

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.1

САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА ПОВЫШАЕТ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РЕГЕНЕРАНТОВ *Solanum tuberosum*, РЕГУЛИРУЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ

© 2023 г. И. Ф. Головацкая^а, *, М. К. Кадырбаев^а, Е. В. Бойко^а, М. В. Филонова^а

^а Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

*e-mail: golovatskaya.irina@mail.ru

Поступила в редакцию 09.01.2023 г.

После доработки 27.01.2023 г.

Принята к публикации 27.01.2023 г.

Изучена роль предстрессовой обработки корней салициловой кислотой (SA) в регуляции морфобиологических параметров, характеризующих холодоустойчивость растений-регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum* L.). Установлено, что растения картофеля, подвергшиеся воздействию низких положительных температур (4°C, 3 сут), при переносе в благоприятные условия (22°C, 10 сут) не смогли восстановить исходные ростовые параметры (высота растений, площадь листовой поверхности, количество столонов, масса органов) и окислительный статус (интенсивность перекисного окисления липидов) корней и листьев. Кратковременная предварительная обработка корней 0.1 мкМ SA в течение 4 ч минимизировала пагубное воздействие отложенного охлаждения на растения. Обработка SA способствовала восстановлению исходного фенотипа растений после гипотермии, что привело к увеличению параметров роста (количество и площадь поверхности листьев, количество столонов) по сравнению с растениями, подвергшимися гипотермии без обработки SA. Показано, что предварительная обработка SA повышает холодоустойчивость растений картофеля за счет изменения активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и гваякол-зависимой пероксидазы) и уровня неферментативных антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, антоцианов, общего количества флавоноидов и фенольных соединений). В зависимости от условий SA изменяет соотношение отдельных флавоноидов в листе. Неоднозначная реакция на холод и обработку SA наблюдалась у двух линий регенерантов картофеля, полученных при микроклонировании *in vitro* из апикальной и средней части побега растения, что вероятно опосредовано неодинаковым гормональным статусом.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, антиоксидантная система, рост, салициловая кислота, холодоустойчивость

DOI: 10.31857/S0015330323600018, **EDN:** PZVP1V

ВВЕДЕНИЕ

В связи с изменением и нестабильностью климата все чаще нарушается температурный режим регионов выращивания продовольственных культур. Прежде всего, это касается возвратного понижения температуры, снижающего урожайность хозяйственно ценных растений, среди которых картофель занимает одно из ведущих мест. Для решения проблемы повышения холодоустойчивости необходимо изучить механизмы защиты растений от переохлаждения. При этом необходимо учитывать величину стрессового фактора, связанного

как с продолжительностью и величиной гипотермии, так и с возможностью восстановления растений в благоприятных условиях. Различают краткосрочное и долгосрочное действие стресс-фактора [1, 2]. В первом случае, при наступлении благоприятных условий для роста, растения могут быстро восстановиться (адаптироваться) и реализовать потенциальную продуктивность, во втором случае возможность полной реабилитации снижается. Оценка холодоустойчивости часто проводится по степени повреждения морфобиологических параметров сразу действия стрессового фактора, но при этом не учитываются регенерационные особенности растений, определяющие степень восстановления конститутивных параметров при наступлении благоприятных условий.

Сокращения: АК — аскорбиновая кислота; Ант — антоцианы; АР — апикальный регенерант; ГПО — гваякол-зависимая пероксидаза; СОД — супероксиддисмутазы; СР — средний регенерант; Фл — флавоноиды; ФС — фенольные соединения; SA — салициловая кислота.

Фитогормоны выступают в роли регуляторов жизнедеятельности растений, среди которых важное место занимает гормон фенольной природы салициловая кислота (SA). SA (2-гидроксibenзойная кислота) относится к фитогормонам, регулирующим метаболизм растений, а также к сигнальным молекулам, необходимым для экспрессии генов, участвующих в защитных реакциях растений. SA воспринимается двумя классами рецепторов, NPR1 (NONEXPRESSER OF PR GENES1) и NPR3/NPR4 (NPR1-LIKE PROTEIN 3/4), которые регулируют индуцированную SA экспрессию генов защиты, играя важную роль в иммунитете растений. Связывание SA отменяет репрессивную транскрипционную активность NPR3/NPR4 и усиливает транскрипционную активность NPR1, что приводит к усилению SA-чувствительных регуляторов защиты [3].

SA участвует в различных физиологических процессах растений, включая регуляцию движения клеток устьиц, фотосинтеза, прорастания семян, цветения, термотолерантности и засухоустойчивости. Было показано, что SA участвует в повышении уровня и активности ферментативных и неферментативных антиоксидантов [4–6].

SA активизирует процессы, ответственные за повышение устойчивости к холоду у растений огурца [7]. Обработка SA листьев увеличивает скорость фотосинтеза, эффективность карбоксилирования, активность нитрат-редуктазы и карбоангидразы, а также урожайность семян у *Brassica juncea* [8]. Уровень эндогенной SA изменяется в ходе онтогенеза растений и под воздействием стрессовых факторов [9].

Нас интересовало, может ли предварительная обработка SA изменить восприимчивость растений к отсроченной гипотермии и способность восстанавливать конститутивные параметры в благоприятных условиях. Мы исходили из предположения, что холодоустойчивые растения, реализуя свой защитный потенциал, не повреждаются или легко восстанавливаются при переносе их в благоприятные условия. Если защитный потенциал невелик у активно растущих растений, то система защиты может срабатывать только при действии экзогенного стресс-гормона.

В большинстве работ, изучающих формирование холодоустойчивости, оцениваются изменения, происходящие в растениях непосредственно после действия фактора. Такой подход позволяет расшифровать механизм формирования стресса. Однако сельхозпроизводителей больше интересует возможность восстановления растений после действия стрессора, позволяющая сохранить высокую продуктивность растений.

В связи с этим целью наших исследований было установить возможный диапазон безвозвратных повреждений после действия гипотермии и

диапазон реакций восстановления растений картофеля с различным потенциалом роста в норме и после дострессовой обработки SA. Было определено влияние обработки корней салициловой кислотой на ростовые процессы и системы антиоксидантной защиты у культивируемых *in vitro* растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили две линии растений-регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) среднераннего сорта Луговской, полученные методом микроклонирования из среднего и апикального ярусов побега и имеющие различный потенциал роста при регенерации микроклонов [10]. Выбор сорта был обусловлен его повышенной холодостойкостью и возможностью выращивания в районах с умеренным климатом, простирающихся от Северо-Запада до Дальневосточного региона России.

Полученные путем клонирования 28-дневные средние (CP) и апикальные (AP) регенеранты были адаптированы в течение 14 сут к жидкой 50% MC-среде без сахарозы (рис. 1). Корни одной половины растений обрабатывали в течение 4 ч раствором MC-среда + 0.1 мкМ SA (эксперимент 1, CP_{SA}, AP_{SA}), а другую половину выдерживали такое же время в MC-среде (контроль, CP_K, AP_K). Затем все растения отмывали от гормонов или старой среды, переносили в свежую MC-среду и выращивали в течение 7 сут, давая возможность гормону реализовать свои функции. Затем часть необработанных и обработанных SA растений (контроль и эксперимент 1) помещали в условия пониженной температуры 4°C на 3 сут (эксперимент 2, CP + S, AP + S), а другую часть (контроль и эксперимент 1) оставляли в оптимальных условиях (22°C) на 3 сут. После этого все растения были перенесены в оптимальные условия (22°C) на 10 сут для оценки их способности восстанавливаться после отсроченной гипотермии и, следовательно, холодоустойчивости.

В течение всего эксперимента растения выращивали на свету при плотности потока фотонов 200–230 мкмоль/(м² с), при 16-часовом фотопериоде и температуре воздуха 20–22°C. Источниками света служили белые люминесцентные лампы TL-D 58W/54-765 G13 (Philips, Польша) и L36/765 G13 (OSRAM, Россия) в соотношении 1 : 1. Плотность потока фотонов измеряли с помощью спектрометра AvaSpec-102/256/1024/2048 версии 6.2 (Avantes BV, Нидерланды).

В конце эксперимента определяли ростовые и биохимические параметры растений-регенерантов картофеля. Одну часть свежих растений сразу использовали для измерения ростовых параметров, содержания фотосинтетических пигментов, малонового диальдегида (МДА), свободного про-

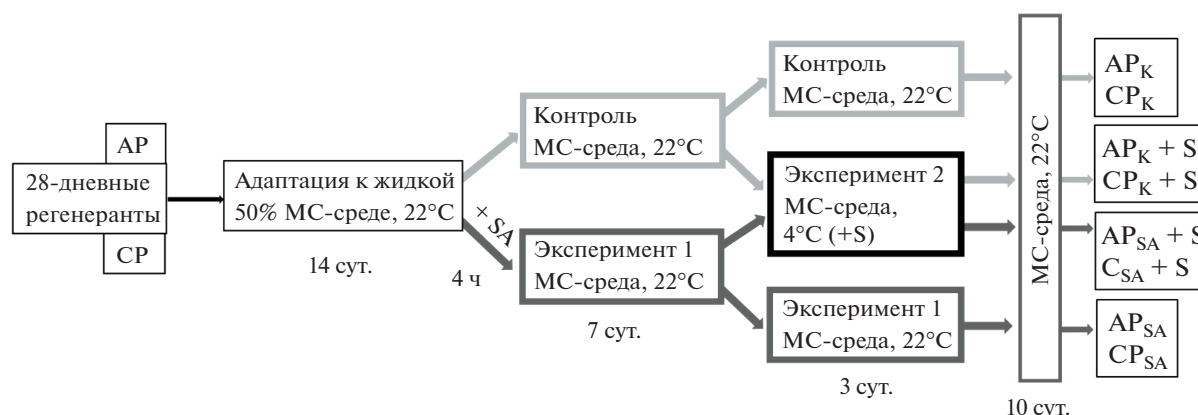


Рис. 1. Схема культивирования регенерантов *S. tuberosum* в оптимальных условиях (22°C) и на холоде (+S, 4°C) с предварительной обработкой салициловой кислотой (SA) и без нее. АР — апикальные регенеранты; СР — средние регенеранты.

лина и аскорбиновой кислоты (АК), другую часть фиксировали жидким азотом для измерения активности ферментов, третью часть высушивали для оценки содержания сухой массы и антиоксидантов фенольной природы.

Используя гравиметрический метод, определяли свежую (FW) и абсолютно сухую (DW) биомассу регенерантов. Измерение площади поверхности листьев проводили с помощью программы “Moticam 2300” (Испания) по фотографиям. В ходе эксперимента подсчитывали количество столонов и ярусов у побегов растений-регенерантов картофеля.

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по содержанию МДА, по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [11]. Для этого образец листьев или корней измельчали в 20% растворе трихлоруксусной кислоты. Экстракт центрифугировали (Центрифуга Eppendorf 5430R, Германия) в течение 15 мин при 12000g и температуре 4°C. Цветную реакцию аликвоты супернатанта с ТБК проводили при 98°C в течение 30 мин. Оптическую плотность раствора с образовавшимся розовым хромогеном измеряли при двух длинах волн — 532 и 600 нм на спектрофотометре Genesys 10S UV-Vis (ThermoScientific, США).

Уровень свободного пролина (Про) определяли по реакции с нингидрином в кислой среде [12] и измерению оптической плотности раствора при 520 нм.

Содержание АК определяли по оптической плотности растительного экстракта с метафосфорной кислотой при 265 нм [13].

Содержание фотосинтетических пигментов (каротиноидов (Carot), хлорофилла *b* (Chl *b*) и хлорофилла *a* (Chl *a*)) определяли в спиртовых (96% этанол) экстрактах спектрофотометрически при длинах волн 470, 644 и 662 нм, соответствен-

но, и рассчитывали по формулам, предложенным Lichtenthaler [14].

Определение суммарного содержания антоцианов (Ант) проводили по оптической плотности экстракта, полученного с 1% соляной кислотой, при 530 и 657 нм относительно эталонного раствора — 1% соляной кислоты. Рассчитывали суммарное содержание Ант в пересчете на цианидин-3,5-дигликозид и DW [15].

Определение суммарного содержания флавоноидов (Фл) основано на их комплексообразовании с хлоридом алюминия и последующем измерении оптической плотности окрашенных растворов при 415 нм [16]. Суммарное содержание Фл рассчитывали в пересчете на рутин и DW.

Количественное определение Фл проводили методом ВЭЖХ с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity с детектором на диодной матрице DAD (Agilent Technologies Inc., США). Использовали оригинальную колонку Zorbax Eclipse Plus C18, 4,6 мм × 100 мм × 3,5 мкм. Обнаружение пиков проводили в диапазоне 190–390 нм. Длина волны обнаружения рутина составила 254 нм; кверцетина — 290 нм; дигидрокверцетина — 360 нм. Разделение проводили с использованием смеси ацетонитрила и 0,04 М калия фосфорнокислого монозамещенного с ортофосфорной кислотой в качестве подвижной фазы (pH 2,8). Скорость потока элюента составила 0,25 см³/мин. Содержание Фл в каждом экстракте определяли путем сравнения времени удерживания и УФ-спектров образцов с данными стандартов: рутина гидрат (содержание основного вещества более 95%) (Merck, Германия); кверцетин (содержание основного вещества не менее 98%) (Россия); дигидрокверцетин (содержание не менее 90%, ГОСТ 33504) (Россия). Точный образец (около 1 г) абсолютно сухого растительного сырья экстрагировали 70% раствором этилового спирта (10–20 мл, в зависи-

мости от образца). Колбу присоединяли к рефлюкс-конденсатору и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 мин. После охлаждения фильтровали через целлюлозный фильтр [17].

Растворимые фенольные соединения (ФС) определяли по методу Фолина-Дениса [18]. Оптическую плотность раствора измеряли при 725 нм против контроля, содержащего этанол вместо тканевого экстракта. Суммарное содержание ФС рассчитывали в пересчете на рутин и DW.

Активность супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) определяли по световой (232 ± 5 мкмоль/(м² с)) реакции 100 мкл супернатанта со смесью, содержащей 1.75 мл 50 мМ Трис-НСl-буфера (рН 7.8), 0.2 мл 0.1 М DL-метионина, 0.063 мл 1.7 мМ нитросинего тетразолия (Fermentas, США), 0.047 мл 1% Triton X-100 и 0.060 мл 0.004% рибофлавина, в течение 30 мин [19]. Оптическую плотность раствора измеряли при 560 нм.

Активность гваякол-зависимой пероксидазы (ГПО, КФ 1.11.1.7) определяли по реакции 50 мкл супернатанта с реакционной смесью, содержащей 1.95 мл 0.066 М калий-фосфатного буфера (рН 7.4), 200 мкл 7 мМ гваякола и 200 мкл 0.01 М H₂O₂ [20]. Оптическую плотность раствора измеряли при 470 нм.

Концентрацию белка в полученных ферментативных препаратах оценивали по методу Esen [21]. Для этого растительный экстракт (5 мкл) наносили на хроматографическую бумагу (Whatman, Англия), высушивали и окрашивали в растворе Coomassie R-250 в течение 1 ч. Бумагу промывали дистиллированной водой и высушивали. Окрашенные участки вырезали, элюировали 1% раствором додецилсульфата натрия в воде и экстрагировали при перемешивании на шейкере в течение 1 ч. Оптическую плотность раствора измеряли на спектрофотометре при 600 нм.

Для сравнения параметров использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента и непараметрический U-критерий Манна–Уитни для парного сравнения групповых параметров. На рисунках представлены средние арифметические (*M*) значения для роста (*n* = 20) и биохимических (*n* = 5) параметров с двухсторонними доверительными интервалами ($M \pm 1.96SEM$). Различия между значениями, отмеченными разными надстрочными латинскими буквами, были статистически значимыми при $P \leq 0.05$. Эксперимент был повторен дважды.

РЕЗУЛЬТАТЫ

SA регулирует рост средних и апикальных регенерантов

Сравнение параметров роста CP_K и AP_K , выращенных в оптимальных условиях (22°C), показало, что удлинение стебля и накопление биомассы пре-

обладали у AP_K , в то время как другие параметры были снижены по сравнению с CP_K (рис. 2а, б). Предварительная обработка SA в оптимальных условиях способствовала изменению соотношения ростовых показателей отдельных органов: увеличению длины корней и площади листовой поверхности и уменьшению длины и массы стебля AP_{SA} . В то же время у CP_{SA} наблюдали увеличение длины и массы стебля, массы и площади листовой поверхности. Сравнение сырой и сухой массы органов показало увеличение содержания воды в корнях и стеблях AP_{SA} по сравнению с CP_{SA} (рис. 2в). Во время роста после действия SA содержание воды в корне и стебле AP_{SA} уменьшилось, но сохранялось в листе. Реакция CP_{SA} на действие SA была иной: SA увеличивала содержание воды в корнях, но снижала содержание воды в листьях CP_{SA} .

Восстановление параметров роста растений ($CP_K + S$, $AP_K + S$) в оптимальных условиях через 10 сут после гипотермии не произошло, что указывало на сильное повреждающее действие стрессового фактора. Сырая масса корня, стебля и листьев, площадь листовой поверхности уменьшилась в разы (рис. 2б). Линейные параметры корня и стебля изменились меньше, в то время как количество столонов, важный показатель продуктивности картофеля, значительно снизилось (рис. 2а). Гипотермия оказала наибольшее повреждающее действие на реакции дифференциации стебля (количество ярусов и столонов) у $AP_K + S$. Ингибирование роста происходило на фоне снижения содержания воды в органах необработанных растений ($CP_K + S$, $AP_K + S$) (рис. 2б).

Предварительная обработка SA привела к повышению относительного содержания воды во всех органах $CP_{SA} + S$ и $AP_{SA} + S$ после отсроченной гипотермии (рис. 2в). При этом у $CP_{SA} + S$ наблюдали полное восстановление водного статуса, характерного для неподвергавшихся стрессу растений. В то время как у $AP_{SA} + S$ сохранялось более низкое содержание воды в корнях и побегах. SA привела к активному растяжению корней и стеблей у обеих линий регенерантов. Наряду с этим у $CP_{SA} + S$ увеличилась длина корней и площадь листовой поверхности, тогда как у $AP_{SA} + S$ — количество ярусов и столонов на побеге (рис. 2а, б). Масса стебля, корня и листьев увеличилась в 2, 3 и 5 раз соответственно у растений $CP_{SA} + S$, а площадь листовой поверхности увеличилась в 3 раза по сравнению с необработанными SA растениями после гипотермии. SA корректировала многие негативные реакции роста у $AP_{SA} + S$ в ответ на охлаждение. Однако действие SA не смогло полностью восстановить все контрольные параметры растений. У $CP_{SA} + S$ SA не смогла восстановить конститутивное количество столонов и ярусов,

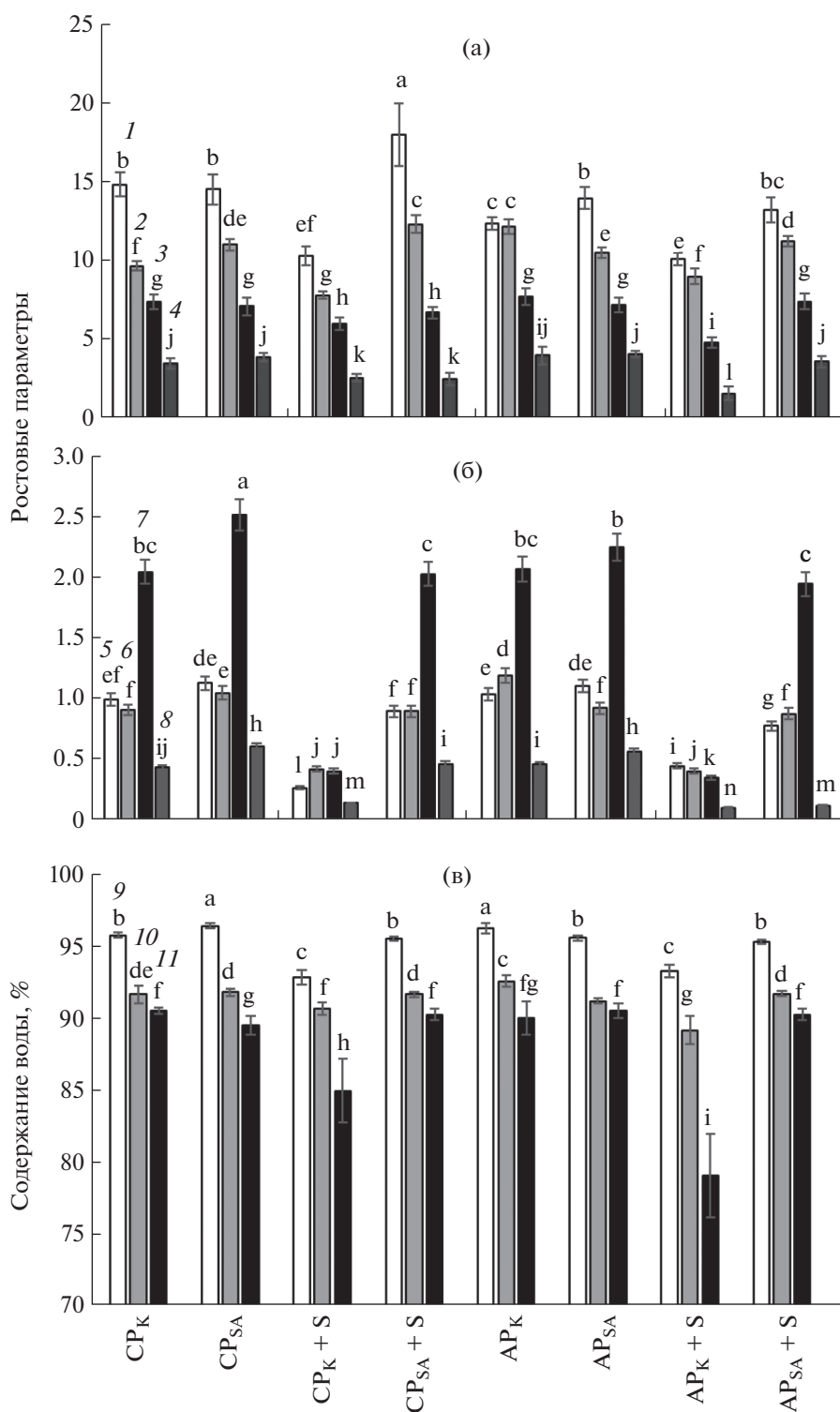


Рис. 2. Влияние салициловой кислоты (SA) на параметры роста (а, б) и относительное содержание воды (в) в средних (CP) и апикальных (AP) регенерантах *S. tuberosum* в норме и после действия отсроченной гипотермии. 1 – длина корня, см; 2 – длина стебля, см; 3 – количество ярусов; 4 – количество столонов; 5 – сырая масса корня, г; 6 – сырая масса стебля, г; 7 – сырая масса листьев, г; 8 – площадь листа, см²; 9 – корень; 10 – стебель; 11 – лист. Разные латинские буквы указывают на статистически значимые различия между средними значениями при $P \leq 0.05$. Одинаковые буквы указывают на отсутствие значимых различий.

Таблица 1. Влияние салициловой кислоты (SA, 0.1 мкМ) на содержание фотосинтетических пигментов в листьях средних (CP) и апикальных (AP) регенерантов картофеля в норме и после отсроченной гипотермии (+S)

Вариант	Содержание, мг/г DW		
	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Carot
CP _K	19.71 ± 1.27 ^b	4.47 ± 0.28 ^b	4.78 ± 0.32 ^{ab}
CP _{SA}	20.52 ± 0.50 ^b	4.59 ± 0.14 ^b	4.57 ± 0.19 ^b
CP _K + S	15.16 ± 1.53 ^d	3.70 ± 0.53 ^c	3.85 ± 0.29 ^c
CP _{SA} + S	23.85 ± 1.17 ^a	5.71 ± 0.36 ^a	5.63 ± 0.30 ^a
AP _K	19.01 ± 0.28 ^c	4.56 ± 0.14 ^b	4.67 ± 0.10 ^b
AP _{SA}	22.58 ± 0.76 ^a	5.01 ± 0.25 ^{ab}	5.10 ± 0.20 ^a
AP _K + S	9.07 ± 0.26 ^e	1.96 ± 0.11 ^d	2.06 ± 0.07 ^d
AP _{SA} + S	19.48 ± 1.32 ^b	4.63 ± 0.24 ^b	4.46 ± 0.31 ^b

Примечание. Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми не достоверны при $P \leq 0.05$.

тогда как у AP_{SA} + S — сырую массу всех органов и площадь листовой поверхности.

Наибольшую эффективность в регуляции роста SA показала при регенерации растений после гипотермии, чем в оптимальных условиях.

Влияние SA на содержание фотосинтетических пигментов

Состояние фотосинтетического аппарата характеризовалось одинаковым содержанием Chl *a*, Chl *b* и Carot в листьях обеих линий-регенерантов (CP_K и AP_K) (табл. 1). Однако у CP_K и AP_K была отмечена различная чувствительность к гипотермии и действию SA. У AP наблюдали большую чувствительность фотосинтетического аппарата к действию гипотермии и SA, но разной направленности.

Обработка SA в оптимальных условиях существенно не изменила уровень пигментов в листьях среднего яруса побега CP_{SA}. После гипотермии наблюдалось снижение уровня Carot на 20% в листьях CP_K + S по сравнению с контрольным CP_K без охлаждения. Более низкий каротиноидный статус был ответственен за снижение Chl *a* и Chl *b* на 23 и 17% соответственно. Это означало, что, несмотря на благоприятные условия после гипотермии у CP_K+S восстановление конститутивных уровней пигментов не произошло. В то же время, предварительная обработка SA привела к увеличению уровня Carot на 18% в листьях CP_{SA} + S по сравнению с контролем без охлаждения, что способствовало увеличению на 21 и 28% соответственно уровня Chl *a* и Chl *b*. Эти данные свидетельствовали о повышении содержания фотосинтетических пигментов за счет регуляции SA уровня Carot, выполняющих антиоксидантную функцию.

Действие SA на AP_{SA} в благоприятных условиях увеличивало уровни Carot и Chl *b* на 10%, а Chl *a* — на 19%. Повреждающее действие гипотермии на уровень пигментов было выше у AP_K + S, что вызвало снижение уровней всех групп пигментов в 2–2.3 раза по сравнению с уровнями пигментов в оптимальных условиях. Предварительная обработка SA увеличивала содержание Carot, Chl *a* и Chl *b* у AP_{SA} + S в 2.2 раза относительно уровней AP_K + S, восстанавливая конститутивный уровень пигментов.

SA регулирует окислительный статус корней и листьев регенерантов

Функциональная специфика корня регенерантов картофеля проявлялась в более низком содержании МДА — продукта ПОЛ, по сравнению с листом (рис. 3). Такие различия могли быть обусловлены процессами, происходящими в этих органах. Более высокий окислительный статус у листьев, вероятно, связан с большей продукцией АФК в процессе фотосинтеза и дыхания, тогда как более низкий у корней обусловлен только дыханием.

При сравнении линий регенерантов отметили более низкий окислительный статус листьев AP_K по сравнению с таковым листьев CP_K (рис. 3). Низкая концентрация SA, которой были обработаны корни, в оптимальных условиях не изменила окислительный статус ни корня, ни листа. После действия охлаждения у линии CP_K + S отмечена тенденция к увеличению МДА, тогда как у линии AP_K + S даже после 10 сут сохранялся высокий окислительный статус корня и листа. Предварительная обработка корней SA перед отсроченной гипотермией снижала интенсивность ПОЛ до конститутивного уровня в AP_{SA} + S и еще сильнее в CP_{SA} + S.

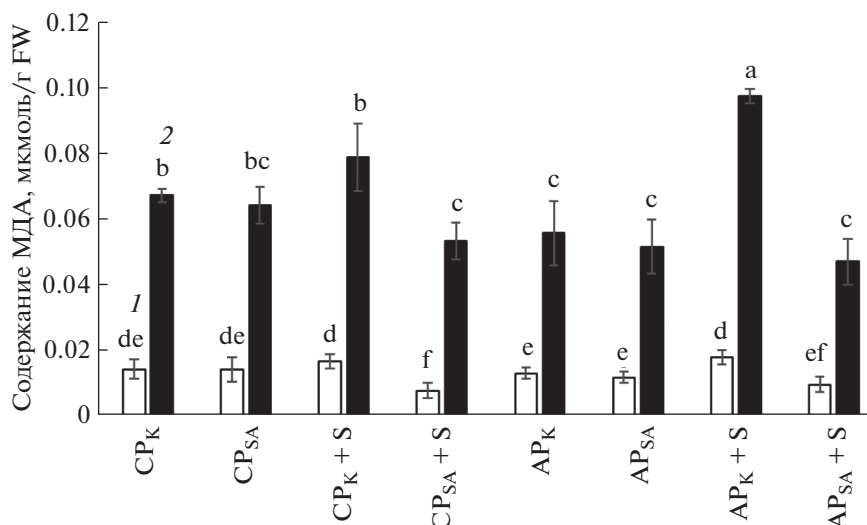


Рис. 3. Влияние салициловой кислоты (SA) на содержание малонового диальдегида (МДА) в корнях (1) и листьях (2) средних (CR) и апикальных (AP) регенерантов *S. tuberosum* в норме и после отсроченной гипотермии (+S, 4°C, 3 сут). Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми не достоверны при $P \leq 0.05$.

Сравнение уровня фотосинтетических пигментов и содержания МДА показало, что большее повреждение пигментов в листе AP_K + S (см. табл. 1) происходило при высокой интенсивности ПОЛ (рис. 3).

SA регулирует антиоксидантный статус листьев регенерантов

Антиоксидантная система, представленная ферментативными и неферментативными компонентами, рассматривается в качестве механизма, контролирующего накопление АФК в стрессовых условиях [22]. Несмотря на этот факт, накопление АФК происходило и в оптимальных условиях выращивания растений-регенерантов картофеля.

Исследуемые линии регенерантов отличались по активности антиоксидантных ферментов. Несколько более высокую активность антиоксидантных ферментов наблюдали в листьях AP_K по сравнению с листьями CR_K (рис. 4а, б). Обработка SA многократно увеличивала активность СОД и ГПО у CR_{SA}, не изменяя ее в AP_{SA} (рис. 4а, б). Во время восстановления после гипотермии листьев активность антиоксидантных ферментов оставалась высокой. Активность СОД была выше в листьях AP_K + S, тогда как ГПО — в листьях CR_K + S. Предварительная обработка корней SA изменила активность ферментов в листьях охлажденных растений, снизив в каждой линии их более активную группу (рис. 4а, б).

Различные линии регенерантов (контроль: CR_K, AP_K) характеризовались неодинаковым уровнем неферментативных антиоксидантов в оптимальных условиях. Более высокий уровень свободного

Про (рис. 5а), соответствующий более низкому окислительному статусу, наблюдали в листьях AP_K по сравнению с листьями CR_K (рис. 3). Предварительная обработка SA поддерживала конститутивный окислительный статус корней и листьев, но за счет разных реакций, поскольку у CR_{SA} уровень свободного Про увеличивался, а у AP_{SA} уменьшался. На фоне снижения уровня свободного Про в AP_{SA} повышался уровень АК (рис. 5а, б). В период регенерации после гипотермии у CR_K + S окислительный статус стабилизировался на фоне взрывного увеличения уровня свободного Про в листе и снижения уровня в корне, а также снижения уровня АК. В отличие от CR_K + S, у AP_K + S сохранялась повышенная интенсивность ПОЛ в корне и листьях (рис. 3), несмотря на увеличение уровня Про и АК (рис. 5а, б). В то же время уровень Про в корнях и листьях обеих линий снижился. Наибольший стабилизирующий эффект SA мог проявиться в результате действия окислительно-восстановительных систем, вызывающих снижение уровня АК.

Уровень неферментативных антиоксидантов фенольной природы варьировал от линии к линии. Содержание Ант было одинаковым в листьях обеих линий, в то время как суммарное содержание Фл и ФС было выше в листьях CR_K, чем в листьях AP_K (рис. 6а, б, в). Обработка SA увеличивала уровень Ант в листьях обеих линий, не изменяя суммарного содержания Фл и ФС относительно собственных контролей (рис. 6а, б, в).

Во время восстановления регенерантов после гипотермии содержание Ант снижалось в листьях AP_K + S на фоне увеличения суммы ФС, между тем как суммарное содержание ФС снижалось в

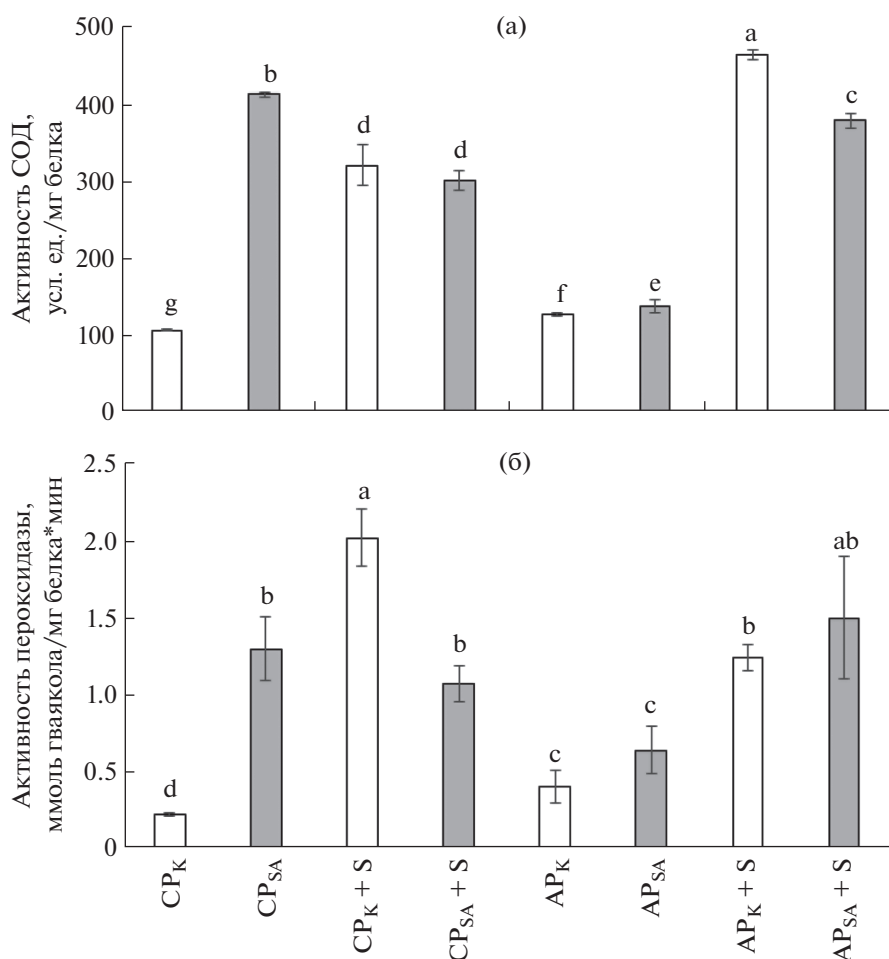


Рис. 4. Влияние салициловой кислоты (SA) на активность СОД (а) и гваякол-зависимой пероксидазы (б) в листьях средних (CP) и апикальных (AP) регенерантов *S. tuberosum* в нормальных условиях и после отсроченной гипотермии (+S, 4°C, 3 сут). Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми не достоверны при $P \leq 0.05$.

листьях CP_K + S по сравнению с неохлажденными растениями (рис. 6а, б, в). Предварительная обработка корней SA увеличивала уровни Ант и Фл в листьях обеих линий (AP_{SA} + S, CP_{SA} + S), однако уровень ФС повышался только в листьях CP_{SA} + S по сравнению с CP_K + S.

Установленные физиологические и биохимические реакции при восстановлении растений-регенерантов картофеля после гипотермии показывают глубину их повреждения и широту защитной системы, в которой SA в низкой концентрации играет существенную регуляторную роль.

ОБСУЖДЕНИЕ

Продуктивность растительных организмов зависит от эндогенных и экзогенных факторов. Низкие температуры и возникающий при этом дефицит воды сильно подавляют ростовые процессы, снижая продуктивность растений из-за

уменьшения размера и количества структурных элементов. Низкие температуры вызывают многочисленные стрессы у растений, среди которых наиболее значимым является окислительный стресс, влияющий на восстановительные процессы в нормальных условиях [23]. Действие низкой температуры вызывает многочисленные повреждения, среди которых отмечается повреждение мембран, выявленное у проростков огурца (*Cucumis sativus* L.) по увеличению выхода электролитов и накоплению МДА [7]. В ответ на воздействие низкой температуры было показано повреждение тилакоидов в хлоропластах растений *Hypericum perforatum* L., а также активация генов, кодирующих антиоксидантные ферменты каталазу (КАТ) и СОД [23]. При этом изоформы Cu/ZnСОД оказались наиболее чувствительными [23]. Еом с соавт. [24], исследуя молекулярный механизм, лежащий в основе ответов растений капусты на умеренный холодовой стресс, показали увеличение экспрессии 936 генов и снижение экспрессии 1195 генов. В то

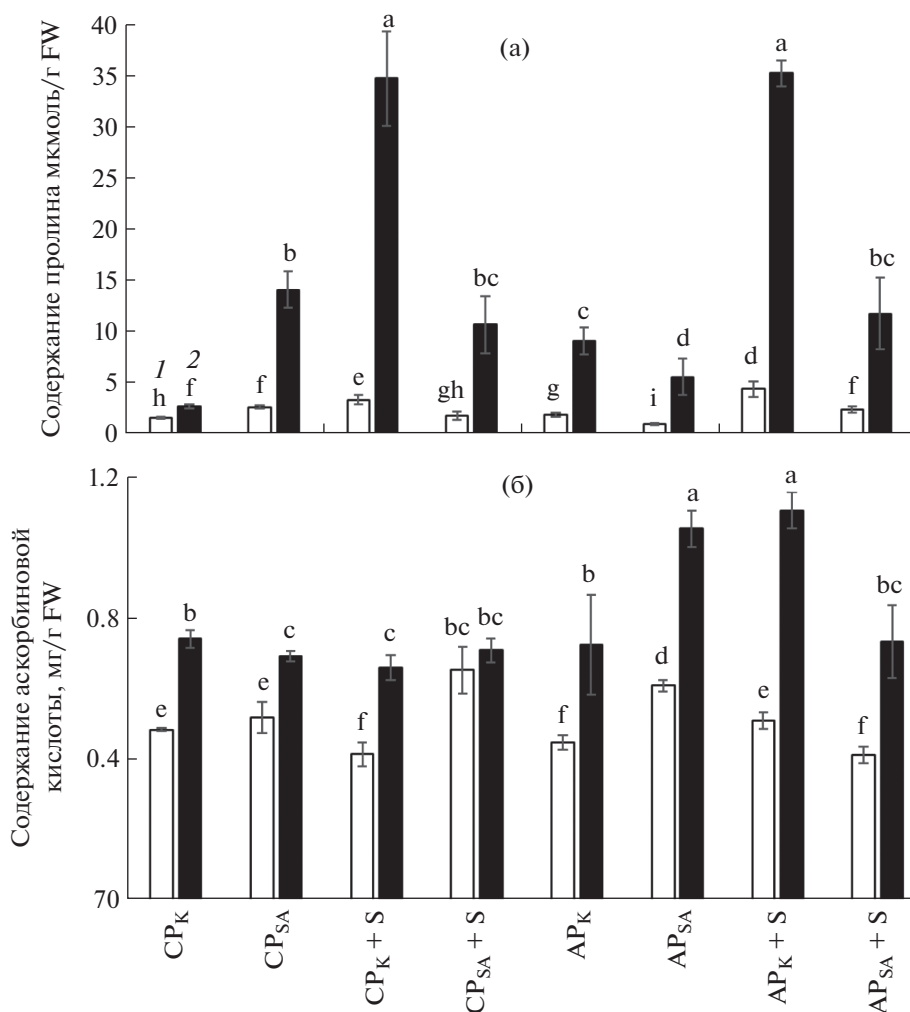


Рис. 5. Влияние салициловой кислоты (SA) на содержание свободного пролина (а) и аскорбиновой кислоты (б) в корнях (1) и листьях (2) средних (CP) и апикальных (AP) регенерантов *S. tuberosum* в норме и после отсроченной гипотермии (+S, 4°C, 3 сут). Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми не достоверны при $P \leq 0.05$.

же время умеренный холодовой стресс индуцировал фенилпропаноидный путь, вызывая накопление полифенольных соединений (п-кумаровой, феруловой и синаповой кислот). Показано также, что низкотемпературный стресс индуцировал существенное снижение содержания ИУК и цитокининов в 4-дневных проростках пшеницы [25].

Регенерация растений картофеля после гипотермии была специфичной для разных линий. Окислительное повреждение мембран, вызванное ПОЛ, было ослаблено во время регенерации корней и листьев CP_K + S, но оставалось на высоком уровне в органах AP_K + S. Более значительный отрицательный эффект гипотермии на уровень фотосинтетических пигментов в AP_K + S соответствовал повышенному окислительному статусу листьев этой линии регенерантов. Несмотря на конститутивный уровень ПОЛ в листьях CP_K + S,

активность антиоксидантных ферментов оставалась высокой. Активность СОД была выше в листьях AP_K + S, в то время как ПОЛ было выше в листьях CP_K + S. Неодинаковая активность ферментов СОД и ГПО может свидетельствовать о преобладании различных АФК в двух линиях регенерантов. Другие авторы, анализируя влияние умеренного холода (10°C) на активность антиоксидантных ферментов у растений капусты, отметили значительное снижение активности ГПО и КАТ с увеличением продолжительности холодового стресса (1 и 3 сут.), в то время как уровень активности СОД существенно не менялся [24].

Сохранение определенного уровня АФК обусловлено их разными функциями в растении. Недавно ученые связали роль АФК с функцией поддержания нормального роста растений и повышения их устойчивости к стрессу [26]. В то же

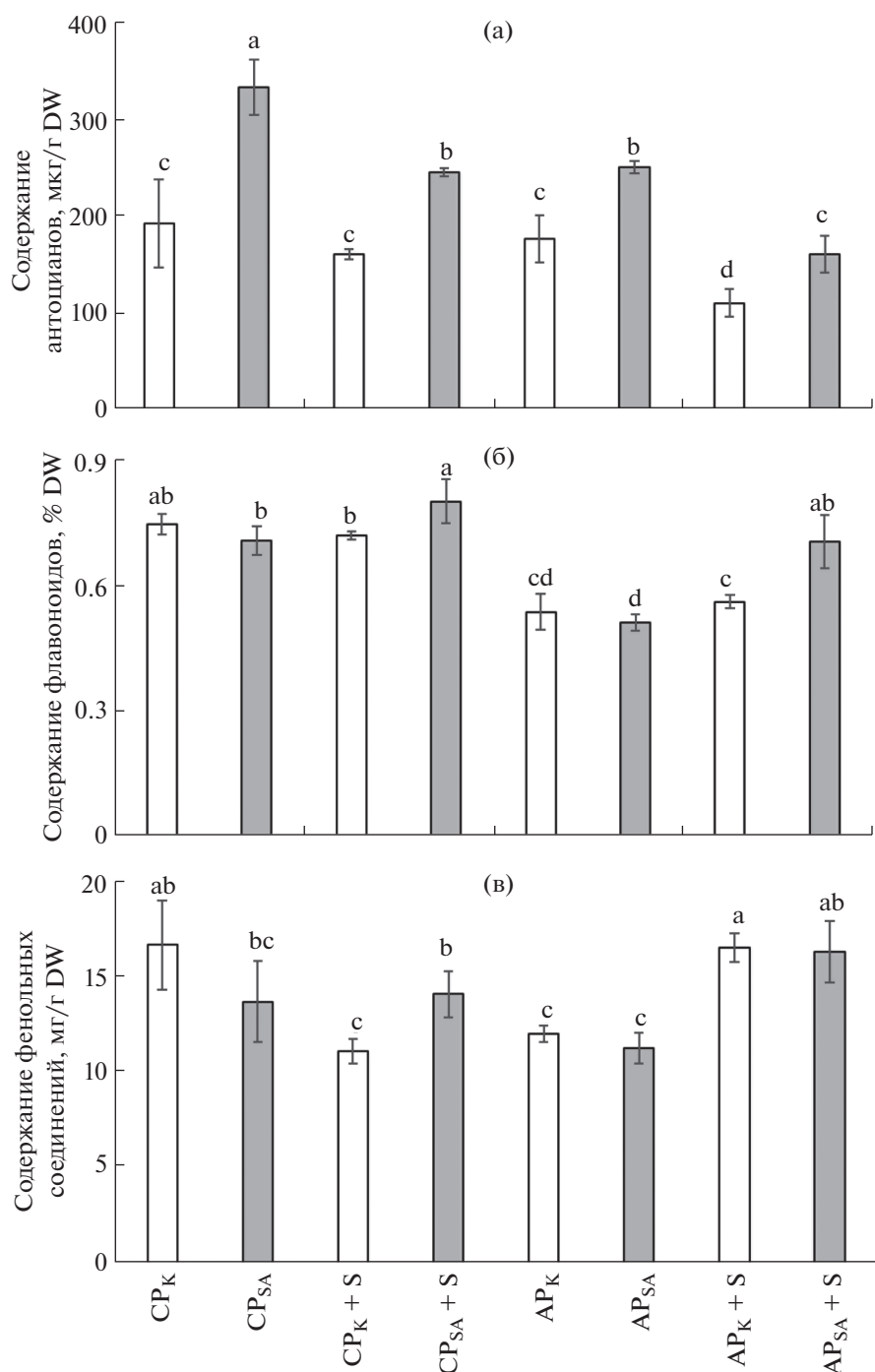


Рис. 6. Влияние салициловой кислоты (SA) на суммарное содержание антоцианов (а), флавоноидов (б) и фенольных соединений (в) в листьях средних (CP) и апикальных (AP) регенерантов *S. tuberosum* в нормальных условиях и после отсроченной гипотермии (+S, 4°C, 3 сут). Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми не достоверны при $P \leq 0.05$.

время во время стресса производство АФК не обязательно является симптомом клеточной дисфункции, но может представлять собой необходимый сигнал для адаптации клеточного механизма к измененным условиям. АФК может модулировать многие пути передачи сигнала, такие

как каскады митоген-активированных протеинкиназ, и в конечном итоге влиять на активность транскрипционных факторов в регуляции экспрессии генов [27].

В нашем эксперименте SA в низкой концентрации участвовала в восстановительных реакциях

Таблица 2. Влияние салициловой кислоты (SA, 0.1 мкМ) на содержание трех флавоноидов в листьях средних регенерантов (CP) картофеля в норме и после отсроченной гипотермии (+S)

Вариант	Содержание, мкг/г DW		
	рутин	кверцетин	дегидрокверцетин
CP _K	58.0 ± 12.2 ^b	Менее 0.01 ^c	205.8 ± 43.2 ^a
CP _{SA}	51.4 ± 10.8 ^b	11.85 ± 2.49 ^b	165.6 ± 34.8 ^a
CP _{SA} + S	122.4 ± 25.7 ^a	88.30 ± 18.50 ^a	109.8 ± 23.1 ^b

Примечание. Одинаковыми латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми не достоверны при $P \leq 0.05$.

растений картофеля после действия отсроченной гипотермии. SA увеличивала содержание воды в корне, стебле и листьях CP_{SA} + S, что активировало ростовые процессы, включая рост листовой поверхности (рис. 26), в условиях повышенного уровня осмотически активных веществ (Ант, Фл, ФС) (рис. 46, г, д).

По нашим данным корневая обработка SA увеличивала водный и осмотический потенциалы и уровень фотосинтетических пигментов, что согласовывалось с данными Iqbal с соавторами [28], полученными при внекорневой обработке 0.5 мМ SA. Авторами показано также увеличение интенсивности фотосинтеза растений горчицы (*Brassica juncea* L.) за счет увеличения устьичной проводимости и содержания межклеточного CO₂ в условиях водного дефицита. SA ингибировала АБК-опосредованное закрытие устьиц.

В соответствии с нашими данными SA корректировала соотношение роста корней и стеблей, тем самым изменяя фенотип роста у AP_{SA} + S и CP_{SA} + S, вероятно, через изменения в уровнях эндогенных фитогормонов. Как показали другие авторы, SA является одним из наиболее важных фенольных фитогормонов, которые изменяют рост растений как в нормальных, так и в стрессовых условиях через взаимодействие с другими фитогормонами [5]. При совместном использовании SA и ИУК, SA и ГК усиливают рост и активность антиоксидантных ферментов, снижают утечку электролитов из мембран и генерацию АФК в стрессовых и нормальных условиях [5]. SA и этилен действуют антагонистически. SA в условиях стресса ингибирует биосинтез этилена. При сильном напряжении негативного фактора этилен действует как стрессовый гормон и повышает уровень АФК [29]. SA усиливает выработку АБК [5]. Совместное применение АБК и SA увеличивает дыхание и осмотическую защиту, соответственно. При водном стрессе SA усиливает активность и сигналы АБК, что индуцирует гены, участвующие в метаболизме сахара. SA и АБК играют взаимодополняющие роли в механизме движения закрытия устьиц. АБК активирует закрытие устьиц через протеинкиназы Ca²⁺ (CPKs), тогда как SA активирует опосредованный пероксидазой сигнал АФК [30]. АБК мо-

жет изменять ответ растений на абиотический (холодовой) стресс, связанный с SA. Обработка АБК вызывала изменения в содержании эндогенной SA, что позволяет предположить, что связанные с SA стрессовые реакции могут перекрываться с АБК-индуцированной холодной акклимацией [31].

В нашем исследовании в ходе восстановления растений после гипотермии предварительная обработка корней картофеля SA неоднозначно изменила активность антиоксидантных ферментов и уровень неферментативных антиоксидантов в листьях, по-разному определяя фенотип растений разных линий. Следует предположить, что адаптационные процессы происходили за счет биосинтеза разных представителей изученных групп антиоксидантов и, следовательно, неодинаковой регенеративной способности.

Например, ВЭЖХ-анализ состава Фл у листьев CP показал, что SA в оптимальных условиях увеличивала содержание кверцетина, тогда как после отсроченной гипотермии увеличивала содержание кверцетина в 8 раз и рутина в 2 раза за счет 2-кратного снижения уровня дегидрокверцетина (табл. 2). В соответствии с данными других авторов, все Фл проявили высокую активность в отношении ингибирования радикалов ⁻ОН и O²⁻. Кверцетин сильнее ингибировал ПОЛ и обладал более высокой радикал-защитной способностью, чем рутин [32]. Антиоксидантная активность, определяемая по значениям половины максимальной ингибирующей концентрации (IC₅₀) трех Фл, уменьшается в следующем порядке: кверцетин > гиперин > рутин [33].

В соответствии с данными других авторов, предварительная обработка SA в концентрациях 50 и 100 мкМ, более высоких, чем в нашем исследовании, увеличивала стабилизацию мембран и способствовала накоплению свободного Про в листьях *C. sativus* [7], который играет защитную роль [34]. Стабилизация мембран при низкотемпературном закаливании (5°C, 6 сут) в листьях картофеля (*S. tuberosum*, сорт Десница) происходила за счет увеличения полиненасыщенных жирных кислот (линолевой и линоленовой) [35].

Эффективность экзогенной SA зависела от ее концентрации. 50–500 мкМ SA активировали (в 1.5–2.5 раза) образование H_2O_2 при окислении сукцината митохондриями, выделенными из семян 5-дневных этиолированных проростков люпина (*Lupinus angustifolius* L.) [36]. В то же время, SA в низких концентрациях оказывала преимущественно разобщающий (активирующий) эффект на окисление сукцината в состоянии 4, а при увеличении его концентрации наблюдалось ингибирование дыхания в состоянии 3. SA оказывает прямое регулирующее действие на генерацию АФК митохондриями, защищая органеллы от окислительного стресса, а также способствуя их участию в формировании ответа растений на неблагоприятные факторы среды [36]. У растений огурца, обработанных SA и подвергшихся воздействию холода, повысилась активность СОД, КАТ и ГПО, а также увеличилось накопление транскриптов (CuZnSOD и CAT) кодирующих их генов по сравнению с контрольными растениями [37]. SA также стимулировала накопление N, Mg, Fe, Mn и Cu в растениях кукурузы, подверженных солевому стрессу, что может оказывать влияние на осмотические и ростовые процессы [38].

Имеются и другие данные, показывающие, что обработка 1.0–5.0 мМ SA при оптимальной температуре усиливала выработку H_2O_2 , интенсивность ПОЛ и окислительное повреждение белков и приводила к образованию изомеров хлорофилла и каротина в течение 8 ч после обработки *Arabidopsis thaliana* генотипа Landsberg erecta. Уровни H_2O_2 , усиленные SA, были связаны с повышенной активностью Cu, Zn-СОД и не зависели от изменений активности КАТ и аскорбатпероксидазы [39]. Другие авторы действие высоких концентраций SA рассматривают в качестве отрицательного регулятора прорастания семян и связывают с развитием окислительного стресса [40].

В настоящее время предложено объяснение разного действия SA в растении, связанного с рецепторами гормона (NPR1 и NPR3/4), играющими противоположные роли в передаче сигналов SA: белки NPR1 активируют, а белки NPR3/4 подавляют SA-активируемый путь. При низких уровнях SA гены SAR (SA-responsive) слабо активируются комплексом NPR1-TGA, но сильно подавляются комплексом NPR3/4-TGA. При высоких уровнях SA гены SAR активируются комплексом NPR1-TGA. Между тем, связывание SA снимает опосредованную NPR3/4-TGA репрессию, дополнительно усиливая повышенную экспрессию генов SAR [41].

В ходе наших исследований применение обработки SA низкой концентрации 0.1 мкМ перед охлаждением обуславливало активацию многих процессов растений-регенерантов картофеля и,

прежде всего, определенного уровня защитных механизмов и координации ростовых процессов.

Вероятно, благодаря изменению функциональной активности клеток и соотношения ростовых процессов в разных органах поддерживался окислительный и водный градиент в растении, обеспечивая адаптационный потенциал растений. Предварительная обработка корней SA эффективно смягчала стресс, испытываемый растениями после охлаждения. Однако наблюдали различия в снижении стресса у разных линий регенерантов, что, вероятно, связано с разной интенсивностью их ростовых процессов и соответственно разным эндогенным гормональным статусом, который не позволяет быстро переключиться с ростовых реакций на защитные. Окислительный стресс в корне наиболее эффективно снижался под действием SA у $CP_{SA} + S$, в то время как восстановление роста и развития побега (образование столонов и закладка новых узлов с листьями) происходило лучше у $AP_{SA} + S$.

Показано изменение содержания Про в листьях, который может оказывать стабилизирующее действие на мембраны, снижать осмотический стресс, защищать белки от денатурации, участвовать в трансдукции стрессовых сигналов, регулировать редокс-потенциал клетки, участвовать в инактивации свободных радикалов, образуя с ними долгоживущие конъюгаты [34, 42]. В исходном контроле СР имели более высокий уровень Про, чем АР. Гипотермия привела к увеличению уровня Про по сравнению с контролем как у СР, так и у АР, что согласовывалось с данными других авторов, показавшими, что Про служит основным осмолитом для предотвращения потери воды в физиологической реакции растений на холодостресс [42]. Обработка SA снизила его уровень в листьях обеих линий регенерантов картофеля по сравнению с необработанными SA регенерантами. Это может указывать на активацию синтетических процессов, использующих Про, например, на синтез белков.

Полученные данные свидетельствуют о способности SA в низкой концентрации выполнять сигнальную функцию и активировать процессы, направленные на повышение холодостойкости растений картофеля и регенеративные процессы после отсроченной гипотермии. SA обладает защитным действием, которое выражается в активации ферментативных и неферментативных антиоксидантов, обеспечивающих снижение уровня окислительного статуса. В то же время SA влияет на изменение количественного и качественного состава ФС (в том числе ФЛ). Результатом таких метаболических модификаций является восстановление ростовых процессов, обеспечивающих восстановление листовой по-

верхности (фотосинтетического аппарата) и образование столонов.

Понимание физиологического механизма, с помощью которого картофель выходит из холодного стресса, является важным шагом для повышения устойчивости растений к холоду. Анализ антиоксидантной активности показал, что изменение активности ферментов и состава Фл, ответственных за разрушение индуцированных холодом АФК, является одним из ответов на холодовой стресс у картофеля. Согласно полученным результатам, качественный состав Фл подлежит более детальному изучению. Полученные результаты свидетельствуют о возможности разработки способа повышения устойчивости растений картофеля к гипотермии и их восстановления после действия стрессора.

Данная работа была поддержана Программой развития Томского государственного университета (Приоритет 2030).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Titov A.F., Shibaeva T.G., Ikkonen E.N., Sherudilo E.G. Plant responses to a daily short-term temperature drop: phenomenology and mechanisms // Russ. J. Plant Physiol. 2020. V. 67. P. 1003. <https://doi.org/10.1134/S1021443720060187>
2. Ikkonen E.N., Shibaeva T.G., Sherudilo E.G., Titov A.F. Reaction of respiration of winter wheat seedlings to prolonged and short daily decrease in temperature // Russ. J. Plant Physiol. 2020. V. 67. P. 312. <https://doi.org/10.31857/S0015330320020062>
3. Liu Y., Sun T., Sun Y., Zhang Y., Radojičić A., Ding Y., Tian H., Huang X., Lan J., Chen S., Orduna A.R., Zhang K., Jetter R., Li X., Zhang Y. Diverse roles of the salicylic acid receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in plant immunity // Plant Cell. 2020. V. 32. P. 4002. <https://doi.org/10.1105/tpc.20.00499>
4. Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance // Plant Sci. 2014. V. 228. P. 127. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.014>
5. Arif Y., Sami F., Siddiqui H., Bajguz A., Hayat S. Salicylic acid in relation to other phytohormones in plant: a study towards physiology and signal transduction under challenging environment // Environ. Exp. Bot. 2020. V. 175. P. 104040. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104040>
6. Сахабутдинова А.Р., Фатхутдинова Д.Р., Шакирова Ф.М. Влияние салициловой кислоты на активность антиоксидантных ферментов у пшеницы в условиях засоления // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. С. 579.
7. Фенько А.А., Репкина Н.С., Таланова В.В. Влияние салициловой кислоты на холодоустойчивость проростков огурца // Труды Карельского научного центра РАН. № 1. 2015. С. 26. <https://doi.org/10.17076/eb188>
8. Fariduddin Q., Hayat S., Ahmad A. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea* // Photosynthetica. 2003. V. 41. P. 281. <https://doi.org/10.1023/B:PHOT.0000011962.05991.6c>
9. Zafar Z., Rasheed F., Atif R.M., Javed M.A., Maqsood M., Gailing O. Foliar application of salicylic acid improves water stress tolerance in *Conocarpus erectus* L. and *Populus deltoids* L. saplings: evidence from morphological, physiological, and biochemical changes // Plants (Basel). 2021. V. 10. P. 1242. <https://doi.org/10.3390/plants10061242>
10. Kadyrbaev M.K., Golovatskaya I.F., Satkanov M.Zh. Features of regenerants morphogenesis and metabolism *in vitro*, obtained from different fragments of potato shoots // Tomsk State University Journal of Biology. 2021. №. 55. P. 114. <https://doi.org/10.17223/19988591/55/7>
11. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // Methods Enzymol. 1978. V. 52. P. 302. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6)
12. Bates L.S., Waldran R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
13. Hewitt E.J., Dickes G.J. Spectrophotometric measurements on ascorbic acid and their use for the estimation of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plant tissue // Biochem J. 1961. V. 78. P. 384. <https://doi.org/10.1042/bj0780384>
14. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods Enzymol. 1987. V. 148. P. 350. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
15. Mancinelli A.L., Hoff A.M., Cottrell M. Anthocyanin production in chl-rich and chl-poor seedlings // Plant Physiol. 1988. V. 86. P. 652. <https://doi.org/10.1104/pp.86.3.652>
16. Ломбоева С.С., Танхаева Л.М., Оленников Д.Н. Методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в надземной части ортилии однобокой (*Orthilia secunda* (L.) House) // Химия растительного сырья. 2008. № 2. С. 65.
17. Зими́на Л.Н., Куркин В.А., Рыжов В.М. Исследование флавоноидного состава травы зверобоя пятистого методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Медицинский альманах. 2012. Т. 2. С. 227.
18. Zagorskina N.V., Dubravina G.A., Alyavina A.K., Goncharuk E.A. Effect of ultraviolet (UV-B) radiation on the formation and localization of phenolic compounds in tea plant callus cultures // Russ. J. Plant Physiol. 2003. V. 50. P. 270. <https://doi.org/10.1023/A:1022945819389>
19. Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Anal Biochem. 1971. V. 44. P. 276. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)

20. Shevyakova N.I., Stetsenko L.A., Meshcheryakov A.B., Kuznetsov V.I. The activity of the peroxidase system in the course of stress-induced CAM development // Russ. J. Plant Physiol. 2002. V. 49. P. 598.
<https://doi.org/10.1023/A:1020224531599>
21. Esen A. A simple method for quantitative, semiquantitative, and qualitative assay of protein // Anal Biochem. 1978. V. 89. P. 264.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90749-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90749-2)
22. Singh R., Singh S., Parihar P., Mishra R.K., Tripathi D.K., Singh V.P., Chauhan D.K., Prasad S.M. Reactive oxygen species (ROS): beneficial companions of plants' developmental processes // Front Plant Sci. 2016. V. 7. P. 1299.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01299>
23. Skyba M., Petijová L., Košuth J., Koleva D.P., Ganeva T.G., Kapchina-Toteva V.M., Cellárová E. Oxidative stress and antioxidant response in *Hypericum perforatum* L. plants subjected to low temperature treatment // J. Plant Physiol. 2012. V. 169. P. 955.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.02.017>
24. Eom S.H., Ahn M.A., Kim E., Lee H.J., Lee J.H., Wi S.H., Kim S.K., Lim H.B., Hyun T.K. Plant response to cold stress: cold stress changes antioxidant metabolism in heading type kimchi cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) // Antioxidants (Basel). 2022. V. 11. P. 700.
<https://doi.org/10.3390/antiox11040700>
25. Ogorodnova U.A., Akhmetov A.M., Shakirova F.M., Timofeeva O.A. Changes in hormonal status and expression of lectin genes in wheat seedlings treated with stevioside and exposed to low above-zero temperatures // Russ. J. Plant Physiol. 2020. V. 67. P. 259.
<https://doi.org/10.1134/S1021443720010136>
26. Huang H., Ullah F., Zhou D.X., Yi M., Zhao Y. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses // Front. Plant Sci. 2019. V. 25. P. 800.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>
27. Jaspers P., Kangasjärvi J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling // Physiol. Plant. 2010. V. 138. P. 405.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01321.x>
28. Iqbal N., Fatma M., Gautam H., Sehar Z., Rasheed F., Iqbal M., Khan R., Sofi A., Khan N.A. Salicylic acid increases photosynthesis of drought grown mustard plants effectively with sufficient-N via regulation of ethylene, abscisic acid, and nitrogen-use efficiency // J. Plant Growth Regul. 2022. V. 41. P. 1966.
<https://doi.org/10.1007/s00344-021-10565-2>
29. Khan M.I.R., Fatma M., Per T.S., Anjum N.A., Khan N.A. Salicylic acid – induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. P. 462.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>
30. Prodhan M.Y., Munemasa S., Nahar M.N.-E.N., Nakamura Y., Murata Y. Guard cell salicylic acid signaling is integrated into abscisic acid signaling via the Ca^{2+} /CPK-dependent pathway // Plant Physiol. 2018. V. 178. P. 441.
<https://doi.org/10.1104/pp.18.00321>
31. Szalai G., Pál M., Janda T. Abscissic acid may alter the salicylic acid-related abiotic stress response in maize // Acta Biol. Szeged. 2011. V. 55. P. 155.
32. Dugas A.J., Castañeda-Acosta Jr.J., Bonin G.C., Price K.L., Fischer N.H., Winston G.W. Evaluation of the total peroxyl radical-scavenging capacity of flavonoids: structure–activity relationships // J. Nat Prod. 2000. V. 63. P. 327.
<https://doi.org/10.1021/np990352n>
33. Cai W., Chen Y., Xie L., Zhang H., Hou C. Characterization and density functional theory study of the antioxidant activity of quercetin and its sugar-containing analogues // Eur. Food Res. Technol. 2014. V. 238. P. 121.
<https://doi.org/10.1007/s00217-013-2091-x>
34. Kuznetsov V.V., Shevyakova N.I. Proline under stress: biological role, metabolism, and regulation // Russ. J. Plant Physiol. 1999. V. 46. P. 274.
35. Naraikina N.V., Pchelkin V.P., Tsydendambaev V.D., Trunova T.I. Changes in fatty acid composition and lipid content of potato leaves during low temperature hardening: role of $\delta 12$ -acyl-lipid desaturase // Russ. J. Plant Physiol. 2020. V. 67. P. 267.
<https://doi.org/10.1134/S1021443720020119>
36. Butsanets P.A., Shugaeva N.A., Shugaev A.G. Effect of melatonin and salicylic acid on ROS generation by mitochondria of lupine seedlings // Russ. J. Plant Physiol. 2021. V. 68. P. 745.
<https://doi.org/10.1134/S1021443721040038>
37. Ignatenko A.A., Talanova V.V., Repkina N.S., Titov A.F. Effect of salicylic acid on antioxidant enzymes and cold tolerance of cucumber plants // Russ. J. Plant Physiol. 2021. V. 68. P. 491.
<https://doi.org/10.1134/S1021443721020059>
38. Gunes A., Inal A., Alpaslan M., Eraslan F., Bagci E.G., Cicek N. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity // J. Plant Physiol. 2007. V. 164. P. 728.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.12.009>
39. Rao M.V., Paliyath G., Ormrod D.P., Murr D.P., Watkins C.B. Influence of salicylic acid on H_2O_2 production, oxidative stress, and H_2O_2 -metabolizing enzymes (salicylic acid-mediated oxidative damage requires H_2O_2) // Plant Physiol. 1997. V. 115. P. 137.
<https://doi.org/10.1104/pp.115.1.137>
40. Vicente M. R.-S., Plasencia J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development // J. Exp. Bot. 2011. V. 62. P. 3321.
<https://doi.org/10.1093/jxb/err031>
41. Jia X., Wang L., Zhao H., Zhang Y., Chen Z., Xu L., Yi K. The origin and evolution of salicylic acid signaling and biosynthesis in plants // Molecular Plant. 2023. V. 16. P. 245.
<https://doi.org/10.1016/j.molp.2022.12.002>
42. Hayat S., Hayat Q., Alyemeni M.N., Wani A.S., Pichtel J., Ahmad A. Role of proline under changing environments: a review // Plant Signal Behav. 2012. V. 7. P. 1456.
<https://doi.org/10.4161/psb.21949>