

ВЫЯВЛЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ NaCl-ИНДУЦИРОВАННОЙ МОДИФИКАЦИИ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ И ИНДУКЦИИ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В КОРНЕ ПОДСОЛНЕЧНИКА

В. С. МАЦКЕВИЧ¹⁾, С. Н. ЗВОНАРЕВ¹⁾, А. А. ШИКЕР¹⁾,
О. А. ТУРОВЕЦ²⁾, И. И. СМОЛИЧ¹⁾, А. И. СОКОЛИК¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК¹⁾

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

²⁾Полесский институт растениеводства НАН Беларуси, ул. Школьная, 2, 247781,
поселок Криничный, Мозырский район, Гомельская область, Беларусь

В мировом масштабе около 30 % всех почв повреждены засолением, которое приводит к снижению продуктивности агро- и биоценозов, уменьшению биоразнообразия и, как следствие, значительным экономическим потерям. Для важнейшей масличной культуры – подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) – первичные реакции на солевой стресс практически не изучены. В настоящей работе проанализировано воздействие широкого диапазона концентраций NaCl на рост основного корня проростков подсолнечника и развитие процессов запрограммированной клеточной гибели в трихобластах. В ходе проведенных опытов продемонстрировано, что растения подсолнечника являются относительно устойчивыми к засолению. Они способны расти при уровне NaCl в среде

Образец цитирования:

Мацкевич ВС, Звонарев СН, Шикер АА, Туровец ОА, Смолич ИИ, Соколик АИ, Демидчик ВВ. Выявление особенностей NaCl-индуцированной модификации ростовых процессов и индукции запрограммированной клеточной гибели в корне подсолнечника. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;3:13–20.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-13-20>

For citation:

Mackievic VS, Zvanarou SM, Shyker AA, Turovets OA, Smolich II, Sokolik AI, Demidchik VV. Determination of NaCl-induced modifications in growth processes and induction of programmed cell death in sunflower roots. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;3:13–20. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-13-20>

Авторы:

Вера Сергеевна Мацкевич – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.
Сергей Николаевич Звонарев – аспирант кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.
Артур Александрович Шикер – студент биологического факультета. Научный руководитель – В. С. Мацкевич.
Оксана Александровна Туровец – старший научный сотрудник лаборатории масличных культур.
Игорь Иванович Смолич – кандидат биологических наук, доцент; заведующий кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.
Анатолий Иосифович Соколик – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией физиологии и биотехнологии растений, доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.
Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, доцент; декан биологического факультета.

Authors:

Viera S. Mackievic, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.
v.mackievic@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5116-0157>
Siarhej M. Zvanarou, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.
zvonarevsergey.bio@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5403-0235>
Artur A. Shyker, student at the faculty of biology.
shikerartur04@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2251-0779>
Oksana A. Turovets, senior researcher at the laboratory of oil-seeds.
mzpolfl@mail.gomel.by
<https://orcid.org/0000-0001-8995-7519>
Ihar I. Smolich, PhD (biology), docent; head of the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.
smolich@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0001-7828-606X>
Anatoly I. Sokolik, PhD (biology); head of the laboratory of plant physiology and biotechnology and associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.
sokolik@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0002-1513-9465>
Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), docent; dean of the faculty of biology.
dzemidchik@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0003-3765-8386>

до 250 ммоль/л. Значительные симптомы запрограммированной гибели клеток обнаруживались только при концентрации NaCl 250–500 ммоль/л. Выявлена ранее не описанная в литературе реакция снижения количества симптомов запрограммированной клеточной гибели при обработке 150 ммоль/л NaCl (средний уровень стресса для подсолнечника). Анализ NaCl-индуцируемого выходящего потока калия показал, что он лишь на 15 % ингибировался специфическими антагонистами калиевых каналов (Ba^{2+}). Это указывает на низкую долю последних и доминирующую роль неселективных катионных каналов в обеспечении NaCl-индуцированного выхода калия у растений *Helianthus annuus* L.

Ключевые слова: подсолнечник; корень; рост; запрограммированная клеточная гибель; засоление; выход K^+ .

Благодарность. Работа выполнена в рамках международного проекта Государственного комитета по науке и технологиям «Оценить воздействие абиотических стрессоров на выход из клеток подсолнечника ионов калия» совместно с Индией.

DETERMINATION OF NaCl-INDUCED MODIFICATIONS IN GROWTH PROCESSES AND INDUCTION OF PROGRAMMED CELL DEATH IN SUNFLOWER ROOTS

V. S. MACKIEVIC^a, S. M. ZVANAROU^a, A. A. SHYKER^a,
O. A. TUROVETS^b, I. I. SMOLICH^a, A. I. SOKOLIK^a, V. V. DEMIDCHIK^a

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

^bPalessky Institute of Plant Growing, National Academy of Sciences of Belarus,
2 Škol'naja Street, Kryničny 247781, Mazyr District, Homiel' Region, Belarus

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

Globally, about 30 % of all soils are damaged by salinity. Salinity leads to lower productivity of agro- and biocenosis, a decline in biodiversity and, as a result, significant economic losses. For the most important oil culture – sunflower (*Helianthus annuus* L.), primary reactions to salt stress are almost unexplored. This paper analyzes the impact of a wide range of NaCl concentrations on the growth of the main root of sunflower sprouts and the development of programmed cell death processes in trichoblasts. Experiments have shown that sunflower plants are relatively resistant to salinity (NaCl). They were able to grow at the level up to NaCl 250 mmol/L in the environment. Significant symptoms of programmed cell death were detected only at high concentrations of NaCl 250–500 mmol/L. Previously undescribed in the literature, the reaction of reducing the number of symptoms of programmed cell death under 150 mmol/L NaCl treatment (medium salt stress level for sunflower) was determined. An inhibitory analysis of the NaCl-induced potassium flux showed that it was only 15 % inhibited by specific potassium channel antagonists (Ba^{2+}). This indicates a low proportion of potassium channels and the dominant role of non-selective cation channels in providing NaCl-induced potassium loss in *Helianthus annuus* L. plants.

Keywords: sunflower; root; growth; programmed cell death; salinity; K^+ efflux.

Acknowledgements. The work was carried out in the framework of the international project of the State Committee for Science and Technology with India «To assess the effect of abiotic stressors on the release of potassium ions from sunflower cells».

Введение

Одной из важнейших задач в сфере физиологии растений и сельского хозяйства является снижение негативного влияния засоления [1], приводящего к уменьшению продуктивности агро- и биocenозов, падению биоразнообразия и, как следствие, экономическим и экологическим проблемам. Основными источниками засоления обрабатываемых почв выступают орошение минерализованными водами, некачественная химическая и гидротехническая мелиорация, а также некоторые природные явления [2]. По ряду авторитетных оценок, до одной трети возделываемых почв в мировом масштабе засолены в различной степени [3; 4].

Отрицательное воздействие засоления на растения в значительной степени обусловлено влиянием высоких уровней Na^+ [5], а также (в несколько меньшей степени) Cl^- и других ионов [6]. На клеточном уровне солевой стресс проявляется в ионном, осмотическом и окислительном дисбалансе, что сопровождается усиленной генерацией активных форм кислорода (АФК), ингибированием анаболических и стимуляцией автофагических процессов [7]. Важнейшей мишенью засоления являются системы

плазматической мембраны. Выход воды через водные каналы плазматической мембраны лежит в основе осмотического дисбаланса, в то время как ионные каналы данной мембраны катализируют ионные потоки, что приводит к потере калия и модификации распределения других ионов между клеткой и средой [8]. Согласно развиваемой в последние годы «метаболической теории» засоления потеря K^+ , стимулирующая катаболические реакции и угнетающая анаболизм, лежит в основе раннего ответа растения в случае нелетальных концентраций NaCl [4; 9]. Вытеснение калия из метаболических путей при чрезмерно высоких уровнях NaCl (летальных концентрациях) может приводить к необратимым модификациям метаболизма, так как калий является «структурным» регулятором активности большинства водорастворимых ферментов клетки [10]. Наряду с деполяризацией мембраны выход калия дополнительно стимулируется синтезом АФК, который активируется вследствие входа Ca^{2+} и индукции НАДФ(Н)-оксидазной активности на плазматической мембране [12]. АФК, такие как гидроксильный радикал и перекись водорода, активируют наружувыврямляющие K^+ -каналы плазматической мембраны клеток корня [8]. Усиление антиоксидантной защиты, как и снижение активности систем синтеза АФК, потенциально может приводить к ослаблению негативных последствий засоления для растительной клетки [12].

Рассмотренные выше механизмы токсичности засоления исследованы главным образом для *Arabidopsis thaliana* и риса [9; 13]. Для этих растений идентифицированы как системы, обеспечивающие ключевые реакции, так и гены, их кодирующие. В то же время для многих сельскохозяйственных культур первичные реакции ответа растительной клетки на засоление остаются практически неизученными. В настоящей работе проведены исследования по выявлению данных реакций у растений подсолнечника – важнейшей масличной культуры с высокой устойчивостью к повышенным температурам и засухе. Тем не менее подсолнечник не является галофитом, т. е. используемые им стратегии могут иметь важное значение для селекции толерантных растений и биоинженерии солеустойчивости. Нами была предпринята попытка тестирования физиологического ответа корня подсолнечника белорусской селекции на повышенные уровни NaCl в среде. Изучены особенности двух ключевых клеточных реакций на NaCl: потери ионов K^+ корнями и K^+ -зависимой индукции запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ).

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовались растения *Helianthus annuus* L., гибрид Орион, предоставленный Полесским институтом растениеводства НАН Беларуси. Данный сорт подсолнечника отличается засухоустойчивостью, раннеспелостью, равномерностью созревания, интенсивным начальным ростом, способен противостоять полеганию. Он устойчив к ложной мучнистой росе, фузариозному увяданию, толерантен к загущению.

Семена подсолнечника 20 мин обрабатывались раствором коммерческого детергента (20 % Domestos) и промывались в проточной воде для удаления остатков детергента на протяжении 20 мин. Стерильные семена выкладывали на влажную фильтровальную бумагу (15 × 15 см) на расстоянии 1 см от верхнего края, накрывали вторым листом бумаги и закручивали в рулон. Рулоны помещали в стаканы с питательным раствором. Среда выращивания содержала 10 % по массе стандартной смеси солей Мурасиге и Скуга с микроэлементами [14] производства *Duchefa* (Нидерланды), pH поддерживался на уровне 6,0 при помощи KOH и HCl. В данную среду вводились тестируемые растворы NaCl.

Стаканы с рулонами помещались в стерильную ростовую камеру с контролируемым температурным режимом (22 °C) и условиями освещения (16 ч (свет)/8 ч (темнота)), где подращивались в течение 7 сут. Ежедневно осуществлялся мониторинг прироста корней, фотографии получали при помощи фотоаппарата Nikon D5500 (Япония). На 7-е сутки регистрировалась длина основного корня, расчеты производились при помощи приложения *ImageJ*. Средняя длина корней каждой тестируемой обработки соотносилась с длиной корней в контроле для получения относительных значений.

Корни 7-дневных проростков подсолнечника исследовались на предмет проявления типичной для ЗКГ морфологии с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS100F. Проростки подсолнечника помещали на 3 и 24 ч в емкости с растворами NaCl. Для каждой серии экспериментов подсчет относительного количества клеток с симптомами ЗКГ был произведен в 15 независимых выборках (каждая группа – 100 корневых волосков). Фотографирование при проведении морфологических тестов производилось при 400-кратном увеличении.

Содержание K^+ в среде регистрировалось с помощью K^+ -селективного электрода Элис-121К (ООО «Ан-тех», Беларусь). Система измерения выхода K^+ включала иономер с системой электродов, экспериментальную ячейку (в которую помещали проростки), компрессор для воздушного барботирования. Для калибровки K^+ -селективного электрода использовались растворы KCl в концентрациях 1–1000 мкмоль/л. В эти растворы вводился NaCl в концентрации 100 ммоль/л, и проводилась повторная калибровка. Результаты калибровок представлены на рис. 1.

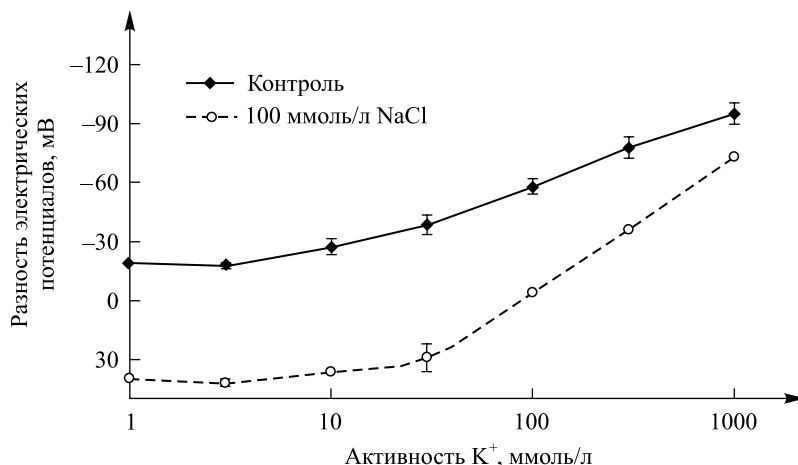


Рис. 1. Зависимость разности электрических потенциалов на сенсоре K^+ -селективного электрода от активности ионов калия в наружном растворе (калибровочный график системы)

Fig. 1. The electric potential difference (mV) on the K^+ sensor of a selective electrode on the activity of potassium ions (mmol/L) in the external solution (calibration graph of the system)

Проростки выдерживались в растворе 0,1 ммоль/л $CaCl_2$ в течение 2 ч. После этого в нем измерялось содержание K^+ . В раствор вносился NaCl в концентрации 100 ммоль/л с последующей инкубацией растений в течение 15 мин, затем повторно определялась концентрация K^+ . После данных манипуляций корни взвешивались. По калибровочной кривой рассчитывалось содержание K^+ в растворах с нормализацией по массе корней.

Результаты и их обсуждение

Первичный и наиболее общий ответ растений на воздействие засоления – ингибирование ростовых процессов, происходящее вследствие так называемого метаболического переключения, блокирующего анаболические превращения [4; 15]. При этом первичной мишенью большинства абиотических стрессоров выступают клетки корня. Анализ воздействия засоления на рост основного корня *Helianthus annuus* L. показал, что низкие концентрации соли (10 ммоль/л NaCl) увеличивали прирост основного корня примерно на 20 %, также индуцировали развитие боковых корней (рис. 2, а). В то же время более высокие уровни NaCl (свыше 100 ммоль/л) угнетали рост корней (рис. 2). Полумаксимальный ингибирующий эффект регистрировался при 100 ммоль/л NaCl, концентрация 350 ммоль/л была летальной (не обнаруживалось прорастания семян). Полученные данные указывают на то, что по сравнению со многими сельскохозяйственными видами, например пшеницей (*Triticum aestivum* L.) [16] и кукурузой (*Zea mays* L.) [17], а также модельными системами (такими как *Arabidopsis thaliana* L. Heynh.) [9], подсолнечник обладает значительно более высокой резистентностью к NaCl. Для него было отмечено прорастание на фоне 250 ммоль/л NaCl, тогда как для вышеуказанных видов верхней границей для выживания является уровень 100–150 ммоль/л.

Растения адаптируются к негативным факторам среды путем включения различных защитных механизмов, один из которых – индукция ЗКГ [18]. Например, происходит образование защитных слоев из мертвых клеток, что препятствует проникновению во внутренние слои клеток корня растворов с избыточным содержанием NaCl, тяжелых металлов и других токсических агентов [15]. Основным тестом при исследовании ЗКГ у высших растений является выявление морфологических изменений клеток: конденсации ядра, фрагментации цитоплазмы, отслоения протопласта, нарушения целостности цитоплазматической мембраны [19].

В результате воздействия NaCl в концентрации 150–500 ммоль/л в течение 3–24 ч в корневых волосках подсолнечника наблюдались типичные морфологические симптомы ЗКГ (рис. 3, б): отслоение цитоплазматической мембраны от клеточной стенки, образование темных телец на месте ядра, конденсация протопласта, видимые нарушения целостности мембран. В контрольных образцах, выдержанных в буфере, данных симптомов практически не наблюдалось (рис. 3, а), доля клеток с ЗКГ здесь не превышала 6 %. При 3-часовой экспозиции симптомы ЗКГ отмечались лишь при высоких уровнях NaCl (рис. 3, в): 250 ммоль/л увеличивал долю клеток с ЗКГ на 4 %, 500 ммоль/л – на 25 %. При дальнейшей инкубации растений в растворах NaCl число клеток с ЗКГ-морфологией возрастало.

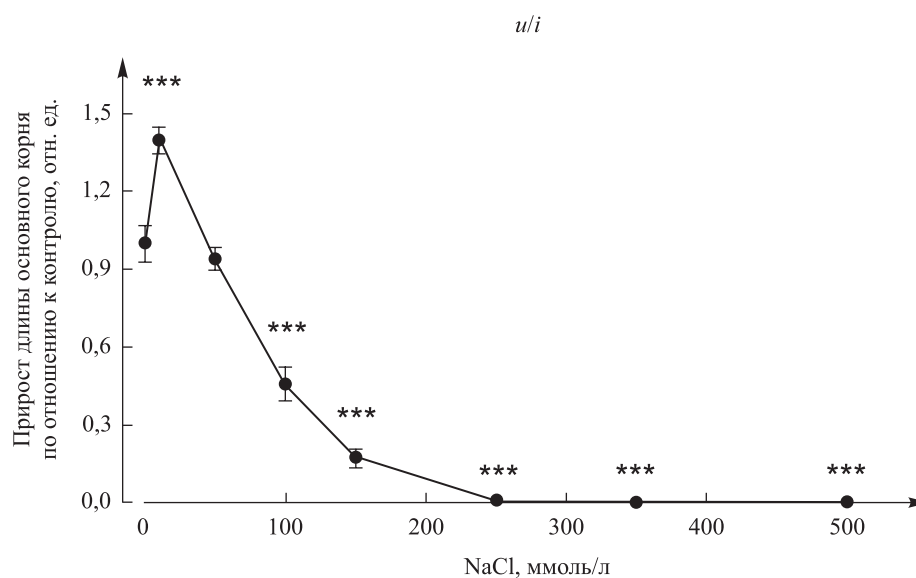
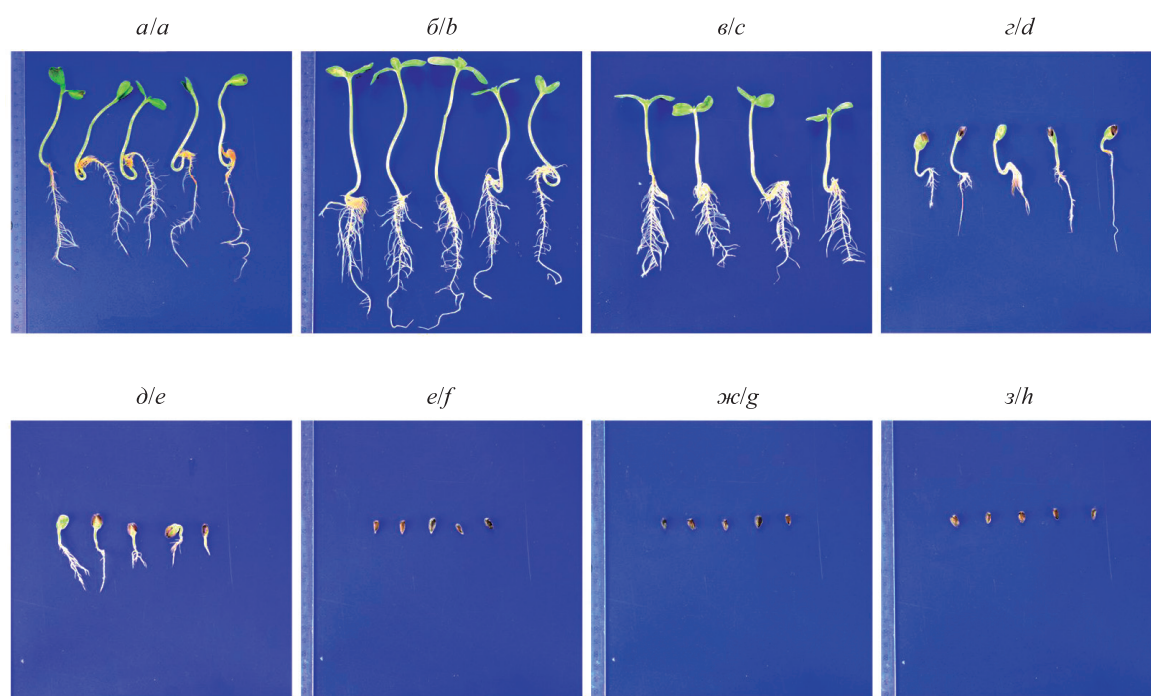


Рис. 2. Фенотипирование проростков *Helianthus annuus* L., выращиваемых 10 сут рулонным методом в 10 % растворе стандартных солей среды Мурасиге и Скуга на фоне NaCl с концентрацией, ммоль/л: а – 0 (контроль); б – 10; в – 50; г – 100; д – 150; е – 250; ж – 350; з – 500.

Изменение роста основного корня на фоне различных уровней NaCl (u).

Достоверность различий рассчитывалась по отношению к контролю при помощи ANOVA-теста: *** – $p < 0,001$ ($n = 30$)

Fig. 2. Phenotyping of growth changes (the length of main root) in *Helianthus annuus* L. seedlings grown in paper rolls using 10 % Murashige and Skoog medium with addition NaCl at concentrations, mmol/L:

a – 0 (control); b – 10; c – 50; d – 100; e – 150; f – 250; g – 350; h – 500.

Mean increment of the main root (u). The significance

of differences was calculated using ANOVA: *** – $p < 0.001$ ($n = 30$)

Обработка растений 250 и 500 ммоль/л NaCl на протяжении 24 ч индуцировала гибель 95–100 % корневых волосков (рис. 3, з). Примечательно, что довольно высокая концентрация соли (150 ммоль/л NaCl) не оказывала негативного эффекта при 24-часовой обработке, а, напротив, вызывала снижение доли клеток с симптомами ЗКГ по сравнению с контролем (1,0–1,5 %) (см. рис. 3, з).

Также в исследовании был использован подход регистрации изменения уровня K^+ в экссудате корней в контролируемом объеме (рис. 4). Полученные данные указывают на высокую эффективность и надежность измерения при помощи K^+ -селективных электродов в случае засоления. Выдерживание проростков в 100 ммоль/л NaCl на протяжении 15 мин вызывало значительную потерю K^+ корнями подсолнечника, концентрация K^+ в наружном растворе при этом увеличивалась в три раза.

Добавление в среду Ba^{2+} – селективного блокатора K^+ -каналов – приводило к достоверному снижению выхода K^+ из клетки на 15 % (см. рис. 4, б). Это свидетельствует о том, что за данный процесс у подсолнечника лишь в незначительной степени отвечают K^+ -селективные ионные каналы [20]. Системой выхода калия, которая нечувствительна к Ba^{2+} , являются неселективные катионные каналы [12]. Можно предположить, что у подсолнечника эта система доминирует в выходе катионов, что, вероятно, обеспечивает более высокую толерантность к NaCl. Ранее изменения выхода калия были зарегистрированы в корнях

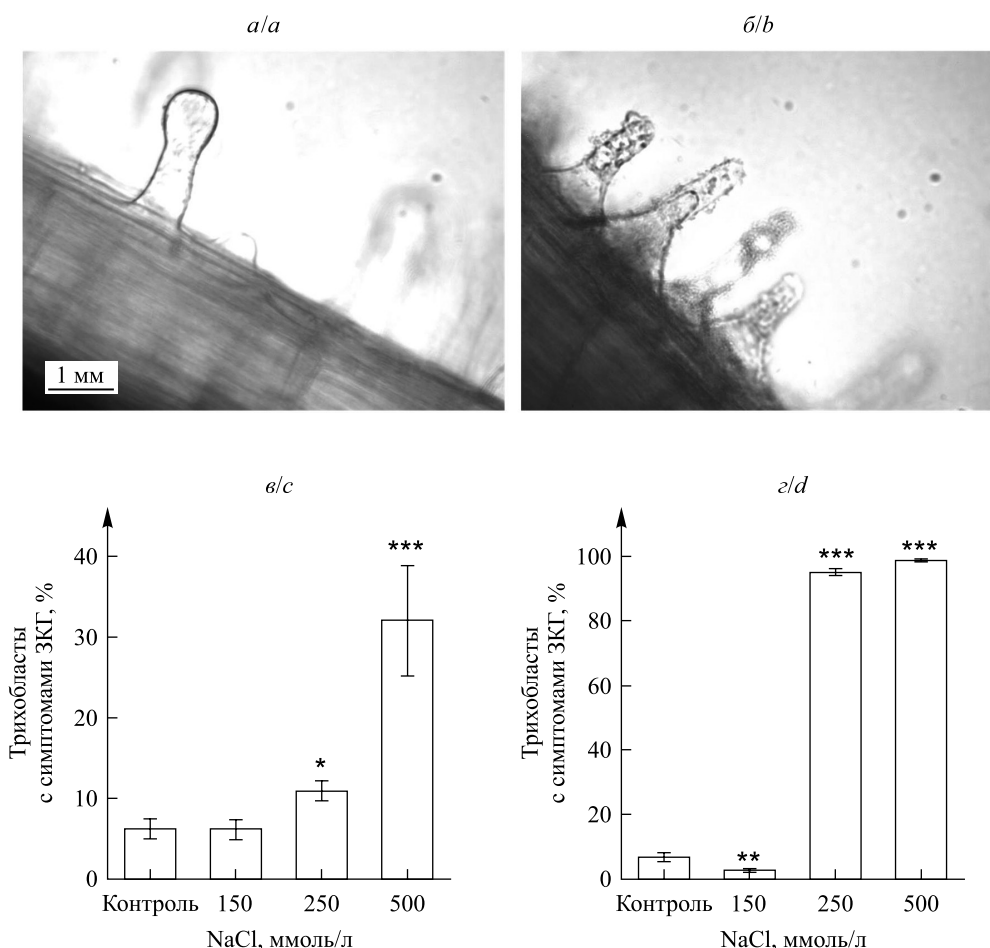


Рис. 3. Индукция симптомов ЗКГ в трихобластах *Helianthus annuus* L. при обработке NaCl. Типичная морфология клеток корня до (а) и после (б) 24-часовой обработки 250 ммоль/л NaCl. Доля трихобластов, обнаруживающих симптомы ЗКГ, при инкубации растений на фоне 150–500 ммоль/л NaCl в течение 3 ч (в) и 24 ч (з). Достоверность различий рассчитывалась по отношению к контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (n – от 15 до 25)

Fig. 3. Induction of the programmed cell death symptoms in root hairs of *Helianthus annuus* L. treated with NaCl solutions. Morphology of sunflower root cells before (a) and after (b) 24 h treatment with NaCl (250 mmol/L NaCl). The percentage of trichoblasts with PCD symptoms in plants incubated in solutions containing 150–500 mmol/L NaCl for 3 h (c) and 24 h (d). The significance of differences was calculated to the control: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ (n – from 15 to 25)

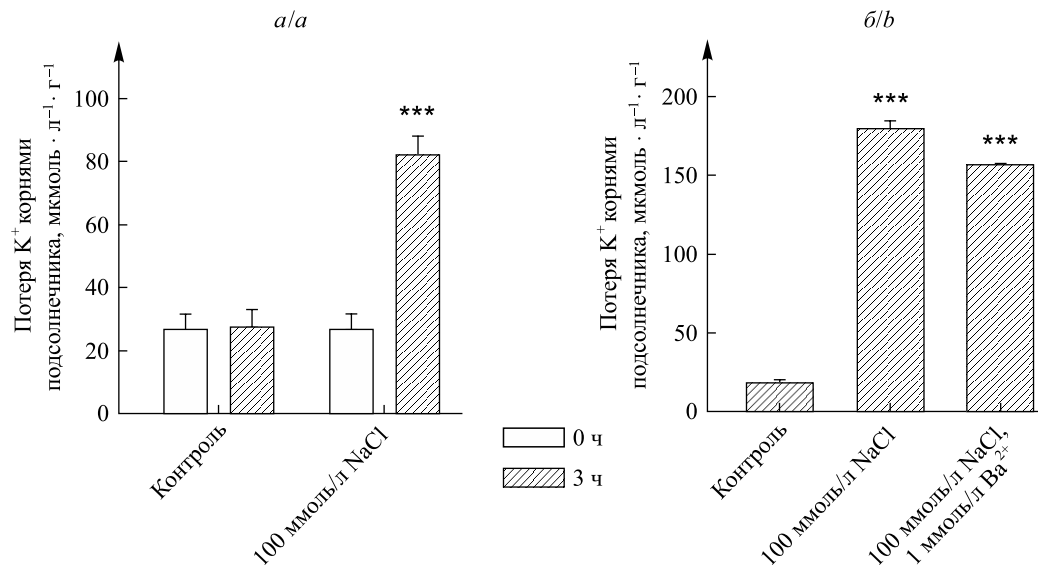


Рис. 4. Потеря K⁺ корнями *Helianthus annuus* L., индуцируемая 100 ммоль/л NaCl (а), и эффект Ba²⁺ (блокатора K⁺-каналов растений) на потерю K⁺ (б) (n = 15).

Достоверность различий рассчитывалась по отношению к контролю:

*** – $p < 0,001$ (данные получены для двух независимых опытных выборок)

Fig. 4. Loss of K⁺ from sunflower roots, induced by NaCl (100 mmol/L) (a), and the effect of Ba²⁺ (K⁺-channels blocker) on K⁺ efflux (b) (n = 15).

The significance of differences was calculated to the control: *** – $p < 0.001$ (data obtained in two independent series of experiments)

клевера, арабидопсиса, пшеницы, ржи, кукурузы и риса при помощи ионселективных вибрационных электродов (системы MIFE™) [21; 22]. Они также продемонстрировали быстрый характер развития реакции и неполное блокирование выходящего потока ионов калия под действием блокаторов калиевых каналов.

Потеря клетками растения K⁺ первоначально в физиологии растений связывалась с неспецифическим повреждением мембран, однако в дальнейшем была отнесена к реакциям, опосредованным деполяризационно-активируемыми ионными каналами [23]. Утечка калия и других электролитов широко распространена среди различных видов растений, тканей и типов клеток и может быть вызвана всеми основными стресс-факторами, включая такие, как атака патогенов [23], засоление [7], высокие уровни тяжелых металлов [24; 25], окислительный стресс [25], повышенная кислотность (pH 4) [25], механический стресс [26], переувлажнение почвы [27], засуха [15; 24], гипертермия [9; 25] и др. Несмотря на исключительную важность K⁺-зависимых перестроек в физиологии клетки корня для повышения стрессоустойчивости и урожайности растений, механизм указанного явления остается не до конца понятным. Полученные в настоящей работе результаты дополняют современные представления о роли выхода калия из клеток высших растений в обеспечении адаптивных реакций. Для подсолнечника этот вопрос детально изучен впервые. Наиболее характерной чертой потери K⁺ корнями подсолнечника является невысокая доля калиевых каналов в обеспечении рассматриваемого процесса.

Следует отметить, что засоление запускает сложную серию механизмов задержки роста, нарушения минерального питания, изменения проницаемости мембран, индукции ионного и метаболического дисбаланса, а также окислительного стресса, ингибирования активности антиоксидантных ферментов [15]. В этой связи выявленные здесь закономерности могут лежать в основе целого комплекса down-stream-реакций, приводящих к патофизиологическим и адаптивным процессам, связанным с генерацией ответа растительного организма на засоление.

Заключение

В работе продемонстрировано, что растения подсолнечника являются относительно устойчивыми к засолению (NaCl). Они способны расти при уровне NaCl до 250 ммоль/л. Значительные симптомы ЗКГ обнаруживались при концентрации NaCl 250–500 ммоль/л. Выявлена не описанная ранее в литературе реакция снижения количества регистрируемых симптомов ЗКГ при обработке 150 ммоль/л NaCl. Выходящий поток K⁺ лишь на 15 % ингибировался специфическими антагонистами калиевых каналов, что указывает на высокую долю неселективных катионных каналов в обеспечении стресс-индуцированного выхода калия у растений подсолнечника.

Библиографические ссылки / References

1. Bazihizina N, Barrett-Lennard EG, Colmer TD. Plant growth and physiology under heterogeneous salinity. *Plant and Soil*. 2012;354(1–2):1–19. DOI: 10.1007/s11104-012-1193-8.
2. Jithesh MN, Prashanth SR, Sivaprakash KR, Parida AK. Antioxidative response mechanisms in halophytes: Their role in stress defence. *Journal of Genetics*. 2006;85(3):237–254. DOI: 10.1007/BF02935340.
3. Bartels D, Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2005;24(1):23–58. DOI: 10.1080/07352680590910410.
4. 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.
5. Deinlein U, Stephan AB, Horie T, Luo W, Xu G, Schroeder JI. Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in Plant Science*. 2014;19(6):371–379. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.02.001.
6. Geilfus C-M. Chloride: from nutrient to toxicant. *Plant and Cell Physiology*. 2018;59(5):877–886. DOI: 10.1093/pcp/pcy071.
7. Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*. 2015;109:212–228. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021.
8. Demidchik V. ROS-activated ion channels in plants: biophysical characteristics, physiological functions and molecular nature. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(4):1263–1281. DOI: 10.3390/ijms19041263.
9. 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;123:1468–1479. DOI: 10.1242/jcs.064352.
10. Marschner H. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. London: Academic Press; 2012.
11. Demidchik V, Tester M. Sodium fluxes through nonselective cation channels in the plasma membrane of protoplasts from arabidopsis roots. *Plant Physiology*. 2002;128(2):379–387. DOI: 10.1104/pp.010524.
12. Demidchik V, Shabala S. Mechanisms of cytosolic calcium elevation in plants: the role of ion channels, calcium extrusion systems and NADPH oxidase-mediated 'ROS-Ca²⁺ Hub'. *Functional Plant Biology*. 2017;45(2):9–27. DOI: 10.1071/FP16420.
13. Horie T, Karahara I, Katsuhara M. Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: an overview with the central focus on rice plants. *Rice*. 2012;5(1):11–29. DOI: 10.1186/1939-8433-5-11.
14. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
15. Kumar D, Al Hassan M, Naranjo MA, Agrawal V, Boscaiu M, Vicente O. Effects of salinity and drought on growth, ionic relations, compatible solutes and activation of antioxidant systems in oleander (*Nerium oleander* L.). *PLOS ONE*. 2017;12(9):e0185017. DOI: 10.1371/journal.pone.0185017.
16. Robin AHK, Matthew C, Uddin MdJ, Bayazid KN. Salinity-induced reduction in root surface area and changes in major root and shoot traits at the phytomer level in wheat. *Journal of Experimental Botany*. 2016;67(12):3719–3729. DOI: 10.1093/jxb/erw064.
17. Sozharajan R, Natarajan S. Influence of NaCl salinity on plant growth and nutrient assimilation of *Zea mays* L. *Journal of Applied and Advanced Research*. 2016;1(1):54–61. DOI: 10.21839/jaar.2016.v1i1.16.
18. Hogg BV, Kacprzyk J, Molony EM, O'Reilly C, Gallagher TF, Gallois P, et al. An *in vivo* root hair assay for determining rates of apoptotic-like programmed cell death in plants. *Plant Methods*. 2011;7(1):1–9. DOI: 10.1186/1746-4811-7-45.
19. Jones AM. Programmed cell death in development and defense. *Plant Physiology*. 2001;125:94–97. DOI: 10.1104/pp.125.1.94.
20. 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*. 2014;65(5):1259–1270. DOI: 10.1093/jxb/eru004.
21. Shabala S, Cuin A. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum*. 2008;133(4):651–669. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2007.01008.x.
22. Morais-Cabral JH, Zhou Y, MacKinnon R. Energetic optimization of ion conduction rate by the K⁺ selectivity filter. *Nature*. 2001;414:37–42. DOI: 10.1038/35102000.
23. Noctor G, Reichheld JP, Foyer CH. ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2017;78:45–49. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.07.013.
24. Shabala S, editor. *Plant stress physiology*. 2nd edition. Boston: CABI; 2017.
25. Demidchik V, Tyutereva E, Voitsekhovskaja O. The role of ion disequilibrium in induction of root cell death and autophagy by environmental stresses. *Functional Plant Biology*. 2017;45(2):28–46. DOI: 10.1071/FP16380.
26. Cox CD, Nomura T, Ziegler CS, Campbell AK, Wann KT, Martinac B. Selectivity mechanism of the mechanosensitive channel MscS revealed by probing channel subconducting states. *Nature Communications*. 2013;4:2137–2148. DOI: 10.1038/ncomms3137.
27. Urano D, Jones AM. Heterotrimeric G-protein – coupled signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2014;65(1):365–384. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050213-040133.

Статья поступила в редакцию 04.09.2019.
Received by editorial board 04.09.2019.