

doi 10.18699/vjgb-26-46

Изменение транскрипции генов аквапоринов в листьях люцерны хмелевидной в результате микоризации грибом арбускулярной микоризы в условиях дефицита воды

А.П. Юрков , Т.Р. Кудряшова , А.И. Беляева, А.А. Крюков  

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

 rainniar@rambler.ru

Аннотация. Одним из актуальных направлений исследований растительно-микробных взаимодействий является изучение механизмов адаптации растений к стресс-факторам среды за счет развития симбиозов с различными микроорганизмами. Хорошо известна роль грибов арбускулярной микоризы в адаптации растений к засухе, но механизмы данных процессов до сих пор раскрыты не полностью, особенно в тканях листьев. Предполагается, что некоторые из генов аквапоринов могут играть важную роль как в адаптации растений к недостатку влаги, так и в развитии эффективного симбиоза с грибами арбускулярной микоризы. Таким образом, важной задачей в изучении растительно-микробных симбиозов является оценка влияния инокуляции грибом арбускулярной микоризы на экспрессию генов аквапоринов в листьях растений в высокоэффективной модельной растительно-микробной системе "*Medicago lupulina* + *Rhizophagus irregularis*" в условиях засухи. Сравнительная оценка транскрипции генов выполнена методом $2^{-\Delta\Delta CT}$ по результатам количественной ПЦР в реальном времени: нормализация проведена по отношению к референсному гену – актину, контролем выступал вариант без инокуляции грибом. Исследование проведено как в начальную фазу развития – фазу развития 2-го листа, так и в фазу активного растительно-микробного взаимодействия – фазу цветения. В результате выявлены гены, имеющие достоверную дифференциальную экспрессию в условиях засухи при сравнении микоризованных и немикоризованных растений люцерны хмелевидной: *NIP3;1*, *NIP4;2*, специфический *NIP7;1*, *TIP5;1* – в фазу развития 2-го листа; *NIP3;1*, *NIP5;1*, *NIP6;4*, *NIP7;1* (специфический), *PIP1;4*, *TIP2;3* и *XIP1;1* (специфический) – в фазу цветения. Ранее в подобном эксперименте, но в условиях нормального полива эти же гены не имели дифференциальной экспрессии в сравнении микоризованных и немикоризованных растений. Вероятно, перечисленные гены принимают участие в адаптации изученных растений к условиям засухи. Полученные сведения могут быть использованы в разработке высокопродуктивных растительно-микробных систем с участием грибов арбускулярной микоризы с целью перехода к биологическому земледелию, минимизации негативного влияния на окружающую среду и повышению устойчивости растений к недостатку влаги.

Ключевые слова: аквапорины; AQP; арбускулярная микориза; *Medicago lupulina*; *Rhizophagus irregularis*; засуха

Для цитирования: Юрков А.П., Кудряшова Т.Р., Беляева А.И., Крюков А.А. Изменение транскрипции генов аквапоринов в листьях люцерны хмелевидной в результате микоризации грибом арбускулярной микоризы в условиях дефицита воды. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(3):424-434. doi 10.18699/vjgb-26-46

Финансирование. Работа выполнена при поддержке РНФ № 24-26-00181.

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ВНИИСХМ.

Transcriptional changes of aquaporin genes in leaves of black medic induced by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation under water deficit

A.P. Yurkov , T.R. Kudriashova , A.I. Belyaeva, A.A. Kryukov  

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia

 rainniar@rambler.ru

Abstract. One of the current research directions in plant-microbe interactions focuses on the mechanisms of plant adaptation to environmental stress through symbioses with various microorganisms. While the role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant adaptation to drought is well-known, the underlying mechanisms of these processes remain poorly understood, particularly in leaf tissues. It is suggested that certain genes from the aquaporin family play a critical role both in adaptation to water deficit and in the development of an effective arbuscular mycorrhizal symbiosis. Thus, the important task in this study of plant-microbe symbioses is to assess the effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on the expression of aquaporin genes in leaves. This study utilizes the highly effective plant-microbe model

system "*Medicago lupulina* + *Rhizophagus irregularis*" under drought stress conditions. A comparative assessment of gene transcription was carried out using the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method based on real-time quantitative PCR results: normalization was performed relative to the actin reference gene with non-inoculated plants serving as the control. The study was conducted both at the initial development stage (the 2nd leaf stage), and at the stage of active plant-microbe interaction (the flowering stage). The study revealed genes with significant differential expression under drought conditions when comparing mycorrhizal and non-mycorrhizal *Medicago lupulina* plants: *NIP3;1*, *NIP4;2*, specific *NIP7;1*, *TIP5;1* at the 2nd leaf stage; genes *NIP3;1*, *NIP5;1*, *NIP6;4*, *NIP7;1* (specific), *PIP1;4*, *TIP2;3* and specific *XIP1;1* at the flowering stage. Previously, in a similar experiment, under well-watering conditions, the same genes did not have differential expression between mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. Thus, the listed genes likely participate in the adaptation of the studied plants to drought conditions. The obtained information can be used to develop highly productive plant-microbe systems involving arbuscular mycorrhizal fungi, aimed at transitioning to organic farming, minimizing negative environmental impact, and enhancing plant resistance to water deficit.

Key words: aquaporins; AQP; arbuscular mycorrhiza; *Medicago lupulina*; *Rhizophagus irregularis*; drought

For citation: Yurkov A.P., Kudriashova T.R., Belyaeva A.I., Kryukov A.A. Transcriptional changes of aquaporin genes in leaves of black medic induced by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation under water deficit. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(3):424-434. doi 10.18699/vjgb-26-46

Введение

В результате нарушения природных экосистем под влиянием интенсивного сельского хозяйства, водозабором и погодными особенностями ряда регионов проблема дефицита влаги при выращивании сельскохозяйственных культур стоит наиболее остро. Для решения проблемы засухи применяется ряд мер, включающих не только орошение, введение новых методов нулевой обработки почвы, лесополос, севооборота, но и биологические методы усиления адаптации растений к стресс-факторам среды с использованием микроорганизмов – симбионтов. Хорошо известна роль грибов арбускулярной микоризы (АМ), сыгравших, вероятно, лидирующую роль в завоевании растениями суши 400 млн лет назад (Remy et al., 1994), когда они выполняли часть функций корневой системы, активно обеспечивая растения водой и минеральными веществами. Грибы АМ поддерживают ионный гомеостаз растения-хозяина, обеспечивают осмосащиту и повышенную эффективность использования воды (Mammadov et al., 2018; Luo et al., 2022). По настоящее время более 80 % видов наземных растений образуют АМ с грибами класса *Glomeromycetes* (Smith, Read, 2008). В связи с этим актуальным направлением исследований стало выявление механизмов, контролируемых адаптацию растений к недостатку влаги в почве и роль грибов АМ в этом процессе.

Следует полагать, что адаптация растений к засухе тесно связана с регуляцией транспортеров воды в тканях растений, среди которых наиболее представленная группа – аквапорины, небольшие мембранные белки семейства Major Intrinsic Proteins (MIP), формирующие каналы для переноса молекул через биологические мембраны (Maurel et al., 2015). У растений они играют ключевую роль в адаптации к засухе, засолению, а также в регуляции роста (Данелия и др., 2024; Кудряшова и др., 2025). Наибольшее разнообразие аквапоринов характерно для покрытосеменных растений, что связано с дубликацией генов в результате полиплоидизации (Singh et al., 2020), свойственной почти всем покрытосеменным. Полиплоидизация приводит к дубликации генов с появлением новых изоформ. В частности, у арабидопсиса обнаружено 35 генов аквапоринов, у люцерны – 46, у рапса – 120 (Min et al., 2019; Данелия и др., 2024). Аквапорины имеют консервативную структуру.

Важной особенностью в структуре является то, что они образуют тетрамеры, где каждый мономер функционирует как независимый канал (Kudoyarova et al., 2022). Активность аквапоринов может регулироваться фосфорилированием, рН, окислительно-восстановительными реакциями.

Не все аквапорины одинаково эффективно принимают участие в транспорте воды. Так, аквапорины покрытосеменных растений делят на следующие пять подсемейств: 1) NIP (nodulin 26-like intrinsic proteins) с низкой проницаемостью для воды, принимают участие в обмене метаболитами с микросимбионтами (Kruse et al., 2006), локализованы в плазматической мембране и мембранах эндоплазматической сети (Ma et al., 2006; Mizutani et al., 2006; Lopez et al., 2016); 2) PIP (plasma membrane intrinsic proteins), проницаемые для воды, перекиси водорода, углекислого газа, локализованы в плазматической мембране, внутренней мембране хлоропластов, мембранах тилакоидов, мембране эндоплазматической сети (Zhou et al., 2024); 3) SIP (small basic intrinsic proteins) с низкой проницаемостью для воды, локализованы на мембране эндоплазматической сети, изучены слабо (Hussain et al., 2020; Zhou et al., 2024); 4) TIP (tonoplast intrinsic proteins), проницаемые для воды, перекиси водорода, аммония, мочевины, локализованы в тонопласте вакуолей (Maurel et al., 2008; Zhou et al., 2024); 5) XIP (uncharacterized/X intrinsic proteins) с низкой проницаемостью для воды, локализованы на плазматической мембране, исследованы слабо (Lopez et al., 2016; Noronha et al., 2016).

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что функции аквапоринов в значительной степени требуют дальнейшего изучения. Некоторые исследования указывают на то, что микоризация повышает устойчивость растений к засухе, но механизмы регуляции аквапоринов необходимо рассматривать с учетом видоспецифичности и специфичности их функций в различных тканях, в том числе слабо изучена их регуляция экспрессии в листьях (Данелия и др., 2024; Кудряшова и др., 2025). Изменения регуляции аквапоринов, опосредованные микоризацией, по-прежнему остаются загадкой (Sharma et al., 2021). Перспективными направлениями считаются: выявление генов-маркеров развития эффективных симбиозов (в том числе АМ-симбиоза), обеспечивающих адаптацию растений к

недостатку воды в субстрате; анализ экспрессии генов аквапоринов при водном стрессе; изучение посттрансляционных модификаций. С практической точки зрения развитие таких исследований позволит разработать симбиотически высокоэффективные и высокопродуктивные растительно-микробные системы (РМС), необходимые для реализации концепции почвозащитного ресурсосберегающего земледелия и, как следствие, получения экологически чистой сельскохозяйственной продукции.

На основании вышесказанного целью настоящего исследования был поиск генов-маркеров эффективного симбиоза среди генов аквапоринов в листьях при инокуляции грибом АМ люцерны хмелевидной в высокоэффективной модельной РМС “*Medicago lupulina* + *Rhizophagus irregularis*” в условиях дефицита влаги в субстрате на раннем и позднем этапах развития симбиоза. В качестве наиболее подходящего объекта для этой цели авторами селектирована высокоотзывчивая на микоризацию линия MIS-1 *Medicago lupulina*, на которой по результатам транскриптомного анализа с применением метода массового анализа концов кДНК (MACE-Seq) было выявлено более 4500 генов с дифференциальной экспрессией ($p_{adj} < 0.01$) в листьях при микоризации высокоэффективным штаммом гриба АМ *Rhizophagus irregularis* RCAM00320 (Yurkov et al., 2023).

Материалы и методы

Растительный и грибной материалы. В качестве модельного растения использовали люцерну хмелевидную (*Medicago lupulina* L.) – широко распространенный вид рода *Medicago*, диплоид, самоопылитель. Объектом исследования выбрана селектированная из сортопопуляции ВИК32 линия MIS-1, которая отличается высокой чувствительностью к микоризации (Yurkov et al., 2015). Растения этой линии проявляют признаки карликовости в отсутствие инокуляции грибом АМ в условиях низкого уровня доступного для питания растений фосфора в субстрате (Yurkov et al., 2020). Для инокуляции использовали штамм RCAM00320 *Rhizophagus irregularis* из коллекции ВНИИСХМ, обладающий высокой симбиотической эффективностью.

Вегетационный метод. Методика проведения эксперимента основана на протоколе, описанном А.П. Юрковым с коллегами (Yurkov et al., 2015). Для предотвращения спонтанного заражения клубеньковыми бактериями и другими микроорганизмами почво-песчаную смесь (соотношение субстратов 2:1) стерилизовали автоклавированием дважды при 134 °С и 2 атм в течение 1 ч с интервалом в 2 сут. После обработки смеси токсичность субстрата не выявлялась. Растения люцерны высаживали по два проростка в каждый сосуд, наполненный 210 г почво-песчаной смеси. Половину сосудов инокулировали корнями *Plectranthus verticillatus*, микоризованными *R. irregularis*, а в другой половине (контроль) инокуляция не проводилась. Агрохимические параметры использованной почвы представлены в работе (Yurkov et al., 2020): содержание P_2O_5 – 23 мг/кг, рН – 6.44. Условия увлажнения выбраны на основании предварительно отобранного варианта засухи. Схема опы-

та включала варианты с разным увлажнением растений с инокуляцией и без инокуляции грибом АМ *R. irregularis*:

- «норма» – полив, исходя из расчета 0.6 полной влагоемкости субстрата (ПВ);
- «засуха, вариант 1» – смена нормального полива в первые 8 сут на полив, исходя из расчета 0.4 ПВ, в течение 16 сут (до фазы развития 2-го листа) и в течение 40 дней (до фазы цветения);
- «засуха, вариант 2» – смена нормального полива на полив, исходя из расчета 0.4 ПВ, в течение 7 сут перед съемом в фазу развития 2-го листа и в фазу цветения (отдельно; т. е. режим засухи поддерживается для одного растения в течение 7 сут до уборки).

Третий вариант засухи с поливом, исходя из 0.4 ПВ в течение всего периода выращивания растений, не рассматривался в связи с высокой долей гибели растений при проверке режима. В данном предварительном эксперименте (табл. S1 Приложения)¹ определили показатели сырого веса надземных частей, симбиотической эффективности по этому показателю, долю погибших растений, встречаемость микоризной инфекции в корне и отобрали вариант 2 засухи со сменой нормального полива на полив из расчета 0.4 ПВ за неделю до фиксации результатов в эксперименте по оценке относительного уровня экспрессии генов аквапоринов в листьях.

В основном эксперименте, включающем анализ относительного уровня экспрессии генов аквапоринов, первый учет проводили через 24 сут после посадки и инокуляции, в фазу развития 2-го настоящего листа, второй учет – на 48-е сутки, в фазу цветения. Оценивали параметры продуктивности (сухой вес надземных частей и корней) и эффективность симбиоза согласно ранее описанным методикам (Yurkov et al., 2015). Для окраски корней использовали трипановый синий согласно (Phillips, Nayman, 1970). Расчет показателей микоризации, интенсивности микоризной инфекции в корне (M , %) и обилия арбускул в микоризованной части корня (a , %) проводили согласно (Trouwel et al., 1986), с применением разработанной авторами компьютерной программы (Воробьев и др., 2016). Для анализа уровней экспрессии генов растительный материал сразу после сбора замораживали в жидком азоте и хранили при –80 °С до выделения РНК.

Выделение РНК и анализ экспрессии генов. Подбор генов и праймеров для их амплификации (табл. S2) осуществляли на основе данных *M. truncatula* из базы генетических последовательностей Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) и транскриптомного анализа *M. lupulina* (Yurkov et al., 2023). В исследование было включено 30 генов из 46 известных ортологов у *M. truncatula*, представленных в статье (Min et al., 2019). В эксперименте в результате полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) 16 генов во всех вариантах опыта имели очень низкие уровни экспрессии, на три-шесть порядков ниже (цикл выхода более чем на 10 циклов позднее) уровня референсного гена. Такие уровни экспрессии в анализе имеют значительную ошибку и не должны приниматься в

¹ Табл. S1 и S2 Приложения см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx23.pdf>

расчет, поэтому данные гены были исключены из работы и дальнейшего анализа. Отсутствие нецелевых продуктов ПЦР контролировали посредством гель-электрофореза и анализа кривых плавления по результатам ПЦР-РВ. Эффективность праймеров рассчитывали на основе серийных разведений кДНК, в работу были включены праймеры с эффективностью близкой к 100 % (>95 %). Тестирование праймеров проводили на обоих сроках учета.

Тотальную РНК из растительного материала выделяли с использованием тризола (Thermo Fisher Scientific, США) с модификациями (MacRae, 2007). Перед синтезом кДНК качество обработки РНК ДНКазой проверяли в ПЦР. Синтез кДНК осуществляли из ~1 мкг тотальной РНК на пробу с помощью набора "Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit with dsDNase" в соответствии с инструкциями производителя (Thermo Fisher Scientific, США). Качество полученной кДНК проверяли с помощью амплификации гена убиквитина. Уровень экспрессии генов оценивали методом ПЦР-РВ с использованием термоциклера C1000 с CFX-96 (BioRad, США) и набора реагентов, включая краситель SYBR Green I («Синтол», Россия). Условия амплификации: начальная денатурация – 95 °С, 5 мин; 40 циклов – 95 °С, 15 с; 60 °С, 30 с; 72 °С, 30 с; оценка кривых плавления. Для сравнения уровней экспрессии анализируемых генов аквапоринов использовали $2^{-\Delta\Delta CT}$ метод – сравнивали уровень экспрессии в варианте с микоризацией против контроля без АМ. Нормализацию проводили относительно референсного гена – актина, согласно (Yurkov et al., 2020). ПЦР-микс (объем 10 мкл) включал: 1 мкл 10х буфера В + SYBR Green, 1 мкл 2.5 мМ dNTP, 1 мкл MgCl₂ (25 мМ), 0.3 мкл каждого праймера (10 мМ), 0.125 мкл (0.625 ед.) SynTaq ДНК-полимеразы («Синтол», Россия), 4.275 мкл деионизированной воды и 2 мкл кДНК. Анализ проводили для каждого образца (как с АМ, так и без АМ) с тремя биологическими и четырьмя техническими повторами.

Статистическую обработку данных выполняли с применением ANOVA и последующего теста Тьюки с определением значимых различий при $p < 0.05$. Для сравнения уровней экспрессии между группами «+АМ» и «без АМ» использовали *t*-критерий Стьюдента ($p < 0.05$).

Результаты

Проведена оценка показателей микоризации люцерны хмелевидной и влияния инокуляции грибом АМ на рост, развитие растения-хозяина, экспрессию генов аквапоринов в листьях в условиях засухи. Для моделирования водного стресса был подобран режим засухи (на основании предварительного эксперимента; см. табл. S1), включающий полив из расчета 0.4 от полной влагоемкости субстрата в течение одной недели перед каждым съемом эксперимента, выполняемым на 24-е и 48-е сутки от посадки и инокуляции.

Анализ продуктивности люцерны (рис. 1, А, Б) показал, что у растений линии MIS-1 *M. lupulina*, инокулированных грибом *R. irregularis*, наблюдалось значительное увеличение сухой биомассы надземных частей как на 24-е сутки (в фазу 2-го листа), так и на 48-е сутки. Прибавка при микоризации сухого веса корней наблюдалась лишь на

позднем этапе развития (на 48-е сутки). Отметим тот факт, что симбиотическая эффективность АМ (MGR, mycorrhizal growth response) была достоверной и высокой (более 100 %) как по сухому весу корней, так и по сухому весу надземных частей именно в фазу цветения (см. рис. 1, В, Г).

Результаты микроскопии корней люцерны показали активное развитие микоризы и арбускул в микоризованной части корня в частности (см. рис. 1, Д, Е). Интенсивность АМ в корне (М) возрастала с 24-х суток на 48-е, а обилие арбускул в микоризованной части корня (а) было высоким уже начиная с фазы развития 2-го настоящего листа. Это свидетельствовало о высокой активности АМ-симбиоза в смоделированных условиях засухи и позволило провести тонкую оценку влияния микоризации на экспрессию генов семейства аквапоринов в листьях. Водный стресс был достаточным для индукции механизмов адаптации к засухе, но не критичным для выживаемости растений люцерны с сохранением высокого уровня микоризации.

Следует полагать, что показатели эффективности и активности АМ в условиях недостатка влаги (полив, исходя из расчета 0.4 ПВ субстрата) не уступали результатам, полученным ранее при стандартном увлажнении, исходя из расчета 0.6 ПВ субстрата, в модельной РМС «линия MIS-1 *M. lupulina* + штамм RCAM00320 *R. irregularis*» (Yurkov et al., 2021). Это подтверждает, что даже в условиях засухи возможно поддержание высокофункционального микоризного симбиоза; при этом умеренный стресс от засухи стимулировал изменение транскрипции генов аквапоринов без подавления эффективности АМ-симбиоза.

Для решения задач исследования были проведены подбор и тестирование праймеров (см. табл. S2). В ходе анализа часть из 30 генов аквапоринов показала дифференциальную экспрессию в листьях *M. lupulina* в ответ на микоризацию в условиях засухи (рис. 2 и 3). Среди прочих выявлены гены со специфической экспрессией (отмечены на рис. 2 и 3 значками «+» и «n. d.» – наличие и отсутствие экспрессии (not detected) соответственно).

В результате оценки экспрессии на 24-е сутки, в фазу развития 2-го настоящего листа, в листьях микоризованных растений (светлые столбцы) по сравнению с контролем (темно-серые столбцы) наблюдались следующие изменения:

- достоверная позитивная регуляция при микоризации (экспрессия при микоризации была достоверно, $p < 0.05$, выше таковой в контроле без инокуляции грибом АМ) для генов *NIP3;1*, *NIP4;2*, *TIP2;2*, а также специфическая экспрессия *NIP7;1*;
- достоверная негативная регуляция при микоризации (экспрессия при микоризации была достоверно, $p < 0.05$, ниже таковой в контроле без инокуляции грибом АМ) для генов *PIP2;3*, *TIP1;1*, *TIP1;4*, *TIP2;3*, *TIP4;1*.

При оценке экспрессии на 48-е сутки, в фазу цветения, в листьях растений с инокуляцией грибом АМ были выявлены:

- достоверная позитивная регуляция при микоризации генов *NIP3;1*, *NIP5;1*, *NIP6;4*, *PIP1;2*, *PIP1;4*, *PIP2;1*, *TIP2;3*, а также специфическая экспрессия *NIP7;1*, *XIP1;1*;

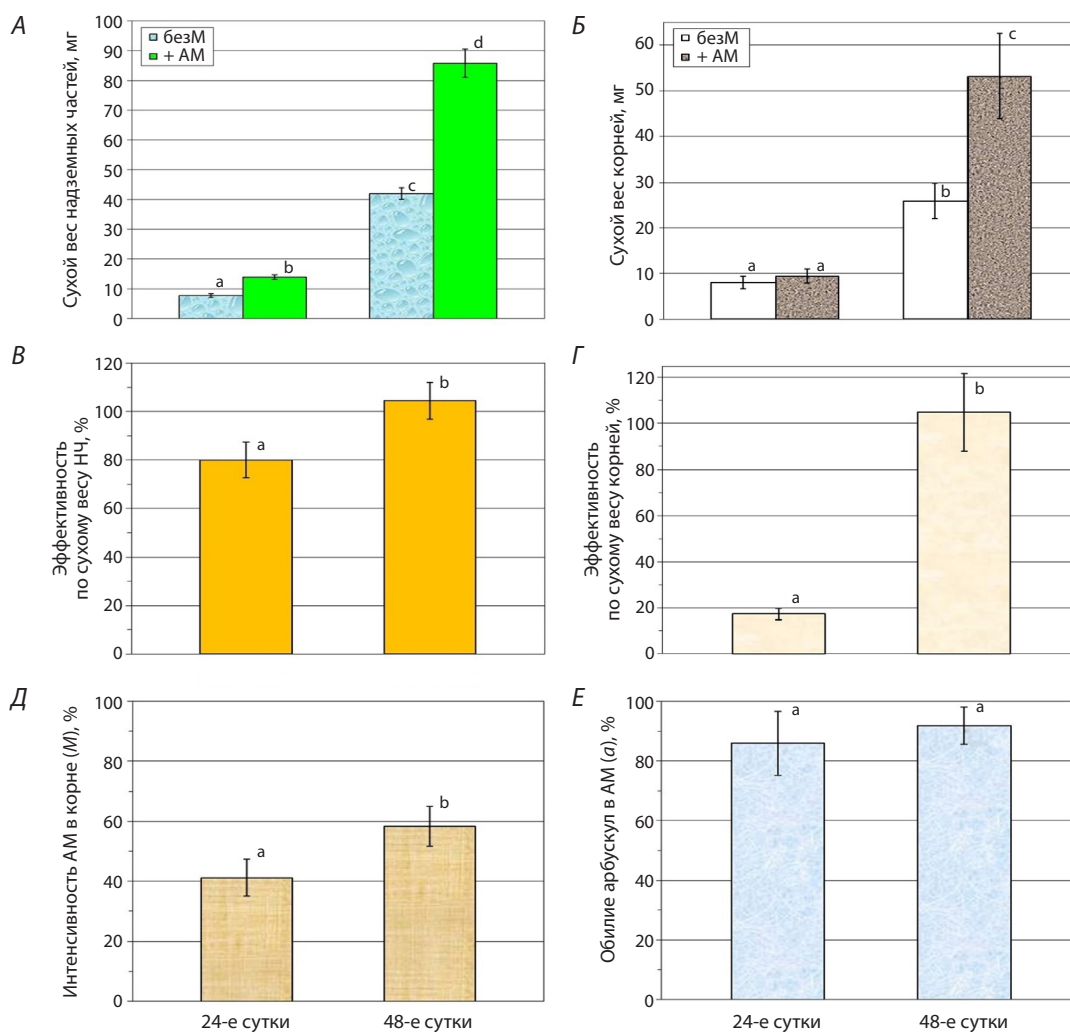


Рис. 1. Показатели продуктивности (А – сухой вес надземных частей, Б – сухой вес корней), симбиотической эффективности, рассчитанной по весу надземных частей (В) и корней (Г), и показатели микоризации: Д – интенсивность микоризной инфекции в корне (М), Е – обилие арбускул в микоризованной части корня (а) на 24-е и 48-е сутки от посадки и инокуляции.

Буквы над столбцами (a, b, c) указывают на достоверные ($p < 0.05$) различия показателей.

– достоверная негативная регуляция при микоризации генов *NIP1;2*, *NIP1;5*, *NIP2;1*, *NIP4;2*, *PIP2;3*, *SIP1;3*, *TIP1;1*, *TIP2;2*, *TIP4;1*.

Таким образом, в работе определены наиболее значимые гены аквапоринов, участвующие в развитии эффективного АМ-симбиоза в условиях недостатка влаги. В частности, таким геном является *NIP7;1* со специфической или индуцированной экспрессией при микоризации как в вегетативную, так и в репродуктивную фазы развития растения-хозяина. Особое внимание также следует уделить гену *XIP1;1* со специфической экспрессией в фазу цветения.

Гены подсемейства NIP обладали, как правило, позитивной регуляцией (повышенным уровнем экспрессии, $p < 0.05$, относительно уровня в контроле без инокуляции АМ-грибом) в раннюю фазу развития АМ-симбиоза, но к поздней фазе развития (фазе цветения) наблюдались как позитивная, так и негативная регуляция для генов этого семейства. Это свидетельствует о сложной регуляции ак-

вапоринов в зависимости от вегетативной/репродуктивной фазы развития растения-хозяина с перестройкой водного обмена в условиях засухи при микоризации.

Обсуждение

Результаты показали, что активное участие в развитии АМ симбиоза в условиях засухи принимают аквапорины подсемейств NIP и TIP. Однако только аквапорины TIP существенно влияют на транспорт воды через мембраны (Zhou et al., 2024). В то же время аквапорины NIP переносят разнообразные субстраты, включая металлоиды, но обладают низкой проницаемостью для воды. Предполагается, что белки NIP задействованы в обмене метаболитами между растением-хозяином и симбиотическими микроорганизмами (Kruse et al., 2006). Известно также, что при засухе растения могут снижать экспрессию генов аквапоринов для сохранения воды, поэтому особое внимание стоит уделить генам, экспрессия которых подавляется в условиях

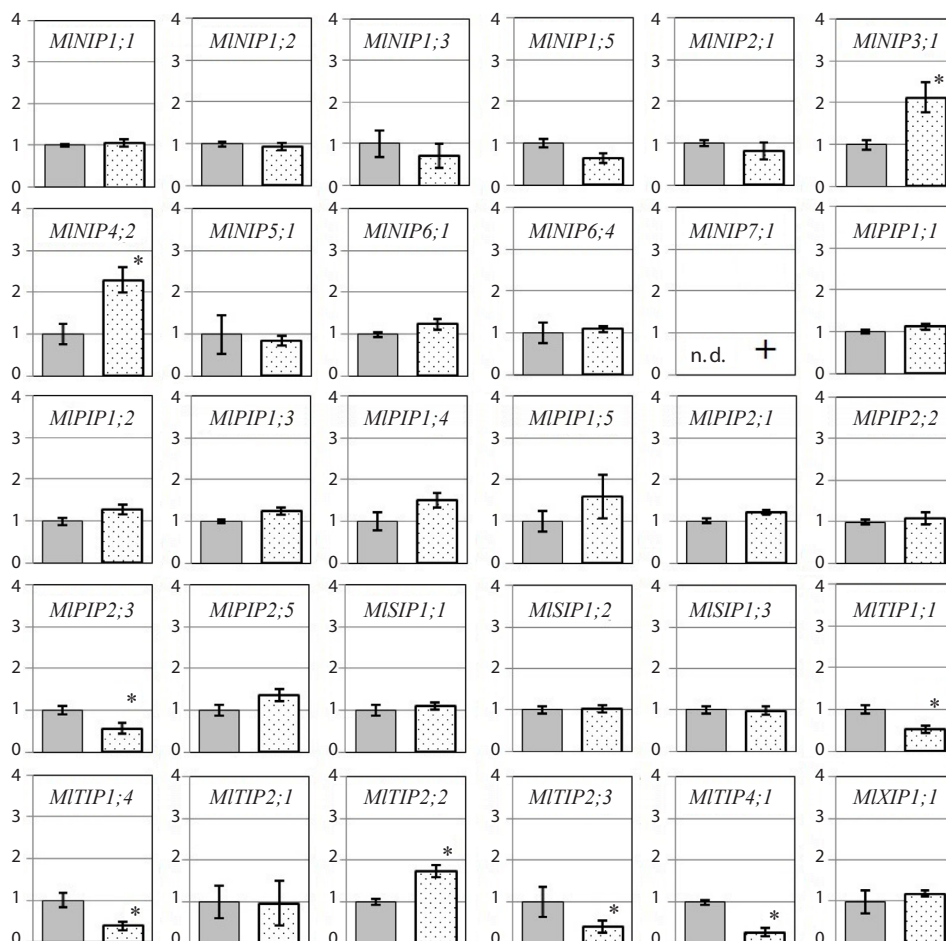


Рис. 2. Относительный уровень транскриптов (нормализованное значение $2^{-\Delta\Delta CT}$) в листьях *M. lupulina* на 24-е сутки от посадки и инокуляции АМ-грибом *R. irregularis* (в фазу развития 2-го листа) после засухи.

Серые столбцы (слева) – значения уровня транскриптов в контрольном варианте «безМ», песочные столбцы (справа) – значения уровня транскриптов в варианте «+АМ».

* Достоверные ($p < 0.05$) различия в вариантах «+АМ» и «безМ». n.d. и «+» – отсутствие экспрессии в варианте «безМ» при наличии специфической экспрессии в варианте «+АМ».

дефицита воды (Quiroga et al., 2019). По другим данным, дефицит влаги может служить триггером для активации некоторых генов аквапоринов, играющих ключевую роль в устойчивости растений к засухе (Jia, Liu, 2020; Zhou et al., 2024). Таким образом, взаимосвязи между экспрессией этих генов, эффективностью симбиоза растения с грибами АМ и устойчивостью к засухе остаются малоизученными (Sharma et al., 2021). Их исследование могло бы пролить свет на механизмы адаптации АМ-растений к водному стрессу.

По результатам настоящей работы подобранный режим полива, исходя из 0.4 ПВ в течение 7 дней до съема, был достаточным для развития симбиоза, что можно видеть по существенному отклику на микоризацию и высокой встречаемости АМ-гриба в корне растения-хозяина («засуха, вариант 2», см. табл. S1). Между тем показатели продуктивности были снижены в сравнении с таковыми в условиях нормального полива, исходя из 0.6 ПВ (Yurkov et al., 2020). Выявлена высокая эффективность симбиоза в модельной системе «*M. lupulina* + *R. irregularis*» в усло-

виях дефицита воды (0.4 ПВ) на ранних и поздних этапах развития растения-хозяина: на 24-е сутки, в фазу развития 2-го листа, когда наблюдалось значительное увеличение биомассы надземной части за счет микоризации, и на 48-е сутки, в фазу цветения, характеризуемую более высокой симбиотической эффективностью по сухому весу как надземных частей, так и корней, а также более высокой активностью развития АМ, что отразилось в повышении интенсивности микоризации в корне (M , %). С другой стороны, показатель обилия арбускул в микоризованной части корня (a , %) был высоким уже с ранней фазы развития симбиоза.

Ранее было показано, что в условиях нормального увлажнения (0.6 ПВ) (Yurkov et al., 2021) параметры эффективности и активности АМ тоже были высокими. Таким образом, выбранный режим засухи вызвал стресс, достаточный для изменения экспрессии ряда генов, но не критичный для функционирования самого АМ-симбиоза. Вместе с тем роль аквапоринов в развитии эффективных РМС в условиях дефицита воды, как и их регуляция при

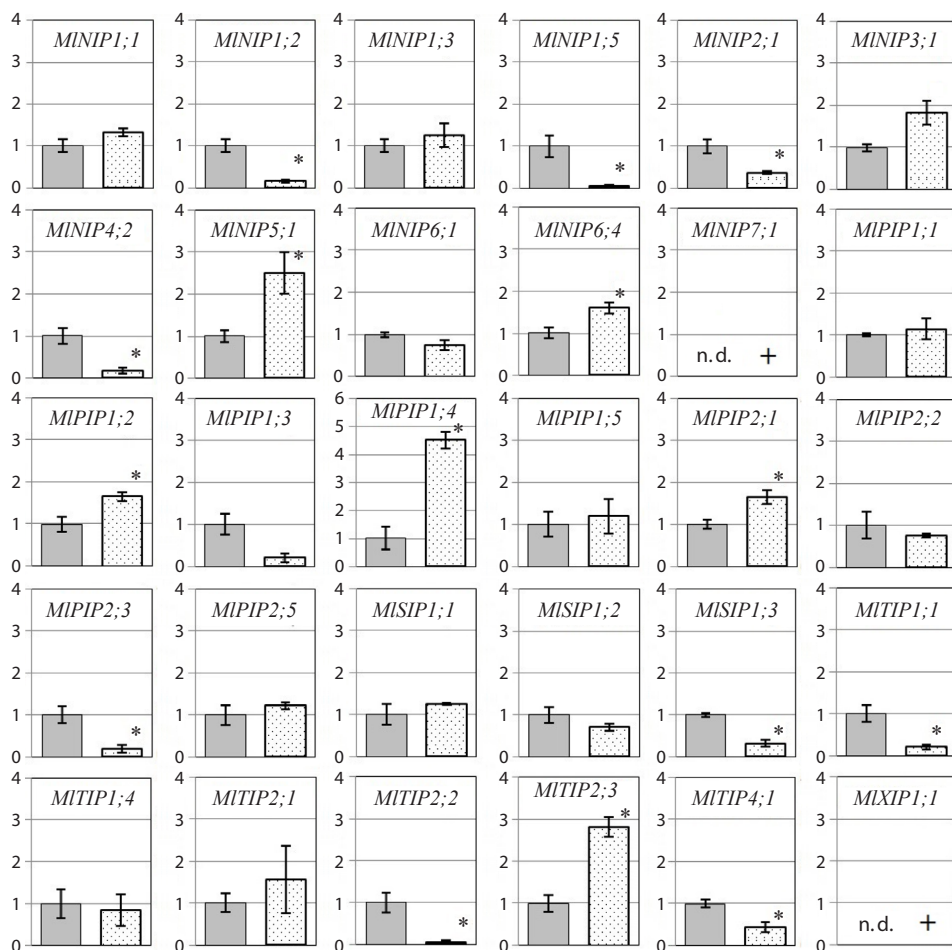


Рис. 3. Относительный уровень транскриптов (нормализованное значение $2^{-\Delta\Delta CT}$) в листьях *M. lupulina* на 48-е сутки от посадки и инокуляции АМ-грибом *R. irregularis* (в фазу цветения) после засухи. Усл. обозн. см. на рис. 2.

микоризации в целом, изучены недостаточно. Это связано с широким спектром субстратов у этих транспортеров, а также с их различной функцией в зависимости от типа ткани и субклеточной локализации (Данелия и др., 2024; Кудряшова и др., 2025). Полученные в нашем исследовании данные выявили разнонаправленные изменения экспрессии генов в зависимости от подсемейства и фазы развития: на ранней фазе (24-е сутки) наблюдалась позитивная регуляция генов подсемейства NIP (*NIP3;1*, *NIP4;2*, а также специфическая экспрессия *NIP7;1*) на фоне, как правило, негативной регуляции генов подсемейства TIP (*TIP1;1*, *TIP1;4*, *TIP2;3*, *TIP4;1*); в позднюю фазу (48-е сутки) обнаружен паритет позитивной и негативной регуляции в подсемействе NIP (по четыре гена, среди которых один ген со специфической экспрессией при микоризации – *NIP7;1*). Для подсемейства TIP, как и на ранней фазе, было характерно преобладание негативной регуляции (три гена). Также был определен ген со специфической экспрессией при микоризации в фазу цветения – *XIP1;1* из подсемейства XIP. Следует отметить малую изученность генов этого подсемейства. Известно, что белки XIP локализованы на плазматической мембране (Lopez et al., 2016; Noronha et al., 2016).

Представляет интерес сравнение данных, полученных в настоящем исследовании в условиях засухи (при 0.4 ПВ), с результатами анализа транскриптома микоризованных и немикоризованных растений люцерны хмелевидной в нормальных условиях увлажнения (при 0.6 ПВ; Yurkov et al., 2023). Из четырех генов с позитивной регуляцией в условиях засухи только ген *TIP2;2* обладал также позитивной регуляцией в нормальных условиях увлажнения в фазу развития 2-го листа, а также *PIP1;2* и *PIP2;1* (два из восьми) – в фазу цветения (Yurkov et al., 2023). Среди генов, характеризующихся снижением уровня экспрессии при засухе, лишь ген *NIP1;5* (один из девяти) тоже обладал снижением уровня транскрипции в условиях нормального увлажнения (Yurkov et al., 2023). Таким образом, остальные гены, имевшие дифференциальную экспрессию в условиях засухи в настоящем эксперименте, но не имеющие таковой в условиях нормального полива в эксперименте 2023 г., вероятно, могут считаться генами адаптации растений люцерны хмелевидной к условиям засухи. В их число вошли: *NIP3;1*, *NIP4;2*, специфический *NIP7;1*, *TIP5;1* – в фазу развития 2-го листа; гены *NIP3;1*, *NIP5;1*, *NIP6;4*, *NIP7;1* (специфический), *PIP1;4*, *TIP2;3* и *XIP1;1* (специфический) – в фазу цветения.

Сравнительный анализ с другими РМС выявил ряд аналогий (Asadollahi et al., 2023; Данелия и др., 2024; Wang et al., 2024; Кудряшова и др., 2025). В РМС “*Zea mays* + *R. irregularis*” ген *ZmTIP2;3* также подвергался позитивной регуляции при микоризации и предположительно играл важную роль в повышении устойчивости кукурузы к стрессу от засухи при микоризации. При этом данная РМС характеризовалась меньшей отзывчивостью на инокуляцию грибом АМ, поскольку лишь у немногих генов кукурузы (*ZmPIP1;6*, *ZmPIP2;2*, *ZmTIP2;3*, *ZmTIP4;1*) экспрессия существенно изменилась в ответ на микоризацию. С другой стороны, показана негативная регуляция при микоризации в фазы развития 2-го и 13-го листа для некоторых генов подсемейства TIP (*ZmTIP3;1*, *ZmTIP4;4* – в обе фазы; *ZmTIP4;3* – только в фазу 13-го листа) в листьях кукурузы (Wang et al., 2024). Негативная регуляция в условиях засухи некоторых генов подсемейства TIP (*PtTIP2;1* и *PtTIP5;1*) показана и в корнях в РМС “*Poncirus trifoliata* + *F. mosseae*” (He J.-D. et al., 2019). Таким образом, несмотря на то, что результаты в РМС “*Z. mays* + *R. irregularis*” (на 56-е сутки) согласуются с результатами в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*” (на 48-е сутки) по гену *TIP2;3*, надо отметить фазозависимый характер эффекта (зависимость от фазы развития растения), видоспецифические и тканеспецифические особенности в динамике экспрессии аквапоринов.

В пользу предположения о высокой тканеспецифичности свидетельствует более ранняя оценка относительного уровня экспрессии в корнях в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*” (Крюков и др., 2025), показавшая, что в фазу развития 2-го листа (вегетативную фазу) микоризация приводила к повышенной экспрессии генов *NIP1;2*, *NIP1;5*, *TIP2;1*, специфической экспрессии *NIP4;2* и сниженной экспрессии *NIP2;1*, *NIP3;1*, *PIP1;4*, *TIP3;1*, *XIP1;1*. В то же время в фазу цветения (генеративную фазу) было выявлено два гена со специфической экспрессией – *NIP4;1*, *NIP7;1*, при негативной регуляции целой группы – 14 генов подсемейств NIP, PIP, SIP, TIP и XIP (Крюков и др., 2025). Вместе все это свидетельствует о том, что в исследовании установлена высокая тканеспецифическая экспрессия генов семейства аквапоринов: лишь ген *NIP4;2* обладал позитивной регуляцией как в корнях, так и в листьях в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*” в вегетативную фазу; лишь ген *NIP7;1* имел специфическую экспрессию при микоризации в генеративную фазу, хотя общий спектр генов с негативной регуляцией в листьях и корнях при микоризации в фазу цветения был шире – *NIP2;1*, *SIP1;3*, *TIP2;2*, *TIP4;1*. Фазозависимый эффект у генов-маркеров развития эффективного АМ-симбиоза был показан и на иных семействах генов, например в SWEET семействе транспортеров сахаров (Крюков и др., 2023; Кудряшова и др., 2024, 2025). В частности, именно ген *TIP2;3* единственный в подсемействе TIP обладает сменой регуляции с негативной на позитивную при переходе от ранней (24-е сутки) фазы микоризации к поздней фазе (48-е сутки). Возможно, функционально его компенсирует ген *TIP2;2* в фазу 2-го листа, поскольку последний имел обратную смену регуляции, с позитивной на негативную. Подобное

предположение о компенсаторном механизме транскрипции других аквапоринов было выдвинуто R. Porcel с коллегами (Porcel et al., 2005; Sharma et al., 2021). Что касается тканеспецифичности экспрессии аквапоринов TIP и PIP, то ее связывают с усилением водообмена и, как следствие, с усилением роста растений (He F. et al., 2016). Так, уровни экспрессии *RpTIP2;1* и *RpPIP2;1* под действием микоризации при засухе последовательно повышались в разных тканях – листьях, стебле и корнях, тем самым направляя потоки воды к тканям растений. Но *RpTIP1;3*, *RpPIP1;3* имели негативную регуляцию в листьях в РМС “*Robinia pseudoacacia* + *R. irregularis*” (He F. et al., 2016).

В результате настоящего исследования в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*” показана негативная регуляция в подсемействе PIP (ген *PIP2;3*) как на ранней (фаза развития 2-го листа), так и на поздней (фаза цветения) стадиях развития. Интересно, что, согласно литературным данным, более высокая активность белков PIP должна была бы обусловить большую проводимость воды в тканях растений в условиях засухи. Однако эта гипотеза была опровергнута в ходе экспериментов в РМС “*Glycine max* + *F. mosseae*” и “*Lactuca sativa* + *F. mosseae*”, в которых наблюдали негативную регуляцию генов PIP (*GmPIP1*, *GmPIP2*, *LsPIP1*, *LsPIP2*) (Porcel et al., 2006). Такой эффект АМ-симбиоза представляет собой регулирующий механизм, который позволяет растению-хозяину экономить метаболические ресурсы и потери воды в условиях стресса. Согласно предположению J.M. Ruiz-Lozano, R. Aroca (2010), гриб АМ помогает растению удерживать поглощенную воду, снижая водопроницаемость мембран путем подавления экспрессии генов аквапоринов подсемейства PIP. С другой стороны, поскольку гифы гриба сами могут снабжать растение-хозяина водой, это может быть стратегией, позволяющей АМ-растениям меньше зависеть от интенсивной экспрессии собственных аквапоринов и таким образом экономить энергию (Sharma et al., 2021). Основываясь на исследованиях функциональной значимости аквапоринов, можно сделать вывод, что именно подсемейство TIP включает основные переносчики воды через вакуолярную мембрану (тонопласт) (Zhou et al., 2024). Вероятно, их подавление на поздних этапах развития симбиоза способствует минимизации потерь воды и оптимизации клеточного гомеостаза (Quiroga et al., 2019). Иными словами, негативная регуляция генов TIP на этапе цветения может отражать стратегию сохранения воды в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*”.

Аквапорины подсемейства NIP принимают участие в транспорте множества субстратов, включая токсичные металлоиды, способны переносить растительный глицерин (Dean et al., 1999), играют важную роль в развитии взаимодействия между партнерами симбиоза растений с микроорганизмами (Kruse et al., 2006). Собственно исследование аквапоринов началось именно с изучения белка NLM подсемейства NIP, обнаруженного в перибактероидной мембране симбиотических корневых клубеньков сои (Sandal, Marcker, 1988). Аквапорины подсемейства NIP встречаются и у небобовых растений (Kruse et al., 2006). Таким образом, аквапорины подсемейства NIP

могут иметь важное значение в адаптации к засухе при развитии эффективного симбиоза с грибом АМ в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*”. Известно, что аквапорины NIP ближе по структуре к бактериальному AqpZ, чем к глицериновым переносчикам из подсемейства GLP (Heumann, Engel, 1999). Это указывает на то, что предковый аквапорин у растений, вероятно, не обладал способностью транспортировать глицерин и данная функция возникла позднее в процессе эволюции, как компенсация отсутствия GLP у растений (Murata et al., 2000). Возможно, в процессе адаптации к засухе именно транспорт глицерина в листьях растения-хозяина в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*” играет важную роль.

Повышенная экспрессия *NIP3;1*, *NIP4;2*, а также специфическая экспрессия *NIP7;1* предполагают их роль в ранних этапах симбиоза “*M. lupulina* + *R. irregularis*”. Паритет позитивной и негативной регуляции в листьях растения-хозяина в подсемействе NIP на позднем этапе симбиоза “*M. lupulina* + *R. irregularis*” свидетельствует о фазозависимом эффекте микоризации на экспрессию аквапоринов, которые участвуют в развитии эффективного АМ-симбиоза. При этом гены аквапоринов *NIP3;1* и специфический *NIP7;1* сохранили позитивную регуляцию при смене фазы развития. Таким образом, микоризация грибом АМ *R. irregularis* модулирует экспрессию аквапоринов, причем характер изменений зависит от фазы развития растения. Можно полагать, что гены *NIP3;1* и специфический *NIP7;1* могут выступать в качестве позитивных маркеров развития эффективной АМ в условиях засухи. Такая активация NIP, вероятно, связана с активным метаболическим обменом в АМ-симбиозе. Доля аквапоринов, имеющих подавленную экспрессию в условиях засухи при микоризации, может зависеть от ее длительности. Так, например, согласно экспериментам G. Bárcana с коллегами (2014), в РМС “*Zea mays* + *R. intraradices*” при кратковременной засухе (4 сут) наблюдалась негативная регуляция лишь *ZmNIP2;1*, *ZmNIP2;2*, но увеличение длительности засухи до 12 сут приводило к переходу значительной части генов аквапоринов к негативной регуляции (*ZmPIP1;1*, *ZmPIP1;2*, *ZmPIP1;3*, *ZmPIP1;4*, *ZmPIP2;2*, *ZmPIP2;4*, *ZmNIP2;1*, *ZmNIP2;2*, *ZmTIP1;1*, *ZmTIP1;2*). Последующее увеличение длительности засухи (до 42 сут) в РМС “*Poncirus trifoliata* + *F. mosseae*” показало, что экспрессия всех изученных генов аквапоринов подавлялась в корнях при микоризации (Zou et al., 2019). Другими причинами изменения экспрессии одних и тех же изоформ генов аквапоринов могут быть не только тип анализируемой растительной ткани, но и специфические особенности взаимодействия растений с разными видами грибов АМ (Bárcana et al., 2014; Sharma et al., 2021).

По-видимому, существуют и иные механизмы формирования устойчивости микоризованных растений к засухе в связи с повышением уровня экспрессии генов подсемейств PIP и TIP (в настоящем исследовании наблюдалась позитивная регуляция *PIP1;2*, *PIP1;4*, *PIP2;1*, *TIP2;3* в фазу цветения). Так, согласно (Sharma et al., 2021), повышенная активность белков PIP и TIP непосредственно связана с устойчивостью растений к засухе и проявляет-

ся: 1) в повышении эффективности водного транспорта (гидравлической проводимости корней); 2) интенсификации обмена питательными веществами, в частности поглощения азота; 3) усилении фотосинтеза (благодаря участию аквапоринов в диффузии CO₂) и увеличении производства фотосинтетических веществ (Uehlein et al., 2003; Bárcana et al., 2012); 4) поддержании осмотического давления и тургора, в том числе за счет регуляции работы устьиц, улучшения водного статуса растений благодаря повышению эффективности использования воды (Sharma et al., 2021). Надо отметить, что исследования, разъясняющие причины негативной регуляции аквапоринов при засухе в условиях микоризации, являются единичными (Asadollahi et al., 2023). Это подчеркивает актуальность проведенного анализа.

Таким образом, можно заключить, что микоризный симбиоз существенно повлиял на водный статус растения-хозяина в РМС “*M. lupulina* + *R. irregularis*” посредством регуляции аквапоринов в условиях засухи.

Заключение

Данное исследование показало, что, несмотря на условия дефицита водного питания, растительно-микробная система “*M. lupulina* + *R. irregularis*” продемонстрировала высокие показатели микоризации и симбиотической эффективности. В раннюю фазу (24-е сутки, 2-й лист) наблюдалась разнонаправленная регуляция: активация генов *NIP3;1*, *NIP4;2*, *TIP2;2*, специфическая экспрессия *NIP7;1* и подавление генов *PIP2;3*, *TIP1;1*, *TIP1;4*, *TIP2;3*, *TIP4;1*. Подсемейство SIP не проявляло значимых изменений. В позднюю фазу (48-е сутки, цветение) обнаружено более выраженное подавление экспрессии большинства генов (*NIP1;2*, *NIP1;5*, *NIP2;1*, *NIP4;2*, *PIP2;3*, *SIP1;3*, *TIP1;1*, *TIP2;2*, *TIP4;1*). Позитивную регуляцию среди основных переносчиков воды сохраняли *PIP1;2*, *PIP1;4*, *PIP2;1*, *TIP2;3*. Два гена (*NIP7;1*, *XIP1;1*) сохраняли активность, что может указывать на их специфическую роль в симбиозе. Среди представленных генов маркерами развития эффективной АМ в условиях засухи не могут быть гены *TIP2;2*, *PIP1;2*, *PIP2;1* и *NIP1;5* в связи с тем, что они обладают той же регуляцией в условиях нормального увлажнения по результатам сравнительного анализа с опубликованными ранее данными транскриптомных профилей листьев *M. lupulina*.

В функциональном плане гены подсемейства TIP, кодирующие белки, которые регулируют транспорт воды через вакуолярную мембрану, показали наиболее значимое подавление как на раннем, так и на позднем этапе. Вероятно, именно они принимают участие в осморегуляции при водном стрессе. Гены NIP, предположительно, вовлечены в процессы взаимодействия с грибом-симбионтом, что подтверждается их избирательной активацией. Роль генов подсемейства XIP в реакции на засуху при микоризации еще предстоит изучить. Полученные данные расширяют понимание механизмов адаптации микоризованных растений к засухе, в частности: 1) подтверждают ключевую роль аквапоринов подсемейства TIP в регуляции водного баланса; 2) указывают на возможную специфичность

PIP-генов для микоризного симбиоза; 3) демонстрируют фазозависимый характер регуляции экспрессии аквапоринов, что подчеркивает сложность их взаимодействия с грибом-симбионтом. Таким образом, исследование вносит вклад в изучение молекулярных основ засухоустойчивости микоризованных растений и открывает перспективы для дальнейшего анализа роли отдельных генов аквапоринов в симбиотических системах.

Список литературы / References

- Воробьев Н.И., Юрков А.П., Проворов Н.А. Свидетельство N2010612112 о регистрации компьютерной программы «Программа для расчета показателей микоризации корней растений» (от 2 декабря 2016 г.). М.: Федеральная служба по интеллектуальной собственности, 2016 [Vorobyev N.I., Yurkov A.P., Provorov N.A. Certificate N2010612112 about the Registration of the Computer Program "Program for Calculating the Mycorrhization Indices of Plant Roots" (Dated December 2, 2016). Moscow: The Federal Service for Intellectual Property, 2016 (in Russian)]
- Данелия Г.В., Емельянов В.В., Шишова М.Ф. Роль транспортирующих воду аквапоринов подсемейств PIP и TIP в онтогенезе растений и адаптации к стрессовым факторам. *Экологическая генетика*. 2024;22(4):343-368. doi 10.17816/ecogen637037 [Daneliia G.V., Yemelyanov V.V., Shishova M.F. The role of water-transporting aquaporins of the PIP and TIP subfamilies in plant development and adaptation to stress factors. *Ecological Genetics*. 2024;22(4):343-368. doi 10.17816/ecogen637037]
- Крюков А.А., Горбунова А.О., Кудряшова Т.Р., Иванченко О.Б., Шишова М.Ф., Юрков А.П. SWEET транспортеры *Medicago lupulina* в арбускулярно-микоризной системе в условиях среднего уровня доступного фосфора. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(3):189-196. doi 10.18699/VJGB-23-25 [Kryukov A.A., Gorbunova A.O., Kudriashova T.R., Ivanchenko O.B., Shishova M.F., Yurkov A.P. SWEET transporters of *Medicago lupulina* in the arbuscular-mycorrhizal system in the presence of medium level of available phosphorus. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed*. 2023;27(3):189-196. doi 10.18699/VJGB-23-25]
- Крюков А.А., Кудряшова Т.Р., Беляева А.И., Горенкова А.И., Юрков А.П. Влияние инокуляции грибом *Rhizophagus irregularis* на экспрессию генов аквапоринов в корнях *Medicago lupulina* в условиях засухи. *Экологическая генетика*. 2025;23(3):263-275. doi 10.17816/ecogen643544 [Kryukov A.A., Kudriashova T.R., Belyaeva A.I., Gorenkova A.I., Yurkov A.P. Effect of *Rhizophagus irregularis* inoculation on aquaporin gene expression in the roots of *Medicago lupulina* in drought conditions. *Ecological Genetics*. 2025;23(3):263-275. doi 10.17816/ecogen643544 (in Russian)]
- Кудряшова Т.Р., Крюков А.А., Горбунова А.О., Иванченко О.Б., Юрков А.П. SWEET гены *Medicago lupulina* при развитии симбиоза с арбускулярной микоризой в условиях низкого уровня фосфора. *Бутлеровские сообщения*. 2024;78(5):119-127. doi 10.37952/ROIjbc-01/24-78-5-119/ROI-jbc-C/24-7-2-8 [Kudryashova T.R., Kryukov A.A., Gorbunova A.O., Ivanchenko O.B., Yurkov A.P. SWEET genes of *Medicago lupulina* during the development of symbiosis with arbuscular mycorrhiza under conditions of low phosphorus levels. *Butlerov Communications*. 2024;78(5):119-127. doi 10.37952/ROIjbc-01/24-78-5-119/ROI-jbc-C/24-7-2-8 (in Russian)]
- Кудряшова Т.Р., Крюков А.А., Горенкова А.И., Юрков А.П. Аквапорины и их роль в растительно-микробных системах. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(2):238-247. doi 10.18699/vjgb-25-27 [Kudriashova T.R., Kryukov A.A., Gorenkova A.I., Yurkov A.P. Aquaporins and their role in plant-microbial systems. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding = Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(2):238-247. doi 10.18699/vjgb-25-27]
- Asadollahi M., Iranbakhsh A., Ahmadvand R., Ebadi M., Mehrgan I. Synergetic effect of water deficit and arbuscular mycorrhizal symbiosis on the expression of aquaporins in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots: insights from NGS RNA-sequencing. *Physiol Mol Biol Plants*. 2023;29(2):195-208. doi 10.1007/s12298-023-01285-w
- Bárzana G., Aroca R., Paz J.A., Chaumont F., Martínez-Ballesta M.C., Carvajal M., Ruiz-Lozano J.M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions. *Ann Bot*. 2012;109(5):1009-1017. doi 10.1093/aob/mcs007
- Bárzana G., Aroca R., Bienert G.P., Chaumont F., Ruiz-Lozano J.M. New insights into the regulation of aquaporins by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize plants under drought stress and possible implications for plant performance. *Mol Plant Microbe Interact*. 2014;27(4):349-363. doi 10.1094/MPMI-09-13-0268-R
- Dean R.M., Rivers R.L., Zeidel M.L., Roberts D.M. Purification and functional reconstitution of soybean nodulin 26. An aquaporin with water and glycerol transport properties. *Biochemistry*. 1999;38(1):347-353. doi 10.1021/bi982110c
- He F., Zhang H., Tang M. Aquaporin gene expression and physiological responses of *Robinia pseudoacacia* L. to the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* and drought stress. *Mycorrhiza*. 2016;26(4):311-323. doi 10.1007/s00572-015-0670-3
- He J.-D., Dong T., Wu H.-H., Zou Y.-N., Wu Q.-S., Kuča K. Mycorrhizas induce diverse responses of root TIP aquaporin gene expression to drought stress in trifoliolate orange. *Sci Hort*. 2019;243:64-69. doi 10.1016/j.scienta.2018.08.010
- Heymann J.B., Engel A. Aquaporins: phylogeny, structure, and physiology of water channels. *News Physiol Sci*. 1999;14:187-193. doi 10.1152/physiologyonline.1999.14.5.187
- Hussain A., Tanveer R., Mustafa G., Farooq M., Amin I., Mansoor S. Comparative phylogenetic analysis of aquaporins provides insight into the gene family expansion and evolution in plants and their role in drought tolerant and susceptible chickpea cultivars. *Genomics*. 2020;112(1):263-275. doi 10.1016/j.ygeno.2019.02.005
- Jia Y., Liu X. Polyploidization and pseudogenization in allotetraploid frog *Xenopus laevis* promote the evolution of aquaporin family in higher vertebrates. *BMC Genomics*. 2020;21(1):525. doi 10.1186/s12864-020-06942-y
- Kruse E., Uehlein N., Kaldenhoff R. The aquaporins. *Genome Biol*. 2006;7(2):206. doi 10.1186/gb-2006-7-2-206
- Kudoyarova G., Veselov D., Yemelyanov V., Shishova M. The role of aquaporins in plant growth under conditions of oxygen deficiency. *Int J Mol Sci*. 2022;23(17):10159. doi 10.3390/ijms231710159
- Lopez D., Amira M.B., Brown D., Muries B., Brunel-Michac N., Bourgerie S., Porcheron B., ... Fumanal B., Label P., Pujade-Renaud V., Auguin D., Venisse J.-S. The *Hevea brasiliensis* XIP aquaporin subfamily: genomic, structural and functional characterizations with relevance to intensive latex harvesting. *Plant Mol Biol*. 2016;91(4-5):375-396. doi 10.1007/s11103-016-0462-y
- Luo Y., Ma L., Du W., Yan S., Wang Z., Pang Y. Identification and characterization of salt- and drought-responsive AQP family genes in *Medicago sativa* L. *Int J Mol Sci*. 2022;23(6):3342. doi 10.3390/ijms23063342
- Ma J.F., Tamai K., Yamaji N., Mitani N., Konishi S., Katsuhara M., Ishiguro M., Murata Y., Yano M. A silicon transporter in rice. *Nature*. 2006;440(7084):688-691. doi 10.1038/nature04590
- MacRae E. Extraction of plant RNA. In: Hilario E., Mackay J. (Eds) *Protocols for Nucleic Acid Analysis by Nonradioactive Probes. Methods in Molecular Biology*. Vol. 353. Humana Press, 2007; 15-24. doi 10.1385/1-59745-229-7:15
- Mammadov J., Buyyarapu R., Guttikonda S., Parliament K., Abdurakhmonov I.Y., Kumpatla S.P. Wild relatives of maize, rice, cotton, and soybean: treasure troves for tolerance to biotic and abiotic stresses. *Front Plant Sci*. 2018;9:886. doi 10.3389/fpls.2018.00886

- Maurel C., Verdoucq L., Luu D.T., Santoni V. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu Rev Plant Biol.* 2008;59(1):595-624. doi 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092734
- Maurel C., Boursiac Y., Luu D.T., Santoni V., Shahzad Z., Verdoucq L. Aquaporins in plants. *Physiol Rev.* 2015;95(4):1321-1358. doi 10.1152/physrev.00008.2015
- Min X., Wu H., Zhang Z., Wei X., Jin X., Ndayambaza B., Wang Y., Liu W. Genome-wide identification and characterization of the aquaporin gene family in *Medicago truncatula*. *J Plant Biochem Biotechnol.* 2019;28(3):320-335. doi 10.1007/s13562-018-0484-4
- Mizutani M., Watanabe S., Nakagawa T., Maeshima M. Aquaporin *NIP2;1* is mainly localized to the ER membrane and shows root-specific accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 2006;47(10):1420-1426. doi 10.1093/pcp/pcl004
- Murata K., Mitsuoka K., Hirai T., Walz T., Agre P., Heymann J.B., Engel A., Fujiyoshi Y. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature.* 2000;407(6804):599-605. doi 10.1038/35036519
- Noronha H., Araújo D., Conde C., Martins A.P., Soveral G., Chaumont F., Delrot S., Gerós H. The grapevine uncharacterized intrinsic protein 1 (VvXIP1) is regulated by drought stress and transports glycerol, hydrogen peroxide, heavy metals but not water. *PLoS One.* 2016;11(8):e0160976. doi 10.1371/journal.pone.0160976
- Phillips J.M., Hayman D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc.* 1970;55(1):158-161. doi 10.1016/S0007-1536(70)80110-3
- Porcel R., Gómez M., Kaldenhoff R., Ruiz-Lozano J.M. Impairment of *NtAQPI* gene expression in tobacco plants does not affect root colonization pattern by arbuscular mycorrhizal fungi but decreases their symbiotic efficiency under drought. *Mycorrhiza.* 2005;15:417-423. doi 10.1007/s00572-005-0346-5
- Porcel R., Aroca R., Azcon R., Ruiz-Lozano J.M. PIP aquaporin gene expression in arbuscular mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants in relation to drought stress tolerance. *Plant Mol Biol.* 2006;60:389-404. doi 10.1007/s11103-005-4210-y
- Quiroga G., Erice G., Aroca R., Chaumont F., Ruiz-Lozano J.M. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to the regulation of radial root water transport in maize plants under water deficit. *Environ Exp Bot.* 2019;167:103821. doi 10.1016/j.envexpbot.2019.103821
- Remy W., Taylor T.N., Hass H., Kerp H. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91(25):11841-11843. doi 10.1073/pnas.91.25.11841
- Ruiz-Lozano J.M., Aroca R. Host response to osmotic stresses: stomatal behaviour and water use efficiency of arbuscular mycorrhizal plants. In: Koltai H., Kapulnik Y. (Eds) *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Dordrecht: Springer, 2010;239-256. doi 10.1007/978-90-481-9489-6_11
- Sandal N.N., Marcker K.A. Soybean nodulin 26 is homologous to the major intrinsic protein of the bovine lens fiber membrane. *Nucleic Acids Res.* 1988;16:9347-9348. doi 10.1093/nar/16.19.9347
- Sharma K., Gupta S., Thokchom S.D., Jangir P., Kapoor R. Arbuscular mycorrhiza-mediated regulation of polyamines and aquaporins during abiotic stress: deep insights on the recondite players. *Front Plant Sci.* 2021;12:642101. doi 10.3389/fpls.2021.642101
- Singh S., Bhatt V., Kumar V., Kumawat S., Khatri P., Singla P., Shivaraj S.M., Nadaf A., Deshmukh R., Sharma T.R., Sonah H. Evolutionary understanding of aquaporin transport system in the basal eudicot model species *Aquilegia coerulea*. *Plants.* 2020;9(6):799. doi 10.3390/plants9060799
- Smith S.E., Read D.J. (Eds) *Mycorrhizal Symbiosis*. San Diego, CA: Academic Press, 2008. doi 10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6
- Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi S. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. (Eds) *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. Paris: INRA, 1986;217-221
- Uehlein N., Lovisolo C., Siefritz F., Kaldenhoff R. The tobacco aquaporin NtAQPI is a membrane CO₂ pore with physiological functions. *Nature.* 2003;425(6959):734-737. doi 10.1038/nature02027
- Wang D., Ni Y., Xie K., Li Y., Wu W., Shan H., Cheng B., Li X. Aquaporin *ZmTIP2;3* promotes drought resistance of maize through symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi. *Int J Mol Sci.* 2024;25(8): 4205. doi 10.3390/ijms25084205
- Yurkov A.P., Jacobi L.M., Gapeeva N.E., Stepanova G.V., Shishova M.F. Development of arbuscular mycorrhiza in highly responsive and mycotrophic host plant – black medick (*Medicago lupulina* L.). *Russ J Dev Biol.* 2015;46(5):263-275. doi 10.1134/S1062360415050082
- Yurkov A., Kryukov A., Gorbunova A., Sherbakov A., Dobryakova K., Mikhaylova Y., Afonin A., Shishova M. AM-induced alteration in the expression of genes, encoding phosphorus transporters and enzymes of carbohydrate metabolism in *Medicago lupulina*. *Plants.* 2020; 9(4):486. doi 10.3390/plants9040486
- Yurkov A., Puzanskiy R., Avdeeva G., Jacobi L., Gorbunova A., Kryukov A., Kozhemyakov A., ... Yemelyanov V., Shavarda A., Kirpichnikova A., Smolikova G., Shishova M. Mycorrhiza-induced alterations in metabolome of *Medicago lupulina* leaves during symbiosis development. *Plants.* 2021;10(11):2506. doi 10.3390/plants10112506
- Yurkov A.P., Afonin A.M., Kryukov A.A., Gorbunova A.O., Kudryashova T.R., Kovalchuk A.I., Gorenkova A.I., ... Zhukov V.A., Puzanskiy R.K., Mikhailova Y.V., Yemelyanov V.V., Shishova M.F. The effects of *Rhizophagus irregularis* inoculation on transcriptome of *Medicago lupulina* leaves at early vegetative and flowering stages of plant development. *Plants.* 2023;12:3580. doi 10.3390/plants12203580
- Zhou X., Yi D., Ma L., Wang X. Genome-wide analysis and expression of the aquaporin gene family in *Avena sativa* L. *Front Plant Sci.* 2024;14:1305299. doi 10.3389/fpls.2023.1305299
- Zou Y.N., Wu H.H., Giri B., Wu Q.S., Kuča K. Mycorrhizal symbiosis down-regulates or does not change root aquaporin expression in trifoliolate orange under drought stress. *Plant Physiol Biochem.* 2019; 144:292-299. doi 10.1016/j.plaphy.2019

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 31.08.2025. После доработки 27.11.2025. Принята к публикации 03.12.2025.