебаний, что окажет серьезное влияние на стабильность и безопасность производства продуктов питания [1]. Увеличение атмосферной концентрации CO₂ (eCO₂, elevated CO₂) и потепление (eT, elevated temperature) являются значимыми проявлениями изменения климата и факторами, определяющими продуктивность ценных пищевых и кормовых культур [2, 3].

Наблюдаемый стремительный рост атмосферной концентрации CO₂ по-разному влияет на интенсивность фотосинтеза, биопродуктивность и устойчивость C₃- и C₄-растений [4, 5]. Долгое время считалось, что C₃-фотосинтез более чувствителен к изменениям концентрации CO₂ в атмосфере и что ее увеличение оказывает положительное влияние на интенсивность фотосинтеза и продуктивность C₃-видов посредством активации карбоксилирования в цикле Кальвина и повышения эффективности использования воды благодаря снижению устьичной проводимости в

растениях [6]. Однако позже было показано, что увеличение биомассы C₃-растений может быть лишь кратковременным эффектом, который теряется в течение более длительного периода времени [4, 7] и может сопровождаться снижением пищевой ценности кормовых культур из-за подавления фотодыхания высоким уровнем CO₂ за счет снижения оксигеназной функции рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О), что может отрицательно сказываться на азотном обмене растений [8, 9]. C₄-растения, благодаря наличию углерод-концентрирующего механизма (УКМ), ранее рассматривались как менее зависимые от концентрации CO₂ в окружающей среде, чем C₃-виды, и предполагалось, что они будут меньше реагировать на eCO₂ [6, 7]. Эта концепция глубоко укоренилась в климатических и экологических моделях воздействия меняющегося климата на растения [7]. Однако за последние годы появилось много противоречивой информации по этому вопросу [2, 3]. Было показано, что у C₄-видов eCO₂ более эффективно стимулирует фотосинтетический метаболизм [10] и накопление биомассы, связанное с повышением эффективности использования воды (WUE) [11]. В то же время есть информация, что высокие и сверхвысокие концентрации CO₂ приводят к снижению интенсивности фотосинтеза как у C₃-, так и у C₄-видов [9, 12]. Таким образом, вопрос о влиянии eCO₂ на растения с разным типом фотосинтеза в настоящее время остается открытым.

Известно, что условия, которые сопровождаются повышением концентрации CO₂ в атмосфере, в частности повышенные температуры, могут стать лимитирующими факторами для роста растений [13]. Исследования совместного комплексного воздействия нескольких климатических факторов представляют особый интерес, поскольку они вызывают более сложные ответные реакции растений, по сравнению с действием одиночных стрессов [14]. Было установлено, что способность к температурной акклимации фотосинтеза у C₃- и C₄-видов различается [15]. На C₃-виде киноа показано, что реакция растений на высокие температуры разнообразна и зависит от генотипа и фенологической стадии [16]. На C₃-видах, пшенице и рисе, высокие температуры снижали урожай зерна, причем eCO₂ не компенсировал это негативное воздействие, что в результате приводило к снижению урожая до 35% [17]. У C₃-видов основными причинами снижения фотосинтеза при совместном действии eCO₂ и eT являются тепловая лабильность РБФК/О-активазы и снижение фотосинтетического электронного транспорта [18]. В то же время установлено, что eCO₂ может положительно влиять на термоустойчивость некоторых C₃-видов, и у них наблюдается активация

чувствительных к повышенной температуре фотосинтетических параметров (видимый фотосинтез, устьичная проводимость и эффективность ФС II) [19]. Предполагается, что смягчающий эффект eCO₂ при комплексном воздействии климатических факторов у C₃-растений связан с активацией антиоксидантной защитной системы, снижением фотодыхания [20], уменьшением отрицательного влияния стрессовых факторов на метаболизм сахаров и аминокислот [21], а также с положительным влиянием eCO₂ на интенсивность карбоксилирования и водный баланс растений [2, 22]. Таким образом, в настоящее время однозначно сказать о влиянии eCO₂ на термоустойчивость ростовых и фотосинтетических параметров C₃-растений нельзя [22].

C₄-растения демонстрируют другую, по сравнению с C₃-видами, и достаточно противоречивую картину биохимических ограничений при действии повышенных температур. Это объясняется сложностью биохимической модели C₄-фотосинтеза. Можно сказать, что фотосинтетической C₄-УКМ, является адаптацией C₃-пути к низкой концентрации CO₂, которая за счет снижения оксигеназной функции РБФК/О ограничивает фотодыхание, способствуя повышению эффективности фотосинтеза и минимизируя потери воды в жарких и засушливых условиях [23]. На примере C₄-трав установлено, что активация биосинтеза белков и метаболитов в результате усиления метаболических процессов при eCO₂ может способствовать улучшению термостойкости растений, связанной с усилением дыхательных метаболических путей в условиях теплового стресса [24]. Действие eCO₂ на C₄-НАД-растения способствует повышению клеточной устойчивости к тепловому шоку, стимулирует рост растений [25]. С другой стороны, показано, что при eCO₂ у C₄-растений наблюдается снижение чувствительных к повышенной температуре фотосинтетических параметров (видимый фотосинтез, устьичная проводимость и эффективность ФС II) [19]. Предполагается, что неоднозначность ответов на совместное действие eCO₂ и eT у C₄-видов связана с видоспецифичностью [26] и с противоположным действием этих факторов на транспирацию [27]. Итак, на сегодняшний день данные о влиянии eCO₂ на механизмы термоустойчивости растений с разным типом фотосинтетического метаболизма противоречивы и фрагментарны [3, 10, 11, 22]. В то же время исследования комбинированного действия eCO₂ и eT на отдельные этапы C₃- и C₄-фотосинтеза важны для создания реалистичной картины влияния изменяющегося климата на растения, необходимой для прогнозирования продуктивности растений [4, 10, 11, 22].

В данной работе исследовали однолетние окультуренные растения одного семейства Ама-

рантовые с разным типом фотосинтеза – киноа (C_3 , подсем. Chenopodiaceae) и амарант (C_4 , Amaranthaceae). Они относятся к группе культур, известных как псевдозерновые. Киноа (*Chenopodium quinoa* Willd.) – стрессоустойчивое растение, из-за высокой питательной ценности и адаптируемости было предложено в качестве культуры, используемой для повышения продовольственной безопасности в условиях климатических изменений [1, 16]. Амарант запрокинутый (*Amaranthus retroflexus* L.) – теплолюбивый, устойчивый к засухе вид, произрастающий почти во всех районах России. В настоящее время амарант используется повсеместно: выведены кормовые, декоративные и овощные сорта растения [28, 29].

Целью данной работы являлось исследование влияния повышенной концентрации CO_2 (800 ppm) на термоустойчивость растений с разным типом фотосинтеза: *Chenopodium quinoa* (C_3) и *Amaranthus retroflexus* (C_4 -НАД) к кратковременной повышенной температуре (35°C).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования и условия выращивания. Семена *Chenopodium quinoa* Willd., сорт “Vakhdat”, и *Amaranthus retroflexus* L. (интродуцированный вид) получены из Центра генетических ресурсов Таджикской академии сельскохозяйственных наук (CGR TAAS).

Семена киноа проращивали в дистиллированной воде и 3–4-дневные проростки высаживали на перлит, пропитанный 50% раствором Хогланда. Семена *Amaranthus retroflexus* проращивали в перлите без предварительного замачивания. Растения выращивали в течение 30 дней под люминесцентными лампами (плотность потоков квантов ФАР 200 мкмоль/(м² с)), при 16-часовом фотопериоде, в двух отдельных камерах при естественной (400 ppm, а CO_2) и повышенной (800 ppm, е CO_2) концентрации CO_2 при температуре 25°C. Затем растения в обеих камерах подвергали 4-дневному воздействию повышенной температуры (35°C, еТ).

Определение сухой биомассы, содержания воды, пролина и МДА. Для определения сухой биомассы листья высушивали при 80°C до постоянной массы. Содержание воды (W) рассчитывали по формуле и выражали в г H_2O /г сухой массы:

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

где FW – сырая биомасса, DW – сухая биомасса.

Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива по методу Bates [30] с модификациями. В качестве анализируемых экстрактов использовали водные вытяжки высушенных и растертых листьев. Результаты рассчитывали на 1 г сухой массы.

Скорость перекисного окисления липидов оценивали спектрофотометрически по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), основанной на взаимодействии ТБК с малоновым диальдегидом (МДА). Содержание МДА определяли по Heath и Packer [31]. Навеску листьев (0.5 г) растирали в ступке с 2 мл 0.5% трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Гомогенат центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин и к 0.3 мл супернатанта добавляли 1.2 мл 0.5% ТБК в 20% ТХУ. Смесь нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, затем быстро охлаждали во льду и центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин. После этого измеряли оптическую плотность проб при 532 и 600 нм (Multiskan Sky Spectrophotometer, “Thermo Scientific”, США). Концентрацию МДА рассчитывали после вычитания неспецифического поглощения при 600 нм ($\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) и выражали в нмоль/г сырой массы.

Измерение CO_2/H_2O газообмена. Для определения интенсивности видимого фотосинтеза (A) и транспирации (E) лист 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 CO_2/H_2O 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 (A/E). Интенсивность темнового дыхания (Rd) оценивали через 20 мин после включения света.

Измерение функционирования фотосистем I и II. Изменение окислительно-восстановительного потенциала P700 измеряли путем мониторинга оптической плотности листьев при 820 нм с использованием двухволновой системы 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.

Определение квантового выхода флуоресценции ФС II адаптированного к темноте (20 мин) фрагмента листа осуществляли с помощью РАМ-флуориметра (РАМ-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 АЦП (PDA-100, "Walz", Германия), преобразующим первичный сигнал от РАМ-101 на компьютер со стандартным программным интерфейсом. Расчет показателей проводили на основании текущих значений минимальной (F_0) и максимальной (F_m) флуоресценции адаптированного к темноте листа по формуле:

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

Максимальную квантовую эффективность (F'_v/F'_m) и эффективный квантовый выход ($\Phi_{\text{ФСII}}$) фотохимии ФС II при заданной интенсивности света рассчитывали по формулам:

$$F'_v/F'_m = (F'_m - F'_0)/F'_m, \quad (3)$$

$$\Phi_{\text{ФСII}} = F'_q/F'_m, \quad (4)$$

где F'_q – фотохимическое тушение флуоресценции открытым реакционным центром ФС II, а F'_0 и F'_m – минимальная и максимальная флуоресценция хлорофилла после световой адаптации.

Нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла (NPQ) рассчитывали по формуле:

$$\text{NPQ} = (F_m - F'_m)/F'_m. \quad (5)$$

Определение содержания белков рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О), фосфоенолпируваткарбоксилазы (ФЕПк) и глициндекарбоксилазы (ГДК) проводили с помощью вестерн-блоттинга. Тотальный белок выделяли из листьев (0.5 г) экстракционным буфером (50 мМ Трис-НСI (рН 8.0), 10 мМ MgCl₂, 0.3 мМ ЭДТА, 2% поливинилпирролидон и 5 мМ дитиотреитол). Содержание белка определяли по методу Бредфорд, используя бычий сывороточный альбумин ("Sigma-Aldrich", США) в качестве стандарта.

Вестерн блоттинг. Анализ содержания белков РБФК/О, ФЕПк и ГДК проводили с помощью иммуноферментного анализа, как было описано ранее [32] с использованием коммерческих поликлональных антител против белков большой субъединицы (L) (БС) РБФК/О (RbcL, AS03037, "Agrisera", Швеция), ФЕПк (PEPC, AS09458, "Agrisera", Швеция) и ГДК (GLDP, AS204370, "Agrisera", Швеция). Разделение суммарных белков (5–15 мкг тотального белка в слоте) проводили с помощью 10% денатурирующего гель-электрофореза (SDS-PAGE). После проведения электрофореза белки переносили на нитроцеллюлозную

мембрану ("Amersham, GE Healthcare", Великобритания), используя прибор для мокрого блоттинга ("BioRad", США) согласно стандартному протоколу. Анализ взаимодействия антител с антигеном проводили обработкой вторичными антителами (anti-rabbit IgG horse radish antibodies (Agrisera, AS09 602)) с помощью смеси люминола и кумаровой кислоты в присутствии перекиси водорода. Хемилюминесцентный сигнал на мембранах регистрировали с помощью 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.

Статистический анализ. Во всех экспериментах было пять 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

Ростовые параметры, содержание воды, пролина и малонового диальдегида

34-дневные растения *C. quinoa* (C₃) и *A. retroflexus* (C₄-НАД) отличались по продуктивности и устойчивости. Сухая биомасса растений *A. retroflexus*, выращенных в контрольном варианте, была в 1.5 раза больше контрольных растений *C. quinoa*. Отдельное воздействие eT и eCO₂ не вызывало изменений в росте растений обоих видов, а совместное действие eCO₂ и eT снижало биомассу только у *C. quinoa* на 28% (рис. 1а).

При совместном действии факторов (eCO₂ и eT) исследуемые растения отличались также по содержанию воды: у *C. quinoa* наблюдалось его снижение на 42%, а у *A. retroflexus* возрастание на 52%, по сравнению с контролем (рис. 1б).

Содержание пролина при всех видах воздействия у *C. quinoa* снижалось на 30–50%, а у *A. retroflexus* повышалось при температурном воздействии и совместном действии факторов (eCO₂ и eT) в 3 раза, по сравнению с контролем (рис. 1в).

Содержание МДА, которое является показателем окислительного стресса, у *C. quinoa* возрастало при совместном действии eCO₂ и eT на 34%, а у *A. retroflexus* – в 2 раза при действии eCO₂ и на 61% при совместном действии факторов (eCO₂ и eT) (рис. 1г).

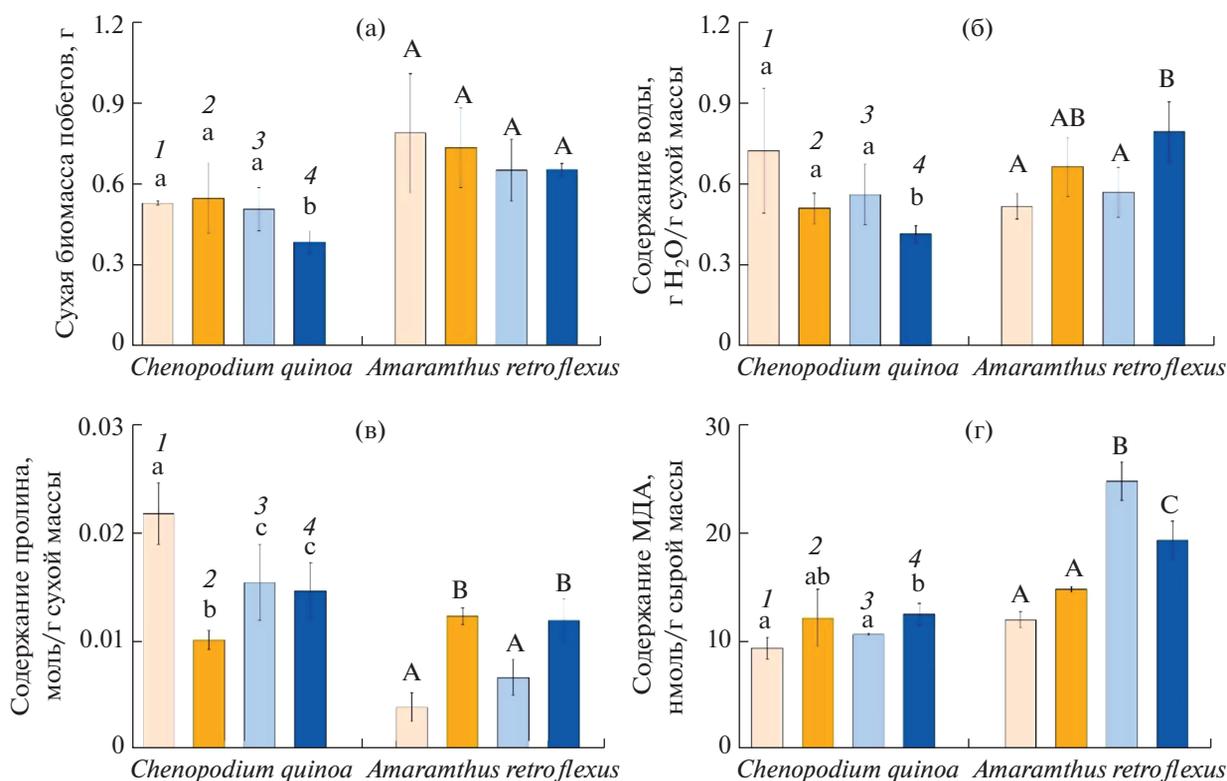


Рис. 1. Накопление сухой биомассы (а), содержание воды (б), пролина (в) и МДА (г) у растений *Chenopodium quinoa* и *Amaranthus retroflexus*, выращенных при разных концентрациях CO₂ и кратковременном действии повышенной температуры (35°C, eT). (1) Контрольные растения, выращенные при естественной (400 ppm) концентрации CO₂ (aCO₂); (2) растения, выращенные при aCO₂ и 4-дневном воздействии eT; (3) растения, выращенные при повышенной (800 ppm) концентрации CO₂ (eCO₂); (4) растения, выращенные при eCO₂ и 4-дневном воздействии eT (eCO₂ и eT). Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $P < 0.05$.

Интенсивность параметров CO₂/H₂O газообмена

Интенсивность видимого фотосинтеза (A) в контроле была более значительной у растений *A. retroflexus* (на 28%) по сравнению с растениями *C. quinoa*. Интенсивность видимого фотосинтеза *C. quinoa* снижалась при действии повышенной температуры как при обычном, так и при повышенном уровне CO₂ на 28 и 18%, соответственно, а у *A. retroflexus* при всех видах воздействий в среднем на 33% по сравнению с контролем (рис. 2а).

У обоих видов *C. quinoa* и *A. retroflexus* значения интенсивности транспирации (E) при повышенной температуре снижались на 23 и 45% соответственно. Кроме того, снижение E на 20%, по сравнению с контролем, происходило у растений *A. retroflexus* при действии eCO₂ и совместном действии факторов (eCO₂ и eT) (рис. 2б).

Интенсивность темнового митохондриального дыхания (Rd) у обоих видов возрастала при действии повышенной температуры и повышенной концентрации CO₂: на 36% у *C. quinoa* и на 83% у *A. retroflexus*. У *A. retroflexus* Rd также увеличивалась на 39% при действии повышенной темпера-

туры и на 86% в условиях повышенной концентрации CO₂ по сравнению с контролем (рис. 2в).

Эффективность использования воды (WUE) у обоих видов снижалась при совместном действии факторов (eCO₂ и eT): на 26% у *C. quinoa* и на 13% у *A. retroflexus* по сравнению с контролем. У *A. retroflexus* происходило снижение WUE и при действии повышенного уровня CO₂ при обычной температуре на 13% по сравнению с контролем (рис. 2г).

Активность ФС I и эффективность функционирования ФС II

Эффективность функционирования ФС I и циклического транспорта электронов была более значительной у растений *A. retroflexus*. При всех вариантах воздействий данный параметр достоверно не изменялся у обоих видов (рис. 3а).

Эффективность максимального квантового выхода фотосинтеза ФС II (F_v/F_m) у растений обоих видов снижалась при совместном действии eCO₂ и eT в среднем на 20%. У *C. quinoa* она также снижалась на 20% при действии только eT (рис. 3б).

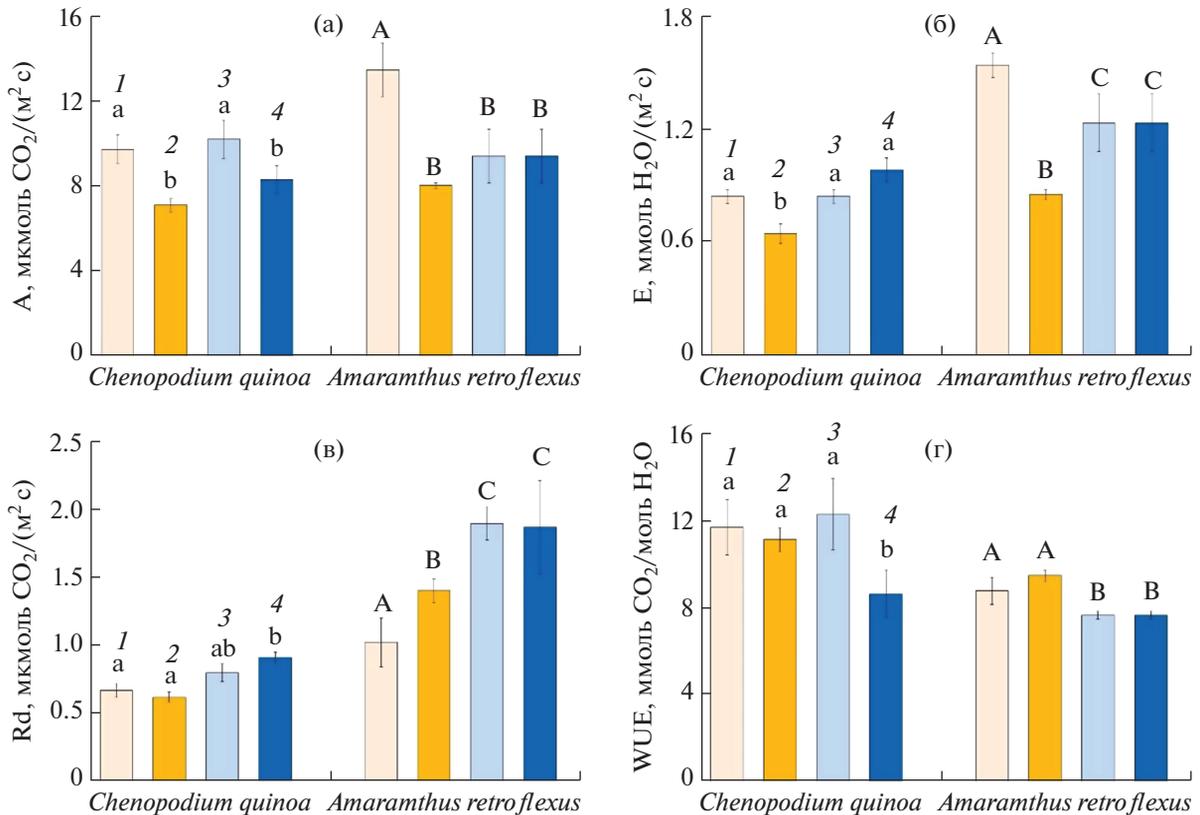


Рис. 2. Интенсивность видимого фотосинтеза (а), транспирации (б), темнового дыхания (в) и эффективность использования воды (г) у растений *Chenopodium quinoa* и *Amaranthus retroflexus*, выращенных при разных концентрациях CO₂ и кратковременном действии повышенной температуры (35°C, еТ). (1) Контрольные растения, выращенные при естественной (400 ppm) концентрации CO₂ (аCO₂); (2) растения, выращенные при аCO₂ и 4-дневном воздействии еТ; (3) растения, выращенные при повышенной (800 ppm) концентрации CO₂ (еCO₂); (4) растения, выращенные при еCO₂ и 4-дневном воздействии еТ (еCO₂ и еТ). Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $P < 0.05$.

Снижение F_v/F_m у обоих видов при совместном действии еCO₂ и еТ и у *C. quinoa* при еТ сопровождалось аналогичным снижением на ~20% максимальной квантовой эффективности фотохимии ФС II при заданной интенсивности света ($Y' = F'_v/F'_m$) и на ~14% эффективного квантового выхода фотохимии ФС II при заданной интенсивности света ($\Phi_{\text{ФСII}} (F'_q/F'_m)$) (рис. 3в, г). В контрольных условиях нефотохимическое тушение (NPQ) было более значительным (почти в 3 раза) у растений *A. retroflexus* по сравнению с растениями *C. quinoa*, у которых при действии еТ и при совместном действии еCO₂ и еТ NPQ снижалось на 38% (рис. 3д).

Содержание фотосинтетических ферментов

Содержание фермента РБФК/О достоверно не изменялось в результате воздействия всех вариантов факторов ни у растений *C. quinoa*, ни у *A. retroflexus* (рис. 4а).

Содержание фермента ФЕПк было снижено только у растений *C. quinoa*, выращенных при действии еCO₂ и при совместном действии еCO₂ и еТ на 44 и 51% по сравнению с контролем соответственно. У растений *A. retroflexus*, выращенных при совместном действии еCO₂ и еТ, наблюдалось возрастание содержания ФЕПк на 20% (рис. 4в).

Содержание ГДК снижалось в среднем в 2 раза только у растений *C. quinoa* при всех исследованных вариантах воздействия (рис. 4г).

Многофакторный анализ физиологических и биохимических параметров

Для оценки степени изменений характеристик фотосинтетического аппарата и механизмов устойчивости в условиях повышенной температуры и концентрации CO₂ был проведен многофакторный анализ методом главных компонент (PCA) биохимических и физиологических параметров *C. quinoa* (C₃) и *A. retroflexus* (C₄). На рис. 5а видно, что у растений *C. quinoa* первой основной компо-

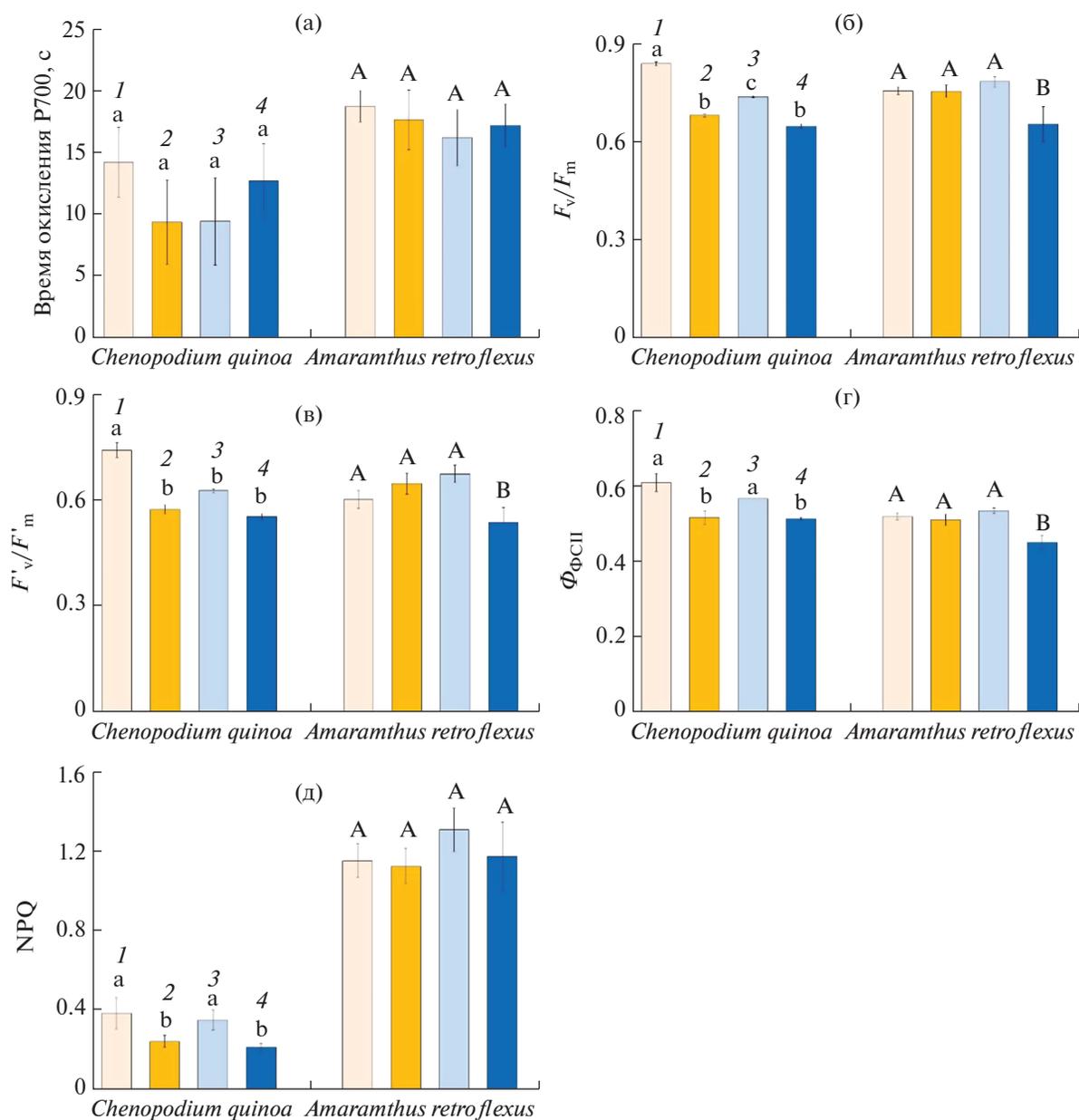


Рис. 3. Фотосинтетические параметры у растений *Chenopodium quinoa* и *Amaranthus retroflexus*, выращенных при разных концентрациях CO_2 и кратковременном действии повышенной температуры (35°C , еТ). (а) Активность циклического транспорта электронов ФС I; (б) максимальный квантовый выход флуоресценции ФС II (F_v/F_m); (в) максимальная квантовая эффективность фотохимии ФС II при заданной интенсивности света (F'_v/F'_m); (г) эффективный квантовый выход фотохимии ФС II при заданной интенсивности света ($\Phi_{\text{ФСII}}$); (д) нефотохимическое тушение флуоресценции ФС II (NPQ). (1) Контрольные растения, выращенные при естественной (400 ppm) концентрации CO_2 (а CO_2); (2) растения, выращенные при а CO_2 и 4-дневном воздействии еТ; (3) растения, выращенные при повышенной (800 ppm) концентрации CO_2 (е CO_2); (4) растения, выращенные при е CO_2 и 4-дневном воздействии еТ (е CO_2 и еТ). Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $P < 0.05$.

нентой (PC1) четко отделяются от контроля два варианта с повышенной температурой: еТ и совместным действием е CO_2 и еТ. Разделение составляет 41.15% от общей вариации. Основными элементами PC1 были характеристики функционирования ФС II (табл. 1). Полученные результаты свидетельствуют о значительном воздействии

повышенной температуры на данный C_3 -вид. Вторая главная компонента (PC2) разделила контроль и вариант е CO_2 (рис. 5а). Разделение составило 18.63% от общей вариации. В данном случае основными значимыми параметрами явились содержание ферментов ГДК и ФЕПк (ключевых ферментов фотодыхательного гликолатного цик-

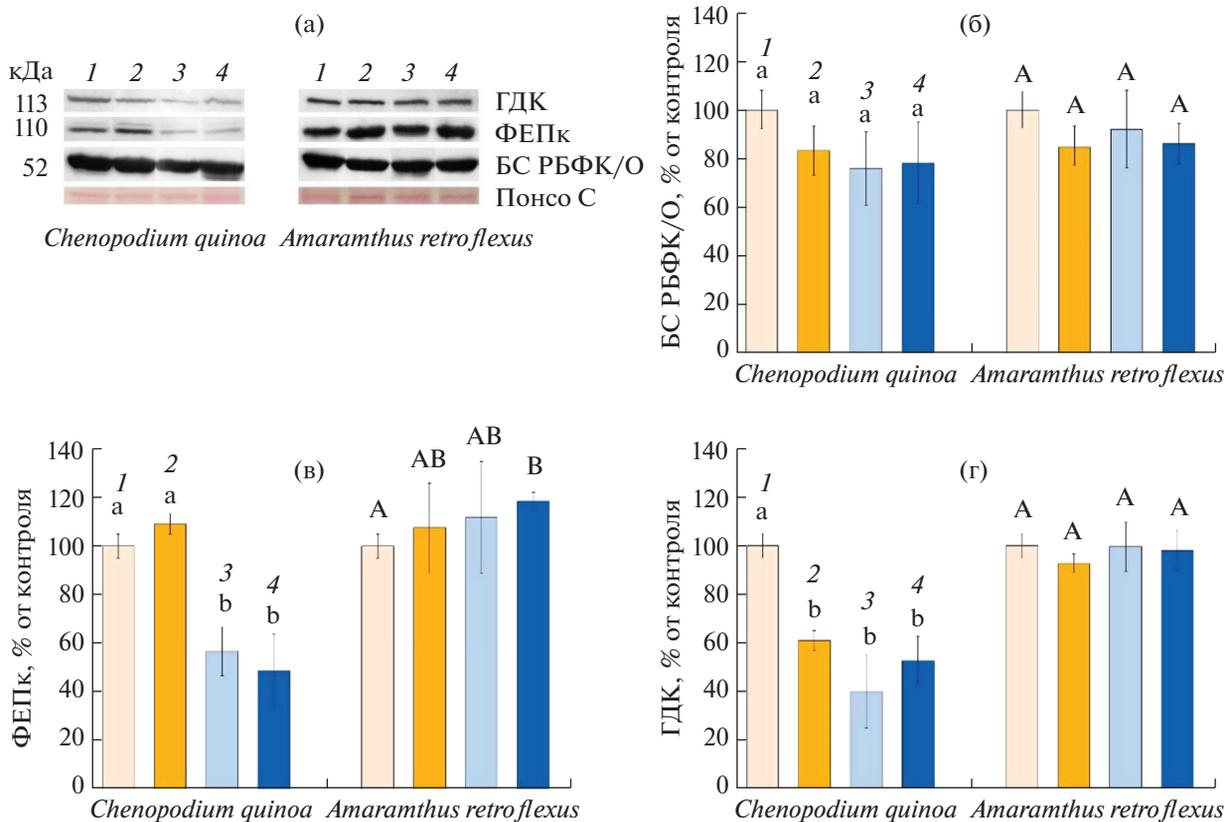


Рис. 4. Результаты вестерн-блоттинга белков БС РБФК/О (большая субъединица) (а, б), ФЕПк (а, в) и ГДК (а, г) в листьях растений *Chenopodium quinoa* и *Amaranthus retroflexus*, выращенных при разных концентрациях CO₂ и кратковременном действии повышенной температуры (35°C, еТ). (1) Контрольные растения, выращенные при естественной (400 ppm) концентрации CO₂ (аCO₂); (2) растения, выращенные при аCO₂ и 4-дневном воздействии еТ; (3) растения, выращенные при повышенной (800 ppm) концентрации CO₂ (еCO₂); (4) растения, выращенные при еCO₂ и 4-дневном воздействии еТ (еCO₂ и еТ). Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $P < 0.05$.

ла и УМК), а также интенсивность транспирации (табл. 1). Первых двух РС компонент достаточно для объяснения 59.78% изменений от общей вариации. На рисунке 5б приведены результаты РСА-анализа данных C₄-вида *A. retroflexus*. У данного вида первой основной компонентой (PC1) разделяются только варианты контроль и совместное действие факторов (еCO₂ и еТ). Разделение составляет 30.02% от общей вариации. Основными элементами PC1 были характеристики функционирования ФС II и содержание ФЕПк (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольных условиях исследуемые растения *C. quinoa* (C₃) и *A. retroflexus* (C₄) отличались по ряду биохимических и физиологических параметров: у C₄-вида, по сравнению с C₃-видом, были более высокие значения прироста сухой биомассы, интенсивности видимого фотосинтеза (A) и транспирации (E), активности ФС I и содержания пролина (рис. 1–3). Эти данные свидетельствуют о более эффективном функционировании фото-

синтетического аппарата и УМК у *A. retroflexus*, которые обеспечили более значительный прирост биомассы, по сравнению с C₃-видом. Низкие значения WUE в контрольных условиях у *A. retroflexus* можно объяснить видоспецифичностью данного параметра [3]. Более высокие значения активности ФС I у C₄-вида свидетельствуют о более интенсивном циклическом транспорте электронов ФС I. Как известно, две дополнительные молекулы АТФ требуются для каждой молекулы CO₂, фиксированной в результате действия C₄-цикла [33, 34]. Полученные нами данные согласуются с результатами других авторов [3].

Увеличение температуры влияет почти на все биологические процессы в растениях, включая морфогенез, текучесть мембранных липидов и их состав, камбиальную активность [4]. Одним из наиболее термочувствительных процессов растений считается фотосинтез. На C₃-видах показано, что термолабильными лимитирующими этапами фотосинтеза являются световые реакции (компоненты ФС II) и темновые реакции (на уровне РБФК/О-активазы) [35, 36]. При высокой темпе-

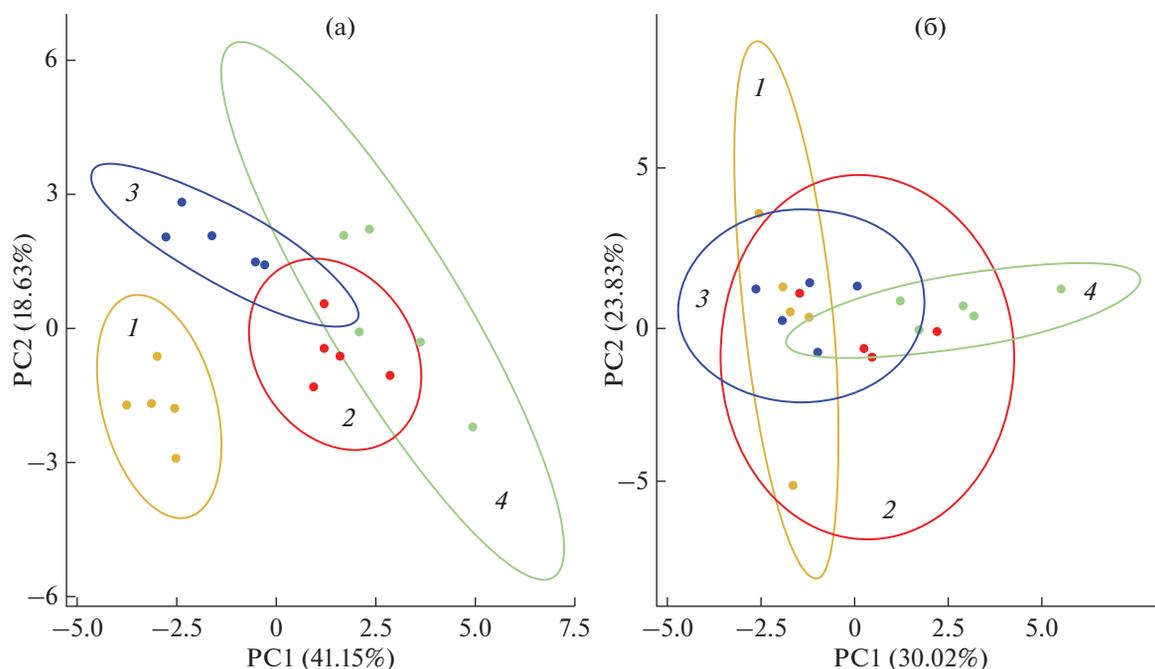


Рис. 5. Многофакторный анализ методом главных компонент (PCA) биохимических и физиологических параметров, участвующих в процессе адаптации растений *Chenopodium quinoa* и *Amaranthus retroflexus*, выращенных при разных концентрациях CO_2 и кратковременном действии повышенной температуры (35°C , eT). (1) Контрольные растения, выращенные при естественной (400 ppm) концентрации CO_2 (aCO_2); (2) растения, выращенные при aCO_2 и 4-дневном действии eT ; (3) растения, выращенные при повышенной (800 ppm) концентрации CO_2 (eCO_2); (4) растения, выращенные при eCO_2 и 4-дневном действии eT (eCO_2 и eT).

ратуре РБФК/О-активаза может образовывать неактивные агрегаты, что приводит к замедлению активности карбоксилазной функции РБФК/О [8, 18]. Проведенный нами PCA-анализ морфофизиологических и биохимических параметров *C. quinoa* подтвердил, что для данного C_3 -вида значимыми параметрами в условиях повышенной температуры были показатели эффективности функционирования ФС II (рис. 5а; табл. 1). PCA-анализ C_4 -вида *A. retroflexus* не выявил значимой реакции на температурное воздействие. Однако некоторые параметры при действии eT достоверно изменялись. Наблюдалось значительное снижение интенсивностей А и Е, которые сопровождались признаками осмотического стресса, о чем свидетельствует значительное увеличение содержания пролина (рис. 1, 2).

Неоднозначность реакции C_3 -растений на высокий уровень CO_2 может быть связана со сложным и комплексным характером воздействия eCO_2 на углеводный обмен растений. Так, eCO_2 , снижая устьичную проводимость, влияет на динамику как углеродного, так и водного обмена растений. С одной стороны, низкие значения устьичной проводимости отрицательно действуют на интенсивность поступления CO_2 в растения, что частично компенсируется стимуляцией скорости карбоксилирования РБФК/О высоким содержа-

нием CO_2 [9, 37]. С другой стороны, они могут привести к значительной экономии воды в растениях, снижая уровень транспирации, что приводит к увеличению эффективности использования воды [6, 9]. В наших экспериментах у растений *C. quinoa* не наблюдалось возрастания WUE, вследствие снижения Е при действии eCO_2 (рис. 2). Для C_3 -видов характерно подавление интенсивности фотодыхания высоким уровнем CO_2 за счет снижения оксигеназной функции РБФК/О [9]. При удвоении уровня CO_2 снижение фотодыхания может составить более $\sim 50\%$ [6]. В проведенных нами экспериментах снижение содержания ключевого фермента гликолатного фотодыхательного цикла ГДК у растений *C. quinoa* при действии eCO_2 составило 60% (рис. 4г). Проведенный нами PCA-анализ действия eCO_2 на параметры *C. quinoa* подтвердил, что для данного C_3 -вида значимыми параметрами были содержание фермента ГДК и интенсивность транспирации (рис. 5а, табл. 1). Хотя PCA-анализ C_4 -вида *A. retroflexus* не выявил значимой реакции на воздействие eCO_2 , однако некоторые параметры у этого вида при eCO_2 достоверно изменялись. В частности, наблюдалось снижение интенсивностей А и Е, что сопровождалось окислительным стрессом, наличие которого подтверждает 2-кратное увеличение содержания МДА и значительное увеличение диссипацион-

Таблица 1. Факторные нагрузки биохимических и физиологических параметров на главные компоненты (PC1 и PC2) многофакторного анализа (РСА) растений *Chenopodium quinoa* и *Amaranthus retroflexus*, выращенных при естественной (400 ppm) и повышенной (800 ppm) концентрациях CO₂ и кратковременном действии повышенной температуры (35°C)

Параметры	<i>C. quinoa</i>		<i>A. retroflexus</i>	
	PC1	PC2	PC1	PC2
Сухая биомасса	-0.198	0.052	-0.143	0.274
Содержание воды	0.255	-0.270	0.314	-0.085
Содержание пролина	-0.213	-0.143	0.308	-0.171
Содержание МДА	0.245	0.139	0.069	0.152
A	-0.265	0.325	0.049	0.496
Rd	-0.133	0.364	0.251	0.040
E	-0.223	0.375	0.029	0.467
WUE	-0.233	0.204	0.066	0.459
ФС I	-0.178	0.116	0.071	-0.147
F_v/F_m	-0.349	-0.203	-0.400	-0.118
F'_v/F'_m	-0.335	-0.236	-0.325	-0.187
$\Phi_{\text{ФСII}}$	-0.325	-0.122	-0.391	0.047
NPQ	-0.296	-0.054	-0.219	0.108
Содержание РБФК/О	-0.295	0.026	-0.324	-0.142
Содержание ФЕПк	-0.108	-0.374	0.330	-0.271
Содержание ГДК	-0.143	-0.442	-0.160	-0.108

Примечание. Полужирным шрифтом показаны наиболее значимые параметры. A – интенсивность видимого фотосинтеза; Rd – интенсивность темнового дыхания; E – интенсивность транспирации; WUE – эффективность использования воды; F_v/F_m – максимальный квантовый выход флуоресценции ФС II; F'_v/F'_m – максимальная квантовая эффективность фотохимии ФС II при заданной интенсивности света; $\Phi_{\text{ФСII}}$ – эффективный квантовый выход фотохимии ФС II при заданной интенсивности света; NPQ – нефотохимическое тушение.

ных дыхательных затрат в темновом митохондриальном дыхании (рис. 1г, 2в). Снижение E у C₄-растений при действии eCO₂ показано и другими авторами [11, 38]. О влиянии eCO₂ на активность, содержание и экспрессию генов РБФК/О у C₄-растений информация противоречивая: экспрессия может как снижаться [39], так и увеличиваться [38]. Это объясняется тем, что гены, кодирующие важные фотосинтетические ферменты, необходимые для эффективного функционирования C₄-фотосинтеза, роста биомассы и накопления сахарозы, по-разному регулируются в условиях eCO₂ и связано это с видоспецифичностью или с разновидностью C₄-пути и/или комбинированным воздействием высоких экологических нагрузок, сопровождающих eCO₂.

РСА-анализ морфофизиологических и биохимических параметров при совместном действии eCO₂ и eT продемонстрировал их значительные отличия по первой компоненте (PC1) от кон-

трольного варианта у обоих видов (рис. 5). Как у C₃-, так и у C₄-вида значимыми параметрами были показатели эффективности функционирования ФС II, а у *A. retroflexus* еще и содержание ФЕПк (рис. 5а, б; табл. 1). При этом у C₃-вида решающим фактором была eT, поскольку подобным образом растения реагировали на данный фактор в отдельности. Воздействие eCO₂ и совместное действие eCO₂ и eT одинаково негативно влияли на содержание у *C. quinoa* фотодыхательного фермента ГДК. Это согласуется с данными других авторов, показавших снижение фотодыхания в результате подавления eCO₂ функции оксигенации РБФК/О [6, 9]. Характерной особенностью совместного действия eCO₂ и eT на C₃-вид *C. quinoa* было снижение сухой биомассы, содержания воды в тканях и WUE (рис. 1, 2). Из работ других авторов следует, что *C. quinoa* проявляет очень разнообразную реакцию по перечисленным параметрам в зависимости от генотипа и фенологической стадии

[16]. О наличии окислительного стресса свидетельствует увеличение содержания МДА, а усиление темнового дыхания, вероятно, связано с его диссипационной и защитной функцией от окислительного стресса (рис. 1, 2). У C_4 -вида при совместном действии eCO_2 и eT возрастание содержания ФЕПк свидетельствует об усилении роли УКМ и, возможно, о рассогласовании функционирования цикла Кальвина и УКМ (рис. 4). Данные изменения фотосинтетических параметров сопровождались значительным возрастанием содержания пролина, связанным в основном с температурным фактором (рис. 1), и возрастанием содержания МДА, свидетельствующим об окислительном стрессе, связанным у данного C_4 -вида с eCO_2 (рис. 1). При совместном действии eCO_2 и eT у обоих видов наблюдалось снижение WUE, и в большей степени у C_3 -вида.

Итак, C_4 -вид *A. retroflexus*, по сравнению с C_3 -видом *S. quinoa*, продемонстрировал в контрольных условиях более высокие значения интенсивности фотосинтеза и транспирации, активности ФС I, а также низкое содержание пролина. На действие eT более сильно реагировал C_3 -вид, наблюдалось подавление световых реакций (ФС II), цикла Кальвина и фотодыхания. У C_4 -вида подавлялись интенсивность фотосинтеза и транспирации. Сильное возрастание пролина у *A. retroflexus* свидетельствует о тепловом стрессе. На действие eCO_2 C_3 -вид реагировал значительным снижением фотодыхания, а у C_4 -вида признаки окислительного стресса сопровождались подавлением интенсивности фотосинтеза, транспирации и возрастанием темнового дыхания, вероятно, связанного с диссипационной и защитной функцией. Смягчающий эффект eCO_2 на термоустойчивость C_3 - и C_4 -растений, показанный в ряде работ [2, 20–22], в наших экспериментах у растений *S. quinoa* и *A. retroflexus* не был установлен. Действие eT на C_3 -вид было главным повреждающим фактором, который при действии eCO_2 приводил еще к снижению роста и окислительному стрессу. У C_4 -вида *A. retroflexus* совместное действие eCO_2 и eT вызывало дополнительно возрастание содержания ключевого фермента УКМ – ФЕПк. А сочетание температурного стресса, вызванного eT , и окислительного стресса, вызванного eCO_2 , приводило к нарушению эффективности ФС II. Таким образом, C_3 -растения *S. quinoa* в стрессовых условиях проявили большую вариабельность фотосинтетического и устьичного аппарата, а также способность к акклиматации фотосинтеза к повышенной температуре на уровне световых и темновых реакций, но слабую устойчивость к совместному действию eCO_2 и eT , тогда как C_4 -растения *A. retroflexus* продемонстрировали изначально большую адаптированность к теплой среде, за счет нали-

чия узкоспециального УКМ, а также стабильность ростовых параметров, однако у данного вида при совместном действии eCO_2 и eT помимо окислительного стресса наблюдались признаки теплового стресса. Тем не менее, на основании анализа первичной продуктивности изученных растений, можно предположить, что в условиях совместного действия eCO_2 и eT преимущество будут иметь C_4 -виды.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24-00551).

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. *Ain Q.T., Siddique K., Bawazeer S., Ali I., Mazhar M., Rasool R., Mubeen B., Ullah F., Unar A., Jafar T.H.* Adaptive mechanisms in quinoa for coping in stressful environments: an update // *PeerJ*. 2023. V. 11: e14832. <https://doi.org/10.7717/peerj.14832>
2. *Shanker A.K., Gunnapaneni D., Bhanu D., Vanaja M., Lakshmi N.J., Yadav S.K., Prabhakar M., Singh V.K.* Elevated CO_2 and water stress in combination in plants: Brothers in arms or partners in crime? // *Biology*. 2022. V. 11. P. 1330. <https://doi.org/10.3390/biology11091330>
3. *Cao Q., Li G., Liu F.* Elevated CO_2 enhanced water use efficiency of wheat to progressive drought stress but not on maize // *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. P. 953712. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.953712>
4. *Dusenge M.E., Duarte A.G., Way D.A.* Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO_2 and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration // *New Phytol.* 2019. V. 221. P. 32. <https://doi.org/10.1111/nph.15283>
5. *Yadav S., Elansary H.O., Mattar M.A., Elhindi M.K., Alotaibi A.M., Mishra A.* Differential accumulation of metabolites in *Suaeda* species provides new insights into abiotic stress tolerance in C_4 -halophytic species in elevated CO_2 conditions // *Agronomy*. 2021. V. 11. P. 131. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010131>
6. *Xu Z., Jiang Y., Zhou G.* Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO_2 with environmental stress in plants // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 701. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00701>
7. *Reich P.B., Hobbie S.E., Lee T.D., Pastore M.A.* Unexpected reversal of C_3 versus C_4 grass response to elevated CO_2 during a 20-year field experiment // *Science*. 2018. V. 360. P. 317. <https://doi.org/10.1126/science.aas9313>
8. *Lara M.V., Andreo C.S.* C_4 plants adaptation to high levels of CO_2 and to drought environments // *Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations*. Shanker, A., (Ed.). InTech: Hampshire, UK, 2011. P. 415. <https://doi.org/10.5772/24936>

9. Zheng Y., Li F., Hao L., Yu J., Guo L., Zhou H., Ma C., Zhang X., Xu M. Elevated CO₂ concentration induces photosynthetic down-regulation with changes in leaf structure, non-structural carbohydrates and nitrogen content of soybean // BMC Plant Biol. 2019. V. 19. P. 255.
<https://doi.org/10.1186/s12870-019-1788-9>
10. Jothiramshekar S., Benjamin J.J., Krishnasamy R., Pal A., George S., Swaminathan R., Parida A. Responses of selected C₃ and C₄ halophytes to elevated CO₂ concentration under salinity // Curr. Sci. 2018. V. 115. P. 129.
<https://doi.org/10.18520/cs/v115/i1/129-135>
11. Faria A.P., Marabesi M.A., Gaspar M., França M.G. The increase of current atmospheric CO₂ and temperature can benefit leaf gas exchanges, carbohydrate content and growth in C₄ grass invaders of the Cerrado biome // Plant Physiol. Biochem. 2018. V. 127. P. 608.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.042>
12. Wang M., Xie B., Fu Y., Dong C., Hui L., Guanghui L., Liu H. Effects of different elevated CO₂ concentrations on chlorophyll contents, gas exchange, water use efficiency, and PSII activity on C₃ and C₄ cereal crops in a closed artificial ecosystem // Photosynth. Res. 2015. V. 126. P. 351.
<https://doi.org/10.1007/s1120-015-0134-9>
13. Boretti A., Florentine S. Atmospheric CO₂ concentration and other limiting factors in the growth of C₃ and C₄ plants // Plants. 2019. V. 8. P. 92.
<https://doi.org/10.3390/plants8040092>
14. Prash C.M., Sonnewald U. Simultaneous application of heat, drought, and virus to *Arabidopsis* plants reveals significant shifts in signaling networks // Plant Physiol. 2013. V. 162. P. 1849.
<https://doi.org/10.1104/pp.113.221044>
15. 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/s1120-013-9874-6>
16. Hinojosa L., González J.A., Barrios-Masias F.H., Fuentes F., Murphy K.M. Quinoa abiotic stress responses: A review // Plants. 2018. V. 7. P. 106.
<https://doi.org/10.3390/plants7040106>
17. Li G., Chen T., Feng B., Peng S., Tao L., Fu G. Respiration, rather than photosynthesis, determines rice yield loss under moderate high-temperature conditions // Front Plant Sci. 2021. V. 12. P. 678653.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.678653>
18. Sage R.F., Kubien D.K. The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis // Plant, Cell Environ. 2007. V. 30. P. 1086.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01682.x>
19. Wang D., Heckathorn S.A., Barua D., Joshi P., Hamilton E.W., Lacroix J.J. Effects of elevated CO₂ on the tolerance of photosynthesis to acute heat stress in C₃, C₄, and CAM species // Am. J. Bot. 2008. V. 95. P. 165.
<https://doi.org/10.3732/ajb.95.2.165>
20. Zinta G., AbdElgawad H., Domagalska M.A., Vergauwen L., Knapen D., Nijss I. Physiological, biochemical, and genome-wide transcriptional analysis reveals that elevated CO₂ mitigates the impact of combined heat wave and drought stress in *Arabidopsis thaliana* at multiple organizational levels // Glob. Chang. Biol. 2014. V. 20. P. 3670.
<https://doi.org/10.1111/gcb.12626>
21. Zinta G., AbdElgawad H., Peshev D., Weedon J.T., Van den Ende W., Nijss I. Dynamics of metabolic responses to periods of combined heat and drought in *Arabidopsis thaliana* under ambient and elevated atmospheric CO₂ // J. Exp. Bot. 2018. V. 69. P. 2159.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ery055>
22. Zhou R., Yu X., Wen J., Jensen N.B., Dos Santos T.M., Wu Z., Rosenqvist E., Ottosen C.O. Interactive effects of elevated CO₂ concentration and combined heat and drought stress on tomato photosynthesis // BMC Plant Biol. 2020. V. 20. P. 260.
<https://doi.org/10.1186/s12870-020-02457-6>
23. Arrivault S., Alexandre Moraes T., Obata T., Medeiros D.B., Fernie A.R., Boulouis A., Ludwig M., Lunn J.E., Borghi G.L., Schlereth A., Guenther M., Stitt M. Metabolite profiles reveal interspecific variation in operation of the Calvin-Benson cycle in both C₄ and C₃ plants // J. Exp. Bot. 2019. V. 70. P. 1843.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erz051>
24. Yu J., Li R., Fan N., Yang Z., Huang B. Metabolic pathways involved in carbon dioxide enhanced heat tolerance in bermudagrass // Front. Plant Sci. 2017. V. 8. P. 1506.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01506>
25. Bordignon L., Faria A.P., França M.G.C., Fernandes G.W. Osmotic stress at membrane level and photosystem II activity in two C₄ plants after growth in elevated CO₂ and temperature // Ann. Appl. Biol. 2019. V. 174. P. 113.
<https://doi.org/10.1111/aab.12483>
26. Jeong H.M., Kim H.R., Hong S., You Y.H. Effects of elevated CO₂ concentration and increased temperature on leaf quality responses of rare and endangered plants // J. Ecol. Environ. 2018. V. 42.
<https://doi.org/10.1186/s41610-017-0061-0>
27. Kirschbaum M.U.F., McMillan A.M.S. Warming and elevated CO₂ have opposing influences on transpiration. Which is more important? // Curr. Forestry Rep. 2018. V. 4. P. 51.
<https://doi.org/10.1007/s40725-018-0073-8>
28. Wei Z., Abdelhakim L., Fang L., Peng X., Liu J., Liu F. Elevated CO₂ effect on the response of stomatal control and water use efficiency in amaranth and maize plants to progressive drought stress // Agric. Water Manage. 2022. V. 266.
<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2022.107609>
29. Schafleitner R., Lin Y.-P., Dinssa F., N'Danikou S., Finkers R., Minja R., Abukutsa-Onyango M., Nyonje W., Lin C.-Y., Wu T.-H., Sigalla J.P., van Zonneveld M., Hsiao Y.-Y., Kumar S., Wu W.-J., et al. The World Vegetable Center *Amaranthus* germplasm collection: Core collection development and evaluation of agronomic and nutritional traits // Crop Sci. 2022. V. 62. P. 1173.
<https://doi.org/10.1002/csc2.20715>
30. 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>
31. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts // Arch. Biochem. Biophys. 1968. V. 125. P. 180.
[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

32. *Shuyskaya E., Rakhmankulova Z., Prokofieva M., Saidova L., Toderich K., Voronin P.* Intensity and duration of salinity required to form adaptive response in C₄ halophyte *Kochia prostrata* (L.) Shrad. // *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.955880>
33. *Nakamura N., Iwano M., Havaux M., Yokota A., Munekage Y.N.* Promotion of cyclic electron transport around photosystem I during the evolution of NADP-malic enzyme-type C₄ photosynthesis in the genus *Flaveria* // *New Phytol.* 2013. V. 199. P. 832. <https://doi.org/10.1111/nph.12296>
34. *Yadav S., Mishra A.* Ectopic expression of C₄ photosynthetic pathway genes improves carbon assimilation and alleviate stress tolerance for future climate change // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2020. V. 26. P. 195. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00751-8>
35. *Crafts-Brandner S.J., Salucci M.E.* Sensitivity of photosynthesis in a C₄ plant, maize, to heat stress // *Plant Physiol.* 2002. V. 129. P. 1773. <https://doi.org/10.1104/pp.002170>
36. *Heckathorn S.A., Ryan S.L., Baylis J.A., Wang J.A., Hamilton E.W., Cundiff L.* In vivo evidence from an *Agrostis stolonifera* selection genotype that chloroplast small heat-shock proteins can protect photosystem II during heat stress // *Funct. Plant Biol.* 2002. V. 29. P. 933. <https://doi.org/10.1071/PP01191>
37. *Singh S.K., Reddy V.R.* Methods of mesophyll conductance estimation: its impact on key biochemical parameters and photosynthetic limitations in phosphorus stressed soybean across CO₂ // *Physiol. Plant.* 2016. V. 157. P. 234. <https://doi.org/10.1111/ppl.12415>
38. *Souza A.P., Gaspar M., Silva E.A., Ulian E.C., Wacławowski A.J., Nishiyama M.Y. Jr., Santos R.V. Teixeira M.M., Souza G.M., Buckeridge M.S.* Elevated CO₂ increases photosynthesis, biomass and productivity, and modifies gene expression in sugarcane // *Plant Cell Environ.* 2008. V. 31. P. 1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01822.x>
39. *Huang Y., Fang R., Li Y., Liu X., Wang G., Yin K., Jin J., Herbert S.J.* Warming and elevated CO₂ alter the transcriptomic response of maize (*Zea mays* L.) at the silking stage // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 17948. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54325-5>