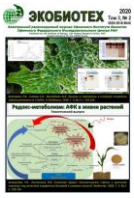
ЭКОБИОТЕХ
ISSN 2618-964X http://ecobiotech-journal.ru



УЧАСТИЕ НЕЭНЗИМАТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ В АДАПТАЦИИ РЕДКОЙ ОРХИДЕИ (*LISTERA OVATA* (L.) R.BR.) К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ ЗОЛООТВАЛА

Малева М.Г., Филимонова Е.И., Борисова Г.Г., Желнарчук А.С., Новиков П.Е.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия
E-mail: maria.maleva@mail.ru

Были изучены про- и антиоксидантные реакции в листьях редкой орхидеи *Listera ovata* (L.) R.Br. из естественного и техногенно нарушенного (золоотвал) местообитаний. У растений, колонизирующих зольные субстраты, наблюдалось более интенсивное перекисное окисление липидов: количество малонового диальдегида было в 1,7 раз выше, чем у растений из лесного фитоценоза. Это свидетельствует о неблагоприятных эдафических условиях (недостаточная обеспеченность элементами питания, низкая микробиологическая активность, бесструктурность и др.). Установлено, что окислительное повреждение липидов у *L. ovata* сопровождалось активизацией в листьях синтеза неэнзиматических антиоксидантов: каротиноидов, аскорбата, пролина, фенольных соединений и растворимых белковых тиолов. Причем в наибольшей степени они накапливались у орхидей из популяции на частично рекультивированном участке золоотвала, что, по-видимому, связано с лучшей обеспеченностью растений макроэлементами. Проведенное исследование позволяет предположить, что активизация синтеза неэнзиматических антиоксидантов способствовала натурализации *L. ovata* на зольных субстратах и повышению адаптивного потенциала орхидеи в условиях длительного стрессового воздействия.

Ключевые слова: Listera ovata, антиоксидантная система, зольный субстрат, окислительный стресс, редокс-реакции, устойчивость растений

THE CONTRIBUTIONOF NON-ENZYMATIC ANTIOXIDANTS IN RARE ORCHID (*LISTERA OVATA* (L.) R.BR.) ADAPTATION TO ADVERSE CONDITIONS OF ASH DUMP

Maleva M.G., Filimonova E.I., Borisova G.G., Zhelnarchuk A.S., Novikov P.E.

Ural Federal University named after the first President of Russia B. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia
E-mail: maria.maleva@mail.ru

The pro- and antioxidant reactions of the rare orchid plant *Listera ovata* (L.) R.Br. from natural and technogenically disturbed (ash dump) territories were studied. Plants colonizing ash substrates showed more intense lipid peroxidation: the malondialdehyde content was 1.7 times higher than that of plants from forest phytocoenosis. This indicates unfavorable edaphic conditions (insufficient supply of nutrients, low microbiological activity, structurelessness, etc.). It was found that lipid oxidative damage in *L. ovata* was accompanied by the synthesis of non-enzymatic antioxidants in leaves: carotenoids, ascorbate, proline, phenolic compounds and soluble protein thiols. Moreover, they accumulated to the greatest extent among orchids from the population in a partially recultivated site of the ash dump, which connected with the better supply of plants with macronutrients. The study suggests that activation of the synthesis of non-enzymatic antioxidants contributed to the naturalization of *L. ovata* on ash substrates and increased adaptive potential of orchid plant under prolonged stress exposure.

Keywords: Listera ovata, antioxidant system, ash substrate, oxidative stress, redox reactions, plant tolerance

Поступила в редакцию: 12.05.2020

DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-2-261-270

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени значительные территории по всему миру заняты отвалами золы и шлаков, которые образуются в результате работы тепловых электростанций. Зола

каменных и бурых углей, слагающая золоотвалы, обладает рядом особенностей. Для нее характерны щелочная реакция среды, низкая микробиологическая активность, слабое развитие микоризы, недостаточная обеспеченность элементами питания, особенно доступным азотом, токсические концентрации некоторых металлов, неблагоприятный гранулометрический состав, бесструктурность [Чибрик и др., 2011; Pandey et al., 2015; Gajic´et al., 2018]. Растения, колонизирующие такие техногенные субстраты, подвергаются действию целого комплекса стрессовых факторов и вынуждены адаптироваться к негативным условиям. Одним из неспецифических путей обеспечения устойчивости растений к стрессовым воздействиям является поддержание внутриклеточного редокс-гомеостаза [Blokhina et al., 2003; Прадедова и др., 2017]. Известно, что в результате неблагоприятного воздействия факторов внешней среды, в клетках растений могут активизироваться прооксидантные процессы, что приводит к развитию окислительного стресса [Gajić et al., 2016; Maleva et al., 2019]. Накопление малонового диальдегида (МДА) и других продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) может служить, с одной стороны, индикаторной реакцией, отражающей степень стрессового воздействия [Полесская, 2007; Gajić et al., 2018], с другой – сигналом для экспрессии генов ряда антиоксидантных ферментов и неэнзиматических антиокислителей [Weber et al., 2004]. Роль последних при длительном техногенном воздействии *in situ* изучена недостаточно.

Имеются сведения, что техногенно нарушенные территории, включая золоотвалы, на ранних стадиях сукцессии могут заселяться некоторыми видами орхидных [Shefferson et al., 2008; Филимонова и др., 2018; Мишагина, 2018; Filimonova et al., 2019; De Agostini et al., 2020]. В последние годы на зольных субстратах теплоэлектростанций Свердловской области были обнаружены ценопопуляции отдельных представителей семейства Orchidaceae, включая редкий для Среднего Урала вид орхидеи – *Listera ovata* (L.) R.Br. [Филимонова и др., 2018].

Цель исследования – выявить степень стрессового воздействия зольных субстратов на *L. ovata* (по накоплению МДА) и оценить вклад неэнзиматических антиоксидантов в формирование устойчивости орхидеи к неблагоприятным эдафическим условиям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Listera ovata (L.) R.Br. (тайник яйцевидный/овальный) относится к редким представителям семейства Orchidaceae, включенным в Красную книгу Свердловской области [Красная книга…, 2018]. Это травянистый многолетник с коротким толстоватым корневищем, мезофит, бореально-неморальный вид. Растет как на плодородных, так и на бедных почвах. Для прорастания семян и развития растения в первые годы жизни необходимо присутствие микоризы [Вахрамеева и др., 2014].

Отбор растительного материала проводили в окрестностях города Верхний Тагил Свердловской области в период цветения орхидеи (середина июля 2018 г.) из лесного фитоценоза (сайт 1) и золоотвала Верхнетагильской ГРЭС, ВТГРЭС (сайты 2 и 3), рис. 1.

Сайт 1 (57º20'13"N 60º01'43"E) представляет собой естественный лесной фитоценоз в окрестностях поселка Белоречка. Сомкнутость крон древесных – 0,8; общее проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса – 70–80%.

Сайт 2 (57º20'45"N 59º56'46"E) – нерекультивированный участок золоотвала ВТГРЭС. Возраст растительного сообщества около 35 лет. Лесной фитоценоз характеризуется сомкнутостью 0,5–0,6. Общее проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса – 20–25%.

Сайт 3 (57º20'20"N 59º56'29"E) – рекультивированный участок золоотвала ВТГРЭС, на котором проводилась частичная биологическая рекультивация, путем нанесения глины полосами шириной 8–10 м и толщиной наносимого слоя – 15–20 см. Возраст местного растительного сообщества около 45 лет. Сомкнутость крон древесных – 0,6–0,7. Общее проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса – 35–40%.

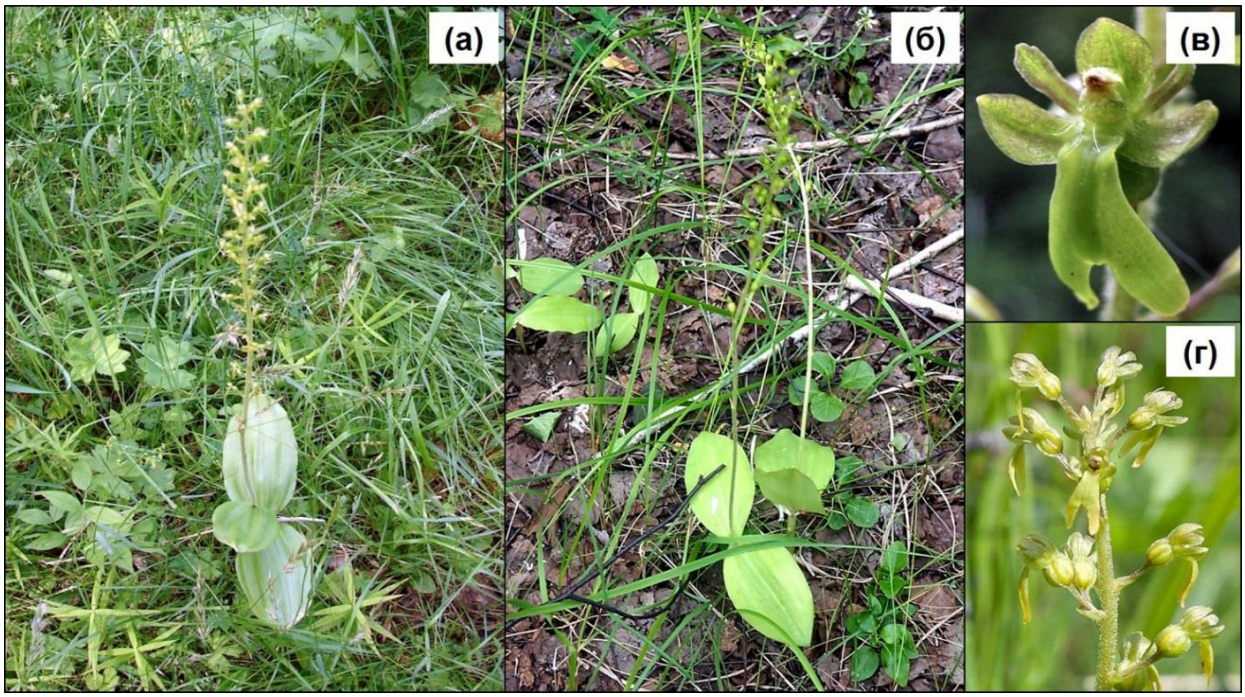


Рис. 1. Генеративные особи *L. ovata* (L.) R.Br. в естественном фитоценозе (а) и на золоотвале Верхнетагильской ГРЭС (б); цветок (в), соцветие (г).

С каждого участка отбирали по 4 генеративных особи (в стадии цветения). Растения аккуратно выкапывали вместе с корнями и частью субстрата, помещали в стерильный пакет и доставляли в лабораторию. Физиолого-биохимические характеристики, такие как интенсивность ПОЛ, содержание каротиноидов, аскорбиновой кислоты, свободного пролина, фенольных соединений, растворимых белков и тиолов измеряли в свежем растительном материале (листьях) спектрофотометрически на PD-303UV («APEL», Япония), согласно стандартным методам.

Количество продуктов ПОЛ определяли по реакции МДА с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Измерение оптической плотности проводили при длинах волн 532 и 600 нм [Методы оценки …, 2012]. Содержание каротиноидов измеряли при длинах волн 470, 624, 647 и 663 нм после экстракции в 80% ацетоне и рассчитывали по Lichtenthaler [1987]. Содержание аскорбата оценивали путем измерения скорости его окисления при 265 нм, после экстрагирования в смеси метафосфорной кислоты и фосфата натрия (3:2 v/v) [Методы оценки …, 2012]. Содержание свободного пролина определяли по модифицированной методике [Калинкина и др., 1990] после экстракции в горячей воде (95°C) и кипячения на водяной бане в течение 20 минут. Для окрашивания использовали смесь нингидринового реактива с ледяной уксусной кислотой (1:1 v/v); оптическую плотность измеряли при длине волны 520 нм. Общее содержание фенольных соединений в листьях определяли при длине волны 725 нм с использованием реактива Фолина–Чокальтеу. В качестве стандарта применяли галловую кислоту [Singleton, 1999]. Содержание растворимого белка определяли при длине волны 595 нм согласно методу Бредфорд [Методы оценки …, 2012]. Общее

содержание растворимых тиолов определяли после реакции с реактивом Элмана (5.5'-дитиобис(2-нитробензойная) кислота) при 412 нм [Методы оценки …, 2012]. Содержание белковых тиолов рассчитывали путем вычитания количества небелковых, предварительно полученных путем осаждения белков 50%-ной трихлоруксусной кислотой, из общей растворимой фракции. В качестве стандарта использовали восстановленный глутатион. Все исследованные параметры рассчитывали на 1 г сухого веса, исходя из измеренного соотношения сырого материала к сухому.

Содержание общего азота и фосфора в высушенных и гомогенизированных листьях измеряли спектрофотометрически после мокрого озоления смесью кислот: H_2SO_4 и $HClO_4$. Азот определяли с помощью реактива Несслера, а фосфор – с молибдатом аммония в кислой среде [Биохимия…, 2017]. Содержание металлов (Ca, Mg, K) в листьях *L. ovata* определяли при помощи атомно-абсорбционной спектрометрии на Varian AA240FS (США) после озоления 70% HNO_3.

Определение физиологических параметров проводили в 4-кратной биологической и 4–6-кратной аналитической повторностях. Достоверность различий оценивали с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни при уровне значимости $p < 0,05$. На рисунках и в таблице представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки; разными латинскими буквами показаны достоверные различия между исследуемыми участками.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Активные формы кислорода (АФК) могут вызывать свободнорадикальное окисление биомолекул, включая мембранные липиды, что приводит к нарушению их функций в клетке. Наиболее уязвимы к действию АФК липиды [Шарова, 2016]. Среди конечных продуктов ПОЛ преобладают альдегиды, одним из которых является МДА. По его содержанию принято судить об уровне окислительного стресса, который испытывает растение [Полесская, 2007; Gajić et al., 2018]. Исследование показало, что у растений популяций *L. ovata*, колонизирующих зольные субстраты (сайты 2 и 3), содержание МДА было в среднем в 1,7 раза выше, чем в естественном лесном фитоценозе (рис. 2). Очевидно, именно неблагоприятные эдафические условия золоотвала оказывали стрессовое воздействие на орхидеи и послужили причиной интенсификации прооксидантных процессов.

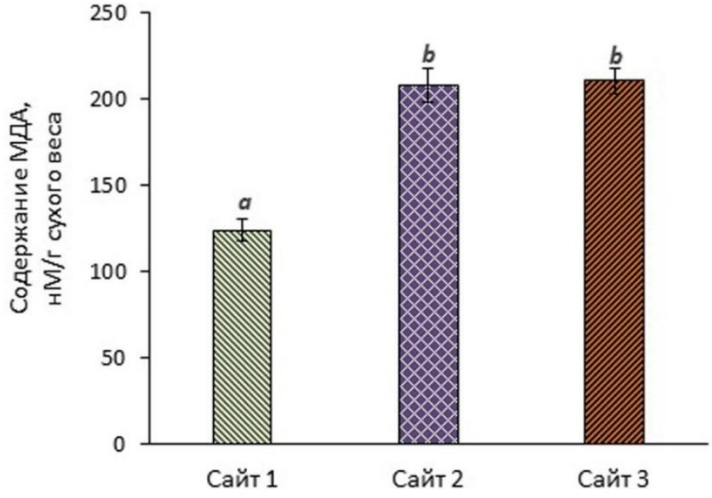


Рис. 2. Содержание продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида) в листьях *L. ovata* из естественного фитоценоза (сайт 1) и золоотвала (сайты 2 и 3).

По-видимому, рекультивационные мероприятия на золоотвале (сайт 3) не влияли на степень окислительного повреждения у растений: достоверных различий по содержанию МДА в листьях *L. ovata* между участками золотвала (сайты 2 и 3) не выявлено. Полученные результаты согласуются с данными других авторов [Gajic´et al., 2018], которые констатировали значительное повышение содержания МДА в листьях и корнях растений разных видов, произрастающих на отложениях летучей золы, и объясняли этот факт токсическим действием высоких концентраций в золе As и B и пониженным содержанием таких важнейших микроэлементов как Cu, Zn и Mn.

Следует отметить, что, несмотря на комплексное воздействие неблагоприятных факторов на локальные популяции тайника, колонизирующие зольные субстраты, они оказались более многочисленными, по сравнению с природной (в среднем в 3 раза). Очевидно, это объясняется тем, что в естественном экотопе эти орхидеи, для которых характерна слабая конкурентная способность, испытывали более выраженный фитоценотический стресс.

Одним из основных неспецифических путей формирования устойчивости растений к стрессовым факторам, вызывающим интенсификацию процессов ПОЛ, является активизация системы антиоксидантной защиты. Важными компонентами этой системы являются как антиоксидантные ферменты, так и неэнзиматические антиоксиданты, к которым относят вещества различной химической природы [Blokhina et al., 2003; Шарова, 2016].

Низкомолекулярные компоненты антиоксидантной защиты растений часто выполняют и другие функции, помимо антиоксидантной [Blokhina et al., 2003]. Например, каротиноиды являются не только вспомогательными фотосинтетическими пигментами, но и могут восстанавливать АФК за счет двойных связей, тем самым защищая хлорофиллы от фотоокисления [Стржалка и др., 2003]. Антиоксидантный эффект каротиноидов связан с гашением триплетного хлорофилла и синглетного кислорода [Шарова, 2016].

Содержание каротиноидов в листьях *L. ovata,* колонизирующего зольные субстраты, было в среднем на 45% выше по сравнению с естественным фитоценозом (рис. 3а). Очевидно, повышение количества этих вспомогательных пигментов у растений на золосодержащих почвах является ответной реакцией на стресс и направлено на защиту молекул хлорофиллов от фотоокисления в условиях повышенной инсоляции более открытого местообитания (золоотвал). Обратная тенденция (снижение содержания каротиноидов в листьях растений, произрастающих на золоотвале) была отмечена в исследованиях Gajic´et al. [2016], объектом которых была *Festuca rubra*. Известно, что проявление антиоксидантных свойств каротиноидов нередко сопровождается их окислительной деструкцией [Стржалка и др., 2003]. По-видимому, растения *L. ovata* обладали достаточно высоким потенциалом устойчивости в отношении каротиноидов.

Одним из важнейших водорастворимых антиоксидантов в клетках живых организмов является аскорбат. Известно, что в клетках растений он выполняет целый ряд важных антиоксидантных функций: например, участвует в обрыве цепных реакций окисления органических соединений, препятствуя ПОЛ [Шарова, 2016]. Кроме того, аскорбат может напрямую реагировать с АФК и участвовать в их нейтрализации, а также восстанавливать другие важные антиоксиданты (фенольные вещества, токоферол) и пр. Содержание аскорбиновой кислоты в растениях *L. ovata*, произрастающих на сайтах 2 и 3 было, соответственно, в 1,6 и 2,1 раза выше, чем на сайте 1 (рис. 3б). Активизация синтеза аскорбата в ответ на окислительный стресс была отмечена ранее и у других видов, произрастающих в условиях золоотвала [Gajic´et al., 2018], что является подтверждением

важнейшей роли этого антиоксиданта в формировании устойчивости растений к действию стрессовых эдафических факторов.

У многих растений в условиях биотического и абиотического стрессового воздействия происходит накопление пролина. Эта протеиногенная аминокислота оказывает стабилизирующее действие на мембраны, уменьшает осмотический стресс, защищает белки от денатурации, регулирует редокс-потенциал клетки, участвует в передаче стрессового сигнала, а также в инактивации свободных радикалов, образуя с ними долгоживущие конъюгаты [Hare and Cress, 1997; Колупаев и др., 2014]. В условиях стресса аккумуляция пролина индуцируется как за счет увеличения синтеза, так и благодаря восстановлению окисленной аминокислоты [Hare and Cress, 1997].

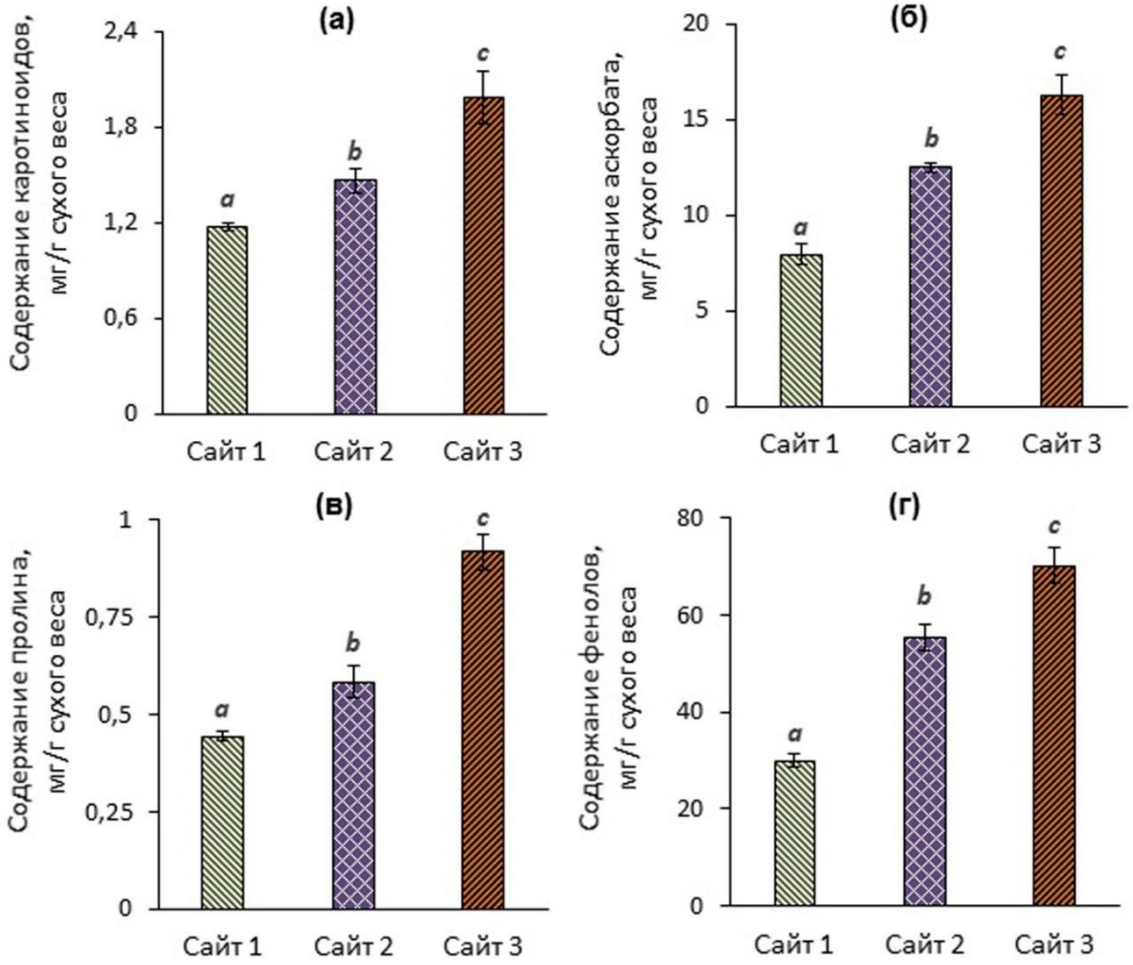


Рис. 3. Содержание неэнзиматических антиоксидантов в листьях *L. ovata* из естественного фитоценоза (сайт 1) и золоотвала (сайты 2 и 3).

На рекультивированном участке золоотвала (сайт 3) содержание пролина в листьях *L. ovata* было более чем в 2 раза выше, чем в естественном фитоценозе (рис. 3в). Увеличение его количества у растений, колонизирующих нерекультивированную часть золоотвала (сайт 2), было выражено в меньшей степени.

Важную роль в нейтрализации АФК играют фенольные соединения. Антиоксидантная активность фенолов основана на их способности отдавать электрон и протон и переходить в форму относительно стабильного феноксильного радикала, способного делокализовать неспаренный электрон [Шарова, 2016]. Кроме того, они способны хелатировать металлы за счет гидроксильных групп, а также стабилизировать мембраны [Blokhina et al., 2004;

Полесская, 2007]. У растений *L. ovata*, колонизирующих зольные субстраты, обнаружено достоверное увеличение количества фенольных соединений (в среднем в 2,1 раза, рис. 3г). Этот факт согласуется с литературными данными, в которых отмечено, что у многих растений, устойчивых к действию стрессовых факторов, наблюдалось накопление фенольных соединений [Michalak, 2006; Прадедова и др., 2011]. Способность к активизации синтеза фенолов в неблагоприятных условиях золоотвала была выявлена также у других видов растений [Gajic´et al., 2016; 2018].

В последние десятилетия к компонентам антиоксидантной системы растения принято относить соединения, содержащие SH-группы [Шарова, 2016; Прадедова и др., 2017]. Как белковые, так и небелковые клеточные фракции тиолов способны к связыванию металлов внутри растения через SH-группы. Кроме того, они могут непосредственно обезвреживать свободные радикалы [Прадедова и др., 2011].

Установлено, что большая часть растворимых тиолов в листьях *L. ovata* (до 80%) была представлена белковыми соединениями (рис. 4а). У орхидей, произрастающих на золоотвале, содержание белковых тиолов было выше (в среднем на 20%) по сравнению с естественным фитоценозом. При этом достоверных различий между участками по содержанию небелковых тиолов и самого растворимого белка не было выявлено (рис. 4а, б).

В целом проведенное исследование свидетельствует о том, что в неблагоприятных условиях золоотвала у *L. ovata* наблюдалось увеличение содержания практически всех изученных неэнзиматических антиоксидантов. Очевидно, активизация их синтеза является ответной неспецифической реакцией на окислительный стресс, способствующей поддержанию редокс-баланса в клетке и обеспечивающей в целом адаптацию орхидеи к неблагоприятным условиям техногенно нарушенного местообитания.

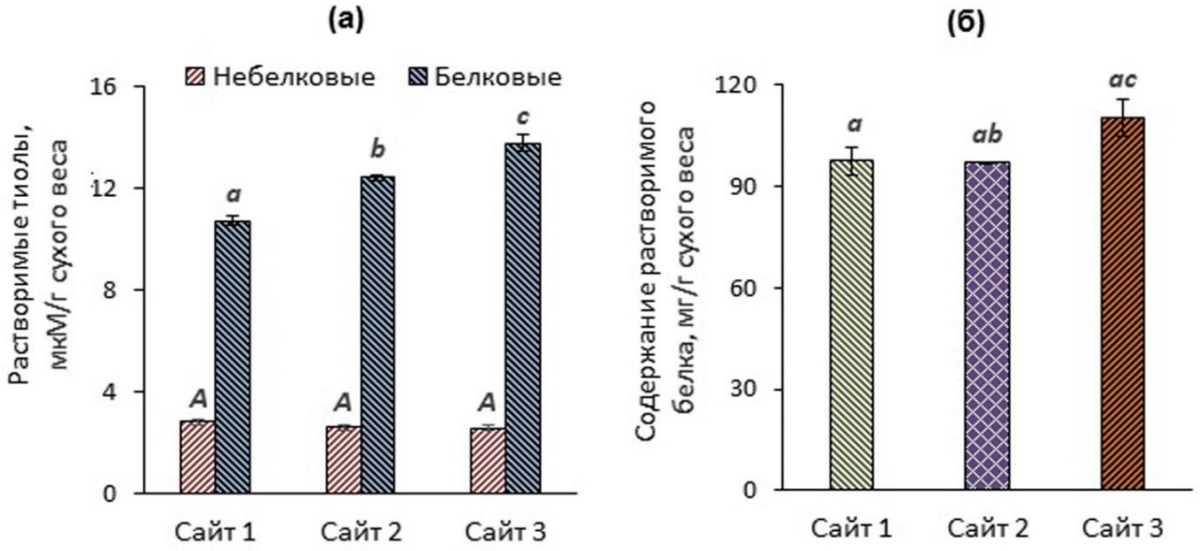


Рис. 4. Содержание растворимых тиолов и белка в листьях *L. ovata* из естественного фитоценоза (сайт 1) и золоотвала (сайты 2 и 3).

Особый интерес представляет сопоставление ответных антиоксидантных реакций *L. ovata* из популяций, колонизирующих разные участки золоотвала (сайты 2 и 3). С одной стороны, следует отметить примерно одинаковую степень окислительного повреждения, о чем можно судить по содержанию МДА, а также однонаправленный характер изменения содержания изученных неэнзиматических антиоксидантов. С другой стороны,

прослеживалась отчетливо выраженная тенденция: максимальный подъем уровня каротиноидов, пролина, аскорбата, фенольных соединений и белковых тиолов наблюдался на частично рекультивированном участке.

Как известно, процессы самозарастания золоотвалов происходят очень медленно. Зольные субстраты отличаются пониженным содержанием биогенных элементов, особенно азота. Применение рекультивационных мероприятий позволяет улучшить эдафические условия и ускорить формирование фитоценозов на зольных субстратах [Чибрик и др., 2011].

Исследование показало, что содержание общего азота в листьях *L. ovata* на рекультивированном участке золоотвала было в среднем в 1,5 раза выше, чем на нерекультивированном (таблица). Аналогичная тенденция прослеживалась и при сравнении двух участков золоотвала по накоплению растениями фосфора, кальция и магния. Исключение составил калий – достоверных различий между участками по его содержанию в надземных и подземных органах *L. ovata* не выявлено.

Таблица. Содержание макроэлементов в листьях *L. ovata* из естественного фитоценоза (сайт 1) и золоотвала (сайты 2 и 3)

Макроэлемент	Содержание в листьях, мг/г сухого веса		
	Сайт 1	Сайт 2	Сайт 3
N	42,8 ± 1,3 *a*	23,1 ± 2,3 *b*	33,0 ± 4,1 *c*
P	4,5 ± 0,0 *a*	5,5 ± 0,2 *b*	6,1 ± 0,3 *c*
K	33,0 ± 0,6 *a*	48,6 ± 0,7 *b*	45,3 ± 0,4 *b*
Ca	19,2 ± 0,3 *a*	16,3 ± 1,4 *b*	20,0 ± 0,6 *a*
Mg	2,2 ± 0,1 *a*	1,4 ± 0,1 *b*	1,7 ± 0,1 *c*

Вероятно, орхидеи, колонизирующие рекультивированный участок золоотвала, нуждаясь в повышенном количестве антиоксидантов и имея необходимые пластические и энергетические ресурсы, способны лучше реализовать свой адаптивный потенциал, чем растения, произрастающие на чистых зольных субстратах. Таким образом, можно сделать предположение о том, что эдафические условия, сформировавшиеся на рекультивированном участке золоотвала, в большей степени способствовали обеспечению растений необходимыми нутриентами и благоприятствовали процессам синтеза биологически важных соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование основано на сравнительном анализе про- и антиоксидантных реакций *Listera ovata* в естественном и техногенно нарушенном местообитаниях, что дает возможность оценить степень стрессового воздействия зольных субстратов и выявить адаптивный потенциал этой орхидеи.

Полученные результаты позволили отметить повышенный уровень содержания продуктов перекисного окисления липидов в листьях растений *L. ovata*, произрастающих на золоотвале. Этот факт свидетельствует о возможном окислительном стрессе, который вызывал компенсаторную реакцию активизации синтеза веществ, выступающих в качестве антиоксидантов: каротиноидов, аскорбата, пролина, фенольных соединений и растворимых белковых тиолов. Причем их накопление в большей степени наблюдалось на частично

рекультивированном участке золоотвала. По-видимому, способность тайника яйцевидного к активизации антиоксидантных реакций способствовала его натурализации на техногенных субстратах и адаптации к действию стрессовых факторов в условиях золоотвала.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ и Правительства Свердловской области в рамках научного проекта № 20-44-660011, а также Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 02.A03.21.0006).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биохимия: практикум / [Учеб.-метод. пособие]. Под общ. ред. Г.Г. Борисовой. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2017. 116 с.
2. Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Татаренко И.В. Орхидные России (биология, экология и охрана). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 437 с.
3. Калинкина Л.Г., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот и их определение на аминокислотном анализаторе // Физиология растений. 1990. Т. 37 (3). С. 617–621.
4. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Серія: Біологія. 2014. Т. 2 (32). С. 6–22.
5. Красная книга Свердловской области: животные, растения, грибы. Екатеринбург: ООО «Мир», 2018. 450 с.
6. Методы оценки антиоксидантного статуса растений: уч.-метод. пособие / Г.Г. Борисова и др.; отв. ред. Н.В. Чукина. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 72 с.
7. Мишагина Д.А. Виды семейства Orchidaceae техногенно-измененных экосистем Ивановской области // Успехи современного естествознания. 2018. № 6. С. 102–106.
8. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: Изд-во КДУ, 2007. 140 с.
9. Прадедова Е.В., Ищеева 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.
10. Прадедова Е.В., Нимаева О.Д., Саляев Р.К. Редокс-процессы в биологических системах // Физиология растений. 2017. Т. 64 (6). С. 433–445.
11. Стржалка К., Костецка-Гугала А., Латовски Д. Каротиноиды растений и стрессовое воздействие окружающей среды: роль модуляции физических свойств мембран каротиноидами // Физиология растений. 2003. Т. 50 (2). С. 188–193.
12. Филимонова Е.И., Лукина Н.В., Глазырина М.А. Орхидные на нарушенных промышленностью землях Урала // Экология и география растений и растительных сообществ: Материалы VI Международной научной конференции. Екатеринбург, 2018. С. 986–991.

13. Чибрик Т.С., Лукина Н.В., Филимонова Е.И., Глазырина М.А. Экологические основы и опыт биологической рекультивации нарушенных промышленностью земель. Екатеринбург: Изд-во Уральского университета, 2011. 268 с.
14. Шарова Е.И. Антиоксиданты растений: учеб. пособие. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2016. 140 с.
15. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // Annals of Botany. 2003. V. 91 (2). P. 179–194. https://doi.org/10.1093/aob/mcf118
16. De Agostini A., Caltagirone C., Caredda A. et al. Heavy metal tolerance of orchid populations growing on abandoned mine tailings: A case study in Sardinia Island (Italy) // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020. V. 189. 110018. [*Published on-line*]. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110018
17. Filimonova E., Lukina N., Glazyrina M. et al. A comparative study of *Epipactis atrorubens* in two different forest communities of the Middle Urals, Russia // Journal of Forestry Research. 2019. [*Published on-line*]. https://doi.org/10.1007/s11676-019-01010-y
18. Gajic´ G., Djurdjevic´L., Kostic O. et al. Ecological potential of plants for phytoremediation and ecorestoration of fly ash deposits and mine wastes // Frontiers in Environmental Science. 2018. V. 6 (124). https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00124
19. Gajić G., Djurdjević L., Kostić O. et al. Assessment of the phytoremediation potential and an adaptive response of *Festuca rubra* L. sown on fly ash deposits: Native grass has a pivotal role in ecorestoration management // Ecological Engineering. 2016. V. 93. P. 250–261. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.021
20. Hare P.D., Cress W.A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulations in plants // Plant Growth Regulations. 1997. V. 21. P. 79–102.
21. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // Methods in Enzymology. 1987. V. 148. P. 350–382.
22. Maleva M.G., Borisova G.G., Shiryaev G.I. Adaptive potential of *Typha latifolia* L. under extreme technogenic pollution // AIP Conference Proceedings. 2019. V. 2063. 030013. https://doi.org/10.1063/1.5087321
23. Michalak A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress // Polish Journal of Environmental Studies. 2006. V. 15. P. 523–530.
24. Pandey V.C., Prakash P., Bajpai O. et al. Phytodiversity on fly ash deposits: Evaluation of naturally colonized species for sustainable phytorestoration // Environmental Science and Pollution Resurses, 2015. V. 22. P. 2776–2787. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3517-0 ·
25. Shefferson R., Kull T., Tali K. Mycorrhizal interactions of orchids colonizing Estonian mine tailings hills // American Journal of Botany. 2008. V. 95 (2). P. 156–164. https://doi.org/10.3732/ajb.95.2.156
26. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent // Methods in Enzymology. 1999. V. 299. P. 152–178.
27. Weber H., Chetelat A., Reymond P., Farmer E.E. Selective and powerful stress gene expression in Arabidopsis in response to malondialdehyde // Plant Journal. 2004. V. 37. P. 877–888. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2003.02013.x