

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АКОНИТАТГИДРАТАЗЫ В ЛИСТЯХ КУКУРУЗЫ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

М. В. Черкасских, Д. Ю. Коломийцева, Е. Л. Автореева, А. Т. Епринцев

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 13.01.2020 г.

Аннотация. Изучена динамика активности, изоферментный состав аконитатгидратазы и субклеточная локализация в листьях кукурузы в различных стрессовых условиях: при гипоксии и солевом стрессе. Показано, что гипоксия и засоление, в целом, оказывают ингибирующее действие на активность исследуемого фермента. Засоление в первые часы экспонирования приводит к увеличению активности аконитазы, а в последующее время после двух часов – к снижению. После шести часов инкубации активность АГ возрастает в четыре раза и достигает максимума, то есть АГ принимает участие в так называемом «солевом дыхании». В условиях гипоксии фермент демонстрирует различные уровни активности, но подобную зависимость. Так, и в атмосфере углекислого газа и азота, изначально наблюдается возрастание уровня АГ, но в присутствии CO_2 этот рост более выражен. После этого, как и случае опыта с соевым стрессом, на поздних часах эксперимента активность аконитазы снижается ниже уровня контроля, экспонируемого в атмосферном воздухе. Увеличение активности в первые часы стрессового воздействия связано с активацией дыхательного метаболизма, как основного источника энергетических эквивалентов для компенсации негативного влияния. В случае солевого стресса аконитатгидратаза предположительно участвует в синтезе осмопротекторов и обеспечивает доступность восстановительных эквивалентов, что обеспечивает наряду с другими защитными реакциями устойчивость растений к гипоксии. В условиях недостатка кислорода необходим дополнительный приток энергии от ЦТК и интенсификация обменных процессов. На поздних стадиях предположительно образование и накопление NO оказывает ингибирующее действие на молекулы фермента аконитатгидратазы.

Активность аконитазы обнаружена в цитозоле и митохондриях, следовые количества так же были измерены в пероксисомах, в пределах значений погрешности. Специфическое проявление аконитатгидратазы в полиакриламидном геле позволило подтвердить наличие двух имеющих различную электрофоретическую подвижность форм АГ: митохондриальную и цитоплазматическую, выполняющих различные функции в клетке.

Ключевые слова: аконитатгидратаза, солевой стресс, ЦТК, гипоксия, *Zea mays*, субклеточная локализация

Аконитаза (аконитатгидратаза, АГ, КФ 4.2.1.3) – фермент, осуществляющий первую реакцию цикла по преобразованию цитрата в изоцитрат через промежуточное соединение – цис-аконитат.

Исследования фракционирования различных тканей растений подтвердили представление об участии аконитатгидратазы в метаболизме цитозольного цитрата, поскольку была обнаружена активность АГ, ассоциированная как с цитозолем, так и с митохондриями [1].

Митохондриальная аконитаза вовлечена в цикл Кребса. Физиологическая роль цитоплазматической АГ до конца не выяснена для различных

организмов и отличается между растениями и млекопитающими [2]. Она участвует в нескольких процессах, таких как метаболизм цитозольного цитрата [3] и глиоксилатный цикл [4].

В тканях растений, не содержащих масло, цитозольная аконитаза участвует в поступлении изоцитрата для 2-оксоглутарата с образованием глутамата [5].

При этом, у кукурузы обнаружены различные гены, кодирующие митохондриальную и цитоплазматическую форму аконитатгидратазы. Активные гены представляют собой *Aco4* (митохондриальная форма) и *Aco4* (цитоплазматическая форма). Оба гена экспрессируются во время прорастания, в то время как третий потенциально активный ген *Aco4* экспрессируется лишь в щитках на ранних этапах онтогенеза [6].

Активность аконитазы функционально тесно связана как с первичным метаболизмом углерода, так и с регуляцией клеточного окислительно-восстановительного баланса, аконитаза может способствовать доступности восстановительных эквивалентов в стрессовых условиях [1].

В различные периоды жизни растения, оно может подвергаться различного вида стрессовым воздействиям, что может серьезно сказываться на нормальном протекании биохимических процессов. Для того, чтобы нивелировать действие стрессовых факторов клетке необходимо перестроить метаболические пути с целью защиты от неблагоприятных факторов, либо в ответ на внешнее воздействие.

Солевой стресс является губительным фактором для растения, он затрагивает многие аспекты их развития, такие как прорастание, вегетативный рост и репродуктивное развитие [7]. Так же известно, под действием соли происходят значительные изменения в обменных и энергетических процессах. При этом растения, которые подвержены солевому стрессу требуют дополнительных затрат метаболической энергии. Растения так же включают защитные механизмы для снижения токсических и осмотических эффектов.

ЦТК—один из центральных путей клеточного метаболизма. И исследования, проведенные ранее на некоторых его ферментах (СДГ, МДГ) убедительно доказывает его важную роль в метаболическом ответе клетки на повышенную концентрацию солей [8].

Хлорид натрия приводит к метаболическим перестройкам разного характера в довольно широком диапазоне концентраций [9]. Например, NaCl оказывает влияние на распределение углеводов между органами растения. Так же NaCl способен активировать разрушение белков, что в свою очередь нарушит азотный обмен и приведет к подавлению роста [10]. Более того, хлорид натрия модифицирует мембранные липиды клетки, изменяет работу ферментативных систем растения, увеличивает синтез активных форм кислорода.

При этом, по мере увеличения концентрации соли наблюдаются двухфазные изменения дыхания: сначала усиление, названное "солевым дыханием", затем подавление, связанное с резким снижением активности жизнедеятельности растения и повреждением метаболизма [11, 12].

Явление гипоксии – пониженного содержания кислорода в среде, оказывает значительное влияние на растительный организм, в частности на

митохондрии, которые участвуют в клеточном дыхании [13]. В связи с этим, митохондрии в первую очередь подвергаются воздействию гипоксии.

В условиях гипоксии электрон транспортная цепь митохондрий претерпевает некоторые изменения: растения осуществляют поиск других альтернативных соединений, способных выступать в качестве конечного акцептора электронов. Цикл Кребса так же не является исключением, соответственно и его компоненты тем или иным образом реагируют на недостаток кислорода.

В ответ на гипоксию растения начинают перестраивать метаболические пути таким образом, чтобы защитить и приспособить свой организм к новым условиям низкого содержания кислорода. И одну из ключевых ролей, определяющих стратегию организма при стрессе, играют активные формы кислорода [11]. Было показано, что при гипоксии в корнях происходит образование большого количества NO за счет работы нитратредуктазы, а также электронного транспорта в митохондриях.

Ранее нами было показано, что при адаптации к смене светового режима аконитатгидратаза в листьях кукурузы меняет свою активность, изоферментный состав и субклеточную локализацию. Причем наблюдается различное воздействие света, индуцирующего фитохромы на цитоплазматическую и митохондриальную форму АГ [14].

В связи с этим целью нашей работы было изучение изменения активности, изоферментного состава и субклеточной локализации аконитатгидратазы в листьях кукурузы при засолении и гипоксии.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали листья и щитки кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Лакомка Белогорья. Семена проращивались на сырой марле, и затем растения выращивались гидропонным способом при 12-ти часовом световом дне, температуре 25°C и интенсивности света 25 Вт/м², в течении 14-ти дней в климатической камере LabTech LCC-2-MP.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Определение активности аконитатгидратазы. Для определения активности АГ использовался спектрофотометрический метод, по увеличению оптической плотности, которое показывает образование цис-аконитовой кислоты, при 240 нм в течение 3 мин. За единицу ферментативной актив-

ности принимали количество фермента, образующего 1 микромоль продукта за 1 мин при 25°C.

Определение изоферментов в различных компартаментах. Исследования посредством электрофорезной системы проводили в полиакриламидном геле по методу Дэвиса [15]. Была сделана двухфазная система, включающая два вида гелей. В качестве концентрирующего готовили 4% крупнопористый гель. Последующее разделение отдельных белковых компонентов происходило в 7.5% (мелкопористом) геле. Для анализа на специфичность вносили проб 3-5 мкг белка. Сохраняли готовые гели в 7%-ном растворе CH₃COOH.

Специфическое проявление аконитатгидратазы. После проведения электрофореза проводили специфическое окрашивание аконитазы при помощи тетразолиевого метода. NST входящий в состав среды окрашивания хорошо растворяется в воде и окрашен в желтый цвет. Восстанавливаясь в диформазан его окраска переходит в фиолетовый цвет, и становится плохо растворимым в воде. Восстановление происходит путем каскадной передачи электронов, которую запускает специфическая ферментативная реакция в области присутствия искомого фермента [16].

Создание условий солевого стресса. Солевой стресс моделировали инкубацией проростков в растворе 150 мМ NaCl. Контролем служили образцы, экспонированные в воде. Первую пробу снимали до начала инкубации, а затем – после 1, 2, 3, 4, 6, 8 и 18 часов экспозиции.

Создание экспериментальных условий с пониженным содержанием кислорода. Растения в возрасте 10-12 дней перед постановкой опыта в течение суток выдерживали в темноте. Затем помещали в стаканчики с чистой водой и ставили на 24 часа в изолированные от поступления света вакуум-эксикаторы объемом 5 литров, через которые пропускались различные газовые среды – воздух, углекислый газ и азот из коммерческих баллонов.

Скорость поступления газа составила 17 см³/сек по разработанной ранее методике. По сертификату присутствие O₂ в баллоне с азотом составляло не более 0.5 %, следовательно, используемые в опытах условия можно считать гипоксическими.

Субклеточная локализация. Опыт по определению субклеточной локализации фермента проводился с помощью дифференциального центрифугирования с разделением фракций митохондрий и цитоплазмы, используя центрифугу Eppendorf 5810R (Германия). Изначально навеску растительного материала растирали на холоде в среде выделения, в которую в качестве осмотика входила 250 мм сахарозы, 40 мм маннитола для предотвращения разрушения митохондрий на первых стадиях процесса. Для осаждения клеточных стенок центрифугировали полученные пробы при 1000 g в течении 5 мин, с повторностью. Полученный супернатант крутили 12000g. Верхняя жидкая фаза представляла собой цитоплазму, а осадок, включал в себя фракцию органоидов, в т.ч. митохондрии и микротельца, которые затем разрушали осмотическим шоком в среде без сахарозы. Полученные фракции использовали для измерения активности ферментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение субклеточной локализации аконитазы показало, что в зеленых листьях кукурузы к концу светового периода примерно две трети активности аконитазы принадлежало цитозольной фракции и одна треть общей активности - к митохондриальной фракции (Таблица 1).

Следы активности аконитазы в пероксисомах находились в диапазоне перекрестного загрязнения митохондриями и цитозолем.

Изучение изоферментного состава аконитазы позволило выявить две активные формы, функционирующие в щитках кукурузы, что подтверждает литературные данные о наличии двух изоферментов аконитатгидратазы у ряда организмов.

Таблица 1.

Субклеточная локализация аконитазы в листьях кукурузы

Фермент	Цитозоль			Митохондрии			Пероксисомы		
	Активность, Е	Удельная активность, Е/мг.белка	%	Активность, Е	Удельная активность, Е/мг.белка	%	Активность, Е	Удельная активность, Е/мг.белка	%
Аконитатгидратаза	0.3563	0.0568	58	0.219	0.0898	35.6	0.0391	0.0065	6.4
Сукцинатдегидрогеназа	0.432	0.0544	12.8	2.881	0.685	85.6	0.0544	0.01	1.6
Каталаза	426.6	37.7	8	32.2	9.8	0.5	5233	1012	91.5
Лактатдегидрогеназа	0.564	0.0352	92.6	0.033	0.008	5.4	0.0113	0.0015	2



Рис. 1. Электрофореграмма изоферментного состава аконитатгидратазы в листьях кукурузы. P1 – цитоплазматическая форма, P2 –митохондриальная.

Для установления локализации каждой из форм АГ было проведено дифференциальное центрифугирование, что позволило установить, что одна из форм локализуется в цитоплазме, а другая работает в митохондриях. Выявленные формы исследуемого фермента имеют разную электрофоретическую подвижность. Быстродвижущаяся форма аконитазы связана с митохондриальной фракцией ($R_f = 0.34$) и обеспечивает функционирование ЦТК. Медленно движущаяся ($R_f = 0.32$) форма АГ локализована в цитоплазме, и участвует в различных метаболических процессах, таких как метаболизм цитрата, работа в глиоксилатном цикле. Было обнаружено, что действие 150 мМ раствора хлорида натрия приводит к изменению общей активности аконитазы в проростках кукурузы по сравнению с контрольной группой, где, в целом, удельная активность фермента оставалась на одном уровне. И в основном, как было показано это изменение направлено в сторону увеличения активности аконитатгидратазы в растениях подвергшихся солевому стрессу. Активацию данного фермента в листьях изучаемых растений в условиях солевого стресса можно связать с необходимостью дополнительного притока энергии для компенсации негативного влияния соли.

Так, начиная с первого часа инкубации растений, наблюдалось увеличение удельной активности исследуемых ферментов, в сравнении с контрольной группой. По истечении двух часов инкубации активность АГ возросла в несколько раз. После чего активность уменьшилась в последующие часы, оставаясь, впрочем, на уровне выше контрольной пробы. После шести часов инкубации активность АГ возросла в четыре раза и была максимальной ($E = 2.679$ Е/г.с.м. и $E = 11.615$ Е/г.с.м. соответственно), то есть АГ принимает

участие в так называемом «солевом дыхании». Приток дополнительной энергии обеспечивает компенсацию отрицательного действия хлорида натрия.

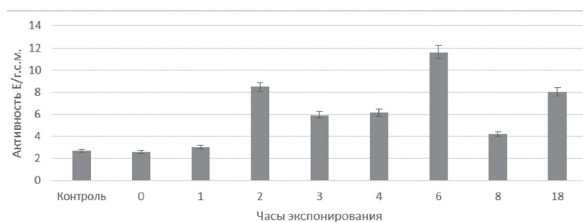


Рис. 2. Изменение общей активности аконитатгидратазы под влиянием солевого стресса (инкубация проростков в 150мМ растворе NaCl). Контроль – растения, экспонируемые в воде без NaCl на протяжении всего эксперимента.

С целью изучения действия стрессовых условий проводились исследования активности АГ в растениях инкубированных в различных газовых средах: среде азота и в среде углекислого газа. Контролем являлись объекты выдерживаемые в атмосферном воздухе. Результаты влияния гипоксии на функционирование аконитатгидратазы в листьях кукурузы представлены на рисунке 3. Из графика видно, что в течение 24 часов эксперимента наблюдалось изменение активности исследуемого фермента.

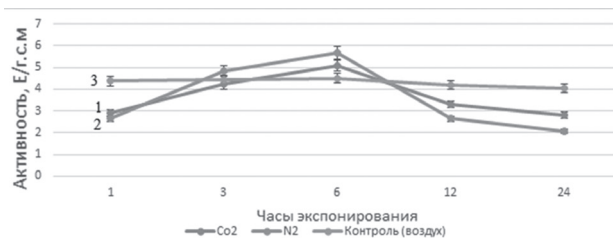


Рис. 3. Общая активность аконитатгидратазы при культивировании кукурузы в условиях гипоксии. 1 – инкубация в углекислом газе; 2 – инкубация в атмосфере азота; 3 – Контроль - атмосферный воздух

Установлено, что максимальное значение активности АГ наблюдается при экспозиции растений в течение 6ч в атмосфере углекислого газа или азота и составляет 5.072 и 5.684 Е/г.с.м. соответственно. Однако к 12 часовой экспозиции данный показатель резко снизился до значений в 3.404 и 2.644 Е/г.с.м. Через 24ч инкубации в среде N_2 достигалось наименьшей величины скорости функционирования аконитазы (2.088 Е/г.с.м). Такая динамика активности фермента может быть связана с тем, что повышенное относительно нормального значения содержание углекислого газа и

азота в атмосфере оказывает сильное влияние на все процессы жизнедеятельности растительного организма, и приводит в включению компенсаторных механизмов, таких как пентозофосфатный путь и гликолиз, поставляющих АТФ и интермедиаты для биосинтеза [17].

Резкое понижение активности исследуемого фермента в начале эксперимента может быть объяснено действием диоксида углерода и азота как специфического стрессового фактора, при котором изначально наблюдается угнетение окислительного метаболизма. В последующем наблюдается мобилизация всех обменных процессов, однако при более длительном воздействии потенциал организма иссякает. По-видимому, активация дыхательного метаболизма в клетках листа компенсирует дефицит НАДФН, АТФ и продуктов обмена, и одновременно при непродолжительной гипоксии вызывает усиление фотосинтетической активности и стабилизацию первичных фотохимических реакций, локализованных в хлоропластах, ведет к образованию необходимого количества восстановителей и промежуточных соединений, необходимых для различных биосинтезов, что обеспечивает наряду с другими защитными реакциями устойчивость растений к гипоксии [18].

Как известно, одним из возможных поставщиков АТФ является дыхательный метаболизм, неотъемлемая часть которого электрон транспортная цепь, для которой в аэробных условиях конечным акцептором электронов является кислород. В последнее время обсуждается механизм, помогающий выживать растениям в условиях гипоксии - это использование NO в качестве промежуточного акцептора электронов, способствующего окислению NADH, которое достигается в реакции образования NO и его последующее окисление обратно в нитраты [19].

Есть данные что NO ингибирует аконитазу при гипоксии, обеспечивая накопление цитрата, который, в свою очередь, индуцирует появление АФК и вызывает смещение метаболизма в сторону биосинтеза аминокислот. При этом ингибирование аконитазой NO сильнее при более низком значении pH [20]. Это объясняет сильное снижение активности аконитатгидратазы после 6 часов инкубации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, аконитатгидратазная система играет важную роль в осуществлении адаптивной реакции клеточного метаболизма растений к экс-

тремальным условиям культивирования. Исключительно большое значение имеют изоферменты АГ, характеризующиеся различной субклеточной локализацией. Митохондриальная форма фермента варьирует свою активность в зависимости от энергетического состояния растительной клетки. Цитоплазматический изофермент аконитазы участвует в синтезе осмолитов, обеспечивающих осмозащиту растительной клетки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hooks M.A., Allwood J.W., Harrison J. K D, Kopka J., Erban A., Goodacre R., Balk J. // *Biochem. J.* 2014. V. 463, pp. 309–317.
2. Peyret P., Pascual P., Alric M. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270, pp. 8131–8137.
3. Cercos M., Domingo J. G. S., Jose I., Javier G., Talon F.M. // *Plant Mol Biol.* 2006. V. 62, No. 4, pp. 513-527.
4. Gourley B.L., Parker S.B., Jones B.J., Zumbrennen K.B., Leibold E.B. // *The J. of Biological Chemistry* 2003. V. 278, N. 5. pp. 3227–3234.
5. Gupta K.J., Shah J.K., Brotman Y., Jahnke K., Willmitzer L. Kaiser W.M., Bauwe H., Igamberdiev A.U. // *J. Exp. Bot.* 2012, V. 63, pp. 1773–1784.
6. Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Nikitina M.V., Igamberdiev A.U. // *Journal of Plant Physiology.* 2015. V. 181, pp. 14–19.
7. Журавская А. Н. // *Наука и образование.* 2001 . №1. С. 72-77.
8. Хаба А.М., Федорина О.С., Сальников А.В., Заичикова М.В., Епринцев А.Т. // *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2013. № 2. С.88-90.
9. Белова Т.А., Кравченко А.С. // *Auditorium, Курск, 2018.* Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/fiziologicheskie-osnovy-adaptatsii-rasteniy-k-vozdeystviyu-solevogo-stressa/viewer> (дата обращения: 11.12.2019)
10. Fang T. K., Donaldson R. P., Vigil, E. L. // *Planta* , 1987, V.172, pp. 1-13.
11. Gupta K.J., Igamberdiev A.U. // *Frontiers in Plant Science.* 2016. V.7, pp. 369-376.
12. Анохина Г.Б., Картавецва Л.С., Дедов Я.И., Оя П.С., Епринцев А.Т. // *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2019. №3. С. 26-33.
13. Vartapetian B., Jackson M. // *Annals of Botany.* 1997. V.79, pp. 3-20.
14. Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Cherkasskikh M.V., Igamberdiev A.U. // *Plant Physiology and Biochemistry.* 2020. Vol. 146, pp. 157-162.
15. Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т. *Биохимические методы исследования фер-*

Черкасских М.В., Коломийцева Д. Ю., Авторева Е. Л., Епринцев А.Т.

ментов глиоксилатного цикла и ЦТК: учеб. пособие. Воронеж: издательский дом ВГУ, 2015, 50 с.

16. Müller E., Albers B., Janiesch P.//Plant Soil. 1994. V.166, pp. 221-230.

17. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002, 244 с.

18. Войцековская С.А., Астафурова Т.П., Верхотурова Г.С., Зайцева Т.А.// Вестник Томского

государственного университета. 2007. №297. с. 181-183.

19. Igamberdiev A.U., Hill R.D. // Annals of Botany. 2008. V.103, pp. 259-268.

20. Navarre D.A., Wendehenne D., Durner J., Noad R., Klessig D.F.// Plant Physiology. 2000. V. 122, pp. 573-582.

*Воронежский государственный университет
Черкасских М.В., аспирант кафедры биохимии и физиологии клетки
E-mail: fess-ru@mail.ru*

*Voronezh State University
Cherkasskikh M. B., post-graduate student,
department of Biochemistry and Cell Physiology
E-mail: fess-ru@mail.ru*

*Коломийцева Д. Ю., магистрант кафедры биохимии и физиологии клетки,
E-mail: dashylya49@gmail.com*

*Kolomiitseva D. Y., master of the department of Biochemistry and Cell Physiology
E-mail: dashylya49@gmail.com*

*Авторева Е. Л., студент кафедры биохимии и физиологии клетки
E-mail: evgeniaavtoreeva@mail.ru*

*Avtoreeva E. L., student of the department of biochemistry and cell physiology,
E-mail: evgeniaavtoreeva@mail.ru*

*Епринцев А. Т., профессор, доктор биологических наук, заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

*Eprintsev A. T., PhD., DSci., Full Professor, head of the Biochemistry and Cell Physiology Department
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

THE FUNCTIONING OF ACONITATE HYDRATASE IN THE LEAVES OF MAIZE UNDER STRESS CONDITIONS

M. B. Cherkasskikh, D. Y. Kolomiitseva, E. L. Avtoreeva, A. T. Eprintsev

Voronezh State University

Abstract. The dynamics of activity, isoenzyme composition of aconitase hydratase and subcellular localization in corn leaves under various stress conditions: hypoxia and salt stress were studied. It is shown that hypoxia and salinity in general have an inhibitory effect on the activity of the enzyme under study. Salinization in the first hours of exposure leads to an increase in aconitase activity, and in the subsequent time after two hours to a decrease. After six hours of incubation, AG activity quadruples to a maximum, meaning AG takes part in so-called "salt breathing." Under hypoxia conditions, the enzyme exhibits different levels of activity, but similar dependence. For example, in the atmosphere of carbon dioxide and nitrogen, there was initially an increase in AG levels, but in the presence of CO² this increase was more pronounced. Thereafter, as with the salt stress experience, at late hours of the experiment aconitase activity decreases below the level of control exposed in atmospheric air. The increase in activity in the early hours of stress exposure is associated with the activation of respiratory metabolism, as the main source of energy equivalents to compensate for negative impact. In the case of salt stress, aconitase hydratase is believed to be involved in the synthesis of osmoprotectors and to provide the availability of reducing equivalents, which ensures, among other protective reactions, plant resistance to hypoxia. In conditions of oxygen deficiency, additional energy inflow from TCA and intensification of exchange processes are required. In the late stages, the formation and accumulation of NO is believed to have an inhibitory effect on the molecules of the enzyme aconitase hydratase.

Aconitase activity is found in the cytosol and mitochondria, trace amounts were also measured in peroxisomes, within error values. The specific development of aconitate hydratase in the polyacrylamide gel confirmed the presence of two forms of AG having different electrophoretic mobility: mitochondrial and cytoplasmic, performing different functions in the cell.

Keywords: aconitate hydratase, salt stress, TCA, hypoxia, *Zea mays*, subcellular localization

REFERENCES

1. Hooks M.A., Allwood J.W., Harrison J. K D, Kopka J., Erban A., Goodacre R., Balk J. , *Biochem. J.* , 2014, V. 463, pp. 309–317. DOI: Available at: <https://www.semanticscholar.org/> (assessed: 10.1042/BJ20140430).
2. Peyret P., Pascual P., Alric M. , *J. Biol. Chem.*, 1995, V. 270, pp. 8131–8137. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1074/jbc.270.14.8131).
3. Cercos M., Domingo J. G. S., Jose I., Javier G., Talon F.M. , *Plant Mol Biol.*, 2006, V. 62, No. 4, pp. 513-527. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1007/s11103-006-9037-7).
4. Gourley B.L., Parker S.B., Jones B.J., Zumbrennen K.B., Leibold E.B., *The J. of Biological Chemistry* 2003, V. 278, No. 5, pp. 3227–3234. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1074/jbc.M210333200).
5. Gupta K.J., Shah J.K., Brotman Y., Jahnke K., Willmitzer L. Kaiser W.M., Bauwe H., Igamberdiev A.U., *J. Exp. Bot.* 2012, V. 63, pp. 1773–1784. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1093/jxb/ers053).
6. Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Nikitina M.V., Igamberdiev A.U., *Journal of Plant Physiology*, 2015, V. 181, pp. 14–19. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1016/j.jplph.2015.03.012).
7. Zhuravskaya A. N., *J. Nauka i obrazovanie*, 2001, NO. 1, pp. 72-77.
8. Khaba A.M., Fedorina O.S., Sal'nikov A.V., Zaichikova M.V., Eprintsev A.T. , *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2013, No. 2, pp. 88-90.
9. Belova T.A., Kravchenko A.S. // *Auditorium, Kursk*, 2018. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/fiziologicheskie-osnovy-adaptatsii-rasteniy-k-vozdeystviyu-solevogo-stressa/viewer> (accessed 11 December 2019).
10. Fang T. K., Donaldson R. P., Vigil, E. L., *Planta* , 1987, V.172, pp. 1-13. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1007/BF00403023).
11. Gupta K.J., Igamberdiev A.U., *Frontiers in Plant Science*, 2016, V.7, pp. 369-376. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.3389/fpls.2016.00369).
12. Anokhina G.B., Kartavtseva L.S., Dedov Ya.I., Oya P.S., Eprintsev A.T. , *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2019, No.3, pp. 26-33.
13. Vartapetian B., Jackson M., *Annals of Botany*, 1997, V.79, pp. 3-20. DOI: Available at: <https://www.researchgate.net/> (accessed: 10.1093/oxfordjournals.aob.a010303).
14. Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Cherkasskikh M.V., Igamberdiev A.U., *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, Vol. 146, pp. 157-162.
15. Selivanova N.V., Fedorin D.N., Eprintsev A.T. , *Biokhimicheskie metody issledovaniya fermentov gliksilatnogo tsikla i CTK: ucheb. posobie. Voronezh: izdatel'skii dom VGU*, 2015, 50s.
16. Müller E., Albers B., Janiesch P., *Plant Soil.*, 1994, V.166, pp. 221-230. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1007/BF00008335).
17. Chirkova T.V. *Fiziologicheskie osnovy ustoi-chivosti rastenii. SPb.: Izd-vo SPb. un-ta*, 2002, 244 s.
18. Voitsekovskaya S.A., Astafurova T.P., Verkhoturova G.S., Zaitseva T.A. , *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2007, No.297, pp. 181-183.
19. Igamberdiev A.U., Hill R.D., *Annals of Botany*, 2008, V.103, pp. 259-268. DOI: Available at: <http://dx.doi.org/> (accessed: 10.1093/aob/mcn100).
20. Navarre D.A., Wendehenne D., Durner J., Noad R., Klessig D.F., *Plant Physiology*, 2000, V. 122, pp. 573–582. DOI: Available at: <https://doi.org/> (accessed: 10.1104/pp.122.2.573).