

ВПЛИВ АДАПТОГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ Na^+/H^+ -АНТИПОРТЕРА ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ В КЛІТИНАХ КОРЕНІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕНОГО СЕРЕДОВИЩА

Н. О. КОВАЛЕНКО, Ж. І. БЛИК, Т. О. ПАЛЛАДІНА

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ;
e-mail: tatiana_palladina@ukr.net

Негативний вплив засоленого середовища на рослини передусім зумовлений присутністю Na^+ в солях як їхнього головного катіона. На клітинному рівні захист рослин від токсичного Na^+ полягає в підтриманні його низького рівня в цитоплазмі шляхом видалення назовні та до вакуолярного простору за допомогою вторинноактивних Na^+/H^+ -антипортерів. Солестійкості рослин вдається досягти, активуючи функціонування цих антипортерів за допомогою методів генної інженерії, а також запропоновано нами застосування біоактивних препаратів.

Досліджено вплив двох дешевих і нетоксичних синтетичних препаратів: Метіуру, який виявляє сильну солепротекторну властивість та Івіну, в якої вона є незначною, на функціонування Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в клітинах коренів проростків кукурудзи, експонованих на 0,1 М NaCl. В умовах безсолевого контролю активність Na^+/H^+ -антипортера в клітинах коренів 8-добових проростків виявилась дуже низькою, але децю зростала з їхнім віком, тоді як слабка експресія гена його протеїну не змінювалась. Застосування препаратів Метіур та Івін в концентрації 10^{-7} М шляхом передобробки насіння не впливала на активність антипортера проростків вирощених за нормальних умов. Однодобова експозиція на 0,1 М NaCl значно посилювала активність Na^+/H^+ -антипортера та експресію його гена, хоча за 10-добової експозиції обидва ефекти зникали. У разі однодобової сольової експозиції Метіур спричинював подальше посилення активності Na^+/H^+ -антипортера, яке зберігалось за подовження експозиції до 10 днів, не змінюючи експресію його гена. При цьому ефект Івіну на молекулярну активність Na^+/H^+ -антипортера був незначним, а на експресію його гена відсутнім.

Одержані результати свідчать, що механізм солепротекторної дії Метіуру на рослини в умовах сольового стресу, зумовленого присутністю Na^+ , полягає в його здатності посилювати функціонування Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в клітинах коренів, що відбувається на молекулярному рівні.

Ключові слова: *Zea mays L.*, плазматична мембрана, сольовий стрес, Na^+/H^+ -антипортер, Метіур, Івін.

Засолення ґрунтів є одним із найсильніших стресорних факторів для рослин, який обмежує їх видову різноманітність та шкодить агропромисловості в світовому масштабі. Сольовий стрес є спільним результатом порушення в рослинному організмі осмотичного і іонного гомеостазу, що супроводжується виникненням вторинного окислювального стресу. При цьому важкість і незворотність дії сольового стресу зумовлюється присутністю натрію, який є головним катіоном солей, що засолюють ґрунти. Тваринні і рослинні організми докорінно відрізняються своїм відношенням до натрію,

оскільки для перших він є життєво необхідним елементом, а для других – не лише непотрібним, але й токсичним, що виявляється на клітинному рівні. Тому адаптація рослин до умов засолення полягає, головним чином, у підтриманні низького рівня Na^+ в цитоплазмі молодих клітин.

Вміст Na^+ в цитоплазмі залежить від інтенсивності його надходження в клітину, а також видалення назовні та компартменталізації у вакуолярному просторі [1]. Проникнення Na^+ крізь плазматичну мембрану відбувається пасивно по каналах для K^+ , створюючи дефіцит останнього [2]. Тому регуляції піддаються лише

процеси його активного видалення крізь плазматичну і вакуолярну мембрани, які здійснюються вторинноактивними Na^+/H^+ -антипортерами, що використовують енергію мембранних потенціалів, створених первісноактивними – насосами [3].

Причина протилежної ролі, яку відіграє Na^+ у представників двох царств живої природи, полягає в тому, що в рослинних клітинах, на відміну від тваринних, електрохімічний потенціал на плазматичній мембрані створюється не Na^+ -насосом, механізм якого репрезентований Na^+/K^+ -АТРазою, а H^+ -насосом, що було встановлено Рамоном Серрано [4]. Механізм його дії репрезентований H^+ -АТРазою, яка також належить до E1-E2-типу транспортних АТРаз.

Na^+/H^+ -антипортер плазматичної мембрани є протеїном, поліпептидний ланцюг якого перетинає її 12 разів, а довгий С-кінець занурений в цитоплазму [5]. У рослинах кукурудзи цей протеїн кодується геном *ZmSOS1*, що має молекулярну масу 126,2 кДа й складається з 1136 амінокислотних залишків [6]. Роль Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в рослинному організмі не обмежується лише видаленням із клітин Na^+ , але стосується також його розподілу між органами, обмежуючи накопичення в клітинах тканин [7], в яких відбувається фотосинтез.

Регуляція Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани здійснюється за допомогою сигнального шляху SOS (Salt Overlay Sensitive), який складається із протеїнів SOS3 – SOS2 – SOS1. Функціонування його активує компонент SOS1, яким є Na^+/H^+ -антипортер [8, 9]. Увагу дослідників було спрямовано на посилення солестійкості рослин на цю регуляторну систему, причому домогтися радикального успіху можливо було шляхом вбудови чужорідних генів, які кодують потужніші протеїни системи SOS [9].

Таким чином, посилення солестійкості рослин залишається актуальною проблемою, причому найперспективнішим способом її, хоча й нерадикального вирішення, є застосування біоактивних препаратів адаптогенного спрямування. З цією метою нами було досліджено солепротекторну властивість у низки синтетичних препаратів. Найкращі результати виявив дешевий і безпечний препарат Метіур (рис. 1). На підставі результатів лабораторних, вегетаційних і польових дослідів він був запропонований

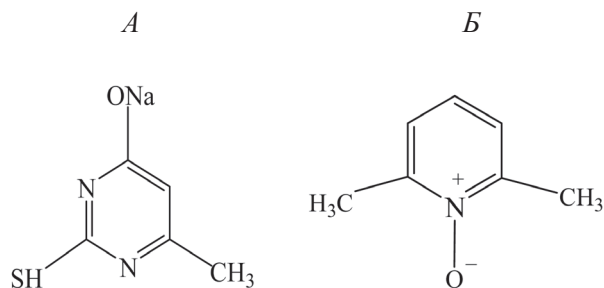


Рис. 1. Структурні формули використаних в роботі біоактивних препаратів. А – Метіур – натрієва сіль (6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідин); Б – Івін (N-оксид-2,6-диметилпіридин)

нами для вирощування кукурудзи на зерно як найсолечутливішого злаку [10, 11] в умовах засолення.

З'ясування впливу Метіуру на видалення Na^+ з рослинних клітин проводилося нами в порівнянні з дією іншого біоактивного препарату, яким є Івін (рис. 1). У наших попередніх дослідях він показав більш слабку солепротекторну властивість, яка виявлялася в його дії переважно на надземну частину рослини, яка втрачалася в разі переходу рослин до періоду генеративного розвитку [11]. За вивчення біохімічних механізмів солепротекторної дії цих препаратів нами було продемонстровано перевагу Метіуру щодо послаблення проявів окислювального стресу [12], підтримання осмотичного гомеостазу за допомогою посиленого синтезу осмолітів [13], стабілізації ліпідного складу плазматичної мембрани [14], а також активації H^+ -насосів плазматичної і вакуолярної мембран, механізми яких репрезентовані транспортними H^+ -АТРазами [15].

Метою роботи стало дослідження механізмів дії цих біоактивних препаратів на функціонування Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в умовах засолення шляхом з'ясування їх ефекту на молекулярну активність його протеїну та експресію кодуючого гена.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень слугували проростки кукурудзи *Zea mays* L. (гібрид «Остер СВ»), які вирощували у водній культурі на поживному середовищі Хогленда при 25 °C та освітленні

50 Вт/м². Семиденні проростки переносили на свіже середовище, яке містило 0,1 М NaCl, що є критичною концентрацією для кукурудзи і експонували 1 або 10 діб. Біоактивні препарати Метіур та Івін застосовували шляхом замочування зернівок у 10⁻⁷ М водних розчинах їх протягом доби. Контролем слугували проростки, насіння яких було замочене в дистильованій воді.

Фракцію плазматичних мембран ізолювали методом поділу фаз [16]. Мембранні препарати одержували з усього кореня без його поділу на окремі тканини шляхом центрифугування на ультрацентрифузі Optima tm L-90K Beckman Coulter. Чистоту одержаних фракцій і наявність мембранних домішок визначали за активністю маркерних ензимів [16]. Кількість протеїну вимірювали за методом [18]. Для побудови калібрувального графіка використовували альбумін крові людини.

Активність Na⁺/H⁺-обміну в плазматичній мембрані визначали флуоресцентним методом [17]. Вимірювання здійснювали на спектрофлуориметрі Shimadzu RF-1501 за збудження при 430 нм, емісії 50 нм та ширині щілини 10 нм.

Реакцію розпочинали додаванням 3 мМ MgSO₄ та 3 мМ АТФ, а після досягнення флуоресценції постійного рівня вносили 3 мМ Na₂SO₄, фіксуючи значення через 30 с після додавання останнього реактиву.

Зміну флуоресценції обчислювали за формулою:

$$\Delta F\% = (F_{30} - F_0 / F_{\max} - F_{\min}) \cdot 100\%,$$

де F₃₀ – флуоресценція через 30 с після додавання Na₂SO₄, F₀ – флуоресценція після додавання 3 мМ MgSO₄ та АТФ, F_{min} – флуоресценція після врівноваження реакційної суміші протягом 5 хв в темній камері, виражена в Δ%F/мг протеїну·хв.

Застосовані реактиви вітчизняного виробництва мали класифікацію «чда», кумасі яскраво-блакитний – Fluka (Швейцарія), решта реактивів – Sigma (США).

Експресію гена Na⁺/H⁺-антипортера оцінювали на підставі накопичення його транскриптів, визначаючи методом напівкількісної зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР). Для ізолювання загальної РНК використовували набір реактивів GeneJet™ Plant RNA Purification

Mini Kit (Fermentas, Литва). Кількісний аналіз РНК здійснювали спектрофотометричним методом, а якісний – шляхом електрофорезу в 1%-му агарозному гелі в умовах денатурації [19]. Зворотну транскрипцію тотальної РНК (1 μг) та ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» з використанням наборів реагентів (Fermentas, Литва) та специфічних праймерів до ділянки гена *ZmSOS1*, що мали наступну нуклеотидну послідовність: Sense 5'-TGT TGC GTC ACT TTG GGT AT-3', Antisense 5'-TCC TCG TCA TCC CTT AGT TC-3' [6]. Ампліфікацію здійснювали в температурному режимі: 95° – 3 хв, (95° – 30 с, 55° – 30 с, 72° – 30 с) – 30 циклів, 72° – 1 хв, використовуючи негативні контролю – без кДНК та з тотальною РНК. Продукт ЗТ-ПЛР розділяли у 1,5%-му агарозному гелі в присутності бромистого етидію, візуалізували в ультрафіолетовому світлі та фотографували за допомогою системи Bio-Vision. Знімки гелів аналізували в програмі GelAnalyzer. Рівень експресії генів нормалізували відносно експресії гена α-тубуліну кукурудзи (*ZmTUA5*) як ендогенного контролю.

Всі досліди здійснювали в трьох повторах, вірогідність одержаних результатів перевіряли за *t*-критерієм Стьюдента.

Результати та обговорення

Виявлено, що активність Na⁺/H⁺-антипортера плазматичної мембрани в коренях 8-добових контрольних проростків була ледве помітною, проте через 10 діб посилювалася в 4 рази (табл. 1). Наявність цього протеїну за відсутності в середовищі NaCl було показано методом імуноблотингу в коренях і листках у *Arabidopsis thaliana* [20]. Тому низьку активність Na⁺/H⁺-антипортера в молодших проростків за контрольних умов можна пояснити його перебуванням в неактивному стані [1]. За відсутності в середовищі натрію вплив препаратів Метіур та Івін на активність Na⁺/H⁺-антипортера не було виявлено.

Однодобова експозиція проростків у присутності 0,1 М NaCl спричинювала 6-разове посилення активності Na⁺/H⁺-антипортера, яке було короточасним, скорочуючись за 10-добовою до 33%. (табл. 2). Подібна тенденція спостерігалася також у коренях ячменю, де активність Na⁺/H⁺-антипортера досягала максимуму за добової експозиції на 0,1 М NaCl із по-

Таблиця 1. Вплив препаратів на активність Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в клітинах коренів проростків кукурудзи ($\Delta\%F/\text{мг}$ протеїну-хв)

Препарат	Вік проростків – 8 діб	% по відношенню до контролю	Вік проростків – 17 діб	% по відношенню до контролю
Контроль	0,068 ± 0,02	100	0,273 ± 0,09	100
Метіур	0,088 ± 0,03	129	0,280 ± 0,07	102
Івін	0,071 ± 0,04	104	0,275 ± 0,09	99

Таблиця 2. Вплив препаратів на активність Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в клітинах коренів проростків кукурудзи ($\Delta\%F/\text{мг}$ протеїну-хв), експонованих у присутності 0,1 М NaCl

Варіант	Термін експозиції на 0,1 М NaCl					
	1 доба			10 діб		
	Активність	% до контр.	% до NaCl	Активність	% до контр.	% до NaCl
Контроль	0,07 ± 0,02	100	–	0,27 ± 0,09	100	–
NaCl –	0,41 ± 0,02 [#]	603	100	0,36 ± 0,08	133	100
NaCl Метіур	0,49 ± 0,02*	721	119	0,61 ± 0,07*	223	168
NaCl Івін	0,41 ± 0,02	603	100	0,42 ± 0,01	155	116

$M \pm m$; $n = 6$, $P < 0,05$; [#]вірогідно відносно контролю без сольової експозиції; *вірогідно відносно контролю за сольової експозиції

дальшим падінням [21]. Застосування Метіуру зумовлювало підвищення активності антипортера, яке значно посилювалося в разі подовження сольової експозиції з 19 до 63%. Слабкий позитивний ефект Івіну спостерігався лише за подовженої сольової експозиції, становлячи всього 16%.

Короткочасне підвищення активності Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в клітинах коренів за дії стресорного фактора та за дії подовження і посилення під впливом біоактивних препаратів, особливо Метіуру, мало б відбуватися не лише на посттранскрипційному рівні, але й генетичному. Для з'ясування цього ми дослідили експресію гена *ZmSOS1*, який кодує протеїн цього антипортера, за дії зазначених факторів.

Виявилося, що за відсутності в середовищі натрію експресія гена, що кодує протеїн цього Na^+/H^+ -антипортера в коренях 8-добових проростків була незначною, причому застосування препаратів на неї не впливало. Водночас добова експозиція в присутності 0,1 М NaCl майже вдвічі посилювала експресію цього гена порівняно з безсольовим контролем, причому

обробка препаратами не спричинювала подальших змін (рис. 2). Таким чином, короткотривалий сольовий стрес посилював не лише молекулярну активність протеїну Na^+/H^+ -антипортера, але також, хоча й меншою мірою, експресію його гена. Посилення експресії гена, кодуючого протеїну Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в умовах сольового стресу, було відмічено також у рослин *Arabidopsis thaliana* та *Solanum lycopersicum* [22, 7]. Це свідчить про те, що регуляція на генетичному рівні відіграє важливу роль у функціонуванні Na^+/H^+ -антипортера плазматичної мембрани в умовах сольового стресу, зумовленого NaCl.

Проте зі збільшенням віку проростків та подовженні терміну їх сольової експозиції до 10 діб істотних змін щодо експресії гена *ZmSOS1* не спостерігалося (рис. 3).

Це вказує, що в умовах безсольового контролю експресія гена, що кодує протеїн цього антипортера, з часом не змінюється, тоді як за довготривалої сольової експозиції вона знижується до початкового рівня.

Показане нами зниження молекулярної активності Na^+/H^+ -антипортера плазматичної

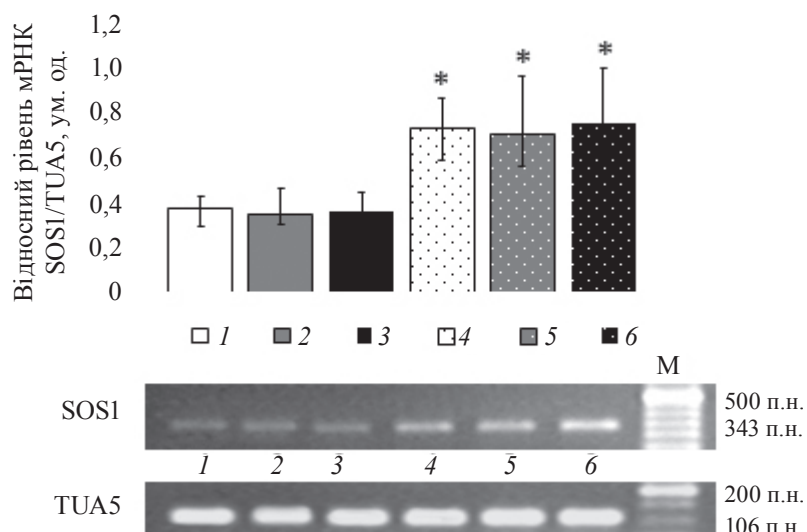


Рис. 2. Експресія гена Na^+/H^+ -антипортера в клітинах коренів 8-добових проростків (1 доба сольової експозиції): 1 – контроль, 2 – обробка препаратом Метіур, 3 – обробка препаратом Івін, 4 – 0,1 М NaCl в середовищі, 5 – обробка препаратом Метіур + 0,1 М NaCl , 6 – обробка препаратом Івін + 0,1 М NaCl . Довжина амплікона гена *SOS1* – 343 п.н., *TUA5* – 106 п.н. * Вірогідно відносно контролю без сольової експозиції ($M \pm m$; $n = 3$, $P < 0,05$)

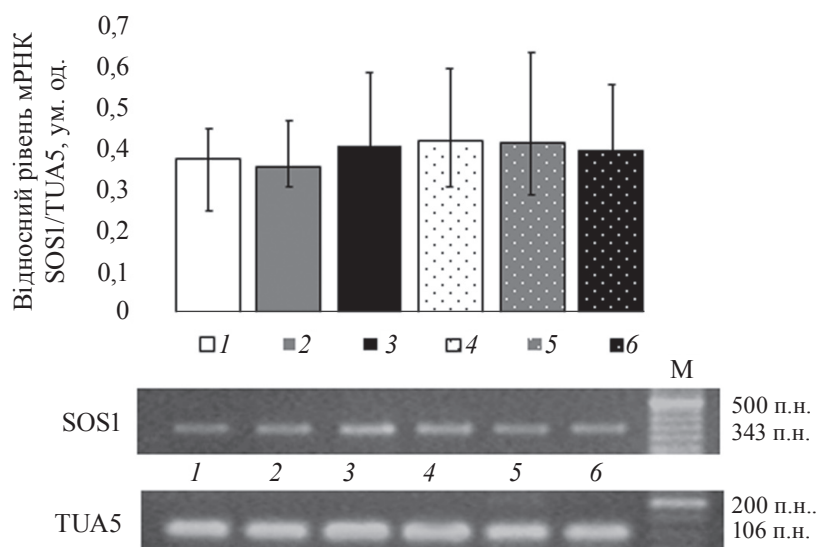


Рис. 3. Експресія гена Na^+/H^+ -антипортера в клітинах коренів 17-добових проростків (10 діб сольової експозиції): 1 – контроль, 2 – обробка препаратом Метіур, 3 – обробка препаратом Івін, 4 – 0,1 М NaCl в середовищі, 5 – обробка препаратом Метіур + 0,1 М NaCl , 6 – обробка препаратом Івін + 0,1 М NaCl . Довжина амплікона гена *SOS1* – 343 п.н., *TUA5* – 106 п.н.

мембрани та експресії його гена в клітинах коренів проростків кукурудзи в умовах тривалої сольової експозиції може вказувати на виснаження системи, яка забезпечує видалення із цитоплазми натрію назовні та перехід клітини на його на активне видалення до вакуолі.

У рослини *Aeluropus littoralis*, яка є солевидалюючим галофітом, експресія гена антипортера, навпаки, посилювалася в разі подовження терміну сольової експозиції та підвищення концентрації NaCl в середовищі [23]. Це демонструє відміну між глікофітами і

галофітами щодо механізмів їх адаптації на рівні клітин до тривалих умов засолення.

У наших дослідках біоактивні препарати не виявили помітного впливу на експресію гена Na^+/H^+ -антипортера, хоча Метиур значно посилював його молекулярну активність в умовах засолення. Це свідчить про те, що механізм дії Метиуру відбувається на молекулярному рівні, не торкаючись генетичної регуляції.

Раніше було показано, що препарати Метиур та Івін впливають на функціонування H^+ -насосів у плазматичних і вакуолярних мембранах клітин коренів проростків кукурудзи, посилюючи їхню активність, як в умовах засолення так і без нього, особливо препарат Метиур [15]. Припускаємо, що позитивний вплив препарату Метиур на функціонування Na^+/H^+ -антипортера в умовах засолення опосередкований через H^+ -АТФазу плазматичної мембрани, що забезпечує його енергією. Крім того, не виключена можливість його впливу на регуляторну сигнальну систему SOS, внаслідок функціонування якої активується Na^+/H^+ -антипортер.

ВЛИЯНИЕ АДАПТОГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ Na^+/H^+ -АНТИПОРТЕРА ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕННОЙ СРЕДЫ

*Н. О. Коваленко, Ж. И. Билык,
Т. А. Палладина*

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного
НАН Украины, Киев;
e-mail: tatiana_palladina@ukr.net

Негативное влияние засоленной среды на растения прежде всего обусловлено присутствием Na^+ в солях как их главного катиона. На клеточном уровне защита растений от токсического Na^+ заключается в поддержании его низкого уровня в цитоплазме путем удаления наружу и в вакуоль с помощью вторичноактивных Na^+/H^+ -антипортеров. Солеустойчивости растений возможно достичь, активировав функционирование этих антипортеров с помощью методов генной инженерии, а также предложенного нами применения биоактивных препаратов.

Исследовано влияние двух дешевых и нетоксичных синтетических препаратов: Метиура

(с сильным солепротекторным действием) и Ивина (с незначительным), на функционирование Na^+/H^+ -антипортера плазматической мембраны в клетках корней проростков кукурузы, экспонированных на 0,1 М NaCl. В условиях бессолевого контроля активность Na^+/H^+ -антипортера в клетках корней 8-суточных проростков, оказалась очень низкой, но с возрастом увеличивается, тогда как слабая экспрессия гена его протеина не изменялась. Применение препаратов Метиур и Ивин в концентрации 10^{-7} М путем предобработки семян не влияла на активность антипортера проростков выращенных в нормальных условиях. Односуточная экспозиция на 0,1 М NaCl значительно усиливала активность Na^+/H^+ -антипортера и экспрессию его гена, хотя при 10-суточной экспозиции оба эффекта исчезали. В случае односуточной солевой экспозиции Метиур вызывал дальнейшее усиление активности Na^+/H^+ -антипортера, сохраняющееся при продлении экспозиции до 10 дней, не меняя экспрессию его гена. При этом эффект Ивина на молекулярную активность Na^+/H^+ -антипортера был незначительным, а на экспрессию его гена отсутствовал.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что механизм солепротекторного действия Метиура на растения в условиях солевого стресса, вызванного присутствием Na^+ , обусловлен его способностью усиливать функционирование Na^+/H^+ -антипортера плазматической мембраны в клетках корней, что происходит на молекулярном уровне.

Ключевые слова: *Zea mays* L., плазматическая мембрана, солевой стресс, Na^+/H^+ -антипортер, Метиур, Ивин.

EFFECT OF ADAPTOGENIC PREPARATIONS ON Na^+/H^+ -ANTI PORTER FUNCTION IN PLASMA MEMBRANE OF CORN ROOT CELLS UNDER SALINITY CONDITIONS

N. O. Kovalenko, Zh. I. Bilyk, T. A. Palladina

Kholodny Institute of Botany, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: tatiana_palladina@ukr.net

Salinity is a hard stress factor for plant organisms which negative effect is caused chiefly by sodium toxic for plants. Plant cells try to remove Na^+

from their cytoplasm outside and to vacuolar space by secondary active Na⁺/H⁺-antiporters. Their functions can be intensified by gene engineering methods however we try do it with the help of non-toxic bioactive preparations. A comparison of their effect on the plasma membrane of Na⁺/H⁺-antiporters was carried out on corn seedling roots of *Zea mays* L. exposed at 0.1 M NaCl. Before we have established that Methyure used by seed pretreating possesses a high salt protective ability as against Ivine. It was found that without NaCl exposition Na⁺/H⁺-antiporter activity in root plasma membrane was nearly unnoticeable but increased slightly with seedling age. Methyure and Ivine did not influence its activity in control root seedling. One day 0.1 M NaCl exposition evoked a considerable increasing of Na⁺/H⁺-antiporter activity and its gene expression but these effects disappeared at 10 day NaCl exposition. Methyure use reinforced Na⁺/H⁺-antiporter activity and prolonged it at NaCl exposition without effect on its gene expression whereas Ivine effects on these indexes were insignificant. Obtained results showed that the salt protective capability of Methyure is connected with plasma membrane Na⁺/H⁺-antiporter activation which is realized on molecular level.

Key words: *Zea mays* L., plasma membrane, salt stress, Na⁺/H⁺-antiporter, Methyure, Ivine.

References

1. Shi H., Quintero F. J., Pardo J. M., Zhu J.-K. The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls long-distance Na⁺ transport in plants. *Plant Cell*. 2002;14:465-477.
2. Demidchik V., Maathuis F. Ion channels and plant stress responses. Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag, 2010. 237 p.
3. Hasegawa P. M., Bressan R. A., Zhu J.-K., Bohnert H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2000;51:463-499.
4. Serrano R. Structure and function of plasma membrane ATPase. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 1989;40:61-94.
5. Shi H., Ishitani M., Kim C., Zhu J.-K. The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺-antiporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000;97:6896-6901.
6. Xiang-Qiang Zh. Cloning and identification of a new Na⁺/H⁺ antiporter gene *ZmSOS1* in maize (*Zea mays* L.). *J. An. Agric. Sci.* 2009;37(288(35)):557-562.
7. Ollás R., Eljakaoui Z., Li J., De Morales P. A., Marín-Manzano M. C., Pardo J. M., Belver A. The plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 is essential for salt tolerance in tomato and affects the partitioning of Na⁺ between plant organs. *Plant Cell Environ.* 2009;32:904-916.
8. Zhu J.-K. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* 2002;53:247-249.
9. Zhu J.-K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2003;6:441-445.
10. Pat. 26531 UA, 51 МПК (2006), А01С 1/00. A Method for increase salt tolerance of corn for its cultivation in saline soils / Palladina T. O., Kurylenko I. M., Chyzhikova O. A. Publ. 25.09.2007, Bul. N 15. (In Ukrainian).
11. Palladina T. O., Ribchenko Zh. I., Konturska O. O. Dependence of preparation Methyure adaptogenic effect on plants under salt stress conditions from its molecular structure. *Biotechnology*. 2012;5(1):115-119. (In Ukrainian).
12. Kurylenko I. M., Palladina T. O. Effect of growth regulators on peroxidation processes in corn seedling roots under salt stress conditions. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2001;73(6):56-60. (In Ukrainian).
13. Chyzhikova O. A., Palladina T. O. The role of amino acids and sugars in supporting of osmotic homeostasis in maize seedling tissues at salinization conditions and treatment with synthetic growth regulators. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2006;78(1):124-129. (In Ukrainian).
14. Konturska O. O., Palladina T. O. Phospholipid composition of plasmalemma from root of corn seedling under salt conditions and synthetic compounds treatment. *The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University*. 2007;2(11):64-68. (In Ukrainian).
15. Ribchenko Zh. I., Palladina T. O. Function of transport H⁺-ATPases in plant cell plasma and vacuolar membranes of maize under salt stress conditions and effect of adaptogenic preparations. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2011;83(6):63-68. (In Ukrainian).
16. Larsson C., Sommarin M., and Widell S. Isolation of Highly Purified Plasma Membranes and Separation of Inside-Out and Right-Side-Out Vesicles. *Academic Press Inc. Methods in Enzymology*. 1994;228:451-469.

17. Martinez-Atienza J., Jiang X., Garcideblas B., Mendoza I., Zhu J.-K., Pardo J. M., Quintero F. J. Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice. *Plant Physiol.* 2007;143:1001-1012.
18. Bradford M. M. A rapid and sensitive methods for quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976;72(1):248-254.
19. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular Cloning*. Moscow: Mur, 1984. 479 p. (In Russian).
20. Batelli G., Verslues P. E., Agius F., Qiu Q., Fujii H., Pan S., Schumaker K. S., Grillo S., Zhu J.-K. SOS2 promotes salt tolerance in part by interacting with the vacuolar H⁺-ATPase and upregulating its transport activity. *Mol. Cell. Biol.* 2007;27(22):7781-7790.
21. Fukuda A., Chiba K., Maeda M., Nakamura A., Maeshima M., Tanaka Y. Effect of salt and osmotic stresses of genes for the vacuolar H⁺ pyrophosphatase, H⁺-ATPase subunit A, and Na⁺/H⁺-antiporter from barley. *J. Exp. Bot.* 2004;55:585-594.
22. Shi H., Lee B., Wu Sh., Zhu J.-K. Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺-antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Biotechnol.* 2003;21:81-85.
23. Najmeh N., Ehsan Sh., Ghorbanali N. Assessment of Na⁺/H⁺ antiporters and H⁺-ATPase pumps transcriptional changes in *Aeluropus littoralis* dealing with salt stress. *Adv. Environ. Biol.* 2012;6(5):1769-1773.

Отримано 13.08.2013