

УДК 577.352.46

СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМАЯ ПОТЕРЯ ЭЛЕКТРОЛИТОВ КЛЕТКАМИ КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ: ИСТОРИЯ ВОПРОСА, МЕХАНИЗМ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

П. В. ГРИУСЕВИЧ¹⁾, В. В. САМОХИНА¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Утечка (отток) электролитов из тканей является одной из центральных реакций растительного организма на стресс. Она наблюдается практически при любом виде стрессового воздействия как абиотической, так и биотической природы, приводя к потере ключевых электролитов, перестройке метаболизма и в некоторых случаях к гибели клеток и организма. Долгое время считалось, что утечка электролитов связана с нарушением целостности клеток и плазматических мембран и является нерегулируемым процессом. Тем не менее в последние годы получено множество данных, свидетельствующих о том, что в большинстве случаев утечка электролитов ингибируется блокаторами ионных каналов, т. е. связана с переносом ионов через белковые транспортные системы. Имеются экспериментальные доказательства того, что выходящий поток электролитов у растений при засолении, засухе, атаке патогенных организмов, воздействии тяжелых металлов, гипо- и гипертермии, а также окислительном стрессе

Образец цитирования:

Гриусевич ПВ, Самохина ВВ, Демидчик ВВ. Стресс-индуцируемая потеря электролитов клетками корня высших растений: история вопроса, механизм и физиологическая роль. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2022; 2:4–18.
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2022-2-4-18>

For citation:

Hryvusevich PV, Samokhina VV, Demidchik VV. Stress-induced electrolyte leakage from root cells of higher plants: background, mechanism and physiological role. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2022;2:4–18. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2022-2-4-18>

Авторы:

Полина Вацлавовна Гриусевич – старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии и биотехнологии растений.

Вероника Валерьевна Самохина – старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета, научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии и биотехнологии растений.

Вадим Викторович Демидчик – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, доцент; декан биологического факультета.

Authors:

Palina V. Hryvusevich, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology, and junior researcher at the laboratory of physiology and biotechnology of plants.

hryvusevich@bsu.by

Veranika V. Samokhina, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology, and researcher at the laboratory of physiology and biotechnology of plants.

samokhina@bsu.by

Vadim V. Demidchik, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), docent; dean of the faculty of biology.

dzemidchik@bsu.by

опосредован несколькими типами ионных каналов, включая K^+ -селективные каналы, анионные каналы и неселективные катионные каналы как минимум трех семейств. Продemonстрировано, что первичными реакциями, которые индуцируют утечку электролитов, являются деполяризация плазматической мембраны и генерация активных форм кислорода, приводящие к активации редокс-регулируемых K^+ -каналов наружного выпрямления, таких как SKOR и GORK. Выход K^+ стимулирует отток противоионов (анионов) через конститутивные анионные каналы, которые, вероятно, кодируются генами семейства ALMT. Регуляция утечки электролитов на уровне ионных каналов и соответствующая селекция по свойствам ионных каналов могут стать важным звеном направленного управления стрессоустойчивостью высших растений. Это может быть применено на практике при выведении новых линий и сортов растений, а также разработке современных агрометеорологических приемов.

Ключевые слова: утечка электролитов; стресс; калий; ионный канал; активные формы кислорода; стрессоустойчивость растений.

Благодарность. Работа выполнена в рамках заданий государственной программы «Научно-технологические и техника» на 2021–2025 гг. (№ гос. регистрации 20213563), а также государственных программ научных исследований (№ гос. регистрации 20211734, 20211222, 20220676).

Вклад авторов. Материал, затрагивающий биофизические аспекты утечки электролитов и электрофизиологические эксперименты с каналами GORK, написан П. В. Григусевич. Материал, описывающий работу сенсора Цис-151 и физиолого-биохимические аспекты функционирования каналов GORK в условиях стресса, подготовлен В. В. Самохиной. Руководство подготовкой статьи и экспериментов, а также написание материала, связанного с концепцией метаболической перестройки и индукции запрограммированной клеточной гибели вследствие оттока электролитов, осуществлены В. В. Демидчиком.

STRESS-INDUCED ELECTROLYTE LEAKAGE FROM ROOT CELLS OF HIGHER PLANTS: BACKGROUND, MECHANISM AND PHYSIOLOGICAL ROLE

P. V. HRYVUSEVICH^a, V. V. SAMOKHINA^a, V. V. DEMIDCHIK^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: V. V. Demidchik (dzemidchyk@bsu.by)

Electrolyte leakage from tissues is one of the central reactions of the plant organism to stress. It is observed under almost any type of stresses, both abiotic and biotic. The loss of key electrolytes can lead to significant changes in metabolism and, in some cases, to the death of cells or the whole organism. For a long time, it was believed, that electrolyte leakage is associated with disruption of cell integrity and plasma membranes degradation, and that it is an unregulated process. However, in recent years, a lot of evidence has been received that, in most cases, electrolyte leakage is inhibited by ion channel blockers and reversible. It means that it is associated with the transfer of ions through the membrane by transport proteins, such as ion channels. Recently, the experimental evidence has been obtained, that under salinity, drought, pathogen attack, excessive levels of heavy metals, hypo- and hyperthermia, as well as oxidative stress, the electrolyte leakage in plant cells is mediated by several types of cation and anion channels, including K^+ -selective channels (SKOR and GORK), anion channels (such as ALMT1) and a number of non-selective cation channels. It has been demonstrated that the primary reactions that induce electrolyte leakage are plasma membrane depolarisation and generation of reactive oxygen species, leading to the activation of redox-regulated outwardly rectifying K^+ channels, such as SKOR and GORK. Potassium efflux is up-stream and stimulates the counterion flow (transport of anions) through the anion channels. The regulation of electrolyte leakage at the ion channel level and the corresponding selection for ion channel properties can become an important link in the directed control of stress resistance in higher plants. This can be applied in agriculture via breeding of stress-tolerant plant varieties, as well as developing modern amelioration techniques.

Keywords: electrolyte leakage; stress; potassium; ion channel; reactive oxygen species; plant stress tolerance.

Acknowledgements. This study was supported by grants of the state program «Science-intensive technologies and equipment» for 2021–2025 (No. 20213563), as well as state programs of scientific research (No. 20211734, 20211222, 20220676).

Author's contribution. The material on the biophysical aspects of electrolyte leakage and electrophysiological experiments with GORK channels was written by P. V. Hryvusevich. The material describing the operation of the Cys-151 sensor and the physiological and biochemical aspects of GORK channel functioning under stress was prepared by V. V. Samokhina. Preparation of the article and experiments management, as well as writing of material related to the concept of metabolic restructuring and induction of programmed cell death due to electrolyte leakage, were carried out by V. V. Demidchik.

Введение

Утечка (отток) электролитов – это потеря клетками корней растений ионов (K^+ , Cl^- , HPO_4^{2-} , NO_3^- , мала²⁻, цитрат³⁻ и др.) при стрессе или в ходе некоторых физиологических реакций, таких как рост и развитие, гравитропический ответ и т. д. [1]. На протяжении почти 100 лет феномен утечки электролитов использовался в качестве теста на повреждение растений при стрессе, а также как один из параметров стрессоустойчивости [2]. Отток электролитов является универсальной реакцией у разных видов растений, тканей и клеточных типов и индуцируется при стрессовых воздействиях различной природы (засоление, воздействие тяжелых металлов, окислительный стресс и др.) [3]. Отток электролитов развивается практически мгновенно после добавления стрессора и длится от нескольких минут до нескольких часов или дней [1]. Качественно отток электролитов определяется прежде всего выходящим потоком K^+ и выходящими потоками противоионов (Cl^- , HPO_4^{2-} , NO_3^- , мала²⁻, цитрат³⁻), уравнивающими выход K^+ [4]. Некоторые стрессы вызывают очень сильную потерю K^+ растениями, что приводит к снижению химической активности K^+ в клетках от 70–200 до 10–30 ммоль/л [5]. Данный эффект является ключевым в физиологии стресса, в особенности для корня, так как отток K^+ может приводить к необратимой потере K^+ и летальному повреждению ионного баланса, влекущему за собой запуск автофагии и запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ) [6].

Ионы калия присутствуют во всех живых клетках в большом количестве [6; 7]. В цитоплазме и вакуолях поддерживается постоянная высокая активность K^+ (от 50 до 200 ммоль/л), в то же время содержание K^+ снаружи клеток варьируется от 0,01 до 1,00 ммоль/л [7]. Плазматическая мембрана (ПМ) заряжена отрицательно, вследствие чего K^+ удерживается внутри клетки. При стрессовом воздействии происходит деполяризация ПМ, что активирует отток K^+ через деполяризационно-активируемые K^+ -каналы и потенциалнезависимые неселективные катионные каналы (НКК) [1]. Анионы присутствуют в клетках в неорганической и органической форме. Клетки растений могут синтезировать и накапливать большое количество органических анионов, таких как мала²⁻, цитрат, фумарат, оксалоацетат и др., этим они значительно отличаются от клеток животных, которые «используют» в основном неорганические анионы. Органические анионы в клетке испытывают электростатическое воздействие отрицательного потенциала ПМ, «энергизирующего» их пассивный выходящий поток. Другими словами, градиент электрохимического потенциала на ПМ для анионов практически всегда способствует их пассивному выходу во внешнюю среду (апопласт). При активации деполяризационно-активируемых анионных каналов, повышающих проницаемость мембраны к анионам, происходит массовый отток электролитов по направлению уменьшения градиента электрохимического потенциала [8].

Впервые утечка электролитов была зарегистрирована в конце XIX в., однако наиболее ранними опубликованными свидетельствами данного явления принято считать работы 1920-х гг., выполненные на растениях, подвергнутых воздействию низких температур и раневому стрессу [2; 9]. В указанных работах обнаружен значительный выход электролитов, включая K^+ и органические вещества, и высказано предположение, что утечка электролитов опосредована разрушением ПМ и клеточной гибелью. В течение последующих 30–40 лет установлено, что, помимо гибели клеток, при резком и продолжительном снижении температуры у многих растений отмечается утечка электролитов, которая происходит без снижения жизнеспособности клеток и нарушения проницаемости ПМ для воды [6]. Было предположено, что в условиях гипотермии у растительной ткани увеличивается проводимость ПМ для K^+ , но не нарушается ее целостность [10].

Сходные с воздействием низких температур эффекты описаны для растений, подвергнутых воздействию высоких температур и водного стресса (засухи) [11; 12]. Группой ученых во главе с М. Аткинсом было впервые показано, что отток K^+ при патогенных атаках снижается в присутствии блокаторов катионных каналов (La^{3+} , Gd^{3+} и Co^{2+}), а также высказано предположение, что утечка K^+ опосредуется Ca^{2+} -проницаемыми каналами [13]. В 1980–90-х гг. в лаборатории А. Мерфи [14] установлено, что тяжелые металлы, такие как медь, активируют значительный отток K^+ в корнях *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., который снижается в присутствии ТЭА⁺ (блокатор K^+ -каналов). В начале 2000-х гг. получены доказательства вовлечения наружувыпрямляющих K^+ -каналов в отток K^+ при засолении в клетках корня и листьев *A. thaliana* (L.) Heynh. [15; 16], а также в корнях *Hordeum vulgare* L. [17]. Впервые описаны полиаминчувствительные наружувыпрямляющие K^+ -каналы в клетках листьев *Pisum sativum* L., опосредующие утечку K^+ при засолении [18]. Продемонстрировано, что утечка K^+ при воздействии $HO^\bullet$, засолении и патогенных элиситоров в клетках корня *A. thaliana* (L.) Heynh. снижается в присутствии ТЭА⁺ и опосредуется функционированием наружувыпрямляющих каналов GORK (*guard cell outward-rectifying K^+ channel*) [16; 19]. У *P. sativum* L. обнаружены наружувыпрямляющие катионные каналы, характеризующиеся низкой селективностью и пропускающие катионы и анионы [17]. Группой исследователей во главе с Дж. Дэвис было показано, что аннексины в присутствии $HO^\bullet$ формируют НКК,

активирующиеся при стрессе и обеспечивающие отток катионов из клеток корня [20]. Также отмечено, что пурины активируют отток K^+ в корнях *A. thaliana* (L.) Heynh. через НКК [21]. В лаборатории С. Шабалы установлено, что растения, у которых отсутствует функциональный канал GORK, способны сдерживать утечку K^+ и обладают высокой устойчивостью к гипоксии (стресс, вызванный недостатком кислорода) [22]. Таким образом, литературные данные свидетельствуют о том, что утечка электролитов обусловлена функциональной активностью ионных каналов GORK и НКК и в большом количестве случаев не связана с нарушением целостности мембраны.

В литературе также описан сходный процесс потери клетками анионных электролитов (экссудация). Однако, в отличие от утечки электролитов, экссудация происходит постоянно и, возможно, частично имеет активную природу в отношении энергетических затрат [23]. Состав корневых экссудатов включает широкий перечень первичных и вторичных метаболитов, многие из которых не способны проникать через ионные каналы [24]. Важно отметить, что в процесс экссудации, кроме облегченной диффузии, вовлечены везикулярный транспорт, а также активный транспорт с участием переносчиков ABC (*ATP-binding cassette*), MATE (*multidrug and toxic compounds extrusion*) и др. [23].

Утечка K^+ и других электролитов под действием засоления

Засоление – один из важнейших абиотических стрессов, который поражает около 50 % орошаемых земель и приводит к значительному снижению продуктивности высших растений [25]. Основными токсическими ионами в засоленных почвах являются Na^+ , Cl^- , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , HCO_3^- и др. [26]. У большинства видов растений наблюдаются задержка роста и развития в присутствии 40–50 ммоль/л NaCl в почвенном растворе и гибель при наличии 150–200 ммоль/л NaCl [27]. Некоторые виды растений – галофиты – обладают высокой устойчивостью к засолению и способны выживать при содержании 300–400 ммоль/л NaCl в почвенном растворе [28] за счет эволюционно выработанной стратегии. Однако большинство растений относятся к так называемым гликофитам, т. е. являются малоустойчивыми к высоким уровням NaCl. Отмечено негативное влияние засоления на многие физиологические процессы у растений – поглощение и экссудацию минеральных веществ, электрический и метаболический баланс, фотосинтез, дыхание, водный обмен, старение, половое размножение и др. [26; 29]. Засоление является сложным, многокомпонентным явлением, тем не менее можно выделить две основные фазы этого феномена [30; 31]. В течение первой фазы, имеющей продолжительность от нескольких минут до нескольких дней, наблюдаются процессы утечки электролитов и ранней Ca^{2+} - и редокс-сигнализации, а также включение первичных защитных реакций в корневой системе, связанных с водным и ионным стрессом [32]. Вторая фаза засоления развивается через несколько недель и связана главным образом с повышением уровня Na^+ в фотосинтетических тканях, что в конечном итоге угнетает рост и развитие растений вследствие энергетического дисбаланса [29]. В целом общепризнано, что токсичность Na^+ и Cl^- у высших растений связана с длительным нарушением электрического, осмотического, ионного и метаболического баланса клеток растений, равно как и устойчивость опосредуется успешным противодействием данным явлениям [1; 15]. Механистической основой солевого стресса являются вход Na^+ в клетки корня, вызывающий деполяризацию ПМ, вход Ca^{2+} , выход K^+ , анионов-электролитов и потеря воды [15; 33].

Нарушение калиевого обмена и значительная потеря калия при солевом стрессе известны с 1950-х гг. [34]. Одно из первых детальных исследований этого феномена проведено в 1960-х гг. группой ученых во главе с Дж. Левиттом [35]. Отток калия при солевом стрессе первоначально был отнесен к неспецифическому повреждению ПМ и так называемой потере ее целостности [35]. Однако в дальнейшем в ряде работ [36; 37] показано, что обработка корней 50–100 ммоль/л NaCl приводит к селективной утечке K^+ , но не вызывает оттока других катионов. В исследованиях, выполненных на корнях пшеницы, ячменя, фасоли и гороха, продемонстрировано, что обусловленная засолением утечка K^+ ингибируется Ca^{2+} и не вызывается эквивалентным осмотическим стрессом (уровнями осмотиков, которые соответствуют по осмоляльности ионной компоненте протестированных растворов NaCl) [36; 37]. Эти исследования послужили основой для дальнейшего глубокого изучения выхода электролитов при засолении и вообще при стрессе, что отразилось в серии работ, детально проанализировавших данное явление [15; 19; 33; 38; 39].

В 2002 г. установлено, что вход Na^+ в клетки корня *A. thaliana* (L.) Heynh. осуществляется через НКК, так как ионные каналы, которые его катализируют, отличаются крайне низкой селективностью для катионов [33]. В 2006 г. было четко показано, что деполяризация ПМ, которая вызывается входом Na^+ , способна активировать наружувыпрямляющие K^+ -каналы, через которые K^+ покидает клетки корня [15]. Как вход Na^+ через НКК, так и выход K^+ могут блокироваться внеклеточным кальцием (Ca^{2+}), что снижает токсичность NaCl [33; 40]. Для нескольких видов растений отмечено, что концентрация Ca^{2+} снаружи выше 1–3 ммоль/л более чем на 50 % блокирует Na^+ -индуцированный выход K^+ (через наружувыпрямляющие K^+ -каналы) [15; 33; 40].

Прямое вовлечение K^+ -каналов в утечку K^+ , индуцированную засолением, продемонстрировано для листьев и корней *A. thaliana* (L.) Heynh. и *P. sativum* L. [15; 16; 18], клеток корня *H. vulgare* L. [41], *Brassica napus* L. [42], *Triticum aestivum* L. [16] и *Capsicum annuum* L. [28; 43]. При этом активность K^+ -каналов, обеспечивающих данное явление, вероятно, можно контролировать экзогенными полиаминами [18] и салициловой кислотой [43], снижая выход K^+ при засолении [28]. В последние годы с использованием техники локальной фиксации потенциала (ЛФП, пэтч-кламп) установлено, что NaCl-индуцируемый выход K^+ из клеток корня высших растений происходит главным образом через наружувыврямляющие K^+ -каналы, кодируемые геном *GORK*, и НКК, которые, однако, пока не идентифицированы на генетическом уровне [15; 16].

Утечка электролитов из клеток корня высших растений при воздействии стрессоров биотической природы

Повреждение растительных тканей патогенными организмами в большом количестве случаев сопровождается утечкой электролитов [44]. При взаимодействии с патогенными грибами и бактериями утечка K^+ и органических анионов, выражающаяся в росте проводимости среды, часто используется как маркерная реакция на атаку патогенных бактерий, грибов и вирусов [45]. Наиболее ранние работы, посвященные потере электролитов при биотическом стрессе, появились в 1960-х гг. [1]. В данных исследованиях показано, что при инфицировании растений патогенными вирусами [46], бактериями [47] и грибами [48] индуцируется массивный отток электролитов из тканей.

В 1980-х гг. группой ученых во главе с М. Аткинсоном продемонстрировано, что при воздействии патогенных элизиторов наблюдается отток K^+ и органических анионов из клеток суспензионной культуры табака и сои, который ингибируется блокаторами катионных каналов La^{3+} , Gd^{3+} и Co^{2+} [49; 50]. В дальнейшем было установлено, что утечка электролитов (часто блокируемая антагонистами катионных каналов) индуцируется у растений рода *Sorghum*, зараженных *Periconia circinata* (L. Mangin) Sacc. [51], растений вида *Vigna unguiculata* (L.) Walp, инфицированных *Tobacco mosaic virus* [52], растений вида *Daucus carota* L., обработанных *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary [53], растений рода *Vitis*, зараженных *Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsend) Conn и *Agrobacterium vitis* Ophel & Kerr [54], растений вида *Oryza sativa* L., инфицированных *Rhizoctonia solani* J. G. Kuhn [55], растений вида *T. aestivum* L., обработанных *Puccinia recondita* Dietel & Holw [56], растений вида *Saccharum officinarum* L., зараженных *Colletotrichum falcatum* Went [57], растений видов *Euphorbia coerulescens* Haw. и *Orbea gigantea* N. E. Br., инфицированных фитоплазмой [58], суспензионной культуры *A. thaliana* (L.) Heynh., обработанной *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson [59] и др. [1]. Показано, что отток электролитов при биотическом стрессе включает одновременно катионную и анионную составляющие [59]. Утечка электролитов общепризнанно считается одним из самых быстрых ответов растения на стрессирование патогенами [60].

Недавно продемонстрирована ключевая роль быстрых (R-тип) и медленных (S-тип) анионных каналов в анионной утечке из листьев *A. thaliana* (L.) Heynh. при добавлении в среду бактериального элизитора flg22 [61]. Это указывает на то, что утечка электролитов при патогенном стрессе связана не только с механическим повреждением тканей, а также на то, что она может вовлекать контролируемый механизм – активацию ионных каналов.

Одним из важнейших процессов, наблюдаемых у многих групп растений при воздействии патогенов, является так называемая реакция гиперчувствительности [62–64], которая представляет собой быструю редокс-зависимую локализованную гибель клеток в месте взаимодействия патогена и тканей растения, приводящую к подавлению развития заболевания [65]. Реакция гиперчувствительности – широко распространенный феномен, известный более 100 лет [66]. Она описана практически для всех основных модельных видов высших растений и вызывается большим количеством фитопатогенов (грибы, оомицеты, бактерии, вирусы, насекомые и нематоды) [64; 67; 68]. Также реакция гиперчувствительности развивается при взаимодействии растения-паразита и растения-хозяина [69; 70]. В целом данная реакция всегда сопровождается массивной утечкой электролитов из тканей растений, которая чувствительна к лантанидам и другим блокаторам ионных каналов [64].

В последние годы установлено, что образование активных форм кислорода (АФК) и вход Ca^{2+} выступают основными причинами ЗКГ на заключительных стадиях реакции гиперчувствительности [5]. Вероятно, отток K^+ индуцируется синтезом АФК и также вовлечен в ЗКГ [16]. Выходящий поток K^+ , сопровождающийся синтезом $HO^{\bullet}$, был зарегистрирован у растений, обработанных патогенными элизиторами, полученными из *Alternaria alternate* (Fr.) Keissl. [71], *Botrytis cinerea* Pers. [72], *Cladosporium fulvum* Cooke [73] и *Magnaporthe grisea* (T. T. Hebert) M. E. Barr [74]. Элизиторы, полученные из *C. fulvum* Cooke, активировали наружунаправленную K^+ -проводимость ПМ устьичных клеток *Nicotiana tabacum* L. [73]. При обработке клеток корня *A. thaliana* (L.) Heynh. элизитором, выделенным из *Trichoderma viride* Pers., был зарегистрирован наружунаправленный K^+ -поток, который снижался при добавлении

ТЭА⁺ [16]. Показано, что при обработке клубней картофеля *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary параллельно с утечкой электролитов развивается синтез O₂^{•-} и других АФК [75]. Сейчас общепризнано, что синтез практически всех важнейших АФК (O₂^{•-}, H₂O₂, HO[•] и др.) вовлечен в развитие реакции гиперчувствительности [5].

В ряде публикаций последних лет продемонстрировано, что ответная реакция растения на патогены, включающая утечку K⁺ и других электролитов, может быть предотвращена или значительно снижена при добавлении в среду веществ-скавенджеров («тушителей») АФК, блокаторов катионных каналов, а также при направленном повышении уровня экспрессии антиоксидантных систем и защитных белков [5; 16; 76]. Недавно были описаны HO[•]-активируемые наружувыврямляющие K⁺-каналы в клетках корня *A. thaliana* (L.) Heynh., работа которых показывает прямую связь между синтезом АФК и утечкой K⁺ [16; 19]. Данные системы реагируют на присутствие в среде АФК выбросом K⁺ при деполяризации ПМ [16; 19]. Генетическая природа АФК-активируемых K⁺-каналов связана с функционированием канала, кодируемого геном *GORK*, так как в нокаутных растениях по этому гену не обнаруживалась АФК-активируемая наружунаправленная K⁺-проводимость [16].

Несмотря на большое количество фактов регистрации оттока K⁺ при биотическом стрессе, утечка K⁺ при атаке патогенов не является универсальной реакцией [1]. Например, показано, что такстомин А, полученный из поражающей корни бактерии *Streptomyces scabiei* Lambert & Loria, вызывал симптомы ЗКТ в культуре клеток *A. thaliana* (L.) Heynh., активируя вход Ca²⁺, при этом данное соединение блокировало наружувыврямляющие K⁺-каналы и снижало отток K⁺ из корня [77]. Схожие результаты были получены для устьичных клеток *A. thaliana* (L.) Heynh., обработанных бактериальным элиситором flg22 [78]. Входящий и выходящий потоки K⁺ ингибировались flg22, при этом реакция не наблюдалась у растений линии *gra-1*, лишенной α-субъединицы G-белка [78]. Таким образом, существуют примеры ингибирования оттока K⁺ из растительных клеток под воздействием элиситоров при патогенном стрессе, что, вероятно, определяется особенностями взаимодействия конкретного растения и патогена. Тем не менее важно отметить, что система транспорта K⁺ так или иначе затрагивается и в случае блокирования его оттока.

Утечка электролитов из клеток высших растений в ответ на воздействие тяжелых металлов

Воздействие тяжелых металлов приводит к массивному оттоку электролитов из клеток корня растений [1; 79]. Впервые данное явление обнаружено в 1980-х гг. при исследовании воздействия Cu²⁺ на корни растений [80]. В дальнейшем было отмечено, что растения, обладающие устойчивостью к тяжелым металлам, в частности к меди, отличаются более низкой утечкой электролитов, чем обычные растения [79]. В 1990-х гг. предполагалось, что утечка K⁺, индуцируемая медью и другими тяжелыми металлами, связана с разрушением ПМ из-за перекисного окисления липидов [81]. Однако впоследствии были получены данные, указывающие на вовлечение наружувыврямляющих K⁺-каналов в индуцируемую ионами меди утечку электролитов из корня [82]. Анализ экотипов растений *A. thaliana* (L.) Heynh. с различной устойчивостью к Cu²⁺ показал, что у тех из них, которые более чувствительны к Cu²⁺, наблюдается бо́льшая утечка K⁺ [82]. Тесты с радиоизотопом ⁸⁶Rb⁺ (трейсер калия) подтвердили, что при воздействии Cu²⁺ действительно наблюдается отток K⁺ [82]. Параллельно с утечкой K⁺ при воздействии Cu²⁺ наблюдался выход из клеток корня органического аниона цитрата, вероятно, для балансировки заряда на ПМ [82].

Начиная со второй половины 1990-х гг. были детально охарактеризованы Cu²⁺-индуцируемые токи ПМ и соответствующая утечка K⁺ в клетках харовой водоросли *Nitella flexilis* (L.) C. Agardh и клетках корня *A. thaliana* (L.) Heynh. [16; 19; 83–85]. С помощью метода ЛФП проведен анализ токов ПМ клеток *N. flexilis* (L.) C. Agardh, показавший, что Cu²⁺ и комбинация Cu²⁺ с L-аскорбатом активируют внутрьнаправленную Ca²⁺-проводимость и наружунаправленную K⁺-проводимость [5]. При добавлении Cu²⁺ и L-аскорбиновой кислоты (смесь, генерирующая HO[•]) к корням *A. thaliana* (L.) Heynh. наблюдалась утечка K⁺ через K⁺-проницаемые каналы [19]. Продолжительное воздействие смеси Cu²⁺ и L-аскорбата приводило к активации аннексинов – особых белков, способных встраиваться в ПМ и катализировать входящий поток Ca²⁺ и выходящий поток K⁺ [20; 86].

Утечка электролитов из тканей растений при температурном стрессе

При воздействии экстремальных (чрезмерно высоких или чрезмерно низких положительных и отрицательных) температур [87] наблюдается значительный отток электролитов из тканей растений [1]. Наиболее ранние работы, описавшие утечку электролитов из тканей растений при температурном воздействии, опубликованы еще в 1930-х гг. [2]. Например, в лаборатории С. Декстера показано, что степень

повреждения растительных тканей при гипотермии положительно коррелирует с утечкой электролитов [2]. Было сделано предположение, что утечка электролитов происходит из-за разрушения ПМ и гибели клеток. В дальнейшем утечка электролитов при гипо- и гипертермии была обнаружена у большого количества видов растений, различных тканей и типов клеток [1; 6; 88]. На сегодня установлено, что при температурном стрессе индуцируется утечка электролитов из тканей *Solanum nigrum* L. [89], *Helianthus annuus* L. [90], *Pinus sylvestris* L. [91], *Zea mays* L., *Cucumis sativus* L., *O. sativa* L. [92; 93], *B. napus* L. [94], *V. unguiculata* (L.) Walp. [95], *Xylia xylocarpa* (Roxb.) Taub. [96], *Picea glauca* (Moench) Voss, *Picea mariana* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenb., *Pinus banksiana* Lamb. [97], *Coffea dewevrei* De Wild & Durand [98], *A. thaliana* (L.) Heynh. [99], *T. aestivum* L., *H. vulgare* L. [100], *Punica granatum* L. [101], *Solanum lycopersicum* L. [102] и др.

В последние годы обнаружены воздействия, способствующие снижению утечки электролитов при температурном стрессе [1; 6]. Например, добавление салициловой кислоты к проросткам *Z. mays* L., *C. sativus* L. и *O. sativa* L. [92; 93], плодам *P. granatum* L. [101] при воздействии низких температур и к проросткам *A. thaliana* (L.) Heynh. при воздействии высоких температур [99] снижало выходящий поток электролитов. Добавление униконазола (синтетический регулятор роста) при замораживании уменьшало отток электролитов из тканей *B. napus* L. [94]. Было сделано предположение, что данные соединения способны уменьшать повреждение ПМ при гипотермии в результате подавления окисления мембранных липидов. Также продемонстрирована роль белка дегидрина в устойчивости растений (на примере *N. tabacum* L.) к замораживанию [103]. У растений, экспрессирующих дегидрин, выходящий поток электролитов был ниже, чем у растений контрольной группы [103]. В итоге выдвинута гипотеза, согласно которой дегидрин выступает в роли сквенджера свободных радикалов, благодаря чему он способен предотвращать перекисное окисление липидов ПМ.

В последние годы опубликованы данные, указывающие на вовлечение Ca^{2+} -проницаемых каналов в распознавание сигналов температурного стресса [104]. Показано, что каналы семейства CNGC (*cyclic nucleotide-gated ion channel*), чувствительные к изменению температуры, опосредуют вход Ca^{2+} в клетку у *Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt. и *A. thaliana* (L.) Heynh. при температурном стрессе [105; 106]. Продemonстрировано, что активность каналов CNGC14 и CNGC16 в клетках листьев *O. sativa* L. обеспечивает устойчивость растений к высоким и низким температурам [107]. Таким образом, каналы CNGC14 и CNGC16 выступают в роли модуляторов Ca^{2+} -сигнализации при температурном стрессе. Примечательно, что генетическое нокаутирование *AtCNGC14* или *AtCNGC16* приводило к подавлению Ca^{2+} -сигналов, вызываемых пониженными температурами, и одновременно влекло за собой снижение устойчивости растений к пониженным температурам [107]. Недавно продемонстрировано, что аквапорины PIP1;4 и PIP2;5 (PIP – *plasma membrane intrinsic protein*) участвуют в обеспечении устойчивости *A. thaliana* (L.) Heynh. к низким температурам и заморозкам [108].

Утечка электролитов из тканей растений при осмотическом стрессе

Отток электролитов при осмотическом стрессе из корней и других вегетативных тканей высших растений впервые описан в 1970-х гг. [11; 109]. В ранних работах по данному вопросу отток ионов из растительных тканей рассматривался как результат нарушения целостности ПМ. Также предполагалось, что устойчивость растений к засухе коррелирует со скоростью повреждения ПМ при воздействии водного стресса и ростом утечки электролитов [11]. В дальнейшем анализ оттока электролитов использовался как маркер повреждающего воздействия водного стресса [11]. В ранних работах по изучению осмотического стресса особый акцент также делался на утечку электролитов из семян при их высушивании и набухании, как, например, это было показано для *Lotus corniculatus* L. [110], *Avena fatua* L. [111], *Acer saccharinum* L., *Chrysalidocarpus lutescens* H. Wendl. [112] и *Glycine max* L. [113]. В последние годы отток электролитов при водном стрессе исследован у *H. vulgare* L. [114], *Triticum durum* L. [4], *T. aestivum* L., *Z. mays* L. [115], *P. sativum* L. [116], *O. sativa* L. [117], *Lycopersicon esculentum* Mill. [118], *N. tabacum* L. [119], *Malus prunifolia* (Willd.) Borkh., *M. hupehensis* (Pamp.) Rehder [120], *Brassica rapa* L. [121], *Sorghum bicolor* (L.) Moench [122] и у других видов растений. В указанных работах установлено, что выходящий поток электролитов из тканей растений при осмотическом стрессе в основном опосредован деполяризацией ПМ, выходом K^+ и органических анионов [1; 4]. В современных публикациях показано, что повышение содержания в клетках растений антиоксидантов способствует снижению утечки электролитов и повышению их устойчивости к воздействию засухи [115]. Например, повышение экспрессии Mn-супероксиддисмутазы в листьях *P. sativum* L. [116], а также Cu/Zn-супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы в листьях *N. tabacum* L. [119] приводило к значительному снижению выходящего потока электролитов. Была выдвинута гипотеза, согласно которой высокая антиоксидантная активность предотвращает развитие окислительного стресса и повреждение ПМ [115].

Недавно выявлен ряд механизмов, которые участвуют в формировании устойчивости растений к осмотическому стрессу на уровне ионных каналов ПМ [123–126]. Показано, что анионный канал *ZmSLAC1* (SLAC – slow anion channel) экспрессируется в ПМ устьичных клеток и обеспечивает закрытие устьиц при снижении водного потенциала среды [127]. При воздействии засухи в клетке запускается каскад сигнальных реакций, активирующих SLAC1 посредством фосфорилирования, и происходит отток Cl^- , NO_3^- из устьичных клеток [123]. Кроме того, продемонстрировано, что повышенная экспрессия генов внутривыпрямляющих K^+ -каналов AKT1 (*Arabidopsis K⁺ transporter-1*) и высокоаффинного K^+ -транспортера HAK1 (*high affinity K⁺ transporter-1*) повышает устойчивость *H. vulgare* L. к засухе [124; 125]. Согласно предположению авторов это может быть связано с повышением поглощения K^+ каналами AKT1 и транспортерами HAK1. Также зарегистрировано повышение экспрессии генов аквапоринов *PIP1;3*, *PIP2;5*, *TIP2;1* и *NIP2;1* у *O. sativa* L. при осмотическом стрессе [126]. Повышение экспрессии аквапоринов положительно коррелировало с устойчивостью растений к засухе.

Влияние АФК и других редокс-активных соединений на потоки электролитов в тканях высших растений

Образование АФК – наиболее часто регистрируемая реакция, сопровождающая утечку K^+ при стрессе [1]. Во многих случаях образование супероксида ($\text{O}_2^{\bullet-}$) за счет восстановления триплетного кислорода (O_2) является начальной реакцией синтеза АФК, окислительного стресса и редокс-регуляции в живых системах, включая высшие растения [8; 128]. При дальнейшем протонировании $\text{O}_2^{\bullet-}$ формируется гидропероксильный радикал $\text{HO}_2^{\bullet}$, который может дисмутировать до перекиси водорода (H_2O_2) [128]. Последняя может принимать электроны от восстановленных ионов переходных металлов или их комплексов (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} и др.) и давать гидроксильный радикал ($\text{HO}^{\bullet}$) [129]. Гидроксильный радикал является наиболее сильным окислителем в биологических системах и может вступать в реакцию окисления с большинством органических молекул клетки.

АФК синтезируются во внеклеточном пространстве хлоропластов и митохондрий, в пероксисомах и апопласте за счет активности НАДФН-оксидаз ПМ, внеклеточных пероксидаз класса III, полиаминоксидаз и оксалатоксидаз [1]. При умеренном стрессе продукция АФК преимущественно действует в качестве регуляторного механизма, стимулирующего иммунитет растений и защитные реакции [130]. В случае сильного стрессового воздействия генерация АФК возрастает и приводит к окислительному стрессу, т. е. накоплению недетоксицированных окисленных продуктов.

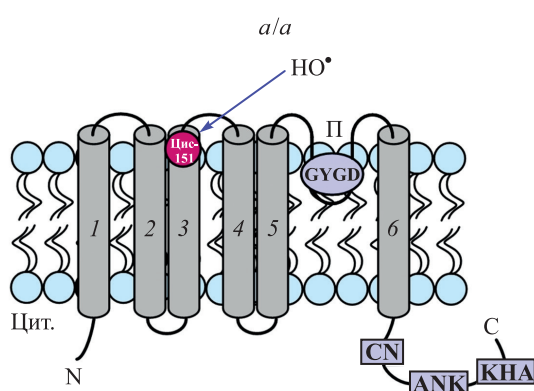
На сегодняшний день продемонстрировано, что растения генерируют $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 и $\text{HO}^{\bullet}$ в ответ на засоление [16; 19], атаку патогенных организмов [19], засуху, гипертермию [131], гипотермию [132], воздействие тяжелых металлов [133], гербицидов [134] и другие стресс-факторы [1]. В большом количестве работ показано, что стресс-индуцированное образование АФК по временным характеристикам схоже с активацией выхода K^+ , которая возникает в ответ на стресс-факторы. Таким образом, можно предположить наличие взаимосвязи между образованием АФК и утечкой K^+ [16].

В последние годы хорошо изучена взаимосвязь утечки K^+ и образования АФК в ответе растения на воздействие патогенных организмов. Образование $\text{HO}^{\bullet}$ и выход K^+ наблюдались вместе у растений, подверженных влиянию элиситоров, выделяемых *C. fulvum* Cooke [135], *A. alternate* (Fr.) Keissl. [71], *B. cinerea* Pers. [72] и *M. grisea* (T. T. Hebert) M. E. Barr [74]. Например, появление в среде инкубации протопластов, изолированных из устьичных клеток *N. tabacum* L., элиситоров *C. fulvum* Cooke приводило к очень быстро развивающемуся синтезу АФК и активации выхода K^+ [73]. Элиситоры *T. viride* Pers. вызывали взрыв продукции $\text{HO}^{\bullet}$, чувствительную к блокаторам калиевых каналов утечку K^+ у растений *A. thaliana* (L.) Heynh., вероятно, за счет активации K^+ -каналов [16]. Вещества-скавенджеры АФК и ингибиторы ферментов, синтезирующих АФК, так же как и дополнительная усиленная экспрессия антиоксидантных систем и защитных белков, предотвращали или значительно задерживали ответ на патогены, выражающийся в синтезе АФК и активации выходящего потока K^+ [16; 76].

Открытие в 2003 г. АФК-активируемых K^+ -каналов экспериментально подтвердило существование связи между образованием АФК и утечкой K^+ [19]. Более ранней реакцией при стрессе является синтез АФК, который приводит к дальнейшей активации Ca^{2+} - и K^+ -проницаемых катионных каналов, входу Ca^{2+} в цитоплазму и активации оттока K^+ из клеток и тканей. Недавно с использованием подходов спектроскопии электронного парамагнитного резонанса показано, что при солевом стрессе наблюдалось образование $\text{HO}^{\bullet}$, активирующего K^+ -каналы наружного выпрямления в клетках корня арабидопсиса [16].

Тестирование редокс-чувствительного центра K⁺-канала GORK *A. thaliana* (L.) Heynh., ответственного за его активацию под действием окислительного стресса

На сегодняшний день молекулярный механизм активации наружувыврямляющего K⁺-канала GORK, являющегося доминирующей транспортной системой, ответственной за АФК-активируемый выход калия при стрессе, точно не известен. Тем не менее в последние годы в лаборатории профессора М. Блатта была установлена мишень АФК в молекулярном комплексе наружувыврямляющего K⁺-канала SKOR (*stellar K⁺ outward-rectifying channel*) [136] – ближайшего гомолога канала GORK. При экспрессии канала SKOR в гетерологической системе (НЕК293) продемонстрировано, что необходимым условием для активации данного канала в присутствии АФК (H₂O₂) является наличие консервативного аминокислотного остатка Цис-168 в домене 3, обладающем потенциалзависимостью [136]. Ранее сотрудниками научно-исследовательской лаборатории физиологии и биотехнологии растений кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета БГУ совместно с профессором И. Дреером из Технического университета Мадрида (Испания) было сделано предположение, что в канале GORK имеется гомологичная аминокислота (цистеин), которая может выступать в роли мишени АФК [137]. Биоинформационный анализ, выполненный путем выравнивания последовательности гена *GORK*, показал наличие сходного по составу кодируемых аминокислот участка у многих высших растений, геномы которых аннотированы в базе данных EMBL-EBI (см. рисунок). Было установлено, что остатку Цис-168 канала SKOR у *A. thaliana* (L.) Heynh. в канале GORK соответствует аминокислота Цис-151, которая, следовательно, может выполнять функцию АФК-сенсора. Остаток цистеина высококонсервативен и имеется у других видов растений, включая *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt., *B. rapa* L., *Noccaea caerulescens* (J. Presl & C. Presl) F. K. Mey., *Camelina sativa* (L.) Crantz, *Raphanus sativus* L., *Tarenaya hassleriana* (Chodat) Iltis и др. В результате совместного исследования в лаборатории профессора И. Дреера были получены трансгенные растения *A. thaliana* (L.) Heynh. с модификацией канала GORK: *gork1-1* (отсутствует ген, кодирующий наружувыврямляющий K⁺-канал); *gork1-1* с возвращенным K⁺-каналом GORK (Компл. *gork1-1*); *gork1-1* с заменой аминокислоты цистеин на серин по положению 151 в предполагаемом АФК-чувствительном сайте канала GORK (Сер. 151). Семена мутантных линий были предоставлены научно-исследовательской лаборатории физиологии и биотехнологии растений для проведения электрофизиологического анализа и подтверждения гипотезы о роли Цис-151 в восприятии АФК-сигнала.



Ген	Аминокислотная последовательность	Положение аминокислоты
<i>AtSKOR</i>	K S T F I I D L L A C M P W D I I Y K A A	168
<i>AtGORK</i>	K S H F L M D F I G C F P W D L I Y K A S	151
<i>BpGORK</i>	K S H F F L D L V S C F P W D L I Y K A S	150
<i>BrGORK</i>	K S H F F L D L V S C F P W D L I Y K A S	150
<i>NcGORK</i>	K S H F F L D F V S C F P W D L I Y K V S	151
<i>CsGORK</i>	K S H F L M D F I S C F P W D L I Y K A S	154
<i>RsGORK</i>	K S H F F L D L V S C F P W D L I Y K A S	151
<i>ThGORK</i>	K S D F I V D L L S C L P W D L I F K A S	156

Анализ редокс-сенсора в наружувыврямляющем K⁺-канале GORK (начало):

a – расположение Цис-151 в канале GORK (П – пора, цит. – цитоплазма);

b – консервативный остаток цистеина у высших растений, геномы которых аннотированы

в базе данных EMBL-EBI (*Bp* – *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt.,

Br – *Brassica rapa* L., *Nc* – *Noccaea caerulescens* (J. Presl & C. Presl) F. K. Mey.,

Cs – *Camelina sativa* (L.) Crantz, *Rs* – *Raphanus sativus* L., *Th* – *Tarenaya hassleriana* (Chodat) Iltis)

Analysis of the redox sensor in the outwardly-rectifying K⁺ channel GORK (beginning):

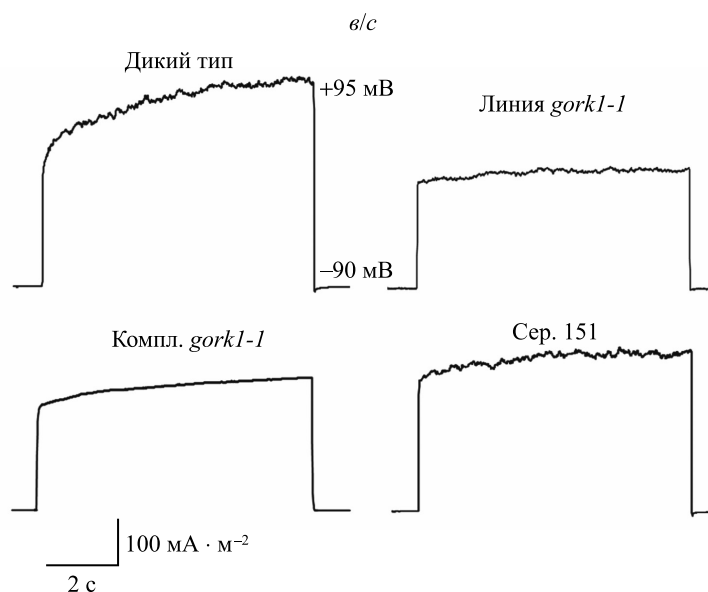
a – location of Cys-151 in the GORK channel (П – пора, цит. – cytoplasm);

b – a conserved cysteine residue in higher plants whose genomes are annotated

with EMBL-EBI (*Bp* – *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt.,

Br – *Brassica rapa* L., *Nc* – *Noccaea caerulescens* (J. Presl & C. Presl) F. K. Mey.,

Cs – *Camelina sativa* (L.) Crantz, *Rs* – *Raphanus sativus* L., *Th* – *Tarenaya hassleriana* (Chodat) Iltis)



Анализ редокс-сенсора в наружувыпрямляющем K^+ -канале GORK (окончание):
 v – наружунаправленные K^+ -токи в ответ на воздействие смеси, генерирующей гидроксильные радикалы (1 ммоль/л Cu^{2+} , 1 ммоль/л L-аскорбиновой кислоты, 1 ммоль/л H_2O_2). Описание генетических модификаций приводится в тексте.

Использованные методические подходы, экспериментальные растворы и техника получения протопластов ранее описаны в работах [16; 40; 138]

Analysis of the redox sensor in the outwardly-rectifying K^+ channel GORK (ending):
 c – outwardly-directed K^+ currents in response to a hydroxyl radical-generating mixture (1 mmol/L Cu^{2+} , 1 mmol/L L-ascorbic acid, 1 mmol/L H_2O_2).

Genetic modifications are described in the text. Techniques are previously described elsewhere [16; 40; 138]

С помощью техники ЛФП был проведен первичный анализ модификации наружунаправленной проводимости ПМ у арабидопсиса дикого типа и мутантных линий. На рисунке представлены типичные токовые кривые через ПМ клеток корня *A. thaliana* (L.) Heynh. при максимальной деполяризации ПМ (+95 мВ). Показано, что у растений дикого типа при введении в наружный раствор смеси, генерирующей гидроксильные радикалы (1 ммоль/л Cu^{2+} , 1 ммоль/л L-аскорбиновой кислоты, 1 ммоль/л H_2O_2), наблюдается высокая наружунаправленная K^+ -проводимость, включающая мгновенную (быструю) и времязависимую (медленную) компоненты тока. Согласно литературным данным мгновенная проводимость обусловлена работой НКК, времязависимая – функционированием каналов GORK [1]. Нокаутирование канала GORK (линия *gork1-1*) приводило к снижению наружунаправленных K^+ -токов при действии $HO^\bullet$. Важно отметить, что у данной линии не была зарегистрирована медленная компонента наружунаправленных калиевых токов ПМ. Линии арабидопсиса, экспрессирующие канал GORK с замещением Цис-151 на серин, демонстрировали снижение их чувствительности к $HO^\bullet$ по сравнению с диким типом. В целом характер проводимости ПМ у данной линии был схожим с таковым у линий *A. thaliana* (L.) Heynh. *gork1-1*. Возмещение нативного канала GORK (Компл. *gork1-1*) приводило к восстановлению медленной компоненты тока и повышению наружунаправленной проводимости ПМ при воздействии $HO^\bullet$. Полученные данные указывают на то, что Цис-151 с высокой долей вероятности является редокс-сенсором в канале GORK и обеспечивает активацию данного канала в ответ на генерацию АФК в среде. Согласно работе [6] в присутствии АФК канал GORK катализирует массивный отток K^+ из клеток корня, запуская метаболические перестройки адаптивного характера и индукцию ЗКГ. Эти данные согласуются с результатами исследований, указывающими на редокс-регуляцию у сходного с каналом GORK канала SKOR [136], и дополняют их.

Заключение

Отток электролитов из тканей растений относится к наиболее ранним процессам, наблюдающимся при стрессовом воздействии различной природы (засоление, атака патогенных организмов, воздействие тяжелых металлов, окислительный стресс и др.). Утечка электролитов является одним из важнейших маркеров жизнеспособности клеток, а также индикатором стрессоустойчивости видов растений. Данное явление развивается мгновенно после стрессового воздействия и продолжается несколько часов. Стресс-индуцируемый выходящий поток электролитов опосредуется оттоком K^+ и органических

(малат²⁻, цитрат³⁻ и др.) и неорганических (Cl⁻, HPO₄²⁻, NO₃⁻ и др.) анионов. Наружунаправленные потоки анионов компенсируют заряд ввиду массивного оттока K⁺ из клеток. При сильном стрессе клетки растений могут высвобождать большое количество K⁺ и его химическая активность может снижаться до 10–30 ммоль/л. Потеря K⁺ клетками корня имеет важное значение, так как в этом случае K⁺ необратимо утрачивается. В последние годы показано, что утечка электролитов при стрессе является контролируемым процессом и обеспечивается функционированием ионных каналов ПМ. Однако механизм данного явления до конца не известен. В работе представлены пилотные данные, демонстрирующие роль аминокислотного остатка Цис-151 в АФК-индуцируемой активации каналов GORK. Показано, что Цис-151 выполняет функцию редокс-чувствительного сайта канала GORK, ответственного за отток калия и индукцию выхода других электролитов из тканей растений при стрессе.

Библиографические ссылки / References

1. Demidchik V, Straltsova D, Medvedev SS, Pozhvanov GA, Sokolik A, Yurin V. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*. 2015;65(5):1259–1270. DOI: 10.1093/jxb/eru004.
2. Dexter ST, Tottingham WE, Graber LF. Investigation of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiology*. 1932;7(1):63–78. DOI: 10.1104/pp.7.1.63.
3. Demidchik V. Reactive oxygen species and their role in plant oxidative stress. In: Shabala S, editor. *Plant stress physiology*. Wallingford: CABI; 2017. p. 64–96. DOI: 10.1079/9781780647296.0064.
4. Bajji M, Kinet J-M, Lutts S. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*. 2002;36(1):61–70. DOI: 10.1023/A:1014732714549.
5. Demidchik V. Mechanisms and physiological roles of K⁺ efflux from root cells. *Journal of Plant Physiology*. 2014;171(9):696–707. DOI: 10.1016/j.jplph.2014.01.015.
6. Demidchik V, Tyutereva EV, Voitsekhovskaja OV. The role of ion disequilibrium in induction of root cell death and autophagy by environmental stresses. *Functional Plant Biology*. 2018;45(2):28–46. DOI: 10.1071/FP16380.
7. Leigh RA, Jones RGW. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and function of this ion in the plant cell. *New Phytologist*. 1984;97(1):1–13. DOI: 10.1111/J.1469-8137.1984.TB04103.X.
8. Demidchik V. Characterisation of root plasma membrane Ca²⁺-permeable cation channels: techniques and basic concepts. In: Volkov AG, editor. *Plant electrophysiology: signaling and responses*. Berlin: Springer-Verlag; 2012. p. 339–369.
9. Osterhaut WJV. *Injury, recovery, and death, in relation to conductivity and permeability*. Philadelphia: J. B. Lippincott Company; 1922. 259 p.
10. Palta JP, Levitt J, Stadelmann EJ. Freezing injury in onion bulb cells. I. Evaluation of the conductivity method and analysis of ion and sugar efflux from injured cells. *Plant Physiology*. 1977;60(3):393–397. DOI: 10.1104/pp.60.3.393.
11. Blum A, Ebercon A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*. 1981;21(1):43–47. DOI: 10.2135/CROPSCI1981.0011183X0021000100013X.
12. Leopold CA, Musgrave ME, Williams KM. Solute leakage resulting from leaf desiccation. *Plant Physiology*. 1981;68(6):1222–1225. DOI: 10.1104/pp.68.6.1222.
13. Atkinson MM, Midland SL, Sims JJ, Keen NT. Syringolide 1 triggers Ca²⁺ influx, K⁺ efflux, and extracellular alkalinisation in soybean cells carrying the disease-resistance gene *Rpg4*. *Plant Physiology*. 1996;112(1):297–302. DOI: 10.1104/pp.112.1.297.
14. Murphy AS, Eisinger WR, Shaff JE, Kochian LV, Taiz L. Early copper-induced leakage of K⁺ from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. *Plant Physiology*. 1999;121(4):1375–1382. DOI: 10.1104/pp.121.4.1375.
15. Shabala S, Demidchik V, Shabala L, Cuin TA, Smith SJ, Miller AJ, et al. Extracellular Ca²⁺ ameliorates NaCl-induced K⁺ loss from *Arabidopsis* root and leaf cells by controlling plasma membrane K⁺-permeable channels. *Plant Physiology*. 2006;141(4):1653–1665. DOI: 10.1104/pp.106.082388.
16. Demidchik V, Cuin TA, Svistunenko D, Smith SJ, Miller AJ, Shabala S, et al. *Arabidopsis* root K⁺ efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death. *Journal of Cell Science*. 2010;123(9):1468–1479. DOI: 10.1242/jcs.064352.
17. Zepeda-Jazo I, Shabala S, Chen Z, Pottosin II. Na⁺ – K⁺ transport in roots under salt stress. *Plant Signaling and Behavior*. 2008;3(6):401–403. DOI: 10.4161/psb.3.6.5429.
18. Shabala S, Cuin TA, Pottosin I. Polyamines prevent NaCl-induced K⁺ efflux from pea mesophyll by blocking non-selective cation channels. *FEBS Letters*. 2007;581(10):1993–1999. DOI: 10.1016/j.febslet.2007.04.032.
19. Demidchik V, Shabala SN, Coutts KB, Tester MA, Davies JM. Free oxygen radicals regulate plasma membrane Ca²⁺- and K⁺-permeable channels in plant root cells. *Journal of Cell Science*. 2003;116(1):81–88. DOI: 10.1242/jcs.00201.
20. Laohavisit A, Mortimer JC, Demidchik V, Coxon KM, Stancombe MA, Macpherson N, et al. *Zea mays* annexins modulate cytosolic free Ca²⁺ form a Ca²⁺-permeable conductance and have peroxidase activity. *The Plant Cell*. 2009;21(2):479–493. DOI: 10.1105/tpc.108.059550.
21. Demidchik V, Shang Z, Shin R, Colaço R, Laohavisit A, Shabala S, et al. Receptor-like activity evoked by extracellular ADP in *Arabidopsis thaliana* root epidermal plasma membrane. *Plant Physiology*. 2011;156(3):1375–1385. DOI: 10.1104/pp.111.174722.
22. Shabala S. *Plant stress physiology*. Wallingford: CABI; 2017. 376 p.
23. Badri DV, Quintana N, El Kassir EG, Kim HK, Choi YH, Sugiyama A, et al. An ABC transporter mutation alters root exudation of phytochemicals that provoke an overhaul of natural soil microbiota. *Plant Physiology*. 2009;151(4):2006–2017. DOI: 10.1104/pp.109.147462.
24. Jones DL, Nguyen C, Finlay RD. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. *Plant and Soil*. 2009;321(1):5–33. DOI: 10.1007/s11104-009-9925-0.

25. Flowers TJ, Colmer TD. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Annals of Botany*. 2015;115(3):327–331. DOI: 10.1093/aob/mcu267.
26. Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 2008;59:651–681. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
27. Zvanarou S, Vágnerová R, Mackievic V, Usnich S, Smolich I, Sokolik A, et al. Salt stress triggers generation of oxygen free radicals and DNA breaks in *Physcomitrella patens* protonema. *Environmental and Experimental Botany*. 2020;180:104236. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2020.104236.
28. Shabala S. Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. *Annals of Botany*. 2013;112(7):1209–1221. DOI: 10.1093/aob/mct205.
29. Negrão S, Schmöckel SM, Tester M. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*. 2017;119(1):1–11. DOI: 10.1093/aob/mcw191.
30. Gilroy S, Suzuki N, Miller G, Choi W-G, Toyota M, Devireddy AR, et al. A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. *Agricultural Advances*. 2014;19(10):623–630. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.06.013.
31. Roy SJ, Negrão S, Tester M. Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*. 2014;26:115–124. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.12.004.
32. Munns R, Termaat A. Whole-plant responses to salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*. 1986;13(1):143–160. DOI: 10.1071/PP9860143.
33. Demidchik V, Tester M. Sodium fluxes through non-selective cation channels in the plasma membrane of protoplasts from *Arabidopsis thaliana* roots. *Plant Physiology*. 2002;128(2):379–387. DOI: 10.1104/pp.010524.
34. Levitt J. *Responses of plant to environmental stress: water, radiation, salt and other stresses*. New York: Academic Press; 1980. 607 p.
35. Levitt J. *Responses of plants to environmental stresses*. London: Academic Press; 1972. 697 p.
36. Nassery H. The effects of salt and osmotic stress on the retention of potassium by excised barley and bean roots. *New Phytologist*. 1975;75(1):63–67. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1975.tb01371.x.
37. Nassery H. Salt induced loss of potassium from plant roots. *New Phytologist*. 1979;83(1):23–27. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1979.tb00722.x.
38. Maathuis FJM, Amtmann A. K^+ nutrition and Na^+ toxicity: the basis of cellular K^+/Na^+ ratios. *Annals of Botany*. 1999;84(2):123–133. DOI: 10.1006/anbo.1999.0912.
39. Cuin TA, Betts SA, Chalmandrier R, Shabala S. A root's ability to retain K^+ correlates with salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*. 2008;59(10):2697–2706. DOI: 10.1093/jxb/ern128.
40. Hryvusevich P, Navaselsky I, Talkachova Yu, Straltsova D, Keisham M, Viatoshkin A, et al. Sodium influx and potassium efflux currents in sunflower root cells under high salinity. *Frontiers in Plant Science*. 2021;11:613936. DOI: 10.3389/fpls.2020.613936.
41. Chen Z, Pottosin II, Cuin TA, Fuglsang AT, Tester M, Jha D, et al. Root plasma membrane transporters controlling K^+/Na^+ homeostasis in salt-stressed barley. *Plant Physiology*. 2007;145(4):1714–1725. DOI: 10.1104/pp.107.110262.
42. Hanin M, Ebel C, Ngom M, Laplace L, Masmoudi K. New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:1787. DOI: 10.3389/fpls.2016.01787.
43. Ahmed W, Imran M, Yaseen M, ul Haq T, Jamshaid MU, Rukh S, et al. Role of salicylic acid in regulating ethylene and physiological characteristics for alleviating salinity stress on germination, growth and yield of sweet pepper. *PeerJ*. 2020;27(8):e8475. DOI: 10.7717/peerj.8475.
44. Ebel J, Mithöfer A. Early events in the elicitation of plant defence. *Planta*. 1998;206:335–348. DOI: 10.1007/s004250050409.
45. Zimmermann S, Nürnberger T, Frachisse J-M, Wirtz W, Guern J, Hedrich R, et al. Receptor-mediated activation of a plant Ca^{2+} -permeable ion channel involved in pathogen defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997;94(6):2751–2755. DOI: 10.1073/pnas.94.6.2751.
46. Kato T, Ueda T, Fljimoto K. New insecticidally active chrysanthemates. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1964;28(12):914–915. DOI: 10.1080/00021369.1964.10858319.
47. Cook A, Stall R. Effect of *Xanthomonas vesicatoria* on loss of electrolytes from leaves of *Capsicum annuum*. *Phytopathology*. 1968;58:617–619.
48. Pellizzari ED, Kuc J, Williams EB. The hypersensitive reaction in *Malus* species: changes in the leakage of electrolytes from apple leaves after inoculation with *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 1970;60:373–376. DOI: 10.1094/Phyto-60-373.
49. Atkinson MM, Huang J-S, Knopp JA. The hypersensitive reaction of tobacco to *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*: activation of a plasmalemma K^+/H^+ exchange mechanism. *Plant Physiology*. 1985;79(3):843–847. DOI: 10.1104/pp.79.3.843.
50. Atkinson MM, Keppler LD, Orlandi EW, Baker CJ, Mischke CF. Involvement of plasma membrane calcium influx in bacterial induction of the K^+/H^+ and hypersensitive responses in tobacco. *Plant Physiology*. 1990;92(1):215–221. DOI: 10.1104/pp.92.1.215.
51. Dunkle LD, Wolpert TJ. Independence of milo disease symptoms and electrolyte leakage induced by the host-specific toxin from *Periconia circinata*. *Physiological Plant Pathology*. 1981;18(3):315–323. DOI: 10.1016/S0048-4059(81)80082-3.
52. Pennazio S, Sapetti C. Electrolyte leakage in relation to viral and abiotic stresses inducing necrosis in cowpea leaves. *Biologia Plantarum*. 1982;24(3):218–225. DOI: 10.1007/BF02883667.
53. Finlayson JE, Pritchard MK, Rimmer SR. Electrolyte leakage and storage decay of five carrot cultivars in response to infection by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1989;11(3):313–316. DOI: 10.1080/07060668909501119.
54. Stover EW, Swartz HJ, Burr TJ. Crown gall formation in a diverse collection of *Vitis* genotypes inoculated with *Agrobacterium vitis*. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1997;48:26–32.
55. Sriram S, Raguchander T, Babu S, Nandakumar R, Shanmugam V, Vidhyasekaran P, et al. Inactivation of phytotoxin produced by the rice sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Microbiology*. 2000;46(6):520–524. DOI: 10.1139/w00-018.
56. Ádám AL, Galal AA, Manninger K, Barna B. Inhibition of the development of leaf rust (*Puccinia recondita*) by treatment of wheat with allopurinol and production of a hypersensitive-like reaction in a compatible host. *Plant Pathology*. 2000;49(3):317–323. DOI: 10.1046/j.1365-3059.2000.00455.x.
57. Mohanraj D, Padmanaban P, Karunakaran M. Effect of phytotoxin of *Colletotrichum falcatum* Went. (*Phylospora tucumanensis*) on sugarcane in tissue culture. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. 2003;38(1–2):21–28. DOI: 10.1556/APhyt.38.2003.1-2.4.
58. Dewir YH, El Mahrouk ME, Hafez YM, Rihan HZ, Sáez CA, Fuller MP. Antioxidative capacity and electrolyte leakage in healthy versus phytoplasma infected tissues of *Euphorbia coerulescens* and *Orbea gigantea*. *Journal of Plant Physiology & Pathology*. 2015;3(1):1–6. DOI: 10.4172/2329-955X.1000139.

59. Colcombet J, Mathieu Y, Peyronnet R, Agier N, Lelièvre F, Barbier-Brygoo H, et al. R-type anion channel activation is an essential step for ROS-dependent innate immune response in *Arabidopsis* suspension cells. *Functional Plant Biology*. 2009;36(9):832–843. DOI: 10.1071/FP09096.
60. Roelfsema MRG, Hedrich R, Geiger D. Anion channels: master switches of stress responses. *Trends in Plant Science*. 2012;17(4):221–229. DOI: 10.1016/j.tplants.2012.01.009.
61. Wei Guo, Chengcheng Wang, Zhangli Zuo, Jin-Long Qiu. The roles of anion channels in *Arabidopsis* immunity. *Plant Signaling and Behavior*. 2014;9(7):e29230. DOI: 10.4161/psb.29230.
62. Chester KS. The problem of acquired physiological immunity in plants. *Quarterly Review of Biology*. 1933;8(2):129–154.
63. Klement Z, Goodman RN. The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 1967;5:17–44. DOI: 10.1146/annurev.py.05.090167.000313.
64. Balint-Kurti P. The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences. *Molecular Plant Pathology*. 2019;20(8):1163–1178. DOI: 10.1111/mpp.12821.
65. Goodman RN, Novacky AJ. *The hypersensitive reaction in plants to pathogens: a resistance phenomenon*. Chicago: American Phytopathological Society; 1994. 244 p.
66. Ward HM. On the relations between host and parasite in the bromes and their brown rust, *Puccinia dispersa* (Erikss.). *Annals of Botany*. 1902;os-16(2):233–316. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aob.a088874.
67. Rossi M, Goggin FL, Milligan SB, Kaloshian I, Ullman DE, Williamson VM. The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(17):9750–9754. DOI: 10.1073/pnas.95.17.9750.
68. Dropkin VH. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology*. 1969;59:1632–1637.
69. Mohamed A, Ellicott A, Housley TL, Ejeta G. Hypersensitive response to *Striga* infection in *Sorghum*. *Crop Science*. 2003;43(4):1320–1324. DOI: 10.2135/cropsci2003.1320.
70. Swarbrick PJ, Huang K, Liu G, Slate J, Press MC, Scholes JD. Global patterns of gene expression in rice cultivars undergoing a susceptible or resistant interaction with the parasitic plant *Striga hermonthica*. *New Phytologist*. 2008;179(2):515–529. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02484.x.
71. Jennings DB, Daub ME, Pharr DM, Williamson JD. Constitutive expression of a celery mannitol dehydrogenase in tobacco enhances resistance to the mannitol-secreting fungal pathogen *Alternaria alternata*. *The Plant Journal*. 2002;32(1):41–49. DOI: 10.1046/j.1365-3113x.2001.01399.x.
72. Govrin EM, Rachmilevitch S, Tiwari BS, Solomon M, Levine A. An elicitor from *Botrytis cinerea* induces the hypersensitive response in *Arabidopsis thaliana* and other plants and promotes the gray mold disease. *Phytopathology*. 2006;96(3):299–307. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0299.
73. Blatt MR, Grabov A, Brearley J, Hammond-Kosack K, Jones JDG. K⁺ channels of Cf-9-transgenic tobacco guard cells as targets for *Cladosporium fulvum* Avr9. *The Plant Journal*. 1999;19(4):453–462. DOI: 10.1046/j.1365-3113x.1999.00534.x.
74. Pasechnik T, Aver'yanov AA, Lapikova VP, Kovalenko ED, Kolomietz TM. The involvement of activated oxygen in the expression of the vertical and horizontal resistance of rice to blast disease. *Russian Journal of Plant Physiology*. 1998;45(3):371–378.
75. Doke N. Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. *Physiological Plant Pathology*. 1983;23(3):345–357. DOI: 10.1016/0048-4059(83)90019-X.
76. De Gara L, de Pinto MC, Tommasi F. The antioxidant systems vis-à-vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2003;41(10):863–870. DOI: 10.1016/S0981-9428(03)00135-9.
77. Errakhi R, Dauphin A, Meimoun P, Lehner A, Reboutier D, Vatsa P, et al. An early Ca²⁺ influx is a prerequisite to thaxtomin A-induced cell death in *Arabidopsis thaliana* cells. *Journal of Experimental Botany*. 2008;59(15):4259–4270. DOI: 10.1093/jxb/ern267.
78. Zhang W-H, Ryan PR, Sasaki T, Yamamoto Y, Sullivan W, Tyerman SD. Characterization of the TaALMT1 protein as an Al³⁺-activated anion channel in transformed tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cells. *Plant and Cell Physiology*. 2008;49(9):1316–1330. DOI: 10.1093/pcp/pcn107.
79. De Vos CHR, Schat H, De Waal MAM, Vooijs R, Ernst WHO. Increased resistance to copper induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiologia Plantarum*. 1991;82(4):523–528. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1991.tb02942.x.
80. De Vos CHR, Schat H, Vooijs R, Ernst WHO. Copper induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene cucubalus*. *Journal of Plant Physiology*. 1989;135(2):164–165. DOI: 10.1016/S0176-1617(89)80171-3.
81. De Vos CHR, Ten Bookum WM, Vooijs R, Schat H, De Kok LJ. Effect of copper on fatty acid composition and peroxidation of lipids in the roots of copper tolerant and sensitive *Silene cucubalus*. *Plant Physiology and Biochemistry*. 1993;31(2):151–158.
82. Murphy A, Taiz L. Correlation between potassium efflux and copper sensitivity in ten *Arabidopsis* ecotypes. *New Phytologist*. 1997;136(2):211–222.
83. Demidchik V, Sokolik A, Yurin V. The effect of Cu²⁺ on ion transport systems of the plant cell plasmalemma. *Plant Physiology*. 1997;114(4):1313–1325. DOI: 10.1104/pp.114.4.1313.
84. Demidchik V, Sokolik A, Yurin V. Characteristics of non-specific permeability and H⁺-ATPase inhibition induced in the plasma membrane of *Nitella flexilis* by excessive Cu²⁺. *Planta*. 2001;212:583–590. DOI: 10.1007/s004250000422.
85. Demidchik V, Maathuis FJM. Physiological roles of non-selective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. *New Phytologist*. 2007;175(3):387–405. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02128.x.
86. Laohavisit A, Shang Z, Rubio L, Cuin TA, Véry AA, Wang A, et al. *Arabidopsis* annexin1 mediates the radical-activated plasma membrane Ca²⁺- and K⁺-permeable conductance in root cells. *The Plant Cell*. 2012;24(4):1522–1533. DOI: 10.1105/tpc.112.097881.
87. Kai H, Iba K. Temperature stress in plants. *eLS* [Internet]. 2014 [cited 2022 February 1]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/9780470015902.a0001320.pub2>. DOI: 10.1002/9780470015902.a0001320.pub2.
88. Meryman HT. Freezing injury and its prevention in living cells. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*. 1974;3:341–363. DOI: 10.1146/annurev.bb.03.060174.002013.
89. Givelberg A, Horowitz M, Poljakoff-Mayber A. Solute leakage from *Solanum nigrum* L. seeds exposed to high temperatures during imbibition. *Journal of Experimental Botany*. 1984;35(12):1754–1763. DOI: 10.1093/jxb/35.12.1754.

90. Gay C, Corbineau F, Côme D. Effects of temperature and oxygen on seed germination and seedling growth in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Environmental and Experimental Botany*. 1991;31(2):193–200. DOI: 10.1016/0098-8472(91)90070-5.
91. Leinonen I, Hänninen H, Repo T. Testing of frost hardiness models for *Pinus sylvestris* in natural conditions and in elevated temperature. *Silva Fennica*. 1996;30(2–3):5583. DOI: 10.14214/sf.a9228.
92. Janda T, Szalai G, Ducruet J-M, Páldi E. Changes in photosynthesis in inbred maize lines with different degrees of chilling tolerance grown at optimum and suboptimum temperatures. *Photosynthetica*. 1998;35:205–212. DOI: 10.1023/A:1006954605631.
93. Kang HM, Saltveit ME. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*. 2002;115(4):571–576. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150411.x.
94. Zhou W, Leul M. Uniconazole-induced alleviation of freezing injury in relation to changes in hormonal balance, enzyme activities and lipid peroxidation in winter rape. *Plant Growth Regulation*. 1998;26(1):41–47. DOI: 10.1023/A:1006004921265.
95. Ismail AM, Hall AE. Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Physiology & Metabolism*. 1999;39(6):1762–1768. DOI: 10.2135/cropsci1999.3961762x.
96. Saelim S, Zwiazek JJ. Preservation of thermal stability of cell membranes and gas exchange in high temperature acclimated *Xylia xylocarpa* seedlings. *Journal of Plant Physiology*. 2000;156(3):380–385. DOI: 10.1016/S0176-1617(00)80077-2.
97. Coursolle C, Bigras FJ, Margolis HA. Assessment of root freezing damage of two-year-old white spruce, black spruce and jack pine seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 2000;15(3):343–353. DOI: 10.1080/028275800447977.
98. Campos PS, Quartín V, Ramalho JC, Nunes MA. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of Plant Physiology*. 2003;160(3):283–292. DOI: 10.1078/0176-1617-00833.
99. Clarke SM, Mur LAJ, Wood JE, Scott IM. Salicylic acid dependent signaling promotes basal thermotolerance but is not essential for acquired thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*. 2004;38(3):432–447. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2004.02054.x.
100. Wahid A, Shabbir A. Induction of heat stress tolerance in barley seedlings by pre-sowing seed treatment with glycinebetaine. *Plant Growth Regulation*. 2005;46(2):133–141. DOI: 10.1007/s10725-005-8379-5.
101. Sayyari M, Babalar M, Kalantari S, Serrano M, Valero D. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*. 2009;53(3):152–154. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2009.03.005.
102. Biswas SK, Pandey NK, Rajik M. Inductions of defense response in tomato against *Fusarium* wilt through inorganic chemicals as inducers. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*. 2012;3(4):128–135. DOI: 10.4172/2157-7471.1000128.
103. Hara M, Terashima S, Fukaya T, Kuboi T. Enhancement of cold tolerance and inhibition of lipid peroxidation by citrus dehydrin in transgenic tobacco. *Planta*. 2003;217(2):290–298. DOI: 10.1007/s00425-003-0986-7.
104. Hayes S, Schachtschabel J, Mishkind M, Munnik T, Arisz SA. Hot topic: thermosensing in plants. *Plant Cell and Environment*. 2021;44(7):2018–2033. DOI: 10.1111/pce.13979.
105. Finka A, Cuendet AFH, Maathuis FJM, Saidi Y, Goloubinoff P. Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *Plant Cell*. 2012;24(8):3333–3348. DOI: 10.1105/tpc.112.095844.
106. Saidi Y, Finka A, Muriset M, Bromberg Z, Weiss YG, Maathuis FJ, et al. The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane. *Plant Cell*. 2009;21(9):2829–2843. DOI: 10.1105/tpc.108.065318.
107. Yongmei Cui, Shan Lu, Zhan Li, Jiawen Cheng, Peng Hu, Tianquan Zhu, et al. Cyclic nucleotide-gated ion channels 14 and 16 promote tolerance to heat and chilling in rice. *Plant Physiology*. 2020;183(4):1794–1808. DOI: 10.1104/pp.20.00591.
108. Rahman Ar, Kawamura Y, Maeshima M, Rahman Ab, Uemura M. Plasma membrane aquaporin members PIPs act in concert to regulate cold acclimation and freezing tolerance responses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*. 2020;61(4):787–802. DOI: 10.1093/pcp/pcaa005.
109. Bewley JD. Physiological aspects of desiccation tolerance. *Annual Review of Plant Physiology*. 1979;30:195–238. DOI: 10.1146/annurev.pp.30.060179.001211.
110. McKersie BD, Stinson RH. Effect of dehydration on leakage and membrane structure in *Lotus corniculatus* L. seeds. *Plant Physiology*. 1980;66(2):316–320.
111. McKersie BD, Tones DT. Effects of dehydration treatments on germination, seedling vigour, and cytoplasmic leakage in wild oats and birdsfoot trefoil. *Canadian Journal of Botany*. 1980;58(4):471–476. DOI: 10.1139/b80-056.
112. Becwar MR, Stanwood PC, Roos EE. Dehydration effects on imbibitional leakage from desiccation-sensitive seeds. *Plant Physiology*. 1982;69(5):1132–1135. DOI: 10.1104/pp.69.5.1132.
113. Senaratna T, McKersie BD. Dehydration injury in germinating soybean (*Glycine max* L. Merr.) seeds. *Plant Physiology*. 1983;72(3):620–624. DOI: 10.1104/pp.72.3.620.
114. Yongchao Liang, Qin Chen, Qian Liu, Wenhua Zhang, Ruixing Ding. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology*. 2003;160(10):1157–1164. DOI: 10.1078/0176-1617-01065.
115. Nayyar H, Gupta D. Differential sensitivity of C₃ and C₄ plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*. 2006;58(1–3):106–113. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2005.06.021.
116. Fang-Zheng Wang, Qing-Bin Wang, Suk-Yoon Kwon, Sang-Soo Kwak, Wei-Ai Su. Enhanced drought tolerance of transgenic rice plants expressing a pea manganese superoxide dismutase. *Journal of Plant Physiology*. 2005;162(4):465–472. DOI: 10.1016/j.jplph.2004.09.009.
117. Guo Z, Ou W, Lu S, Zhong Q. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2006;44(11–12):828–836. DOI: 10.1016/j.plaphy.2006.10.024.
118. Hayat S, Hasan SA, Fariduddin Q, Ahmad A. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions*. 2008;3(4):297–304. DOI: 10.1080/17429140802320797.
119. Faize M, Burgos L, Faize L, Piqueras A, Nicolas E, Barba-Espin G, et al. Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 2011;62(8):2599–2613. DOI: 10.1093/jxb/erq432.
120. Chao Li, Dun-Xian Tan, Dong Liang, Cong Chang, Dongfeng Jia, Fengwang Ma. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(3):669–680. DOI: 10.1093/jxb/eru476.
121. Guadagno CR, Ewers BE, Speckman HN, Aston TL, Huhn BJ, DeVore SB, et al. Dead or alive? Using membrane failure and chlorophyll *a* fluorescence to predict plant mortality from drought. *Plant Physiology*. 2017;175(1):223–234. DOI: 10.1104/pp.16.00581.

122. Kamali S, Mehraban A. Effects of nitroxin and arbuscular mycorrhizal fungi on the agro-physiological traits and grain yield of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) under drought stress conditions. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243824. DOI: 10.1371/journal.pone.0243824.
123. Kashtoh H, Baek KH. Structural and functional insights into the role of guard cell ion channels in abiotic stress-induced stomatal closure. *Plants*. 2021;10(12):2774. DOI: 10.3390/plants10122774.
124. Xue Feng, Wenxing Liu, Cheng-Wei Qiu, Fanrong Zeng, Yizhou Wang, Guoping Zhang, et al. HvAKT2 and HvHAK1 confer drought tolerance in barley through enhanced leaf mesophyll H^+ homeostasis. *Plant Biotechnology Journal*. 2020;18(8):1683–1696. DOI: 10.1111/pbi.13332.
125. Xue Feng, Wenxing Liu, Fangbin Cao, Yizhou Wang, Guoping Zhang, Zhong-Hua Chen. Overexpression of *HvAKT1* improves drought tolerance in barley by regulating root ion homeostasis and ROS and NO signaling. *Journal of Experimental Botany*. 2020;71(20):6587–6600. DOI: 10.1093/jxb/eraa354.
126. Verma H, Devi K, Baruah AR, Sarma RN. Relationship of root aquaporin genes, *OsPIP1;3*, *OsPIP2;4*, *OsPIP2;5*, *OsTIP2;1* and *OsNIP2;1* expression with drought tolerance in rice. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2020;80(1):50–57. DOI: 10.31742/IJGPB.80.1.6.
127. Xi-Dong Li, Yong-Qiang Gao, Wei-Hua Wu, Li-Mei Chen, Yi Wang. Two calcium-dependent protein kinases enhance maize drought tolerance by activating anion channel ZmSLAC1 in guard cells. *Plant Biotechnology Journal*. 2022;20(1):143–157. DOI: 10.1111/pbi.13701.
128. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 5th edition. New York: Oxford University Press; 2015. 944 p. DOI: 10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001.
129. Koppenol WH. The centennial of the Fenton reaction. *Free Radical Biology and Medicine*. 1993;15(6):645–651. DOI: 10.1016/0891-5849(93)90168-t.
130. Lee DH, Lal NK, Lin Z-JD, Ma S, Liu J, Castro B, et al. Regulation of reactive oxygen species during plant immunity through phosphorylation and ubiquitination of RBOHD. *Nature Communications*. 2020;11(1):1838. DOI: 10.1038/s41467-020-15601-5.
131. Byeong-ha Lee, Hojong Lee, Liming Xiong, Jian-Kang Zhu. A mitochondrial complex I defect impairs cold-regulated nuclear gene expression. *The Plant Cell*. 2002;14(6):1235–1251. DOI: 10.1105/tpc.010433.
132. Edreva A, Yordanov I, Kardjieva R, Gesheva E. Heat shock responses of bean plants: involvement of free radicals, antioxidants and free radical/active oxygen scavenging systems. *Biologia Plantarum*. 1998;41:185–191. DOI: 10.1023/A:1001846009471.
133. Chengrun Wang, Xiaorong Wang, Yuan Tian, Yingang Xue, Xianghua Xu, Yunxia Sui, et al. Oxidative stress and potential biomarkers in tomato seedlings subjected to soil lead contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008;71(3):685–691. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2008.01.002.
134. Ning Hui Song, Xiao Le Yin, Guo Feng Chen, Hong Yang. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soils. *Chemosphere*. 2007;68(9):1779–1787. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.03.023.
135. Vera-Estrella R, Blumwald E, Higgins VJ. Effect of specific elicitors of *Cladosporium fulvum* on tomato suspension cells 1: evidence for the involvement of active oxygen species. *Plant Physiology*. 1992;99(3):1208–1215. DOI: 10.1104/pp.99.3.1208.
136. Garcia-Mata C, Wang J, Gajdanowicz P, Gonzalez W, Hills A, Donald N, et al. A minimal cysteine motif required to activate the SKOR K channel of *Arabidopsis* by the reactive oxygen species H_2O_2 . *The Journal of Biological Chemistry*. 2010; 285(38):29286–29294. DOI: 10.1074/jbc.M110.141176.
137. Demidchik V. Cation channels are sensors of ROS and oxidative stress in plants. In: *Proceedings of 4th International symposium on plant signaling and behaviour; 2016 June 19–24; Saint Petersburg, Russia*. Saint Petersburg: SINEL Co. Ltd.; 2016. p. 55–56.
138. Makavitskaya M, Svistunenko D, Navaselsky I, Hryvusevich P, Mackievic V, Rabadanova C, et al. Novel roles of ascorbate in plants: induction of cytosolic Ca^{2+} signals and efflux from cells via anion channels. *Journal of Experimental Botany*. 2018;69(14):3477–3489. DOI: 10.1093/jxb/ery056.

Получена 17.06.2022 / исправлена 20.06.2022 / принята 23.06.2022.
Received 17.06.2022 / revised 20.06.2022 / accepted 23.06.2022.