

УДК 581 : 576.5 : 634.224

DOI 10.30679/2587-9847-2021-31-34-41

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОБЕГАХ ЯБЛОНИ В ЗИМНЕ-ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД

Ненько Н.И., д-р с.-х. наук, Киселева Г.К., канд. биол. наук,
Ульяновская Е.В., д-р с.-х. наук, Караваева А.В., Схаляхо Т.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский
федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»
(Краснодар)

Реферат. Изучена зимостойкость сортов яблони различного эколого-географического происхождения в условиях изменяющегося климата. Выявлено, что индукция защитного ответа более выражена у отечественных сортов яблони Союз, Прикубанское, Орфей в сравнении с интродуцированными сортами Эрли Мак, Пирос, Лигол. Установлено, что механизмы биохимической адаптации специфичны для каждого сорта и зависят от сложившихся метаболических взаимодействий.

Ключевые слова: яблоня, сорт, зимостойкость, защитный ответ, метаболические взаимодействия

Summary. The winter hardiness of apple varieties of various ecological and geographical origin under changing climate conditions is studied. The induction of a protective response is more pronounced in domestic apple varieties of Soyuz, Prikubanskoe, Orfey in comparison with the introduced varieties of Erly Mak, Piros, Ligol. It was found that the mechanisms of biochemical adaptation are specific for each cultivar and depend on the prevailing metabolic interactions.

Key words: apple-tree, cultivar, winter hardiness, protective response, metabolic interactions

Введение. Устойчивость к стрессовым факторам зимне-весеннего периода является важной составляющей адаптивного потенциала сорта. Адаптация регионального сорта яблони в условиях меняющегося климата требует оценки наблюдаемых тенденций физиолого-биохимических изменений, связанных с устойчивостью. В связи с этим мониторинг и детальное изучение физиолого-биохимических процессов в годичном цикле развития яблони является важным для разработки методов диагностики устойчивости и выявления наиболее адаптивных генотипов. Ответные реакции, позволяющие растениям приспособиться к новым стрессовым условиям, затрагивают метаболизм, физиологические функции, гомеостаз и экспрессию генов [1-3].

В зарубежной и отечественной литературе важное место занимают исследования по изучению механизмов стресса, выживания и адаптации растений в условиях глобального изменения климата и действия экстремальных экологических факторов. Достаточно детально изучена проблема зимостойкости и устойчивости растений к пониженным температурам. Создана огромная база данных, показывающая, что развитие зимостойкости, адаптация к пониженным температурам сопровождается рядом физиологических и биохимических изменений, направленных на преодоление действия неблагоприятных факторов. К ним относятся изменения в метаболизме углеводов, липидов и фосфолипидов, накопление криопротекторных веществ, что в целом позволяет избежать механического повреждения мембран кристаллами льда, последствий обезвоживания и повреждения клеточных структур [4-8].

Цель настоящей работы – изучить физиолого-биохимические изменения в побегах сортов яблони различного эколого-географического происхождения, выявить сортовые различия в формировании защитного ответа на условия зимне-весеннего периода.

Объекты и методы исследований. Исследования проводились в зимне-весенний период 2019-2020 г. на базе ЗАО ОПХ «Центральное», ЦКП «Приборно-аналитический», лаборатории физиологии и биохимии растений ФГБНУ СКФНЦСВВ, г. Краснодар. Объектами исследований являлись сорта:

- Айдаред - контроль (США), Лигол (Польша), Прикубанское (Россия, СКФНЦСВВ) 2010 г. посадки на подвое СК4 при схеме размещения деревьев 0,9 x 4,5;
- Фортуна, Союз (Россия, СКФНЦСВВ) 2000 г. посадки на подвое М9 при схеме 2 x 5;
- Эрли Мак (США), Пирос (Германия), Орфей (Россия, СКФНЦСВВ) 1998 г. посадки на подвое М9 при схеме 2 x 5.

Для исследований отбирали полностью вызревшие побеги с трех деревьев каждого сорта в 5-кратной повторности. Показатели водного режима определяли весовым методом после высушивания навесок в термостате при 105 °С до постоянной массы; содержание крахмала и растворимых сахаров – с использованием антронового реактива колориметрически на ФЭК-56 при длине волны 670 нм, красном светофильтре, согласно методике; содержание пролина – методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 104Р согласно методике, основанной на получении электрофореграммы с помощью прямого детектирования поглощающих компонентов пробы. Опыты проводили в 3-кратной аналитической повторности. Анатомио-морфологические особенности годичных побегов изучали на поперечных и продольных срезах. Срезы окрашивали основным фуксином, просматривали в капле воды при увеличении 10×10 и 10×20 на микроскопе Olympus VX41 («Olympus corporation», Япония) [9]. Данные обрабатывали с помощью общепринятых методов вариационной статистики [10].

Обсуждение результатов. Физиологические и биохимические изменения, происходящие в тканях яблони в период подготовки к зиме, в значительной степени обеспечивают их зимостойкость. Проявление генетически обусловленной зимостойкости зависит от температурного и светового режимов, количества осадков и их распределения в течение вегетационного периода. Этими факторами определяется не только общее развитие растений яблони, но и своевременное прекращение их роста, что необходимо для «вызревания» древесины и прохождения процесса закаливания, обуславливающего подготовку к зиме [11].

Погодно-климатические условия в осенний период 2019 года были достаточно благоприятны для формирования зимостойкости яблони. Микроскопирование показало своевременное и полное вызревание древесины и других тканей годичных приростов, наблюдалась четкая граница между древесиной и камбием. В перимедулярной зоне годичных приростов отложился запасной крахмал, почки находились на стадии V_r этапа органогенеза – образование археспориальной ткани в пыльниках (рис. 1).

В декабре 2019 г. среднемесячная температура воздуха была выше среднемноголетних значений на 1,3 °С, максимальная – до +16,7 °С, минимальная – до -5,8 °С. В январе 2020 г. среднемесячная температура была выше среднемноголетних значений на 1,5 °С, максимальная поднималась до +12,6 °С, минимальная опускалась до -4,9 °С. В феврале среднемесячная температура была выше среднемноголетних значений на 2,1 °С, максимальная – до +21,2 °С, минимальная – до -13,7 °С. В марте среднемесячная температура воздуха составляла 9,3 °С, максимальная – до +26,1 °С, минимальная – до -3,3 °С. Среднемесячное количество осадков в декабре 2019 г. составляло 12,8 мм; в январе 2020 г. – 21,3 мм, в феврале – 17,7 мм, в марте – 17,8 мм.

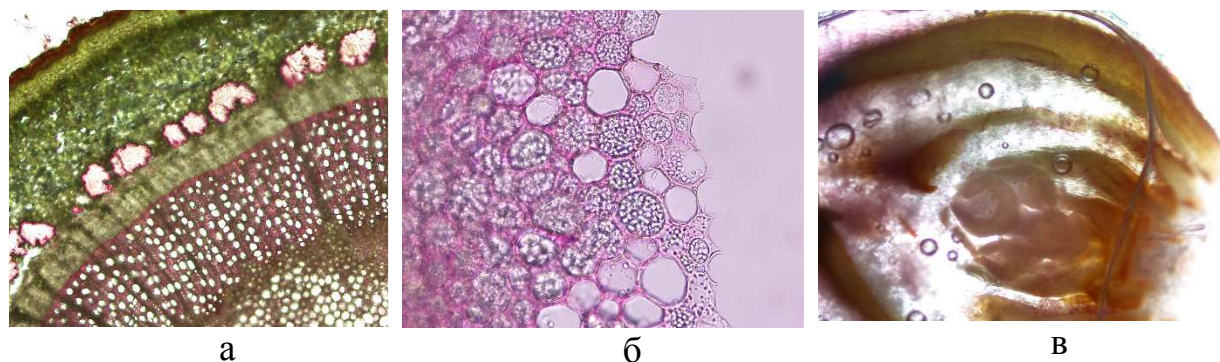


Рис. 1. Микрофото годичного побега и плодовой почки яблони в начале зимнего периода 2019-2020 гг.

- а – поперечный срез побега, видна граница между древесиной и камбием (увеличение 10×10 , окраска основным фуксином);
 б – перимедулярная зона побега с крахмальными зёрнами (увеличение 10×20 , окраска основным фуксином);
 в – продольный срез плодовой почки с зачатками цветков (увеличение 10×10 , без красителя)

Важнейшими показателями физиологического состояния побегов в зимний период являются параметры водного режима. В литературе большое внимание уделяется вопросам внутриклеточного состояния воды в связи с проблемой морозостойкости. Известно, что вода является основным субстратом, в котором развиваются реакции, управляющие метаболизмом клетки. Следовательно, от состояния и структуры молекул воды зависит уровень активности биохимических процессов [12]. Снижение оводненности тканей при переходе растений из вегетирующего состояния в состояние покоя принято считать одним из показателей повышения их устойчивости к неблагоприятным факторам среды, и этот параметр можно рассматривать как индикатор дифференциации сортов по устойчивости к отрицательным температурам в период зимнего покоя. При этом изменяется соотношение между различными формами воды в сторону уменьшения свободной и повышения доли связанной.

В течение зимне-весеннего периода 2019-2020 гг. выявлены различия по содержанию общей воды (оводненности) в побегах различных сортов яблони. В декабре данный показатель варьировал от 39,64 % у сорта Айдаред до 45,09 % у сорта Союз (таб.).

Показатели водного режима побегов яблони в зимне-весенний период 2019-2020 гг.

Сорт	Оводненность, %			Соотношение связанной и свободной воды		
	декабрь	февраль	март	декабрь	февраль	март
Фортуна	44,56±2,31	34,11±1,21	-	3,41±0,05	3,17±0,12	-
Союз	45,09±1,42	41,55±2,01	40,88±2,71	3,42±0,2	3,09±0,02	2,00±0,21
Эрли Мак	43,75±2,35	41,61±3,25	47,6±3,14	1,49±0,05	1,65±0,05	2,61±0,21
Пирос	43,57±1,35	43,84±0,22	41,99±0,58	1,54±0,04	1,56±0,34	2,03±0,02
Орфей	45,00±2,36	41,89±2,35	-	4,08±0,01	4,08±0,23	-
Айдаред	39,64±1,52	39,73±1,12	44,06±1,58	4,50±0,03	4,12±0,02	2,00±0,12
Лигол	43,57±2,34	42,51±2,15	42,96±2,41	2,62±0,01	2,51±0,01	2,46±0,02
Прикубанское	43,25±1,03	44,69±4,12	43,45±3,45	4,31±0,03	4,30±0,12	1,91±0,01
НСР _{0,5}	1,44	2,71	2,22	0,99	0,91	0,28

Примечание: - данные отсутствуют

В марте, с началом активации ростовых процессов и выхода из состояния зимнего покоя, оводненность побегов увеличилась, в большей степени у сортов Эрли Мак и Айдаред, и составляла 47,60 % и 44,06 %, соответственно. Адаптационную устойчивость растений к неблагоприятным условиям зимнего периода определяет повышенное содержание связанной формы воды. Высокое значение соотношения связанной формы воды к свободной свидетельствует о высокой устойчивости сорта к зимним стрессам.

В рассматриваемый период (декабрь-февраль) низкие значения соотношения связанной и свободной форм воды (1,49-1,65) наблюдали у сортов Эрли Мак, Пирос, свидетельствующие об их пониженной зимостойкости. Самые высокие значения данного показателя (4,31-4,50) в этот период наблюдали у сортов Айдаред и Прикубанское. В марте, с началом активации ростовых процессов, произошел переход связанной формы воды в свободную, уровни соотношений связанной и свободной фракций воды у различных сортов яблони выровнялись и составляли 1,96-2,46.

В период низкотемпературной адаптации в предзимний период накапливаются углеводы, способствующие понижению температуры льдообразования в тканях растений и выполняющие ряд защитных функций [13]. Крахмал, являющийся основным запасным веществом в зимний период, способствует повышению зимостойкости яблони [7]. В клетках коры побегов при микроскопировании он виден в виде овальных гранул (рис. 2).



Рис. 2. Микрофото поперечного среза побега яблони сорта Айдаред в зоне коры в зимний период 2019-2020 гг.

В декабре наибольшее количество крахмала обнаружено у сортов Союз, Лигол, Прикубанское – 1,63-1,97 мг/г сухого вещества (рис. 3). После воздействия пониженных температур в феврале содержание крахмала в коре побегов уменьшилось у сортов Айдаред, Лигол, Прикубанское в связи с его гидролизом (с 1,14-1,97 до 0,87-0,97 мг/г сухого вещества). В марте у сорта яблони Прикубанское содержание крахмала осталось на прежнем уровне, у сортов Пирос, Айдаред, Лигол увеличилось до 1,37-2,45 мг/г сухого вещества в связи с его вторичным синтезом, которое затем расходуется на ростовые процессы.

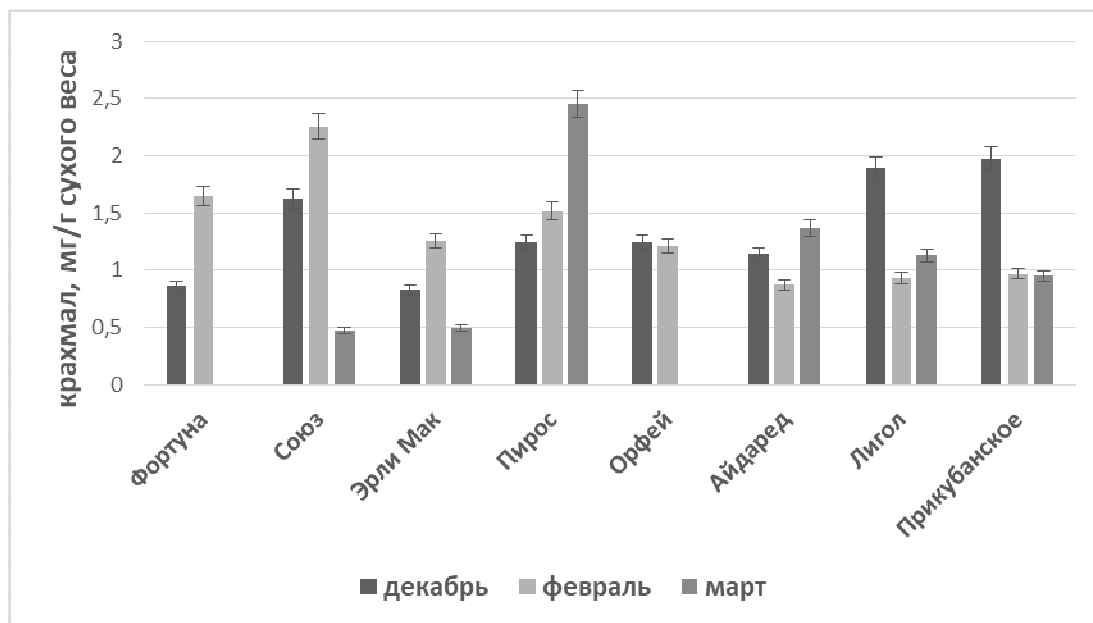


Рис. 3. Динамика содержания крахмала в коре яблони в зимне-весенний период 2019-2020 гг.
НСР_{0,5}: декабрь – 0,44; февраль – 0,23; март – 0,76.

При понижении температуры в тканях побегов яблони происходит интенсивный гидролиз крахмала, в результате чего образуются олигосахариды. Сахара, накапливаемые в большом количестве, действуют, прежде всего, как осмолиты для поддержания клеточного гомеостаза. В результате повышения общего содержания сахаров, точка замерзания содержимого клеток снижается, и образование льда происходит в межклетниках. При этом протопласт постепенно обезвоживается, что препятствует внутриклеточному образованию льда [14, 15].

Известно, что гидролиз крахмала и накопление в цитоплазме водорастворимых сахаров (сахароза, глюкоза, фруктоза) при действии низких температур усиливается у морозостойких сортов [16]. В наших исследованиях определение содержания суммы водорастворимых сахаров (сахарозы, глюкозы, фруктозы), образовавшихся в результате гидролиза крахмала, показало, что в феврале его количество увеличилось (в сравнении с декабрем) у всех изучаемых сортов, а в марте уменьшилось в связи с активацией ростовых процессов. Максимальное содержание растворимых сахаров (24,90-34,82 мг/г сухого вещества) в феврале, обладающих криопротекторной функцией, отмечено у сортов Пирис, Орфей, Айдаред, Лигол. У этих сортов водорастворимые сахара внесли существенный вклад в адаптацию к зимним неблагоприятным условиям (рис. 4).

Сахароза и пролин в зимнее время выполняют роль осмопротекторов, они защищают белки от инактивации в условиях обезвоживания, снижают температуру замерзания содержимого протопласта, предотвращая образование кристаллов льда. Максимальное содержание сахарозы в коре у всех сортов яблони наблюдалось в декабре 2019 г. и составляло в зависимости от сорта 2,04-5,28 мг/г сухого вещества (рис. 5). Наибольшее ее количество отмечено у сортов Фортуна, Союз, Айдаред, Лигол, Прикубанское (3,68-5,28 мг/г сухого вещества). У этих сортов в декабре сахароза выполнила свою защитную функцию в качестве осмопротектора.

В феврале с выходом растений из состояния глубокого покоя содержание сахарозы в коре побегов яблони уменьшилось в зависимости от сорта до 1,42-2,89 мг/г сухого вещества. В марте в связи с усилением ростовых процессов высокое содержание сахарозы со-

хранилось только у сорта Пирос, у остальных сортов оно составляло 0,99-1,30 мг/г сухого вещества. Следует отметить, что у интродуцированного сорта Пирос (происхождение – Германия) содержание сахарозы почти не менялось в течение изучаемого периода, и роль осмопротектора выполняли, по-видимому, другие водорастворимые сахара (глюкоза, фруктоза), содержание которых было велико (см. рис. 4).

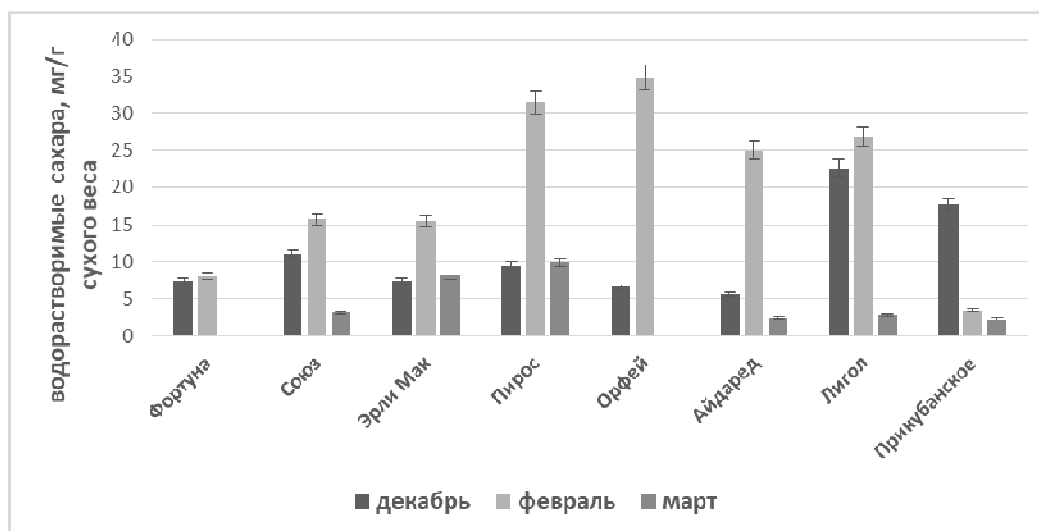


Рис. 4. Динамика содержания водорастворимых сахаров в коре яблони в зимне-весенний период 2019-2020 гг.
НСР_{0,5}: декабрь – 1,12; февраль – 2,35; март – 1, 56

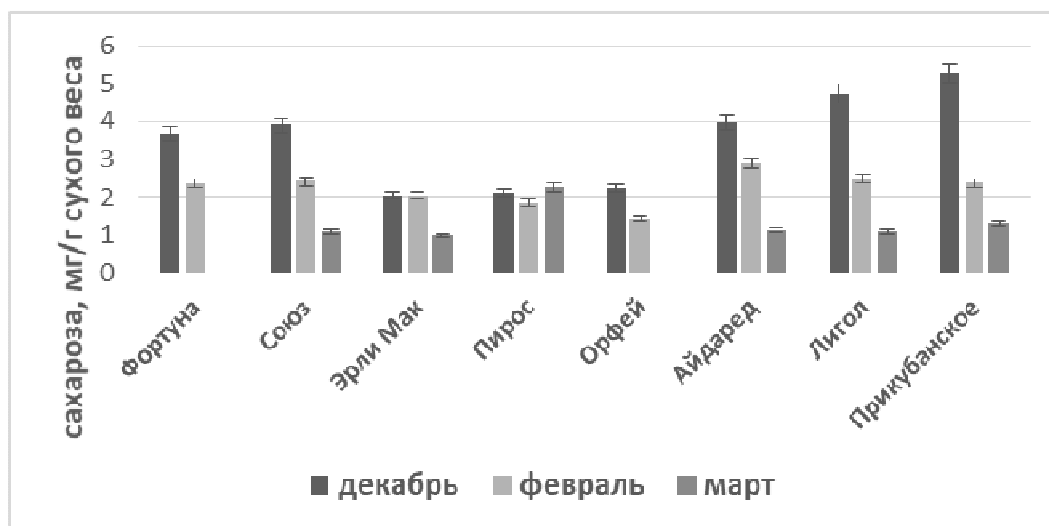


Рис. 5. Динамика содержания сахарозы в коре яблони в зимне-весенний период 2019-2020 гг.
НСР_{0,5}: декабрь – 0,75; февраль – 1,24; март – 0, 78.

Высокая водоудерживающая способность цитоплазмы при низких температурах сохраняется при накоплении низкомолекулярных гидрофильных белков, связывающих значительный объем воды в виде гидратных оболочек. Этому способствует взаимодействие

белков с пролином, концентрация которого в этих условиях возрастает [17]. Защитная функция пролина как осмопротектора при адаптации растений яблони проявилась у сортов Эрли Мак, Пирос, Айдаред, Лигол в декабре 2019- феврале 2020 гг. У этих сортов наблюдалось максимальное его содержание – 39,4-50,9 мкг/г сырого вещества (рис. 6).

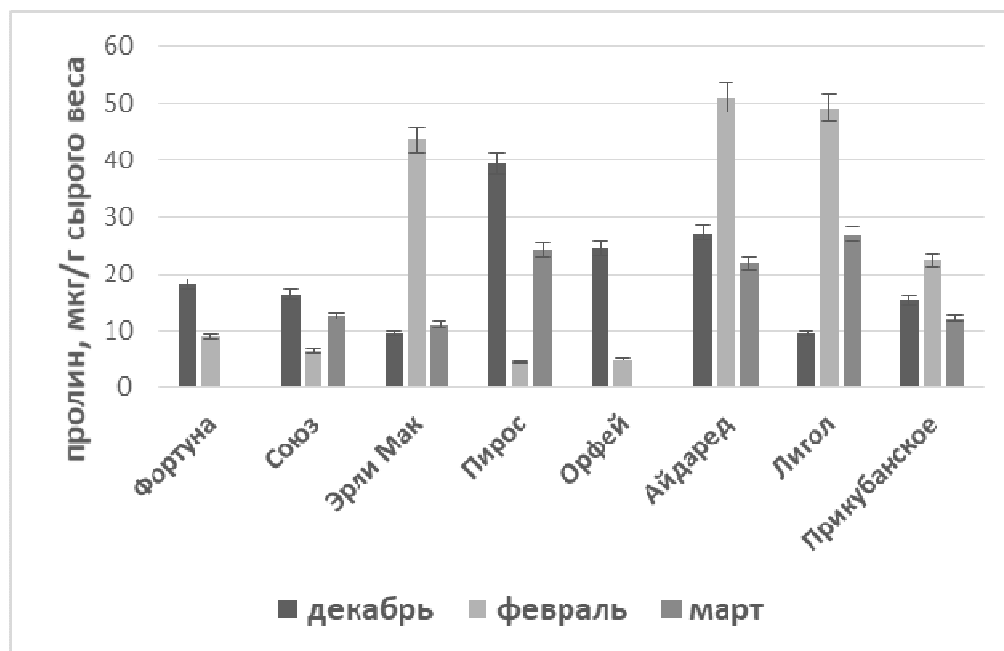


Рис. 6. Динамика содержания пролина в коре яблони в зимне-весенний период 2019-2020 гг.

НСР_{0,5}: декабрь – 1,74; февраль – 1,23; март – 2, 06.

Выводы. Проведено сравнительное физиолого-биохимическое исследование сортов яблони различного эколого-географического происхождения в условиях зимне-весеннего периода 2019-2020 гг. Выявлены сортовые различия в формировании защитного ответа на условия изменяющегося климата, которые тесно связаны с их происхождением. Показано, что индукция защитного ответа более выражена у отечественных сортов яблони Союз, Прикубанское, Орфей в сравнении с интродуцированными сортами Эрли Мак, Пирос, Лигол.

Установлено, что у сортов Айдаред, Лигол, Прикубанское повышенное содержание связанной формы воды, крахмала, сахарозы, пролина в коре годичных побегов внесли важный вклад в процессы адаптации растений в зимний период. У сортов Пирос, Орфей, Айдаред, Лигол важное значение в этих процессах имела динамика содержания водорастворимых сахаров.

Наибольшее количество сахарозы, отмеченное в декабре у сортов Фортуна, Союз, Айдаред, Лигол, Прикубанское (3,68-5,28 мг/г сухого вещества), подтвердило свою защитную функцию как осмопротектора, а у сорта Пирос содержание сахарозы почти не изменялось, и роль осмопротектора выполняли, по-видимому, другие водорастворимые сахара (глюкоза, фруктоза), содержание которых было велико.

Таким образом, механизмы биохимической адаптации специфичны для каждого сорта. Вклад различных компонентов защиты в адаптационную устойчивость сорта зависит от сложившихся метаболических взаимодействий. В процессе адаптации возникающие

компенсаторные перестройки метаболизма восполняют замену одних протекторов другими. Полученные результаты подтверждают использование данных физиолого-биохимических параметров в качестве диагностических критериев устойчивости растений яблони в зимне-весенний период.

Литература

1. Janska A., Maršik P., Zelenkova S., Ovesna J. Cold stress and acclimation – what is important for metabolic adjustment? // *Plant Biology*. – 2010. – V. 12. – P. 395-405. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2009.00299.x>
2. Maleki M., Ghorbanpour M. Cold tolerance in plants: molecular machinery deciphered. Biochemical, physiological and molecular avenues for combating abiotic stress tolerance in plants. – Academic Press, 2018. – P. 57-71. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00004-8>
3. Ruelland E., Vaultier M.-N., Zachowski A., Hurry V. Cold signaling and cold acclimation in plants // *Advances in Botanical Research*. – 2009. – V. 49. – P. 35-149.
4. Arora R., Taulavuori K. Increased risk of freeze damage in woody perennials VIS-À-VIS climate change: Importance of deacclimation and dormancy response // *Frontiers in Environmental Science*. – 2016. – №. 4. – P. 44. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00044>
5. Войников В.К. Энергетическая и информационная системы растительных клеток при гипотермии. Новосибирск: Наука, 2013. 212 с.
6. John R., Anjum N.A., Sopory S.K., Akram N.A., Ashraf M. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation // *Biologia Plantarum*. – 2016. – V. 60. – P. 603-618.
7. Об устойчивости яблони к неблагоприятным условиям зимнего периода / Н.Г. Красова [и др.] // *Сельскохозяйственная биология*. 2014. № 1. С. 42-49.
8. Физиолого-биохимическая оценка морозостойкости сортов яблони после воздействия низкотемпературного стресса [Электронный ресурс] / Г.К. Киселева [и др.] // *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2020. № 65(5). С. 165-178. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/20/05/13.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2020-5-65-165-178.
9. Ненько Н.И., Киселева Г.К. Физиолого-биохимические методы оценки сортов плодовых культур для адаптивной селекции и промышленного возделывания // *Современные методология, инструментарий оценки и отбора селекционного материала садовых культур и винограда*. Краснодар, 2017. С. 66-78.
10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М., 1979. 463 с.
11. Wu D., Kukkonen S., Luoranen J., Pulkkinen P. Influence of late autumn preconditioning temperature on frost hardiness of apple, blueberry and blackcurrant saplings // *Scientia Horticulturae*. – 2019. – № 258. – P. 108755. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108755>
12. Ненько Н.И., Киселева Г.К., Караваева А.В., Ульяновская Е.В. Физиолого-биохимическая оценка устойчивости растений яблони к стрессорам зимнего и летнего периодов // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2016. № 3 (6). С. 65-71.
13. Ma Y., Zhang Y., Lu J., Shao H. Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress // *African Journal of Biotechnology*. – 2009. – № 8. – P. 2004-2010.
14. John R., Anjum N.A., Sopory S.K., Akram N.A., Ashraf M. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation // *Biologia Plantarum*. – 2016. – V. 60. – P. 603-618.
15. Theocharis A., Clement C., Barka E.A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures // *Planta*. – 2012. – V. 235. – P. 1091-1105.
16. Rosa M., Prado C., Podazza G., Interdonato R., González J. A., Hilal M., Prado F. E. Soluble sugars Metabolism, sensing and abiotic stress // *Plant Signal Behav*. – 2009. – V. 4. – P. 388-393.
17. 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. С. 6-22.