



Влияние солевого стресса на растения *Nicotiana tabacum* L. дикого типа и трансформированных геном холиноксидазы (*codA*)

И. Г. Широких^{1, 2}, С. Ю. Огородникова², Я. И. Назарова¹, О. Н. Шуплецова¹

¹ Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, Киров, Россия

² Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ирина Геннадьевна Широких, irgenal@mail.ru

Актуальность. Засоление почв является одним из факторов, ограничивающих рост и продуктивность растений. Площади засоленных территорий ежегодно увеличиваются, поэтому актуально исследование механизмов устойчивости растений к солевому стрессу.

Материал и методы. Для повышения устойчивости к засолению почвы в геном табака (*Nicotiana tabacum* L.) был введен бактериальный ген холиноксидазы *codA* из *Arthrobacter globiformis* (Conn) Conn & Dimmick. Растения дикого типа (сорт 'Самсун') и трансгенной линии Cod 38 выращивали в условиях солевого стресса, вызванного хлоридом натрия в концентрации 150 мМ. О солеустойчивости сравниваемых генотипов судили по ростовым показателям и способности сохранять пул фотосинтетических пигментов. Для оценки чувствительности растений к солевому стрессу проведены биохимические тесты, отражающие интенсивность перекисных процессов и активность антиоксидантных ферментов.

Результаты. У трансформантов на фоне солевого стресса показатели выживаемости и биометрические характеристики были существенно выше, чем у растений дикого типа, что, очевидно, обеспечивалось экспрессией гетерологичной вставки и функционированием глицинбетаина. Особенности подвергнутых солевому стрессу трансгенных растений также являлись способность к эффективному поддержанию уровня фотосинтетических пигментов и уменьшенное содержание в листьях малонового диальдегида, что свидетельствует о низкой интенсивности перекисного окисления липидов при засолении и может объясняться функционированием эндогенного глицинбетаина, как соединения с полифункциональным действием.

Заключение. Показано, что трансформация растений бактериальным геном холиноксидазы с последующим накоплением белкового продукта гена *codA* – глицинбетаина, даже в минимальном количестве, сопровождалась положительными эффектами на растения табака в условиях солевого стресса.

Ключевые слова: трансгенный табак, глицинбетаин, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, пластидные пигменты

Благодарности: работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 19-016-00207_а «Влияние измененного окислительного и осмотического статуса клеток на морфологические особенности надземной и подземной части растений и на преобразование микробиоты, ассоциированной с корневой системой».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Широких И.Г., Огородникова С.Ю., Назарова Я.И., Шуплецова О.Н. Влияние солевого стресса на растения *Nicotiana tabacum* L. дикого типа и трансформированных геном холиноксидазы (*codA*). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(1):86-94. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-86-94

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-86-94

Effect of salt stress on plants of wild-type *Nicotiana tabacum* L. and transformants with a choline oxidase (*codA*) gene

Irina G. Shirokikh^{1, 2}, Svetlana Yu. Ogorodnikova², Yana I. Nazarova¹, Olga N. Shupletsova¹¹ Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Kirov, Russia² Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch of the RAS, Syktyvkar, Komi Russia**Corresponding author:** Irina G. Shirokikh, irgenal@mail.ru

Background. Soil salinity is one of the limiting factors for plant growth and productivity. The areas of saline lands increase annually, so it is important to study the mechanisms of plant resistance to salt stress.

Material and methods. We studied the effect of salt stress on tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.) of the wild type ('Samsun') and the transgenic line Cod 38 obtained by introducing the *codA* gene, encoding bacterial choline oxidase, from *Arthrobacter globiformis*. Salt tolerance of the compared genotypes was assessed according to the growth indicators and the ability to preserve the pool of photosynthetic pigments under model salt stress conditions (150 mM NaCl). The sensitivity of plants to salt stress was analyzed using biochemical tests that reflected the intensity of peroxidation processes and the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, and peroxidase).

Results. The survival rates and biometric characteristics of transformants under salt stress were significantly higher than in wild-type plants. Under the impact of salt stress, the content of chlorophylls and carotenoids in the leaves of 'Samsun' plants decreased 1.5 and 1.3 times, respectively. Contrastingly, transformants under the same conditions showed a tendency to increase the pool of plastid pigments. A peculiarity of transgenic plants was also the reduced malondialdehyde content in their leaves, which indicates a low intensity of lipid peroxidation during salinization and can be explained by the functioning of endogenous glycine betaine as a compound with a multifunctional effect.

Conclusions. It was shown that the transformation of plants with the bacterial gene of choline oxidase, followed by the accumulation of the protein product of the *codA* gene – glycine betaine, even in a minimal amount, was accompanied by positive effects on tobacco plants under salt stress conditions.

Keywords: transgenic tobacco, glycine betaine, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, plastid pigments

Acknowledgements: the work was implemented with the support from the Russian Foundation for Basic Research, Grant No. 19-016-00207_a "The effect of the altered oxidative and osmotic status of cells on morphological features of the aboveground and underground parts of plants and on the transformation of the microbiota associated with the root system". The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Shirokikh I.G., Ogorodnikova S.Yu., Nazarova Ya.I., Shupletsova O.N. Effect of salt stress on plants of wild-type *Nicotiana tabacum* L. and transformants with a choline oxidase (*codA*) gene. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(1):86-94. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-86-94

Введение

Одним из вредоносных факторов абиотической среды, ограничивающих рост и продуктивность растений, является засоление почв, которому в мире подвержено, по различным оценкам, от 831 до 971 млн га земель, используемых или которые могут быть использованы в сельском хозяйстве (Wicke et al., 2011; Butcher et al., 2016). Актуальность изучения механизмов устойчивости растений к засолению обусловлена увеличением площади засоленных территорий, которые к 2050 г., по прогнозам, составят более 50% обрабатываемых земель (Wang et al., 2003) в связи с широким распространением орошения и глобальными изменениями климата (Shahid et al., 2018).

Высокие концентрации соли (NaCl) в почве вызывают у растений стресс, в динамике развития которого выделяют две стадии. Первая стадия является результатом осмотического стресса, вызываемого резким падением водного потенциала в корневой зоне, в то время как вторая стадия обусловлена токсическими эффектами накопления ионов соли непосредственно в клетках растений (Munns, 2002).

Важным механизмом адаптации растений к солевому стрессу является синтез и накопление соединений с осмопротекторными свойствами – совместимых осмолитов (Negrão et al., 2017). В клетках некоторых растений в ответ на высокую соленость, холод и засуху накапливается в значительных количествах глицинбетаин (ГБ). Предполагается, что ГБ участвует в осмотической регуляции и защите функциональных макромолекул клетки. У большинства растений, включая культурные виды, уровень естественного накопления ГБ бывает слишком низким для адекватной регуляции осмотического давления в условиях стресса. Однако в ряде работ (Kathuria et al., 2009; Goel et al., 2011; Wei et al., 2017) было показано, что трансгенные формы, в том числе несущие бактериальный ген холиноксидазы (КФ 1.1.3.17), способны к сверхнакоплению ГБ и проявляют лучшую адаптацию к высоким концентрациям соли.

Важным следствием солевого стресса у растений является повышенная генерация активных форм кислорода (АФК) и связанные с ней повреждения клеточных структур – проявление вторичного окислительного стресса. В последнее время стало известно, что в дополнение к функции совместимого осмолита ГБ может участвовать в ингибировании накопления АФК, активации ряда связанных со стрессом генов, защите мембран и фотосинтетических процессов (Kathuria et al., 2009; Chen, Murata, 2011; Mansour, Ali, 2017). Известно, что в ряде случаев низкомолекулярные антиоксиданты могут защищать растительную клетку от окислительных повреждений более эффективно, чем антиоксидантные ферменты (Blokina et al., 2003). Многие аспекты индукции антиоксидантной защиты растений, в том числе связанные с формированием солеустойчивости, изучены недостаточно. Оценка антиоксидантного статуса растений, трансформированных бактериальным геном *codA*, в условиях засоления почвы, насколько нам известно, ранее не проводилась.

Цель настоящей работы – сравнительное изучение реакций на солевой стресс растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) дикого типа и трансформированных геном бактериальной холиноксидазы по показателям роста, антиоксидантного статуса и содержания фотосинтетических пигментов.

Материалы и методы

В работе использовали растения табака (*Nicotiana tabacum* L.) дикого типа (исходная форма – сорт ‘Самсун’) и растения полученной на его основе линии Cod 38 со встроенным геном *codA*, кодирующим холиноксидазу бактерии *Arthrobacter globiformis* (Conn) Conn & Dimmick. Сорт ‘Самсун’ характеризуется средней устойчивостью к засолению почвы, поэтому был выбран в качестве модельного при встраивании гетерологичного гена.

Пробирочные растения с молекулярно подтвержденной экспрессией гена бактериальной холиноксидазы были любезно предоставлены Г. Н. Ралдугиной (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва). Растения микроклонально размножили на среде Мурасиге и Скуга (Murashige, Skoog, 1962), не содержащей гормонов и витаминов. Табак является неприхотливым растением и хорошо микроклонально размножается и без витаминов и гормонов в составе питательной среды. Для микроклонального размножения использовали сегменты стебля с листом и пазушной почкой. Полученный побег культивировали на питательной среде в течение шести недель до получения развитой корневой системы при температуре 16–18°C/14°C (день/ночь), фотопериоде 16 ч и освещенности 7–10 кЛк.

При достижении растениями возраста шести недель (хорошо сформированная корневая система) их высаживали по одному в вегетационные сосуды объемом 1,0 л и выращивали на двух почвенных фонах: 1 – контроль; 2 – солевой стресс, вызванный проливом воздушно-сухой почвы 150 мМ раствором хлорида натрия (NaCl) в объеме, рассчитанном на полную влагоемкость (54 ± 1,5%) почвы. В контроле для пролива использовали очищенную воду в том же объеме. Сравнимые генотипы были представлены на том и другом почвенном фоне шестью клонами каждый. Количество выживших растений по вариантам учитывали через 14 суток, а морфометрические показатели (высота побега, длина корня, количество листьев) – через 35 суток с момента высадки растений в почву. В фазу «цветение» от всех выживших растений отбирали пластинки зрелых листьев для биохимических анализов.

Содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов в листьях определяли используя фотометрический метод. Измерения проводили на спектрофотометре на ацетоновой вытяжке при длинах волн 662 и 644 нм соответственно для хлорофиллов *a* и *b* (Shlyk, 1971), 470 нм – для каротиноидов (Maslova et al., 1986). Содержание пигментов в листьях выражали в мг/г сухой массы.

Определение в листьях малонового диальдегида (МДА) проводили согласно методике, описанной в работе (Lukatkin, Golovanova, 1988). Метод основан на способности МДА образовывать окрашенный комплекс с тиобарбитуровой кислотой при нагревании.

Общую активность супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) определяли методом, основанным на ингибировании СОД фотохимического восстановления нитросинего тетразолия (NBT) до формазана (Beauchamp, Fridovich, 1971). Измерения проводили на спектрофотометре. За единицу активности СОД принимали объем ферментативного экстракта, который вызывал 50-процентное ингибирование фотовосстановления NBT. Активность СОД рассчитывали на грамм сырой ткани.

Активность пероксидазы (ПО, КФ 1.11.1.11) оценивали по увеличению оптической плотности реакционной среды при 470 нм в результате окисления гваякола (Ег-

маков et al., 1987). Состав реакционной смеси был следующим: 50 мМ К, Na-фосфатный буфер (pH 5), 2,5–5,0 мМ перекиси водорода, 21,5 мМ гваякола.

Содержание в листьях ГБ определяли согласно руководству (R 4.1.1672-03..., 2003) с солью Рейнеке спектрофотометрическим методом, но в модификации, заключающейся в использовании для проведения анализа сырого растительного материала и увеличении массы навески от 3,0 до 40,0 г.

Фотометрические измерения выполняли на спектрофотометре Spocol-1300 (Analytik Jena, Германия). Статистическая обработка полученных данных осуществлена стандартными методами с использованием программ MS Excel и STATGRAPHICS. На рисунках представлены средние значения из трех биологических повторений и их стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение

Реакция растений-трансформантов на модельное засоление почвы существенно отличалась от реакции растений дикого типа. Выживаемость линии Cod 38 на фоне солевого стресса, вызываемого 150 мМ NaCl, была существенно выше (100%), чем у исходного сорта 'Самсун' (33,3%), уже к десятым суткам. По темпам развития (наступлению фенофаз) растения трансгенной линии в условиях стресса опережали растения дикого типа на шесть дней (рис. 1).

На более высокую устойчивость трансгенной линии к засолению в сравнении с исходным сортом указывают также данные морфометрии (рис. 2). У растений дикого типа под влиянием солевого стресса существенно подавлялся рост побегов и корней: морфометрические показатели стрессированных растений были в 3–5 раз меньше, чем в контроле. Высота побега и облиственность растений линии Cod 38 на фоне засоления снизились незначительно, а длина корня в условиях стресса была в 1,4 раза больше, чем у растений, выращенных в обычных условиях.

Результаты обработки полученных в опыте морфометрических данных методом двухфакторного (фактор А – фон почвы; фактор В – генотип растения) дисперсионного анализа показали, что на признак «высота побега» достоверное и практически одинаковое влияние оказали оба фактора – генотип растения ($F = 6,33, p > 0,0206$) и фон почвы ($F = 7,19, p > 0,0144$), тогда как «число листьев» в большей степени определялось влиянием почвенного фона ($F = 20,23, p > 0,0002$), чем генотипом растения ($F = 6,72, p > 0,0174$).

Накопление растением сухого вещества, напротив, определялось в основном генотипом растения ($F = 108,47, p > 0,0001$), хотя и фактор засоления почвы оценивался как статистически значимый ($F = 12,54, p > 0,0019$). В то же время на показатель «длина корня» почвенный фон не оказал существенного влияния: в равной степени зависел от генотипа растения ($F = 10,86, p > 0,0036$).



Рис. 1. Общий вид растений табака при выращивании в обычных условиях и при засолении почвы: а – дикий тип (сорт 'Самсун'), б – трансгенная линия Cod 38 (I – контроль, II – солевой стресс)

Fig. 1. General appearance of wild-type tobacco (a) and transgenic plants of Cod 38 (б) when grown under normal conditions and in saline soil (I – control, II – salt stress)

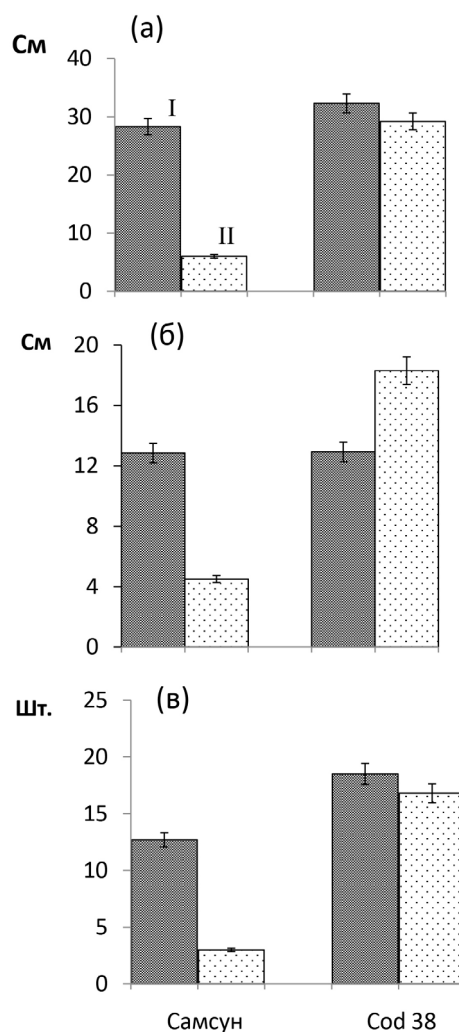


Рис. 2. Изменение морфометрических показателей растений табака сорта 'Самсун' и трансгенной линии Cod 38 при засолении почвы: а – высота побега, б – длина корня, в – число листьев (I – контроль, II – солевой стресс)

Fig. 2. Changes in the morphometric parameters of cv. 'Samsun' and transgenic tobacco plants (Cod 38) under salt stress: а – shoot height, б – root length, в – number of leaves (I – control, II – salt stress)

и взаимодействия того и другого факторов ($F = 10,65$, $p > 0,0039$) (таблица). Это согласуется с представлениями о том, что подземная часть растений при засолении менее уязвима, чем надземная, благодаря наличию в корнях более эффективной системы мембранной регуляции осмотического давления (Munns, 2002). В связи с этим стратегия повышения устойчивости растений к соли путем модификации метаболических путей, нацеленная на противодействие накоплению токсичных уровней соли именно в листьях, где осуществляется фотосинтез, имеет особую актуальность.

Статистически значимые различия по ростовым показателям между исходным сортом 'Самсун' и линией Cod 38 на засоленной почве, свидетельствующие о повышении солеустойчивости растений-трансформантов, связаны с наличием в их листьях ГБ – продукта гетерологического гена *codA*.

Если у растений дикого типа ГБ не обнаруживался, то в листьях трансгенной линии Cod 38 содержание ГБ составило 0,2 мкмоль/г сухой массы. Следовательно, повышение солеустойчивости трансгенной линии табака связано с экспрессией в его геноме гетерологической вставки

codA. Однако в таком незначительном количестве ГБ вряд ли мог играть роль осмолитика, поэтому полученный эффект объясняется, скорее всего, иной функциональной активностью ГБ.

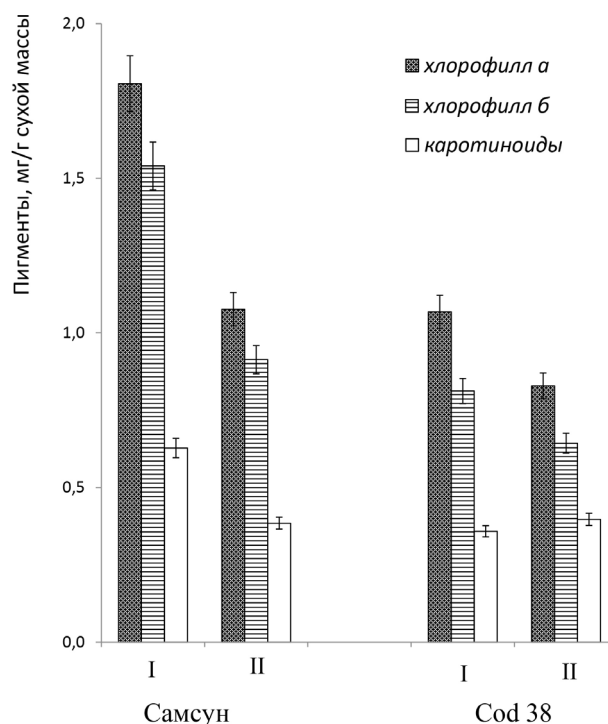
Известно, что ГБ синтезируется в основном в хлоропластах растений и, соответственно, может положительно влиять на фотосинтетическую деятельность (Munns, Tester, 2008). В нормальных условиях линия табака, экспрессирующая ген *codA*, отличалась от исходного сорта существенно меньшей величиной пула фотосинтетических пигментов (рис. 3). На фоне солевого стресса содержание пигментов в листьях растений дикого типа катастрофически снизилось по сравнению контролем. Особенно значительным было падение хлорофиллов *a* (в 1,7 раза) и *b* (на 69%). Количество каротиноидов по сравнению с контрольными растениями сократилось на 61%. У растений трансгенной линии Cod 38 в условиях стресса суммарное содержание хлорофиллов *a* и *b* тоже снизилось, но в меньшей степени (на 28%), чем у исходного сорта. Обратную реакцию наблюдали в листьях трансформантов в отношении каротиноидов, содержание которых при засолении, напротив, увеличилось на 11%.

Таблица. Дисперсионный анализ влияния фона почвы, генотипа растения и их взаимодействия на морфометрические показатели табака и накопление сухого вещества**Table.** ANOVA of the effect of soil, plant genotype and their interaction on morphometric parameters and dry matter accumulation in tobacco plants

Источник варьирования	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Высота побега				
Фон почвы (фактор А)	1	1107,04	7,19	0,0144*
Генотип растения (фактор В)	1	976,37	6,33	0,0206*
Взаимодействие факторов А × В	1	661,04	3,58	0,0732
Длина корня				
Фон почвы (фактор А)	1	1320,17	0,50	0,4889
Генотип растения (фактор В)	1	28842,7	10,86	0,0036*
Взаимодействие факторов А × В	1	28290,7	10,65	0,0039*
Число листьев				
Фон почвы (фактор А)	1	580,17	20,23	0,0002*
Генотип растения (фактор В)	1	192,67	6,72	0,0174*
Взаимодействие факторов А × В	1	96,00	3,35	0,0823
Сухое вещество				
Фон почвы (фактор А)	1	17,34	12,54	0,0019*
Генотип растения (фактор В)	1	150,00	108,47	0,0001*
Взаимодействие факторов А × В	1	-		

Примечание: *df* – число степеней свободы; *SS* – сумма квадратов; *F* – критерий Фишера; *p* – уровень значимости
* – влияние фактора на варьирование признака достоверно при $p \geq 0,95$

Note: *df* is the number of degrees of freedom; *SS* is the sum of squares; *F* is the Fisher criterion; *p* is the level of significance
* – the effect of the factor on the variation of the character is significant at $p \geq 0,95$

**Рис. 3.** Изменение пула фотосинтетических пигментов в листьях табака сорта 'Самсун' и трансгенной линии Cod 38 при засолении почвы (I – контроль, II – солевой стресс)**Fig. 3.** Changes in the pool of photosynthetic pigments in the leaves of cv. 'Samsun' and transgenic tobacco plants (Cod 38) under salt stress (I – control, II – salt stress)

Увеличение доли каротиноидов на фоне солевого стресса можно объяснить их защитной антиоксидантной функцией. Сообщалось, что каротиноиды способствуют стабилизации мембран тилакоидов, защищая пигменты от окислительного повреждения (Young, 1991).

Растения трансгенной линии Cod 38, таким образом, отличались от растений дикого типа способностью более эффективно поддерживать исходный уровень фотосинтетических пигментов при действии солевого стресса. Однако обнаруженный феномен вряд ли можно рассматривать как причину повышения солеустойчивости табака, несущего бактериальный ген холиноксидазы. Общий пул пластидных пигментов при стрессе у трансгенной линии оставался ниже, чем у исходного сорта.

Результаты определения параметров перекисного окисления липидов (ПОЛ) как индикатора повреждения мембран показали, что в листьях табака исходного сорта, выращенного на засоленной почве, содержание МДА было на 30,6% выше, а у растений трансгенной линии, напротив, на 26,6% ниже, чем в листьях растений, выращенных в обычных условиях (рис. 4, а). К усилению ПОЛ у растений и накоплению ТБК-активных продуктов окисления приводит, как правило, избыточное содержание пероксида водорода (ПВ). Важным механизмом поддержания гомеостаза подвергнутых стрессу клеток является активация антиоксидантных ферментов – СОД, которая превращает супероксидные анион-радикалы

в ПВ, и таких ферментов, как различные пероксидазы, которые обезвреживают ПВ. Известно, что у растений, в клетках которых быстро активируются антиоксидантные ферменты, ПОЛ выражено слабее (Kolupaev et al., 2019).

Определение ферментативной активности показало, что активность СОД и ПО в листьях подвергнутого солевого стрессу табака значительно ниже в сравнении с контрольными растениями, как у исходного сорта ‘Самсун’, так и у линии Cod 38 (рис. 4, б, в). Вероятно, под воздействием стресса у растений дикого типа произошла инактивация конститутивного пула антиоксидантных ферментов, а накопление низкомолекулярных антиоксидантов не было достаточным для эффективной защиты метаболизма от АФК, на что указывает возросший на фоне стресса уровень МДА (см. рис. 4, а). В листьях стрессированных растений-трансформантов содержание МДА было ниже, чем у растений, выращенных в нормальных условиях, следовательно уменьшение интенсивности ПОЛ обеспечивалось низкомолекулярными компонентами антиоксидантной защиты или же было обусловлено защитным действием других энзиматических систем, которые в настоящей работе не изучались, – например таких, как ферменты аскорбат-глутатионового цикла. Не исключено также, что более низкое содержание МДА в этом случае являлось следствием разрушения МДА и других ТБК-активных продуктов.

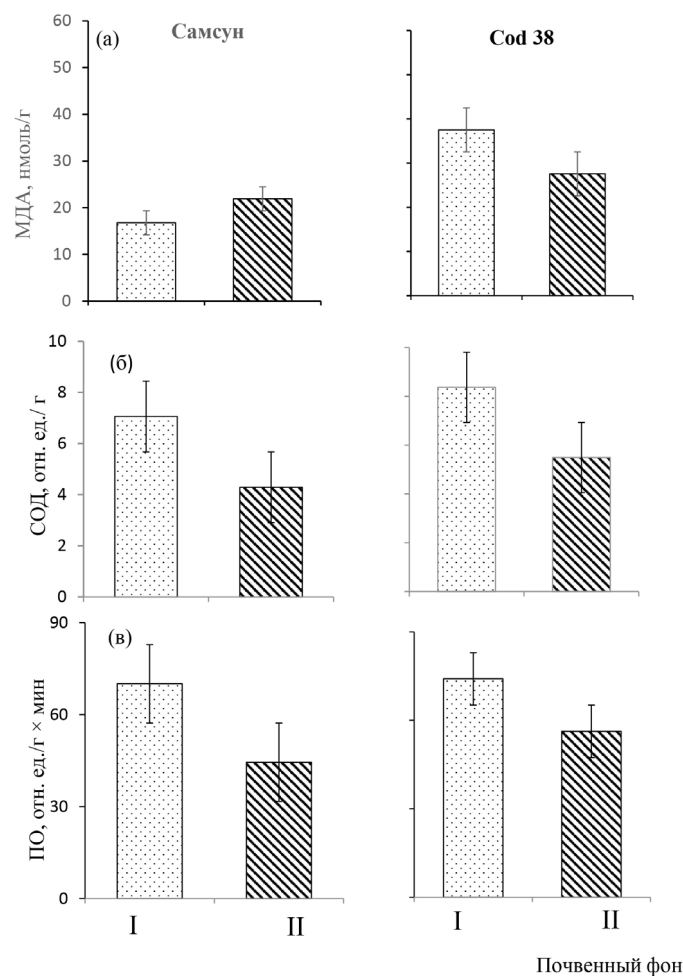


Рис. 4. Содержание МДА (а), активность СОД (б) и ПО (в) в листьях табака сорта ‘Самсун’ и трансгенной линии Cod 38 при засолении почвы (I – контроль, II – солевой стресс)

Fig. 4. Malondialdehyde content (а), and the activity of SOD (б) and peroxidase (в) in the leaves of cv. ‘Samsun’ and transgenic tobacco plants (Cod 38) under salt stress (I – control, II – salt stress)

Физиологические механизмы участия ГБ в защите мембран от ПОЛ могут быть различными. Установлено, что ГБ может защищать стрессированные растительные клетки, улучшая регуляцию осмотического давления и поддерживая ионный гомеостаз (Robinson, Jones, 1986; Liang et al., 2009), а также путем стабилизации четвертичной структуры ряда белков (Rajasekaran et al., 1997) и/или индуцируя сверхнакопление других осмолитов (пролина, растворимых сахаров и белка) (Liang et al., 2009). Однозначно интерпретировать роль ГБ в повышении солеустойчивости трансгенной линии табака Cod 38 достаточно сложно.

Заключение

Выживаемость и морфометрические характеристики растений-трансформантов на фоне солевого стресса, обусловленного 150 мМ NaCl, были значимо выше, чем у растений дикого типа, что, очевидно, обеспечивалось экспрессией гетерологичной вставки *codA* и функционированием ГБ. Как уже было установлено ранее, синтез и накопление в клетках ГБ, подобно другим совместимым осмолитам, способствует повышению устойчивости клеток к дегидратации, в том числе обусловленной засолением почвы. В условиях нашего эксперимента эндогенный ГБ участвовал в запуске реакций, обеспечивающих растениям, подвергнутым солевому стрессу, защиту мембран от окислительной деструкции и сохранность хлорофиллов, способствовал накоплению каротиноидов. Протективные свойства ГБ в отношении пула фотосинтетических пигментов и его защитное действие в отношении перекисного окисления липидов мембран указывают на полифункциональность этого соединения при солевом стрессе.

В целом можно констатировать, что трансформация растений бактериальным геном холиноксидазы с последующим накоплением белкового продукта гена *codA* – глицинбетаина, даже в минимальном количестве, сопровождалась положительными эффектами. Дальнейшее расширение знаний в этой области будет способствовать повышению устойчивости растений к соли путем модификации метаболических путей, обеспечивающих накопление ГБ.

References / Литература

- Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 1971;44(1):276-287. DOI: 10.1016/0003-2697(71)90370-8
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*. 2003;91(2):179-194. DOI: 10.1093/aob/mcf118
- Butcher K., Wick A.F., DeSutter T., Chatterjee A., Harmon J. Soil salinity: a threat to global food security. *Agronomy Journal*. 2016;108(6):2189-2200. DOI: 10.2134/agronj2016.06.0368
- Chen T.H.H., Murata N. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant Cell and Environment*. 2011;34(1):1-20. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02232.x
- Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P. Methods of biochemical research in plants (Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy). A.I. Ermakov (ed.). Leningrad: Agropromizdat; 1987. [in Russian] (Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического
- исследования растений / под. ред. А.И. Ермакова. Ленинград: Агропромиздат; 1987).
- Goel D., Singh A.K., Yadav V., Babbar S.B., Murata N., Bansal K.C. Transformation of tomato with a bacterial *codA* gene enhances tolerance to salt and water stresses. *Journal of Plant Physiology*. 2011;168(11):1286-1294. DOI: 10.1016/j.jplph.2011.01.010
- Kathuria H., Giri J., Nataraja K.N., Murata N., Udayakumar M., Tyagi A.K. Glycinebetaine-induced water-stress tolerance in *codA*-expressing transgenic indica rice is associated with up-regulation of several stress responsive genes. *Plant Biotechnology Journal*. 2009;7(6):512-526. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2009.00420.x
- Kolupaev Y.E., Karpets Y.V., Kabashnikova L.F. Antioxidative system of plants: cellular compartmentalization, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2019;55(5):441-459. DOI: 10.1134/S0003683819050089
- Liang K., Zhang S.Ya., Luo I., Wang G.P., Zuo Z., Wang W. The over-accumulation of glycine betaine in wheat weakens the harmful effects of salt stress (Sverkhnaakopleniye gliksinbetaina u pshenitsy oslablyayet vrednoye deystviye solevogo stressa). *Russian Journal of Plant Physiology*. 2009;56(3):410-417. [in Russian] (Лян К., Чжан С.Я., Ло И., Ван Г.П., Цзо Ц., Ван В. Сверхнакопление глицинбетаина у пшеницы ослабляет вредное действие солевого стресса. *Физиология растений*. 2009;56(3):410-417).
- Lukatkin A.S., Golovanova V.S. Intensity of lipid peroxidation in chilled leaves of heat-loving plants (Intensivnost perekisnogo okisleniya lipidov v okhlazhdennykh listyakh teplolyubivyykh rasteniy). *Soviet Plant Physiology*. 1988;35(4):773-780. [in Russian] (Лукаткин А.С., Голованова В.С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений. *Физиология растений*. 1988;35(4):773-780).
- Mansour M.M.F., Ali E.F. Glycinebetaine in saline conditions: an assessment of the current state of knowledge. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017;39(2):56. DOI: 10.1007/s11738-017-2357-1
- Maslova T.G., Popova I.A., Popova O.F. Critical evaluation of the spectrophotometric method for the quantitative determination of carotenoids (Kriticheskaya otsenka spektrofotometricheskogo metoda kolichestvennogo opredeleniya karotinoidov) *Soviet Plant Physiology*. 1986;33(6):615-619. [in Russian] (Маслова Т.Г., Попова И.А., Попова О.Ф. Критическая оценка спектрофотометрического метода количественного определения каротиноидов. *Физиология растений*. 1986;33(6):615-619).
- Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment*. 2002;25(2):239-250. DOI: 10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x
- Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 2008;59(1):651-681. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
- Murshige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Negrão S., Schmöckel S.M., Tester M. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*. 2017;119(1):1-11. DOI: 10.1093/aob/mcw191
- R 4.1.1672-03. Guidelines for quality control and safety of bioactive food additives (Rukovodstvo po metodam kontrolya kachestva i bezopasnosti biologicheski aktivnykh dobavok k pishche). Moscow: Ministry of Health of the Russian

- Federation; 2003. [in Russian] (P 4.1.1672-03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Москва: Министерство здравоохранения РФ; 2003). URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200034795?section=text> [дата обращения: 14.09.2021].
- Rajasekaran L.R., Kriedemann P.E., Aspinall D., Paleg L.G. Physiological significance of proline and glycinebetaine: Maintaining photosynthesis during NaCl stress in wheat. *Photosynthetica*. 1997;33(13):357-366. DOI: 10.1023/A:1006855816437
- Robinson S.P., Jones G.P. Accumulation of glycinebetaine in chloroplasts provides osmotic adjustments during salt stress. *Australian Journal of Plant Physiology*. 1986;13(5):659-668. DOI: 10.1071/PP9860659
- Shahid S.A., Zaman M., Heng L. Soil salinity: Historical perspectives and a world overview of the problem. In: *Guideline for salinity assessment, mitigation and adaptation using nuclear and related techniques*. Cham: Springer; 2018. p.43-53. DOI: 10.1007/978-3-319-96190-3_2
- Shlyk A.A. Identification of chlorophylls and carotenoids in green leaf extracts (Opredeleniye khlorofillov i karotinoidov v ekstraktakh zelenykh listyev). In: *Biochemical methods in plant physiology (Biokhimicheskiye metody v fiziologii rasteniy)*. Moscow: Nauka; 1971. p.154-172. [in Russian] (Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. В кн. *Биохимические методы в физиологии растений*. Москва: Наука; 1971. С.154-170).
- Wang W., Vinocur B., Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*. 2003;218(1):1-14. DOI: 10.1007/s00425-003-1105-5
- Wei D., Zhang W., Wang C., Meng Q., Li G., Chen T.H.H. et al. Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine leads to alleviate salt-induced potassium efflux and enhances salt tolerance in tomato plants. *Plant Science*. 2017;257:74-83. DOI: 10.1016/j.plantsci.2017.01.012
- Wicke B., Smeets E., Dornburg V., Vashev B., Gaiser T., Turkenburg W. et al. The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected soils. *Energy and Environmental Science*. 2011;4(8):2669-2681. DOI: 10.1039/C1EE01029H
- Young A.J. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiologia Plantarum*. 1991;83(4):702-708. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1991.tb02490.x

Информация об авторах

Ирина Геннадьевна Широких, доктор биологических наук, зав. лабораторией, Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, 610007 Россия, Киров, ул. Ленина, 166а, Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982 Россия, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, irgenal@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3319-2729>

Светлана Юрьевна Огородникова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982 Россия, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, svetao_05@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8865-4743>

Янина Иордановна Назарова, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, 610007 Россия, Киров, ул. Ленина, 166а, yan1997183@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2945-5282>

Ольга Наумовна Шуплецова, доктор биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, 610007 Россия, Киров, ул. Ленина, 166а, olga.shuplecova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4679-0717>

Information about the authors

Irina G. Shirokikh, Dr. Sci. (Biology), Head of a Laboratory, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, 66a Lenina St., Kirov 610007, Russia, Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch of the RAS, 28 Kommunisticheskaya St., Syktvykar 167982, Komi Republic, Russia, irgenal@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3319-2729>

Svetlana Yu. Ogorodnikova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch of the RAS, 28 Kommunisticheskaya St., Syktvykar 167982, Komi Republic, Russia, svetao_05@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8865-4743>

Yana I. Nazarova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, 66a Lenina St., Kirov 610007, Russia, yan1997183@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2945-5282>

Olga N. Shuplecova, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, 66a Lenina St., Kirov 610007, Russia, olga.shuplecova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4679-0717>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: The authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 09.09.2021; одобрена после рецензирования 18.11.2021; принята к публикации 28.02.2022.

The article was submitted on 09.09.2021; approved after reviewing on 18.11.2021; accepted for publication on 28.02.2022.