

РОЛЬ КАЛЬЦІУ У РЕАЛІЗАЦІЇ ДІЇ БРАСИНОСТЕРОЇДІВ ЗА УМОВ ІНДУКЦІЇ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ТЮТЮНУ

С.В. КРЕТИНІН, Я.С. КОЛЕСНИКОВ*

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря Національної академії наук України,
вул. Академіка Кухаря 1, Київ, 02660, Україна

E-mail: kolesnikov@bpci.kiev.ua*, kretynin@bpci.kiev.ua

Брасиностероїди — це рослинні гормони, які відіграють важливу роль у регуляції росту, розвитку та стресових реакціях рослин, зокрема, в індукції толерантності до оксидативного стресу. Відомо, що оксидативний стрес у рослин, який полягає у різкому акумулюванні активних форм кисню (АФК), індукується гербіцидом метилвіологеном. Оскільки кальцій відіграє важливу роль у трансдукції сигналів брасиностероїдів у клітинах рослин і тісно взаємодіє з мережею АФК у клітинах, було досліджено роль кальцію в модуляції брасиностероїдами балансу АФК з використанням трансгенних рослин тютюну 35S::AtCAH1. Встановлено, що рослини тютюну 35S::AtCAH1 зі штучним дефіцитом кальцію в цитозолі є більш чутливими до оксидативного пошкодження, індукованого дією метилвіологену. Рівень пероксидного окиснення ліпідів та окисненого глутатіону був вищим, однак активація супероксиддисмутази та глутатіонредуктази була послабленою у мутованих рослин. У рослин 35S::AtCAH1 змінюється вплив брасиностероїдів на показники оксидативного стану. Часткове відновлення рівня хлорофілу, послаблення пероксидного окиснення ліпідів та зниження рівня окисненого глутатіону, а також активація супероксиддисмутази та глутатіонредуктази, індуковані брасиностероїдами, були менш вираженими у трансгенних рослин. Результати аналізу ко-експресії генів, білок-білкових взаємодій та пост-трансляційних модифікацій in silico підтверджують, що брасиностероїди за допомогою кальцій-залежних сигнальних процесів регулюють механізми реакції рослин тютюну на дію метилвіологену, сприяючи формуванню балансу активних форм кисню.

Ключові слова: брасиностероїди, кальцій, метилвіологен, антиоксидантний фермент, активні форми кисню.

Вступ. Брасиностероїди є гормонами рослин, які відіграють роль як регулятори низки ключових процесів росту, розвитку та реакції на дію стресових чинників (Chaudhuri, Halder et al, 2022). З цією метою брасиностероїди активують цілу мережу сигнальних систем у клітинах,

до яких, зокрема, залучаються пероксид водню (Tian, Fan et al, 2018) та іони кальцію (Liu, Sun et al, 2022). Дія стресових факторів різної природи на рослини зумовлює акумулювання активних форм кисню (АФК), що є універсальною неспецифічною реакцією клітин. Роль АФК у розвитку відповіді на вплив стресового чинника на клітинному рівні наразі широко досліджується. Вважається, що така відповідь реалізується за допомогою двох основних механізмів: індукції загального окиснення клітинних молекул та участі у трансдукції сигналів, які регулюють специфічні біохімічні та фізіологічні процеси. Іншим маркером оксидативного стресу є активність антиоксидантної системи. Її активація навіть при базовому рівні клітинних оксидантів свідчить про початок розвитку реакції оксидативного стресу (Gill and Tuteja, 2010).

Паракват (або метилвіологен) (дихлорид 1,1'-диметил-4,4'-діпіридинія) є неселективним та швидкодіючим гербіцидом, який пригнічує фотосинтез. Ця сполука діє на рівні фотосистеми I шляхом акцепції електронів та у наступній реакції з киснем з формуванням супероксидного аніону, що веде до індукції оксидативного стресу (Sartori and Vidrio, 2018). Стійкість до цього гербіциду у рослин обумовлена, зокрема, послабленням його транспорту за рахунок активного зв'язування у вакуолях (Brunharo and Hanson, 2017) та конкурентного транспорту цієї сполуки з поліамінами за рахунок транспортерів поліамінів (Fujita and Shinozaki, 2014). Різні фітогормони, зокрема, брасиностероїди, посилюють стійкість рослин до дії гербіцидів (Xia, Wang et al, 2009). АФК тісно пов'язані з дією іонів кальцію в процесах регуляції метаболізму клітин. Кальцій є вкрай важливим вторинним посередником сигнальних процесів у клітинах, який сприяє передачі внутрішньоклітинної інформації у відповідь на

дію низки чинників екзогенної та ендогенної природи (Omoareloje, Kulkarni et al, 2022). Він відіграє істотну роль в реакціях рослин на дію стресів та процесах формування стійкості до дії стресів завдяки, зокрема, його ролі не тільки в якості активатора формування АФК, але як стимулятора їх детоксикації шляхом активації антиоксидантних ферментів (Li, Liu et al, 2022).

З огляду на зазначене вище, дослідження ролі іонів кальцію в модуляції впливу брасиностероїдів на гомеостаз АФК в процесі оксидативного стресу, зумовленого метилвіологеном, є наразі актуальними та можуть сприяти розкриттю специфічних молекулярних механізмів модуляції оксидативного стресу, дії або сигналіngu брасиностероїдів, а також розробки нових методологій адаптації рослин до дії стресів шляхом застосування стероїдних гормонів.

Матеріали та методи. *Рослинний матеріал.* В усіх дослідженнях були використані рослини тютюну *Nicotiana tabacum* KY-160 (рослина дикого типу) та трансгенні лінії (35S::AtCAH1) тютюну. Рослини лінії 35S::AtCAH1 були сконструйовані шляхом гетерологічної експресії кодуєчої послідовності гену вакуолярного H^+/Ca^{2+} антипортеру CAH1 (Cation Exchanger 1, At2g38170) з рослин *Arabidopsis thaliana* під контролем сильного промотору вірусу тютюнової мозаїки 35S (Hirschi, 1999). У цих трансгенних рослин штучно посилена експресія гену антипортеру CAH1 зумовлює стійке надходження іонів кальцію до вакуолі, що веде до нестачі іонів кальцію в цитозолі та, як наслідок, блокуванню кальцій-залежних процесів. З метою підбору оптимальної концентрації метилвіологену насіння рослин тютюну було вирощене на агарі впродовж 10 днів, який містив 1/5 розчину Хогланда-Арнона з 0–4 мкМ метилвіологену, отримані проростки були сфотографовані. Для біохімічних досліджень насіння рослин тютюну було вирощене в умовах гідропоніки впродовж 5 тижнів на 1/2 розчину Хогланда-Арнона, яке містило 1/5 іонів кальцію від загального пропису. Надалі цей поживний розчин замінювали на 1/2 середовища Хогланда-Арнона, яке не містило іонів кальцію, однак мало у своєму складі епібрасинолід за фінальної концентрації 1 мкМ. Після 1 тижня культивування рослин, до поживного середовища додавали метилвіологен у концентрації 2 мкМ

та інкубували впродовж наступних 24 год. З метою індукції акумулювання O_2^- в пластидах листових диски переносили на світло (3 год, 23 °C, 50 Вт/м²). Ці листові диски надалі використовували для аналізу.

Аналіз пігментів. Кількісний аналіз пігментів хлорофілів був здійснений за допомогою спектрофотометрії за стандартною методологією. Пігменти екстрагувалися диметилсульфоксидом. Обрахування оптичної густини було здійснене з урахуванням відомих максимумів абсорбції хлорофілів – 645 та 663 нм.

Формування АФК та ліпопероксидів. Акумулювання супероксидного аніону аналізувалося за допомогою спектрофотометрії з використанням 0,2 мМ ХТТ (2,3-біс-[2-Метокси-4-нітро-5-сульфобеніл]-2Н-тетразолій-5-карбоксаміліду, «Sigma-Aldrich») як акцептору електронів. Оптичну густину формагану обраховували спектрофотометрично при довжині хвилі 470 нм. Вимірювання здійснювали у 50 мМ К-фосфатному буфері (рН 7,0) з додаванням 0,2 мМ НАДН. Пероксидне окиснення ліпідів вимірювали спектрофотометрично за рівнем вторинних продуктів (малондіальдегіду (МДА)) з урахуванням відомого молярного коефіцієнту екстинкції. Рівень H_2O_2 у тканинах рослин був проаналізований за допомогою спектрофотометрії (оптична густина за довжини хвилі 560 нм) з використанням ксиленолового помаранчевого («Sigma-Aldrich»).

Активність антиоксидантних ферментів та рівень окисненого глутатіону. Активність супероксиддисмутази (СОД) вимірювалася на основі реакції з нітросинім тетразолієм, аскорбатпероксидази (АПО) – за зниженням вмісту аскорбату у пробі, глутатіонредуктази – за обрахунком зниження вмісту НАДФН (Yannarelli, Fernández-Alvarez et al, 2007). Вміст окисненого глутатіону був досліджений за реакцією Елмана з динітробензоатом натрію.

Вміст білку. Загальний вміст білку був проаналізований за методом Бредфорд (Bradford, 1976).

Статистичний аналіз. Усі дані були статистично оброблені з використанням статистичних параметрів програми Microsoft Office Excel 2016. Значення вважалися статистично достовірними, коли рівень статистичної значимості (P) був нижче за 0,05. Дані представлені у

вигляді середнього значення $\pm 95\%$ довірчий інтервал.

Аналіз *in silico* ко-експресії генів, білок-білкових взаємодій та пост-трансляційних модифікацій. Рівні ко-експресії генів аналізували за допомогою серверу «Genevestigator» (ZHuz, Laule et al, 2008) (<https://genevestigator.com/support/plantbiology/>). Інформація про гени тютюну, які аналізувалися, була отримана шляхом пошуку за алгоритмом BLAST ортологів відомих генів *A. thaliana* у геномі тютюну (*N. tabacum* v1.0 Edwards 2017) за допомогою бази даних «Sol Genomics Network» (www.solgenomics.net). Пост-трансляційні модифікації цистеїну в структурі білкових продуктів проаналізованих генів, потенційно обумовлені АФК, були проаналізовані за допомогою серверу «pCysMod» (<http://pcysmod.omicsbio.info/webserver.php>). Передбачення фосфорилування білків протеїнкіназами, залежними від іонів кальцію та кальцій/кальмодуліну було здійснене за допомогою серверів «GPS» (<http://gps.biocuckoo.cn>), «NetPhos» (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) та «HMMpTM» (<http://bioinformatics.biol.uoa.gr/HMMpTM>). Можливість білок-білкових взаємодій була передбачена за допомогою серверу «iFrag» (<http://sbi.imim.es/iFrag>), білки з найбільшою площею поверхні взаємодій були відібрані.

Результати досліджень їх та обговорення. В результаті проведених досліджень було встановлено, що метилвіологен впливає на ростові та біохімічні процеси у рослин тютюну. Зокрема, метилвіологен виражено послаблює ріст рослин тютюну. Оскільки 50% пригнічення росту було знайдене при використанні метилвіологену у концентрації 2 мкМ (рис. 1), в подальшому метилвіологен використовувався для досліджень саме в цій концентрації. Аналіз рівнів хлорофілів свідчить, що метилвіологен сприяє різкому зниженню вмісту хлорофілів у листках, однак у відповідь на вплив брасиностероїдів та одночасної обробки метилвіологеном та брасиностероїдів зниження рівня хлорофілу було менш вираженим (рис. 2, а). З іншого боку, рівень акумуляції МДА, зумовленого метилвіологеном, був частково зниженим за дії епібрасиноліду (рис. 2, б). Результати представлених досліджень свідчать про те, що виражене зниження рівня хлорофілу та підвищення

рівня МДА, обумовлені метилвіологеном, частково гальмувалися брасиностероїдами (рис. 2). У рослин *35S::AtCAH*, формування МДА за нормальних умов не відрізнялося від такого порівняно з рослинами дикого типу, однак за дії метилвіологену виражено посилювалося. Водночас, дія епібрасиноліду в процесі відновлення рівня хлорофілу та послаблення акумуляції МДА була менш вираженою у вказаних трансгенних рослин. Таким чином, рослини *35S::AtCAH* є більш чутливими до метилвіологену та менш чутливими до брасиностероїдів, на відміну від нетрансформованих.

Іншим маркером оксидативного стресу є стан антиоксидантної системи. Встановлено, що рівень супероксидного радикалу у відповідь на дію метилвіологену слабо пригнічувався за одночасної обробки метилвіологеном та брасиностероїдами, а також не змінювався у трансгенних рослин (рис. 3, а). Активність СОД тільки частково відображала формування супероксидного аніону та однаково стимулювалася метилвіологеном та одночасного використання метилвіологену з брасиностероїдами (рис. 3, б). Стимулювання захисних механізмів рослин (що було оцінено за рівнем активації СОД) за умов дії метилвіологену та епібрасиноліду у рослин *35S::AtCAH* було послабленим порівняно із нетрансформованими рослинами. Таким чином, метилвіологен зумовлює активацію ендогенних захисних реакцій, що перешкоджає формуванню надлишку рівня АФК в результаті активації кальцій-залежної СОД, що веде до формування більш стабільного продукту – пероксиду водню. Зважаючи на відсутність каталази (головного ферменту детоксикації пероксиду водню) у хлоропластах, H_2O_2 може елімінуватися у аскорбат-глутатіоновому циклі.

Функціонування цього циклу може бути охарактеризованим за активністю його ключових ферментів – аскорбатпероксидаз та глутатіонредуктаз. Зареєстровано, що метилвіологен зумовлює підвищення рівня пероксиду водню та активацію АПО що, однак, не змінювалося за додаткової обробки разом з брасиностероїдами у нетрансгенних рослин та мутантів *35S::AtCAH1* (рис. 3, в, г). Активність глутатіонредуктаз підвищувалася удвічі порівняно з контрольним рівнем за обробки як метилвіологеном та суміс-

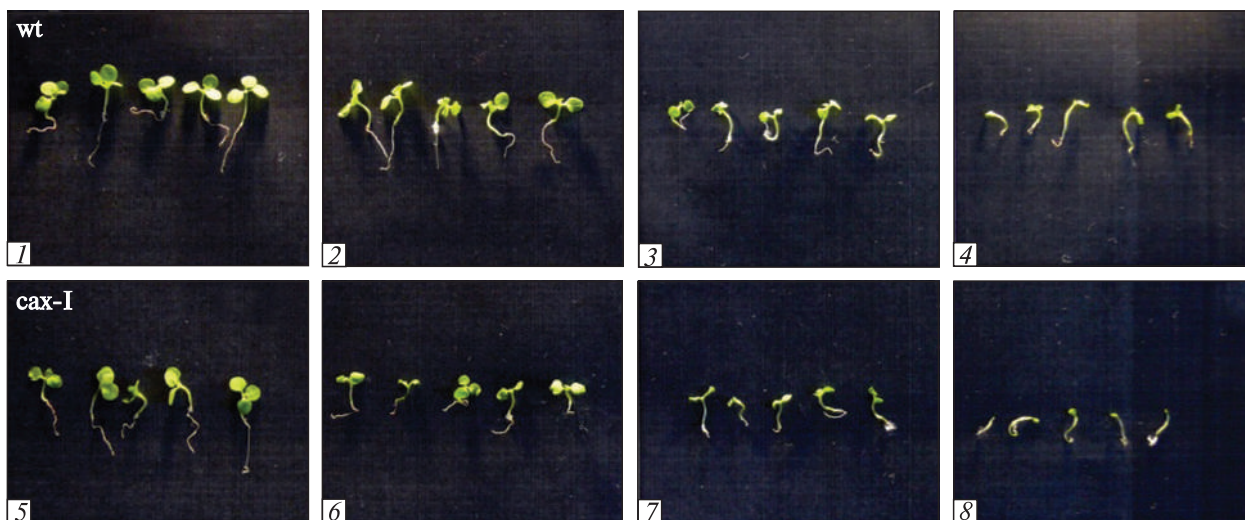


Рис. 1. Ріст рослин тютюну (WT (wild-type, дикий тип/інтактні) та *35S::AtCAX1*) при різних концентраціях метилвіологену (0; 1; 2; 4 мкМ). Рослини були вирощені на агарі з 1/5 розчином Хогланда-Арнона впродовж 10 днів

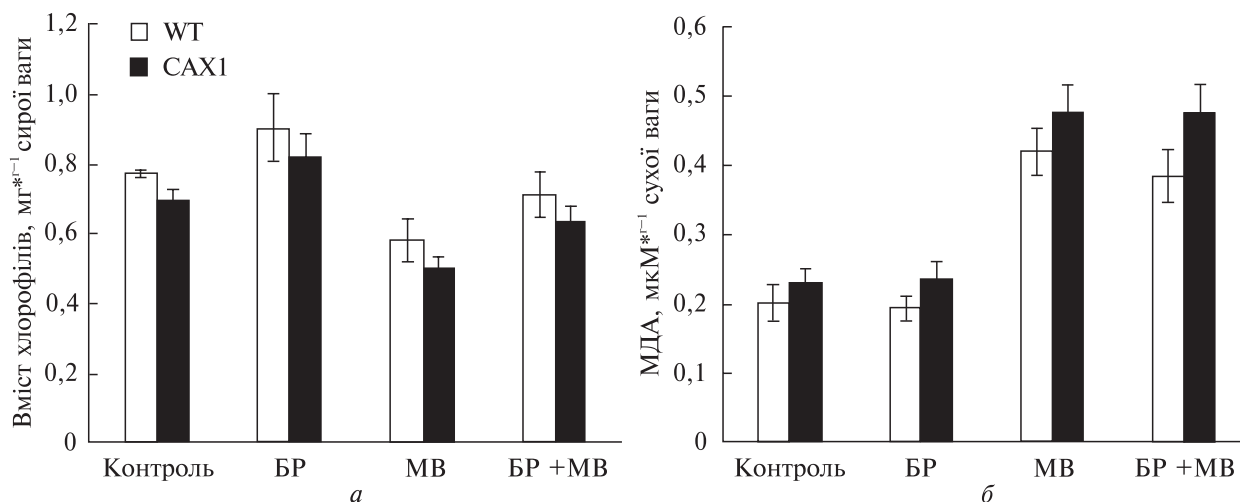


Рис. 2. Вплив брасиностероїдів (БР) та метилвіологену (МВ) на вміст хлорофілу та акумулювання МДА у рослин тютюну дикого типу (WT, білі стовпці) або мутантів *35S::AtCAX1* (CAX1, чорні стовпці). *a* – вміст хлорофілів; *б* – рівень МДА

ної дії метилвіологену та брасиностероїдів (рис. 3, *e*). Активність глутатіонредуктаз під впливом метилвіологену у рослин *35S::AtCAX1* була знижена порівняно з нетрансгенними рослинами. Різниця між активністю глутатіонредуктаз у трансгенних рослин і рослин дикого типу була більш вираженою у пробах за одночасної дії метилвіологену та брасиностероїдів (рис. 3, *e*). Метилвіологен зумовлював підвищення рівня окисненого глутатіону у рослин *35S::AtCAX1*

більш виражено порівняно із рослинами дикого типу. Ефект брасиностероїдів у індукції пригнічення рівнів окисненого глутатіону у мутованих рослин був значно нижчим за такий у нетрансгенних рослин тютюну (рис. 3, *d*). Наявні дані свідчать, що іони кальцію відіграють роль в активації СОД та глутатіонредуктаз, а також модуляції рівнів окисненого глутатіону у відповідь на обробку метилвіологеном та брасиностероїдами.

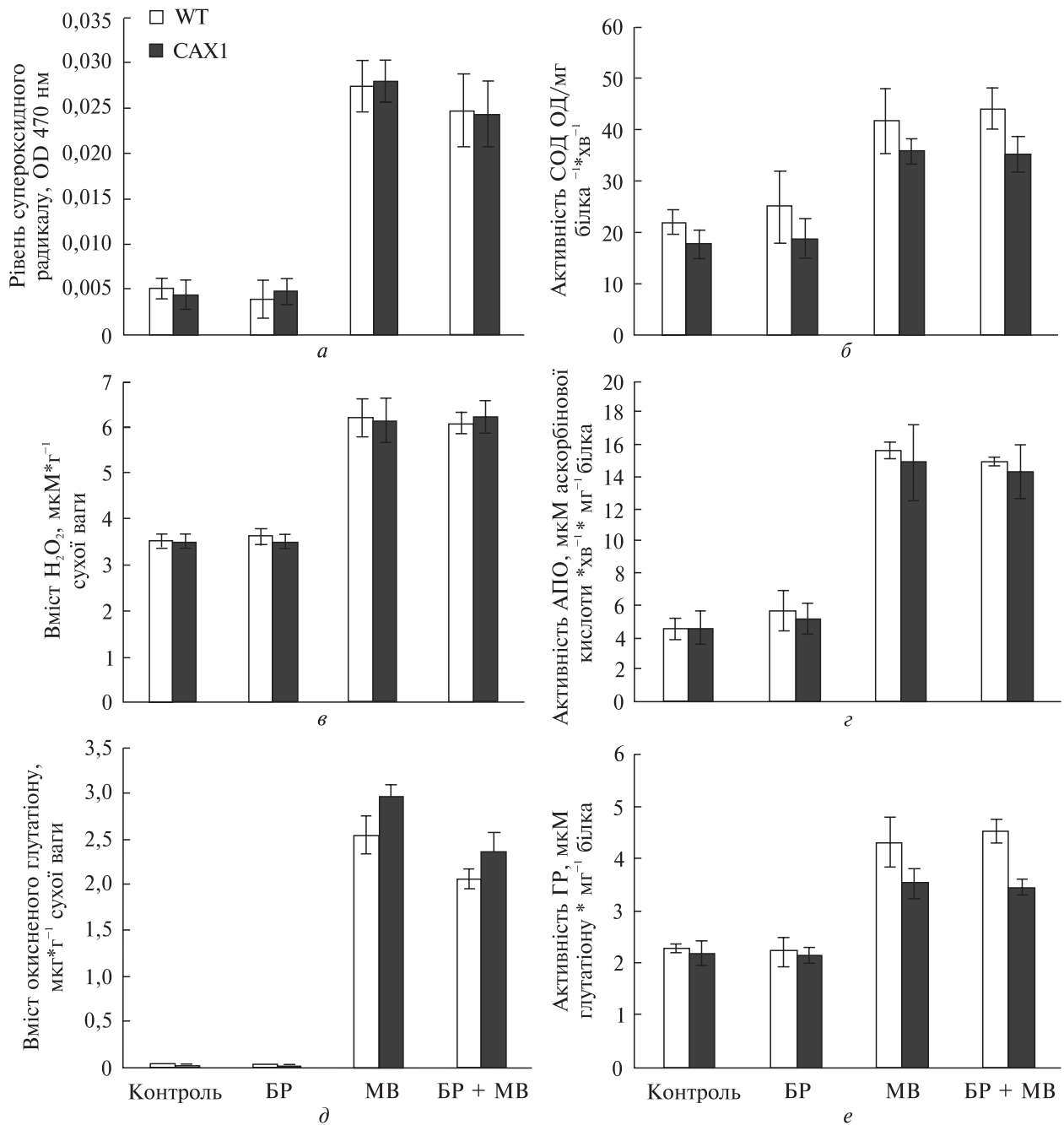


Рис. 3. Вплив брасиностероїдів (БР) та метилвіологену (МВ) на редокс-стан рослин тютюну дикого типу (WT, білі стовпці) та мутантів *35S::AtCAX1* (CAX1, чорні стовпці). *а* – рівень формування супероксидного радикалу; *б* – активність супероксиддисмутаза (СОД); *в* – загальний рівень пероксиду водню; *г* – активність аскорбтпероксидаза (АПО); *д* – рівні окисненого глутатіону; *е* – активність глутатіонредуктаз (ГР)

Відома ціла низка мутантів рослин зі змінною стійкістю до метилвіологену: PQT3 – убіхінлігаза типу E3 (Luo, Cai et al, 2016, Alfatih,

Wu et al, 2020), S-нітрозоглутатіонредуктаза GSNOR1/HOT5/PAR2 (Chen, Sun et al, 2009), RCD1 (Radical-induced Cell Death1) – білок,

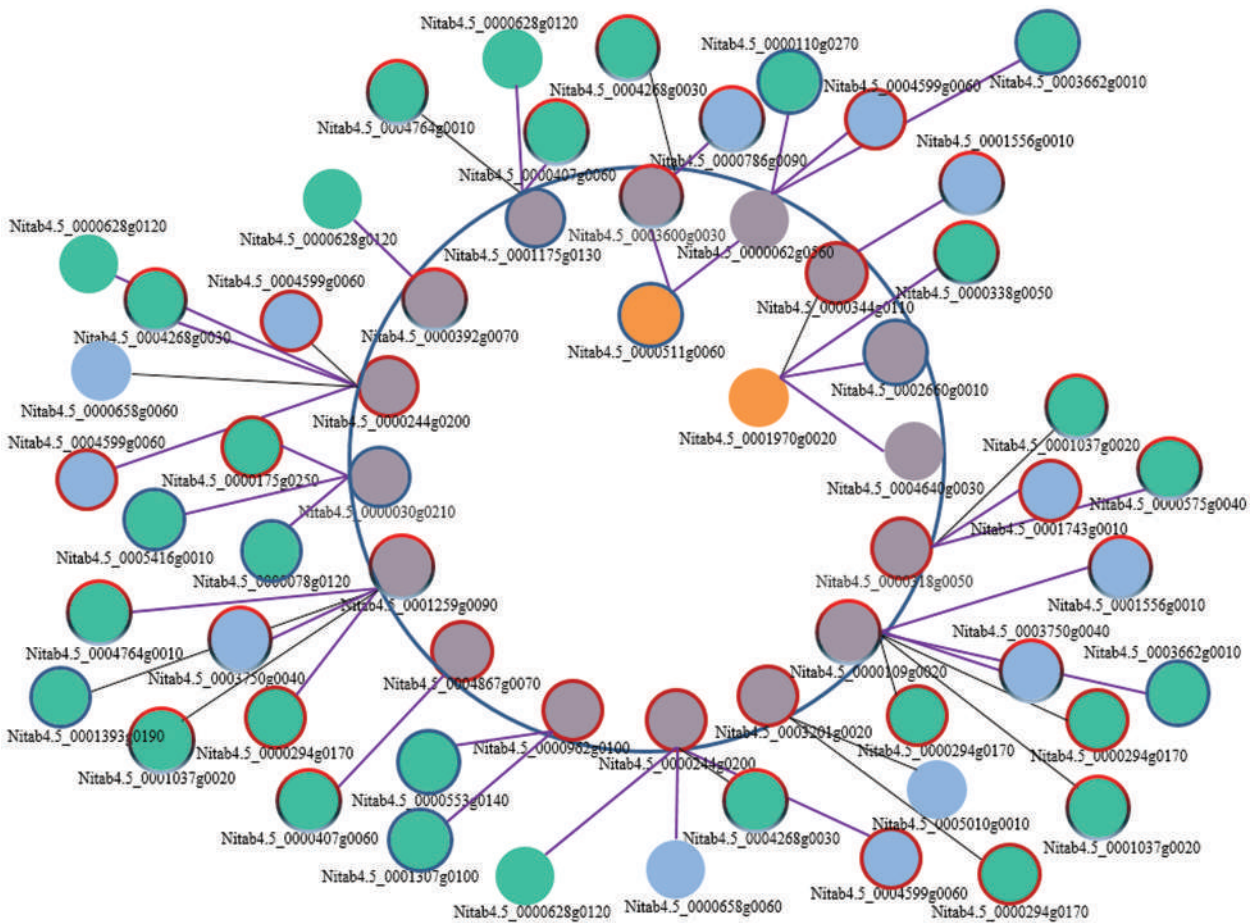


Рис. 4. Ко-експресія генів тютюну, які є ортологами генів глутатіонредуктаз, СОД, АПО, генів білків сигналіну брасиностероїдів, а також SAХ1 та генів білків транспорту/механізмів дії метилвіологену у рослин *Arabidopsis*, а також передбачення потенційних пост-трансляційних модифікацій та білок-білкових взаємодій білкових продуктів цих генів. Зелени кола – гени білків сигналіну брасиностероїдів, сині кола – гени антиоксидантних ферментів, світло-коричневі кола – гени білків транспорту/механізмів дії метилвіологену, помаранчеві кола – гени-ортологи SAХ1; малинові лінії – ко-експресуючі гени, продукти яких можуть асоціюватися шляхом білок-білкових взаємодій; червоні кільця навколо кіл – потенційні пост-трансляційні модифікації білкових продуктів ко-експресуючих генів, зумовлені дією АФК; сині кільця навколо кіл – потенційне фосфорилювання білкових продуктів ко-експресуючих генів, залежне від іонів кальцію, кільця з синіми та червоними секторами одночасно – пост-трансляційні модифікації білкових продуктів ко-експресуючих генів, залежні як від АФК, так і від іонів кальцію

що взаємодіє з факторами транскрипції (Ahlfors, Leng et al (2004), Sipari, Lihavainen et al, 2020), ядерний білок GIGANTEA (Cha, Shin et al, 2022), *NARI* – компонент механізмів формування ансамблю залізо-сірчаних кластерів (Nakamura, Vuzas et al, 2013), PQT24 – транспортер ABCG39 (Xi, Xu et al, 2012), транспортер поліамінів RMV1/LAT1/PUT3 (Fujita, Fujita et al, 2012), PUT2/PAR1 (Dong, Hu et al, 2016), транспортер L-амінокислот (Li, Mu et al, 2013),

експортер метилвіологену DTX6 (Detoxification Efflux Carrier)/PQT15 (Xia, Nazish et al, 2021), та ізоформа актину ACTIN2 (Kuběnová, Takáč et al, 2021). Білкові продукти мутованих генів можуть відігравати позитивну роль у реалізації дії вказаного гербіциду у рослин (зокрема, транспорту, сигналіну).

Тісний взаємозв'язок брасиностероїдів та кальцію в регуляції балансу про- та антиоксидантів за дії метилвіологену може бути підтвер-

дженням за рахунок аналізу ко-експресії генів тютюну, які є ортологами генів у *A. thaliana*, продукти яких відіграють зазначену вище роль в процесі дії метилвіологену, а також ортологів *CAX1*, білків сигналіну брасиностероїдів (білків *BRI1*, *BAK1*, *BES1*, *CDG1*), та генів антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, глутатіонредуктаза) (рис. 4).

Встановлено, що гени, пов'язані з метилвіологеном, ко-експресуються з різними генами ферментів балансу АФК та, особливо, з генами білків сигналіну брасиностероїдів. Деякі ортологи генів *DTX6* та *ACTIN2*, які ко-експресуються з генами білків сигналіну брасиностероїдів та балансу АФК, також ко-експресуються з двома ортологами *CAX1* тютюну (*Nitab4.5_0000511g0060*, *Nitab4.5_0001970g0020*). Переважна більшість із продуктів зазначених генів можуть асоціювати одне з одним шляхом білок-білкових взаємодій, а також бути мішенню пост-трансляційних модифікацій, залежних від іонів кальцію та АФК (рис. 4). Відомо, що дія іонів кальцію в клітинах реалізується за рахунок активності кальцій-залежних та кальцій/кальмодулін-залежних протеїніназ (Yip Delormel and Boudsocq, 2019). Застосування *in silico* аналізу з метою передбачення потенційних сайтів фосфорилування досліджуваних білків (Novozhylov, Karov et al, 2017, Karov, Novozhylov et al, 2018) вказує на можливу роль кальцій-залежних та кальцій/кальмодулін-залежних протеїніназ у модуляції сигналіну брасиностероїдів, ферментів балансу АФК та білків транспорту/дії метилвіологену в процесі формування стійкості рослин до дії вказаного гербіциду, зумовленої брасиностероїдами.

Таким чином, результати здійснених досліджень свідчать, що дія брасиностероїдів зумовлює стимуляцію систем антиоксидантного захисту у тютюну, що сприяє формуванню процесів адаптації рослин до дії оксидативного стресу, індукованого гербіцидом метилвіологеном. Іони кальцію можуть відігравати роль в регуляції балансу антиоксидантів за механізмом опосередкованої або безпосередньої активації антиоксидантних ферментів. Модуляція балансу активних форм кисню, здійснювана дією брасиностероїдів, залежить від наявності іонів кальцію в клітинах тютюну.

Автори висловлюють подяку професору К.Д. Хірші (Медичний Коледж Бейлора, США, Відділ сільськогосподарства) за надання насіння рослин тютюну *35S::AtCAX1*.

Дотримання етичних норм. Автори підтверджують відсутність порушень угоди про нерозголошення. Дана стаття не містить жодних досліджень за участю тварин або людей.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Робота була підтримана грантами № 13-03-20, Національною академією наук України 2.1.10.32-21.

ROLE OF CALCIUM IN BRASSINOSTEROID ACTION DURING THE INDUCTION OF OXIDATIVE STRESS IN TOBACCO

S.V. Kretynin, Ya.S. Kolesnikov

Department of Molecular Mechanisms of Cell Metabolism Regulation, V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, the National Academy of Sciences of Ukraine, 1, Academician Kukhar Str., Kyiv, Ukraine, 02660

E-mail: kolesnikov@bpci.kiev.ua*, kretynin@bpci.kiev.ua

Brassinosteroids are plant hormones that play an essential role in plant growth, development, and stress responses, for example, in the induction of tolerance to oxidative stress. Oxidative stress in plants that is the dramatic reactive oxygen species (ROS) production is known to be induced by methyl viologen herbicide. Since calcium plays a vital role in brassinosteroid signaling in plants and tightly interacts with the ROS network, the role of calcium was studied in brassinosteroid-induced modulation of ROS balance with the application of transgenic tobacco *35S::AtCAX1* plants. It was found that *35S::AtCAX1* tobacco plants harboring artificial calcium shortage in the cytosol were more sensitive to methyl viologen-induced oxidative damage. The level of lipid peroxidation and oxidized glutathione was higher, but the activation of superoxide dismutase and glutathione reductase was lower in the mutated plants. In *35S::AtCAX1* plants, the effect of brassinosteroids on the oxidative state parameters was modified. Brassinosteroid-induced partial restoration of chlorophyll level, reduction of lipid peroxidation and oxidized glutathione level, superoxide dismutase, and glutathione reductase activation were less evident in the transgenic plants. The results of gene co-expression analysis, protein-protein interactions, and post-translational modifications *in silico* demonstrated that by applying calcium-dependent signaling events,

brassinosteroids regulated the mechanisms of response to methyl viologen in tobacco plants, contributing to the balance of reactive oxygen species production.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Ahlfors R, Leng S, Overmyer K et al (2004) Arabidopsis RADICAL-INDUCED CELL DEATH1 belongs to the WWE protein-protein interaction domain protein family and modulates abscisic acid, ethylene, and methyl jasmonate responses. *Plant Cell* 16(7):1925–1937. <https://doi.org/10.1105/tpc.021832>.
- Alfatih A, Wu J, Jan SU et al (2020) Loss of rice PARAQUAT TOLERANCE 3 confers enhanced resistance to abiotic stresses and increases grain yield in field. *Plant Cell Environ* 43(11):2743–2754. <https://doi.org/10.1111/pce.13856>.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1):248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Brunharo CACG, Hanson BD (2017) Vacuolar sequestration of paraquat is involved in the resistance mechanism in *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum*. *Front Plant Sci* 8:1485–1485. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01485>.
- Cha J-Y, Shin G-I, Ahn G et al (2022) Loss-of-function in GIGANTEA confers resistance to PPO-inhibiting herbicide tiafenacil through transcriptional activation of antioxidant genes in Arabidopsis. *Appl Biol Chem* 65(66). <https://doi.org/10.1186/s13765-022-00734-6>.
- Chaudhuri A, Halder K, Abdin MZ et al (2022) Abiotic stress tolerance in plants: brassinosteroids navigate competently. *Int J Mol Sci* 23(23):14577. <https://doi.org/10.3390/ijms232314577>.
- Chen R, Sun S, Wang C et al (2009) The Arabidopsis PARAQUAT RESISTANT2 gene encodes an S-nitrosoglutathione reductase that is a key regulator of cell death. *Cell Res* 19(12):1377–1387. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.117>.
- Dong S, Hu H, Wang Y et al (2016) A pqr2 mutant encodes a defective polyamine transporter and is negatively affected by ABA for paraquat resistance in Arabidopsis thaliana. *J Plant Res* 129(5):899–907. <https://doi.org/10.1007/s10265-016-0819-y>.
- Fujita M, Fujita Y, Iuchi S et al (2012) Natural variation in a polyamine transporter determines paraquat tolerance in Arabidopsis. *PNAS* 109(16):6343–6347. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121406109>.
- Fujita M, Shinozaki K (2014) Identification of polyamine transporters in plants: paraquat transport provides crucial clues. *Plant Cell Physiol* 55(5):855–861. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu032>.
- Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem* 48(12):909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Hirschi KD (1999) Expression of Arabidopsis CAX1 in tobacco: altered calcium homeostasis and increased stress sensitivity. *Plant Cell* 11(11):2113–2122. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.11.2113>.
- Hruz T, Laule O, Szabo G et al (2008) Genevestigator V3: a reference expression database for the meta-analysis of transcriptomes. *Adv Bioinform* 2008:420747. <https://doi.org/10.1155/2008/420747>.
- Karpov PA, Novozhylov DO, Isayenkov SV et al (2018) Motif-based prediction of plant tubulin phosphorylation sites associated with calcium-dependent protein kinases in Arabidopsis thaliana. *Cytol Genet* 52(6):428–439. <https://doi.org/10.3103/S0095452718060038>.
- Kuběnová L, Takáč T, Šamaj J et al (2021) Single amino acid exchange in ACTIN2 confers increased tolerance to oxidative stress in Arabidopsis der1-3 mutant. *Int J Mol Sci* 22(4):1879. <https://doi.org/10.3390/ijms22041879>.
- Li J, Mu J, Bai J et al (2013) PARAQUAT RESISTANT1, a Golgi-localized putative transporter protein, is involved in intracellular transport of paraquat. *Plant Physiol* 162(1):470–483. <https://doi.org/10.1104/pp.113.213892>.
- Li Y, Liu Y, Jin L et al (2022) Crosstalk between Ca²⁺ and other regulators assists plants in responding to abiotic stress. *Plants (Basel)* 11(10):1351. <https://doi.org/10.3390/plants11101351>.
- Liu L, Sun Y, Zhang M et al (2022) ZmBSK1 positively regulates BR-induced H₂O₂ production via NADPH oxidase and functions in oxidative stress tolerance in maize. *Plant Physiol Biochem* 185:325–335. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.06.011>.
- Luo C, Cai X-T, Du J et al (2016) PARAQUAT TOLERANCE3 is an E3 ligase that switches off activated oxidative response by targeting histone-modifying PROTEIN METHYLTRANSFERASE4b. *PLOS Genetics* 12(9):e1006332. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006332>.
- Nakamura M, Buzas DM, Kato A et al (2013) The role of Arabidopsis thaliana NAR1, a cytosolic iron-sulfur cluster assembly component, in gametophytic gene expression and oxidative stress responses in vegetative tissue. *New Phytol* 199(4):925–935. <https://doi.org/10.1111/nph.12350>.
- Novozhylov DO, Karpov PA, Blume YB (2017) Bioinformatic search for Ca²⁺- and calmodulin-dependent protein kinases potentially associated with the regulation of plant cytoskeleton. *Cytol Genet* 51(4):239–246. <https://doi.org/10.3103/S0095452717040053>.

- Omoarelojie LO, Kulkarni MG, Finnie JF et al (2022) Smoke-derived cues in the regulation of seed germination: are Ca²⁺-dependent signals involved? *Plant Growth Regul* 97(2):343–355. <https://doi.org/10.1007/s10725-021-00745-1>.
- Sartori F, Vidrio E (2018) Environmental fate and ecotoxicology of paraquat: a California perspective. *Toxicol Environ Chem* 100(5–7):479–517. <https://doi.org/10.1080/02772248.2018.1460369>.
- Sipari N, Lihavainen J, Shapiguzov A et al (2020) Primary metabolite responses to oxidative stress in early-senescing and paraquat resistant *Arabidopsis thaliana rcd1* (*Radical-Induced Cell Death1*). *Front Plant Sci* 11:194. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00194>.
- Tian Y, Fan M, Qin Z et al (2018) Hydrogen peroxide positively regulates brassinosteroid signaling through oxidation of the BRASSINAZOLE-RESISTANT1 transcription factor. *Nat Commun* 9(1):1063. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03463-x>.
- Xi J, Xu P, Xiang C-B (2012) Loss of AtPDR11, a plasma membrane-localized ABC transporter, confers paraquat tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 69(5):782–791. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04830.x>.
- Xia JQ, Nazish T, Javaid A et al (2021) A gain-of-function mutation of the MATE family transporter DTX6 confers paraquat resistance in *Arabidopsis*. *Mol Plant* 14(12):2126–2133. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.09.004>.
- Xia X-J, Wang Y-J, Zhou Y-H et al (2009) Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiol* 150(2):801–814. <https://doi.org/10.1104/pp.109.138.230>.
- Yannarelli GG, Fernández-Alvarez AJ, Santa-Cruz DM et al (2007) Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. *Phytochemistry* 68(4):505–512. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.11.016>.
- Yip Delormel T, Boudsocq M (2019) Properties and functions of calcium-dependent protein kinases and their relatives in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* 224(2):585–604. <https://doi.org/10.1111/nph.16088>.

Надійшла в редакцію 30.01.23
Після доопрацювання 09.03.23
Прийнята до друку 18.07.23