

## МЕТАБОЛОМНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ЯБЛОНИ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ

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

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

**Реферат.** Приведена метаболомная характеристика устойчивости сортов яблони различного эколого-географического происхождения к низкотемпературному стрессу на основании физиолого-биохимических исследований. Выделены наиболее информативные параметры, изменения в метаболизме которых обуславливают устойчивость яблони к низкотемпературному стрессу (содержание антоцианов, халконов, аскорбиновой, фенолкарбоновых кислот, малонового диальдегида, активность пероксидазы). По физиолого-биохимическим показателям выделены сорта, обладающие повышенной устойчивостью к низкотемпературному стрессу.

**Ключевые слова:** яблоня, метаболом, низкотемпературный стресс, антоцианы, халконы, активность пероксидазы

**Summary.** Metabolic characteristics of apple resistance of different ecological and geographical origin varieties to low-temperature stress on the basis of physiological and biochemical studies are presented. The most informative parameters, changes in the metabolism of which cause the resistance of apple-tree to low-temperature stress (the content of anthocyanins, chalcones, ascorbic, phenol carboxylic acids, malonic dialdehyde, peroxidase activity) are allocated. According to physiological and biochemical parameters, the varieties with increased resistance to low-temperature stress were identified.

**Key words:** apple-tree, metabolome, low temperature stress, anthocyanins, chalcones, activity of peroxidase

**Введение.** Адаптация плодовых растений к низким температурам сопровождается различными перестройками метаболизма, совокупность которых придает клеткам устойчивость к действию низких повреждающих температур. Специфика влияния низких температур на физиологию яблони обусловлена временем возникновения зимних стрессов, совпадающим с периодом покоя и полным прекращением ростовых процессов у растений. Важной особенностью таких стрессов являются многочисленные метаболические нарушения, проявляющиеся постепенно на последующих этапах годового цикла развития растений. Суммируясь, они влияют на функциональную активность растений яблони и, как результат, на формирование и величину урожая.

Так, особенности действия пониженных температур на устойчивость растений проявляются в изменении направленности физиолого-биохимических процессов, связанных с различными сторонами метаболизма [1-4].

Способность плодовых растений приобретать высокую устойчивость к низким температурам зависит от их физиологического состояния и их генетической специфичности. В условиях низкотемпературного стресса в клетках растений происходят изменения практически всех физиолого-биохимических процессов. Однако лишь немногие из этих изменений обусловлены непосредственно действием стресса, а большинство является уже следствием этих (первичных) нарушений в силу взаимосвязанности отдельных реакций метаболизма и саморегулируемости всего обмена веществ растительного организма [5-6].

Это говорит о том, что адаптивные возможности растения, определяющие уровень его устойчивости, могут оцениваться по многим физиологическим параметрам. Однако далеко не все такие параметры четко отражают устойчивость, так как описываемые ими процессы вносят неодинаковый вклад в формирование продуктивности растения в экстремальных условиях.

Одним из механизмов адаптации на клеточном уровне является активизация компенсаторных реакций, вследствие чего нарушения некоторых звеньев метаболизма, обусловленные стрессом, слабо отражаются на конечном результате жизнедеятельности растения (его биологической или хозяйственной продуктивности). Поэтому следует для диагностических целей использовать оценку изменения таких характеристик организма, которые играют существенную роль именно в реализации потенциала его устойчивости.

Среди всего многообразия физиологических критериев наиболее тесно связанными с общей устойчивостью растений к низкотемпературному стрессу являются отдельные метаболиты и их количественное содержание (антоцианы, халконы, фенолкарбоновые, аскорбиновая кислоты, малоновый диальдегид). По изменению содержания некоторых метаболитов можно судить об интенсивности физиолого-биохимических изменений, происходящих в тканях плодовых растений в процессе адаптации их к низким температурам [7].

Поскольку устойчивость к низкотемпературному стрессу является одной из важных составляющих адаптивного потенциала сортов плодовых растений метаболическая характеристика различных сортов яблони в период действия пониженных температур позволяет получить оценку их устойчивости к зимним стрессам и адаптивности, и может быть использована в качестве косвенного метода диагностики сортов на морозостойкость. Данный подход обеспечит возможность найти «маркеры», которые можно использовать как критерии в селекционных целях при выведении устойчивых сортов.

Цель настоящей работы – изучить метаболические изменения у сортов яблони различного эколого-географического происхождения в зимний период, выделить сорта, обладающие устойчивостью к низкотемпературному стрессу.

**Объекты и методы исследований.** Объектами исследований служили сорта яблони различного эколого-географического происхождения: Айдаред (США), Лигол (Польша), Прикубанское (Россия, СКЗНИИСиВ) 2009 г. посадки на подвое СК 4 при схеме посадки 0,9x4,5; сорта Рассвет (2п=2х), Фортуна (2п=2х), Союз (2п=3х), Родничок (2п=3х) (Россия, СКЗНИИСиВ) 2000 г. посадки на подвое М 9 при схеме посадки 2x5; сорта Эрли Мак (2п=2х) (США), Дейтон (2п=2х) (США) 1998 г. посадки на подвое М 9 при схеме посадки 2x5.

Сбор материала для физиолого-биохимических исследований проводился на базе ЗАО ОПХ «Центральное», ФГБНУ СКФНЦСВВ, г. Краснодар. Использовались современные физиолого-биохимические методы определения содержания антоцианов, халконов, фенолкарбоновых, аскорбиновой кислот, активности пероксидазы, малонового диальдегида с применением высокоэффективного аналитического оборудования на базе ЦКП «Приборно-аналитический» и лаборатории физиологии и биохимии растений ФГБНУ СКФНЦСВВ [8-11]. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

**Обсуждение результатов.** Оценка гидротермических условий (г. Краснодар) за 2015-2018 гг. показала, что в декабре максимальная температура воздуха повышалась с +12 °С до +16 °С, а минимальная снижалась с -17 °С до -4 °С. В январе 2018 г. минимальная температура воздуха повышалась от -19 °С до -8 °С, а максимальная снизилась на 7 °С и составила 12 °С. В Краснодарском крае стрессы зимнего периода вызываются действием различных абиотических факторов (ранние осенне-зимние морозы, низкие критические температуры и длительные морозы в течение зимы, морозы после оттепе-

лей и солнечного нагрева с зимним иссушением тканей, ранневесенние заморозки и т.д.). Зимы, когда гибель насаждений яблони достигает огромных размеров, случаются примерно раз в десять лет. Вместе с тем повреждение плодовых насаждений морозами в той или иной степени наблюдается почти ежегодно.

Физиологические и биохимические изменения, происходящие в тканях плодовых растений в зимний период, в значительной степени обеспечивают их морозостойкость. За длительный период изучения адаптационных механизмов растений создана обширная база данных, показывающая, что низкотемпературный стресс сопровождается рядом физиологических и биохимических изменений, направленных на преодоление действия неблагоприятного фактора [12, 13].

К ним относятся изменения в метаболизме веществ фенольной природы – антоцианов и халконов, выполняющих защитную функцию в устойчивости растений к переменным температурам. Антоцианы и халконы (кислоторастворимые вторичные метаболиты) играют роль светофильтров, защищающих растительные ткани от отрицательного влияния ультрафиолетовых лучей, участвуют в процессе дыхания растений, совместно с аскорбиновой кислотой принимают участие в ферментативных окислительно-восстановительных процессах. Показано, что накопление антоцианов в форме цианидинов в коре побегов различных древесных связано с защитной функцией при действии низких температур [14-16].

Физиологическая роль антоцианов в связи с устойчивостью к зимним стрессам плодовых растений, в частности яблони, изучена слабо. Ряд авторов указывают, что к середине зимы накапливается максимальное количество антоцианов в коре однолетних веток яблони, и устойчивость к морозу в этот период самая высокая [17]. Биосинтез антоцианов у плодовых растений зависит от многих факторов, среди которых важными являются оводненность тканей, активность ростовых процессов, окончание активной деятельности камбия, уровень минерального питания и, прежде всего, содержание азота и калия в питательной среде. Этот процесс связан с генетической специфичностью и физиологическим состоянием растений. В тканях зимующих органов зимостойких сортов яблони отмечено большее по сравнению с незимостойкими сортами яблони количество антоцианов [18].

В проводимых нами исследованиях наибольшее количество антоцианов и халконов сохранилось в коре однолетних побегов всех изучаемых сортов яблони в ноябре, что связано с подготовкой растений к перезимовке. Установлено, что содержание антоцианов и халконов в коре побегов у сортов Прикубанское, Рассвет, Фортуна, Союз, Родничок в зимний период увеличивается. Меньшее содержание этих веществ отмечено у сортов яблони Лигол, Эрли Мак, Дейтон. Выявлены также различия в накоплении антоцианов в побегах растений яблони по годам, что, по-видимому, зависит от погодных условий вегетационного периода.

Известно, что уровень устойчивости к стрессам, присущий каждому сорту, является генетически контролируемым и наследуемым признаком, однако этот признак потенциальный. В оптимальных условиях он скрыт и проявляется лишь тогда, когда растения оказываются под влиянием экстремального фактора. Поэтому для диагностики устойчивости одним из необходимых условий является создание определенного воздействия на изучаемые растения тем стрессом, устойчивостью к которому определяется.

Для этой цели был проведен модельный опыт по искусственному промораживанию. В наших исследованиях выявлено, что сорта Рассвет, Фортуна, Союз, Родничок, Дейтон отличаются повышенным содержанием антоцианов и халконов, обладающих антиоксидантной активностью.

В последние годы установлено, что в ответ на низкотемпературный стресс в растениях происходит синтез специфических стрессовых белков. Существенную роль в данном процессе выполняют ферментные системы, которые завершают цепь передачи водорода, являясь терминальными оксидазами, среди последних важное место занимают пероксидаза и полифенолоксидаза [19]. Активность ферментов пероксидазы в побегах яблони зави-

сит от температурного фактора, генотипа, возрастание её активности может свидетельствовать о проявлении защитных реакций растения на низкотемпературный стресс.

Высокая активность пероксидазы в зимнее время связана с нарушением процесса дыхания и изменением окислительно-восстановительных процессов в клетках. У недостаточно зимостойких сортов активность пероксидазы возрастает после зимних повреждений, фермент играет защитную роль в обезвреживании токсических веществ [17, 20]. В наших исследованиях пероксидазная активность у исследуемых сортов яблони колеблется от 18,9 сек<sup>-1</sup> (сорт Дейтон) до 37 сек<sup>-1</sup> (сорт Айдаред) (рис.).

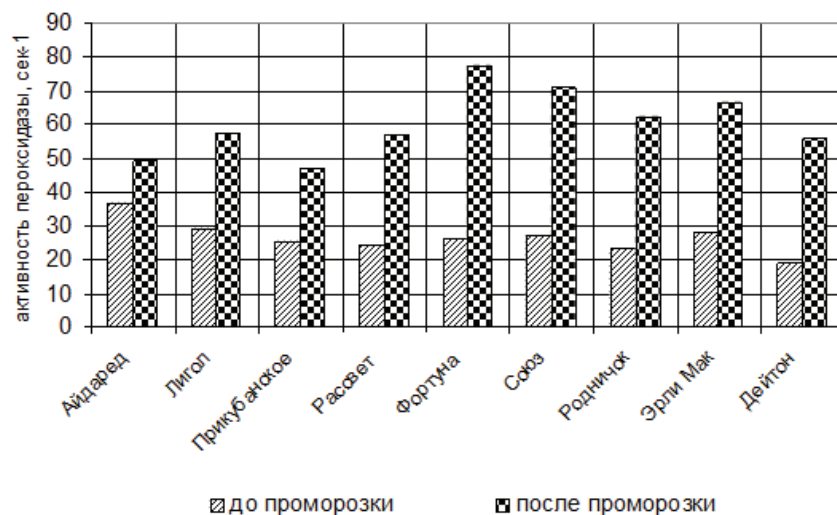


Рис. Активность пероксидазы в побегах яблони в зимний период 2015-2018 гг. (модельный опыт по искусственному промораживанию).

Отмечено, что у высокозимостойких сортов снижение активности пероксидазы происходит в осенний период, начиная с октября, и в течение всего зимнего периода ее показатели остаются примерно на одном невысоком уровне. У слабовзимостойкого сорта Лигол снижение пероксидазной активности наблюдается значительно позже – в январе. В период вынужденного покоя активность фермента у сорта Айдаред 1,2-1,6 раза ниже, чем у сорта Лигол. Следовательно, проявляется обратная корреляция: чем выше зимостойкость сорта, тем меньше выражена активность фермента в зимний период.

Низкотемпературный стресс провоцирует образование активных форм кислорода (АФК) в растительных клетках. Растения обладают достаточной устойчивостью к окислительным повреждениям, которые возникают лишь при резком изменении физиологического состояния организма. Это обусловлено существованием в растительной клетке эффективных антиоксидантных систем, которые способны обеспечить защиту от кислородных радикалов и синглетного кислорода [21-24].

Клетки защищаются от АФК с помощью антиоксидантов. Аскорбиновая кислота – полифункциональное соединение, но главная ее роль – участие в системах антиоксидантной защиты [25]. Являясь антиоксидантом неферментативного звена, она участвует с помощью различных механизмов в ингибировании перекисного окисления липидов [26].

В зимний период в процессе закаливания низкими температурами у яблони происходит накопление аскорбиновой кислоты, повышающее адаптационно защитный процесс. Большая активность пероксидазы в побегах яблони сортов Айдаред, Лигол, Прикубанское, Союз, Эрли Мак характеризует повышенную устойчивость их к окислительному стрессу и согласуется с большим содержанием аскорбиновой кислоты в коре их побегов (см. рис.).

Наиболее характерной чертой окислительных реакций при действии низкотемпературного стресса является образование малонового диальдегида (МДА). МДА является одним из основных продуктов перекисного окисления липидов, являясь важнейшим показателем устойчивости к стрессу [21]. При промораживании побегов практически у всех изучаемых сортов яблони отмечается снижение содержания малонового диальдегида, характеризующего устойчивость липидов клеточных мембран к окислению, на фоне снижения содержания аскорбиновой кислоты.

**Выводы.** Дана метаболическая характеристика устойчивости сортов яблони различного эколого-географического происхождения к низкотемпературному стрессу на основании приведённых физиолого-биохимических исследований. Выделены наиболее информативные параметры, изменения в метаболизме которых обуславливают устойчивость сортов к низкотемпературному стрессу.

Выявлены физиологические и биохимические изменения, происходящие в тканях растений яблони в зимний период, коррелирующие с морозостойкостью. Установлено, что у сортов Прикубанское, Рассвет, Фортуна, Союз, Родничок, выделенных как зимостойкие, содержание антоцианов и халконов в коре однолетних побегов в зимний период увеличивается.

Показана обратная корреляция между зимостойкостью сорта и активностью пероксидазы в тканях однолетних побегов. Показано, что активность пероксидазы у сорта Айдаред в 1,2-1,6 раза ниже, чем у сорта Лигол. Большая активность пероксидазы в побегах яблони сортов Айдаред, Лигол, Прикубанское, Союз, Эрли Мак характеризует повышенную устойчивость их к окислительному стрессу и согласуется с большим содержанием аскорбиновой кислоты в коре их побегов. По физиолого-биохимическим показателям сорта Айдаред, Союз, Родничок, Прикубанское обладают повышенной устойчивостью к низкотемпературному стрессу.

#### Литература

1. Arora R. Mechanism of freeze-thaw injury and recovery: a cool retrospective and warming up to new ideas // Plant Sci. – 2018. – № 270. – P. 301–313. 10.1016/j.plantsci.2018.03.002
2. Критериальная оценка адаптации сортов яблони различного эколого-географического происхождения к абиотическим факторам среды / Н.И. Ненько, Г.К. Киселева [и др.] // Научные труды СКФНЦСВВ. Т. 14. Краснодар: ФГБНУ СКФНЦСВВ, 2018. С. 71-77.
3. Ульяновская Е.В., Супрун И.И., Токмаков С.В., Ушакова Я. В. Комплексный подход к отбору ценных генотипов яблони, устойчивых к стрессовым факторам среды [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2014. № 25(1). С. 11-25. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/14/01/02.pdf>. (дата обращения: 03.09.2019).
4. Адаптационная устойчивость сортов яблони к гидротермическим условиям зимнего и летнего периодов [Электронный ресурс] / Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, В.В. Шестакова, А.В. Караваева, Е.В. Ульяновская // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2017. № 45(3). С. 33-48. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/17/03/04.pdf>. (дата обращения: 03.09.2019).
5. Колесниченко А.В., Побежимова П.Т., Войников В.К. Характеристика низкотемпературного стресса у растений // Физиология растений. 2000. № 47. С. 624-630.
6. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
7. Об устойчивости яблони к неблагоприятным условиям зимнего периода / Н.Г. Красова, А.М. Галашева, З.Е. Ожерельева [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2014. №1. С. 42-49.
8. Ненько Н.И., Дорошенко Т.Н., Гасанова Т.А. Физиологические методы в адаптивной селекции плодовых культур // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. Краснодар, СКЗНИИСиВ, 2012. С. 189-198.
9. Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда / Н.И. Ненько, И.А. Ильина, Т.Н. Воробьева [и др.]; под общ. ред. Н.И. Ненько. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. 115 с.

10. Методика определения массовой концентрации аскорбиновой, хлорогеновой и кофейной кислот в побегах и листьях плодовых культур и винограда с применением капиллярного электрофореза / Ю.Ф. Якуба, И.А. Ильина, М.В. Захарова, Г.В. Лифарь // Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда; под общ. ред. Н.И. Ненько. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. С. 68-72.

11. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / Под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2012. 487 с.

12. Nenko N.I., Kiseleva G.K., Ulyanovskaya E.V., Yablonskay E.K., Karavaeva A.V Winter resistance of the apple tree varieties in the south of Russia // Austrian Journal of Technical and Natural Sciences. – 2018. – № 3-4. – P. 3-10.

13. 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.

14. Mazid M., Khan T.A., Mohammad F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. – Biology and Medicine. – 2011. – № 3(2). – P. 232-249.

15. Белова И.В., Глумова Н.В., Золотилов В.А., Грунина Е.Н. О роли фенольных соединений в формировании защитного ответа новых сортов розы эфиромасличной на действие низких температур // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. докл. X Международного Симпозиума (14-19 мая 2018 г.). Москва, 2018. С. 40-45.

16. Takahama U., Anika T. Flavonoides and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions // Plant Res. – 2000. – №133 (3). – P. 301-309. doi.org/10.1007/PL00013933

17. Некоторые физиолого-биохимические особенности устойчивости сортов яблони к зимним неблагоприятным условиям / Н.Г. Красова, А.М. Галашева [и др.] // Достижения науки и техники АПК. 2010. №4. С. 27-29.

18. Гончаровская И.В., Левон В.Ф., Клименко С.В., Кузнецов В.В. Содержание антоцианов и халконов в побегах крупноплодных сортов и кребов яблони в связи с зимостойкостью // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. докл. X Международного Симпозиума (14-19 мая 2018 г.). Москва, 2018. С. 106-110.

19. Agarwal S., Sairam R.K., Srivatava G.C., Tyagi A., Meena R.C. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings // Plant Science. – 2005. – № 169. – P. 559-570.

20. Гольшклина Л. В., Красова Н.Г., Галашева А.М. Изменение активности антиоксидантных ферментных систем и перекисного окисления липидов в тканях развивающейся завязи яблони под действием отрицательной температуры весеннего периода // Современное садоводство. 2015. №3. С. 26-36.

21. Прядехина Е.В., Лапшин П.В., Загоскина Н.В. Изменения в интенсивности перекисного окисления липидов и образовании флавоноидов у интактных и генно-модифицированных растений картофеля (*Solanum tuberosum L.*) после низкотемпературного воздействия // Сельскохозяйственная биология. 2014. №3. С. 88-91.

22. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci.– 2002. – №7. – P. 405-410. doi: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9.

23. Mullineaux Ph., Baker N. Oxidative stress: antagonistic signaling for acclimation or cell death? // Plant Physiol. – 2010. – № 154(2). – P. 521-525 (doi: 10.1104/pp.110.161406).

24. Xing-Liang Li, Jun-Ke Zhang, Min-Ji Li, Bei-Bei Zhou, Qiang Zhang & Qin-Ping Wei / Genome-wide analysis of antioxidant enzyme gene families involved in drought and low-temperature responses in Apple (*Malus domestica*) // The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. – 2018. – V. 93. - № 4. – P. 337-346.

25. Smirnoff N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule // Curr. Opin. Plant Biol. – 2000. – №3.– P. 229-235.

26. Чупахина Г. Н. Система аскорбиновой кислоты растений: монография. Калининград: Калинингр. ун-т, 1997. 350 с.