

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



БОТАЛОВА КСЕНИЯ ИВАНОВНА

**ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ И ЩЕЛОЧНОСТИ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ
НА СОСТОЯНИЕ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ И РАЗВИТИЕ
*TRITICUM AESTIVUM L., SECALE CEREALE L.,
PISUM SATIVUM L.***

1.5.21 – физиология и биохимия растений

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор, О.З. Еремченко

Пермь – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Окислительный стресс растений	9
1.2 Антиоксидантные механизмы защиты растений.....	12
1.2.1 Ферментативные антиоксиданты	14
1.2.2 Низкомолекулярные антиоксиданты	17
1.3 Механизмы рН-регуляции в клетке растений.....	25
1.4 Адаптация растений к кислой и щелочной корневой среде	30
1.4.1 О кислых и щелочных почвах.....	30
1.4.2 Влияние на растения кислой реакции корневой среды.....	31
1.4.3 Влияние на растения щелочной реакции корневой среды	33
1.4.4 Адаптация растений к низким и высоким значениям рН	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1 Объекты и условия выращивания	41
2.2 Определение физиолого-биохимических показателей	42
2.3 Математическая обработка результатов.....	47
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ	49
3.1 Изменение длины и массы растений в условиях кислотного и щелочного стрессов	49
3.2 Динамика содержания воды в листьях растений.....	55
3.3 Динамика содержания пероксида водорода.....	59
3.4 Динамика пероксидазной и каталазной активности.....	63
3.5 Динамика содержания восстановленной аскорбиновой кислоты.....	72
3.6 Динамика содержания пролина	76
3.7 Динамика содержания флавоноидов.....	82
3.8 Изменение содержания органических кислот.....	91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
ВЫВОДЫ	111
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	113
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	137

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Адаптивная способность растений – один из основных факторов, определяющих ареалы распространения видов на планете, возможность их интродукции и культивирования [Духовский и др., 2003; Трунова, 2007; Gill, Tuteja, 2010; Давлатназарова, 2016]. Оценка адаптивного потенциала растений невозможна без знания физиологических основ их устойчивости.

Стрессор – сильнодействующий фактор внешней среды, способный вызвать в организме повреждение и даже привести к смерти, т.к. по силе превышает адаптивные возможности организма. Концепция стресса у растений до сих пор остается глубоко обсуждаемой и противоречивой. Перспективной стратегией для установления показателей стрессового состояния растений считают использование окислительно-восстановительных маркеров (окислительный стресс и антиоксиданты) [Jansen, Potters, 2017; Sousa et al., 2023].

Антиоксидантной защите растений при стрессе, вызванном механическими, физическими, химическими и биологическими факторами окружающей среды, посвящено множество современных работ, в том числе, обзорных [Demidchik, 2015; Noctor et al., 2015; Загоскина, Назаренко, 2016; Прадедова и др., 2017; Колупаев, Карпец, 2019; Dumanovic et al., 2020; Yang et al., 2021]. Одним из наименее изученных стрессов, по мнению ученых, остается стресс, обусловленный щелочной или кислой реакцией корневой среды [Latef, Tran, 2016; Zhang et al., 2017; Bhuyan et al., 2019; Sagervanshi et al., 2022].

Под воздействием кислой и щелочной реакции нарушались строение и функции клеток корня растений [Ктиторова, Скобелева, 2008; Yang et al., 2008; Radi et al., 2012; Lv et al., 2014; Shavrukov, Hirai, 2016], что повышает риск возникновения стресса от засухи [Bhuyan et al., 2019]. При осмотическом стрессе в клетках растений концентрируются низкомолекулярные соединения, снижающие водный потенциал цитозоля

[Guo et al., 2017; Arif et al., 2020; Yang et al., 2021]. В связи с этим представляет интерес участие осмопротекторных соединений в процессах адаптации растений к кислотному и щелочному стрессу.

Электрохимический градиент протонов служит движущей силой, обеспечивающей транспорт ионов и метаболитов через цитоплазматическую мембрану; под воздействием кислых и щелочных растворов эффективность процессов поддержки рН цитоплазмы может уменьшаться [Bhuyan et al., 2019; Sagervanshi et al., 2022]. Активизацию механизмов рН-гомеостаза в растениях в условиях стресса связывают с изменениями в метаболизме органических кислот [Lopez-Bucio et al., 2000; Liu, Shi, 2010; Shavrukov, Hirai, 2016].

В зависимости от стресс-фактора и генотипа качественно отличаются ответные реакции растений [Jansen, Potters, 2017; Wang et al., 2022; Wu et al., 2022]. К перспективным маркерам стрессового состояния растений относят содержание воды в тканях, антиоксидантную защиту, концентрацию пролина, восстановительное состояние аскорбата, концентрацию H_2O_2 , уровень перекисного окисления липидов [Silveira, Sousa, 2024]. Наиболее подходит для изучения стрессового состояния лист, т.к. в нем представлена центральная часть метаболизма растений и системных реакций на эндогенные и внешние возмущения [Souza, Cardoso, 2003; Jansen, Potters, 2017; Silveira, Sousa, 2024].

Цель работы. Целью данной работы было выявить ответные реакции пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.), ржи посевной (*Secale cereale* L.) и гороха посевного (*Pisum sativum* L.) на кислотность и щелочность корневой среды.

Задачи:

1. Определить скорость роста и прирост надземной массы пшеницы мягкой, ржи посевной и гороха посевного, содержание воды в листьях растений в условиях кислотного и щелочного стрессов.
2. Провести сравнительное изучение содержания пероксида

водорода, пероксидазной и каталазной активностей, количества восстановленной аскорбиновой кислоты и проанализировать влияние низких и высоких значений рН корневой среды на про-/антиоксидантную систему листьев пшеницы, ржи и гороха.

3. Исследовать изменения в содержании пролина, флавоноидов и некоторых органических кислот (щавелевой, яблочной, лимонной, янтарной) в листьях и оценить их возможную роль в адаптации растений при кислотном и щелочном стрессах.

Объекты исследования – пшеница мягкая яровая (*Triticum aestivum* L.) сорта Горноуральская, рожь посевная озимая (*Secale cereale* L.) сорта Фаленская 4 и горох посевной (*Pisum sativum* L.) сорта Ямальский РС I.

Положения, выносимые на защиту:

1. На начальных этапах развития кислотного и щелочного стрессов активизируются про-/антиоксидантные системы листьев пшеницы мягкой, ржи посевной и гороха посевного.

2. Участие низкомолекулярных соединений (пролин, флавоноиды, органические кислоты) в защитных реакциях растений при кислотном и щелочном стрессах является видоспецифичным и зависит от направленности изменений рН корневой среды.

Научная новизна. Впервые на примере трех видов культурных растений установлена видоспецифичность системных реакций листьев в первые часы развития кислотного и щелочного стресса. За 24-48 часов стрессового состояния снизились прирост надземной части растений и содержание воды в листьях. Показано, что стресс-реакции пшеницы, ржи и гороха на низкие и высокие значения рН корневой среды проявились в изменении содержания пероксида водорода, повышении уровней активности антиоксидантных ферментов (каталазы и пероксидаз) и увеличении содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях. Установлено, что в условиях кислотного и щелочного стресса пролин и флавоноиды участвовали в защитных реакциях листьев злаков; горох

отличился снижением уровня содержания этих многофункциональных соединений. Листья пшеницы по-разному аккумулировали пролин и флавоноиды в зависимости от направленности изменений рН корневой среды.

Впервые показано, что ответной реакцией растений на кислотность и щелочность корневой среды являлись изменения в метаболизме и содержании органических кислот в листьях. В листьях злаков при кислотном и щелочном стрессах количество карбоновых кислот (яблочной, лимонной, янтарной) снизилось из-за возможного нарушения гликолиза. На примере гороха выявлено, что аккумуляция органических кислот в листьях при низких и высоких значениях рН имеет адаптационный характер и может быть направлена на поддержание осмотического баланса и рН-гомеостаза.

Достоверность научных положений и выводов подтверждена применением современных методов физиологии и биохимии растений. Для интерпретации полученных данных произведен анализ имеющейся литературы по теме исследований. Результаты исследований не противоречат имеющимся представлениям в современной и отечественной научной литературе. Применение статистического анализа полученных данных подтверждает достоверность выводов.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на Годичном собрании Общества физиологов растений России, научной конференции «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты» (Крым, Судак, 2017), на Международной научной конференции «Высокие технологии, определяющие качество жизни» (Пермь, 2018), на IX Съезде общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего» (Казань, 2019), на XI Всероссийском конгрессе молодых ученых-биологов с международным участием «Симбиоз-Россия 2019» (Пермь, 2019), на Региональной студенческой научной конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии» (Пермь, 2020), на II

Международной научно-практической конференции «Современные подходы и методы в защите растений» (Екатеринбург, 2020), XIII Международной конференции ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2022» (Пермь, 2022), на X съезде Общества физиологов растений России (Уфа, 2023).

Научно-практическая значимость работы. Результаты исследований расширяют фундаментальные представления о системном ответе листьев растений разного генотипа в условиях кислотного и щелочного стрессов. Выявленные маркеры стрессового состояния растений, связанные с про-/антиоксидантным метаболизмом листьев могут использоваться в целенаправленном подборе видов и сортов растений для селекционно-генетических программ и в интродукции растений, устойчивых к низким и высоким значениям рН.

Совокупность теоретических обобщений и полученных экспериментальных данных используется в курсах лекций «Физиология растений», «Физиология и биохимия устойчивости растений» в ПГНИУ.

Личный вклад автора в проведенные исследования. Определение направления диссертационной работы, цели и задач исследования проводились автором совместно с научным руководителем д.б.н. Еремченко О.З. Автором самостоятельно изучена отечественная и зарубежная литература по теме диссертации и лично написана рукопись данной работы. Автор непосредственно участвовал в подготовке и написании публикаций по диссертационной теме. Экспериментальная работа выполнена автором самостоятельно.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Работа выполнена в рамках специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений. Изучена роль антиоксидантной, осмопротекторной и рН-регулирующей систем, значение некоторых низкомолекулярных метаболитов в листьях пшеницы мягкой, ржи посевной и гороха посевного при кислотном и щелочном стрессе (соответствует пункту «Ответ растений

на внешние воздействия, адаптация и устойчивость к абиогенным факторам окружающей среды»).

Структура диссертационной работы. Работа изложена на 171 страницах А4 и состоит из 3-х глав, включающих 28 рисунков и 12 таблиц. Глава 1 представляет собой обзор научной литературы, где приведены современные представления об окислительном стрессе, системе антиоксидантной защиты и механизмах рН-регуляции, а также о реакции растений на кислотность и щелочность корневой среды. Глава 2 описывает объекты, методы работы и ход экспериментальных исследований. Глава 3 излагает результаты работы, их сравнение и обсуждение. Список литературы состоит из 225 источников, в том числе 124 источника на иностранных языках. Работа включает 33 приложения.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах из Перечня ВАК РФ, 17 публикаций представлены тремя статьями в рецензируемых журналах и материалами конференций.

Благодарности. Автор диссертации выражает благодарность научному руководителю доктору биологических наук, профессору кафедры физиологии растений и экологии почв ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» О.З. Еремченко за многочисленные консультации при подготовке диссертации. Соискатель признателен за сотрудничество доцентам Р.В. Кайгородову и О.А. Четиной, благодарен всем преподавателям и студентам кафедры физиологии растений и экологии почв ФГАОУ ВО «ПГНИУ».

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Окислительный стресс растений

Основные положения учения о стрессе разработаны в 1936 г. Хансом Селье. Известно, что стресс – это совокупность неспецифических процессов, возникающих в организме под влиянием неблагоприятных и повреждающих факторов среды. Стрессор – сильнодействующий фактор внешней среды, способный вызвать в организме повреждение и даже привести к смерти, т.к. по силе превышает адаптивные возможности организма [Silveira, Sousa, 2024].

Растения вынуждены приспосабливаться к неблагоприятным экологическим условиям: пониженные и повышенные температуры, недостаток воды, засоление, избыток тяжелых металлов, недостаток кислорода, патогены, ультрафиолетовое излучение и т.д. При воздействии стрессора развиваются адаптационные процессы, в основе которых находится функционирование защитных систем растений [Кордюм и др., 2003; Gill, Tuteja, 2010; Jansen, Potters, 2017].

В условиях стресса происходят перестройки метаболических процессов, направленных на повышение устойчивости организма к новым условиям окружающей среды, либо на переживание неблагоприятного периода существования. Один из способов уклонения от стрессовых воздействий является торможение обмена веществ, поскольку при этом чувствительность растения снижается. Метаболические приспособления включают восстановительные механизмы, направленные на предотвращение или исправление повреждений, поэтому требуют значительных энергетических затрат [Войников и др., 2004; Silveira, Sousa, 2024].

Ответные реакции растения на изменившиеся условия делят на неспецифические и специфические [Пятыгин, 2008]. Неспецифическими изменениями называют однотипные изменения в организме на действие разнородных стресс-факторов. Перспективной стратегией для установления неспецифических показателей стрессового состояния растений считают

использование окислительно-восстановительных маркеров (окислительный стресс и антиоксиданты) [Jansen, Potters, 2017; Sousa et al., 2023]. Показательные маркеры стресса у растений крайне важны для создания системы диагностики состояния гомеостаза растений [Silveira, Sousa, 2024].

Любое растение независимо от его устойчивости обладает набором определенных защитных реакций. В условиях стресса решающей оказывается степень сопротивляемости растений к неблагоприятному фактору внешней среды. У растений с низкой устойчивостью защитные реакции являются быстрыми и кратковременными; у них раньше истощаются приспособительные ресурсы и возникают необратимые изменения. Устойчивые растения переходят на новый режим функционирования постепенно, фаза адаптации, когда сохраняется гомеостаз и возможна репарация изменений, оказывается длительнее, чем у неустойчивых растений. Специфические ответные реакции качественно отличаются в зависимости от стресс-фактора и генотипа растений [Кордюм и др., 2003; Пятыгин, 2008; Wu et al., 2022].

Во всех живых клетках, которые используют кислород для дыхания, присутствуют активные формы кислорода (АФК), обладающие высокой биохимической активностью. АФК продуцируются главным образом в хлоропластах, митохондриях и пероксисомах. В отсутствии экстремальных факторов АФК вовлечены в метаболизм клеток, их концентрация поддерживается на постоянном и достаточно низком уровне [Мерзляк, 1989; Мартинович, Черенкевич, 2008; Гарифзянов и др., 2011; Креславский и др., 2012; Dumanovic et al., 2020; Wu et al., 2022]. АФК выступают в роли посредников при передаче клеточных сигналов, регулирующих экспрессию генов и последующие реакции на стресс-воздействие. В растениях АФК регулируют процессы пролиферации, биосинтеза гормонов, апоптоза, активности устьиц и др. [Колупаев, 2007; Мартинович, Черенкевич, 2008; Загоскина, Назаренко, 2011, 2016; Колупаев и др., 2014; Креславский и др., 2012; Абдрахимова и др., 2015; Прадедова и др., 2017; Колупаев, Карпец,

2019; Yalcinkaya et al., 2019].

При воздействии неблагоприятных факторов внешней среды в растительных клетках образуется избыток АФК и развивается окислительный стресс, сопровождающийся множественными нарушениями метаболических процессов [ApeI, Hirt, 2004; Gill, Tuteja, 2010; Загоскина, Назаренко, 2011; 2016; Wu et al., 2022]. Сверхпродукция АФК в значительной степени обусловлена нарушением процессов фотосинтеза и дыхания. Неблагоприятные условия внешней среды ингибируют функционирование цикла Кальвина, в результате происходит снижение скорости транспорта электронов и перевосстановленность компонентов электрон-транспортной цепи фотосинтеза и акцепторов электронов [Asada, 1999; Foyer, Noctor, 2005; Foyer, Shigeoka, 2011]. В условиях стресса в дыхательной цепи митохондрий происходит процесс неполного одно-, двух- или трехэлектронного восстановления кислорода с образованием различных АФК [Гарифзянов и др., 2011].

Повышение концентрации АФК приводит к ингибированию защитных систем организма. Генерация АФК происходит в течение короткого периода времени (от нескольких минут до нескольких часов). АФК индуцируют цепные реакции образования свободных радикалов, при этом повреждаются липиды, белки, нуклеиновые кислоты и другие органические соединения. Перекисное окисление липидов является одним из наиболее распространенных видов свободно-радикальных процессов; окисление липидов происходит за счет входящих в их состав ненасыщенных жирных кислот. Развитие окислительного стресса может привести к гибели клеток [Кордюм и др., 2003; Jambunathan, 2010; Прадедова и др., 2011; Foyer, Shigeoka, 2011; Креславский и др., 2012; Mano et al., 2019; Su et al., 2019; Yalcinkaya et al., 2019].

В условиях стресса чаще всего продуцируется супероксидный радикал (O_2^{\bullet}), который быстро превращается в пероксид водорода (H_2O_2) и гидроксил радикал ($\bullet OH$). К АФК относятся также другие химически активные

кислородсодержащие соединения, в частности, перекиси и синглетный кислород (${}^1\text{O}^2$). Наиболее стабильной АФК является H_2O_2 , который образуется из супероксидного радикала или при восстановлении молекулы O_2 . Пероксид водорода хорошо растворяется в липидном бислое и свободно перемещается через мембраны растительных клеток [Минибаева, Гордон, 2003; Pitzschke, Hirt, 2006; Колупаев, 2007].

Неблагоприятные факторы внешней среды, различные по природе воздействия, вызывают увеличение содержания АФК в компартментах растительных клеток, поэтому сверхпродукцию АФК считают неспецифической реакцией растений на воздействие биотических и абиотических стресс-факторов. Перспективной стратегией для установления показателей стрессового состояния растений считают использование окислительно-восстановительных маркеров (окислительный стресс и антиоксиданты) [Jansen, Potters, 2017; Sousa et al., 2023].

Наиболее подходит для изучения системных реакций на внешние возмущения лист, т.к. в нем представлена центральная часть метаболизма растений [Гармаш, 2020; Silveira, Sousa, 2024].

1.2 Антиоксидантные механизмы защиты растений

Развитие окислительного стресса обусловлено нарушением баланса между генерацией и удалением АФК. В клетках функционирует система антиоксидантной (противоокислительной) защиты, контролирующей концентрацию АФК [Зенков и др., 2001; Кордюм и др., 2003; Хавинсон и др., 2003; Apel, Hirt, 2004; Колупаев, 2007; Foyer, Shigeoka, 2011; Demidchik, 2015; Колупаев, Карпец, 2019; Yalcinkaya et al., 2019].

В процессе эволюции у растений для перехвата АФК сформирована антиоксидантная многокомпонентная защита. Супероксидный анион-радикал утилизируется при участии супероксиддисмутазы с образованием пероксида водорода; H_2O_2 восстанавливается до H_2O с помощью каталазы и пероксидаз. Утилизация ${}^1\text{O}^2$ и $\bullet\text{OH}$ происходит при участии

низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновая кислота, токоферол, глутатион и др.) [Синькевич и др., 2016; Колупаев, Карпец, 2019].

Многие исследования посвящены изучению окислительного стресса, вызванного нарушением баланса между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов, и его влиянию на растительные клетки. Окислительный стресс вызывают различные неблагоприятные факторы корневой среды: засоление, засуха, заболачивание, загрязнение тяжелыми металлами и др. [Духовский и др., 2003; Пятыгин, 2008; Edreva et al., 2008; Давлатназарова, 2016; Колупаев, Карпец, 2019]. Недостаток воды и избыток солей в почве приводят к перевосстановлению переносчиков электронов, участвующих в ассимиляции CO_2 , что в свою очередь увеличивает продукцию АФК [Хелдт, 2011].

Среди важнейших почвенных факторов, определяющих состояние растений, находится реакция почвенной среды; культурные растения, как правило, предпочитают почвы с нейтральной реакцией среды. Кислая и щелочная почвенные среды формируются в результате влияния как природных, так и антропогенных факторов. Вне зависимости от причины отклонения рН от нейтральных значений растения должны обладать механизмами устойчивости к этому стресс-фактору. Имеются сведения об активизации антиоксидантной защиты растений, произрастающих на кислых и щелочных почвах [Еремченко и др., 2019; Четина и др., 2023]. Ответная реакция высших растений на кислотность и щелочность корневой среды остается не достаточно изученной и требует внимания исследователей [Zelinovf et al., 2010; Wang et al., 2014; Latef, Tran 2016; Guo et al., 2017; Shavrukov, Hirai, 2016; Bhuyan et al., 2019; Четина, Арисова, 2022].

В растительной клетке функционирует система АФК и взаимодействующих с ними антиоксидантов. Выделяют высокомолекулярные (ферментативные) и низкомолекулярные антиоксиданты. Ферменты ингибируют зарождение цепей окисления путем удаления супероксидного радикала и перекисных продуктов.

Ферментативные антиоксиданты отличаются высокой специфичностью действия.

Низкомолекулярные антиоксиданты ограничивают развитие цепных реакций свободнорадикального окисления [Мерзляк, 1999; Чеснокова и др., 2006; Полесская, 2007; Загоскина, Назаренко, 2011, 2016; Прадедова и др., 2017; Колупаев, Карпец, 2019].

Элиминация АФК с участием ферментов возможна, если константа реакции достаточно низкая. Константы реакций уничтожения $\cdot\text{OH}$, $^1\text{O}_2$ очень высоки (чаще $k > 10^8$), в таких условиях макромолекулы ферментов повреждаются. Названные АФК могут быть ликвидированы при участии низкомолекулярных антиоксидантов [Лукаткин, 2002].

1.2.1 Ферментативные антиоксиданты

К высокомолекулярным антиоксидантам относятся супероксиддисмутаза, пероксидазы, каталаза и другие ферменты, ограничивающие распространение определенного окислительного субстрата [Kondo, Kawashima, 2000; Полесская, 2007; Загоскина, Назаренко, 2011, 2016; Серенко и др., 2011; Прадедова и др., 2017; Колупаев, Карпец, 2019].

В клетках высших растений супероксидный радикал и пероксиды удаляются индивидуально или кооперативно такими ферментами, как супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза, неспецифические пероксидазы, каталаза [Меньщикова, Зенков, 1993; Mittler, 2002; Tognolli et al., 2002; Прадедова и др., 2017; Колупаев, Карпец, 2019].

Супероксиддисмутаза выступает на первой линии антиоксидантной ферментативной защиты. При участии этого фермента катализируется реакция восстановления супероксидных анион-радикалов до O_2 и H_2O_2 [Бараненко, 2006; Прадедова и др., 2017; Khayatnezhad, Gholamin, 2021].

Супероксиддисмутаза – это группа металлоферментов, поддерживающих на низком уровне концентрацию супероксидных анион-радикалов в клетке и снижающих вероятность образования синглетного

кислорода. Супероксиддисмутаза характеризуется сверхактивностью, одна молекула фермента разлагает около миллиона молекул H_2O_2 за одну секунду. Металл в активном центре фермента последовательно восстанавливается и окисляется супероксидными анион-радикалами. В зависимости от металла в активном центре супероксиддисмутаза различают несколько изоферментов. Супероксиддисмутаза (Fe-СОД) находится в периплазматическом пространстве и, по-видимому, защищает клетку от экзогенных радикалов. Супероксиддисмутаза (Mn-СОД) расположена в цитоплазме и матриксе митохондрий, предполагают, что она защищает от эндогенных АФК. Самой активной является Cu, Zn-содержащая супероксиддисмутаза, в значительном количестве присутствующая в цитоплазме [Asada, 1999; Бараненко, 2006; Серенко и др., 2011].

Каталаза – двухкомпонентный фермент с молекулярной массой 220-350 кДа, катализирующий разложение H_2O_2 на H_2O и O_2 . Каталаза локализована в пероксисомах и глиоксисомах, обнаружена также в митохондриях. Разложение пероксида водорода каталазой осуществляется в две стадии:



Каталазная активность фермента в клетке примерно в 10000 раз выше, по сравнению с пероксидазной активностью [Зенков и др., 2001]. Активность каталазы зависит от концентрации субстрата, температуры, pH, присутствия активаторов и ингибиторов. Оптимальным значением для каталазы считают pH=7, при этом каталазы эукариот проявляли активность в интервале 5,0–10,5 pH [Абрамова, 2021].

Аскорбатпероксидаза нейтрализует H_2O_2 при участии аскорбиновой кислоты (Аск), при этом образуется монодегидроаскорбат-радикал и вода. Затем монодегидроаскорбат-радикал восстанавливается монодегидроаскорбатредуктазой до Аск.

Аскорбатпероксидаза локализована в хлоропластах, где содержатся две

ее изоформы – стромальная и связанная с тилакоидами [Foyer, Noctor, 2011]. Аскорбатпероксидаза обезвреживает H_2O_2 в хлоропластах, поскольку они, вероятно, не содержат каталазы. Указывают также на присутствие аскорбатпероксидазы в цитоплазме, митохондриях, пероксисомах и апопласте [Asada, 1999; Foyer, Noctor, 2005].

Глутатионпероксидаза – селено-содержащий фермент, состоящий из четырех субъединиц. Атом селена в виде Se-цистеина входит в состав каждой субъединицы [Барабой, 2004]. Глутатионпероксидаза локализована преимущественно в цитоплазме. Глутатионпероксидаза утилизирует пероксид водорода и липидные пероксиды, при этом окисляется глутатион [Dixon, Paiva, 1995]. В растениях выявлена также глутатионпероксидаза, не содержащая Se [Гришко, Сыщиков, 2012].

Пероксидазы неспецифические относятся к полифункциональным ферментам [Gaspar et al., 1985; Tognolli et al., 2002]. Полипептидная цепь ферментов включает около 300 аминокислотных остатков, на долю боковых углеводных цепей приходится около 20% от общей молекулярной массы. Простетическая часть неспецифических пероксидаз состоит из протопорфирина и Fe^{3+} [Иевиньш, 1987]. Белковая часть молекул связывает пероксидазы с клеточными структурами, обеспечивает термостабильность и устойчивость к протеолитическим ферментам. В сохранении конформации ферментов участвует кальций [Угарова и др., 1981; Иевиньш, 1987].

Пероксидазы представлены в растительных клетках многочисленными изоферментами. Растворимые пероксидазы содержатся в вакуолях и цитоплазме. Ионносвязанные изоферменты локализованы в мембранах и клеточной стенке. Ковалентно связанные изоферменты находятся в основном в клеточной стенке [Asada, 1999]. Пероксидазы при определенных условиях могут перемещаться из цитозоля в апопласт [McLusky et al., 1999].

Для растворимых пероксидаз, расположенных преимущественно в цитоплазме и вакуолях, наиболее характерны антиоксидантные функции. В качестве восстановителей используются различные соединения, в том числе,

фенолы. В вакуолях субстратом пероксидаз может быть аскорбат [Mehlhorn et al., 1996; Takahama, 2004].

Наряду с антиоксидантной функцией, неспецифические пероксидазы обеспечивают протекание окислительных реакций, в которых участвует H_2O_2 [Gaspar et al., 1991]. Пероксидазы могут передавать электроны от восстановителей (например, НАДН) на O_2 , при этом образуется супероксидный анион-радикал и H_2O_2 [Chen, Schopfer, 1999; Минибаева, Гордон, 2003]. В генерации супероксидного анион-радикала и, как следствие, пероксида водорода участвуют пероксидазы клеточных стенок [Bestwick et al., 1997].

1.2.2 Низкомолекулярные антиоксиданты

Антиоксидантную активность проявляют многие низкомолекулярные соединения: Аск, глутатион, каротиноиды, флавоноиды, токоферолы, фенольные соединения, полиамины, пролин, сахара и другие природные соединения [Chen, Schopfer, 1999; Кордюм и др., 2003; Колупаев и др., 2011; Прадедова и др., 2011; Колупаев, Карпец, 2019].

Низкомолекулярные антиоксиданты характеризуются неспецифичностью действия на окислительные субстраты [Радюкина и др., 2008; Радюкина, 2015; Колупаев, Карпец, 2019]. Они способны нейтрализовать АФК как самостоятельно, так и в ферментативных реакциях. Низкомолекулярные антиоксиданты нейтрализуют самые активные радикалы – HO^\bullet , RO^\bullet и др., для которых невозможна ферментативная элиминация [Синькевич и др., 2016].

Низкомолекулярные соединения с антиоксидантной активностью проявляют и ряд других функций: осморегуляторную, протекторную, шаперонную. Косвенное антиоксидантное действие этих соединений проявляется в поддержке конформации антиоксидантных ферментов [Меньщикова, Зенков, 1993; Колупаев и др., 2011; 2014; Синькевич и др., 2016].

Для некоторых из выше указанных низкомолекулярных соединений характерно участие в передаче сигналов и регуляции экспрессии генов, в том числе, контролирующей антиоксидантные системы. В целом антиоксидантный потенциал растений определяется сложным синергическим и антагонистическим взаимодействием низкомолекулярных соединений с ферментативными антиоксидантами [Загоскина, Назаренко, 2011, 2016; Прадедова и др., 2011; Колупаев, Карпец, 2019].

Остановимся на особенностях низкомолекулярных соединений, содержание которых в условиях кислотного и щелочного стресса растений будет исследоваться в настоящей работе.

Пролин. Накопление пролина является общей физиологической реакцией растений на неблагоприятные экологические факторы [Bates et al., 1973.; Кузнецов, Шевякова, 1999; Matysik et al., 2002; Dickman, Becker, 2008; Колупаев и др., 2014]. В условиях солевого и сощелочного стресса отмечали аккумуляцию этого низкомолекулярного соединения в культурных растениях [Yan et al., 2005; Liu, Shi, 2010; Islam et al., 2011; Guo et al., 2015].

Пролин занимает особое положение среди аминокислот. Его боковая цепь состоит из пятичленного цикла, включающего α -углеродный атом и α -аминогруппу (рисунок 1). Атом азота в кольце является слабым основанием и не протонируется при физиологических значениях pH. Благодаря циклической структуре пролин вызывает изгибы полипептидной цепи [Кольман, Рём, 2004].

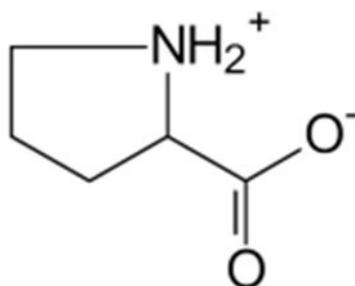


Рисунок 1 – Строение молекулы пролина (по Радюкиной, 2015)

В научных, в том числе, обзорных работах, указано на

многофункциональное значение пролина в растительной клетке [Кузнецов, Шевякова, 1999; Kishor et al. 2005; Кузнецова, 2006; Dickman, Becker, 2008; Колупаев и др., 2014].

Осморегуляторная функция. Повышение концентрации осмолитов позволяет растениям поддерживать водопоглощающую функцию в условиях стресса. Это достигается за счет синтеза низкомолекулярных органических осмолитов, к которым относится пролин. В условиях водного дефицита накопление пролина до 11 мкмоль/сут на г свежей ткани приводило к повышению осмотического давления клеточного сока и сопровождалось увеличением устойчивости растений [Кузнецова, 2006].

Стресс-протекторная (защитная) функция. В условиях стресса путем прямого или опосредованного взаимодействия пролин поддерживает конформацию и биологическую активность макромолекул. Пролин стабилизирует структуру фермента, усиливая гидратацию белков [Кольман, Рём, 2004; Колупаев и др., 2014]. В постстрессовый период пролин окисляется в митохондриях, увеличивая их восстановительный потенциал, что может увеличить энергоснабжение клетки [Kishor et al., 2005].

Антиоксидантная функция. Пролин инактивирует избыток гидроксильных радикалов и других высоко реактивных соединений, защищая от повреждения белки и мембраны [Кузнецов, Шевякова, 1999; Matysik et al., 2002; Dickman, Becker, 2008; Колупаев и др., 2014].

Регулятор экспрессии генов. В условиях стресса продукты катаболизма пролина выступают в роли индукторов экспрессии генов, кодирующих специализированные белки [Кузнецов, Шевякова, 1999]. Эндогенный пролин может действовать как регуляторная / сигнальная молекула, способная изменять уровни транскриптов генов, связанных со стрессом [Carvalho et al., 2013].

Регулятор окислительно-восстановительного баланса. Пролин участвует в регуляции окислительно-восстановительного баланса через изменение соотношения НАДФН/НАДФ⁺. При стресс-воздействии из-за

активации синтеза пролина в хлоропластах возрастает расход НАДФН и увеличивается количество НАДФ⁺, который может быть использован в качестве акцептора электронов. Таким образом, синтез пролина, поддерживает транспорт электронов в электрон-транспортных цепях хлоропластов и стабилизирует окислительно-восстановительные условия [Колупаев и др., 2014].

Источник азота и энергии. Активизация синтеза пролина рассматривается как форма запасания азота при стрессе, легко используемого на этапе восстановления. Пролиноксидаза, лимитирующая процесс деградации пролина, прямо связана с транспортом электронов и генерацией энергии в митохондриях. Электроны и протоны, входящие в состав пролина, включаются в дыхательную цепь.

Таким образом, протекторная, осморегуляторная, окислительно-восстановительная и другие функции пролина проявляются на разных стадиях адаптационного процесса. Эффективность полифункционального действия пролина при стрессе определяется [Кузнецов, Шевякова, 1999]:

- 1) способностью растений быстро индуцировать системы аккумуляции пролина;
- 2) возможностью накапливать свободный пролин до значительных внутриклеточных концентраций;
- 3) эффективностью системы регуляции уровня концентрации пролина.

Пролин в отличие от минеральных солей даже в очень высоких концентрациях не подавляет работу ферментов. У некоторых растений зарегистрировано более чем стократное повышение содержания пролина в ответ на действие неблагоприятных факторов. Накопление пролина в листьях защищает от повреждений при обезвоживании. В условиях дефицита воды и избытка солей в почве у многих растений накопление пролина превышает суммарные количества всех других аминокислот. Многократное увеличение содержания пролина рассматривается как осмопротекторный эффект [Кузнецов, Шевякова, 1999; Маевская, Николаева, 2013].

Повышение содержания пролина происходит и при действии стрессоров, не вызывающих прямых осмотических эффектов – тяжелых металлов [Стеценко и др., 2011; Wang et al., 2014], высокой освещенности и ультрафиолета, агентов окислительного стресса [Колупаев и др., 2014]. В данных случаях проявляются, по-видимому, защитные и антиоксидантные свойства пролина.

Флавоноиды. Группа флавоноидов включает около восьми тысяч полифенольных соединений [Тараховский и др., 2010, 2013]. Около 20% фиксируемого при фотосинтезе углерода идет на синтез полифенолов [Harborne, Williams, 2000; Ververidis et al., 2007].

Фенольный каркас флавоноидов состоит из 15 атомов углерода, образующих два ароматических кольца, соединенных через три атома углерода. Разнообразие флавоноидов основано на различиях в структуре углеродных атомов, соединяющих бензольные кольца (рисунок 2). В этой группе атомов может присутствовать двойная связь, присоединение карбонильной или гидроксильной групп, а также может образоваться пяти- или шестичленный гетероцикл. В зависимости от особенностей структуры молекулы в этой группе атомов углерода выделяют следующие классы флавоноидов: флаваны, флаванолы, флавоны, флавонолы, флаванолы, антоцианы, изофлавоны (изофлавоноиды), ауроны, неофлавоноиды, халконы [Тараховский и др., 2013].

Одним из основных компарментов синтеза флавоноидов являются хлоропласты. Огромное разнообразие флавоноидов достигается с помощью согласованной работы более чем 20 ферментов [Олениченко и др., 2008].

Антиоксидантные свойства флавоноидов объясняются их способностью служить ловушками для свободных радикалов [Es-Safi et al., 2007; Четина и др., 2020]. Полифенольные соединения отдают электрон или протон при взаимодействии с гидроксильным и пероксильным радикалами липидов. В результате образуются радикалы фенолов – феноксины, не участвующие в распространении цепных окислительных реакций [Тараховский и др., 2013].

Флавоноиды хелатируют ионы металлов с переменной валентностью, предотвращая неферментативное образование АФК [Хлесткина, 2013].

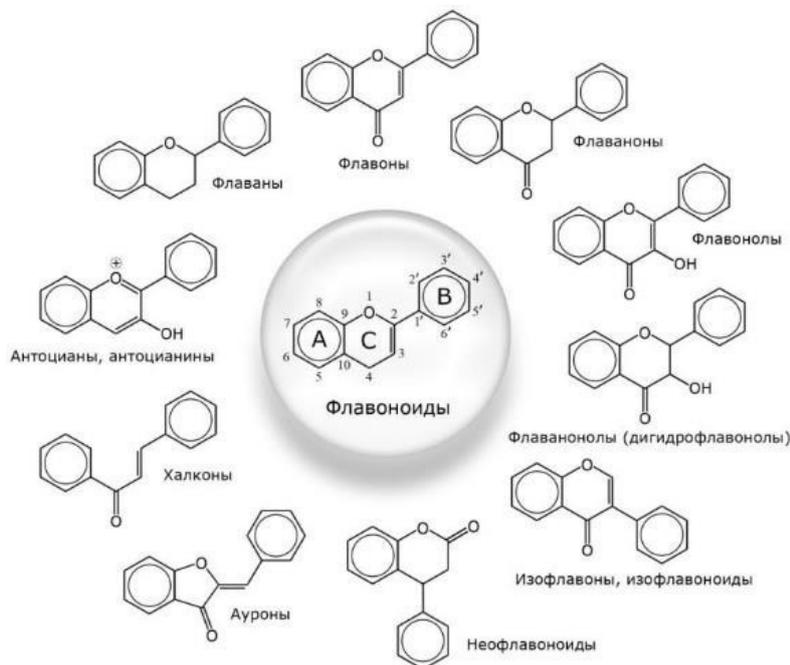


Рисунок 2 – Классификация флавоноидов, основанная на особенностях структуры атомов углерода, соединяющих бензольные кольца (по: Тараховский и др., 2013, с изменениями)

Восстановление окисленных полифенолов может происходить при участии Аск с образованием монодигидроаскорбата (МДА), который превращается в Аск и дегидроаскорбиновую кислоту (ДГА) [Тараховский и др., 2013]:



Данные сравнительных экспериментов показали, что эффективность взаимодействия флавоноидов с АФК и активными формами азота в четыре раза выше, чем у аскорбиновой кислоты и α -токоферола [Хлесткина, 2013]. Флавоноиды могут участвовать в детоксикации пероксида водорода, который транспортировался в вакуоли [Gould, Lister, 2006].

Большинство флавоноидов являются пигментами или их предшественниками. Они поглощают избыточную световую энергию, особенно в области УФ (280-315 нм) [Deckmyn, Impens, 1997; Treutter, 2006; Hagen et al., 2007], защищая от окислительных повреждений. Отмечают

зависимость между толерантностью сортов культурных растений к стресс-факторам и содержанием флавоноидов [Treutter, 2006]. Установлено повышение содержания флавоноидов в арабидопсисе под воздействием низкой температуры, избытка света, ультрафиолетового облучения [Navaux, Klorpstech, 2001; Munne-Bosch, Alegre, 2002; Lea et al., 2007], в огурце – под действием ультрафиолета [Kondo, Kawashima, 2000]. При дефиците азота и ультрафиолетовом облучении наблюдали аккумуляцию флавоноидов в растениях ржи [Deckmyn, Impens, 1997].

Таким образом, флавоноиды являются многофункциональными протекторами, т.к. помимо антиоксидантной функции участвуют в осморегуляции и проявляют защитные свойства в отношении мембран. В тоже время нами не найдена информация по участию флавоноидов в адаптации растений к высоким и низким значениям pH.

Аскорбиновая кислота – это небольшая водорастворимая молекула, способная к обратимому окислению и восстановлению (рис. 3). Аскорбиновая кислота синтезируется в митохондриях и транспортируется к другим компонентам клетки через протонно-электрохимический градиент или посредством облегченной диффузии [Shao et al., 2008]. Аскорбиновая кислота является участником многих редокс-процессов в клетке.

В растительной клетке при участии аскорбиновой кислоты функционирует редокс-система. Акцептором протонов в такой цепи служит дегидроаскорбиновая кислота (рис. 3). Соотношение между дегидроаскорбатом и аскорбиновой кислотой поддерживает глутатион. Аскорбиновая кислота и глутатион, вместе с функционально связанными ферментами, вносят весомый вклад в редокс-потенциал разных компартментов клетки [Прадедова и др., 2017]. Аскорбат-глутатионовый цикл выявлен у клеток растений в цитозоле, хлоропластах, митохондриях и пероксисомах [Pang, Wang, 2010].

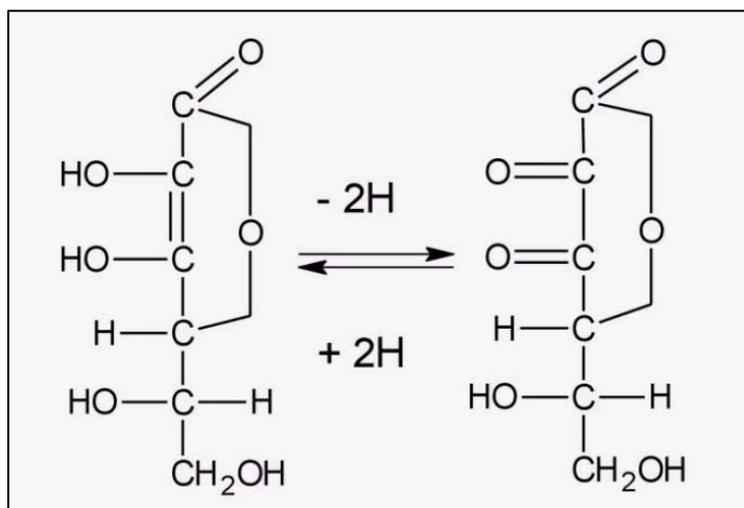


Рисунок 3 – Строение молекулы аскорбиновой кислоты и дегидроаскорбиновой кислоты

В условиях стресса аскорбат-глутатионовому циклу отводят главную роль в регуляции уровня H_2O_2 . Две молекулы аскорбиновой кислоты используются для восстановления H_2O_2 до воды с сопутствующим образованием монодегидроаскорбата. Монодегидроаскорбат представляет собой радикал с коротким временем жизни и может распадаться на дегидроаскорбат и аскорбиновую кислоту [Chaoui et al., 1997; Янковский, 2000; Smirnoff, Wheeler, 2000; Foyer, Noctor, 2005; Саиди-Сар и др., 2007; Shao et al., 2008; Noctor et al., 2015; Прадедова и др., 2017; Foyer, 2017].

Мембранная аскорбатредуктаза способствует переносу электронов от НАД·Н к монодегидроаскорбату; цепь переноса электронов продолжается от аскорбата к цитохрому *b*, который передает электроны из цитоплазматического пространства в апопласт на другой акцептор [Berczi, Moller, 2000].

Аскорбат, наряду с глутатионом и токоферолом, запускает экспрессию генов реакций оптимизации стратегий выживания [Shao et al., 2008].

В научной литературе приводятся сведения об участии аскорбиновой кислоты при различных стресс-воздействиях на растения. Экзогенная аскорбиновая кислота снижала токсическое действие никеля на растение, а, именно, усиливала активность каталазы, гваяколпероксидазы, аскорбатпероксидазы, положительно влияла на рост и содержание хлорофилла

в проростках сои [Саиди-Сар и др., 2007]. Аскорбиновая кислота вместе с другими неферментативными антиоксидантами (каротиноиды, глутатион, токоферол) подавляли АФК и помогали растению адаптироваться при засолении [Arif et al., 2020]. Показана важная роль аскорбат-глутатионового цикла в адаптации к хлоридному засолению [Иванищев и др., 2020]. Аскорбиновая кислота, наряду с другими веществами, характеризующимися восстановительной активностью (антоцианы, рибофлавин) аккумулировалась в растениях при нефтяном стрессе [Чупахина, Масленников, 2004; Осипова, Петухова, 2013]. Через 4 часа развития сощелочного стресса изменения в содержании восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы зависели от щелочности корневой среды на 26%, а от взаимного действия щелочности и NaCl-засоления на 17% [Еремченко и др., 2022]. По-видимому, аскорбиновая кислота, как активный донор электронов, участвует в антиоксидантной защите растений при воздействии стресс-факторов разной природы, в том числе, вызванных изменением реакции корневой среды.

1.3 Механизмы рН-регуляции в клетке растений

Основной формой энергии высших растений, обеспечивающей транспорт ионов и метаболитов через мембраны, является трансмембранный градиент электрохимических потенциалов протонов [Скулачев, 1989; Трофимова, 2003]. Вторично-активные транспортные процессы, сопряженные с переносом протонов, создают потенциальную угрозу закисления цитоплазмы. Механизмы рН-регуляции включают процессы, формирующие стационарное значение реакции среды в цитозоле, а также процессы, возвращающие этот параметр к исходному значению после его смещения. Следовательно, в клетке функционирует рН-регулирующая система, активная в физиологических и стрессовых условиях [Sakano, 1998; Reid, Smith, 2002; Трофимова, 2003; Орлова и др., 2009; Минюк и др., 2016].

Плазмалемма и тонопласт растительных клеток выполняют ключевую роль в восприятии сигналов от действующих факторов внешней среды. От их

сенсоров по сложному каскаду сигнальных систем информация передается на генетический аппарат. Важнейшая роль в запуске и обеспечении условий функционирования этих взаимодействующих систем принадлежит рН цитозоля [Kurkdjian, Guern, 1989; Malho et al., 1998; Трофимова, 2003].

Величина рН цитозоля и трансмембранный потенциал отражают суммарное распределение ионов по обе стороны мембраны [Stewart, 1983; Трофимова, 2003]. Транспорт катионов и анионов через мембрану ведет соответственно к защелачиванию цитозоля или к его закислению. От рН цитозоля зависит структура ферментов; искажение структуры ферментов изменяет их свойства и ингибирует метаболические процессы [Pierce et al., 2005]. Выделяют два механизма поддержания уровня рН в цитозоле, это биофизическая и биохимическая рН-регуляция [Reid, Smith, 2002].

К биофизической рН-регуляции относят работу протонных помп. Протонные помпы – это системы активного транспорта ионов H^+ (или OH^-), которые функционируют в сопрягающих мембранах митохондрий и хлоропластов (редокс- и АТФ-гидролизующие H^+ -помпы). Мембраны содержат от 2000 до 4000 молекул гидролитической помпы и 500-3000 молекул редокс-протонной помпы. Протонные помпы мембран митохондрий выносят H^+ из матрикса (подкисление цитоплазмы вблизи митохондрий), H^+ -помпы хлоропластов на свету, наоборот, подщелачивают цитоплазму, поскольку направлены из цитоплазмы в строму. Плазмалемма содержит АТФ-гидролизующую H^+ -помпу, выкачивающую ионы H^+ из цитоплазмы в клеточную стенку. Из цитоплазмы в вакуоль направлены также H^+ -помпы тонопласта [Юрин, 2010].

Формирование фазы деполяризации потенциала действия у высших растений связано с активацией хлорных каналов и направленным наружу потоком ионов Cl^- , а также с временным угнетением H^+ -АТФазы плазматической мембраны и появлением направленного внутрь потока ионов. Обнаружены синхронные с изменением потенциала обратимые сдвиги активности H^+ -ионов в сторону защелачивания, что может быть связано с

входом H^+ -ионов из внешней среды внутрь возбудимых клеток [Воденеев и др., 2006].

Механизмом «кислого» роста объяснили инициацию растяжения клеток в прорастающих семенах каштана [Обручева и др., 2013]. В результате активации плазмалеммой H^+ -АТФазы происходит подкисление оболочек клеток и повышение их растяжимости. При подкислении клеточных стенок возрастает активность экспансинов – белков, повышающих способность полимеров смещаться относительно друг друга в результате расщепления водородных связей. Одновременно максимально активизируются ксилоглюкан-эндотрансгликозилаза / гидролаза, обеспечивающая частичный распад ксилогликанов, а также пектинметилэстеразы. Активация ряда ферментов приводит к разрыхлению структуры оболочек клеток, вследствие этого они растягиваются под напором воды.

Во внутриклеточной биохимической рН-регуляции участвуют рН-зависимые реакции превращения органических кислот, сопровождающиеся высвобождением или связыванием карбоксильных групп [Davies, 1973; Трофимова, 2003]. В поддержании рН-гомеостаза растительной клетки участвуют также фосфатный и карбонатный буферы, органические кислоты и их соли. Часть буферной емкости клетки определяется амино- и карбоксильными группами белков цитоплазмы [Юрин, 2010].

По К.Ю. Куличихину [2007] в цитоплазме клеток растений существуют три буферные системы, первая из них активна при щелочных, вторая – при нейтральных, третья – при кислых значениях рН. Терминальные амино- и карбоксильные группы белков и пептидов могут диссоциировать или связывать H^+ . Значения константы диссоциации (K_a) для терминальных карбоксильных групп аминокислот, входящих в состав пептида, выше, чем для карбоксильных групп свободных аминокислот. Для терминальных аминокислотных групп белков и пептидов значения K_a (8,0) ниже, чем у соответствующих групп свободных аминокислот. Это создает значительную устойчивость цитоплазмы к защелачиванию. Константу диссоциации,

близкую к физиологическому диапазону (6,0), имеет имидазольная группа гистидина и сульфгидрильная группа цистеина (8,3). При рН ниже 7,0 пара $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ ($K_a=6,3$) в определенной степени обеспечивает защиту от закисления цитоплазмы. При низких значениях рН проявляется буферная емкость пары $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ($K_a=7,2$).

По Т.В. Чирковой [2002] регуляция рН цитоплазмы происходит благодаря синтезу или распаду малата (яблочной кислоты) при участии двух энзимов. При подщелачивании цитоплазмы активируется фосфоенолпируват-карбоксилаза (оптимум рН=8), что ведет к увеличению продукции оксалоацетата, который восстанавливается до малата малатдегидрогеназой. Яблочная кислота, как сильная кислота, восстанавливает рН цитоплазмы. При смещении рН в кислую сторону НАД-малик-энзим (оптимум рН=6) декарбоксилирует яблочную кислоты и оптимизирует рН.

Исследователи отмечали подавление гликолиза при солещелочном стрессе растений [Olmos, Hellin, 1996; Guo et al., 2015]. Ингибирование энергетического метаболизма отражается на величине рН, что указывает на определенный вклад в стационарную величину рН цитозоля процессов энергетического метаболизма, в особенности альтернативного пути дыхания [Sakano, 1998]. Альтернативное дыхание является неотъемлемой частью сбалансированной защитной системы клетки, участвует в сигналинге, поддержании окислительно-восстановительного баланса и регуляции биоэнергетики в норме и при стрессах, вызываемых различными факторами (тяжелые металлы, УФ-радиация и др.) [Гармаш, 2020].

В митохондриях растительной клетки особым путем является перенос электронов с убихинона на O_2 через альтернативную оксидазу. Этот перенос устойчив к действию цианида, поэтому назван цианидустойчивым или альтернативным путем дыхания [Гармаш, 2010]. Дыхание по альтернативному пути запасает мало энергии, понижает энергетическую эффективность дыхания. Активность альтернативного пути возрастала при

засухе, внедрении патогена, дефиците элементов минерального питания, низких положительных температурах, избытке тяжелых металлов, УФ-излучении. Считается, что переход на альтернативное дыхание расширяет адаптивные возможности растительного организма к окислительному стрессу [Vanlerberghe, McIntosh, 1997; Попов, 2003; Гармаш, 2010; Грабельных и др., 2011; Грабельных и др., 2014; Гармаш, 2020].

Ученые отмечали важнейшую роль альтернативного пути дыхания в рН-гомеостазе растительной клетки [Sakano, 1998; Van Dongen et al., 2011; Четина и др., 2020]. Дыхательная цепь реакций от глюкозы через ФЕП-карбоксилазу и малат до пирувата назвали альтернативным гликолизом (поставщиком протонов), а дальнейший путь — до лактата или этанола — альтернативным путем дыхания (потребителем протонов). Альтернативный путь способен за короткий период реагировать на сдвиги рН, что весьма важно, поскольку в ситуациях, требующих рН-регуляции, необходима быстрая реакция клетки. В качестве рН-чувствительного триггера переключения системы с продуцирования протонов (при гликолизе) на потребление H^+ в альтернативном пути дыхания в аэробных условиях рассматривается малик-энзим [Vanlerberghe, McIntosh, 1997].

Следовательно, имеются все основания считать, что в растительной клетке действует сложная многокомпонентная система рН-регуляции.

Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) играет важную роль в энергетическом метаболизме аэробных организмов. В ЦТК углеводы метаболизируются в ацетил-КоА, который затем окисляется с высвобождением энергии, конвертируемой в АТФ в результате работы электрон-транспортной цепи митохондрий [Schwarzlander, Finkemeier, 2013; Igamberdiev, Eprintsev, 2016].

Известно, что органические кислоты имеют значение в осморегуляции, балансе ионов и рН-гомеостазе [Lopez-Bucio et al., 2000; Yang et al., 2008]. Метаболические превращения органических кислот сопровождаются выделением или поглощением протонов [Reid, Smith, 2002; Van Dongen et al.,

2011]. Исследователи отмечали роль органических кислот в регулировании осмотического потенциала [Guo et al., 2020].

Имеются указания на участие органических кислот в механизмах адаптации растений [Матухин, 1963; Liu, Shi, 2010; Igamberdiev, Eprintsev, 2016]. Щелочеустойчивые галофиты накапливали высокие концентрации некоторых органических кислот. Аккумуляция органических кислот может играть роль в преодолении дисбаланса зарядов; она была особенно выраженной при щелочном засолении [Liu, Shi, 2010]. Высказано предположение, что функция накопленной лимонной кислоты при щелочном стрессе в основном связана с регулировкой pH цитозоля. Содержание щавелевой кислоты не только повышалось с увеличением солености среды, но и значительно стимулировалось щелочностью [Shi, Sheng, 2005]. В проростках пшеницы при стрессе, вызванном воздействием щелочных солей, прослежено накопление органических кислот, направленное на регулирование ионного баланса в цитозоле клетки [Guo et al., 2010].

Обработка щелочной солью (NaHCO_3) индуцировала подщелачивание сока ксилемы в корнях интактных растений кукурузы [Wegner, Zimmermann, 2004]. Под воздействием щелочного раствора концентрация цитрата в соке ксилемы *Vicia faba* возросла в два раза [Sagervanshi et al., 2022].

Лимонная и щавелевая кислоты являются детоксикантами при адаптации растений к алюминиево-кислотному воздействию [Амосова и др., 2007; Kopittke et al., 2016]. Под влиянием кислого раствора алюминия содержание щавелевой кислоты в растворе корневых экссудатов растений возросло в 2,5 раза [Смирнов и др., 2014].

1.4 Адаптация растений к кислой и щелочной корневой среде

1.4.1 О кислых и щелочных почвах

Природные почвы могут характеризоваться как очень низкими значениями pH (менее 3-4 pH), так и очень высокими значениями pH (до 9 pH и выше) [Merry, 2009]. В настоящее время наблюдают изменения pH почв в

неблагоприятную сторону. За последние десятилетия в пахотном фонде РФ площадь кислых почв увеличилась на 2%, что обусловлено отсутствием известкования, в том числе, повторного, а также распашкой части залежных кислых почв [Иванов и др., 2020]. При воздействии выбросов промышленных предприятий и автотранспорта отмечали подщелачивание почвенной среды [Ларионов, 2012]. Масштабы ощелачивания почв в мире будут увеличиваться в связи с глобальным потеплением, аридизацией климата, процессами опустынивания ландшафтов и развитием вторичного засоления почв [Еремченко и др., 2021].

В природных и техногенных ландшафтах неблагоприятная реакция почвенной среды (сильнощелочной и сильнокислой) может сочетаться с засолением [Засоленные почвы России, 2006; Воробьева, 2008; Eremchenko et al., 2020; Пахоруков, Еремченко, 2023].

Если в природных условиях на почвах с неблагоприятной реакцией среды обитают устойчивые виды местной флоры, то для возделывания большинства сельскохозяйственных растений оптимальная реакция среды находится в интервале от слабокислых и до слабощелочных значений [Вальков и др., 2004]. В связи с этим важнейшую роль имеют исследования, посвященные воздействию на растения низких и высоких значений pH, а также изучение механизмов устойчивости растений к кислотности и щелочности корневой среды.

1.4.2 Влияние на растения кислой реакции корневой среды

Согласно классическим представлениям, неблагоприятная реакция среды нарушает минеральное питание растений. Подкисление корневой среды приводит к увеличению поглощения анионов [Сабинин, 1955].

Кислые почвы отличаются высокой подвижностью алюминия, который снижает эффективность работы K^+ -каналов в мембранах растительных клеток [Gassmann, Schroeder, 1994]. Сельскохозяйственные культуры отличаются по толерантности к алюминию [Пухальская, 2005]. При выращивании на кислой

почве ($pH=5,1$) в листьях пшеницы, в листьях и корнях гороха наблюдали пониженное содержание K^+ , по сравнению с его количеством в растениях на почве с нейтральной реакцией среды [Еремченко и др., 2021].

В почвах с кислой реакцией среды практически невозможно разделить токсичность, связанную с подвижным алюминием и токсичность из-за избытка протонов. Отдельное влияние повышенных концентраций H^+ считают не в полной мере оцененным [Shavrukov, Hirai, 2016]. Под влиянием кислой реакции корневой среды эффективность процессов поддержки pH цитозоля может снизиться [Shavrukov, Hirai, 2016; Bhuyan et al., 2019; Четина и др., 2020; Четина и др., 2022].

Низкие значения pH связывают с дефицитом водного баланса растений. В условиях водного стресса усиливается функционирование протонной АТФазы, снаружи клетки скапливаются протоны и возникает протонный барьер, который нарушает транспорт ионов и воды. H_2O соединяясь с протоном образует ион гидроксония, который не проходит через водные каналы клеточной мембраны. Клетка теряет воду, что отрицательно сказывается на росте растений [Гордеев и др., 2005]. Избыток протонов в корневой среде нарушал строение мембран и поступление воды в корни кукурузы [Захарин, Паничкин, 2005]. При усилении кислотности корневой среды наблюдали снижение гидравлической проводимости мембран ризодермы проростков ячменя [Ктиторова, Скобелева, 2008]. В условиях кислотного стресса у растений отмечали нарушения строения и функций клеток корня, а также снижение массы и длины корней [Shavrukov, Hirai, 2016].

При снижении содержания свободной воды в растительных клетках возрастает концентрация цитоплазмы. Уменьшаются или утрачиваются гидратные оболочки белков и других полимеров, что нарушает их конформацию, может привести к денатурации. Снижается активность ферментов, а затем они инактивируются. В условиях недостатка воды возрастает проницаемость мембран, т.к. вследствие дегидратации нарушается

их структура [Yang et al., 2021].

Имеются сведения о негативном влиянии низких значений pH на пигментный аппарат растений. При выращивании на кислой почве в листьях пшеницы, ржи и гороха прослежено уменьшение содержания хлорофилла *a* [Боталова, Еремченко, 2020]. После 72 часов роста на кислых питательных растворах в листьях пшеницы снизилось количество фотосинтетических пигментов [Bhuyan et al., 2019].

Снижение pH на 0,5 единицы приводило к накоплению АФК в *Hordium vulgare* L. [Song et al., 2011] и *Pinus sylvestris* L. [Ivanov et al., 2013]. Нарушение антиоксидантной защиты в проростках пшеницы наблюдали после 72-часового воздействия питательных сред с pH 4; из-за избыточного образования АФК и выработки метилглиоксаля усилилось перекисное окисление липидов [Bhuyan et al., 2019].

1.4.3 Влияние на растения щелочной реакции корневой среды

Подщелачивание корневой среды стимулирует поглощение катионов растениями [Сабинин, 1955], препятствует усвоению неорганических анионов, в том числе, ионов Cl^- [Yang et al., 2008]. В условиях солщелочного стресса изменения в содержании Cl^- в листьях пшеницы зависели от щелочности на 25-29% [Арисова, Еремченко, 2023]. При солщелочном стрессе высокое значение pH ослабляет активность Na^+/H^+ антипорта, следовательно, Na^+ накапливается в организме [Abdel-Wahab, Hamada, 2012; Guo et al., 2017].

Щелочная реакция корневой среды нарушает мембранные процессы и селективное поглощение ионов, особенно, в условиях засоления. При выращивании на щелочной (pH=8,3) слабозасоленной почве в листьях и корнях пшеницы и в листьях гороха заметно снизилось содержание K^+ и увеличилось количество Na^+ [Еремченко и др., 2021]. Высокая селективность калиевых каналов обеспечивает повышенную концентрацию K^+ в цитоплазме растительной клетки. Щелочное засоление корневой среды нарушает проницаемость мембран, ионный баланс и селективную абсорбцию K^+/Na^+

[Guo et al., 2015; Latef, Tran, 2016].

В условиях щелочной почвенной среды снижается подвижность железа и его доступность для растений. При щелочном засолении из-за недостатка железа в листьях подсолнечника и кукурузы уменьшалось содержание фотосинтетических пигментов [Liu, Shi, 2010; Guo et al., 2017]. В листьях пшеницы, ржи и гороха, выращенных на щелочной почве наблюдали пониженное содержание хлорофилла *a* [Боталова, Еремченко, 2020]. В условиях щелочного стресса в проростках пшеницы уменьшалось количество фотосинтетических пигментов [Bhuyan et al., 2019].

Рядом исследований установлено, что в культурных растениях ухудшение фотосинтеза и снижение биосинтеза хлорофиллов более выражено при сощелочном стрессе (Na_2CO_3 , NaHCO_3), относительно солевого стресса, вызванного нейтральным составом солей (NaCl , Na_2SO_4) [Liu, Shi, 2010, Guo et al., 2017]. Следовательно, в условиях засоления высокие значения pH являются дополнительным фактором ухудшения процесса фотосинтеза. Урожайность твердой пшеницы при нейтральном химизме солей снижалась на 50% [Munns et al., 2012], а при щелочном засолении – на 70% [Rengasamy, 2002]. Ученые считают, что щелочной стресс у растений развивается сильнее солевого стресса [Lv et al., 2013].

При сощелочном стрессе растений отмечали усиленное подавление гликолиза, по сравнению с растениями в условиях солевого стресса [Olmos, Hellin, 1996; Guo et al., 2015; Guo et al., 2017]; наблюдали относительное снижение продукции сахаров и аминокислот [Guo et al., 2017].

Щелочная реакция среды, как и кислая среда, способствует нарушению водного баланса растений. При выращивании на щелочной почве (pH=8,3) в листьях пшеницы и ржи снизилось содержание воды, по сравнению с растениями на почве с нейтральной реакцией среды [Четина, Еремченко, 2022]. При щелочном стресс-воздействии наблюдали разрушение структуры клеток корня и потерю физиологических функций корней [Yang et al., 2008; Radi et al., 2012; Lv et al., 2014]. При избытке OH^- снижалась проницаемость

воды для клеток корня кукурузы, при этом обезвоживание клеток происходило в 2 раза сильнее, чем под воздействием раствора NaCl той же концентрации [Захарин, Паничкин, 2005]. Нами установлено значимое снижение содержания воды в кресс-салате через 24 часа воздействия щелочным раствором [Чернышева и др., 2024].

В условиях щелочного стресса эффективность процессов поддержки pH цитоплазмы может уменьшаться [Bhuyan et al., 2019]. Щелочность приводит к недостатку протонов и нарушению градиента трансмембранного электрохимического потенциала в растительной клетке [Лобанова и др., 2015; Guo et al., 2017; Guo et al., 2015; Yang et al., 2008; Liu, Shi, 2010].

Подобно другим видам стресса, щелочной стресс сопровождается нарушением антиоксидантной защиты растений и увеличением содержания АФК [Latef, Tran, 2016; Zhang et al., 2017]. После 72-часового воздействия щелочным раствором (pH=8,5) в листьях пшеницы наблюдалось резкое увеличение содержания H₂O₂ (на 134%) [Bhuyan et al., 2019].

1.4.4 Адаптация растений к низким и высоким значениям pH

Адаптация растений, произрастающих в условиях неблагоприятной реакции почвенной среды, проявлялась на разных уровнях защитных систем. Ранее выявлено, что растения-мутанты, лишенные хлорофилла *b*, испытывали сильный окислительный стресс [Tyutereva et al., 2017]. На кислых и щелочных почвах в листьях злаков на фоне уменьшения содержания хлорофилла *a* проявилась отчетливая тенденция к увеличению доли хлорофилла *b*. В листьях ржи на кислой почве доля хлорофилла *b* в сумме пигментов возросла на 10%, по сравнению с растениями на почве с нейтральной реакцией среды [Боталова, Еремченко, 2020]. По-видимому, поддержание пула хлорофилла *b* в растениях является показателем адаптивных возможностей растений на кислой и щелочной почве.

У растений, выращенных на кислой и щелочной почвах, наблюдали избирательное накопление катионов, что указывает на существовании

высокоселективных каналов и переносчиков ионов. В листьях ржи, выращенной на кислой (pH=5,1) дерново-подзолистой почве, бедной питательными элементами, содержание K^+ в листьях ржи было выше, чем в растениях на почве с нейтральной реакцией среды [Еремченко и др., 2021]. Возможно, в условиях кислой почвенной среды изменилась поглотительная способность корневой системы. Так, например, при усилении кислотности в корнях ячменя повышалась проводимость калиевых селективных каналов мембран [Amtmann et al., 1999].

В листьях ржи, выращенной на щелочной слабозасоленной почве количество K^+ было не ниже, чем у растений на почве с нейтральной реакцией среды [Еремченко и др., 2021]. Возможно, растения ржи отличаются активностью калиевых каналов и калиевых переносчиков, селективность которых нарушают только высокие концентрации Na^+ [Chen et al., 2007].

Особую роль в адаптации к кислым и щелочным почвам играет кальций, на что указывает сравнительный анализ минерального состава пшеницы, ржи и гороха [Еремченко и др., 2021]. На кислой почве в корнях пшеницы и ржи повышалось содержание ионов Ca^{2+} , по сравнению с вариантом на нейтральной почве. Цитозольный кальций содействует формированию сигнальной сети растительной клетки. Экзогенный кальций повысил устойчивость тканей и интактных растений к неблагоприятным факторам внешней среды [Колупаев, Карпец, 2010]. Ионы кальция способны ингибировать неселективные ионные каналы [Bressan et al., 1998].

Растения обладают способностью восстанавливать нарушенный окислительно-восстановительный баланс. Согласно современным представлениям, при окислительном стрессе на первой линии защиты находятся пероксидазы, непосредственно деактивирующие АФК и восстанавливающие низкомолекулярные антиоксиданты. Накопление восстановленной аскорбиновой кислоты также указывает на усиление антиоксидантной защиты растений [Шевякова и др., 2002; Колупаев и др., 2014; Noctor et al., 2015; Прадедова и др., 2017; Silveira, Sousa, 2024]. При

щелочном засолении в растениях активизировались ферменты антиоксидантной защиты, в том числе каталаза, пероксидазы и супероксиддисмутаза [Shi, Sheng, 2005; Guo et al., 2017; Latef, Tran, 2016].

При имитации кислотного дождя наблюдали накопление пролина в листьях томатов [Tomar, 2018]. Содержание этой аминокислоты в листьях подсолнечника повышалось при воздействии щелочных солей [Yan et al., 2005]. Накопление пролина в листьях кресс-салата отмечали при солещелочном стрессе [Чернышева и др., 2024]. При воздействии на растения *Aneurolepidium chinense*, *Helianthus annuus* щелочных солей отмечали концентрацию пролина, по сравнению с растениями в условиях нейтрального химизма засоления [Yan et al., 2005]. В условиях кислотного (pH=4,0) и щелочного (pH=8,5) стрессов у пшеницы аккумуляция пролина направлена, по мнению некоторых исследователей, на поддержку водного баланса растений. Через 72 часа воздействия кислой и щелочной корневой среды было обнаружено увеличение содержания пролина в 19 раз и 4 раза соответственно [Bhuyan et al., 2019].

Общепринятыми в настоящее время являются представления об участии пролина в антиоксидантной деятельности. Пролин инактивирует избыток гидроксильных радикалов и других высоко реактивных соединений, защищая от повреждения белки и мембраны [Кузнецов, Шевякова, 1999; Matysik et al., 2002; Dickman, Becker, 2008; Колупаев и др., 2014]. В тоже время имеются сведения об участии пролина в регуляции pH клеточной среды [Zhu, 2001]. Можно предположить, что в условиях кислотного и щелочного стресса это многофункциональное соединение проявляет антиоксидантную, осмопротекторную и pH-регулирующую активность.

Влияние стресс-факторов обычно приводит к снижению pH цитоплазмы, потому что ингибируется протонная помпа. О необходимости активизации механизмов pH-регуляции в клетке при усилении кислотности и щелочности корневой среды указывали ряд исследователей [Shavrukov, Hirai, 2016; Bhuyan et al., 2019; Четина и др., 2020]. В биохимическом механизме pH-регуляции

ведущую роль играет метаболизм органических кислот [Davies, 1973; Sakano, 1998; Трофимова, 2003].

У злаков, выращенных на щелочной почве, общее содержание органических кислот (щавелевая, яблочная, лимонная, янтарная) в листьях больше, чем у злаков на кислой почве; в пшенице их количество повышено на 7%; в листьях ржи – на 40%. При выращивании на щелочной почве общее количество органических кислот в листьях гороха выше примерно на 25%, чем в растениях на почве с нейтральной реакцией среды [Боталова, Еремченко, 2020].

При изучении сощелочного стресса накопление органических кислот в сельскохозяйственных растениях рассматривали в качестве одной из основных защитных реакций к щелочности корневой среды [Guo et al., 2010; Liu, Shi, 2010]. На двух видах соле- и щелочеустойчивых растений (*Aneurolepidium chinense*, *Helianthus annuus*) установлено, что при воздействии щелочных солей идет накопление лимонной кислоты в большей степени, чем в растениях в условиях нейтрального засоления такой же концентрации [Yan et al., 2005].

В неблагоприятных условиях изменения в содержании органических кислот могут быть связаны с подавлением гликолиза и переходом на энергетически затратные реакции альтернативного гликолиза. Уникальность альтернативного пути дыхания заключается в его участии в регуляции рН-гомеостаза и окислительно-восстановительного баланса растений. В неблагоприятных условиях переход на альтернативный путь дыхания вносит определенный вклад в поддержание метаболизма растений [Reid, Smith, 2002; Гармаш, 2010; Van Dongen et al., 2011; Гармаш, 2020].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обзор научной литературы продемонстрировал недостаточную изученность проблемы защитных механизмов растений при изменении реакции корневой среды. Ряд работ посвящен нарушениям процессов

минерального питания растений на почвах с кислой и щелочной реакцией среды, возможностям избирательного поглощения ионов, изменениям в структуре и функционировании фотосинтетического аппарата, нарушениям водного баланса. При выращивании на почве растения подвержены не только воздействию избытка протонов и гидроксид-ионов, с реакцией почвенной среды связаны доступность элементов питания, воды, кислорода, что затрудняет выявление ответных реакций растений непосредственно на высокие и низкие значения рН. На кислых почвах остается дискуссионным вопрос о сравнительной токсичности избытка протонов и алюминия.

В экспериментах по солевщелочному стрессу получены интересные данные по изменению физиолого-биохимических показателей растений. Прослежено сравнительное действие нейтральных и щелочных солей на про-/антиоксидантную активность, накопление низкомолекулярных соединений, фотосинтетический аппарат и т.д. При этом исследователи отмечали, что солевой и щелочной стрессы имеют разную природу, а в условиях комбинированного стресса отдельное действие щелочности выделяется весьма условно.

Единичные экспериментальные работы посвящены кислотному и щелочному стрессу растений, в которых отмечена недостаточная изученность механизмов устойчивости растений к неблагоприятному значению рН. Воздействие низких и высоких значений рН на физиолого-биохимическое состояние растений исследовали преимущественно на адаптационной фазе развития стресса, спустя дни после стресс-воздействия. Не достаточно сведений о начальной стадии развития кислотного и щелочного стресса (в первые минуты и часы после стресс-воздействия), когда активизируется первая линия защиты растений (антиоксидантная, осмопротекторная и др.). Относительно слабо разработаны аспекты рН-регуляции растений при избытке поступления протонов или гидроксид-ионов, в том числе, связанные с метаболизмом органических кислот. Ограничено количество модельных растений, что не позволяет выявить общие маркеры развития кислотного и

щелочного стрессов.

Таким образом, современный уровень разработки проблемы изменения метаболизма листьев при усилении кислотности и щелочности корневой среды не достаточен, не раскрыты в необходимом объеме нарушения редокс-, осмо- и рН-регуляции. Отсюда следует особый интерес к системным реакциям листьев, связанных с участием антиоксидантов, осмопротекторов и соединений, участвующих в рН-регуляции, в формировании устойчивости к неблагоприятной реакции корневой среды.

В связи с вышеизложенной информацией о кислотном и щелочном стрессе растений нами были поставлены задачи по выявлению признаков про-/антиоксидантной активности листьев растений пшеницы яровой, ржи посевной, гороха посевного, а также процессов накопления некоторых низкомолекулярных соединений, характеризующихся многофункциональной активностью, в листьях в первые часы после стресс-воздействия. Системные реакции первой линии защиты листьев в стрессовом состоянии формируют новый уровень гомеостаза; они могут быть маркером развития адаптивных процессов у растений разного генотипа.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты и условия выращивания

В качестве объектов исследования использовали пшеницу мягкую яровую (*Triticum aestivum* L.) сорта Горноуральская, рожь посевную озимую (*Secale cereale* L.) сорта Фаленская 4 и горох посевной (*Pisum sativum* L.) сорта Ямальский РС I. Выбор объектов связан с разной требовательностью растений к реакции почвенной среды [Вальков и др., 2004]. Оптимальная реакция почвенной среды для роста и развития яровой пшеницы составляет 6,0-7,5 рН. Рожь возделывают в зоне распространения кислых почв (дерново-подзолистые, серые); для этой культуры оптимум реакции почвенной среды – 5,5-7,5 рН. Горох – это представитель другого класса покрытосеменных растений, его адаптивные способности могут иметь специфический характер. Отмечают чувствительность гороха к реакции почвенной среды, оптимальные показатели выращивания – 6,0-7,0 рН [Вальков и др., 2004].

Схема постановки эксперимента

Предварительно замоченные семена пшеницы, ржи и гороха посадили в умеренно увлажненный вермикулит в контейнеры размером 16 x 12 x 7 см. Злаки выращивали в климатической камере для культивирования растений ШН – М (ООО «Калипсо», Россия) в течение 5 дней при температуре 25° С и длине светового дня – 18 часов. На 6-й день в корневую среду растений вносили кислый или щелочной раствор; контрольный вариант поливали дистиллированной водой. Перед стресс-воздействием злаки находились в стадии первого листа.

Горох выращивали в течение 14 дней при таких же условиях, на пятнадцатый день в корневую среду растений добавляли растворы с разными значениями рН. Перед стресс-воздействием растения гороха находились в стадии виргинильного возрастного состояния, которая наступает через 12-16 дней после появления всходов [Сащенко, Подвигина, 2014].

Щелочную среду раствора (рН=10) формировали глицин NaOH буфером. Содержание Na⁺ в буфере было определено методом пламенной

фотометрии (ФПА-2 «Загорский оптико-механический завод», Россия). Концентрация Na^+ составляла 8,5 мМ, поэтому токсическим и осмотическим воздействием этого иона на растение решили пренебречь.

Кислую среду раствора (рН=3) создавали уксусной кислотой, концентрация уксусной кислоты в водной фазе вермикулита в момент внесения кислого раствора составляла около 27-30 мМ.

Значения рН в вермикулите контролировали путем измерения на иономере в течение двух суток; через 24 ч показатель оставался относительно устойчивым, через 48 ч реакция среды изменилась примерно на 0,5 рН (до рН 9,5 и рН 3,5). В опыте использовали вермикулит Ковдорского месторождения, который способен поддерживать в питательной среде заданный уровень рН [Иванова, Иноземцева, 2010].

2.2 Определение физиолого-биохимических показателей

2.2.1 Определение морфометрических показателей

Замеры длины и сырой массы надземной части пшеницы и ржи проводили в вариантах опыта в 30-кратной повторности через 24 ч и 48 ч после изменения рН корневой среды.

Скорость роста пшеницы и ржи (см/24 ч) в первые сутки рассчитывали по формуле: $\Delta h_1 = h_{24} - h_0$; во вторые сутки: $\Delta h_2 = h_{48} - h_{24}$; где h_0 – длина растений перед изменением реакции корневой среды, h_{24} – длина растений через 24 ч, h_{48} – длина растений через 48 ч. Скорость прироста массы растений (мг/24 ч) в первые сутки рассчитывали по формуле: $\Delta m_1 = m_{24} - m_0$; во вторые сутки: $\Delta m_2 = m_{48} - m_{24}$; где m_0 – сырая масса растений перед изменением рН корневой среды, m_{24} – масса растений через 24 ч, m_{48} – масса растений через 48 ч после стресс-воздействия. Скорость роста (см/24 ч) и скорость прироста массы (мг/24 ч) демонстрируют изменение показателей состояния растений за сутки. Ускорение роста (см/24 ч) и ускорение прироста (мг/24 ч) рассчитывали по формулам: $a_h = \Delta h_2 - \Delta h_1$ и $a_m = \Delta m_2 - \Delta m_1$ соответственно. Ускорение роста (и прироста массы) во вторые сутки по сравнению с первыми сутками

демонстрирует возможность (или неспособность) злаков адаптироваться к изменению pH корневой среды.

Длину и сырую массу надземной части гороха измеряли через 48 ч после изменения реакции корневой среды в 30-кратной повторности.

2.2.2 Определение физиолого-биохимических показателей

Отбор растительных проб проводили через 0,5, 1, 2, 3, 4 и 24 ч после стресс-воздействия. Биологические пробы листьев растений отбирали равномерно по всей площади контейнера. Пробу измельчали и затем брали навеску. В сырой массе листьев растений было изучено содержание воды, пероксида водорода и восстановленной аскорбиновой кислоты, а также определены каталазная и пероксидазная активности.

Для определения содержания воды через 24 ч и 48 ч после стресс-воздействия в каждом варианте опыта отбирали листья десяти растений в 6-кратной повторности. После их высушивания при температуре 60°С (до постоянного веса) по потере воды вычисляли относительное содержание воды по формуле: $[(сырая\ масса - сухая\ масса) / сырая\ масса] \times 100\%$.

Содержание пероксида водорода измеряли ферротiocанатным методом [Sagisaka, 1976] на спектрофотометре (СФ-2000 “ОКБ Спектр”, Россия).

Навеску 200 мг сырой массы, гомогенизировали с 3,5 мл 5% ТХУ. Полученный гомогенат центрифугировали при 14000 об./мин в течение 5 минут. К 1,6 мл супернатанта приливали 0,4 мл 50% ТХУ; 0,4 мл 10мМ соли Мора; 0,2 мл 2,5М роданистого калия. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре с толщиной кюветы 1 см при длине волны 480 нм, в качестве контроля использовали дистиллированную воду, концентрацию пероксида водорода определяли по стандартному калибровочному графику (пределы концентраций пероксида водорода 0–10 мМ/мл).

Каталазную активность определяли методом перманганатометрии

[Королук и др., 1988]. Метод основан на определении количества пероксида водорода, расщепленного в процессе инкубации с ферментом.

Навеску сырого растительного материала 200 мг измельчали в ступке с дистиллированной водой, переносили в мерную колбу на 50 мл. Вытяжку фильтровали через бумажный фильтр. Отфильтрованный гомогенат в объеме 5 мл инкубировали в течение 10 мин с 0,3% раствором пероксида водорода. Инкубацию прекращали, добавляя 5 мл 10% серной кислоты. Неразложившуюся перекись водорода оттитровывали 0,05 н раствором KMnO_4 , до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение минуты. Параллельно готовили контрольную пробу – 5 мл гомогената, для инактивации фермента прогревали в кипящей водяной бане (ТW-2.02 «ЭЛМИ», Латвия) в течение 5 минут, затем приливали 5 мл 0,3% раствора пероксида водорода, инкубировали в течение 5 минут, инкубацию прекращали внесением 5 мл 10% серной кислоты. Неразложившийся пероксид водорода оттитровывали 0,05 н раствором KMnO_4 , до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение минуты.

Активность пероксидаз измеряли модифицированным методом А.М. Бояркина. Растительный материал массой 100 мг растирали в ступке с дистиллированной водой, переносили в мерную колбу объемом 25 мл и доводили объем до метки, настаивали 10 минут, центрифугировали при скорости вращения 3000 об/мин на центрифуге MPW-351 («MPW», Польша). В надосадочной жидкости определяли активность пероксидаз, о которой судили по времени образования синей окраски окисленного бензидина. Определение проводили на электрокалориметре КФК-2-УХЛ 4.2 («ЗОМЗ», Россия) при длине волны 670 нм.

В каждую из двух кювет толщиной 20 мм наливали по 2 мл вытяжки, 2 мл воды, 2 мл бензидина. В одну из кювет (контроль) доливали еще 2 мл воды. Ставили кюветы с контролем и исследуемым раствором в кюветодержатели. Устанавливали оптическую плотность раствора сравнения (контроля) на нуль (градуировка КФК). С помощью тумблера

устанавливали на пути светового потока кювету с исследуемым раствором. В исследуемый раствор из пипетки с широким носиком быстро добавляли 2 мл 0,3%-го раствора пероксида водорода. Одновременно с падением первой капли включали секундомер. В кювете раствор постепенно начинал синеть, закрывали шторку прибора. Далее отсчитывали время от начала приливания пероксида водорода до достижения раствором оптической плотности 0,250 единиц. Результат активности фермента выражали изменением оптической плотности за одну секунду (условные единицы) на грамм сырой массы листьев растений.

Содержание восстановленной аскорбиновой кислоты измеряли колориметрическим методом [Чупахина, 2000].

Для количественного определения восстановленной аскорбиновой кислоты брали навеску свежего растительного материала – 500 мг. Навеску измельчали ножницами из нержавеющей стали. Измельченный материал заливали 10 мл 2%-ной метафосфорной кислоты и быстро растирали в фарфоровой ступке. Гомогенат количественно переносили в мерную колбу на 100 мл, объем доводили до метки раствором 2%-ной метафосфорной кислоты. Колбу встряхивали, экстракт фильтровали. К 10 мл фильтрата добавляли по 1 мл свежеприготовленного 0,025%-ного раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола (краска), включали секундомер. Растительную вытяжку с краской хорошо перемешивали, раствор заливали в кювету толщиной 10 мм. Фотометрирование проводилось через 35 секунд с момента добавления краски к фильтрату на электрокалориметре КФК-2-УХЛ 4.2 («ЗОМЗ», Россия) при длине волны 540 нм, в качестве контроля использовали 2% раствор метафосфорной кислоты. Расчет производили по калибровочной кривой. Содержание аскорбиновой кислоты определяли по стандартному калибровочному графику (пределы концентраций аскорбиновой кислоты 1 – 10 мкг).

Содержание пролина, флавоноидов и органических кислот (щавелевой, лимонной, яблочной, янтарной) определяли в сухой массе листьев. В каждый

срок наблюдений (0,5, 1, 2, 3, 4 и 24 ч) проводили сбор листьев, фиксировали при температуре 105° С в течение 30 мин и досушивали при 60° С.

Количество пролина измеряли по методу Bates [Bates et al., 1973] на спектрофотометре («СФ-2000», Россия).

Навеску 100 мг сухого растительного материала растирали с 10 мл 3% сульфосалициловой кислоты, гомогенат фильтровали через бумажный фильтр. 2 мл фильтрата смешивали с 2 мл ледяной уксусной кислоты и 2 мл нингидрина (1,25г нингидрина нагревали в 30 мл ледяной уксусной кислоты с 20 мл 6М H_3PO_4 до полного растворения); смесь выдерживали 1 час на водяной кипящей бане (ТW-2.02 «ЭЛМИ», Латвия), после чего пробирки охлаждали. К полученной смеси добавляли 4 мл толуола, закрывали пробирку стеклянной крышечкой и энергично встряхивали в течении 20 сек. Затем смеси давали отстояться 30 мин.

Для измерения забирали верхнюю фазу, избегая попадания нижней фазы. Измеряли при длине волны 520 нм, толщине кюветы 1 см. Контролем служил толуол. Концентрацию пролина определили по стандартному калибровочному графику (пределы концентраций пролина 0 – 50 мг) на спектрофотометре (СФ-2000 “ОКБ Спектр”, Россия).

Флавоноиды извлекали 70% раствором этанола; содержание флавоноидов измерили методом спектрофотометрии продуктов взаимодействия с 5% спиртовым раствором $AlCl_3$ при длине волны 425 нм.

Навеску 20 мг измельченных листьев заливали 5 мл 70% этанола, нагревали на водяной бане ТW-2.02 «ЭЛМИ» (Латвия) при 60° С 1 час, доводили до первоначального объема. Охлажденный экстракт фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента». Отбирали 2 мл фильтрата, приливали к нему 2 мл 5%-го хлорида алюминия в спирте (95%), выдерживали 15 минут. Измерение проводили на спектрофотометре (СФ-2000 «ОКБ Спектр», Россия) в видимой области спектра при длине волны 425 нм, в качестве контроля использовали 70% этиловый спирт. Градуировку прибора проводили по стандартным растворам кверцетина.

Органические кислоты (щавелевая, лимонная, яблочная, янтарная) измеряли в водном экстракте листьев растений методом обращено-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовой детекцией при длине волны 263 нм (Dionex, Ultimate 3000, «Thermo Scientific», США). Измельченные до порошкообразного состояния листья – 20 мг заливали 10 мл бидистиллированной воды, инкубировали 2 часа на орбитальном шейкере (S-3.02.20L «ЭЛМИ», Латвия) со скоростью 180 об/мин, экстракт фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента». Фильтрат использовали для определения органических кислот. Тип колонки: Acclaim Polar Advantage II C18 2,1 × 150 мм, 3 мкм, 120 Å (THERMO, США). Подвижная фаза: элюент А – фосфатный буфер рН 2.5, 20 мМ, элюент Б – ацетонитрил ОСЧ сорт 0, скорость потока 0.19 мл/мин, режим элюирования градиентный: 0 – 3.0 мин элюент Б 5%; 3.0 – 3.5 мин элюент Б до 10%; 3.5 – 6.5 мин элюент Б 10%; 6.5 – 7.5 мин элюент Б до 25%; 7.5 – 10 мин элюент Б 25%; 10 – 12 мин элюент Б до 5%. Объем ввода пробы 20 мкл.

2.3 Математическая обработка результатов

Распределение данных по длине и массе надземной части растений не отличалось от нормального распределения при уровне значимости $P=0,055-0,706$, характер распределения тестировали с помощью критериев Колмогорова и омега-квадрат. Длину и массу пшеницы, ржи и гороха представляли в виде средней арифметической, а разброс значений в виде ошибки средней. Значимость различий длины и массы растений в вариантах рН 3 и рН 10 с показателями в контрольном варианте опыта определяли с помощью критерия Стьюдента; значимыми считали различия между сравниваемыми средними величинами с доверительной вероятностью 95% и выше (уровень значимости $P < 0,05$) (см. приложения 1-6).

Биологическая повторность определения содержания воды в листьях растений шестикратная. Полученные данные по содержанию воды представляли в виде медианы, а разброс значений в виде интерквартильной

широты. Значимость различий содержания воды в листьях растений в вариантах рН 3 и рН 10 с показателями в контрольном варианте опыта рассчитывали дисперсионным непараметрическим методом с помощью критерия Крускала-Уоллиса с доверительной вероятностью 95% и выше (уровень значимости $P < 0,05$).

Биологическая и аналитическая повторность определения физиолого-биохимических показателей – трехкратная. Полученные данные представляли в виде медианы, а разброс значений в виде интерквартильной широты. Значимость различий физиолого-биохимических показателей растений в вариантах рН 3 и рН 10 с показателями в контрольном варианте опыта рассчитывали дисперсионным непараметрическим методом с помощью критерия Крускала-Уоллиса с доверительной вероятностью 95% и выше (уровень значимости $P < 0,05$) (см. приложения 7-33).

Зависимость между физиолого-биохимическими показателями в листьях растений рассчитывали методом непараметрической корреляции с помощью критериев Спирмена и Кенделла; значимыми считали коэффициенты корреляции между медианами физиолого-биохимических показателей при доверительной вероятности 95% и выше (уровень значимости $P < 0,05$).

Математическую обработку данных проводили в программах Statistica 10 (StatSoft 7) и Past (версия 4.03).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Изменение длины и массы растений в условиях кислотного и щелочного стрессов

Пшеница

Через 24 ч после изменения рН корневой среды в обоих вариантах опыта длина надземной части пшеницы была ниже контрольных значений на 3% (табл. 1). Через 48 ч в варианте опыта с кислой корневой средой растения были ниже контрольных растений на 8%; между растениями в варианте опыта со щелочной средой и в контроле не наблюдали значимых различий.

Через 24 ч после стресс-воздействия в варианте опыта с кислой корневой средой масса надземной части растений была ниже массы контрольных растений на 5%, но через 48 ч между растениями в этих вариантах опыта не установлено значимых различий. В варианте опыта со щелочной средой через 24 ч после изменения рН масса растений не отличалась от массы контрольных растений, однако через 48 часов она превысила контрольный показатель на 10%.

У растений пшеницы во всех вариантах опыта в течение 24 ч отмечена низкая скорость роста надземной части, но в последующие 24 ч она возросла в несколько раз (табл. 1). Через 24 ч после изменения рН корневой среды скорость роста пшеницы ниже, чем у контрольных растений в 3 раза; во вторые сутки скорость роста восстановилась, однако в варианте с кислой средой она была несколько ниже, чем в контрольном варианте опыта. Скорость роста пшеницы во вторые сутки не показала значимых различий в контрольном и щелочном вариантах опыта.

В контрольном варианте опыта за первые 24 ч скорость прироста массы составила 5,4% относительно массы растений в начале эксперимента, а в варианте с кислой реакцией среды масса пшеницы за сутки практически не изменилась. За этот же период наблюдений в варианте со щелочной реакцией среды скорость прироста массы пшеницы составила 3,6% относительно

начальной массы растений.

В течение вторых суток в контрольном варианте опыта скорость прироста массы растений осталась на том же уровне, т.е. ускорение прироста массы было нулевым. За этот же период наблюдений в варианте с кислой корневой средой скорость прироста массы составила 9% относительно массы растений после первых 24 ч наблюдений. В этом варианте опыта с низкой рН значительным было и ускорение прироста массы пшеницы.

За вторые 24 ч наблюдений в условиях щелочной корневой среды скорость прироста сырой массы пшеницы превысила скорость прироста массы в контрольном варианте опыта. В отличие от контрольных растений, в варианте со щелочной корневой средой отмечено ускорение прироста массы во вторые сутки по сравнению с первыми.

Рожь

Через 24 ч после стресс-воздействия в варианте с кислой реакцией корневой среды длина надземной части ржи не отличалась от длины контрольных растений. Но через 48 ч растения были меньше контрольных растений на 8% (табл. 2).

Через 24 ч после стресс-воздействия в щелочном варианте опыта длина растений была ниже на 5%, через 48 ч – на 8 % по сравнению с длиной контрольных растений.

Масса растений ржи через 24 ч после изменения рН в вариантах с кислой и щелочной средой не имела статистически значимых различий с массой контрольных растений. Но через 48 ч в обоих вариантах опыта масса ржи была ниже контрольных значений на 14–15 %.

Таблица 1 – Изменение длины (см) и сырой массы (мг) надземной части пшеницы после стресс-воздействий

Вариант	Длина (h), скорость роста (Δh)		Ускорение роста (a_h)	Масса (m), скорость прироста (Δm)		Ускорение прироста массы (a_m)
	$\frac{h_{24}}{\Delta h_{24}}$	$\frac{h_{48}}{\Delta h_{48}}$		$\frac{m_{24}}{\Delta m_{24}}$	$\frac{m_{48}}{\Delta m_{48}}$	
Контроль	<u>13.4</u>	<u>16.4</u>	2.42	<u>58</u>	<u>61</u>	0
	0.6	3.0		3.0	3.0	
pH 3	<u>13.0*</u>	<u>15.7*</u>	2.50	<u>55*</u>	<u>60</u>	5.0
	0.2	2.7		0	5.0	
pH 10	<u>13.0*</u>	<u>16.1</u>	2.99	<u>57</u>	<u>63</u>	4.0
	0.2	3.1		2.0	6.0	

Примечание.

- * – наличие значимых различий в сравнении с растениями в контрольном варианте опыта, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента при уровне $P < 0,05$.
- Скорость роста надземной части пшеницы (см/24 ч) в первые сутки наблюдений: $\Delta h_{24}=h_{24}-h_0$; во вторые сутки наблюдений: $\Delta h_{48}=h_{48}-h_{24}$; где h_0 – длина растений перед изменением pH корневой среды, h_{24} – длина растений через 24 ч после стресс-воздействия, h_{48} – длина растений через 48 ч после стресс-воздействия.
- Скорость прироста сырой массы пшеницы (мг/24 ч) в первые сутки наблюдений: $\Delta m_{24}=m_{24}-m_0$; во вторые сутки наблюдений: $\Delta m_{48}=m_{48}-m_{24}$; где m_0 – масса растений перед изменением реакции корневой среды, m_{24} – масса растений через 24 ч после стресс-воздействия, m_{48} – масса растений через 48 ч после стресс-воздействия.
- Ускорение роста пшеницы за период наблюдений (см/24 ч): $a_h=\Delta h_{48}-\Delta h_{24}$; ускорение прироста массы пшеницы за период наблюдений (мг/24 ч): $a_m=\Delta m_{48}-\Delta m_{24}$.

Таблица 2 – Изменение длины (см) и сырой массы (мг) надземной части растений ржи после стресс-воздействий

Вариант	Длина (h), скорость роста (Δh)		Ускорение роста (a_h)	Масса (m), скорость прироста (Δm)		Ускорение прироста массы (a_m)
	$\frac{h_{24}}{\Delta h_{24}}$	$\frac{h_{48}}{\Delta h_{48}}$		$\frac{m_{24}}{\Delta m_{24}}$	$\frac{m_{48}}{\Delta m_{48}}$	
Контроль	<u>12.9</u>	<u>14.0</u>	0.36	<u>53</u>	<u>59</u>	4.0
	0.7	1.1		2.0	6.0	
рН 3	<u>12.8</u>	<u>12.8*</u>	-0.58	<u>58</u>	<u>51*</u>	-12.0
	0.6	0		5.0	-7.0	
рН 10	<u>12.2*</u>	<u>12.9*</u>	0.66	<u>48</u>	<u>50*</u>	5.0
	0	0,7		-3.00	2.0	

Примечание.

- * – наличие значимых различий в сравнении с растениями в контрольном варианте опыта, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента при уровне $P < 0,05$.
- Скорость роста надземной части ржи (см/24 ч) в первые сутки наблюдений: $\Delta h_{24} = h_{24} - h_0$; во вторые сутки наблюдений: $\Delta h_{48} = h_{48} - h_{24}$; где h_0 – длина растений перед изменением рН корневой среды, h_{24} – длина растений через 24 ч после стресс-воздействия, h_{48} – длина растений через 48 ч после стресс-воздействия.
- Скорость прироста сырой массы ржи (мг/24 ч) в первые сутки наблюдений: $\Delta m_{24} = m_{24} - m_0$; во вторые сутки наблюдений: $\Delta m_{48} = m_{48} - m_{24}$; где m_0 – масса растений перед изменением реакции корневой среды, m_{24} – масса растений через 24 ч после стресс-воздействия, m_{48} – масса растений через 48 ч после стресс-воздействия.
- Ускорение роста пшеницы за период наблюдений (см/24 ч): $a_h = \Delta h_{48} - \Delta h_{24}$; ускорение прироста массы пшеницы за период наблюдений (мг/24 ч): $a_m = \Delta m_{48} - \Delta m_{24}$.

Через 24 ч в контрольном варианте опыта длина растений увеличилась на 5,7%. При этом в варианте с кислой реакцией корневой среды скорость роста растений несколько замедлилась. За последующие 24 ч скорость роста пшеницы в кислом варианте опыта снизилась до нуля, а ускорение роста достигло отрицательной величины. После внесения щелочи в корневую среду в первые 24 ч рост растений ржи прекратился, во вторые 24 ч скорость роста была ниже, чем у растений в контрольном варианте опыта. Одновременно ускорение роста во вторые сутки в варианте со щелочной средой было выше, чем у контрольных растений (табл. 2).

За период наблюдений 24 ч в контрольном варианте опыта сырая масса ржи увеличилась на 3,9%. Влияние высоких и низких значений рН на сырую массу растений ржи через 24 ч после стресс-воздействия оказалось статистически не значимым. В тоже время скорость прироста массы в варианте с кислой реакцией среды была положительной, т.е. проявлялась тенденция к росту растений. Но в щелочном варианте опыта скорость прироста массы растений ржи была отрицательной величиной.

В последующие 24 ч наблюдений в контрольном варианте опыта масса растений ржи увеличилась на 11,3% по отношению к предыдущему периоду наблюдений.

Во второй период наблюдений (48 ч) на фоне рН 3 масса растений ржи снизилась относительно первого периода наблюдений, соответственно, скорость прироста массы и ускорение прироста были отрицательной величиной. В щелочном варианте опыта растения выросли на 4% по сравнению с первым периодом наблюдений, следовательно, скорость прироста надземной массы ржи была небольшой. В тоже время ускорение прироста массы растений на фоне щелочной среды даже чуть выше, чем в контрольном варианте опыта (табл. 2).

Горох

В контрольном варианте опыта длина надземной части гороха за период

наблюдений (48 ч) увеличилась на 13,8 %. В варианте с низким значением pH длина растений за 48 ч не изменилась и была ниже контрольного уровня. Растения гороха в варианте со щелочной средой выросли на 14,9% и к концу наблюдений по длине не отличались от контрольных растений (табл. 3).

Таблица 3 – Изменение длины и сырой массы надземной части гороха после стресс-воздействий

Вариант	Длина (см)		Масса (мг)	
	До изменения pH	Через 48 ч после изменения pH	До изменения pH	Через 48 ч после изменения pH
Контроль	12.3±0.2	14.0±0,2	516±12	543±10
pH 3	12.0±0.1	12.1±0.2*	511±11	471±19*
pH 10	12.1±0.1	13.9±0,2	510±10	508±21

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с растениями в контрольном варианте опыта, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента при уровне $P < 0,05$

За период наблюдений сырая масса гороха в контрольном варианте опыта увеличилась на 5%. Через 48 ч в варианте с кислой корневой средой масса растений была ниже контрольного уровня; одновременно, она даже несколько снизилась относительно массы растений в начале эксперимента (табл. 3). В щелочном варианте опыта за 48 ч развития масса растений в этом варианте опыта не изменилась, масса гороха не отличалась от массы контрольных растений.

Обсуждение

В течение двух суток после изменения реакции корневой среды отмечены торможение роста и изменения массы надземной части исследуемых растений. В условиях кислой среды (pH 3) уменьшились длина и сырая масса надземной части пшеницы яровой, ржи озимой и гороха посевного относительно контрольных значений. При щелочной корневой среде (pH 10) у злаков отмечено уменьшение прироста надземной части растений; в листьях гороха таких изменений не наблюдалось.

Масса растений ржи в условиях кислой корневой среды в первый период наблюдений заметно возросла, но в течение следующих суток понизилась, вероятно, из-за нарушения водного баланса. Возможной причиной этого являются нарушения структуры и функций корневых клеток в условиях кислотного стресса, наблюдаемые ранее другими авторами [Kobayashi et al., 2013; Shavrukov, Hirai, 2016].

В условиях кислой корневой среды у обоих злаков скорость роста и скорость прироста массы были ниже, по сравнению со щелочной средой. Кислая реакция в большей степени, чем щелочная, нарушала строение мембран и поступление воды в корни кукурузы [Захарин, Паничкин, 2005]. В целом адаптация пшеницы к изменению pH корневой среды происходила быстрее, чем у ржи, на что указывали ускорение роста и прироста массы во вторые сутки наблюдений (48 ч), по сравнению с первым периодом наблюдений (24 ч).

У гороха в варианте опыта с низкой pH корневой среды установили торможение роста и снижение массы надземной части, что может быть обусловлено нарушением корневой системы. В условиях кислой среды отмечали уменьшение массы и длины корней, изменения в структуре и функциях мембран корневых клеток разных культурных растений [Захарин, Паничкин, 2005; Kobayashi et al., 2013; Shavrukov, Hirai, 2016]. Гидравлическая проводимость мембран ризодермы проростков ячменя снижалась при уменьшении pH корневой среды [Скобелева, 2008].

Таким образом, данные по изменению длины и массы надземной части пшеницы, ржи и гороха показали, что растения испытывали общее угнетение под воздействием высоких и, особенно, низких значений pH.

3.2 Динамика содержания воды в листьях растений

Пшеница

В течение 24 ч после стресс-воздействия содержание воды в листьях пшеницы не отличалась от контрольного уровня (рис. 4). Через 48 ч

оводненность листьев пшеницы была меньше при кислотном стрессе – на 0,8%, при щелочном стрессе – на 2,5% относительно оводненности у контрольных растений.

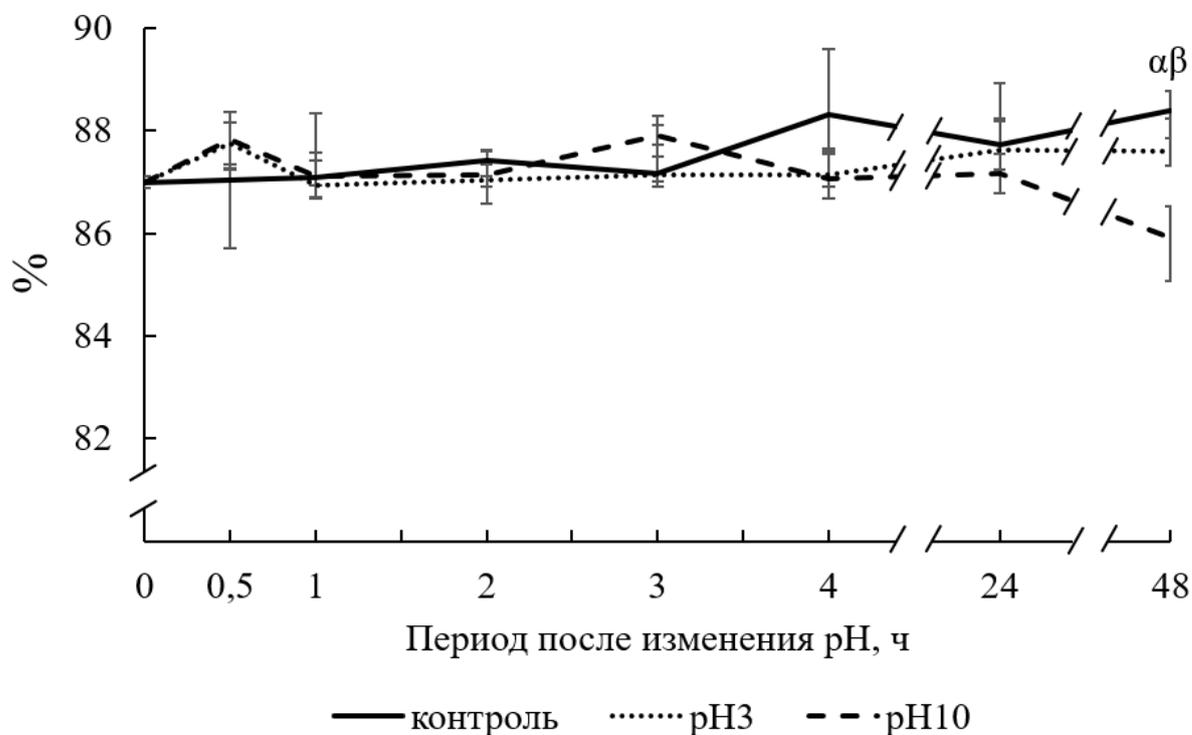


Рисунок 4 – Изменение оводненности листьев пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Рожь

В листьях ржи через 2 часа после стресс-воздействия отметили снижение содержания воды в варианте опыта с кислой средой. Через 24 и 48 часов после подкисления корневой среды количество воды в листьях ржи ниже контрольного уровня на 2,0% и 1,4% (рис. 5). При щелочном стрессе значимое уменьшение содержания воды также наблюдали в периоды 24 и 48 ч, когда ее количество было ниже контрольных значений на 1,5% и 2,6% соответственно.

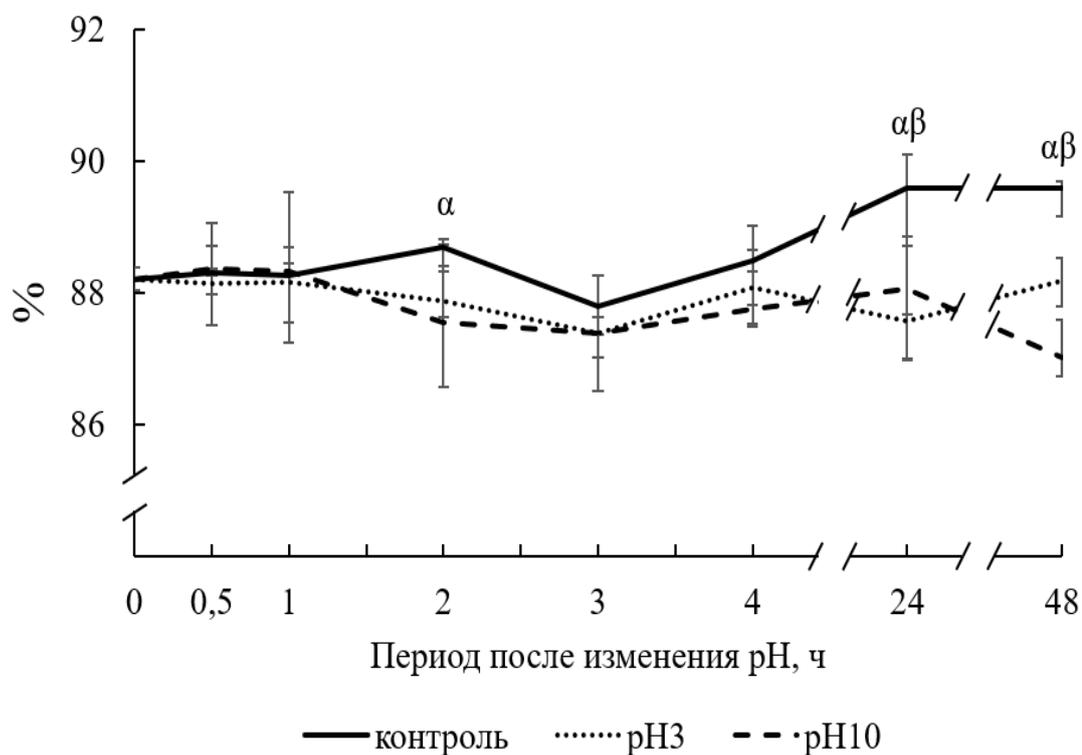


Рисунок 5 – Изменение оводненности листьев ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Горох

В листьях гороха количество воды заметно варьировало в течение периода наблюдений. В условиях кислотного стресса значимые снижения оводненности отметили через 24 и 48 ч после стресс-воздействия, когда количество воды снизилось на 1,5% и 0,9% относительно контрольных значений (рис. 6). При щелочном стрессе содержание воды в листьях гороха было меньше контрольного уровня только через 1 ч после стресс-воздействия, в последующие периоды значимых различий не установлено.

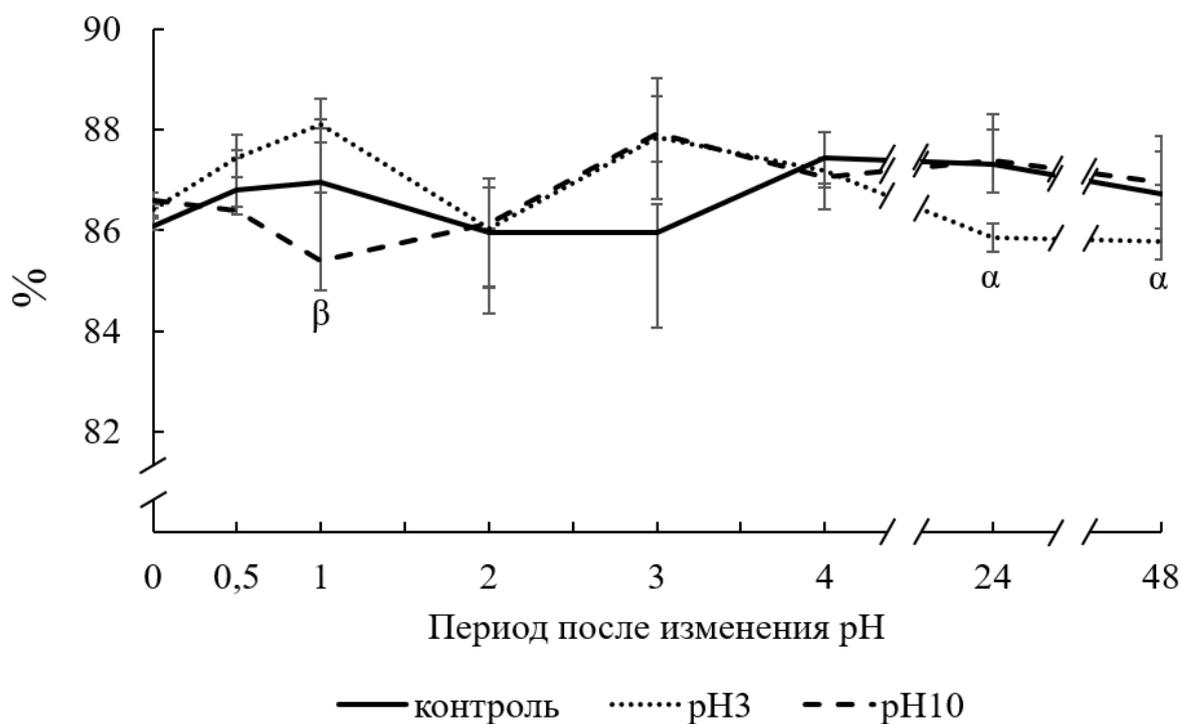


Рисунок 6 – Изменение оводненности листьев гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Обсуждение

При снижении содержания свободной воды в растительных клетках возрастает концентрация цитоплазмы, уменьшаются или утрачиваются гидратные оболочки белков и других полимеров, что изменяет их конформацию, приводит к денатурации [Yang et al., 2021]. Водный стресс сопровождается уменьшением экстрюзии протонов в апопласт, что приводит к повышению pH апопласта и ингибированию роста [Volkenburgh, Boyer, 1985; Wilkinson, 1999; Geilfus, 2017]. Нарушение водного баланса растений происходит в условиях засухи [Yang et al., 2021] и засоления [Alavilli et al., 2016].

Наши исследования показали, что через 24-48 ч после стрессовых воздействий содержание воды в листьях пшеницы, ржи и, в меньшей степени, гороха несколько снизилось. Это снижение количества воды в растениях

происходило, по-видимому, из-за нарушения водопоглощающей функции корня, что характерно в среде с избытком протонов и гидроксид-ионов [Гордеев и др., 2005; Захарин, Паничкин, 2005].

Недостаток свободной воды в клетках растений может нарушить функции ферментов и мембран, транспорт электронов и протонов в митохондриях и хлоропластах. При дефиците воды в клетках продуцируется избыток АФК, против которых активизируются ферменты и синтезируются низкомолекулярные многофункциональные соединения [Yang et al., 2022].

3.3 Динамика содержания пероксида водорода

Пшеница

За период наблюдений (24 ч) в контрольном варианте опыта концентрация H_2O_2 в листьях пшеницы была относительно постоянной (рис. 7).

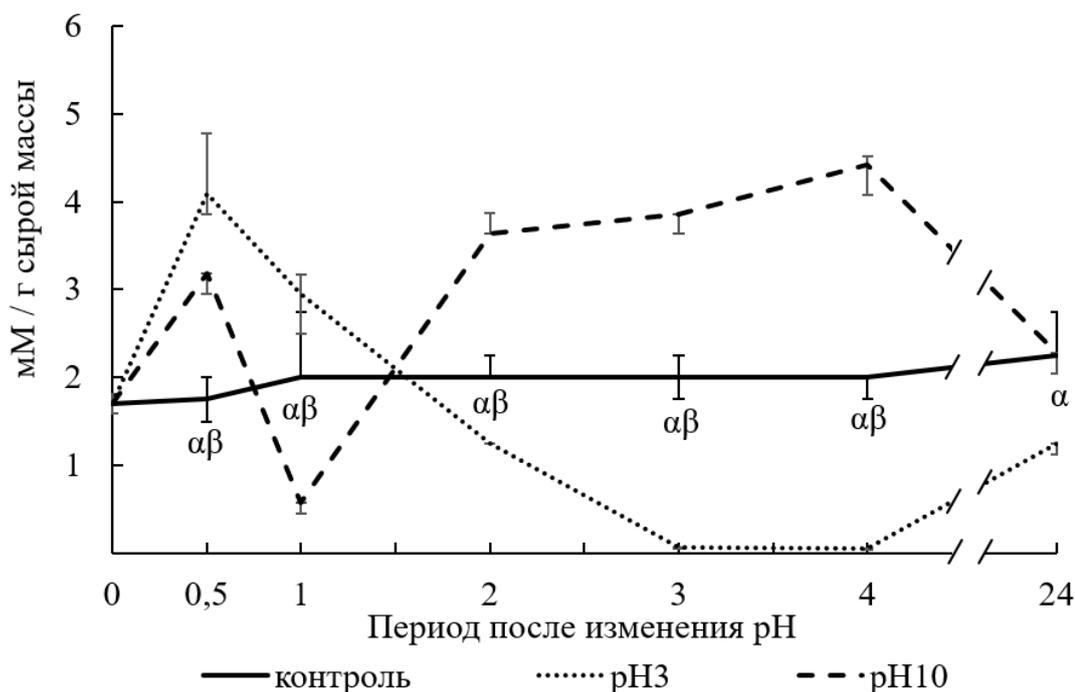


Рисунок 7 – Изменение содержания пероксида водорода в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

В условиях кислотного стресса концентрация пероксида водорода существенно варьировала; она увеличилась относительно контрольного уровня в первые часы (0,5-2 ч), а затем существенно снизилась относительно контрольных значений. В условиях щелочного стресса содержание H_2O_2 было выше контрольных значений через 0,5, 2, 3 и 4 ч после стресс-воздействия; через 24 ч различия с контрольным вариантом опыта стали статистически незначимыми.

Рожь

В начале наблюдений (0,5-2 ч) в листьях ржи в условиях кислого стресса в концентрации H_2O_2 не наблюдали значимых различий с контрольными значениями; при щелочном стрессе содержание H_2O_2 было повышенным через 2 ч после стресс-воздействия (рис. 8).

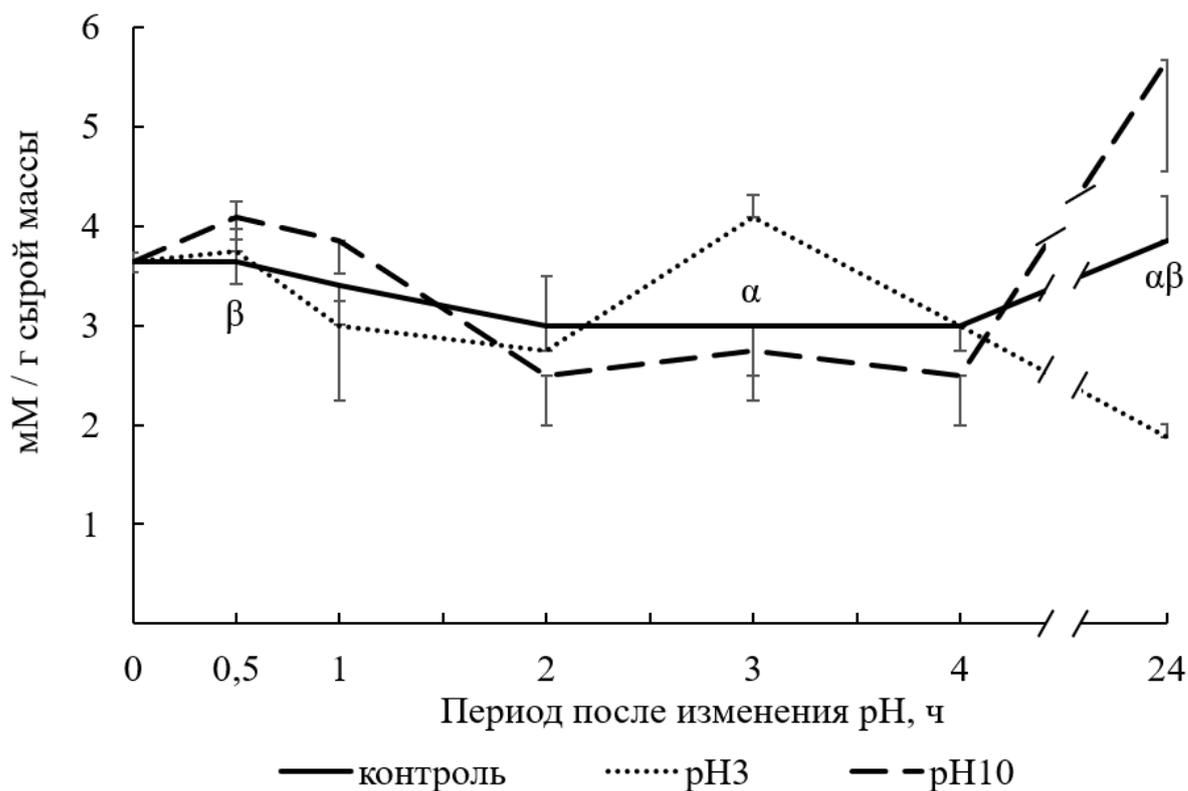


Рисунок 8 – Изменение содержания пероксида водорода в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Через 3 ч развития кислотного стресса концентрация H_2O_2 в листьях превысила контрольный уровень, при этом в варианте со щелочным стрессом концентрация пероксида водорода не отличалась от контроля. Через 4 ч после стресс-воздействий концентрация H_2O_2 не показала значимых различий с его концентрацией в контрольных растениях. Через 24 ч после стресс-воздействий отмечены наибольшие различия между вариантами опыта: при кислотном стрессе концентрация пероксида водорода была меньше примерно на 50%, чем у растений в контрольном варианте, а при щелочном стрессе – больше примерно на 30%.

Горох

В первые периоды наблюдений (0,5, 1 и 4 ч) в условиях кислотного стресса в листьях гороха наблюдали увеличение содержания H_2O_2 по сравнению с контролем (рис. 9).

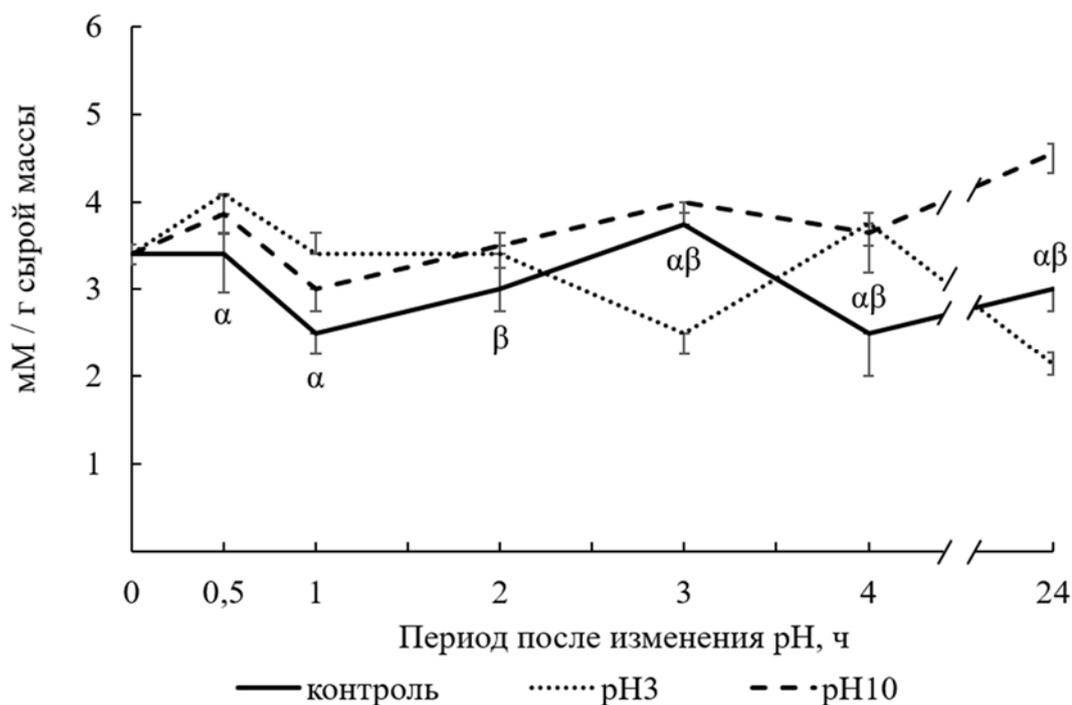


Рисунок 9 – Изменение содержания пероксида водорода в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Через 3 и 24 ч в условиях кислотного стресса концентрация H_2O_2 была ниже контрольных значений; при этом в конце периода наблюдений (24 ч) в этом варианте опыта отмечено наименьшее содержание пероксида водорода.

В течение первого часа развития щелочного стресса концентрация H_2O_2 в листьях гороха не отличалась от его содержания в контрольных растениях. В последующем в этом варианте опыта концентрация пероксида водорода в растениях была повышенной относительно контроля; наибольшая концентрация H_2O_2 была через 24 ч после стресс-воздействия.

Обсуждение

В условиях кислотного и щелочного стрессов отмечена значительная изменчивость в содержании H_2O_2 в листьях пшеницы, ржи и гороха, по сравнению с растениями в контрольном варианте опыта. Увеличение концентрации H_2O_2 в листьях растений сменялось снижением его содержания относительно контрольных значений. Это варьирование содержания H_2O_2 в условиях стрессов, вызванных низкими и высокими значениями pH, обусловлено тем, что с количеством АФК функционально связана активность ферментативных и низкомолекулярных антиоксидантов. Повышение содержания H_2O_2 в растительной клетке может служить сигналом для экспрессии генов, регулирующих синтез антиоксидантных ферментов [Прадедова и др., 2017; Wu et al., 2022]. Повышение концентрации АФК при стрессе растений, как правило, кратковременное и локальное [Guo et al., 2015; Demidchik, 2015; Noctor et al., 2015; Четина и др., 2020].

Низкое варьирование содержания пероксида водорода в листьях ржи в первые часы наблюдений (см. рис. 8) указывало, по-видимому, на некоторую сбалансированность процессов продуцирования и элиминации этой АФК в условиях стрессов, вызванных неблагоприятными значениями pH.

В динамике содержания пероксида водорода в листьях пшеницы, ржи и гороха не прослежено устойчивых различий между вариантами с кислым и щелочным стрессами. Но у всех растений в конце наблюдений (24 ч)

концентрация H_2O_2 в условиях щелочного стресса была выше, чем при кислотном стрессе. В тоже время ингибирование ростовых процессов у пшеницы, ржи и гороха усилено при кислотном стрессе (см. табл. 1-3). Возможно, повышение концентрации H_2O_2 у растений при высокой рН являлось сигналом для экспрессии генов, активизирующих адаптивные реакции в клетке. На сигнальную роль АФК указывали некоторые исследователи [Креславский и др., 2012; Прадедова и др., 2017; Wu et al., 2022].

3.4 Динамика пероксидазной и каталазной активности

Пшеница

За период наблюдений (0,5-24 ч) в контрольном варианте опыта *активность пероксидаз* в листьях пшеницы изменялась незначительно (рис. 10). В первые часы развития кислотного стресса (0,5, 1, 2, 4 ч) активность пероксидаз усилилась относительно контрольного уровня; через 24 ч значимых различий с активностью ферментов в контрольных растениях не установлено.

В условиях щелочного стресса в листьях пшеницы в первые часы наблюдений (0,5, 1, 2, 4, 24 ч) была повышенная пероксидазная активность относительно контрольных значений; через 3 ч после стресс-воздействия активность ферментов в этом варианте опыта не имела значимых различий с контролем.

В первые часы наблюдений (0,5-4 ч) в условиях кислотного стресса *каталазная активность* в листьях пшеницы была в 2-3 раза выше, чем в контрольных растениях. Через 24 ч в этом варианте опыта наблюдали снижение активности каталазы относительно контрольного уровня (рис. 11).

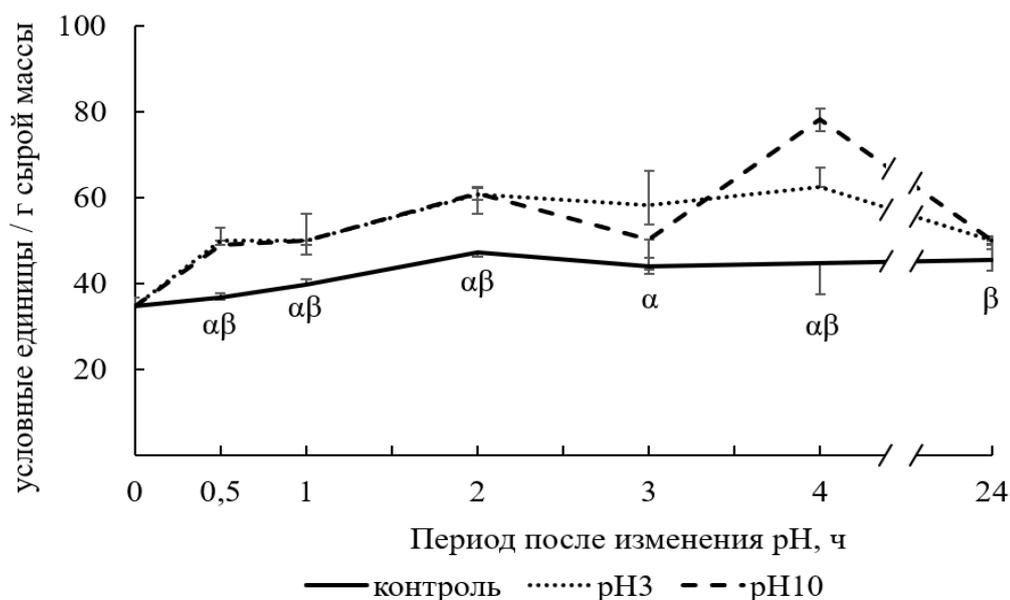


Рисунок 10 – Изменение пероксидазной активности в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

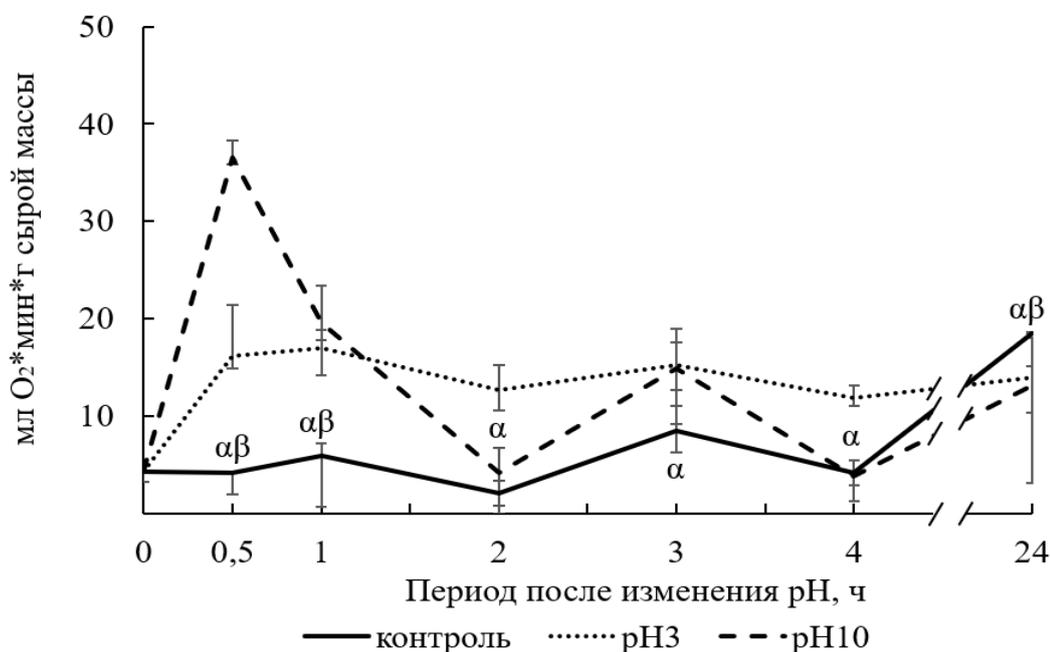


Рисунок 11 – Изменение каталазной активности в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

В условиях щелочного стресса в первый период наблюдений (0,5 ч) активность каталазы в пшенице была выше в 7 раз, по сравнению с активностью фермента в контрольных растениях. Через 1 ч после стрессового воздействия активность каталазы выше контрольного уровня в 2 раза. В последующие часы наблюдений (2, 3 и 4 ч) в активности фермента при щелочном стрессе не установлено значимых отличий с контролем. В конце наблюдений (24 ч) активность фермента в листьях при щелочном стрессе была немного ниже, чем в контрольных растениях.

Рожь

Активность пероксидаз в листьях ржи заметно ниже, чем в листьях пшеницы. В условиях кислотного стресса активность ферментов повысилась в 2 раза и более, относительно контрольных значений (рис. 12).

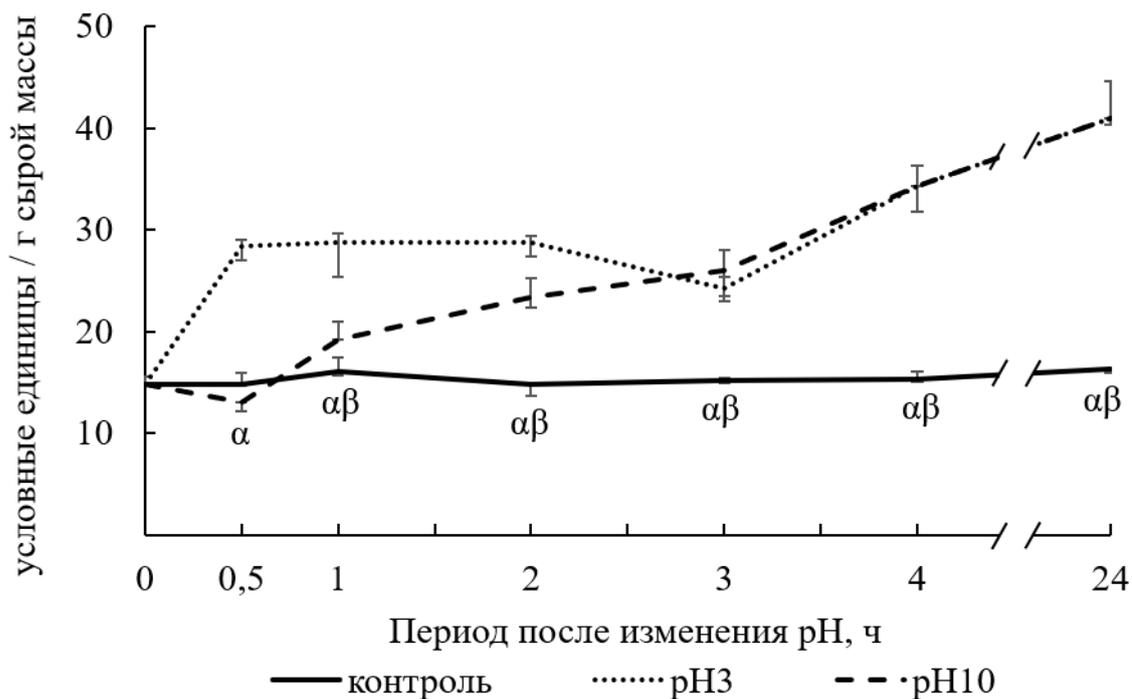


Рисунок 12 – Изменение пероксидазной активности в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

В условиях щелочного стресса в начале наблюдений (0,5 ч) значимых различий в активности пероксидаз с контрольным вариантом опыта не выявлено; в последующем активность пероксидаз постепенно усилилась и заметно превысила контрольные значения. Самая высокая активность ферментов в листьях ржи отмечена в конце периода наблюдений (24 ч).

Растения ржи отличились от пшеницы тем, что через 24 ч развития кислотного и щелочного стрессов активность пероксидаз в листьях относительно контрольного уровня оставалась высокой.

В условиях кислотного стресса в листьях ржи не наблюдали значимых изменений в уровне активности каталазы относительно ее активности у растений в контрольном варианте опыта (рис. 13).

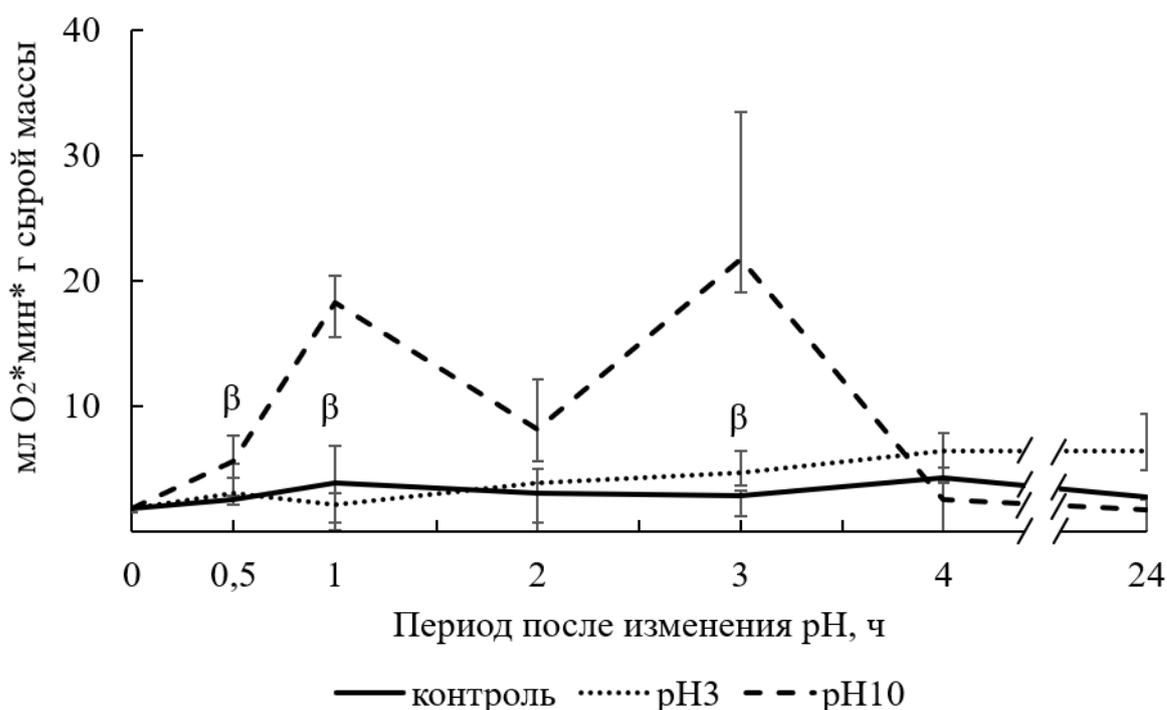


Рисунок 13 – Изменение каталазной активности в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

При щелочном стрессе активность каталазы существенно колебалась в течение периода наблюдений. В первые часы после стресс-воздействия (0,5-3 ч) каталазная активность существенно превышала активность фермента в контрольных растениях; в отдельные периоды наблюдений (1, 3 ч) она была выше в несколько раз. В последующие часы наблюдений (4, 24 ч) в условиях щелочного стресса активность фермента снизилась до контрольного уровня.

Горох

В условиях кислотного и щелочного стрессов в первый период наблюдений (0,5 ч) значимых изменений в активности пероксидаз в листьях гороха относительно контрольных значений не выявлено (рис. 14).

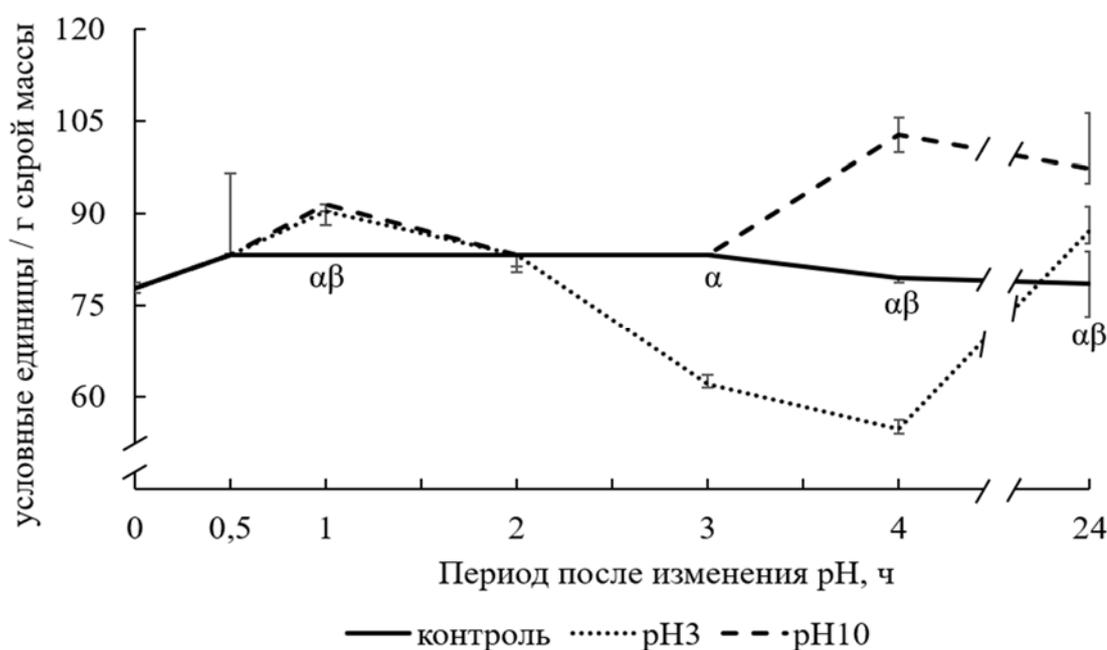


Рисунок 14 – Изменение пероксидазной активности в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Затем (1 ч) в условиях кислотного стресса активность ферментов немного превысила контрольный уровень. В последующие два периода наблюдений (3, 4 ч) отметили значительно более низкую активность

пероксидаз. Через 24 ч пероксидазная активность в варианте с кислой реакцией среды превысила контрольный уровень.

В варианте со щелочной реакцией корневой среды через 0,5, 2 и 3 ч после стресс-воздействия в активности пероксидаз в листьях гороха не наблюдали значимых различий с контрольными значениями. В остальные периоды наблюдений (1, 4, 24 ч) пероксидазная активность листьев в варианте опыта со щелочной реакцией среды была выше активности ферментов в контрольном варианте опыта.

В условиях кислотного стресса каталазная активность в листьях гороха в течение периода наблюдений, как правило, не имела значимых различий с активностью фермента в контрольном варианте опыта (рис. 15). Лишь через 2 ч после стресс-воздействия активность фермента в варианте с кислой реакцией среды превысила контрольное значение в 1,8 раза.

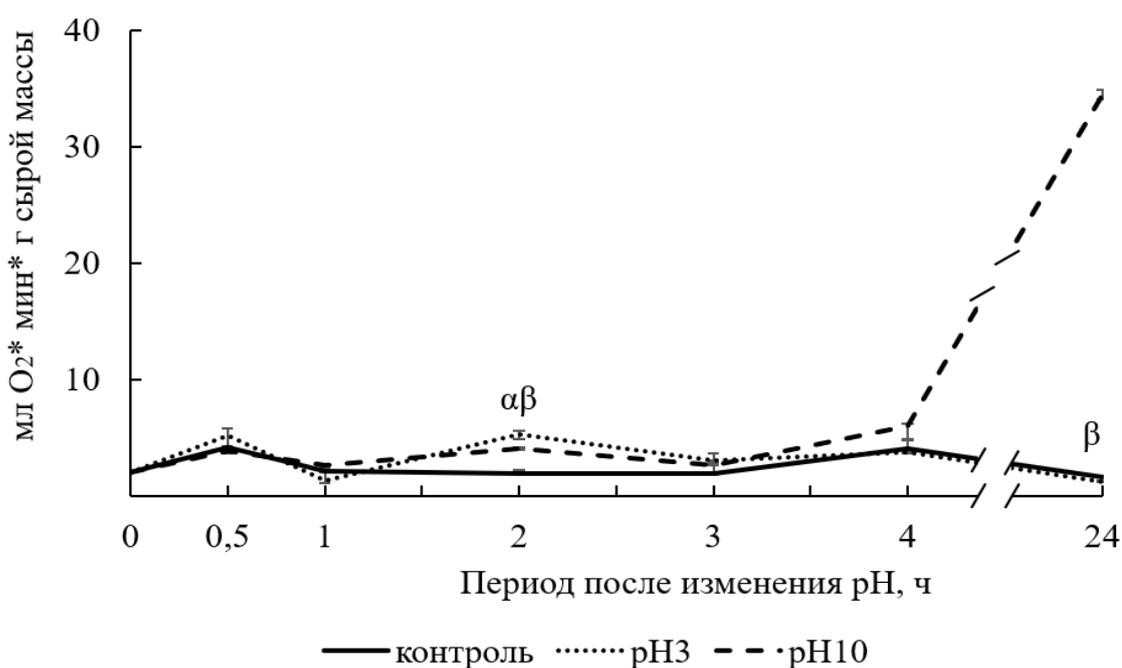


Рисунок 15 – Изменение каталазной активности в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

В условиях щелочного стресса в первые часы наблюдений в активности каталазы не наблюдали значимых различий с контрольным вариантом опыта, лишь через 2 ч после стресс-воздействия активность этого фермента повысилась относительно контроля. К концу периода наблюдений (24 ч) наблюдали резкое усиление активности каталазы в варианте со щелочной реакцией среды.

Обсуждение

В условиях кислотного и щелочного стрессов в листьях пшеницы и ржи повышалась активность пероксидаз и каталазы, что указывает на процессы восстановления баланса АФК. Эти данные соответствуют информации об активизации антиоксидантной защиты в корнях сои [Wang et al., 2014] и в корнях лотоса [Zelinovf et al., 2010] под воздействием кислой реакции корневой среды. В листьях кукурузы при действии щелочных солей усиливалась активность ферментов антиоксидантной защиты (каталазы, супероксиддисмутазы, пероксидаз) [Latef, Tran, 2016].

Активность пероксидаз в листьях злаков повышалась уже через 0,5 ч после изменения рН корневой среды (у пшеницы при кислотном и щелочном стрессе, у ржи – при кислотном стрессе), возможно, быстрая ответная реакция обусловлена присутствием запасного пула ферментов в мембранах и клеточных стенках. При стрессе пероксидазы отделяются от клеточной стенки и участвуют в редокс-процессах [Минибаева, Гордон, 2003]. Кислотный и щелочной стрессы у пшеницы также сопровождались заметным усилением активности каталазы. Возможно, быстрой активизацией ферментативной защиты (каталазы и пероксидаз) можно объяснить меньшее угнетение пшеницы (по длине и массе) по сравнению с растениями ржи.

В листьях ржи оба стрессора способствовали повышению активности пероксидаз, что отмечали и в конце периода наблюдений. Но активность каталазы заметно повышалась только при щелочном стрессе и в первые часы его развития. В условиях кислотного стресса каталазная активность почти не

менялась. Менее выраженные проявления ферментативной защиты, по сравнению с пшеницей, по-видимому, отразились в усиленном угнетении растений ржи, особенно, в варианте опыта с кислой реакцией среды. В то же время следует отметить, что для менее устойчивых растений защитные реакции являются быстрыми и кратковременными; у них раньше истощаются приспособительные ресурсы и возникают необратимые изменения. Устойчивые растения переходят на новый режим функционирования постепенно, фаза их адаптации, когда сохраняется гомеостаз и возможна репарация изменений, оказывается длительнее, чем у неустойчивых растений [Кордюм и др., 2003]. Возможно, растения ржи характеризуются повышенной толерантностью к неблагоприятной реакции среды, особенно, к низким значениям рН, т.к. рожь возделывают на кислых почвах [Вальков и др., 2004].

В листьях гороха динамика изменений пероксидазной активности показала, что при щелочном стрессе активность фермента повышалась в четырех из шести периодов наблюдений. В этом же варианте опыта отмечали и резкое повышение активности каталазы (через 24 ч после стресс-воздействия). Активизацией ферментативной активности можно объяснить отсутствие видимых изменений в морфоструктурных показателях растений. Но в условиях кислотного стресса в половине сроков наблюдений активность пероксидаз в листьях гороха не отличалась от контрольных значений или была ниже их. По-видимому, горох характеризуется относительно повышенной толерантностью к подщелачиванию корневой среды, чем к подкислению.

Каталазная активность фермента в растительной клетке примерно в 10000 раз выше, по сравнению с пероксидазной активностью [Зенков и др., 2001]. Равное влияние факторов стресса на уровень пероксидазной и каталазной активностей свидетельствует о напряженной ситуации с регуляцией редокс-процессов в клетках растений в условиях неблагоприятной рН корневой среды.

Изменения в содержании пероксида водорода, а также повышение

активности антиоксидантных ферментов в листьях злаков и гороха указывают на общую мобилизацию процессов про-/антиоксидантного метаболизма в растениях. Развитие окислительного стресса у растений при воздействии низких и высоких значений pH, по-видимому, частично связано с водным дефицитом, т.к. поступление воды снижается из-за нарушения строения и функций мембран клеток корня [Гордеев и др., 2005; Захарин, Паничкин, 2005; Kobayashi et al., 2013; Shavrukov, Hirai, 2016]. В тоже время поступление в надземные органы растений растворов с недостатком или избытком протонов приводит к нарушению градиента трансмембранного электрохимического потенциала в растительной клетке [Yang et al., 2008; Liu, Shi, 2010; Лобанова и др., 2015; Guo et al., 2015; Shavrukov, Hirai, 2016; Guo et al., 2017], сопровождается образованием избытка АФК [Song et al., 2011; Ivanov et al., 2013; Bhuyan et al., 2019].

В некоторые периоды наблюдений в листьях злаков и гороха установили одновременное накопление пероксида водорода и усиление активности антиоксидантных ферментов. Концентрация АФК – это не только показатель свободно-радикального окисления, но и сигнал для мобилизации защитных реакций от окислительного стресса [Креславский и др., 2012; Абдрахимова и др., 2015; Прадедова и др., 2017; Колупаев, Карпец, 2019; Yalcinkaya et al., 2019]. Пероксидазы могут участвовать в генерации супероксидного анион-радикала и H_2O_2 [Bestwick et al., 1997; Chen, Schopfer, 1999; Минибаева, Гордон, 2003].

В условиях окислительного стресса пероксидазы способны к элиминации нескольких АФК, с их активизацией связывают эффективность антиоксидантной системы растений [Прадедова и др., 2017; Wu et al., 2022]. В наших исследованиях через 24 ч после стресс-воздействия растения отличались по пероксидазной активности. В листьях ржи и гороха активность ферментов оставалась высокой, а в пшенице в конце наблюдений этот показатель редокс-активности снизился до контрольного уровня. Возможно, наблюдаемые нами колебания количества H_2O_2 и активности ферментов

отражают каскадный характер окислительно-восстановительных процессов в растениях, который проявляется не только в начальной стадии стресса, но и в последующее время при действии низких и высоких значений рН [Четина и др., 2020].

3.5 Динамика содержания восстановленной аскорбиновой кислоты

Пшеница

В течение всего периода наблюдений в листьях пшеницы содержание восстановленной аскорбиновой кислоты в контрольном варианте опыта было относительно постоянным (рис. 16).

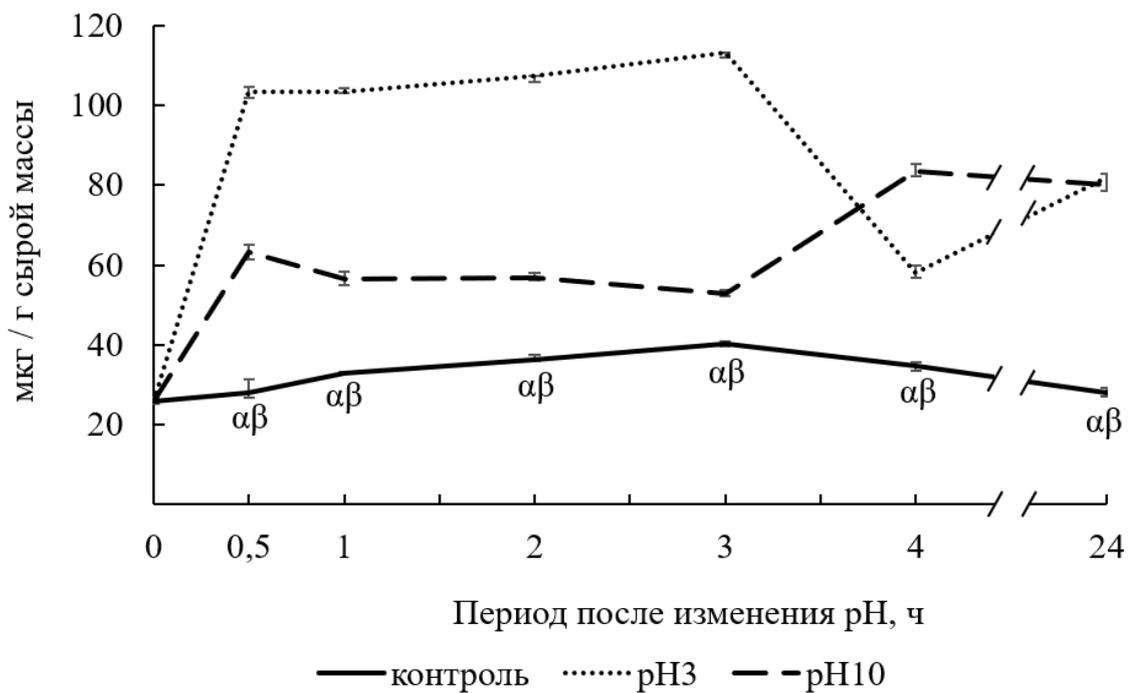


Рисунок 16 – Изменение содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Через 0,5 ч после воздействия высоких и, особенно, низких значений рН

концентрация аскорбиновой кислоты увеличилась в несколько раз. В условиях кислотного стресса содержание восстановленной аскорбиновой кислоты существенно превышало контрольный уровень в течение всего периода наблюдений.

При щелочном стрессе также наблюдали повышение ее концентрации относительно контрольных растений, особенно в конце периода наблюдений. Через 24 ч в обоих вариантах стресс-воздействий количество восстановленной аскорбиновой кислоты было почти в 3 раза выше, чем в контроле.

Рожь

Изменение реакции корневой среды сопровождалось более значительными колебаниями содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях ржи по сравнению с контролем (рис. 17).

В условиях кислотного стресса через 0,5 ч ее количество существенно снизилось, затем количество аскорбиновой кислоты постепенно увеличилось и превысило контрольный уровень (2 и 4 ч). Через 1 ч и 3 ч после стресс-воздействия значимых различий с контролем не наблюдали. К концу периода наблюдений (24 ч) в варианте с кислой реакцией среды отметили пониженное содержание восстановленной аскорбиновой кислоты относительно контрольного уровня.

В условиях щелочного стресса в период 0,5-2 ч в листьях ржи наблюдали накопление восстановленной аскорбиновой кислоты, но через 3 ч ее концентрация снизилась относительно контрольного уровня. В последующие периоды наблюдений (4 и 24 ч) содержание аскорбиновой кислоты было выше на 6-8%, чем у растений в контрольном варианте опыта (рис. 17).

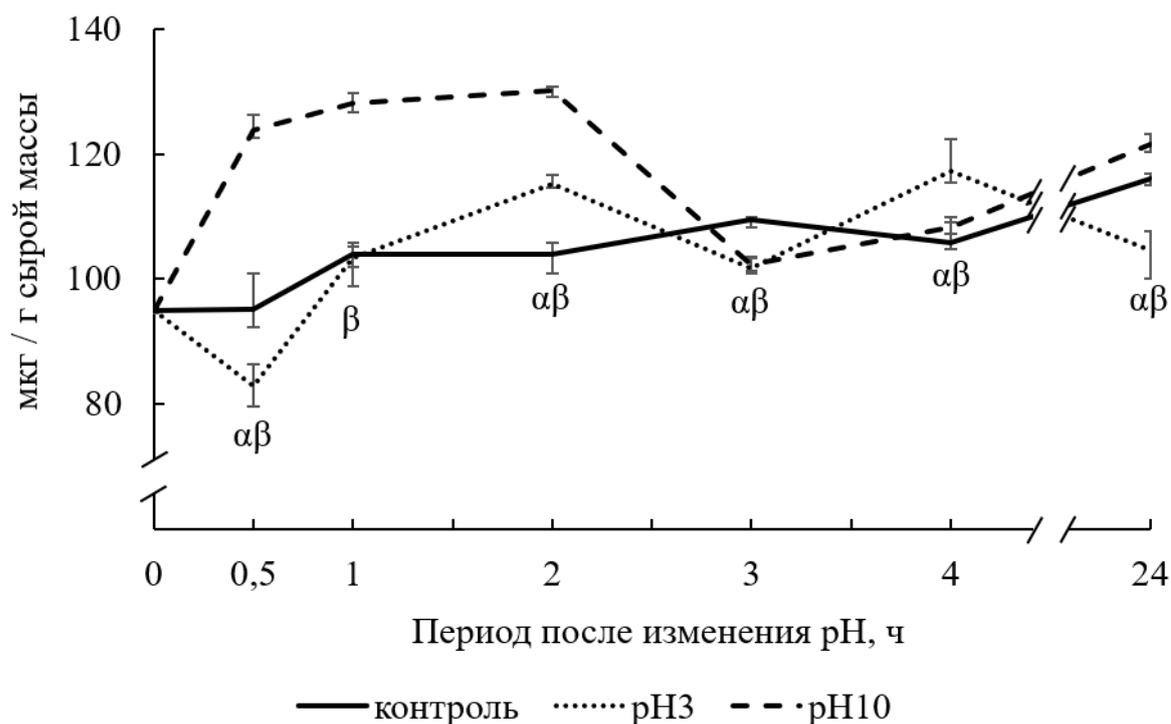


Рисунок 17 – Изменение содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Горох

Изменение реакции корневой среды через 0,5-2 ч способствовало резкому повышению содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях гороха (рис. 18). Затем ее количество в условиях стрессов резко снизилось. Через 4 и 24 ч после стресс-воздействия в варианте с кислой реакцией среды содержание аскорбиновой кислоты становилось ниже контрольного уровня на 35% и 47% соответственно. При щелочном стрессе в листьях гороха, как правило, наблюдали аккумуляцию восстановленной аскорбиновой кислоты, лишь через 4 ч после стресс-воздействия ее концентрация не отличалась от контрольного значения.

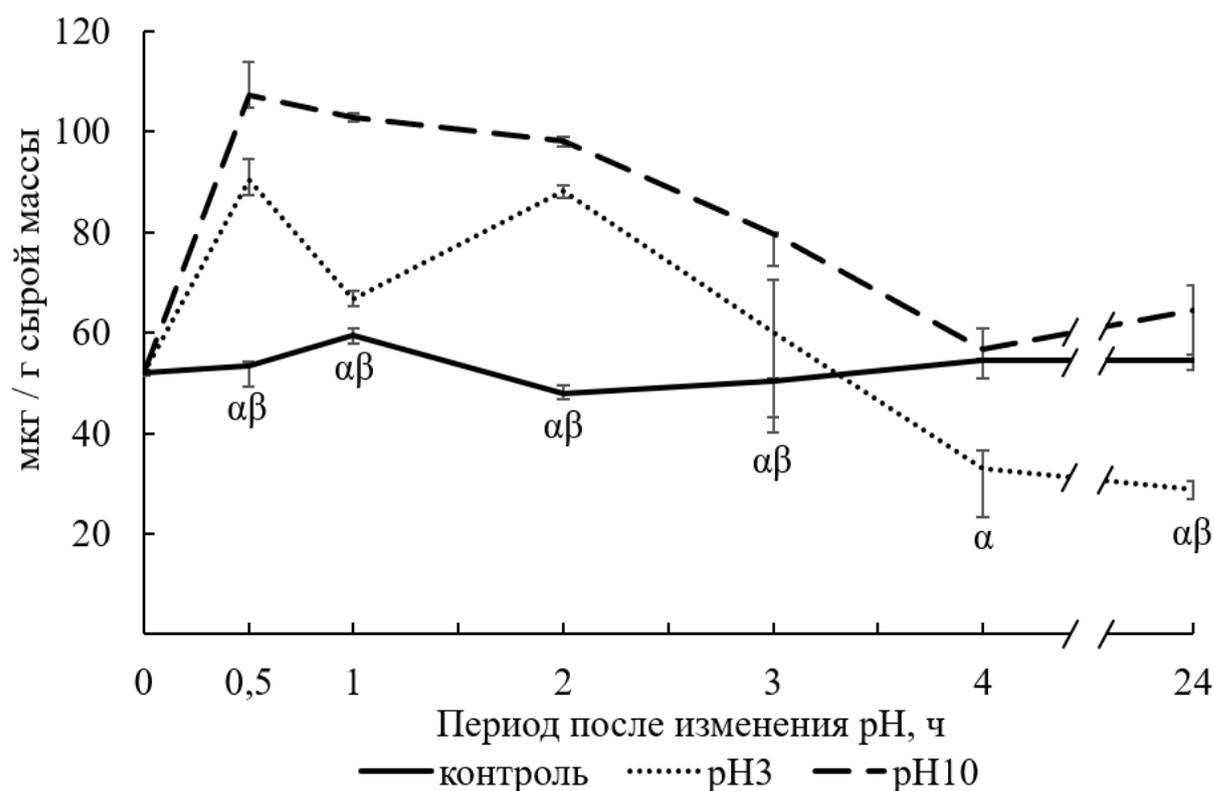


Рисунок 18 – Изменение содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стресса

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Обсуждение

Аскорбиновая кислота – активный участник окислительно-восстановительного баланса в клетке. В стрессовых ситуациях аскорбиновая кислота выступает в роли донора электронов, а дегидроаскорбат служит акцептором протонов [Chaoui et al., 1997; Янковский, 2000; Smirnoff, Wheeler, 2000; Foyer, Noctor, 2005; Саиди-Сар и др., 2007; Shao et al., 2008; Noctor et al., 2015; Прадедова и др., 2017; Foyer, 2017; Yang et al., 2021]. Кроме того, аскорбат, наряду с глутатионом и токоферолом, запускает экспрессию генов других реакций для оптимизации стратегий выживания [Shao et al., 2008].

Исследуемые растения в условиях стрессов заметно отличались по динамике концентрации восстановленной аскорбиновой кислоты. В пшенице ее повышенное содержание отмечено в обоих вариантах опыта и в течение всего периода наблюдений, что указывает на активное участие восстановленной аскорбиновой кислоты в антиоксидантной защите пшеницы. В листьях ржи и гороха защитная роль аскорбиновой кислоты проявилась в первые часы после стресс-воздействия, когда отмечали ее накопление, особенно, при высоком значении рН. Но через 24 ч уменьшение количества восстановленной аскорбиновой кислоты указывает на уменьшение ее роли в защитных реакциях ржи и гороха в условиях кислотного и щелочного стресса. М.Н.М. Вhууан с соавторами [2019] указывали на снижение содержания аскорбиновой кислоты, через 72 часа развития кислотного стресса (рН 4.0) в пшенице содержание аскорбиновой кислоты снизилось на 46%, а при щелочном стрессе (рН 8.5) – на 76%. В листьях риса снижение аскорбата на 50% сопровождалось сильным уменьшением сухой массы [Silveira, Sousa, 2024].

3.6 Динамика содержания пролина

Пшеница

В контрольном варианте опыта концентрация пролина в листьях пшеницы была относительно постоянной и составляла 10-13 мг/10 г сухой массы листьев (рис. 19). В условиях кислотного стресса наблюдали аккумуляцию пролина в пшенице во все периоды наблюдений, его количество превышало контрольный уровень на 40%.

При щелочном стрессе небольшое накопление пролина отмечено через 0,5 ч после изменения рН корневой среды, затем его концентрация в листьях пшеницы становилась ниже (1, 2, 4, 24 ч) или не отличалась от контрольных значений (3 ч).

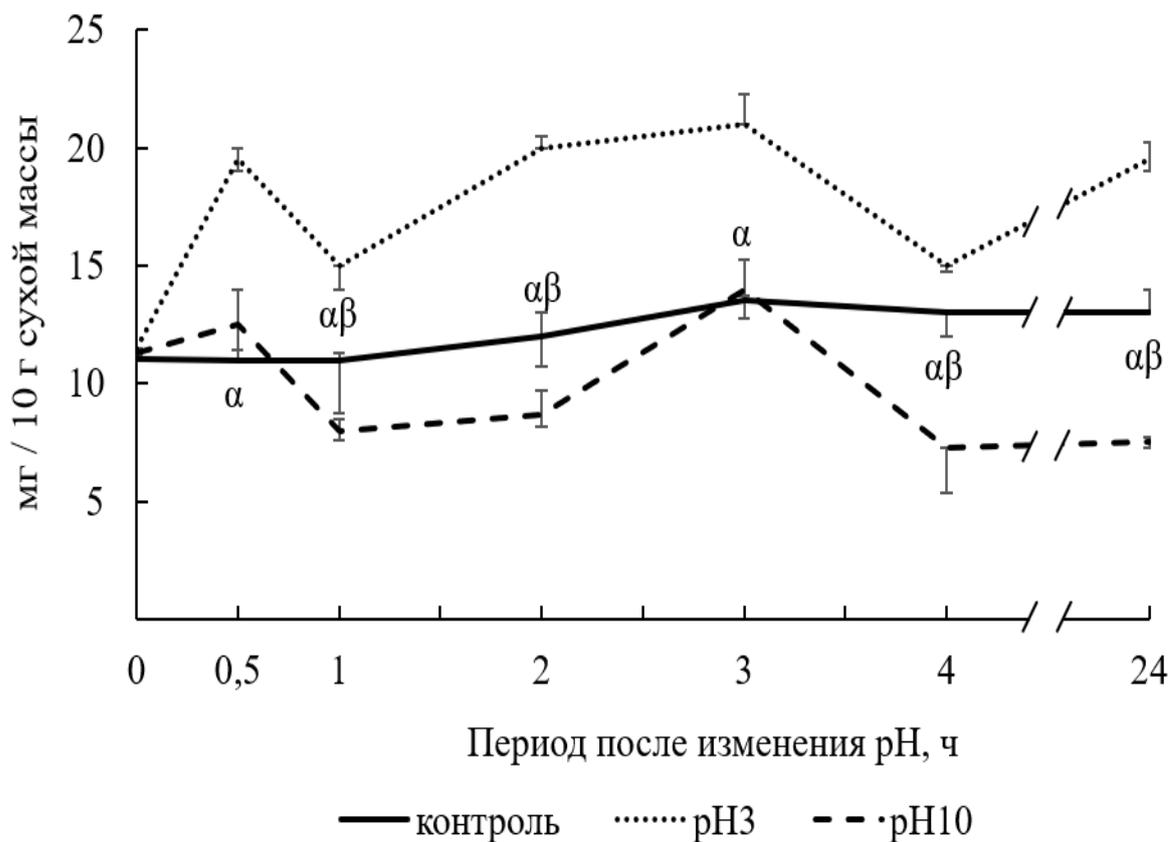


Рисунок 19 – Изменение содержания пролина в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Рожь

В листьях ржи концентрация пролина была ниже, чем в листьях пшеницы (рис. 20). Изменение pH корневой среды через 0,5 ч сопровождалось резкой аккумуляцией пролина. В последующие периоды наблюдений в условиях кислотного и щелочного стрессов концентрация пролина в листьях ржи была выше в несколько раз, по сравнению с содержанием пролина в контрольных растениях.

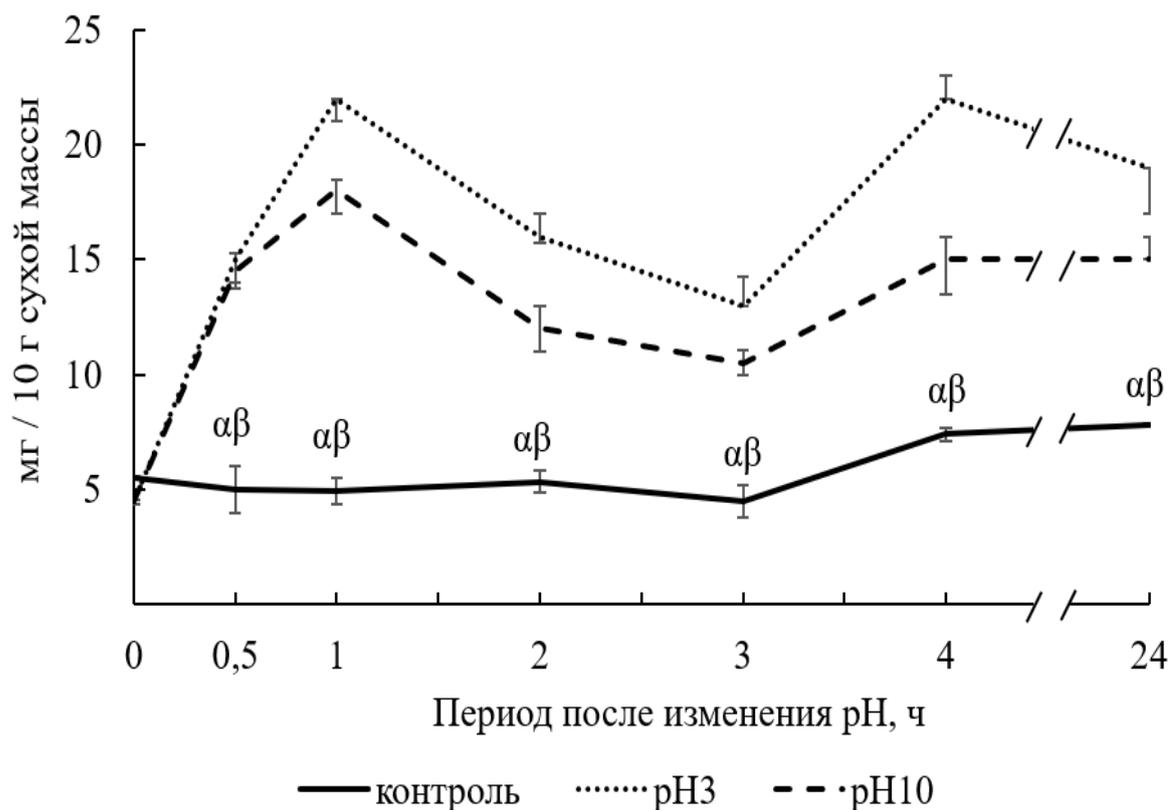


Рисунок 20 – Изменение содержания пролина в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов, мг/10 г сухой массы

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Горох

В листьях гороха через 0,5-1 ч после стресс-воздействия во всех трех вариантах опыта не наблюдали значимых различий по содержанию пролина (рис. 21). В последующие периоды наблюдений (2, 3, 4, 24 ч) в вариантах опыта с низким и высоким значениями рН концентрация пролина была ниже в 2-2,5 раза, чем у гороха в контрольном варианте опыта.

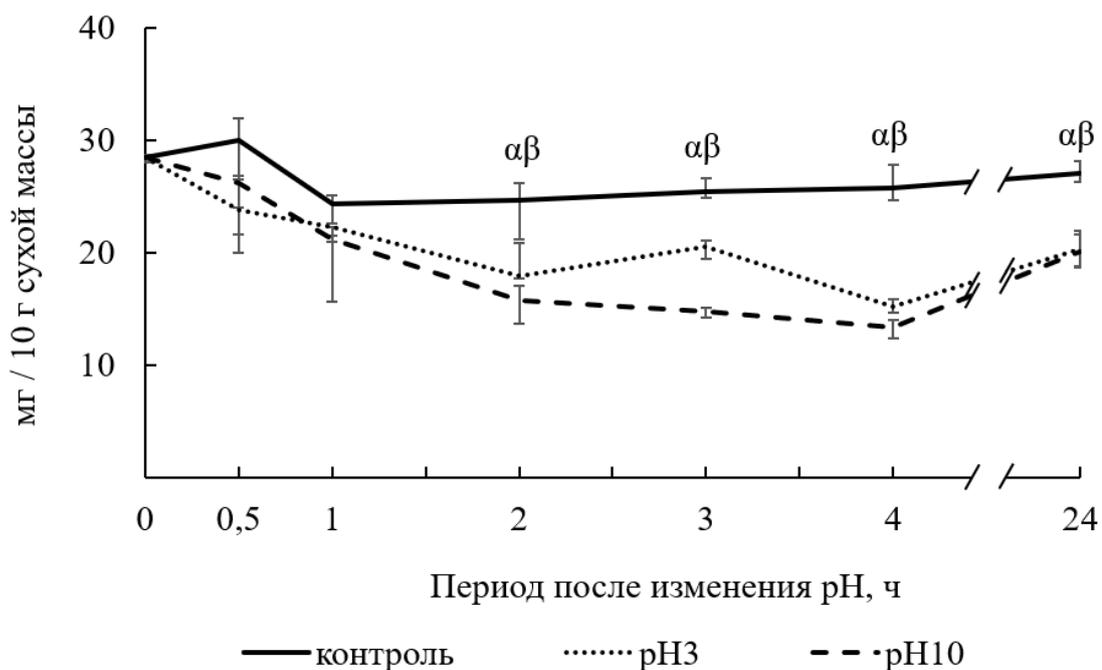


Рисунок 21 – Изменение содержания пролина в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Обсуждение

При стрессе растений пролин взаимодействует с белками, образуя гидрофобный каркас для стабилизации и защиты биологических макромолекул и структур клеточных мембран. Проллин может уменьшить повреждающее действие АФК, вызванное стрессом, за счет хелатирования синглетного кислорода и гидроксильного радикала. Другой способ пролина удалить АФК – это стимулирование активности антиоксидантных ферментов в растениях [Shen et al., 1997; Кузнецов, Шевякова, 1999; Matysik et al., 2002; Dickman, Becker, 2008; Стеценко и др., 2011; Колупаев и др., 2014; Yang et al., 2021]. Аккумуляцию пролина в проростках пшеницы после 72 часов воздействия кислой (pH 4,0) и щелочной (pH 8,5) реакции корневой среды также связывают с защитой от окислительного повреждения [Bhuyan et al.,

2019].

В наших исследованиях увеличение содержание пролина в листьях ржи, наряду с активизацией ферментативной защиты, направлено, по-видимому, на борьбу с избытком свободных радикалов, продуцируемых в условиях низких и высоких значений рН. В отличие от растений ржи, в пшенице накопление пролина наблюдали лишь при кислотном стрессе, по-видимому, в варианте со щелочной средой в начальный период развития окислительного стресса механизм антиоксидантной защиты направлен на активизацию каталазы и пероксидаз, на аккумуляцию восстановленной аскорбиновой кислоты.

Данные по накоплению пролина в листьях злаков при кислотном и щелочном стрессах соответствуют имеющимся сведениям об его участии в адаптации культурных растений к низким и высоким значениям рН. Под влиянием щелочности отмечали аккумуляцию пролина в проростках пшеницы [Guo et al., 2015; Bhuyan et al., 2019] и в растениях риса [Liu et al., 2010]. Пролин накапливался в листьях томатов при имитации кислотного дождя [Tomar, 2018]. При воздействии щелочных солей в листьях подсолнечника повышалось содержание этой аминокислоты [Yan et al., 2005]. Накопление пролина в листьях кресс-салата отмечали при сощелочном стрессе [Чернышева и др., 2024].

Аккумуляция в клетке пролина, как и других низкомолекулярных соединений, является ответной реакцией растений на дефицит воды [Веселов и др., 2007; Guo et al., 2017; Arif et al., 2020]. Во избежание осмотического стресса растения используют такие осмолиты, как, пролин, глицинбетаин, маннит, фруктаны, трегалоза, ононит и эктоин [Shen et al., 1997; Стеценко и др., 2011]. По А.А. Захарину и Л.А. Паничкину [2005] избыток гидроксид-ионов, и, особенно, протонов снижали проницаемость воды для клеток корня. В условиях кислотного и щелочного стресса пролин поддерживал водной баланс растений пшеницы [Bhuyan et al., 2019].

Ряд исследователей указывают на участие пролина в рН-регуляции

цитоплазмы [Zhu, 2001; Krishnan et al., 2008], что, по мнению ряда исследователей, имеет определенное значение в условиях кислотного и щелочного стрессов [Четина и др., 2020; Чернышева и др., 2024].

Накопление пролина при негативных воздействиях может индуцироваться как за счёт активного синтеза, так и в результате восстановления из окисленной формы [Krishnan, et al., 2008; Bhuyan et al., 2019]. Растения способны быстро индуцировать системы аккумуляции пролина, свободный пролин может накапливаться до значительных внутриклеточных концентраций [Кузнецов, Шевякова, 1999].

Отличительной особенностью развития щелочного стресса у пшеницы было снижение содержания пролина в листьях; возможно многофункциональные способности пролина будут использованы на последующих стадиях адаптации пшеницы. Напротив, аккумуляция пролина в пшенице на ранней стадии кислотного стресса, по-видимому, имеет антиоксидантное и/или осмопротекторное значение [Четина и др., 2020].

В листьях ржи количество пролина увеличивалось при обоих стрессах в несколько раз, что может быть направлено на восстановление водного баланса, т.к. в листьях ржи наблюдали некоторое снижение содержания воды (см. рис. 5). От высоких значений рН зависело содержание воды и накопление пролина в листьях кресс-салата [Чернышева и др., 2024].

В листьях гороха в условиях щелочного и кислотного стрессов снижалось содержание пролина. Возможно, при стрессе пролин служит источником энергии для гороха. Пролиноксидаза, лимитирующая процесс деградации пролина, прямо связана с транспортом электронов и генерацией энергии в митохондриях. Электроны и протоны, входящие в состав пролина, включаются в дыхательную цепь. Зависимость между накоплением пролина и устойчивостью растений к действию абиотических стрессов не всегда однозначна, что обусловлено эффективной работой других стресс-протекторных механизмов (ферментативная защита, накопление сахаров, аскорбиновой кислоты, глутатиона, сахароспиртов и т.д.) [Krishnan et al.,

2008; Tomar, 2018; Боталова, Еремченко, 2021].

3.7 Динамика содержания флавоноидов

Пшеница

При изменении рН корневой среды в листьях пшеницы наблюдали повышение содержания флавоноидов (рис. 22). В условиях кислотного стресса накопление флавоноидов отмечали уже спустя 30 мин после изменения рН корневой среды. В последующие периоды наблюдений (1-4 ч) прослежена аккумуляция флавоноидов, но через 24 ч их количество не отличалось от контроля. При щелочном стрессе в листьях пшеницы в течение всего периода наблюдений аккумулировались флавоноиды.

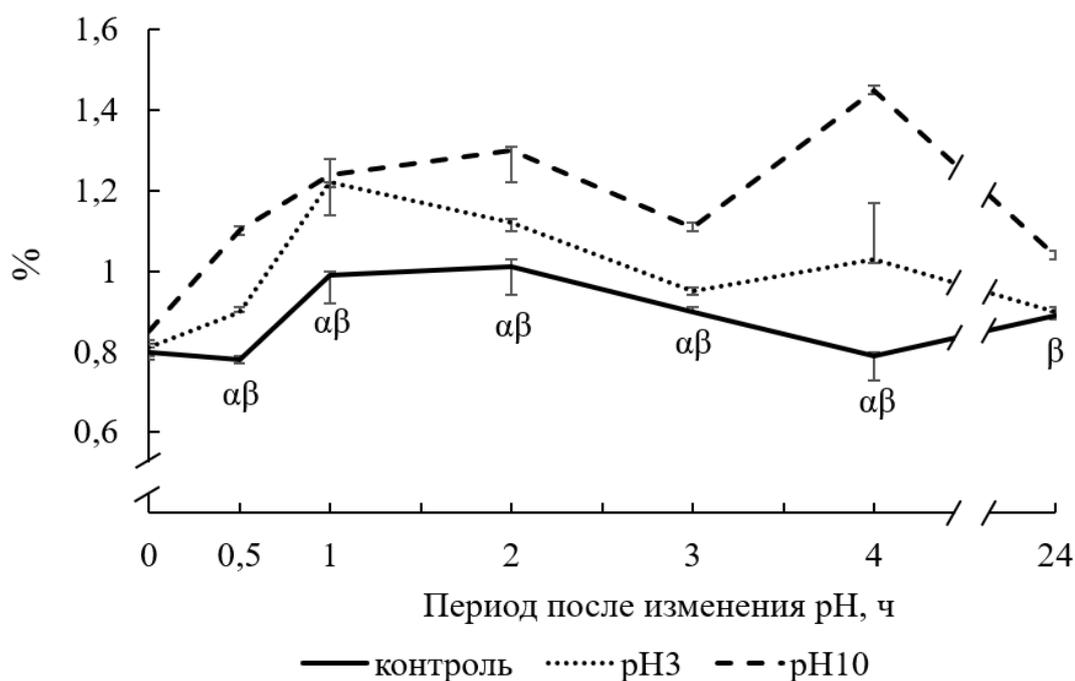


Рисунок 22 – Изменение содержания флавоноидов в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Рожь

За период наблюдений в листьях ржи в контрольном варианте опыта количество флавоноидов постепенно возрастало, что, возможно, обусловлено особенностями физиологического развития проростков (рис. 23). После стресс-воздействия содержание флавоноидов в листьях значительно увеличилось. Повышенное содержание флавоноидов в условиях кислотного и щелочного стрессов отметили в течение последующего периода наблюдений. Однако через 24 ч после стресс-воздействий содержание флавоноидов в листьях ржи не отличалось от их количества в листьях контрольных растений.

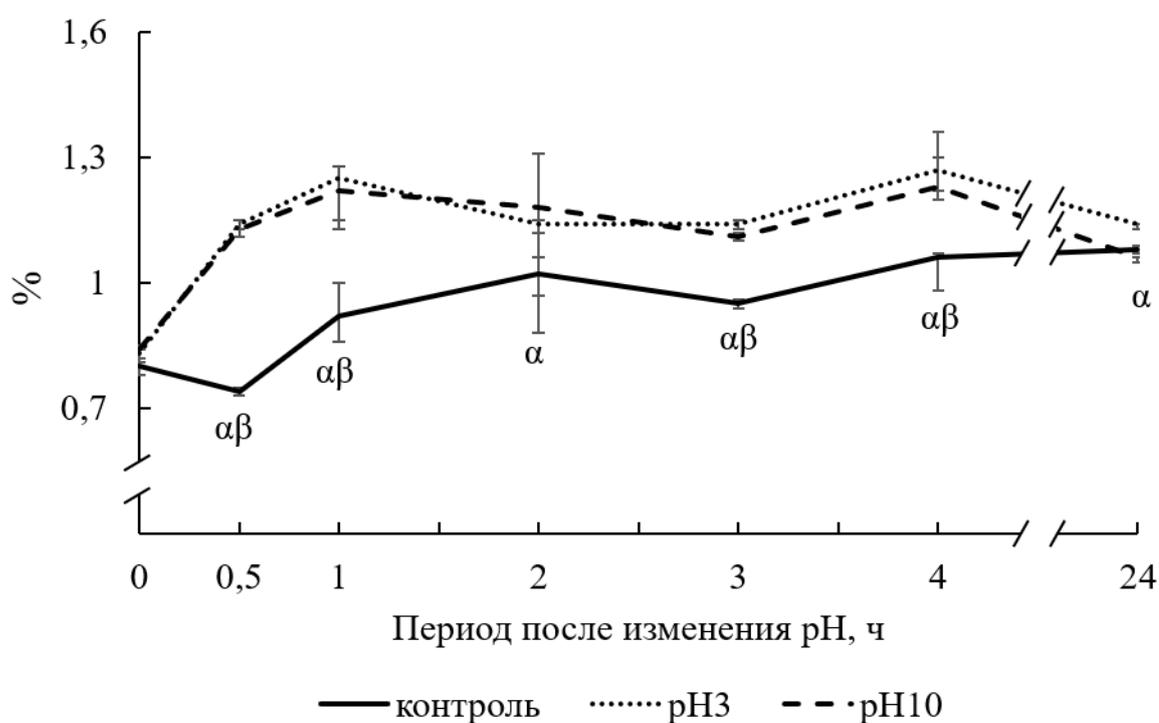


Рисунок 23 – Изменение содержания флавоноидов в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта рН 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Горох

В листьях гороха в контрольном варианте опыта наблюдали существенные колебания в содержании флавоноидов. Эти изменения показателей, по-видимому, обусловлены суточными и иными ритмами развития внутриклеточных процессов, которые особенно выражены в стадии раннего развития растений (рис. 24). В условиях кислотного и щелочного стрессов в первый период наблюдений количество флавоноидов не отличалось по вариантам опыта, но в последующие периоды количество флавоноидов было ниже, чем в контрольных растениях.

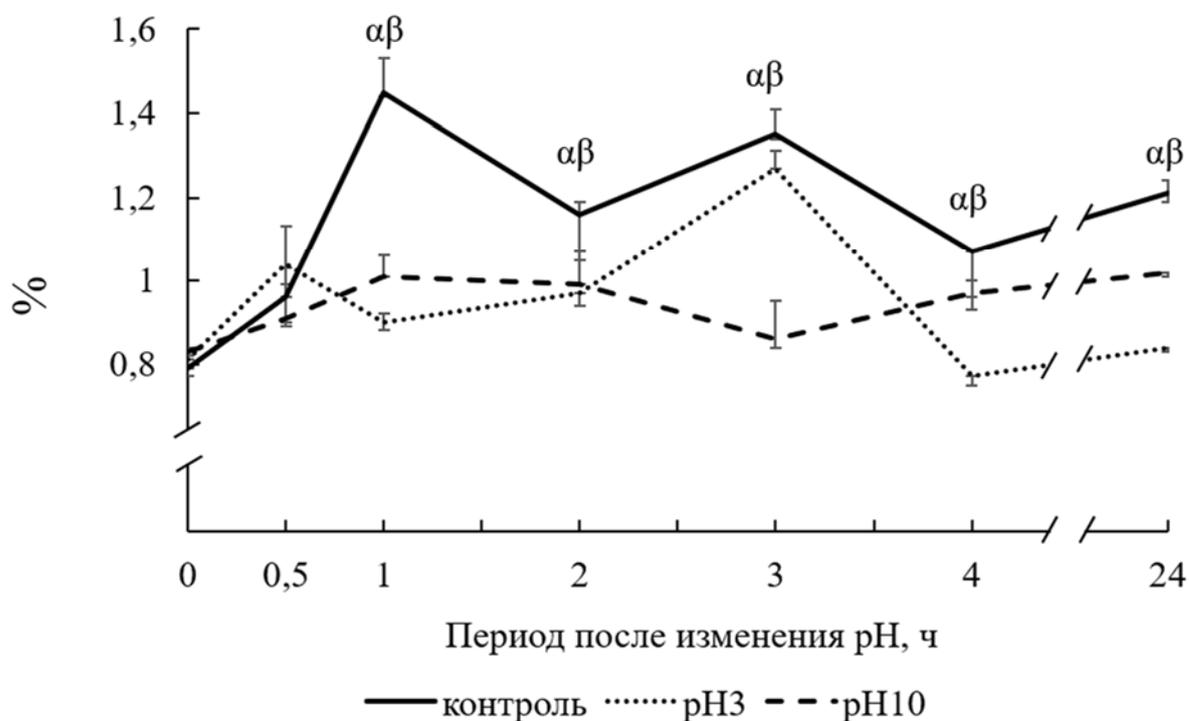


Рисунок 24 – Изменение содержания флавоноидов в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля. α – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 3 и контроль, β – наличие значимых различий между вариантами опыта pH 10 и контроль; значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Обсуждение

В условиях окислительного стресса защитное значение флавоноидов проявляется в их способности вступать в реакции перекисного окисления и стабилизировать клеточные мембраны [Matysik et al., 2002; Тараховский и др., 2010, Roohi et al., 2011; Тараховский и др., 2013; Brunetti et al., 2013; Назарова и др., 2015; Четина и др., 2020].

У пшеницы в условиях щелочной корневой среды накопление флавоноидов отмечали в течение всего периода наблюдений. Но при кислотном стрессе, когда в листьях накапливался пролин, увеличение количества флавоноидов наблюдали лишь в первые часы после стресс-воздействия (0,5 и 1 ч). Такая особенность пшеницы указывает на разные адаптивные реакции растений на низкие и высокие значения pH корневой среды [Четина и др., 2020].

В листьях ржи в первый период (1 ч) после стресс-воздействий содержание флавоноидов увеличилось в 2 раза по сравнению с контролем, в последующем, их накопление было менее значительным. По-видимому, значение флавоноидов в защитных реакциях постепенно уменьшилось, т.к. уровень активности радикальных окислительных процессов поддерживают разные представители антиоксидантной системы [Загоскина, Назаренко, 2016].

В листьях гороха посевного в условиях кислотного и щелочного стресса не отмечали аккумуляцию флавоноидов, также как и пролина. Антиоксидантная защита растений связана с накоплением разных низкомолекулярных антиоксидантов [Krishnan et al., 2008; Tomar, 2018; Четина и др., 2023]. Возможно, толерантность гороха при смене реакции корневой среды обеспечивают другие низкомолекулярные соединения, характеризующиеся антиоксидантной и осмопротекторной активностью (аскорбиновая кислота, глутатион, глицин бетаина, сахара, другие аминокислоты и т.д.).

Известно, что формирование защитных систем растительного организма происходит в процессе эволюции, поэтому значение тех или иных соединений

в устойчивости имеет биологические (видовые) различия [Wu et al., 2021; Silveira, Sousa, 2024]. В листьях исследуемых растений проявились специфические стратегии выживания, связанные разной аккумуляцией пролина и флавоноидов при кислотном и щелочном стрессе.

Обзор литературы показал, что растения в условиях кислотного и щелочного стрессов испытывали недостаток воды (из-за снижения поглотительной способности корневой системы), избыток АФК, недостаток или избыток протонов в растворах, поступающих в листья. Наши результаты также подтвердили некоторое снижение содержания воды, активизацию показателей про-/антиоксидантного метаболизма в листьях пшеницы, ржи и гороха.

Корреляционный анализ выявил обратную зависимость между содержанием воды и количеством флавоноидов в листьях пшеницы (табл. 4), что указывало на возможное участие флавоноидов в защите клеточных мембран при нарушении водного потенциала цитозоля. Прямые корреляции между содержаниями флавоноидов и восстановленной аскорбиновой кислоты, между пероксидазной активностью и количеством флавоноидов, между пероксидазной активностью и количеством восстановленной аскорбиновой кислоты, между содержаниями пролина и количеством восстановленной аскорбиновой кислоты продемонстрировали общую активизацию антиоксидантной системы растений после изменения рН корневой среды.

Между количествами пролина и флавоноидов в листьях пшеницы проявилась обратная зависимость, т.е. накопление одного из них сопровождалось снижением содержания другого соединения. Такая форма связи между этими многофункциональными соединениями проявилась в том, что в условиях кислотного стресса в листьях пшеницы аккумуляровался пролин, а при щелочном стрессе – флавоноиды.

В листьях ржи получили обратную корреляционную зависимость между пероксидазной активностью и содержанием воды (табл. 5), что позволяет рассматривать эту связь, как активизацию антиоксидантной защиты при

недостатке свободной воды (осмотический стресс) в условиях неблагоприятной реакции корневой среды. Ряд исследователей отмечали, что при снижении содержания воды в листьях усиливалась активность пероксидаз, которые элиминируют избыток АФК, восстанавливают разные субстраты [Mehlhorn et al., 1996; Tognolli et al., 2002; Takahama, 2004].

Прямая зависимость между активностью пероксидаз и содержанием пролина, активностью пероксидаз и содержанием флавоноидов, активностью каталазы и содержанием флавоноидов, а также сильная связь между пролином и флавоноидами указывает на возможное участие низкомолекулярных соединений в защите, как от осмотического, так и от окислительного стрессов в листьях ржи.

С количеством флавоноидов в листьях ржи коррелировало содержание восстановленной аскорбиновой кислоты, которая в условиях стресса проявляет антиоксидантную активность (Shao et al., 2008; Noctor et al., 2015; Прадедова и др., 2017; Foyer, 2017; Yang et al., 2021).

В листьях гороха значимая корреляция установлена только между содержанием пероксида водорода и уровнем активности каталазы (табл. 6). Каталаза имеет очень высокие скорости реакций, но низкое сродство к перекиси водорода, поэтому требует больших количеств субстрата; как следствие, активность каталазы почти всегда находится в линейной зависимости от концентраций H_2O_2 [Mittler, Zilinskas, 1991]. Отсутствие зависимостей между остальными биохимическими показателями указывает, по-видимому, на участие других соединений в формировании механизма стресс-устойчивости гороха к низким и высоким значениям рН корневой среды.

Таблица 4 – Коэффициенты корреляции между физиолого-биохимическими показателями в листьях пшеницы

Биохимические показатели	Пероксид водорода	Активность пероксидаз	Активность каталазы	Пролин	Флавоноиды	Восстановленная аскорбиновая кислота	Вода
Пероксид водорода		0,14	0,01	-0,35	0,27	-0,01	0,19
Активность пероксидаз	0,14		0,17	-0,14	0,51*	0,55*	0,11
Активность каталазы	0,01	0,17		0,19	0,12	0,36	0,01
Пролин	-0,35	-0,13	0,19		-0,44	0,47	0,05
Флавоноиды	0,27	0,51*	0,12	-0,43		0,40	-0,42
Восстановленная аскорбиновая кислота	-0,01	0,55*	0,36	0,47	0,4		-0,04
Вода	0,19	0,11	0,01	0,05	-0,42	-0,04	

Примечание. * – наличие значимых коэффициентов корреляции, значимость коэффициентов рассчитана с помощью критериев Спирмена и Кенделла при $P < 0,05$

Таблица 5 – Коэффициенты корреляции между физиолого-биохимическими показателями в листьях ржи

Биохимические показатели	Пероксид водорода	Активность пероксидаз	Активность каталазы	Пролин	Флавоноиды	Восстановленная аскорбиновая кислота	Вода
Пероксид водорода		-0,33	-0,34	-0,14	-0,18	0,05	0,36
Активность пероксидаз	-0,33		-0,07	0,75*	0,51*	0,16	-0,54*
Активность каталазы	-0,33	-0,07		0,15	0,39	0,35	-0,19
Пролин	-0,13	0,75*	0,15		0,85*	0,35	-0,21
Флавоноиды	-0,16	0,52*	0,39*	0,85*		0,45	-0,24
Восстановленная аскорбиновая кислота	0,05	0,16	0,36	0,36	0,46*		-0,04
Вода	0,38	-0,54*	-0,19	-0,21	-0,23	-0,04	

Примечание. * – наличие значимых коэффициентов корреляции, значимость коэффициентов рассчитана с помощью критериев Спирмена и Кенделла при $P < 0,05$

Таблица 6 – Коэффициенты корреляции между физиолого-биохимическими показателями в листьях гороха

Биохимические показатели	Пероксид водорода	Активность пероксидаз	Активность каталазы	Пролин	Флавоноиды	Восстановленная аскорбиновая кислота	Вода
Пероксид водорода		0,17	0,51*	-0,24	-0,31	0,37	0,22
Активность пероксидаз	0,17		0,06	-0,19	-0,15	0,29	-0,28
Активность каталазы	0,51*	0,06		-0,29	-0,07	0,35	0,13
Пролин	-0,24	-0,19	-0,29		0,33	0,01	-0,20
Флавоноиды	-0,31	-0,15	-0,07	0,33		-0,07	0,03
Восстановленная аскорбиновая кислота	0,37	0,29	0,35	0,01	-0,07		0,19
Вода	0,22	-0,28	0,13	-0,20	0,03	0,03	

Примечание. * – наличие значимых коэффициентов корреляции, значимость коэффициентов рассчитана с помощью критериев Спирмена и Кенделла при $P < 0,05$

3.8 Изменение содержания органических кислот

Пшеница

В листьях пшеницы содержалось меньше щавелевой кислоты и больше всего яблочной кислоты (табл. 7). В первый период наблюдений (0,5 ч) в условиях щелочного стресса количество щавелевой кислоты увеличилось на 10%. При кислотном стрессе во все сроки наблюдений, а также при щелочном стрессе в два периода наблюдений (3, 24 ч) значимых отличий между вариантами опыта по содержанию щавелевой кислоты не установлено.

В условиях кислотного стресса в первый период наблюдений (0.5 ч) понизилось содержание яблочной (на 14%) и янтарной (в 3 раза) кислот, по сравнению с содержанием в контрольных растениях; в содержании лимонной кислоты не установили значимых изменений. Во второй период наблюдений (3 ч) относительно контрольного уровня количество лимонной кислоты уменьшилось на 44%, янтарной кислоты – в 2 раза; в концентрации яблочной кислоты не наблюдали значимых различий с контрольными растениями. Через 24 ч после стресс-воздействия в листьях пшеницы содержалось яблочной кислоты меньше на 11%, лимонной кислоты – в 2,3 раза, чем в контрольных растениях. В концентрации янтарной кислоты не наблюдали значимых различий с контролем.

Через 0,5 ч после ощелачивания корневой среды содержание янтарной кислоты было меньше в 2,9 раза, чем у растений в контрольном варианте опыта. Во второй период наблюдений наблюдали значимое накопление лимонной кислоты, в 1,2 раза выше контрольного значения. Через 24 ч после стресс-воздействия отметили повышение концентрации яблочной кислоты на 9%, лимонной кислоты в 1,2 раза относительно контроля; одновременно на 35% уменьшилось количество янтарной кислоты.

Таблица 7 – Изменение содержания органических кислот в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений, ч	Щавелевая			Яблочная			Лимонная			Янтарная		
	контроль	pH3	pH10	контроль	pH3	pH10	контроль	pH3	pH10	контроль	pH3	pH10
0.5	8,9	9,3	9,8*	277,3	238,1*	249,3	86,6	61,1	83,9	104,1	34,9*	35,7*
3	8,7	9,3	9,0	252,7	263,4	285,3	39,1	22,0*	84,8*	38,1	18,9*	24,6
24	9,2	9,1	8,2	292,2	259,0*	264,9*	34,9	14,9*	74,0*	47,1	46,3	30,9*

Примечание. Медианы; * – наличие значимых различий с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса, при уровне значимости $P < 0,05$

В условиях кислотного стресса общее содержание трех карбоновых кислот (яблочной, лимонной, янтарной) в листьях пшеницы через 0,5 ч после изменения рН корневой среды снизилось на 23%, а во второй период наблюдений – на 14%, а в третий срок наблюдений – на 11% относительно их содержания в контрольных растениях (рис. 25).

В условиях щелочного стресса в первый период наблюдений (0,5 ч) наблюдали уменьшение общего количества органических кислот на 17% относительно их содержания у растений в контрольном варианте опыта. Но через 3 ч после стресс-воздействия сумма карбоновых кислот, по сравнению с контрольным уровнем, увеличилась на 14%, преимущественно за счет накопления в листьях лимонной кислоты. В последний период наблюдений (24 ч) общее содержание яблочной, лимонной и янтарной кислот не имело значимых различий с контролем.

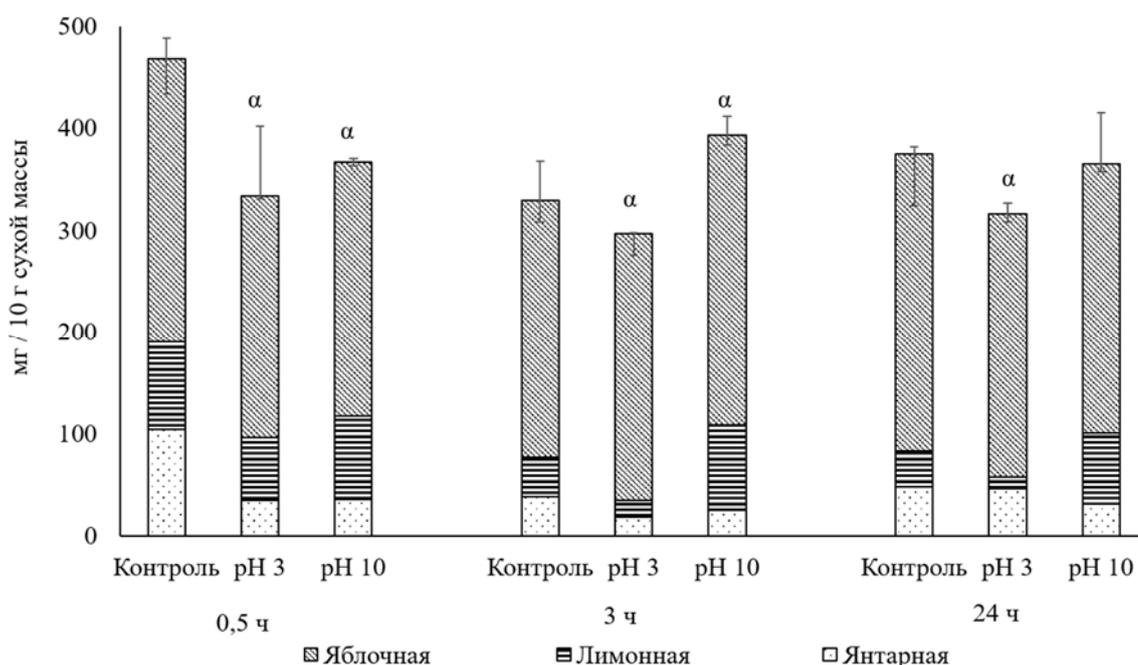


Рисунок 25 – Изменение общего содержания яблочной, лимонной и янтарной кислот в листьях пшеницы в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана общего содержания кислот, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля; α – наличие значимых различий с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Рожь

В условиях кислотного стресса в листьях ржи во все периоды наблюдений (0,5, 3, 24 ч) снизилось количество щавелевой кислоты на 47%, 28% и 28% соответственно (табл. 8). В условиях щелочной реакции корневой среды количество щавелевой кислоты в листьях не имело значимых различий с ее концентрацией в контрольных растениях.

Через 0,5 ч после стресс-воздействия в варианте с кислой реакцией корневой среды количество яблочной кислоты в листьях ржи не изменилось, содержание лимонной кислоты снизилось на 46%, янтарной – на 47%, по сравнению с контрольным вариантом опыта. Во второй и третий периоды наблюдений (3 ч, 24 ч) не наблюдали значимых различий в количестве карбоновых кислот в листьях растений относительно контрольных растений.

В условиях щелочного стресса весь период наблюдений не установлено значимых изменений в количестве щавелевой кислоты в листьях ржи с контрольным вариантом опыта.

В первый период наблюдений (0,5 ч) в варианте опыта со щелочной корневой средой в концентрации яблочной кислоты не наблюдали значимых изменений, но количество лимонной кислоты снизилось на 47%, янтарной – в 3,9 раза, относительно содержания этих кислот в контрольных растениях. Во второй период наблюдений (3 ч) значимых изменений в количестве карбоновых кислот при щелочном стрессе не установили. Через 24 ч после стресс-воздействия в этом варианте опыта в концентрации яблочной и янтарной кислот не выявили значимых изменений, но содержание лимонной кислоты было ниже контрольного уровня на 57%.

Таблица 8 – Изменение содержания органических кислот в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений, ч	Щавелевая			Яблочная			Лимонная			Янтарная		
	контроль	pH3	pH10	контроль	pH3	pH10	контроль	pH3	pH10	контроль	pH3	pH10
0.5	11,7	6,2*	9,3	174,0	212,0	205,8	111,4	60,1*	58,4*	103,8	58,9	26,5*
3	14,9	10,7*	9,8	212,8	212,3	186,7	180,2	153,9	150,6	113,6	112,1	90,0
24	10,2	7,3*	9,5	261,3	221,8	214,8	95,9	62,0	40,8*	76,4	63,3	57,9

Примечание. Медианы; * – наличие значимых различий с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса, при уровне значимости $P < 0,05$

В листьях ржи в содержании карбоновых кислот при кислотном стрессе, несмотря на общую тенденцию к снижению концентраций, не установлено значимых различий с контролем (рис. 26). В условиях щелочного стресса в первый период наблюдений (0,5 ч) наблюдали значимое снижение общего количества яблочной, лимонной и янтарной кислот в листьях ржи на 21%, что связано с уменьшением количества лимонной и, особенно, янтарной кислот. В последующем при щелочном стрессе значимых изменений в общем содержании этих кислот не установлено.

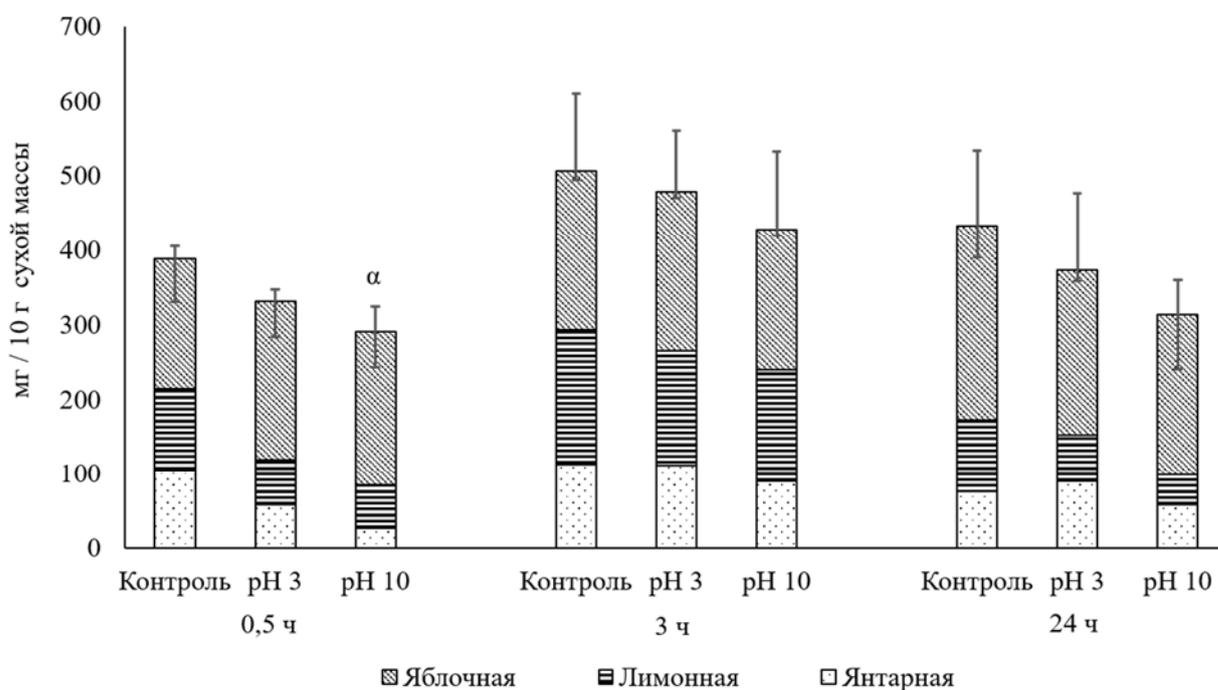


Рисунок 26 – Изменение общего содержания яблочной, лимонной и янтарной кислот в листьях ржи в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана суммарного содержания кислот, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентиля; α – наличие значимых различий с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Горох

При смене реакции корневой среды в листьях гороха заметно изменилось содержание органических кислот (табл. 9). В варианте рН 3 во все три периода наблюдений (0,5, 3, 24 ч) наблюдали аккумуляцию щавелевой кислоты относительно контроля на 64%, 61%, 83% соответственно.

Через 0,5 ч после стресс-воздействия при кислой реакции корневой среды относительно контрольного уровня наблюдали накопление яблочной и лимонной кислот на 11% и 35% соответственно. Янтарной кислоты в листьях гороха меньше, чем остальных кислот, в первый период наблюдений ее количество снизилось еще на 47%. Через 3 ч наблюдали повышенную аккумуляцию лимонной кислоты (на 17%); в концентрациях яблочной и лимонной кислот не установили значимых различий с контрольными значениями. К концу наблюдений (24 ч) при кислотном стрессе количество лимонной кислоты увеличилось на 47%; в содержаниях яблочной и янтарной кислот не выявили значимых различий с контролем.

В варианте со щелочной реакцией среды щавелевая кислота в листьях гороха также накапливалась. Наибольшая аккумуляция отмечена в первый период наблюдений (0,5 ч), ее количество по сравнению с контролем выше на 80%. В последующие два периода наблюдений (3 и 24 ч) количество щавелевой кислоты превышало контрольный уровень на 26-28%.

Через 0,5 ч после стресс-воздействия в варианте со щелочной реакцией среды количество лимонной кислоты в листьях гороха увеличилось на 18%; одновременно несколько снизилось количество янтарной кислоты. Во второй период наблюдений (3 ч) наблюдали аккумуляцию яблочной (на 30%) и лимонной (на 16%) кислот по сравнению с контрольными растениями. В последний период (24 ч) при щелочном стрессе в листьях гороха накапливались все три карбоновые кислоты: в меньшей степени яблочная кислота (на 25%), в большей степени – лимонная и янтарная кислоты (на 60-70%).

Таблица 9 – Изменение содержания органических кислот в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов, мг/10 г сухой массы

Период после изменения рН, ч	Щавелевая			Яблочная			Лимонная			Янтарная		
	контроль	рН3	рН10	контроль	рН3	рН10	контроль	рН3	рН10	контроль	рН3	рН10
0.5	15,5	25,4*	27,9*	308,0	345,6*	322,2*	95,5	128,2*	112,1*	83,3	44,2*	26,8*
3	19,5	31,3*	25,0*	303,5	375,4	395,0	100,2	116,7*	115,6*	20,2	27,2	26,4
24	21,3	39,0*	27,0*	314,2	335,2	398,9*	81,2	120,0*	139,0*	24,0	28,2	38,6*

Примечание. Медианы; * – наличие значимых различий с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса, при уровне значимости $P < 0,05$

В условиях кислотного стресса в листьях гороха в первый период наблюдений (0,5 ч) общее содержание трех карбоновых кислот было немного выше (на 5%), чем у контрольных растений (рис. 27). В последующие периоды наблюдений (3, 24 ч) в варианте с кислой реакцией среды общее содержание органических кислот превышало контрольные значения на 22 и 15% соответственно, преимущественно за счет накопления лимонной кислоты.

В условиях щелочного стресса в первый период наблюдений не наблюдали значимых изменений в сумме карбоновых кислот. Через 3 и 24 ч после стресс-воздействия общее количество яблочной, лимонной и янтарной кислот превысило контрольные значения на 27% и 37% соответственно. При этом сумма кислот повышалась сначала за счет яблочной и лимонной кислот, в конце наблюдений накапливались все три карбоновые кислоты.

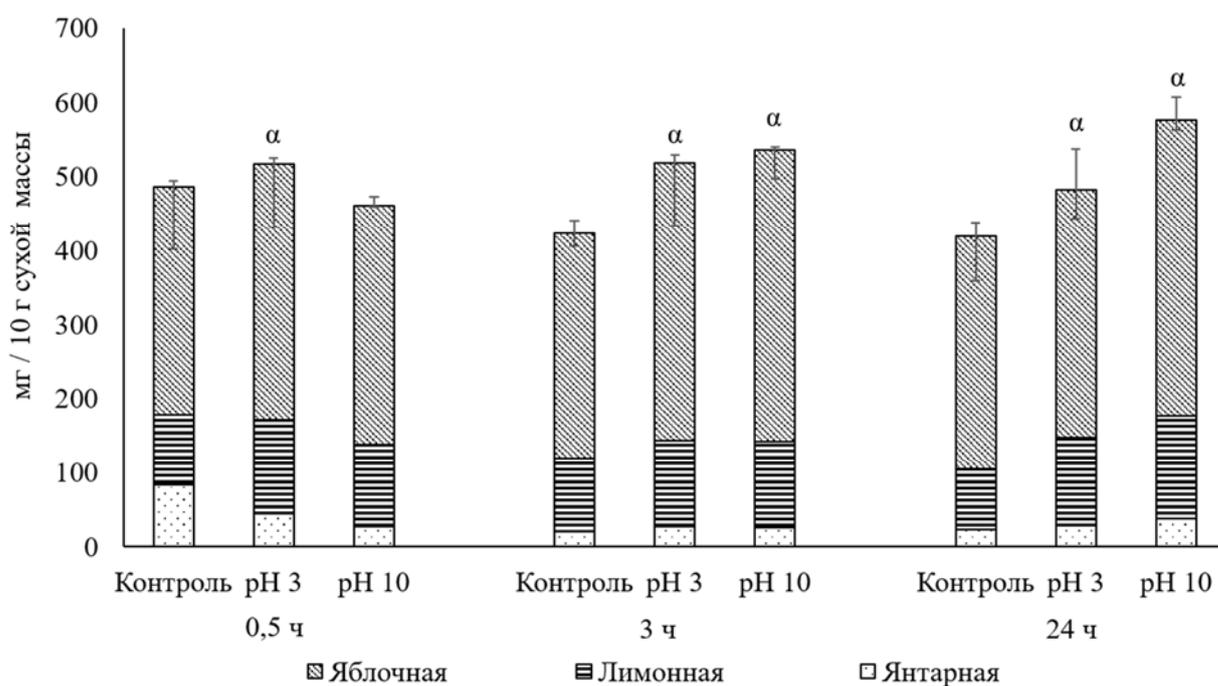


Рисунок 27 – Изменение общего содержания яблочной, лимонной и янтарной кислот в листьях гороха в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. Медиана общего содержания кислот, планками погрешностей представлены 25% и 75% процентили; α – наличие значимых различий с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Обсуждение

Известно, что яблочная, лимонная и янтарная кислоты являются участницами цикла Кребса. При сощелочном стрессе наблюдали подавление гликолиза в растениях [Olmos, Hellin, 1996; Guo et al., 2015]. Возможно, наблюдаемая нами тенденция к уменьшению содержания карбоновых кислот в листьях злаков связана с нарушением гликолиза при стрессе, вызванном изменениями pH корневой среды. В стрессовых условиях происходит переход растений с гликолиза на альтернативное дыхание [Olmos, Hellin, 1996; Guo et al., 2015; Гармаш, 2020; Икконен и др., 2020]. На альтернативном пути дыхания потребляются H^+ , поэтому указывают на его участие в pH-регуляции [Vanlerberghe, McIntosh, 1997].

В пшенице пониженную концентрацию карбоновых кислот наблюдали в условиях кислотного стресса. Возможно, это проявление адаптивной биохимической реакции листьев на смещение кислотно-основного равновесия в сторону низких значений pH. При кислотном стрессе в растениях пшеницы могли активизироваться pH-зависимые превращения органических кислот, сопровождающиеся выделением или поглощением протонов [Reid, Smith, 2002; Van Dongen et al., 2011].

Отрицательная корреляция между содержанием пролина и количеством лимонной кислоты, между содержанием пролина и суммарным содержанием карбоновых кислот, между количеством восстановленной аскорбиновой кислоты и суммарным содержанием карбоновых кислот в листьях пшеницы (табл. 10) показали, что в стрессовом состоянии при активизации антиоксидантной защиты содержание карбоновых кислот, в том числе, лимонной кислоты, снижалось. Данные зависимости подтвердили тенденцию к уменьшению содержания органических кислот в условиях стрессов, вызванных низкими и высокими значениями pH корневой среды.

Таблица 10 – Коэффициенты корреляции между содержанием органических кислот и остальными физиолого-биохимическими показателями в листьях пшеницы

Показатели	Щавелевая	Яблочная	Лимонная	Янтарная	Сумма карбоновых кислот
Пероксид водорода	-0,15	-0,15	0,53	-0,13	0,43
Пероксидазы	-0,17	-0,55	-0,50	-0,58	-0,85
Каталаза	0,42	0,05	-0,13	-0,30	-0,07
Пролин	0,21	-0,14	-0,73*	-0,28	-0,74*
Флавоноиды	-0,39	-0,24	0,14	-0,81	-0,15
Восстановленная аскорбиновая кислота	-0,12	-0,60	-0,48	-0,52	-0,85*
Вода	0,55	-0,63	-0,15	0,33	-0,27

Примечание. * – наличие значимых коэффициентов корреляции, значимость коэффициентов рассчитана с помощью критериев Спирмена и Кенделла при уровне значимости $P < 0,05$

В листьях ржи при кислотном стрессе наблюдали заметное снижение содержания щавелевой кислоты, возможно, это одно из проявлений адаптивной реакции ржи. Отрицательная зависимость между показателями стресса (активность пероксидаз, содержание пролина и флавоноидов) и количеством щавелевой кислоты указывает на участие метаболизма щавелевой кислоты в рН-регуляции при кислотном стрессе (табл. 11).

Проявилась отрицательная корреляционная зависимость между уровнем активности пероксидаз и количеством лимонной и янтарной кислот, накоплением пролина и количеством лимонной и янтарной кислот в листьях ржи, что может быть связано как с нарушением гликолиза, так, и с рН-регуляцией в условиях кислотного стресса. В целом изменение концентраций карбоновых кислот в листьях ржи были выражены в меньшей степени, чем у пшеницы; так, сумма карбоновых кислот немного снизилась лишь в первый период наблюдений при щелочном стрессе. При кислотном стрессе и в другие периоды наблюдений при щелочном стрессе значимых изменений в сумме карбоновых кислот у ржи относительно контрольного уровня не выявлено.

Как было указано выше, в стрессовом состоянии в листьях гороха снизилось количество пролина и флавоноидов. Одновременно в условиях кислотного и щелочного стрессов в листьях гороха сильнее, чем у злаков изменилось содержание всех органических кислот. При развитии кислотного стресса наблюдали снижение оводненности тканей в листьях гороха (см. рис. 6). Аккумуляция органических кислот в листьях гороха, возможно, направлена на снижение водного потенциала цитозоля; т.к. из среды с избытком протонов и гидроксид-ионов нарушается поглощение воды корнями [Гордеев и др., 2005; Захарин, Паничкин, 2005].

Таблица 11 – Коэффициенты корреляции между содержанием органических кислот и остальными физиолого-биохимическими показателями в листьях ржи

Показатели	Щавелевая	Яблочная	Лимонная	Янтарная	Сумма карбоновых кислот
Пероксид водорода	-0,04	0,04	-0,48	-0,42	-0,44
Пероксидазы	-0,68*	0,18	-0,28	-0,23	-0,17
Каталаза	-0,07	0,09	0,30	0,08	0,34
Пролин	-0,97*	0,42	-0,70*	-0,72*	-0,58
Флавоноиды	-0,69*	0,59	-0,27	-0,42	-0,12
Восстановленная аскорбиновая кислота	0,05	0,13	-0,38	-0,43	-0,20
Вода	0,09	0,36	-0,48	-0,44	-0,38

Примечание. * – наличие значимых коэффициентов корреляции, значимость коэффициентов рассчитана с помощью критериев Спирмена и Кенделла при уровне значимости $P < 0,05$

Корреляционный анализ показал, что в листьях гороха при снижении содержания одного из основных органических осмолитов – пролина увеличивалось количество яблочной кислоты и суммарного содержания трех карбоновых кислот (табл. 12). Осморегулирующую роль органических кислот отмечали ряд исследователей в условиях щелочного засоления [Guo et al., 2020].

В тоже время накопление исследуемых карбоновых кислот, а также, щавелевой кислоты при кислой реакции корневой среды могло отрицательно повлиять на рН-гомеостаз и, как следствие, на развитии гороха. На это указывают данные по общему угнетению растений гороха в варианте опыта с кислой реакцией корневой среды (см. раздел 3.1).

Наибольшее накопление карбоновых кислот в листьях гороха отметили в условиях щелочного стресса, что, возможно, связано с устранением дефицита водного баланса, а также с рН-регуляцией. При щелочном стрессе после некоторого ощелачивания апопласта *Vicia faba* происходило повторное подкисление; синтез малата и цитрата связали с восстановлением содержания воды в листьях [Sagervanshi et al., 2022]. Заметное накопление органических кислот у гороха в условиях щелочного стресса, возможно, является важнейшим проявлением адаптационных механизмов, т.к. в варианте опыта с рН 10 отсутствовали признаки угнетения растений. О ведущей роли органических кислот в условиях щелочного засоления указывали многие исследователи [Yan et al., 2005; Guo et al., 2010; Liu, Shi, 2010; Чернышева и др., 2024]. Накопление органических кислот в листьях гороха также наблюдали при выращивании на щелочной почве; количество органических кислот было выше, чем у растений на нейтральной почве на 25% [Боталова, Еремченко, 2020].

Таблица 12 – Коэффициенты корреляции между содержанием органических кислот и остальными физиолого-биохимическими показателями в листьях гороха

Показатели	Щавелевая	Яблочная	Лимонная	Янтарная	Сумма карбоновых кислот
Пероксид водорода	-0,39	-0,15	-0,18	-0,11	-0,08
Пероксидазы	0,32	0,31	0,61	0,17	0,24
Каталаза	-0,26	-0,18	-0,15	0,33	0,04
Пролин	-0,43	-0,75*	-0,65	-0,24	-0,79*
Флавоноиды	-0,50	-0,50	-0,53	-0,44	-0,43
Восстановленная аскорбиновая кислота	0,03	0,07	-0,13	-0,13	-0,03
Вода	-0,18	0,22	-0,18	-0,03	0,23

Примечание. * – наличие значимых коэффициентов корреляции, значимость коэффициентов рассчитана с помощью критериев Спирмена и Кенделла при уровне значимости $P < 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение 48 часов после изменения рН корневой среды нами прослежено угнетение исследуемых растений, выраженное в торможении роста и, в отдельных случаях, в снижении массы надземной части. Потенциал биохимических реакций, вызванных стрессорами, может варьироваться в бесконечно возможной степени в зависимости от внутренней организации различных организмов. Решающее значение для стрессового состояния имеет время реакции растения на неблагоприятный фактор окружающей среды [Jansen, Potters, 2017; Silveira, Sousa, 2024]. Наши исследования посвящены изменениям биохимических показателей в первые часы после стресс-воздействия в листьях пшеницы яровой, ржи посевной и гороха посевного. Лист представляет собой центральную часть системных реакций на эндогенные и внешние возмущения [Souza, Cardoso, 2003; Silveira, Sousa, 2024].

Динамика содержания воды в листьях злаков указывала на некоторое нарушение водного обмена при высоких и низких значениях рН корневой среды. Дефицит свободной воды в растительных клетках сопровождается увеличением концентрации цитоплазмы, уменьшением или утратой гидратных оболочек белков и других полимеров, что изменяет их конформацию, приводит к денатурации. К настоящему времени обнаружены большие различия в механизмах реагирования разных растений на нарушения водного баланса [Yang et al., 2021; Wu et al., 2022].

Со многими дисбалансами, вызванными биотическими и абиотическими стрессорами в растениях, тесно связан окислительно-восстановительный метаболизм [Wu et al., 2022; Sousa et al., 2023; Silveira, Sousa, 2024]. В наших экспериментах при резком подкислении и подщелачивании корневой среды быстрая реакция растений проявилась в динамике содержания пероксида водорода в листьях (рис. 28). В стрессовом состоянии колебания H_2O_2 в обе стороны от контрольных значений указывали как на сверхпродукцию АФК, так и на усиленную их элиминацию разными компонентами антиоксидантной

защиты растений. Повышение содержания H_2O_2 в растительной клетке кратковременное и локальное, т.к. служит сигналом для экспрессии генов, регулирующих синтез антиоксидантных ферментов [Guo et al., 2015; Demidchik, 2015; Noctor et al., 2015; Прадедова и др., 2017; Wu et al., 2022].

pH3

Пшеница	Рожь	Горох
H_2O_2 ↑↓	H_2O_2 ↑↓	H_2O_2 ↑↓
ПЕРОКСИДАЗЫ ↑	ПЕРОКСИДАЗЫ ↓	ПЕРОКСИДАЗЫ ↑↓
КАТАЛАЗА ↑	КАТАЛАЗА ≈	КАТАЛАЗА ↑≈
ВОСТАНОВЛЕННАЯ АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ↓	ВОСТАНОВЛЕННАЯ АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ↑↓	ВОСТАНОВЛЕННАЯ АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ↑↓
ПРОЛИН ↑	ПРОЛИН ↑	ПРОЛИН ↓
ФЛАВОНОИДЫ ↑	ФЛАВОНОИДЫ ↑	ФЛАВОНОИДЫ ↓
КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ ↓	КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ ≈	КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ ↑
ЩАВЕЛЕВАЯ КИСЛОТА ≈	ЩАВЕЛЕВАЯ КИСЛОТА ↓	ЩАВЕЛЕВАЯ КИСЛОТА ↑

pH10

Пшеница	Рожь	Горох
H_2O_2 ↑↓	H_2O_2 ↑↓	H_2O_2 ↑↓
ПЕРОКСИДАЗЫ ↑	ПЕРОКСИДАЗЫ ↑	ПЕРОКСИДАЗЫ ↑≈
КАТАЛАЗА ↑	КАТАЛАЗА ↓	КАТАЛАЗА ↑≈
ВОСТАНОВЛЕННАЯ АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ↓	ВОСТАНОВЛЕННАЯ АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ↑	ВОСТАНОВЛЕННАЯ АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ↑
ПРОЛИН ↓	ПРОЛИН ↑	ПРОЛИН ↓
ФЛАВОНОИДЫ ↓	ФЛАВОНОИДЫ ↑	ФЛАВОНОИДЫ ↓
КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ ↑↓	КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ ↓≈	КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ ↑
ЩАВЕЛЕВАЯ КИСЛОТА ↑≈	ЩАВЕЛЕВАЯ КИСЛОТА ≈	ЩАВЕЛЕВАЯ КИСЛОТА ↑

Рисунок 28 – Общая схема изменений биохимических показателей в листьях растений в условиях кислотного и щелочного стрессов

Примечание. ↑↓ – содержание / активность колебались в обе стороны от контрольных значений; ↑ – содержание / активность выше контрольных значений; ↓ – содержание ниже контрольных значений; ≈ – содержание / активность не имели значимых различий с контролем; ↓≈ – отдельные периоды понижения содержания / активности относительно контрольных значений; ↑≈ – отдельные периоды повышения содержания / активности относительно контрольных значений.

При неблагоприятной реакции корневой среды ответная реакция пшеницы проявилась в повышении активности антиоксидантных ферментов листьев (рис. 28). Каталаза быстро разлагает H_2O_2 до H_2O [Yang et al., 2021; Wu et al., 2022], а пероксидазы способны к восстановлению разных субстратов [Mehlhorn et al., 1996; Takahama, 2004], поэтому одновременное повышение

уровня активности этих ферментов в первые часы развития кислотного и щелочного стресса можно считать маркером усиления антиоксидантной защиты листьев пшеницы.

Рожь отличилась усилением активности каталазы и пероксидаз в варианте опыта со щелочной средой, но при кислой реакции среды в листьях ржи чаще наблюдали повышение уровня активности только одних пероксидаз. При этом в листьях ржи в период наблюдений от 2 ч до 24 ч пероксида водорода в листьях меньше, чем в контрольном варианте опыта; возможно, это растение относительно толерантно к кислой реакции корневой среды.

В первые часы развития стресса, вызванного изменением pH корневой среды, в листьях растений, как правило, наблюдали аккумуляцию восстановленной аскорбиновой кислоты (рис. 28). Содержание аскорбиновой кислоты в растениях положительно коррелирует с их устойчивостью при недостатке воды, т.к. аскорбиновая кислота прямо или косвенно снижает количество АФК [Yang et al., 2021]. Через 24 ч после стресс-воздействия в листьях ржи и гороха содержание этой кислоты существенно уменьшилось, возможно, из-за снижения ее роли в формировании механизмов устойчивости.

Осморегулирующие вещества в растениях поддерживают нормальный уровень водного потенциала, защищают белковую активность и структуру клеточных мембран и т.д. [Yang et al., 2021]. В условиях кислотного и щелочного стрессов аккумуляция пролина и флавоноидов в листьях злаков (рис. 28), по-видимому, направлена на защиту от окислительного повреждения, т.к. их содержание коррелировало с активностью антиоксидантных ферментов и количеством восстановленной аскорбиновой кислоты. В листьях ржи при снижении количества воды усиливалась пероксидазная активность, что указывало на возможное нарушение водного баланса и связанное с ним изменение про-/антиоксидантного метаболизма.

Диапазон изменения веществ, регулирующих осмотическую активность, отличается у разных видов растений [Yang et al., 2021]. В нашем эксперименте у злаков проявилась видоспецифичность реакций, связанных с

направленностью изменений рН. Рожь накапливала пролин и флавоноиды при обоих видах стресса, а пшеница – только при кислотном стрессе; при щелочном стрессе в ее листьях аккумуляровались флавоноиды.

В условиях кислотного и щелочного стрессов горох отличился от злаков снижением содержания пролина и флавоноидов в листьях (рис. 40). Катаболизм этих соединений указывает на функционирование защитных механизмов, связанных с другими низкомолекулярными соединениями (растворимые белки, растворимые сахара, сорбит, глицинбетаин и др.), регулируемыми осмотическую активность [Fang et al., 2021].

Динамика содержания щавелевой кислоты и карбоновых кислот цикла Кребса (яблочной, лимонной, янтарной) в листьях растений (рис. 28) указывала на изменение их метаболизма в условиях низких и высоких значений рН корневой среды. Снижение количества яблочной, лимонной и янтарной кислот в листьях злаков относительно контрольных уровней может быть связано с нарушением гликолиза; как это отмечено при щелочном засолении [Olmos, Hellin, 1996; Guo et al., 2015]. В условиях кислотного стресса это снижение количества органических кислот в листьях также направлено на восстановление рН-гомеостаза.

Специфическая реакция гороха на изменение рН корневой среды проявилась в накоплении исследуемых органических кислот (рис. 40). Ученые отмечали участие органических кислот в регуляции осмотического баланса растений [Wilkinson, 1999; Geilfus, 2017; Guo et al., 2020]. Для гороха аккумуляция органических кислот (на фоне снижения концентрации пролина) могла быть направлена на восстановление водного потенциала. В условиях щелочного стресса синтез органических кислот в горохе, возможно, связан и с восстановлением рН-гомеостаза. Например, под воздействием щелочного раствора концентрация цитрата в соке ксилемы *Vicia faba* возросла в два раза [Sagervanshi et al., 2022]. Для компенсации дефицита неорганических анионов в корнях и листьях томатов усилен синтез органических кислот, таких как цитрат, формиат, лактат, ацетат, сукцинат, малат и оксалат [Wang et al., 2011].

Выделение маркеров стрессовых состояний растений может оказать помощь в генетико-селекционных исследованиях и в управлении «точным земледелием», особенно в неблагоприятных и экстремальных экологических условиях [Silveira, Sousa, 2024]. Наши исследования показали, что общими показателями стрессового состояния пшеницы яровой, ржи посевной и гороха посевного в первые часы после формирования неблагоприятной реакции корневой среды являлись изменения в показателях про-/антиоксидантного метаболизма, включая концентрацию H_2O_2 , активности антиоксидантных ферментов (каталазы, пероксидазы), содержание восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях. Эти результаты соответствуют ранее предложенным перспективным физиологическим показателям стрессовых состояний некоторых культурных растений, вызванных дефицитом воды, засолением, высокими и низкими температурами [Cardoso et al., 2023].

ВЫВОДЫ

1. Изменение рН корневой среды приводит к ингибированию ростовых процессов у злаков (пшеницы яровой, ржи озимой) и гороха. Кислая среда (рН 3) за период 48 часов снижает длину и сырую массу надземной части всех изученных видов растений, а щелочная среда (рН 10) уменьшает прирост надземной части только у злаков.

2. Изменение рН корневой среды в кислую и щелочную сторону приводит к снижению относительного содержания воды в листьях злаков (пшеницы яровой, ржи озимой) через 24-48 часов после начала стресс-воздействия, что возможно является одной из причин торможения ростовых процессов. У гороха аналогичную реакцию наблюдали только в условиях кислотного стресса.

3. В первые часы воздействия высоких и низких значений рН корневой среды в листьях изученных видов растений одновременно с усиленными колебаниями концентраций пероксида водорода происходит активизация антиоксидантных ферментов (каталазы и, особенно, пероксидаз) и повышение содержания восстановленной аскорбиновой кислоты. Горох отличался от злаков меньшей активацией антиоксидантных ферментов.

4. Изменение рН корневой среды видоспецифичным образом изменяет содержание низкомолекулярных антиоксидантов пролина и флавоноидов в листьях растений. В условиях кислотного стресса в листьях пшеницы и ржи накапливаются оба антиоксиданта, тогда как при щелочном стрессе в листьях пшеницы – только флавоноиды, а у ржи аккумулируются и пролин и флавоноиды. В листьях гороха при изменении рН корневой среды содержание пролина и флавоноидов уменьшается, что указывает на функционирование иной системы низкомолекулярных протекторов.

5. Воздействие низких и высоких значений рН корневой среды вызывает видоспецифичные изменения в метаболизме органических кислот (щавелевой, яблочной, лимонной и янтарной) в листьях злаков и гороха. Наиболее значимые изменения обнаружены в условиях кислотного стресса: в

листьях пшеницы снижается концентрация яблочной, лимонной и янтарной кислот, в листьях ржи – преимущественно щавелевой кислоты. В листьях гороха все изученные кислоты аккумулируются, что указывает на их участие в регуляции водного потенциала, а в условиях щелочной среды – и pH-гомеостаза.

6. В первые часы воздействия низких (pH 3) и высоких (pH 10) значений pH корневой среды общим маркером стрессового состояния растений пшеницы яровой, ржи посевной и гороха посевного является повышение уровня про-/антиоксидантного метаболизма в листьях. Участие пролина, флавоноидов и органических кислот в системном ответе листьев растений видоспецифично и зависит от направленности изменений pH корневой среды.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Абдрахимова Й.Р., Андреев И.М., Шугаев А.Г. Определение скорости генерации АФК в митохондриях растений *in vitro* с помощью флуоресцентных индикаторов: неспецифические эффекты ингибиторов терминальных оксидаз // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 1. – С. 146–152.
2. Абрамова З.И. Биохимия: ферменты и коферменты. Сборник задач и упражнений : учебное пособие. Ч. 2. – Казань: КФУ, 2021. – 247 с.
3. Амосова Н.В., Николаева О.Н., Сынзыныс Б.И. Механизмы алюмотолерантности у культурных растений (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2007. – № 1. – С. 36–42.
4. Арисова А.К., Еремченко О.З. Изменения в содержании ионов Cl^- , Na^+ и воды в листьях пшеницы под воздействием засоления и щелочности // Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация. – 2023. – № 3. – С. 31–38.
5. Барабой В.А. Биологические функции, метаболизм и механизмы действия селена // Успехи современной биологии. – 2004. Т. 124, № 2. – С. 157–168.
6. Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 6. – С. 465–474.
7. Боталова К.И., Еремченко О.З. Содержание органических кислот в *Triticum aestivum* L., *Secale cereale* L. и *Pisum sativum* L. при выращивании на кислой и щелочной почвах // Вестник Воронежского государственного университета. Сер.: Химия. Биология. Фармация. – 2020. – № 4. – С. 35–40.
8. Боталова К.И., Еремченко О.З. Влияние щелочности и кислотности корневой среды на состояние защитных систем *Pisum sativum* L. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2021. – № 3. – С. 26–33.
9. Вальков В.Ф., Елисеева Н.В., Имгрунт И.И., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Справочник по оценке почв. – Майкоп: ГУРИПП «Адыгея», 2004. – 236 с.

10. Веселов Д.С., Маркова И.В., Кудоярова Г.Р. Реакция растений на засоление и формирование солеустойчивости // Успехи современной биологии. – 2007. – Т. 127, № 5. – С. 482–493.

11. Воденеев В.А., Опритов В.А., Пятыгин С.С. Обратимое изменение внеклеточного рН при генерации потенциала действия у высшего растения *Cucurbita pepo* L. // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 4. – С. 538–545.

12. Войников В.К., Боровский Г.Б., Колесниченко А.В., Рихванов Г.Е. Стрессовые белки растений: учебное пособие. – Иркутск: Изд-во института географии СО РАН, 2004. – 141 с.

13. Воробьева Л.А. Щелочные засоленные почвы России // Почвоведение. – 2008. – № 5. – С. 517–532.

14. Гаджиева И.Х., Алиева З.М., Рамазанова П.Б. Кросс-адаптация растений к почвенному засолению и тяжелым металлам // Юг России: экология, развитие. – 2010. – № 1. – С. 26–32.

15. Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н., Иванищев В.В. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – С. 26–32.

16. Гармаш Е.В. Альтернативный путь дыхания в растениях: регуляция и функции // Известия Коми научного центра УрО РАН. – 2010. – Вып. 3. – С. 26–31.

17. Гармаш Е.В. Функциональная роль и регуляция альтернативного (цианидустойчивого) дыхания растений: Автореф. диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. – Уфа, 2020. – 44 с.

18. Гордеев А.М., Гордеев Ю.А., Захарин А.А., Паничкин Л.А. Протонный барьер как феномен водно-солевого обмена растений // Известия ТСХА. – 2005. – Вып. 1. – С. 62–73.

19. Грабельных О.И., Боровик О.А., Таусон Е.Л., Побежимова Т.П., Катышев А.И., Павловская Н.С., Королева Н.А., Любушкина И.В., Башмаков В.Ю., Попов В.Н., Боровский Г.Б., Войников В.К. Митохондриальные энергорассеивающие системы (альтернативная оксидаза, разобщающие белки

и «внешняя» NADH-дегидрогеназа) вовлечены в развитие морозоустойчивости проростков озимой пшеницы // Биохимия. – 2014. – Т. 79, вып. 6. – С. 645–660.

20. Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Павловская Н.С., Королева Н.А., Боровик О.А., Любушкина И.В., Войников В.К. Антиоксидантная функция альтернативной оксидазы в митохондриях озимой пшеницы при холодовом закаливании // Биологические мембраны. – 2011. – Т. 28, № 4. – С. 274–83.

21. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Функционирование глутатион зависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжелых металлов и фтора. – Киев: Наукова думка, 2012. – 238 с.

22. Давлатназарова З.Б. Особенности функционирования механизмов устойчивости растений в условиях абиотического стресса: Дис. ... д-ра биол. наук. – АН республики Таджикистан, 2016. – 257 с.

23. Духовский П.В., Юкнис Р., Бразайтите А., Жукаускайте И. Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессоров // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 2. – С. 165–173.

24. Еремченко О. З., Арисова А. К., Кайгородов Р.В. Изменения пероксидазной активности и содержания органических кислот в листьях пшеницы в условиях сощелочного стресса // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2022. № 4. – С. 3–12.

25. Еремченко О.З., Москвина Н.В., Митракова Н.В., Колбик А.Е., Пахоруков И.В. Оценка экологического состояния засоленных, кислых и щелочных почв методом фитотестирования // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2019. – № 1. – С. 63–71.

26. Еремченко О.З., Четина О.А., Арисова А.К. Изменение содержания ионов K^+ , Ca^{2+} , Na^+ в листьях и корнях растений при смене реакции почвенной среды // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2021. – № 1. – С. 3–15.

27. Еремченко О.З., Четина О.А., Арисова А.К., Ванышева Н.Д.

Изменение содержания ионов K^+ , Ca^{2+} , Na^+ в листьях и корнях растений при смене реакции почвенной среды // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2021. – № 1. – С. 3–15.

28. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В. Активные формы кислорода // Российский журнал физиологии растений. – 2011. Т. – 58, № 2. – С. 337–343.

29. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений // Вестник Московского городского педагогического университета. Сер. Естественные науки. – 2016. – № 2(22). – С. 9–24.

30. Засоленные почвы России / отв. редакторы Л.Л. Шишов, Е.И. Панкова. – М.: Академкнига, 2006. – 854 с.

31. Захарин А.А., Паничкин Л.А. Модель протонного барьера. Полная односторонняя проницаемость клеток корня для воды под влиянием избытка протонов в апопласте // Известия ТСХА. – 2005. – № 3. – С. 69–81.

32. Зенков Н.К., Лапкин В.З., Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты. – М.: Наука, 2001. – 343 с.

33. Иванищев В.В., Евграшкина Т.Н., Бойкова О.И., Жуков Н.Н. Засоление почвы и его влияние на растения // Известия Тульского государственного университета. Науки о Земле. – 2020. – № 3. – С. 28–42.

34. Иванов А.Л., Столбовой В.С., Гребенников А.М., Оглезнев А.К., Петросян Р.Д., Шилов П.М. Ранжирование кислых почв по приоритетности проведения известкования в Российской Федерации // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. – 2020. – Вып. 103. – С. 168–187.

35. Иванова Л.А., Иноземцева Е.С. Перспективные субстраты для гидропонного выращивания овощей // Гавриш. – 2010. – № 3. – С. 16–21.

36. Иевиньш Г.В. Пероксидазы растений: строение, свойства, биохимический полифункционализм // Известия Академии наук Латвийской ССР. – 1987. – Т. 7. – С. – 90–97.

37. Икконен Е.Н., Шibaева Т.Г., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф. Реакция дыхания проростков озимой пшеницы на продолжительное и кратковременное

ежесуточное понижение температуры // Физиология растений. – 2020. – Т. 67, № 3. – С. 312–318.

38. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Обозный А.И. Антиоксидантная система растений: участие в клеточной сигнализации и адаптации к действию стрессоров // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2011. – № 1. – С. 6–34.

39. Колупаев Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Сер. Биология. – 2007. – Вып. 3, № 12. – С. 6–26.

40. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вісник харківського національного аграрного університету. Серія біологія. – 2014. – Вып. 2, № 32. – С. 6–22.

41. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Активные формы кислорода, антиоксиданты и устойчивость растений к действию стрессоров. – Киев: Логос, 2019. – 277 с.

42. Кольман Я., Рём К.Г. Наглядная биохимия: справочное пособие. М.: Мир, 2004. – 469 с.

43. Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. – Киев: Наукова думка, 2003. – 277 с.

44. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. С. 16 – 19.

45. Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – С. 1–16.

46. Ктиторова И.Н., Скобелева О.В. Снижение гидравлической проводимости мембран клеток ризодермы при дефиците нитрата связано с

закислением у поверхности корня // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 690–698.

47. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321–336.

48. Кузнецова С.А. Особенности гормональной адаптации и изменение физиологических процессов пшеницы в условиях засоления NaCl: Дис. ... канд. биол. наук. – М., 2006. – 284 с.

49. Куличихин К.Ю. Механизмы регуляции внутриклеточного pH в корнях злаков в условиях гипоксии и аноксии: Дис. ... канд. биол. наук. – СПб, 2007. – 129 с.

50. Ларионов М.В. Агрехимическая характеристика почв в пределах урбанизированных территорий Поволжья // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 3. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_17822547_90775277.pdf (дата обращения 28.02.2024).

51. Лобанова Т.Н., Жуков Н.Н., Бойкова О.И., Иванищев В.В. Динамика ответных реакций проростков тритикале на стресс, индуцируемый сульфатным и карбонатным засолением // Известия ТулГУ. Естественные науки. – 2015. – № 4. – С. 273-282.

52. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2002. – 208 с.

53. Маевская С.Н., Николаева М.К. Реакция антиоксидантной и осмопротекторной систем проростков пшеницы на засуху и регидратацию // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 3. – С. 351–351.

54. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. – Минск: БГУ, 2008. – 159 с.

55. Матухин Г.Р. Физиология приспособления культурных растений к засолению почв. – Ростов н/Д: Изд-во Ростовского университета, 1963. – 204 с.

56. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы

радикальных окислительных процессов // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – С. 442–455.

57. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. Сер. Физиология растений. – 1989. – Т. 6. – С. 167–172.

58. Мерзляк М.Н. Активный кислород и жизнедеятельность растений // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 9. – С. 20–27.

59. Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 3. – С. 459–464.

60. Минюк Г.С., Челебиева Э.С., Чубчикова И.Н., Данцюк Н.В., Дробецкая И.В., Сахонь Е.Г., Чивкунова О.Б., Чеканов К.А., Лобакова Е.С., Сидоров Р.А., Соловченко Е.А. Влияние pH и CO₂ на рост и метаболизм микроводоросли *Coelastrella (Scotiellopsis) rubescens* // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 4. – С. 601–610.

61. Назарова В.Д., Бакумова Е.В., Бектемисова А.У. Антиоксидантная активность флавоноидов // Актуальные проблемы науки и образования в области естественных и сельскохозяйственных наук / Материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию академика Е.А. Букетова. – Караганда, 2015. – С. 111–114.

62. Обручева Н.В., Синькевич И.А., Литягина С.В., Новикова Г.В. Активация «кислого» роста в прорастающих семенах конского каштана // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 3. – С. 452–456.

63. Олениченко Н.А., Городкова Е.С., Загоскина Н.В. Влияние экзогенных фенольных соединений на перекисное окисление липидов у растений пшеницы // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – Т. 43, № 3. – С. 58–61.

64. Орлова Ю.В., Мясоедов Н.А., Кириченко Е.Б., Балнокин Ю.В. Вклад неорганических ионов, растворимых углеводов и многоатомных спиртов в поддержании водного гомеостаза у двух видов полыни в условиях засоления

// Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 220–231.

65. Осипова Е.С., Петухова Г.А., Перекупка А.Г. Активация биохимических механизмов защиты растений при действии нефтяного загрязнения и парааминобензойной кислоты // Вестник Тюменского государственного университета. – 2013. – № 6. – С. 41–47.

66. Пахоруков И.В., Еремченко О.З. Динамика кислотно-щелочных и окислительно-восстановительных условий в аллювиальных техногенно засоленных почвах таежно-лесной зоны // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2023. – № 4. – URL: https://agroecoinfo.ru/STATYI/2023/4/st_414.pdf (дата обращения 28.02.2024).

67. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. – М.: КДУ, 2007. – 137 с.

68. Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Саляев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 177–185.

69. Прадедова Е.В., Нимаева О.Д., Саляев Р.К. Редокс-процессы в биологических системах // Физиология растений. – 2017. – Т. 64, № 6. – С. 433–445.

70. Пухальская Н.В. Проблемные вопросы алюминиевой токсичности // Агрохимия. – 2005. – № 8. – С. 70–82.

71. Пятыгин С.С. Стресс у растений: физиологический подход // Журнал общей биологии. – 2008. – Т. 69, № 4. – С. 294–295.

72. Радюкина Н.Л., Шашкунова А.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты шалфея при действии NaCl и параквата // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 721–730.

73. Радюкина Н.Л. Функционирование антиоксидантной системы дикорастущих видов растений при кратковременном действии стрессоров: Дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2015. – 207 с.

74. Сабинин Д.А. Физиологические основы питания растений. – М.: Изд-

во АН СССР, 1955. – 512 с.

75. Сащенко М.Н., Подвигина О.А. Возрастные изменения растений гороха в онтогенезе // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2014. – № 2 (10). – С. 17–26.

76. Саиди-Сар С., Хавари-Ненджад Р.А., Фахими Х., Гобарбанли М., Мажд А. Совместное влияние гибберелловой и аскорбиновой кислот на перикисное окисление липидов и активность антиокислительных ферментов в проростках сои при обработке никелем // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 1. – С. 85–91.

77. Серенко Е.Н., Баранова Е.Н., Балахнина Т.И., Куренина Л.В., Гулевич А.А., Кособрюхов А.А., Майсурян А.Н., Поляков В.Ю. Структурная организация хлоропластов растений томата *Solanum lycopersicum* L., трансформированных геном Fe-супероксиддисмутазы // Биологические мембраны. – 2011. – Т. 28, № 3. – С. 215–223.

78. Синькевич М.С., Селиванов А.А., Антипина О.В., Кропочева Е.В., Алиева Г.П., Суворова Т.А., Астахова Н.В., Мошков И.Е. Активность антиоксидантных ферментов у растений *Arabidopsis thaliana* при закаливании к гипотермии // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 6. – С. 777–782.

79. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1989. – 564 с.

80. Смирнов А.Е., Косян А.М., Косык О.И., Таран Н.Ю. Роль корневых экссудатов в адаптивных реакциях гречихи обыкновенной в условиях алюмокислого стресса // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2014. – Т. 10, № 1. – С. 196–202.

81. Стеценко Л.А., Шевякова Н.И., Ракитин В.Ю., Кузнецов В.В. Пролин защищает растения *Atropa belladonna* от токсичности соли никеля // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 275–282.

82. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биофизика, биохимия, медицина. – Пущино: Synchronobook, 2013. – 310 с.

83. Тараховский Ю.С., Музафаров Е.Н., Ким Ю.А. Взаимодействие флавоноидов с мембранами // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. – М.: Научный мир, 2010. – С. 108–116.
84. Трофимова М.С. Ионный гомеостаз растительной клетки и механизмы его регуляции: Дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2003. – 51с.
85. Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. – М.: Наука, 2007. – 54 с.
86. Угарова Н.Н., Бровко Л.Ю., Кутузова Г.Д. Биолюминесценция и биолюминесцентный анализ. – М.: МГУ, 1981. – 138 с.
87. Хавинсон В.К., Баринов В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В. Свободнорадикальное окисление и старение. – СПб.: Наука, 2003. – 197 с.
88. Хелдт Г.В. Биохимия растений. – М.: Изд-во Бином. Лаборатория знаний, 2011. – 474 с.
89. Хлесткина Е.К. Адаптивная роль флавоноидов: акцент на злаках // Зерновые исследования. – 2013. Т. 41, №2. – С. 185–198.
90. Чернышева А.К., Еремченко О.З., Боталова К.И. Накопление пролина, флавоноидов и органических кислот в листьях кресс-салата в условиях соле-щелочного стресса // Физиология растений. – 2024. – Т. 71, № 4. – С. 482–490.
91. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 29–36.
92. Четина О.А., Арисова А.К. Динамика показателей развития солевого стресса у овса посевного при разном уровне рН корневой среды. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2022. – № 3 – С. 3–15.
93. Четина О.А., Боталова К.И., Кайгородов Р.В. Влияние щелочности и кислотности корневой среды на состояние защитных систем *Triticum aestivum* L. и *Secale cereale* L. // Физиология растений. – 2020. – № 2. – С. 177–187.
94. Четина О.А., Еремченко О.З. Влияние NaCl-засоления на содержание

катионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} в листьях злаков при разной реакции почвенной среды [Электрон. ресурс] // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2022. – № 1. – URL: http://agroecoinfo.ru/STATYI/2022/1/st_107.pdf (дата обращения: 28.02.2024).

95. Четина О.А., Еремченко О.З., Пахоруков И.В. Накопление низкомолекулярных соединений как ответная реакция растений на техногенное засоление // Экология. – 2023. – № 2. – С. 94–102.

96. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений: учебное пособие. – СПб.: СПбГУ, 2002. – 244 с.

97. Чупахина Г.Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум. – Калининград: Калинингр. ун-т, 2000. – 59 с.

98. Чупахина Г.Н., Масленников П.В. Адаптация растений к нефтяному стрессу // Экология. – 2004. – № 5. – С. 330–335.

99. Шевякова Н.И., Стеценко Л.А., Мещеряков А.Б., Кузнецов В.В. Изменение активности пероксидазной системы в процессе стресс-индуцированного формирования САМ // Физиология растений. – 2002. – Т. 49, № 5. – С. 670–677.

100. Юрин В.М. Физиология растений: учебное пособие. – Минск: БГУ, 2010. – 455 с.

101. Янковский О.Ю. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). – Санкт-Петербург: Игра, 2000. – 294 с.

102. Abdel-Wahab D.A., Hamada A.M. Evaluation of some bean linestolerance to alkaline soil // Journal of Biology and Earth Sciences. – 2012. – V. 2. – P. 18–27.

103. Alavilli H., Awasthi J.P., Rout G.R., Sahoo L., Lee B.H. Panda S.K. Overexpression of a barley aquaporin gene, HvPIP2; 5 confers salt and osmotic stress tolerance in yeast and plants // Frontiers in plant science. – 2016. – V. 7. – P. 1566.

104. Amtmann A., Jelitto T.C., Sanders D. K^+ -Selective Inward-

Rectifying Channel and Apoplastic pH in Barley Roots // Journal of Plant Physiology. – 1999. – V. 119. – P. 331–338.

105. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annual Review of Plant Biology. – 2004. – V. 55. – P. 373–399.

106. Arif Y., Singh P., Siddiqui H., Bajguz A., Hayat S. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance // Plant Physiol. Biochem. – 2020. – V. 156. – P. 64–77.

107. Asada K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons // Annual Review of Plant Science. – 1999. – V. 50, № 1. – P. 601–639.

108. Bates L., Waldren P.P., Teare J.D. Rapid determination of proline of water stress studies // Plant Soil. – 1973. – V. 39, № 1. – P. 205–207.

109. Berczi A., Moller I.M. Redox enzymes in the plant plasma membrane and their possible roles // Plant Cell Environ. – 2000. – V. 23. – P. 1287–1302.

110. Bestwick C.S., Brown I.R., Bennett M.H.R., Mansfield J.W. Localization of hydrogen peroxide accumulation during the hypersensitive reaction of lettuce cells to *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* // Plant Cell. – 1997. – V. 9, № 2. – P. 209–221.

111. Bressan R.A., Hasegawa P.M., Pardo J.M. Plants use calcium to resolve salt stress // Trends Plant Sci. – 1998. – V. 3. – P. 411–412.

112. Bhuyan M.H.M., Hasanuzzaman M., Mahmud J.A., Hossain M., Bhuyan T.F., Fujita M. Unraveling morphophysiological and biochemical responses of *Triticum aestivum* L. to extreme pH: Coordinated actions of antioxidant defense and glyoxalase systems // Plants. – 2019. – V. 8, № 1. – C. 24.

113. Brunetti C., di Ferdinando M., Fini A., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – V. 14, № 2. – P. 3540–3555.

114. Cardoso L.L., Freire F.B.S., Daloso D.M. Plant metabolic networks under stress: a multi-species/stress condition meta-analysis // Journal Soil Science

Plant Nutr. – 2023 – V. 23 (1). – P. 4–21.

115. Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo* // Molecular Biology Reports. – 2013. – V. 40, № 4. – P. 3269–3279.

116. Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M.H. El., Ferjani E., Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // Plant Science. – 1997. – V. 127, № 2. – P. 139–147.

117. Chen Z., Pottosin I.I., Cui T.A., Fuglsang A.T., Tester M., Jha D., Zepeda-Jazo I., Zhou M., Palmgren M.G., Newman I.A., Shabala S. Root Plasma Membrane Transporters Controlling K^+/Na^+ Homeostasis in Salt-Stressed Barley // Plant Physiology. – 2007. – V. 145. – P. 1714–1725.

118. Chen S., Schopfer P. Hydroxyl-radical production in physiological reactions a novel function of peroxidase // European Journal of Biochemistry. – 1999. – V. 260, № 3. – P. 726–735.

119. Davies D. Control of and by pH // Symposia of the Society for Experimental Biology. – 1973. – V. 27. – P. 513–529.

120. Deckmyn G., Impens I. The ratio UV-B/photosynthetically active radiation (PAR) determines the sensitivity of rye to increased UV-B radiation // Environmental and Experimental Botany. – 1997. V. 37, № 1. – P. 3–12.

121. Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology // Environmental and Experimental Botany. – 2015. – V. 109. – P. 212–228.

122. Dickman M.B., Becker D.F. Proline modulates the intracellular redox environment and protects mammalian cells against oxidative stress // Free Radical Biology and Medicine. – 2008. – V. 44, № 4. – P. 671–681.

123. Dixon R.A., Paiva N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism // Plant Cell. – 1995. – V. 7, № 7. – P. 1085–1097.

124. Dumanovic J., Nepovimova E., Natic M., Kuca K., Jacevic, V. The

significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview // *Frontiers in plant science*. – 2020. – V. 11. – P. 1–13.

125. Edreva A., Velikova V., Tsonev T., Dagnon S., Gurel A., Akta L., Gesheva E. Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms // *General and Applied Plant Physiology*. – 2008. – V. 34. – P. 67–78.

126. Es-Safi N.E., Ghidouche S., Ducrot P.H. Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity // *Molecules*. – 2007. – V. 12, № 9. – P. 2228–2258.

127. Eremchenko O.Z., Pakhorukov I.V., Shestakov I.E.. Development of the Solonchak Process in Soils of Small River Valleys in the Taiga-Forest Zone in Relation to the Production of Potassium Salts // *Eurasian Soil Science*. – 2020. – V. 53, № 4. – P. 512–522.

128. Fang S, Hou X, Liang X. Response mechanisms of plants under saline-alkali stress // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – V. 12. P. 1–12.

129. Foyer C.H. *Ascorbic Acid // Antioxidant in Higher Plants*. – CRC Press, 2017. – P. 31–58.

130. Foyer C.H., Noctor G. Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses // *Plant Cell*. – 2005. – V. 17. – P. 1866–1875.

131. Foyer C.H., Shigeoka S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis // *Plant Physiol*. – 2011. – V. 155. – P. 93–100.

132. Gaspar M.L., Meo T., Bourgarel P., Guenet, J.L., Tosi M. A single base deletion in the Tfm androgen receptor gene creates a short-lived messenger RNA that directs internal translation initiation // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1991. – V. 88, № 19. – P. 8606–8610.

133. Gaspar T., Penel C., Castillo I., Greppin H. A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development // *Journal of Plant Physiology*. – 1985. – V. 64, № 4. – P. 895–934.

134. Gassmann W., Schroeder J. I. Inward-rectifying K⁺-channels in root

hairs of wheat (a mechanism of aluminium-sensitive low-affinity K⁺ uptake and membrane potential control // *Plant Physiol.* – 1994. – № 105. – P. 1399–1408.

135. Geilfus C.M. The pH of the apoplast: dynamic factor with functional impact under stress // *Molecular plant.* – 2017. – 10 (11). – P. 1371-1386.

136. Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiology and Biochemistry.* – 2010. – V. 48. – P. 909–930.

137. Gould K.S., Lister C. Flavonoid functions in plants // *Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications.* – 2006. – P. 397–441.

138. Guo H., Huang Z., Li M., Hou Z. Growth, ionic homeostasis, and physiological responses of cotton under different salt and alkali stresses // *Sci. Rep.* – 2020. – V. 10:21844 – doi.org/10.1038/s41598-020-79045-z.

139. Guo R, Shi L, Yan C, Zhong X, Gu F, Liu Q, Xia X, Li H. Ionomic and metabolic responses to neutral salt or alkaline salt stresses in maize (*Zea mays* L.) seedlings // *BMC Plant Biology.* – 2017. – V. 17, № 1. – P. 41–54.

140. Guo R, Yang Z., Li F., Yan C., Zhong X., Liu Q., Xia X., Li H. Zhao L. Comparative metabolic responses and adaptive strategies of wheat (*Triticum aestivum*) to salt and alkali stress // *BMC Plant Biol.* – 2015. – V. 15, № 1. – P. 1–13.

141. Guo R., Tian S.Y., Yan D.F., Gao Y., Yang Y.F., Shi L.X., Shao S., Liu R., Ding X.M., Hu Y. Effects of saline and alkaline stress on germination, seedling growth, and ion balance in wheat // *Agronomy Journal.* – 2010. – V. 102, № 4. – P. 1252–1260.

142. Guo R, Shib L.X., Dingd X.M., Hue Y., Tiana S. Y., Yana D.F., Shaob S., Gaoc Y., Liub R., Yang Y.F. Effects of saline and alkaline stress on germination, seedling growth, and ion balance in wheat // *Agronomy Journal.* – 2010. – V. 102, № 4. – P. 1252–1260.

143. Hagen S.F., Borge G.I.A., Bengtsson G.B., Bilger W., Berge A., Haffner K., Solhaug K.A. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest

UV-B irradiation // Postharvest Biology and Technology. – 2007. – V. 45, № 1. – P. 1–10.

144. Harborne J.B., Williams C.A. Advances in flavonoid research since 1992 // Phytochemistry. – 2000. – V. 55, №6. – P. 481–504.

145. Havaux M., Kloppstech K. The protective functions of carotenoid and flavonoid pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis npq* and *tt* mutants // Planta. – 2001. – V. 213, № 6. – P. 953–966.

146. Igamberdiev A.U., Eprintsev A.T. Organic acids: the pools of fixed carbon involved in redox regulation and energy balance in higher plants // Frontiers in Plant Science. – 2016. – V. 7. – P. 1042.

147. Islam M.S., Akhter M.M., El Sabagh A., Liu L.Y., Nguyen N.T., Ueda A., Saneoka H. Comparative studies on growth and physiological responses to saline and alkaline stresses of Foxtail millet (*Setaria italica* L.) and Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) // Australian Journal of Crop Science. – 2011. – V. 5, № 10. – P. 1269.

148. Ivanov Y., Savochkin Y., Kuznetsov V. Effect of mineral composition and medium pH on Scots pine tolerance to toxic effect of zinc ions. Russ // J. Plant Physiol. – 2013. – V. 60. – P. 260–269.

149. Jambunathan N. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants // Plant stress tolerance. – 2010. – P. 291–297.

150. Jansen M.A., Potters G. Stress: the way of life // Plant stress physiology. – 2017. – P. 254–279.

151. Silveira J.A., Sousa R.H. Looking for a systemic concept and physiological diagnosis of a plant stress state // Theoretical and Experimental Plant Physiology. – 2024. – P.1–11.

152. Khayatnezhad M., Gholamin R. The effect of drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat genotypes // Advancements in Life Sciences. – 2021. – V. 8, № 2. – P. 119–123.

153. Kishor P.B.K., Sangam S., Amrutha R.N., Laxmi P.S., Naidu K.R., Rao

K.S., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance // *Current science*. – 2005. – P. 424–438.

154. Kobayashi Y., Watanabe T., Shaff J.E., Ohta H., Kochian L.V., Wagatsuma T., Kinraide T.B., Koyama H. Molecular and physiological analysis of Al³⁺ and H⁺ rhizotoxicities at moderately acidic conditions // *Plant Physiology*. – 2013. – V. 163. – P.180–192.

155. Kondo N., Kawashima M. Enhancement of the tolerance to oxidative stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings by UV-B irradiation: possible involvement of phenolic compounds and antioxidative enzymes // *Journal of Plant Research*. – 2000. – V. 113, № 3. – P. 311–317.

156. Kopittke P.M., Menzies N.W., Wang P., Blamey F.P. Kinetics and nature of aluminium rhizotoxic effects: a review // *Journal of Experimental Botany*. – 2016. – V.67, № 15. – P. 4451–4467.

157. Krishnan N., Dickman M.B., Becker D.F. Proline Modulates the intracellular redox environment and protects mammalian cells against oxidative stress // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2008. – V. 44. – P. 671–681.

158. Kurkdjian A., Guern J. Intracellular pH: measurement and importance in cellactivity // *Annual review of plant biology*. – 1989. – V. 40, № 1. – P. 271–303.

159. Latef A.A.A., Tran L.S. Impacts of priming with silicon on the growth and tolerance of maize plants to alkaline stress // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – V. 7. – P. 243–256.

160. Lea U.S., Slimestad R., Smedvig P., Lillo C. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and bHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway // *Planta*. – 2007. – V. 225, № 5. – P. 1245–1253.

161. Liu J., Guo Q., Shi D.C. Seed germination, seedling survival, and physiological response of sunflowers under saline and alkaline conditions // *Photosynthetica*. – 2010. – V. 48, № 2. – P. 278–286.

162. Liu J., Shi D.-C. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixedstress // *Photosynthetica*. – 2010. – V. 48, № 1. – P. 127–134.
163. Lopez-Bucio J., Nieto-Jacobo M.F., Ramírez-Rodríguez V., Herrera-Estrella L. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils // *Plant Science*. – 2000. – V. 160. – P. 1–13.
164. Lv B.S., Li X.W., Ma H.Y., Sun Y., Wei L.X., Jiang C.J., Liang Z.W. Differences in Growth and Physiology of Rice in Response to Different Saline-Alkaline Stress Factors // *Agron. J.* – 2013. – V. 105. – P. 1119–1128.
165. Malho R., Moutinho A., van der Luit, A., Trewavas A.J. Spatial characteristics to calcium signaling; the calcium wave as a basic unit in plant cell calcium signaling // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. – 1998. – V. 353, № 1374. – P. 1463–1473.
166. Mano J., Biswas M., Sugimoto K. Reactive carbonyl species: a missing link in ROS signaling // *Plants*. – 2019. – V. 8, № 1. – P. 391.
167. Matysik J.A., Bhalu B., Mohanty P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants // *Current Science*. – 2002. – V. 82. – P. 525–532.
168. McLusky S.R., Bennett M.H., Beale M.H., Lewis M.J., Gaskin P., Mansfield J.W. Cell wall changes and localized accumulation of feruloyl-3'-methoxytyramine in the epidermis of onions at the sites of attempts to penetrate *Botrytis allii* are associated with actin polarization, peroxidase activity, and suppression of flavonoidbiosynthesis // *The Plant Journal*. – 1999. – V. 17, № 5. – P. 523–534.
169. Mehlhorn H., Lelandais M., Korth H.G., Foyer C.H. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases // *FEBS letters*. – 1996. – V. 378, № 3. – P. 203–206.
170. Merry R.H. Acidity and alkalinity of soils // *In Environmental and Ecological Chemistry*. – 2009. – V. 2. – P. 115–131.

171. Mittler R. Oxidative stress. Antioxidants and stress tolerance // Trends plant Science. – 2002. – V. 7, № 9. – P. 405–410.
172. Mittler R., Zilinskas B.A. Purification and characterization of pea cytosolic ascorbate peroxidase // Plant Physiology. – 1991. – V. 97(3). – P. 962-968.
173. Munne-Bosch S., Alegre L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants // Critical Reviews in Plant Sciences. – 2002. – V. 21, № 1. – P. 31– 57.
174. Munns R., James R.A., Xu B., Athman A., Conn S.J., Jordans C., Byrt C.S., Hare R.A., Tyerman S.D., Tester M., Plett D. Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene // Nature biotechnology. – 2012. – T. 30, № 4. – C. 360–364.
175. Noctor G., Lelarge-Trouverie C., Mhamdi A. The Metabolomics of oxidativestress // Phytochemistry. – 2015. – V. 112. – P. 33–53.
176. Olmos E., Hellin E. Mechanisms of salt tolerance in a cell line of *Pisum sativum*: biochemical and physiological aspects // Plant Science. – 1996. – V. 120. – P. 37–45.
177. Pierce S., Vianelli A., Cerabolini B. From ancient genes to modern communities: the cellular stress response and the evolution of plant strategies // Functional Ecology. – 2005. – V. 19. – P. 763–776.
178. Pitzschke A., Hirt H. Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species signaling in plants // Plant Physiology. – 2006. – V. 141. – P. 351–356.
179. Pang C.H., Wang B.S. Role of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in Ascorbate-Glutathione cycle and stress tolerance in plants // Ascorbate-Glutathione pathway and stress tolerance in plants. – 2010. – P. 91–112.
180. Popov V.N. Possible role of free oxidation processes in the regulation of reactive oxygen species production in plant mitochondria // Biochemical society transactions. – 2003. – V.31, № 6. – P. 1316–1317.
181. Radi A.A., Abdel-Wahab D.A., Hamada A.M. Evaluation of some bean lines tolerance to alkaline soil // Journal Biology Earth Science. – 2012. – V. 2. – P.

18–27.

182. Reid R.J., Smith F.A. // Handbook of plant growth pH as the master variable. – 2002. – 67 p.

183. Reid R.J., Smith F.A., Whittington J. Control of intracellular pH in *Chara corallina* during uptake of weak acid // Journal of experimental botany. – 1989. – V. 40, № 8. – P. 883–891.

184. Reid R.J., Smith F.A. The cytoplasmic pH stat // Handbook of plant growth: pH as the master variable in plant growth. – New York, 2002. – P. 49–57.

185. Rengasamy P. Transient salinity and subsoil constraints to dryland farming in Australian sodic soils: an overview // Australian Journal of Experimental Agriculture. – 2002. – T. 42, № 3. – C. 351–361.

186. Roohi A., Nazish B., Nabgha-e-Amen, Maleeha M., Waseem S. A critical review on halophytes: salt tolerant plants // Journal of Medicinal Plants Research. – 2011. – V. 5. – P. 7108–7118.

187. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica* // Plant Physiology. – 1976. – V. 57, № 2. – P. 308–309.

188. Sakano K. Revision of biochemical pH-stat: Involvement of alternative pathway metabolism // Plant Cell Physiol. – 1998. – V. 3. – P. 466–472.

189. Sagervanshi A., Geilfus C.M., Kaiser H., Mühling K.H. Alkali salt stress causes fast leaf apoplastic alkalization together with shifts in ion and metabolite composition and transcription of key genes during the early adaptive response of *Vicia faba* L. // Plant Science. – 2022. – P. 1–12.

190. Smirnoff N., Wheeler G.L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function // Critical reviews in plant sciences. – 2000. – V. 19, № 4. – P. 267–290.

191. Schwarzlander M., Finkemeier I. Mitochondrial energy and redox signaling in plants // Antioxidant Redox Signal. – 2013. – V. 18. – P. 2122–2144.

192. Shao H.B., Chu L.Y., Lu Zh.H., Kang C.M. Primary Antioxidant Free Radical Scavenging and Redox Signaling Pathways in Higher Plant Cells // International Journal of Biological Sciences. – 2008. – V. 4, № 1. – P. 8–14.

193. Shavrukov Y., Hirai Y. Good and bad protons: genetic aspects of

acidity stress responses in plants // *Journal of experimental botany*. – 2016. – V. 67, № 1. – P. 15–30.

194. Shen B.O., Jensen R.G., Bohnert H.J. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts // *Plant Physiology*. – 1997. – T. 113, № 4. – C. 1177–1183.

195. Shi D., Sheng Y. Effect of various salt–alkaline mixed stress conditions on sunflower seedlings and analysis of their stress factors // *Environment Experimental Botany*. – 2005. – V. 54. – P. 8–21.

196. Silveira J.A., Sousa R.H. Looking for a systemic concept and physiological diagnosis of a plant stress state // *Theoretical and Experimental Plant Physiology*. – 2024. – P.1–11.

197. Song H., Xu X., Wang H., Tao Y. Protein carbonylation in barley seedling roots caused by aluminum and proton toxicity is suppressed by salicylic acid // *Russ. J. Plant Physiol.* – 2011. – V. 58. – P. 653–659.

198. Stewart P.A. Modern quantitative acid-base chemistry // *Journal Physiology Pharmacology*. – 1983. – V. 61, № 12. – P. 1444–1461.

199. Su L.J., Zhang J.H., Gomez H., Murugan R., Hong X., Xu D., Peng Z.Y. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – V. 2019. – doi.org/10.1155/2019/5080843.

200. Souza G.M., Cardoso V.J.M. Toward a hierarchical concept of plant stress // *Israel Journal of Plant Sciences*. – 2003. – V. 51, № 1. – P. 29 – 37.

201. Sousa R., Carvalho F.E.L., Daloso D.M., Lima-Melo Y., Margis-Pinheiro M., Komatsu S., Silveira J.A.G. Impairment in photosynthesis induced by CAT inhibition depends on the intensity of photorespiration and peroxisomal APX expression in rice // *Plant Physiol Biochem*. – 2023. DOI: 10.2139/ssrn.4340734.

202. Takahama U. Oxidation of vacuolar and apoplastic phenolic substrates by peroxidase: physiological significance of oxidation reactions // *Phytochemical reviews*. – 2004. – V. 3, № 1. – P. 207–219.

203. Tognolli M., Penel C., Greppin H., Simon P. Analysis and expression

of a large family of class III peroxidase genes in *Arabidopsis thaliana* // *Gene*. – 2002. – V. 288, № 1–2. – P. 129–138.

204. Tomar P. Estimation of some biochemical parameters in *Lycopersicon lycopersicum* (L.) cv. damyanti in response to acid rain // *Voyager*. – 2018. – V. 9. – P. 34–41.

205. Treutter D. Significance of flavonoids in plant resistance: a review // *Environmental Chemistry Letters*. – 2006. – V. 4, № 3. – P. 147–157.

206. Tyutereva E.V., Evkaikina A.I., Ivanova A.N., Voitsekhovskaja O.V. The absence of chlorophyll b affects lateral mobility of photosynthetic complexes and lipids in grana membranes of *Arabidopsis* and barley chlorina mutants // *Photosynthesis Researchers*. – 2017. – V. 113. – P. 357–370.

207. Van Dongen J.T., Gupta K.J., Ramirez-Aguilar S.J., Nunes-Nesi A., Fernie A.R. Regulation of respiration in plants: a role for alternative metabolic pathways // *Journal Plant Physiol*. – 2011. – V. 168. – P. 1434–1443.

208. Vanlerberghe G.C., McIntosh L. Alternative oxidase: from gene to function // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. – 1997. – V. 48. – P. 703–734.

209. Ververidis F., Trantas E., Douglas C., Vollmer G., Kretzschmar G., Panopoulos N. Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health // *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*. – 2007. – V. 2, № 10. – P. 1214–1234.

210. Volkenburgh E.V., Boyer J.S. Inhibitory effects of water deficit on maize Leaf elongation // *Plant Physiol*. – 1985. – V. 77. – P. 190–194.

211. Wang L., Pan T., Gao X., An J., Ning C., Li S., Cai K. Silica nanoparticles activate defense responses by reducing reactive oxygen species under *Ralstonia solanacearum* infection in tomato plants // *Nanoimpact*. – 2022. – V. 28. – P. 1–11.

212. Wang X., Geng S., Ri Y.-J., Cao D., Liu J., Shi D., Yang C. Physiological responses and adaptive strategies of tomato plants to salt and alkali

stresses // *Sci. Hortic.* – 2011. – V. 130 (1). – P. 248–255.

213. Wang L., Zhou Q., Wang Q., Huang X. Combined effect of soil acidification and lead ion on antioxidant system in soybean roots // *Journal of Chemical Ecology.* – 2014. – V. 31. – P. 123–133.

214. Wegner L.H., Zimmermann U. Bicarbonate-induced alkalization of the xylem sap in intact maize seedlings as measured in situ with a novel xylem pH probe // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 136. – P. 3469–3477.

215. Wilkinson S. pH as a stress signal // *Plant growth regulation.* – 1999. – V. 29. – P. 87–99.

216. Wu J., Wang J., Hui W., Zhao F., Wang P., Su C., Gong W. Physiology of plant responses to water stress and related genes: A review // *Forests.* – 2022. – V. 13. – doi: 10.3390/f13020324.

217. Yalcinkaya T., Uzilday B., Ozgur R., Turkan I., Mano J.I. Lipid peroxidation-derived reactive carbonyl species (RCS): Their interaction with ROS and cellular redox during environmental stresses // *Environmental and Experimental Botany.* – 2019. – V. 165. – P. 139–149.

218. Yan H., Zhao W., Sheng Y., Shi D., Zhou D. Effects of alkali-stress on *Aneurolepidium chinense* and *Helianthus annuus* // *The journal of applied ecology.* – 2005. – V. 16(8). – P. 1497–1501.

219. Yang C.W., Wang P., Li C.Y., Shi D.C., Wang D.L. Comparison of effects of salt and alkali stresses on the growth and photosynthesis of wheat // *Photosynthetica.* – 2008. – V. 46. – P. 107–114.

220. Yang C.W., Shi D.C., Wang D.L. Comparative effects of salt and alkali stresses on growth, osmotic adjustment and ionic balance of an alkali-resistant halophyte *Suaeda glauca* (Bge.) // *Plant Growth Regul.* – 2008. – V. 56. – P. 179–190.

221. Yang X., Lu M., Wang Y., Wang Y., Liu Z., Chen S. Response mechanism of plants to drought stress // *Horticultrae.* – 2021. – V. 7. – P. 1–36.

222. Zhang K.X., Wen T., Dong J., Ma F.W., Bai T.H., Wang K., LI C.Y. Comprehensive evaluation of tolerance to alkali stress by 17 genotypes of apple

rootstocks // J. Integr. Agric. – 2016. – V. 15. – P. 1499–1509.

223. Zelinovf V., Mistrik I., Paove-Balang P., Tamas L. Peroxidase activity against guaiacol, NADH, chlorogenic acid, ferulic acid and coniferyl alcohol in root tips of *Lotus japonicus* L. and *corniculatus* grown under low pH and aluminium stress // Biologia. – 2010. – V. 65. – P. 279–283.

224. Zhang H., Liu X.L., Zhang R.X., Yuan H.Y., Wang M.M., Yang H.Y., Ma H.Y., Liu D., Jiang C.J., Liang Z.W. Root damage under alkaline stress is associated with reactive oxygen species accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) // Frontiers in plant science. – 2017. – V. 8. – P. 1580.

225. Zhu J.K. Plant salt tolerance // Trends Plant Science. – 2001. – V. 6. – P. 66–71.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Длина надземной части пшеницы при изменении pH корневой среды, см

Время измерения (ч)	Повторность	Среднее	Ошибка	Критерий Стьюдента	Значимость (P)	Критерий Колмогорова	Значимость	Омега-квадрат	Значимость
pH 7									
24	30	13,4	0,14	-	-	0,158	0,081	0,124	0,056
48	30	16,4	0,12	-	-	0,127	0,326	0,078	0,214
pH 3									
24	30	13,0*	0,15	2,490	0,015	0,122	0,403	0,076	0,232
48	30	15,7*	0,15	4,300	0,001	0,106	0,158	0,046	0,217
pH 10									
24	30	13,0*	0,14	3,410	0,002	0,127	0,328	0,070	0,282
48	30	16,1	0,15	1,930	0,055	0,160	0,069	0,105	0,092

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента; соответствие нормальному распределению рассчитано с помощью критериев Колмогорова и Омега-квадрат при $P < 0,05$

Приложение 2

Сырая масса надземной части пшеницы при изменении рН корневой среды, мг

Время измерения (ч)	Повторность	Среднее	Ошибка	Критерий Стьюдента	Значимость (P)	Критерий Колмогорова	Значимость	Омега-квадрат	Значимость
рН 7									
24	30	57,9	0,20	-	-	0,157	0,080	0,121	0,055
48	30	60,8	1,70	-	-	0,149	0,121	0,070	0,270
рН 3									
24	30	55,0*	1,60	1,950	0,0255	0,098	0,354	0,037	0,414
48	30	60,1	2,10	0,284	0,774	0,101	0,178	0,042	0,118
рН 10									
24	30	57,2	1,60	0,304	0,760	0,100	0,210	0,061	0,374
48	30	62,9	1,90	1,62	0,106	0,099	0,388	0,041	0,448

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента; соответствие нормальному распределению рассчитано с помощью критериев Колмогорова и Омега-квадрат при $P < 0,05$

Длина надземной части ржи при изменении рН корневой среды, см

Время измерения, ч	Повторность	Среднее	Ошибка	Критерий Стьюдента	Значимость (P)	Критерий Колмогорова	Значимость	Омега-квадрат	Значимость
рН 7									
24	30	12,9	0,18	-	-	0,138	0,201	0,071	0,266
48	30	14,0	0,15	-	-	0,099	0,646	0,033	0,706
рН 3									
24	30	12,8	0,13	0,492	0,631	0,130	0,293	0,051	0,359
48	30	12,4*	0,12	8,440	0,000	0,110	0,631	0,045	0,691
рН 10									
24	30	12,2*	0,17	4,270	0,000	0,127	0,328	0,075	0,238
48	30	12,9*	0,12	5,680	0,000	0,118	0,473	0,060	0,384

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента; соответствие нормальному распределению рассчитано с помощью критериев Колмогорова и Омега-квадрат при $P < 0,05$

Сырая масса надземной части ржи при изменении рН корневой среды, мг

Время измерения, ч	Повторность	Среднее	Ошибка	Критерий Стьюдента	Значимость (P)	Критерий Колмогорова	Значимость	Омега-квадрат	Значимость
рН 7									
24	30	53,2	2,5	-	-	0,135	0,059	0,131	0,065
48	30	59,4	2,1	-	-	0,157	0,081	0,119	0,059
рН 3									
24	30	58,2	1,9	1,62	0,106	0,129	0,170	0,100	0,108
48	30	50,8*	1,3	3,51	0,001	0,122	0,401	0,056	0,427
рН 10									
24	30	48,0	2,0	1,62	0,106	0,133	0,067	0,128*	0,063
48	30	49,6*	1,6	3,73	0,001	0,134	0,244	0,053	0,481

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента; соответствие нормальному распределению рассчитано с помощью критериев Колмогорова и Омега-квадрат при $P < 0,05$

Приложение 5

Длина надземной части гороха при изменении рН корневой среды, см

Вариант	Повторность	Среднее	Ошибка	Критерий Стьюдента	Значимость (P)	Критерий Колмогорова	Значи- мость	Омега- квадрат	Значи- мость
рН 7	30	14,0	0,17	-	-	0,146	0,088	0,125	0,057
рН 3	30	12,1*	0,21	7,12	0,000	0,118	0,463	0,585	0,399
рН 10	30	13,9	0,25	0,18	0,854	0,144	0,085	0,122	0,055

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента; соответствие нормальному распределению рассчитано с помощью критериев Колмогорова и Омега-квадрат при $P < 0,05$

Приложение 6

Сырая масса надземной части гороха при изменении рН корневой среды, мг

Вариант	Повторность	Среднее	Ошибка	Критерий Стьюдента	Значимость (P)	Критерий Колмогорова	Значи- мость	Омега- квадрат	Значи- мость
рН 7	30	543,0	10,1	-	-	0,106	0,457	0,049	0,517
рН 3	30	471,0*	19,3	2,66	0,010	0,105	0,060	0,039	0,120
рН 10	30	508,0	21,4	1,30	0,197	0,123	0,380	0,046	0,316

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Стьюдента; соответствие нормальному распределению рассчитано с помощью критериев Колмогорова и Омега-квадрат при $P < 0,05$

Динамика содержания воды в листьях пшеницы при изменении рН корневой
среды, %

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	87,00	86,89	87,12	-	-
0,5	3	87,03	86,79	88,34	-	-
1	3	87,10	86,63	87,27	-	-
2	3	87,42	87,23	87,72	-	-
3	3	87,16	86,20	87,40	-	-
4	3	88,31	87,03	88,99	-	-
24	3	87,74	86,54	88,24	-	-
48	3	88,39	88,01	88,91	-	-
рН 3						
0	3	87,00	86,88	87,12	-	-
0,5	3	87,75	87,34	88,25	1,32	0,251
1	3	86,94	86,45	87,16	0,53	0,465
2	3	87,05	86,76	87,53	2,45	0,117
3	3	87,13	86,75	87,25	0,01	0,917
4	3	87,13	86,66	87,57	2,46	0,117
24	3	87,64	87,04	87,72	0,88	0,347
48	3	87,59*	86,94	87,86	5,77	0,016
рН 10						
0	3	87,00	86,88	87,12	-	-
0,5	3	87,83	87,30	88,32	1,32	0,251
1	3	87,12	85,90	87,56	0,01	0,917
2	3	87,13	86,63	87,35	3,98	0,057
3	3	86,65	86,29	86,84	0,53	0,465
4	3	87,06	86,57	87,22	2,45	0,117
24	3	87,18	86,16	87,57	1,32	0,251
48	3	85,91*	85,30	86,75	6,18	0,009

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания воды в надземных органах ржи при изменении рН
корневой среды, %

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	88,20	88,00	88,35	-	-
0,5	3	88,31	87,56	88,64	-	-
1	3	88,26	87,82	89,28	-	-
2	3	88,69	88,64	89,06	-	-
3	3	87,80	87,34	88,23	-	-
4	3	88,50	87,42	89,20	-	-
24	3	89,59	89,08	90,47	-	-
48	3	89,60	89,50	90,03		
рН 3						
0	3	88,20	88,00	88,35	-	-
0,5	3	88,15	87,93	88,78	0,27	0,602
1	3	88,17	87,89	88,78	0,09	0,754
2	3	87,88*	87,35	88,13	6,82	0,009
3	3	87,40	87,17	87,78	1,31	0,251
4	3	88,08	87,19	88,43	0,88	0,347
24	3	87,58*	87,49	88,17	6,82	0,009
48	3	88,19*	87,85	88,58	8,82	0,009
рН 10						
0	3	88,20	88,00	88,35	-	-
0,5	3	88,37	88,03	88,48	0,09	0,754
1	3	88,34	86,44	89,97	0,01	0,917
2	3	87,56	86,30	88,55	3,15	0,076
3	3	87,39	87,15	88,27	0,09	0,754
4	3	87,76	86,85	88,15	1,84	0,174
24	3	88,07*	87,28	89,14	4,81	0,003
48	3	87,02*	86,44	87,30	6,82	0,009

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания воды в листьях гороха при изменении pH корневой среды, %

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
pH 7						
0	3	85,81	85,67	85,90	-	-
0,5	3	86,81	86,18	87,14	-	-
1	3	87,19	86,38	87,40	-	-
2	3	85,96	85,89	87,07	-	-
3	3	85,95	85,39	87,82	-	-
4	3	87,43	86,91	88,43	-	-
24	3	87,32	86,32	87,88	-	-
48	3	86,73	85,59	87,42		
pH 3						
0	3	85,81	85,77	85,92	-	-
0,5	3	87,44	87,59	87,81	1,84	0,175
1	3	87,28	86,78	87,36	5,77	0,017
2	3	86,04	85,04	87,72	0,01	0,917
3	3	87,84	87,00	88,32	2,46	0,117
4	3	87,19	86,95	87,46	0,53	0,465
24	3	85,86*	85,57	86,14	5,77	0,016
48	3	85,79*	84,68	86,16	3,98	0,047
pH 10						
0	3	85,81	85,67	85,90	-	-
0,5	3	86,40	84,91	86,48	1,84	0,175
1	3	86,96*	84,13	86,38	3,98	0,047
2	3	86,14	85,43	87,39	0,91	0,917
3	3	87,92	86,82	89,22	2,46	0,117
4	3	87,07	86,18	87,29	1,84	0,175
24	3	87,39	86,77	87,50	0,53	0,465
48	3	86,96	86,34	87,39	0,09	0,754

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания пероксида водорода в листьях пшеницы при
изменении рН корневой среды, мМ/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	1,70	1,70	1,90	-	-
0,5	3	1,75	1,50	2,00	-	-
1	3	2,00	1,25	2,00	-	-
2	3	2,00	1,75	2,00	-	-
3	3	2,00	1,75	2,25	-	-
4	3	2,00	2,00	2,25	-	-
24	3	2,25	1,75	2,25	-	-
рН 3						
0	3	1,70	1,70	1,90	-	-
0,5	3	4,09*	3,41	4,32	3,97	0,046
1	3	2,95*	2,73	3,41	4,09	0,046
2	3	1,25*	1,25	1,25	4,09	0,043
3	3	0,063*	0,068	0,063	3,97	0,049
4	3	0,055*	0,055	0,063	3,97	0,043
24	3	1,25*	1,25	1,38	4,09	0,043
рН 10						
0	3	1,70	1,70	1,90	-	-
0,5	3	3,18*	3,18	3,41	2,32	0,046
1	3	0,57*	0,57	0,68	3,97	0,043
2	3	3,64*	3,41	3,64	4,09	0,043
3	3	3,86*	3,86	4,09	3,97	0,046
4	3	4,42*	4,32	4,77	3,97	0,046
24	3	2,27	2,27	2,50	2,72	0,099

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания пероксида водорода в листьях ржи при изменении рН
корневой среды, мМ/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	3,64	3,62	3,65	-	-
0,5	3	3,64	3,41	3,86	-	-
1	3	3,41	3,41	3,86	-	-
2	3	3,00	2,50	3,00	-	-
3	3	3,00	3,00	3,75	-	-
4	3	3,00	3,00	3,00	-	-
24	3	3,86	3,41	3,86	-	-
рН 3						
0	3	3,64	3,62	3,65	-	-
0,5	3	3,75	3,25	3,75	0,05	0,825
1	3	3,00	2,75	3,75	1,23	0,268
2	3	2,75	2,50	2,75	0,83	0,361
3	3	4,09*	3,86	4,09	4,09	0,043
4	3	3,00	3,00	3,25	0,07	0,796
24	3	1,88*	1,75	1,85	4,09	0,043
рН 10						
0	3	3,64	3,62	3,65	-	-
0,5	3	4,09*	4,09	4,21	3,97	0,046
1	3	3,86	3,86	4,20	2,72	0,099
2	3	2,50	2,50	3,00	0,56	0,456
3	3	2,75	2,50	3,00	2,63	0,105
4	3	2,50	2,50	3,00	2,72	0,099
24	3	5,68*	4,55	5,68	4,09	0,043

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания пероксида водорода в листьях гороха при
изменении рН корневой среды, мМ/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	3,40	3,39	3,40	-	-
0,5	3	3,41	3,18	3,86	-	-
1	3	2,50	2,50	2,75	-	-
2	3	3,00	2,75	3,25	-	-
3	3	3,75	3,50	3,75	-	-
4	3	2,50	2,50	3,00	-	-
24	3	3,00	3,00	3,25	-	-
рН 3						
0	3	3,40	3,39	3,40	-	-
0,5	3	4,09*	4,09	4,32	3,97	0,044
1	3	3,41*	3,18	3,41	3,97	0,046
2	3	3,41	3,18	3,41	2,40	0,121
3	3	2,50*	2,50	2,75	4,09	0,043
4	3	3,75*	3,75	4,00	4,09	0,043
24	3	2,13*	2,00	2,25	3,97	0,046
рН 10						
0	3	3,40	3,39	3,40	-	-
0,5	3	3,86	3,64	4,09	1,76	0,184
1	3	3,00	3,00	3,25	2,63	0,105
2	3	3,50*	3,50	3,75	3,97	0,046
3	3	4,00*	4,00	4,13	4,09	0,043
4	3	3,64*	3,41	4,09	3,97	0,046
24	3	4,55*	4,43	4,77	3,97	0,046

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика пероксидазной активности в листьях пшеницы при изменении рН
корневой среды, условные единицы/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	34,70	32,81	34,78	-	-
0,5	3	36,76	35,71	37,31	-	-
1	3	39,68	38,46	39,68	-	-
2	3	47,17	47,17	48,08	-	-
3	3	43,86	41,67	45,45	-	-
4	3	44,71	35,71	43,10	-	-
24	3	45,47	41,67	48,08	-	-
рН 3						
0	3	34,70	32,81	34,78	-	-
0,5	3	50,00*	47,17	50,00	3,97	0,046
1	3	50,00*	43,86	53,19	3,97	0,046
2	3	60,84*	59,71	61,67	3,97	0,046
3	3	58,14*	50,00	62,50	3,97	0,046
4	3	62,50*	58,14	62,50	4,09	0,043
24	3	50,00	50,00	52,08	2,97	0,046
рН 10						
0	3	34,70	32,81	34,78	-	-
0,5	3	49,02*	48,08	49,02	3,86	0,049
1	3	50,00*	50,00	51,02	3,86	0,049
2	3	60,98*	59,52	62,50	3,97	0,046
3	3	50,29	48,10	50,51	2,63	0,105
4	3	80,65*	78,13	83,33	6,16	0,045
24	3	51,02*	50,00	52,08	3,97	0,046

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика пероксидазной активности в листьях ржи при изменении pH
корневой среды, условные единицы/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
pH 7						
0	3	14,81	13,98	14,95	-	-
0,5	3	14,79	13,66	14,88	-	-
1	3	16,03	14,62	16,34	-	-
2	3	14,88	14,88	16,13	-	-
3	3	15,15	14,88	15,34	-	-
4	3	15,34	14,62	15,63	-	-
24	3	16,34	16,34	16,67	-	-
pH 3						
0	3	14,81	13,98	14,95	-	-
0,5	3	28,41*	27,78	29,76	3,86	0,049
1	3	28,74*	27,78	32,05	3,86	0,049
2	3	28,74*	28,09	30,12	3,97	0,046
3	3	24,27*	23,15	25,00	3,86	0,049
4	3	34,25*	34,25	36,76	6,16	0,045
24	3	40,98*	37,31	41,67	3,97	0,046
pH 10						
0	3	14,81	13,98	14,95	-	-
0,5	3	13,02	12,95	13,89	2,33	0,127
1	3	19,23*	17,48	19,23	3,97	0,046
2	3	23,36*	21,37	24,27	3,97	0,046
3	3	26,04*	25,00	29,07	3,86	0,049
4	3	36,76*	34,72	36,76	3,97	0,046
24	3	40,98*	37,31	40,98	4,09	0,043

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика пероксидазной активности в листьях гороха при изменении рН
корневой среды, условные единицы/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	77,80	76,80	78,50	-	-
0,5	3	83,33	70,09	83,33	-	-
1	3	83,33	83,33	83,33	-	-
2	3	83,33	83,33	85,23	-	-
3	3	83,33	83,33	83,33	-	-
4	3	79,75	79,05	79,73	-	-
24	3	78,65	73,55	84,15	-	-
рН 3						
0	3	77,80	76,80	78,50	-	-
0,5	3	83,33	83,10	83,50	1,67	0,197
1	3	90,36*	90,36	92,59	4,09	0,043
2	3	83,33	83,10	83,50	0,67	0,796
3	3	61,98*	60,48	62,50	3,97	0,046
4	3	54,74*	53,19	55,56	3,86	0,049
24	3	87,21*	83,33	89,29	3,86	0,049
рН 10						
0	3	77,80	76,80	78,50	-	-
0,5	3	83,30	83,10	83,50	1,67	0,197
1	3	91,46*	91,46	92,59	4,09	0,043
2	3	83,33	83,33	86,21	0,67	0,796
3	3	83,33	83,10	83,50	0,00	1,000
4	3	102,74*	100,00	105,63	3,86	0,049
24	3	97,40*	97,40	100,00	3,97	0,046

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика каталазной активности в листьях пшеницы при изменении рН
корневой среды, мл O₂*мин*г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	4,27	4,20	5,30	-	-
0,5	3	4,25	4,25	6,5	-	-
1	3	5,95	4,68	11,18	-	-
2	3	2,13	0,85	6,4	-	-
3	3	8,50	4,25	9,75	-	-
4	3	4,25	2,98	5,53	-	-
24	3	18,48	18,38	18,48	-	-
рН 3						
0	3	4,27	4,20	5,30	-	-
0,5	3	16,15*	10,84	17,43	4,35	0,037
1	3	17,00*	15,09	19,76	3,86	0,049
2	3	12,75*	10,20	14,88	3,86	0,049
3	3	15,30*	12,96	19,55	3,86	0,049
4	3	11,90*	10,63	12,75	3,86	0,049
24	3	14,03*	12,96	17,64	3,86	0,049
рН 10						
0	3	4,27	4,20	5,30	-	-
0,5	3	36,55*	34,85	37,19	4,35	0,037
1	3	19,55*	15,73	21,25	3,86	0,049
2	3	4,25	1,70	8,50	0,43	0,513
3	3	14,88	10,84	20,61	2,33	0,127
4	3	3,83	3,61	6,38	0,20	0,658
24	3	13,18*	8,29	23,18	1,33	0,037

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика каталазной активности в листьях ржи при изменении pH
корневой среды, мл O₂*мин*г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
pH 7						
0	3	1,80	1,70	2,10	-	-
0,5	3	2,55	0,85	2,55	-	-
1	3	3,83	0,85	7,65	-	-
2	3	2,98	2,13	8,93	-	-
3	3	3,83	3,40	5,53	-	-
4	3	4,25	3,40	8,50	-	-
24	3	2,70	1,70	5,10	-	-
pH 3						
0	3	1,80	1,70	2,10	-	-
0,5	3	2,98	0,64	3,83	1,23	0,286
1	3	2,13	1,28	3,61	0,44	0,507
2	3	3,84	2,76	7,01	0,48	0,827
3	3	4,68	2,98	5,74	0,44	0,507
4	3	6,38	4,89	8,71	0,43	0,513
24	3	6,38	3,40	7,86	2,33	0,127
pH 10						
0	3	1,80	1,70	2,10	-	-
0,5	3	5,53*	3,40	8,29	3,97	0,046
1	3	18,28*	16,16	21,04	3,86	0,049
2	3	8,08	4,04	10,63	2,33	0,127
3	3	21,68*	9,99	24,23	3,86	0,049
4	3	2,55	1,28	7,86	0,20	0,658
24	3	1,70	0,85	1,70	2,63	0,105

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика каталазной активности в листьях гороха при изменении рН
корневой среды, мл O₂*мин*г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	2,04	2,02	2,10	-	-
0,5	3	4,17	4,07	4,27	-	-
1	3	2,13	2,00	2,27	-	-
2	3	1,87	1,58	1,89	-	-
3	3	1,87	1,07	1,91	-	-
4	3	4,00	4,78	4,20	-	-
24	3	1,62	1,60	1,65	-	-
рН 3						
0	3	2,04	2,02	2,10	-	-
0,5	3	5,19	4,63	6,17	1,44	0,230
1	3	1,28	0,61	1,48	2,63	0,105
2	3	5,28*	5,00	5,68	5,77	0,016
3	3	2,97	2,30	2,99	0,56	0,454
4	3	3,74	3,73	3,81	0,18	0,674
24	3	1,19	1,10	1,25	3,72	0,053
рН 10						
0	3	2,04	2,02	2,10	-	-
0,5	3	3,83	3,67	3,99	0,4	0,527
1	3	2,64	2,53	2,78	0,92	0,338
2	3	4,00*	3,87	4,05	5,81	0,016
3	3	2,63	2,33	2,67	1,13	0,289
4	3	5,95	5,67	6,94	1,89	0,169
24	3	34,50*	34,1	43,91	7,26	0,001

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы при изменении рН корневой среды, мкг/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	26,0	25,11	26,58	-	-
0,5	3	28,05	24,75	29,21	-	-
1	3	33,00	32,84	33,17	-	-
2	3	36,30	34,98	36,47	-	-
3	3	40,26	39,60	42,08	-	-
4	3	34,65	33,49	35,31	-	-
24	3	28,05	26,99	28,71	-	-
рН 3						
0	3	26,00	25,11	26,58	0,52	0,470
0,5	3	103,29*	101,48	105,11	8,34	0,004
1	3	103,29*	101,47	104,61	8,61	0,003
2	3	107,25*	106,10	107,91	8,48	0,004
3	3	113,19*	112,20	113,69	8,40	0,0009
4	3	58,08*	56,10	59,40	8,67	0,003
24	3	81,84*	79,20	83,33	8,37	0,004
рН 10						
0	3	26,0	25,11	26,58	0,52	0,470
0,5	3	63,36*	61,88	64,68	8,40	0,004
1	3	56,43*	55,44	56,76	8,77	0,003
2	3	56,76*	56,76	58,00	8,77	0,003
3	3	52,80*	52,64	54,12	8,49	0,004
4	3	83,49*	81,68	84,81	8,61	0,003
24	3	80,19*	79,20	83,33	8,37	0,004

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях
ржи при изменении рН корневой среды, мкг/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	95,00	94,71	95,33	-	-
0,5	3	95,14	94,76	96,03	-	-
1	3	104,01	102,30	109,12	-	-
2	3	104,01	102,30	107,07	-	-
3	3	109,46	109,12	110,65	-	-
4	3	105,71	102,30	106,73	-	-
24	3	115,94	115,09	116,79	-	-
рН 3						
0	3	95,00	94,71	95,33	0,65	0,420
0,5	3	82,83*	79,20	85,97	8,40	0,004
1	3	103,29	101,48	104,61	0,43	0,511
2	3	115,17*	113,69	115,67	8,46	0,004
3	3	101,64*	99,99	102,30	8,55	0,003
4	3	117,15*	101,97	118,97	8,32	0,004
24	3	104,61*	101,48	109,23	8,34	0,004
рН 10						
0	3	95,00	94,71	95,33	0,65	0,420
0,5	3	123,75*	121,28	124,91	8,34	0,004
1	3	128,04*	126,39	129,53	8,46	0,004
2	3	130,02*	129,36	130,85	8,46	0,004
3	3	102,30*	100,98	103,29	8,21	0,004
4	3	108,24*	106,59	109,23	8,40	0,004
24	3	121,44*	119,79	122,65	8,37	0,004

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях
гороха при изменении рН корневой среды, мкг/г сырой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	52,00	51,65	52,61	-	-
0,5	3	53,46	52,80	54,29	-	-
1	3	59,40	58,74	60,89	-	-
2	3	47,85	46,20	49,50	-	-
3	3	50,49	48,68	50,99	-	-
4	3	54,45	53,30	54,78	-	-
24	3	54,45	53,30	55,61	-	-
рН 3						
0	3	52,00	51,65	52,61	0,100	0,750
0,5	3	90,42*	86,30	93,56	0,100	0,004
1	3	66,70*	65,05	68,02	8,58	0,003
2	3	88,11*	86,95	89,27	8,37	0,004
3	3	60,06*	49,67	62,70	8,34	0,004
4	3	33,00*	29,37	42,74	3,86	0,049
24	3	28,71*	26,90	30,53	8,37	0,004
рН 10						
0	3	52,00	51,65	52,61	0,100	0,750
0,5	3	107,25*	100,49	109,73	8,46	0,004
1	3	102,96*	102,30	103,79	8,40	0,004
2	3	98,01*	97,12	99,00	8,34	0,004
3	3	79,53*	79,20	85,80	8,34	0,004
4	3	56,75	52,64	58,91	2,59	0,107
24	3	64,35*	59,24	74,25	8,34	0,004

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания пролина в листьях пшеницы при изменении рН
корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	11,05	11,00	11,15	-	-
0,5	3	11,00	10,75	11,00	-	-
1	3	11,00	10,70	13,25	-	-
2	3	12,00	11,00	13,25	-	-
3	3	13,50	11,75	14,25	-	-
4	3	13,00	13,00	14,00	-	-
24	3	13,00	12,00	13,00	-	-
рН 3						
0	3	11,50	11,43	11,78	-	-
0,5	3	19,50*	18,00	20,00	3,97	0,046
1	3	15,00*	15,00	16,00	3,97	0,046
2	3	20,00*	19,50	20,00	3,97	0,046
3	3	21,00*	19,75	21,00	3,97	0,046
4	3	15,00*	15,00	15,25	4,09	0,043
24	3	19,50*	18,75	20,00	3,97	0,046
рН 10						
0	3	11,32	10,65	11,44	-	-
0,5	3	12,50	11,00	13,25	2,72	0,099
1	3	8,00*	7,30	8,40	3,97	0,046
2	3	8,70*	7,70	9,25	3,86	0,049
3	3	14,00	12,75	14,25	0,20	0,653
4	3	7,30*	7,30	9,25	4,09	0,043
24	3	7,50*	7,30	7,70	4,09	0,043

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания пролина в листьях ржи при изменении рН корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	5,51	5,43	5,67	-	-
0,5	3	5,00	4,00	5,03	-	-
1	3	4,95	4,38	5,25	-	-
2	3	5,35	4,90	5,60	-	-
3	3	4,50	3,80	5,03	-	-
4	3	7,40	7,10	7,87	-	-
24	3	7,80	7,73	8,10	-	-
рН 3						
0	3	5,51	5,43	5,67	-	-
0,5	3	15,00*	14,75	16,25	3,86	0,049
1	3	22,00*	22,00	23,00	3,97	0,046
2	3	16,00*	15,00	16,25	3,97	0,046
3	3	13,00*	11,75	13,00	3,86	0,049
4	3	22,00*	21,00	22,00	4,09	0,043
24	3	19,00*	19,00	21,00	4,09	0,043
рН 10						
0	3	5,51	5,43	5,67	-	-
0,5	3	14,50*	13,75	15,00	3,86	0,049
1	3	18,00*	17,50	19,00	3,86	0,049
2	3	12,00*	11,00	13,00	3,97	0,046
3	3	10,50*	9,95	11,00	3,86	0,049
4	3	15,00*	14,00	16,50	3,97	0,046
24	3	15,00*	14,00	15,00	4,09	0,043

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания пролина в листьях гороха при изменении pH
корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
pH 7						
0	3	29,20	29,11	29,87	-	-
0,5	3	30,00	20,00	30,00	-	-
1	3	24,33	22,60	25,06	-	-
2	3	24,70	23,21	28,17	-	-
3	3	25,43	24,24	25,98	-	-
4	3	25,79	23,78	26,89	-	-
24	3	27,03	25,88	27,71	-	-
pH 3						
0	3	28,50	28,75	29,00	-	-
0,5	3	23,78	21,04	25,98	0,44	0,507
1	3	22,32	22,23	23,60	0,78	0,376
2	3	17,93*	15,00	18,11	3,86	0,049
3	3	20,49*	19,94	21,49	3,86	0,049
4	3	15,19*	14,56	15,73	3,97	0,046
24	3	20,30*	18,93	21,95	3,86	0,049
pH 10						
0	3	28,50	28,75	29,00	-	-
0,5	3	26,16	25,52	28,26	0,44	0,507
1	3	21,61	21,97	27,16	3,23	0,072
2	3	15,73*	14,36	17,74	3,86	0,049
3	3	14,82*	14,54	15,36	3,86	0,049
4	3	13,35*	12,71	14,36	3,86	0,049
24	3	20,12*	18,29	21,40	3,86	0,049

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания флавоноидов в листьях пшеницы при изменении pH
корневой среды, % сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
pH 7						
0	3	0,80	0,78	0,84	-	-
0,5	3	0,78	0,77	0,79	-	-
1	3	0,99	0,98	1,06	-	-
2	3	1,01	0,99	1,08	-	-
3	3	0,90	0,89	0,90	-	-
4	3	0,79	0,78	0,85	-	-
24	3	0,89	0,88	0,90	-	-
pH 3						
0	3	0,81	0,80	0,84	-	-
0,5	3	0,90*	0,89	0,90	3,86	0,049
1	3	1,22*	1,22	1,23	3,97	0,046
2	3	1,12*	1,11	1,14	3,86	0,049
3	3	0,95*	0,94	0,96	3,97	0,046
4	3	1,03*	0,89	1,04	3,97	0,046
24	3	0,90	0,89	0,90	0,89	0,346
pH 10						
0	3	0,85	0,83	0,87	-	-
0,5	3	1,01*	1,00	1,02	3,86	0,049
1	3	1,24*	1,20	1,34	3,86	0,049
2	3	1,30*	1,29	1,38	3,97	0,046
3	3	1,11*	1,10	1,12	3,97	0,046
4	3	1,45*	1,44	1,46	3,97	0,046
24	3	1,04*	1,03	1,05	3,86	0,049

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания флавоноидов в листьях ржи при изменении рН
корневой среды, % сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	0,80	0,78	0,83	-	-
0,5	3	0,74	0,74	0,75	-	-
1	3	0,92	0,84	0,98	-	-
2	3	1,02	0,98	1,07	-	-
3	3	0,95	0,94	0,96	-	-
4	3	1,06	1,05	1,14	-	-
24	3	1,08	1,07	1,09	-	-
рН 3						
0	3	0,83	0,80	0,85	-	-
0,5	3	1,14*	1,13	1,15	3,97	0,046
1	3	1,25*	1,22	1,35	3,86	0,049
2	3	1,14*	1,12	1,16	3,86	0,049
3	3	1,14*	1,13	1,15	3,86	0,049
4	3	1,27*	1,18	1,34	3,86	0,049
24	3	1,14*	1,14	1,15	3,67	0,046
рН 10						
0	3	0,84	0,83	0,84	-	-
0,5	3	1,13*	1,13	1,15	4,09	0,043
1	3	1,22*	1,16	1,61	3,86	0,049
2	3	1,18	1,05	1,24	2,33	0,127
3	3	1,11*	1,10	1,12	3,86	0,049
4	3	1,23*	1,16	1,24	3,86	0,049
24	3	1,06	1,06	1,07	3,23	0,072

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания флавоноидов в листьях гороха при изменении рН
корневой среды, % сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0	3	0,79	0,76	0,79	-	-
0,5	3	0,96	0,89	0,96	-	-
1	3	1,45	1,37	1,46	-	-
2	3	1,16	1,13	1,27	-	-
3	3	1,35	1,29	1,36	-	-
4	3	1,07	1,07	1,21	-	-
24	3	1,21	1,18	1,23	-	-
рН 3						
0	3	0,81	0,81	0,82	-	-
0,5	3	1,04	0,95	1,09	1,23	0,268
1	3	0,90*	0,88	0,92	3,86	0,049
2	3	0,97*	0,97	1,00	3,97	0,046
3	3	1,27*	1,23	1,27	3,97	0,046
4	3	0,77*	0,77	0,79	3,97	0,046
24	3	0,84*	0,84	0,85	3,97	0,046
рН 10						
0	3	0,83	0,80	0,85	-	-
0,5	3	0,91	0,79	0,92	1,23	0,268
1	3	1,01*	0,96	1,01	3,86	0,049
2	3	0,99*	0,91	0,99	3,97	0,046
3	3	0,86*	0,77	0,88	3,86	0,049
4	3	0,97*	0,94	0,98	3,97	0,046
24	3	1,02*	1,02	1,03	3,97	0,046

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания органических кислот в листьях пшеницы при
изменении рН корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
Щавелевая кислота						
рН 7						
0,5	3	8,9	8,7	9,1	-	-
3	3	8,7	7,9	10,6	-	-
24	3	9,2	9,1	12,3	-	-
рН 3						
0,5	3	9,2	8,0	9,60	0,43	0,513
3	3	9,3	8,1	9,6	0,05	0,823
24	3	9,1	7,9	9,8	0,78	0,360
рН 10						
0,5	3	9,8*	9,2	10,6	3,86	0,049
3	3	9,0	8,2	9,1	0,05	0,827
24	3	7,8	6,9	9,8	1,19	0,275
Яблочная кислота						
рН 7						
0,5	3	277,3	246,6	290,1	-	-
3	3	252,7	244,9	282,1	-	-
24	3	292,2	278,1	306,0	-	-
рН 3						
0,5	3	238,1*	234,1	246,5	3,86	0,049
3	3	263,4	256,5	276,3	0,43	0,513
24	3	259,0*	249,5	267,3	3,86	0,049
рН 10						
0,5	3	249,3	241,7	260,0	1,19	0,275
3	3	285,3	266,3	294,0	2,33	0,127
24	3	264,9*	237,1	274,4	3,86	0,049

Продолжение приложения 28

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
Лимонная кислота						
pH 7						
0,5	3	86,5	83,6	89,9	-	-
3	3	39,1	31,7	61,7	-	-
24	3	34,9	23,7	40,0	-	-
pH 3						
0,5	3	61,1	25,2	72,4	5,42	0,066
3	3	22,0*	15,3	26,7	7,20	0,027
24	3	14,9*	11,2	18,6	3,86	0,049
pH 10						
0,5	3	83,9	81,9	92,1	0,05	0,827
3	3	84,8*	83,8	85,7	3,86	0,049
24	3	74,0*	69,7	82,8	3,86	0,049
Янтарная кислота						
pH 7						
0,5	3	104,1	90,2	118,0	-	-
3	3	38,1	22,7	44,4	-	-
24	3	47,7	45,6	48,0	-	-
pH 3						
0,5	3	34,9*	19,9	56,0	3,86	0,049
3	3	18,9*	16,9	19,5	3,86	0,049
24	3	46,3	42,7	51,2	0,05	0,827
pH 10						
0,5	3	35,7*	29,3	42,1	3,86	0,049
3	3	24,6	24,0	25,3	0,43	0,513
24	3	30,9*	23,0	38,7	3,86	0,049

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика общего содержания яблочной, лимонной, янтарной кислот в листьях пшеницы при изменении рН корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0,5	3	457,4	437,2	491,7	-	-
3	3	344,7	307,1	365,6	-	-
24	3	372,7	365,8	377,7	-	-
рН 3						
0,5	3	351,2*	238,2	356,8	3,86	0,049
3	3	298,0*	297,6	319,9	3,86	0,049
24	3	330,1*	319,8	337,8	3,86	0,049
рН 10						
0,5	3	379,6*	352,9	402,6	3,86	0,049
3	3	393,7*	376,0	404,1	3,86	0,049
24	3	379,3	329,3	386,4	0,43	0,513

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания органических кислот в листьях ржи при изменении
рН корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
Щавелевая кислота						
рН 7						
0,5	3	11,7	11,0	14,5	-	-
3	3	14,9	12,8	16,3	-	-
24	3	10,2	9,5	13,9	-	-
рН 3						
0,5	3	6,2*	4,8	6,8	3,86	0,049
3	3	10,7*	10,7	11,7	3,86	0,049
24	3	7,3*	6,7	8,0	3,86	0,049
рН 10						
0,5	3	9,2	7,6	11,1	2,33	0,127
3	3	9,8	8,7	14,2	2,33	0,127
24	3	9,5	8,8	9,6	2,33	0,127
Яблочная кислота						
рН 7						
0,5	3	174,0	154,1	220,9	-	-
3	3	212,8	203,7	217,6	-	-
24	3	261,3	187,6	271,4	-	-
рН 3						
0,5	3	212,0	204,1	252,4	1,19	0,275
3	3	212,3	204,0	233,8	0,05	0,827
24	3	221,8	146,8	292,0	0,05	0,827
рН 10						
0,5	3	205,8	183,0	264,3	1,19	0,275
3	3	186,7	168,9	210,3	2,33	0,127
24	3	214,8	146,2	242,3	1,19	0,275

Продолжение приложения 30

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
Лимонная кислота						
pH 7						
0,5	3	111,4	106,4	115,8	-	-
3	3	180,2	90,1	192,3	-	-
24	3	95,9	72,1	123,3	-	-
pH 3						
0,5	3	60,1*	54,2	78,5	3,86	0,049
3	3	153,9	96,2	159,3	0,43	0,513
24	3	62,0	56,1	124,6	0,43	0,513
pH 10						
0,5	3	58,4*	53,8	62,4	3,86	0,049
3	3	150,6	63,2	167,1	1,19	0,275
24	3	40,8*	29,8	50,8	3,97	0,046
Янтарная кислота						
pH 7						
0,5	3	103,8	80,8	108,3	-	-
3	3	113,6	104,3	118,6	-	-
24	3	76,4	63,3	82,4	-	-
pH 3						
0,5	3	58,9	45,4	88,0	2,33	0,127
3	3	112,1	68,4	116,8	0,43	0,513
24	3	63,3	50,1	86,5	0,19	0,658
pH 10						
0,5	3	26,5*	21,0	40,1	3,86	0,049
3	3	90,0	59,7	90,2	2,33	0,127
24	3	57,9	24,8	69,7	2,33	0,127

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика общего содержания яблочной, лимонной, янтарной кислот в
 листьях ржи при изменении pH корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
pH 7						
0,5	3	378,3	361,2	436,2	-	-
3	3	511,4	408,1	523,7		
24	3	433,6	333,0	477,1	-	-
pH 3						
0,5	3	352,2	335,9	399,7	2,33	0,127
3	3	480,7	398,4	484,4	0,43	0,513
24	3	417,9	314,3	432,9	1,19	0,275
pH 10						
0,5	3	299,7*	267,5	347,7	3,86	0,049
3	3	427,5	321,8	467,4	1,19	0,275
24	3	280,5	233,9	352,9	2,33	0,127

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика содержания органических кислот в листьях гороха при
изменении рН корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
Щавелевая кислота						
рН 7						
0,5	3	15,5	15,4	15,6	-	-
3	3	19,5	19,4	19,5	-	-
24	3	21,3	21,3	21,6	-	-
рН 3						
0,5	3	25,4*	24,7	25,6	3,86	0,049
3	3	31,3*	30,9	31,5	3,86	0,049
24	3	39,0*	38,6	39,1	3,86	0,049
рН 10						
0,5	3	27,9*	27,8	28,3	3,86	0,049
3	3	25,0*	24,6	25,2	3,86	0,049
24	3	27,0*	26,7	27,1	3,86	0,049
Яблочная кислота						
рН 7						
0,5	3	308,0	302,6	315,8	-	-
3	3	303,5	302,7	306,2	-	-
24	3	314,2	313,2	314,4	-	-
рН 3						
0,5	3	345,6	342,8	344,8	2,33	0,127
3	3	375,4	372,6	378,2	2,33	0,127
24	3	335,2	334,3	336,8	2,33	0,127
рН 10						
0,5	3	322,2*	316,6	327,4	3,86	0,049
3	3	395,0	388,6	398,4	2,33	0,127
24	3	398,9*	398,0	399,5	3,86	0,049

Продолжение приложения 32

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
Лимонная кислота						
pH 7						
0,5	3	95,5	95,0	98,3	-	-
3	3	100,2	100,0	107,9	-	-
24	3	81,2	80,8	81,6	-	-
pH 3						
0,5	3	128,2*	128,4	130,5	3,86	0,049
3	3	116,7*	116,5	123,5	3,86	0,049
24	3	120,0*	118,6	122,8	3,86	0,049
pH 10						
0,5	3	112,1*	112,0	114,6	3,86	0,049
3	3	115,6*	114,9	117,0	3,86	0,049
24	3	139,0*	136,5	140,3	3,86	0,049
Янтарная кислота						
pH 7						
0,5	3	83,3	72,2	94,4	-	-
3	3	20,2	20,0	22,9	-	-
24	3	24,0	23,7	24,3	-	-
pH 3						
0,5	3	44,2*	43,0	46,0	3,86	0,049
3	3	27,2	26,1	28,0	2,33	0,127
24	3	28,2	27,9	28,5	2,33	0,127
pH 10						
0,5	3	26,8*	24,4	27,4	3,86	0,049
3	3	26,4	26,0	27,7	2,33	0,127
24	3	38,6*	37,0	39,0	3,86	0,049

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$

Динамика общего содержания яблочной, лимонной, янтарной кислот в листьях гороха при изменении рН корневой среды, мг/10 г сухой массы

Период наблюдений (ч)	Повторность	Медиана	Процентили		Критерий Крускала-Уоллиса	Значимость (P)
			25%	75%		
рН 7						
0,5	3	489,6	482,9	579,6	-	-
3	3	423,7	409,7	437,7	-	-
24	3	419,4	390,9	471,9	-	-
рН 3						
0,5	3	517,2*	511,7	590,2	3,86	0,049
3	3	518,0*	509,0	591,0	3,86	0,049
24	3	483,4*	441,4	518,4	3,86	0,049
рН 10						
0,5	3	461,0*	450,0	466,5	2,33	0,127
3	3	536,6*	533,9	566,1	3,86	0,049
24	3	577,2*	541,7	583,7	3,86	0,049

Примечание. * – наличие значимых различий в сравнении с контролем, значимость различий рассчитана с помощью критерия Крускала-Уоллиса при $P < 0,05$