

ОБЗОРЫ

УДК 581.1

**СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ
ОКСИДАЗЫ РАСТЕНИЙ¹**© 2022 г. Е. В. Гармаш^{а, *}

^аИнститут биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии
наук, Сыктывкар, Россия

*e-mail: garmash@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 28.04.2021 г.

После доработки 01.06.2021 г.

Принята к публикации 07.06.2021 г.

В обзоре рассмотрены актуальные вопросы регуляции терминальной альтернативной оксидазы митохондрий растений (АО), являющиеся предметом современных исследований и дискуссий. АО обеспечивает транспорт электронов по альтернативному нефосфорилирующему цианидустойчивому пути в митохондриальной ЭТЦ (ЭТЦ) и играет важную роль в поддержании окислительно-восстановительного баланса клетки и защите от стресса. Основные сведения по сигналингу АО получены в работах по изучению экспрессии гена *AOX1a Arabidopsis thaliana (AtAOX1a)*. Проанализирована информация об экспрессии *AOX* у различных видов растений. Описаны механизмы транскрипционного и посттранскрипционного контроля экспрессии генов *AOX*. Рассмотрена роль некоторых *цис*-регуляторных элементов промотора *AtAOX1a* и связанных с ними транскрипционных факторов. Показано, что трансдукция сигнала, вызывающего экспрессию генов *AOX*, может происходить по anterogradному и retrogradному пути. Приведены сведения о митохондриальной retrogradной регуляции АО, АФК-зависимых и АФК-независимых сигнальных путях индукции экспрессии *AOX*. Дана гипотетическая последовательность сигнальных событий индукции светом экспрессии *AOX1a* в клетке листа пшеницы в процессе зеленения. Описано взаимодействие сигналинга АО с гормональными сигнальными путями и индукция *AOX* сигналами пластидного происхождения. В заключении

¹ К статье имеются дополнительные материалы, доступные для авторизованных пользователей по doi:

подчеркнуто, что АО интегрирована в общую сигнальную сеть клетки, являясь как мишенью, так и регулятором сигнальных событий.

Ключевые слова: альтернативная оксидаза (АО), митохондриальная ретроградная регуляция, антероградный путь индукции генов *АОХ*, *цис*-регуляторные элементы промотора, транскрипционные и посттранскрипционные механизмы экспрессии, посттрансляционная регуляция активности АО

ОБЗОРЫ

УДК 581.1

**РАЗНООБРАЗИЕ ТИПОВ ДИАЦИЛГЛИЦЕРИН АЦИЛТРАНСФЕРАЗ
РАСТЕНИЙ И ОСОБЕННОСТИ ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ, ИЛИ СКОЛЬКО
DGAT НУЖНО РАСТЕНИЯМ**

© 2022 г. О. С. Павленко^{а, *}, Ю. В. Акашкина^а, А. В. Сухорукова^а, Р. А.
Сидоров^а, В. Д. Цыдендамбаев^а

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

*e-mail: Helliga.p@gmail.com

Поступила в редакцию 05.04.2021 г.

После доработки 07.05.2021 г.

Принята к публикации 07.05.2021 г.

Появление *sn*-1,2-диацил-3-ацилтрансфераз (DGAT, ДАГАТ) – ключевых ферментов биосинтеза триацилглицеринов (ТАГ) – можно рассматривать как важный ароморфоз в эволюции и органического мира в целом, и растений в частности, так как возникновение способности запасать углерод, энергию, воду и “строительные блоки” в виде гидрофобных соединений позволило повысить “емкость” запасных веществ в клетках и одновременно уменьшить объем органов запаса. DGAT есть практически у всех живых организмов от слизевиков, мхов, грибов, водорослей до млекопитающих и человека. Несмотря на такую распространенность в мире живой материи, проследить закономерности в организации, эволюции и функционировании этих ферментов очень непросто – у организма может быть несколько DGAT, принадлежащих к разным типам, имеющих разную локализацию в клетке, способных использовать разные субстраты или конкурировать за один. Их роднит только выполняемая функция – перенос от ацил-КоА остатка жирной кислоты (ЖК) на *sn*-1,2-диацил-глицерин (а в некоторых случаях DGAT могут ацилировать стеринны, высшие жирные спирты и другие субстраты), чтобы сформировать молекулу ТАГ. Активные исследования этих ферментов, продолжающиеся последние 50 лет, пока задают больше вопросов, чем ответов; вместе с тем, ясное понимание особенностей организации и функционирования DGAT открывает невероятные возможности в области биотехнологии и

генной инженерии функциональных липидов для пищевой, фармацевтической и сельскохозяйственной индустрии и т. д. В нашем обзоре мы предприняли попытку суммировать результаты исследований последних лет о структурных и функциональных особенностях DGAT, влиянии эндогенных и экзогенных факторов на уровень экспрессии их генов, и адаптивной роли генов этих белков в эволюции живых организмов.

Ключевые слова: диацилглицерин ацилтрансфераза, DGAT, триацилглицерин, метаболизм липидов

ОБЗОРЫ*УДК 581.1***ДОСТУПНЫЙ АРСЕНАЛ СИСТЕМ CRISPR/CAS ДЛЯ ГЕНОМНОГО
РЕДАКТИРОВАНИЯ РАСТЕНИЙ**□ **2022 г. Е. В. Михайлова^a *, Э. А. Хуснутдинов^a, А. В. Чемерис^a, Б. Р. Кулуев^a**

*^a Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия*

**e-mail: mikhele@list.ru*

Поступила в редакцию 01.03.2021 г.

После доработки 06.04.2021 г.

Принята к публикации 15.04.2021 г.

В настоящее время наиболее быстрым и эффективным методом получения растений с желаемыми признаками является геномное редактирование CRISPR/Cas. Основное его отличие от традиционной геномной инженерии состоит в том, что редактирование производится в заранее известном месте генома. Поэтому помимо прикладного применения, геномное редактирование все чаще используют в фундаментальных исследованиях функций собственных генов растений. Однако технология CRISPR/Cas до сих пор изучается в большей степени не на растениях, а на бактериальных и животных объектах. Тем не менее, существуют простые в применении системы векторов, содержащие широкий ассортимент элементов для редактирования генома растений, а также регуляции экспрессии целевых генов. От исследователя требуется только выбрать подходящую ему систему и адаптировать её под свой объект и цели эксперимента. В данной статье представлен подробный обзор возможностей, которые предоставляют доступные на сегодняшний день системы для геномного редактирования растений.

Ключевые слова: геномное редактирование, CRISPR, Cas9, Cas12a, Cas12b, Csy4, Ecl.2, геминивирuсы, нокаут, нокин

ОБЗОРЫ

УДК 581.1

**НИТРАТНЫЙ СИГНАЛИНГ В РАСТЕНИЯХ.
ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ**© 2022 г. А. В. Никитин^а *, С. Ф. Измайлов*^аФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской Академии наук, Москва, Россия***e-mail: nitrogenexchange@mail.ru*

Поступила в редакцию 11.02.2021 г.

После доработки 15.04.2021 г.

Принята к публикации 17.04.2021 г.

В сопряжении с распознаванием (сенсинг) и транспортом рассматриваются сигнальные свойства нитрата (NO_3^-) у видов, различающихся в эволюционно-таксономическом отношении, от примитивных прокариот до цветковых растений. На основании сравнительно-физиологического анализа авторы делают предположения о некоторых путях филогенетического становления сигнальных каскадов, запускаемых указанным ионом. Возможно, нитрат возник на Земле еще в катархее при анаэробном характере первичной атмосферы. Далее появился кислородный фотосинтез, создав предпосылки для нитрификации как главного источника NO_3^- . Возрастающий градиент уровней нитрата в среде способствовал созданию полиморфизма его низко- и высокоаффинных сенсоров и транспортеров. Система сенсинга и сигналинга нитрата от прокариот была унаследована эукариотами, получив у них дальнейшее развитие. У цветковых растений налицо становление новых регуляторных механизмов, определяющих возможность тонкой настройки сенсинга и поглощения разных доз NO_3^- с участием транспортеров соответствующего сродства. В зависимости от органно-тканевой локализации данного иона расширяется спектр его сенсоров, что определяет метаболическую направленность основных функций растений, связанную с усвоением азота, фотосинтезом, ростовыми и продукционными процессами.

Ключевые слова: сенсинг нитрата, нитратный сигналинг, растения, грибы, прокариоты, биогеохимическая и молекулярная эволюция.

RESEARCH PAPERS**Detection of Cell-to-Cell Transport with Chlorophyll Microfluorometry: Selectivity of Metabolite Passage and Sensitivity to Sodium and Potassium Ions****A. A. Bulychev****Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia***e-mail: bulychev@biophys.msu.ru*

Received June 09, 2021; revised June 09, 2021; accepted June 09, 2021

Abstract – Pulse-amplitude-modulated chlorophyll microfluorometry was used to quantify the permeation of photometabolites across the plasmodesmata in characean algae. The method is based on cyclosis-mediated sensitivity of chlorophyll fluorescence in *Chara australis* R. Br. internodes to illumination of a remote cell area. The application of a local light (LL) pulse to one internode in combination with measurement of fluorescence changes in the neighbor internode provided the means to assess connectivity between two adjoining internodal cells. The cytoplasmic flow seems to contain two types of photometabolites that produce opposite changes in chlorophyll fluorescence. The cytoplasm irradiated by LL pulse is enriched with reducing equivalents that produce a transient increase in F' fluorescence owing to plastoquinone/ Q_A reduction; these metabolites were found to pass freely across the plasmodesmata. At high background irradiance, the «irradiated» cytoplasm contains an additional component that strongly quenches the maximal (F_m') fluorescence; this component did not permeate across the transnodal barrier. Thus, the plasmodesmata behaved like a selective filter that allowed penetration of reducing metabolites and restricted the passage of photoproducts accumulated under excessive light. The transnodal passage of permeable metabolites was further examined at various concentrations of NaCl and KCl in the medium. Both solutes inhibited the plasmodesmal conductivity but the inhibitory effect of KCl under short-term exposures was stronger than that of NaCl. In addition, the intracellular signaling was substantially suppressed upon the increase of KCl content in the medium. A possible relation between the plasma-membrane K^+ transporters and photosystem II operation is considered.

Keywords: *Chara australis*, intercellular communications, plasmodesmata, ionic regulation, chlorophyll fluorescence, membrane potential

Abbreviations: APW – artificial pond water; LL – local light (pulse).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.1

СТРУКТУРА ХЛОРЕНХИМЫ И ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ МЕМБРАН В ЛИСТЯХ
ГАЛОФИТОВ СЕМ. *Chenopodiaceae* С РАЗНЫМ ТИПОМ ФОТОСИНТЕЗА© 2022 г. О. А. Розенцвет^{a, *}, Е. В. Шуйская^b, Е. С. Богданова^a, В. Н. Нестеров^a, Л. А.
Иванова^{c, d}^a Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Институт
экологии Волжского бассейна Российской академии наук, Тольятти, Россия^b Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии
растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия^c Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад
Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия^d Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия* e mail: olgarozen55@mail.ru

Поступила в редакцию 31.03.2021 г.

После доработки 19.04.2021 г.

Принята к публикации 20.04.2021 г.

Изучены структура мезофилла и липидный профиль мембран в листьях четырех видов галофитов сем. *Chenopodiaceae* с разным типом фотосинтеза: однолетников *Salicornia perennans* (C₃-тип фотосинтеза) и *Sedobassia sedoides* (C₃-C₄-тип), *Climacoptera crassa* (C₄-НАД-тип) и многолетнего полукустарничка *Kochia prostrata* (C₄-НАДФ-тип), произрастающих в биотопах с разной степенью засоления и увлажнения почвы. Однолетники с суккулентными листьями накапливали в 7–15 раз больше Na⁺, чем многолетний полукустарничек. Установлена тесная положительная взаимосвязь толщины

листа с оводненностью листьев ($r = 0.98$, $P = 0.04$) и суммой накопленных элементов ($r = 0.96$, $P = 0.04$) в них. Клетки мезофилла C_3 -вида *S. perennans* были существенно крупнее в сравнении с клетками мезофилла и обкладки C_4 -видов и имели в 1.5–3.5 раза больше хлоропластов. Виды с Кранц-анатомией различались размерами и соотношением числа клеток обкладки и мезофилла. Суммарная площадь поверхности хлоропластов в единице площади листа у растений с Кранц-анатомией в клетках мезофилла оказалась выше, чем в клетках обкладки. Обнаружено сходство значений ассимилирующей поверхности мезофилла и хлоропластов у растений C_3 - и C_3 - C_4 -типов фотосинтеза, а также C_4 -НАД- и C_4 -НАДФ-типов. Общее число клеток и число хлоропластов клеток мезофилла положительно коррелировали с содержанием общих липидов в расчете на единицу площади листа ($r = 0.95$, $P = 0.04$). Содержание кислоты 18:2(n-6) снижалось, а 18:1(n-9) увеличивалось в ряду $C_3 \rightarrow C_3$ - $C_4 \rightarrow C_4$ - НАД $\rightarrow C_4$ -НАДФ-видов. Сделан вывод, что увеличение различий между объемом и поверхностью клеток и хлоропластов мезофилла и обкладки проводящих пучков, а также снижение количества мембранных липидов клеток, хлоропластов и митохондрий в единице площади листа связано с выраженностью C_4 -синдрома. Состав липидов и жирных кислот поддерживает метаболическую активность хлоропластов и митохондрий в зависимости от типа фотосинтеза.

Ключевые слова: *Chenopodiaceae*, тип фотосинтеза, суккулентность, мезоструктура листа, размеры клетки, хлоропласты, митохондрии, пигменты, липиды, жирные кислоты.

RESEARCH PAPERS**The Role of Photosynthetic Daily Light Integral in Plant Response to Extended Photoperiods****T. G. Shibaeva^{a, *}, A. V. Mamaev^a, E. G. Sherudilo^a, and A. F. Titov^a**^a *Institute of Biology of Karelian Research Centre of Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia***e-mail: shibaeva@krc.karelia.ru*

Received May 29, 2021; revised June 11, 2021; accepted June 11, 2021

Abstract – Under continuous lighting (CL, 24 h photoperiod), both the energy and signaling components of light are continuously supplied to plants. In response to CL sensitive plant species exhibit leaf chlorosis and necrosis, down-regulation of photosynthesis, accumulation of carbohydrates and accelerated leaf senescence. Current research was undertaken to test if the CL-induced injury truly results from CL *per se* or from the excessive light received by the plant due to high daily light integral (DLI). Experimental design included combinations of light intensity and photoperiods providing either different (Experiment 1) or equal (Experiment 2) DLI for tomato and cucumber plants grown under CL or 14 h photoperiod. In experiments where equal DLI was provided CL-treated plants developed injury symptoms similar to those in CL treatments with higher DLI. Plants exhibited an entire spectrum of responses to increasing day length □ epinastic movements of leaves and petioles, chlorosis, the significant decline in values of potential quantum yield of photochemical activity of PSII (F_v/F_m) and effective quantum yield of PSII (Φ PSII), elevation of the ratio of Chl *a/b*, decrease of Chl/Car ratio, reduction of LHCII, increase of lipid peroxidation degree measured in terms of the malondialdehyde (MDA) levels and enhanced activities of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase). Data obtained have shown that a higher DLI is not needed to trigger CL-induced injury. The continuity of light signaling, photosynthesis and photooxidative pressure may induce injury even if DLI values are not high. Extended photoperiod itself may also be a reason of the excess of absorbed light even if DLI is not higher than normally required by plants under shorter photoperiods.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, *Cucumis sativus*, photoperiod, continuous lighting, daily light integral, photooxidative stress

Abbreviations: APX – ascorbate peroxidase; Car – carotenoids; CAT – catalase; Chl – chlorophyll; CL – continuous lighting; DLI – daily light integral; GPX – guaiacol peroxidase; LMA – leaf mass per area; MDA – malondialdehyde; NBT – nitro-blue tetrazolium; PPFD – photosynthetic photon flux density; SOD – superoxide dismutase.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.1

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АПОПЛАСТНЫХ ПЕРОКСИДАЗ ИЗ КОРНЕЙ
ПШЕНИЦЫ С НИТРИТОМ И НИТРАТОМ: ИНТЕРМЕДИАТЫ И ПРОДУКТЫ**

© 2022 г. Е. И. Галеева^{а,*}, Л. В. Викторова^а, О. П. Гурьянов^а, А. А. Суханов^б, А. В.
Часов^{а,с}, Ф. В. Минибаева^{а,с,**}

^аКазанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра “Казанский научный центр Российской академии
наук”, Казань, Россия

^бКазанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского – обособленное структурное
подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федеральный исследовательский центр “Казанский научный центр Российской академии
наук”, Казань, Россия

^сКазанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*mail: e.galeeva@kibb.knc.ru

**mail: minibayeva@kibb.knc.ru

Поступила в редакцию 15.04.2021 г.

После доработки 04.05.2021 г.

Принята к публикации 04.05.2021 г.

Пероксидазы широко распространены в животных и растительных тканях, где они выполняют разнообразные функции. Пероксидазы обладают широкой специфичностью к разнообразным по химическому строению субстратам. Наряду с перекисью водорода, фенольными соединениями и токсичными соединениями ароматической природы,

субстратами пероксидаз являются азотсодержащие соединения. Настоящая работа посвящена изучению роли экстраклеточных пероксидаз пшеницы в метаболизме азотсодержащих соединений. Было показано, что частично очищенные изоферменты, различающиеся по пероксидазной активности, принимают участие в метаболизме азотсодержащих соединений. Продемонстрировано образование первичных и вторичных феноксильных радикалов при совместном окислении хлорогеновой кислоты, нитрита и H_2O_2 . При совместном окислении очищенными изоферментами *p*-кумаровой кислоты и нитрита выявлено образование 4-гидрокси-3-нитрокоричной кислоты. Мы предполагаем, что одни и те же изоформы могут участвовать как в окислении нитрита с образованием нитрофенола, так и в восстановлении нитрата. Участие растительных пероксидаз в метаболизме азота можно представить в виде совокупности реакций по восстановлению и/или окислению азота разной степени окисленности с образованием активных интермедиатов.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, апопластная пероксидаза, нитрит, нитрат, феноксильные радикалы.

RESEARCH PAPERS**Photosynthetic Physiology Performance and Expression of Transcription Factors in Soybean of Water Use Efficiency Difference****Y. Jiang^{a, b, c}, X. X. Wang^a, H. Meng^a, Y. W. Xu^a, S. Wang^a, and S. D. Wang^{a, b, *}**^a *College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China*^b *National Soybean Engineering and Technology Research Center, Harbin, Heilongjiang 150028, China*^c *Heilongjiang Green Food Science Institute, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150028, China***e-mail: wsdhlj@neau.edu.cn*

Received May 08, 2021; revised June 07, 2021; accepted June 07, 2021

Abstract—Water use efficiency (WUE) and production are closely related to the redox state in plants, through which plants complete conversion of photosynthetic products and their life cycle. WUE is an important and integrative physiology trait for stabilizing and improving crop yield, but the research about WUE were also many controversies, such as high WUE genotypes had more potential to adapt to drought stress. Through measuring gas exchange parameters and stomatal characteristics in different soybean (*Glycine max*) genotypes at the flowering, two same stomatal limitation genotypes with different WUE were screened for further transcriptomics and quantitative real-time PCR (qRT-PCR). High WUE variety HN44 had better stomatal conductance (C), high photosynthetic rate (Pn) and chlorophyll content (CCI). Pn was extremely significant positive correlation with C and transpiration rate (E), Pn was significant positively correlated with WUE and instant WUE (WUEi). 192 differentially expressed transcription factors (TFs) genes among 3435 genes encoded TFs were predicted by classification and enrichment of Go and KEGG, differentially expressed genes highly focused on photosynthesis functions, and mainly involved in the plant hormone signal transmission and mitogen activated protein kinase (MAPK) signal pathway. Among

them, the top 6 high differently expressed relative TFs genes were mined and verified by qRT-PCR, other five genes were up-regulated in HN44 except for *GmABI5-Like 1*, and *GmTIFY5A*, *GmERF1B*, *GmbHLH63*, *GmABI5-Like 1* were involved in same pathway-plant hormone signal transduction.

Keywords: *Glycine max*, photosynthesis, stomatal conduct, hormone signal, transcription factor, soil water use

Abbreviations: C – stomatal conductance; CCI – chlorophyll content; E – transpiration rate; EUW – effective use of water; inTCO₂ – intercellular CO₂; Pn – net photosynthetic rate; TF – transcription factor; WUE – water use efficiency; WUE_i – instant WUE.

RESEARCH PAPERS

Effects of Constitutive Expression of Barley Aquaporin Gene, *HvPIP2;1*, on Water Relations and Growth of Tobacco Plants under Normal Conditions and Salinity and their Linkage with Capacity for Osmotic Adjustment

G. Sharipova^a, R. Ivanov^a, B. Kuluev^b, G. Akhiyarova^a, D. Veselov^a, G. Kudoyarova^{a,*}

^a *Ufa Institute of Biology of Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

^b *Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Federal Research Centre of Russian Academy of Science, Ufa, Russia*

*e-mail: guzel@anrb.ru

Received June 15, 2021; revised June 22, 2021; accepted June 22, 2021

Abstract—Reports on importance of aquaporins for plant salt-resistance are rather contradictory. We have studied the consequences of expression of barley (*Hordeum vulgare* L.) aquaporin gene, *HvPIP2;1*, in transgenic tobacco plants on their water relations and capacity to grow under salinity. Detection of *HvPIP2;1* protein and mRNA by immunolocalization and *in situ* hybridization, respectively, confirmed that expression of this gene occurred in most of leaf cells. In the absence of salt stress, improvements in water status resulting from *HvPIP2;1* expression were manifested in increased relative water content (RWC) best noticeable in young leaves, where expression of their own tobacco gene *NtPIP2;1* was relatively low. Whole small leaves and leaf discs overexpressing *HvPIP2;1*, exposed to moderate level of salinity (100 and 300 mM), were characterized by greater accumulation of fresh mass, but their fresh mass decreased faster when concentration of NaCl increased to 400 and 500 mM. The ability to increase fresh mass was manifested only when the gradient between the leaf and the solution of NaCl was maintained due to accumulation of osmotics. Thus the effect of expression of an alien aquaporin gene on leaf growth under salinity depends on capacity of plants for osmotic adjustment.

Keywords: *Hordeum vulgare*, *Nicotiana tabacum*, transpiration, AQP gene transcript, immunostaining.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.1

МУТАЦИЯ ГЕНА *ARA7/AtRabF2b*, УВЕЛИЧИВАЮЩАЯ СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА *ARA7*, ВОВЛЕЧЕННОГО В РЕГУЛЯЦИЮ ЭНДОЦИТОЗА, ПОВЫШАЕТ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.²

© 2022 г. О. В. Сергиенко^а, Л. А. Халилова^а, Ю. В. Орлова^а, А. В. Шувалов^а, Н. А. Мясоедов^а, И. В. Карпычев^{а,*}

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

*e-mail: ikarpichev@gmail.com

Поступила в редакцию 10.02.2021 г.

После доработки 30.04.2021 г.

Принята к публикации 30.04.2021 г.

С помощью инсерционного мутанта по гену *ARA7/AtRabF* (AT4G19640) с повышенной экспрессией кодируемого им белка – малой ГТФазы Rab5, являющейся одним из ключевых регуляторов везикулярного транспорта, исследовали связь эндоцитоза с ионным гомеостатированием и солеустойчивостью у *Arabidopsis thaliana*. У мутантного аллеля было выявлено наличие делеции из 14 нуклеотидов в 5'-нетранслируемой области (5'-НТО) и отсутствие первых трех нуклеотидов на 5'-конце мРНК. Хотя эти изменения и несколько уменьшили относительный уровень транскриптов данного гена в листьях мутантных растений при нормальных условиях, при этом в листьях наблюдалось повышенное содержание соответствующего белка *ARA7*. Это в свою очередь вызвало заметные

фенотипические изменения у растений, выращенных на питательных средах с NaCl. Электронно-микроскопические исследования выявили у мутанта изменения в ультраструктуре клеток корней. Наиболее заметные отличия мутантных растений от дикого типа (ДТ) состояли в наличии электронно-плотных отложений на тонопласте, повышенной вакуолизации и везикуляции цитозоля, увеличенном содержании сливающихся друг с другом микровacuолей, а также в увеличенном содержании мультивезикулярных тел и аутофагических структур, что указывает на изменение пути эндоцитоза и динамики формирования вакуоли. На уровне целого растения фенотип данного мутанта выражался в позитивной реакции на длительный солевой стресс по сравнению с растениями дикого типа. Мутантные растения имели прирост по массе корней и листьев, повышенное содержание K^+ и сниженное среднее содержание Na^+ в органах, указывая в целом на более высокую солеустойчивость мутанта по сравнению с растениями ДТ. Предполагается, что вызванные мутацией изменения ультраструктуры отражают пертурбации в везикулярном транспорте и аутофагии, результатом которых являются изменения в ионном гомеостатировании и солеустойчивости растений.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, солевой стресс, малая ГТФаза, *ARA7/AtRabF2b*, мутация, сверхэкспрессия, везикулярный транспорт, рост, ионный гомеостаз, ультраструктура.

RESEARCH PAPERS**Combined Effect of Salicylic Acid and Calcium Application on Salt-stressed Strawberry Plants****K. Lamnai^{a,*}, F. Anaya^{a, b}, R. Fghire^c, H. Zine^d, I. Janah^a, S. Wahbi^a and K. Loutfi^a***^aLaboratory of Agro-Food, Biotechnologies and Valorization of Plant Bioresources (AGROBIOVAL), Department of Biology, Faculty of Sciences Semlalia, Cadi Ayyad University, Marrakech, Morocco**^bMED-Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development, Food Science Laboratory, FCT, University of Algarve, Building 8, Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal**^cDepartment of Biology, Faculty of Sciences, University Chouaib Doukkali, EL Jadida, Morocco**^dLaboratory of Microbial Biotechnologies, Agrosociences and Environment (BioMAgE), Faculty of Sciences Semlalia, Cadi Ayyad University, Marrakech, Morocco***e-mail: lamnaikamal@gmail.com*

Received May 27, 2021; revised June 25, 2021; accepted June 26, 2021

Abstract – The salinity of water and agricultural lands is a major environmental factor adversely affecting crop productivity. Strawberry plants have been found to be sensitive to salt stress conditions. Salicylic acid (SA) and Ca^{2+} are endogenous signal molecules involved in many metabolic processes, which can stimulate the plants' defence mechanisms to biotic and abiotic constraints. The main objective of this work was to investigate the impacts of SA (0.25 mM) and calcium nitrate (5 mM) application, singly or in combination, on growth parameters as well as physiological and biochemical markers of strawberry plants (*Fragaria ananassa* Duch, var. Fortuna) exposed to saline conditions (80 mM NaCl). The results showed that high salinity reduces plant growth and photosynthetic pigment content. Salt stress also induced an accumulation of Na, a decrease in K and Ca concentrations, a reduction in the levels of sugars, total phenol, relative water content, photochemical efficiency (F_v/F_m), and stomatal conductance as well as a decrease in proline, proteins, enzyme activities (CAT, SOD, and POD) and an accumulation of H_2O_2 and MDA. However, SA and calcium treatments enhanced the plants' tolerance to salt stress by improving the above-mentioned parameters. Additionally, the best results were obtained with combined treatment (Ca+SA) under both salinity conditions. These findings indicated that the combination of calcium supplementation with exogenous application of SA may provide an effective solution to improving the strawberry plant's tolerance to saline conditions.

Keywords: *Fragaria ananassa*, salt stress, calcium, salicylic acid, antioxidant activity, F_v/F_m .

RESEARCH PAPERS

Histidine-Mediated Nickel and Zinc Translocation in *Arabidopsis thaliana* and *Lepidium ruderale*I. V. Seregin^{a, *}, A. D. Kozhevnikova^a, H. Schat^{b, c}^a *K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia*^b *Wageningen University and Research, Wageningen, The Netherlands*^c *Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands**e-mail: ilya_seregin@mail.ru

Received June 09, 2021; revised June 10, 2021; accepted June 10, 2021

Abstract—In this work, the effect of exogenous histidine supply on zinc (Zn) and nickel (Ni) translocation in shoot-excised root systems of the non-accumulating species *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. and *Lepidium ruderale* L. was studied. Intact 7-week-old plants of *A. thaliana* and *L. ruderale* were pretreated for 4 h (13:00 till 17:00) with MES/KOH buffered 1 mM L-histidine, L-alanine or demineralized water. After the pretreatment, the leaf rosettes were cut off with a razor blade and the root systems were transferred to a fresh nutrient solution amended with 25 μ M Ni(NO₃)₂ or Zn(NO₃)₂. Root pressure exudates were collected overnight (till 11:00 AM). The Ni and Zn concentrations in the roots and root pressure exudates were determined by atomic absorption spectrophotometry. The amount of Ni or Zn loaded into the xylem exudate (‘total amount of Ni or Zn exudated’) was calculated as the product of the metal concentration and the volume of root pressure exudate, expressed on a root dry weight basis. The ‘total Zn or Ni amount’ present in the root system and the root pressure exudate together (‘total uptake’), at the end of the experiment, was calculated as the sum of the total amount of Zn or Ni present in the root pressure exudates and the remaining amount in the root system after sap collection, and expressed on a root dry weight basis. Zn or Ni xylem loading was then recalculated as a percentage of the total Zn or Ni uptake. Pretreatment with L-histidine caused a significant increase in the xylem loading and the total amount of exudated Ni and Zn in *L. ruderale* and Zn in *A. thaliana*. No increase in Ni xylem loading, Ni concentration in the root pressure exudate, or total amount of Ni exudated was observed in *A. thaliana* after pretreatment with L-histidine. No decrease in the volume of root pressure exudates was observed in histidine-pretreated plants, indicating that the increase in metal concentration in the root pressure exudates is certainly not attributable to decreased root pressure exudation in any of the treatments. In contrast to L-histidine, pretreatment with L-alanine did not increase the metal concentrations in the root pressure exudates or the percentage of metal loaded into the xylem. The total uptake of Ni and Zn in *A. thaliana* was significantly higher than in *L. ruderale*, which is consistent with the higher concentrations of both metals in the roots of *A. thaliana*. Exogenous L-histidine and L-alanine did not affect the uptake of metals and their concentration in the roots, except for a slight increase in the uptake of Zn and its concentration in

the roots of alanine-pretreated *A. thaliana*. It is concluded that Ni and Zn translocation in *L. ruderale* and Zn translocation in *A. thaliana* may be limited by the concentration of free histidine in their roots.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, *Lepidium ruderale*, nickel, zinc, histidine, metal accumulation, metal translocation.

RESEARCH PAPERS

**Growth, Flowering and Physiological Response of *Trachyspermum ammi* L. to Zinc Oxide
Micro- and Nanoparticles****M. Mazaheri-Tirani^a * and S. Dayani^b**^a *Department of Biology, Faculty of Science, University of Jiroft, Jiroft 78671-61167, Iran*^b *Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University (PNU), P.O. Box 19395-4697
Tehran, Iran***e-mail: mazaheri@ujiroft.ac.ir*

Received April 02, 2021; revised June 17, 2021; accepted June 17, 2021

Abstract – The present study investigated the effect of nano/microparticles zinc oxide (ZnO-NPs/MPs) on root, vegetative, and flowering induction in medicinal plant *Trachyspermum ammi*. Powdered ZnO-NPs/MPs were added to soil in concentrations 0, 250, 500, and 1000 mg kg⁻¹. Plants root/shoot weight and length, water content, umbellate and flowers, chlorophyll, carotenoid, oxidants (H₂O₂, MDA), antioxidants (anthocyanin, phenolics, SOD) were measured. Shoots appeared to be more sensitive to NPs than MPs treatments. ZnO NPs/MPs treatments caused a more consistent result on water content. ZnO-NPs/MPs 500, and 1000 mg kg⁻¹ resulted in toxic responses. ZnO-NPs toxicity effects on growth parameters were more significant than that of MPs, especially on chlorophyll. The decrease in phenolic compound was compensated with increased anthocyanin content under ZnO-NPs/MPs. Both forms of ZnO at all concentrations resulted in zinc content increase compared with the control. ZnO-NPs/MPs 250 mg kg⁻¹ increased plant fresh/dry weight and length of shoots and roots, total chlorophyll, protein and zinc content while reduced oxidant contents. Plants revealed stressed conditions while preferred a non-enzymatic response under NPs. plants' zinc content under NPs was almost similar to micro-treatments. NPs at lower concentrations induced vegetative growth but had a negative effect at higher concentrations. MPs reduced root growth while increased flowering induction.

Keywords: *Trachyspermum ammi*, Ajwain plant, metal toxicity, nano metal oxide, vegetative/reproduction phase, ZnO.

RESEARCH PAPERS

Effect of an As(V)-Resistant Plant Growth Promoting Bacterial Consortium on Growth, Antioxidant Content and Arsenic Accumulation in *Azolla microphylla* Kaulf. Under As(V) Stress

P. Agnihotri^a, M. Maitra^a, and A. K. Mitra^a

^a *Department of Microbiology, St. Xavier's College, Mother Teresa Sarani, Kolkata-700016, India*

**e-mail: puja.agnihotri001@gmail.com*

Received May 31, 2021; revised June 23, 2021; accepted June 25, 2021

Abstract—Aquatic fern *Azolla microphylla* Kaulf. was exposed to arsenic (As(V)) stress at 7 mg/L in its natural cultivation environment, in the presence or absence of an As(V)-resistant bacterial consortium. The bacterial strains used show plant growth promoting traits such as phosphate solubilisation, siderophore production and indole acetic acid production. In absence of the bacterial consortium, the effects of As(V)-induced toxicity on the fern are manifested in the form of reduced biomass production, with decline in chlorophyll, carotenoids, flavonoids and phenolics contents, and increase in anthocyanin content, endogenous H₂O₂ concentration, lipid peroxidation, with respect to the control set. However, in presence of the bacterial consortium, these effects are alleviated, with the fern plant showing significant improvement in growth and non-enzymatic antioxidant concentrations. The extent of As accumulation in the fronds of fern also show marked differences: in presence of the bacterial consortium, *A. microphylla* accumulates 51.8% lesser As in its fronds. The abundant presence of bacterial cells on the root surface of the fern, as seen in scanning electron micrograph, along with a heightened As peak in the energy dispersive X-ray spectra indicates that the bacterial cells uptake major fraction of the As from the cultivation environment, thereby reducing As(V)-induced toxicity in the plant.

Keywords: *Azolla microphylla*, carotenoids, anthocyanins, flavonoids, phenolics, energy dispersive X-ray spectra

Abbreviations: GAE – gallic acid equivalent; IAA – indole acetic acid; ICP-OES – inductively coupled plasma optical emission spectroscopy; MDA – malondialdehyde; PGP – plant growth promoting; RE – rutin equivalent; SEM-EDX – scanning electron microscopy-Energy dispersive X-ray spectroscopy; TBA – thiobarbituric acid; TBARS – thiobarbituric acid reactive substrate; TCA – trichloroacetic acid.

RESEARCH PAPERS**Comparative Physiological and Metabolomic Analyses Reveal the Different Biological Characteristics between Two Tea Cultivars**

**L. Jiang^a, D. J. Li^a, M. A. Yuan^a, X. R. Hu^a, D. X. Zhao^a, X. J. Kong^a, X. X. Weng^a, B. Chen^a,
H. W. Fu^b, and Z. S. Zheng^{a,*}**

^aJinhua Academy of Agricultural Sciences, Jinhua, 321017, China

^bCollege of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, 310018, China

**e-mail: zhengzhaisheng@sohu.com*

Received May 31, 2021; revised June 22, 2021; accepted June 23, 2021

Abstract – *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, as an economical woody plant, had been cultivated for tea production for a long history. However, the seeds of tea tree were usually discarded after harvest because of low quality and yield of seed oil. In the present study, we found a new kind of tea tree ‘Jincha1’ cultivar had higher quality and yield of seed oil compared to ‘Wuniuzao’ cultivar which was a traditional cultivar in agricultural production. To explore the differential metabolic process between two cultivars, comparative physiological and metabolomics analyses of the tea leaf and fruit were conducted between ‘Jincha1’ and ‘Wuniuzao’. We found the tea leaves and seed oil yield of ‘Jincha1’ were both higher than those of ‘Wuniuzao’. Totally, 179 metabolites were identified in tea fruits, among them, 123 metabolites were identified as significantly differential metabolites between ‘Jincha1’ and ‘Wuniuzao’. In addition, the levels of indole 3-acetic acid (IAA) and fatty acids in ‘Jincha1’ fruit were higher than those in ‘Wuniuzao’. These results indicate that as an important auxin, IAA may regulate the growth of tea fruit and fatty acid biosynthesis in ‘Jincha1’ might be more active than ‘Wuniuzao’. The results have enhanced understanding of metabolic process, especially for fatty acid biosynthesis in ‘Jincha1’ fruit, which would be meaningful for improve tea tree breeding.

Keywords: *Camellia sinensis*, comparative metabolomics, physiology, tea seed oil, fatty acid biosynthesis.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.1.582.26 : 574.5

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ДВУХ ТОКСИКОГЕННЫХ ВИДОВ Bacillariophyta: *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle И *P. pungens* (Grunow ex P.T. Cleve) Hasle© 2021 г. С. Л. Полякова^{а, *}, Н. А. Давидович^а, И. В. Стоник^б, Т. Ю. Орлова^б

^аКарадагская научная станция им. Т. И. Вяземского – природный заповедник Российской академии наук – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра “Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского Российской академии наук”, Феодосия, Россия

^бНациональный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

*e-mail: svietlana.poliakova.77@mail.ru

Поступила в редакцию 24.02.2021

После доработки 08.04.2021

Принята к публикации 08.04.2021

Работа посвящена изучению особенностей жизненного цикла потенциально токсикогенных диатомовых водорослей *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle и *P. pungens* (Grunow ex P.T. Cleve) Hasle, обитающих в Черном море. Изучена скорость уменьшения длины клеток при содержании в культуре. Установлена продолжительность жизненного цикла и критическая граница размеров, определяющая переход из одной фазы жизненного цикла в другую. Рассчитана продолжительность дорепродуктивной фазы. Показано изменение длины клеток *P. calliantha* от 147 мкм у самых крупных инициальных клеток в начале жизненного цикла до 21 мкм у предельно измельчавших, что позволило расширить ранее известные границы диапазона размеров, характерных для вида. Для *P. calliantha* показано отсутствие зависимости размера инициальных клеток от размера родительских.

Ключевые слова: *Pseudo-nitzschia*, диатомовые, токсикогенные виды, клоновые культуры, размер, жизненный цикл, “цветение”

LECTURE IN THE JOURNAL

Recent Advances in Different Omics Mechanism for Drought Stress Tolerance in Rice

**J. Kumari^a*, K. K. Mahatman^a, S. Sharma^a, A. K. Singh^b, S. Adhikari^c, R. Bansal^a, V. Kaur^a,
S. Kumar^b, and M. C. Yadav^b**

^a *Division of Germplasm Evaluation, ICAR-National Bureau of Plant Genetic Resources, New Delhi-110012, India*

^b *Division of Genomic Resources, ICAR-National Bureau of Plant Genetic Resources, New Delhi-110012, India*

^c *ICAR-Indian Institute of Wheat and Barley Research, Regional Station, Shimla-172024 India*

**e-mail: jj.gene@gmail.com*

Received March 05, 2021; revised June 23, 2021; accepted June 23, 2021

Abstract – Abiotic stresses are responsible for significant yield loss in field crops due to drastic impact of adverse climatic conditions on plant growth and development. Due to water intensive nature of rice crop, drought stress is a major threat causing more than 90% losses in the rice production. Huge yield loss is the result of adverse effect at morphological, physiological, biochemical as well as molecular level. Drought tolerance is a complex quantitative trait governed by several factors including genetic, physiological, biochemical, management, etc. To facilitate the development of rice varieties with drought tolerance, a comprehensive knowledge of various mechanisms that influence rice yield under water stress condition is a prerequisite. For understanding and investigating complex drought stress tolerance mechanism, recent advancement in omics technologies have opened new avenues for researchers. In this review, we are focusing on the overview of the current status of drought tolerance research and improvement of drought tolerance cultivars by various omics approaches.

Keywords: *Oryza sativa*, rice, abiotic stress, drought tolerance, omics approach.