

УДК 634.8:581.1.036

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕХАНИЗМОВ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА К ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНЫМ СТРЕССАМ

Ненько Н.И., д-р с.-х. наук, Ильина И.А., д-р техн. наук,
Сундырева М.А., канд. с.-х. наук, Киселева Г.К., канд. биол. наук,
Запорожец Н.М., канд. с.-х. наук, Схаляхо Т.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства» (Краснодар)

Реферат. Приводятся результаты исследований биохимических особенностей приспособления растений винограда различного эколого-географического происхождения к высокотемпературным стрессам. Выявленные закономерности определяют механизмы биохимических процессов, направленных на обеспечение устойчивости сортов винограда к засухе и высоким температурам. Знание биохимических основ устойчивости растений позволяет разрабатывать методы оценки и технологические приемы, повышающие устойчивость растений к высокотемпературным стрессам.

Ключевые слова: виноград, высокотемпературный стресс, жаростойкость, биохимические механизмы, адаптация

Summary. The results of research of biochemical features of grapes adaptation of different ecological and geographical origin to high temperature stress are presented. The revealed conformity limit the mechanisms of biochemical processes directed on ensuring the stability of grapes varieties to drought and high temperatures. Knowledge of the biochemical basis of plant resistance allows you to develop the evaluation methods and techniques for increase the plants resistance to high temperature stress.

Key words: grapes, high temperature stress, heat resistance, biochemical mechanisms, adaptability

Введение. Познание механизмов и регуляторных систем, обеспечивающих упорядоченность и регуляцию физиологических процессов, способность растений к адаптации в широком диапазоне меняющихся условий среды, – одно из приоритетных направлений исследований в области физиологии и биохимии растений.

Адаптация достигается с помощью различных механизмов: генетических, биохимических, физиологических, морфо-анатомических и других. Знание физиолого-биохимических основ устойчивости растений позволяет разрабатывать как методы оценки по этому признаку, так и приемы, ее повышающие [1,2]. Раскрытие физиолого-биохимических механизмов обеспечения устойчивости растений винограда к абиотическим факторам является основой целенаправленного управления адаптационным и продукционным процессами для обеспечения устойчивости многолетних агроценозов.

В условиях постоянно варьирующих факторов внешней среды большое значение имеет активация защитно-компенсаторных и других приспособительных реакций растений винограда, в том числе на регуляцию и сохранение относительного постоянства внутренней водной среды растений как одного из главных средств приспособления к переменным условиям среды и действию повреждающих факторов [3-5].

В основе приспособления растительного организма к внешней среде на молекулярном уровне лежит пластическое обеспечение его жизненных функций, контролируемое сложной системой регуляторных механизмов [6].

Известно, что продолжительное пребывание в течение летних месяцев и ранней осенью виноградных кустов на необеспеченной богаре в условиях высокого напряжения атмосферных факторов и глубокой почвенной засухи отрицательно сказывается на физиолого-биохимических процессах, росте и продуктивности растений [7,8]. Изучение физиологического и экологического состояния растений винограда, их реакций на абиотические

стрессы актуализируются в связи с участвовавшими стрессами, связанными с засухами на фоне высоких температур летнего периода. В связи с этим целью исследований являлось выявление особенностей физиолого-биохимических механизмов обеспечения устойчивости растений винограда различного эколого-географического происхождения к гидротермическим стрессам.

Объекты и методы исследований. Полевые наблюдения и отбор образцов (листья винограда) для лабораторных исследований проводились на ампелографической коллекции АЗОСВиВ СКЗНИИСиВ, расположенной в г.-к. Анапа. Объектами исследований являлись сорта винограда технического назначения: межвидовой гибрид европейско-американский – *Кристалл*, межвидовые гибриды европейско-американской группы *Достойный* и *Красностоп АЗОС*. Растения одного года посадки, подвой Кобер 5ББ. Формировка – двусторонний высокоштамбовый спиральный кордон АЗОС. Возделывание растений винограда – на черном паре при схеме посадки 3 x 2,5 м

Адаптационную устойчивость растений винограда к высокотемпературным и водным стрессам летнего периода анапо-таманской зоны изучали по следующим показателям: коэффициент повреждения мембран (по выходу катионов); содержание в растительных тканях (листьях винограда) свободной и связанной воды – по М.Д. Кушниренко, белков – по Б.П. Плешкову, углеводов – по методике Н.В. Воробьева [9], белка – спектральным методом, состав и количество органических кислот [10] и фенолкарбоновых кислот [11], содержание индолилуксусной кислоты, обуславливающей интенсивность роста [12], абсцизовой кислоты – методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 103Р [13]. Об интенсивности фотосинтеза судили по содержанию пигментов в листьях, а об устойчивости хлорофилл-белкового комплекса – по динамике содержания белка и хлорофиллов а и б, анатомическому строению листовой пластинки. Анатоомо-морфологические и гистохимические исследования проводили с использованием микроскопов МБИ-3, МБИ-10, Olympus [14]. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

Обсуждение результатов. Виноград считается засухоустойчивой культурой, так как благодаря глубоко проникающей корневой системе может выживать и давать урожай в засушливых условиях. Однако практика возделывания винограда свидетельствует о том, что высокие и кондиционные урожаи виноградная лоза дает только в условиях оптимального водоснабжения. В связи с этим особое значение имеет оценка гидротермических ресурсов мест возделывания винограда, биологические потребности культуры по фазам развития и с учетом порогов устойчивости различных органов растений к экстремальным значениям отдельных факторов климата. Раскрытие механизмов обеспечения устойчивости растений винограда к высокотемпературным стрессам невозможно без проведения корреляционного анализа многолетних данных изменения в летний период биохимических характеристик клеточного содержимого его листьев под воздействием температурных и водных стрессов. Для выявления физиолого-биохимических закономерностей в системе «многолетнее растение – природная среда» нами изучено влияние гидротермических условий летнего периода анапо-таманской зоны за период 2007-2014 гг. на водный режим и биохимический состав листьев винограда.

Метеоусловия летнего периода на территории анапо-таманской зоны в анализируемый период характеризовались как засушливые и неустойчивые. Отмечалось увеличение температуры в июне на 1,6-3,9 °С (в 2008 – на 1,1 °С), июле 2007 и 2010 – на 2,4-2,7 °С, 2007 и 2008 – на 1,2-1,3 °С, в августе – на 3,1-4,4 °С (кроме 2009 г.). Летний период 2011 года был жарким и засушливым. В июне и августе 2011 г. при значительном дефиците осадков температура воздуха достигала 30-31 °С, а в июле – 36 °С. При этом количество выпавших осадков в июне и июле составило 29-30 мм, а в августе – 6 мм. В 2012 г. также

отмечена низкая влагообеспеченность растений в июне и августе, июль и август отличались высокими температурами воздуха (37°C и 35°C, соответственно). В сравнении с 2012 г. метеоусловия летнего периода на территории анапо-таманской зоны в июне и июле 2013 и 2014 гг. по количеству выпавших осадков были более благоприятными. Однако в августе 2012-2014 гг. отмечалась сильная засуха, осадки не превышали 8-12 мм, а температура воздуха достигала 35-36 °C, в связи с этим основные результаты, представленные в статье, приводятся по данным 2012-2014 гг.

В целом в анализируемый период отмечено смещение дефицита осадков с июня на август месяц, что обуславливает плохую закладку генеративных органов и, следовательно, снижение урожая следующего года (нарушается процесс ассимиляции в листьях, уменьшается интенсивность накопления запасных веществ, затруднены процессы закаливания и подготовки растений к перезимовке).

Засуха ингибирует фотосинтез и рост растений. Засухоустойчивые сорта при нарастающем обезвоживании дольше сохраняют синтетические процессы и имеют биохимические механизмы защиты, способствующие в условиях засухи поддерживать достаточно высокий уровень физиологических процессов. Эти механизмы предотвращают обезвоживание клетки за счет накопления низкомолекулярных гидрофильных белков, связывающих значительное количество воды, пролина, концентрация которого значительно возрастает; увеличения содержания моносахаров, обеспечивающих детоксикацию продуктов распада и способствующих восстановлению нарушенных структур цитоплазмы при условии сохранения клеток от повреждения генетического аппарата.

Защитные механизмы различаются в зависимости от оводненности клеток. Если механизмы засухотолерантности основаны, в основном, на структурной стабилизации гидратации, то механизмы десикационной толерантности базируются на замещении воды молекулами, образующими водородные мостики [15]. Изучение динамики оводненности листьев показало постепенное увеличение влаги у всех изучаемых сортов винограда в июле и августе, что характеризует более высокую интенсивность обменных процессов и адаптацию растений к засухе. Установлено, что в 2013-2014 гг. оводненность листьев изучаемых сортов коррелирует с количеством выпавших осадков ($K_{\text{коррел}} = 0,9-1,0$) и среднемесячной температурой воздуха ($K_{\text{коррел.}} = 0,92-1$), а в 2012 г у сортов *Кристалл* и *Красностоп АЗОС* – с минимальной температурой воздуха ($K_{\text{коррел.}} = 0,83-0,90$) (рис. 1).

Устойчивость к засухе характеризует и содержание сухих веществ. В анализируемый летний период наблюдалось постепенное снижение содержания сухих веществ в листьях, что объясняется интенсивным использованием растениями в процессе адаптации пластических веществ и ростом ответных защитно-приспособительных реакций. Однако к августу, в сравнении с июнем, содержание сухих веществ в листьях возрастало, что обусловлено реакцией растений на повышение напряженности стрессовых факторов. Об этом также свидетельствует и динамика отношения содержания связанной формы воды к свободной (рис. 2).

В июне и июле этот показатель у сортов *Кристалл* и *Красностоп АЗОС* снижался, а в августе 2014 г. у всех анализируемых сортов – увеличивался. Рост содержания связанной формы воды в 2014 г. у этих сортов свидетельствует об интенсивном протекании адаптационных процессов, обусловленных засухой. Особая роль в обеспечении устойчивости к засухе отводится водоудерживающей способности растений, которая при дефиците поступающей воды обеспечивает поддержание водного гомеостаза. Водоудерживающая способность клеточного содержимого в значительной степени зависит от накопления осмотических веществ (катионов металлов, низкомолекулярных углеводов).

У межвидового гибрида *Кристалл* (европейско-амуро-американского происхождения) водоудерживающая способность в 2012 и 2013 гг. несущественно зависела от содер-

жания осмопротекторов, а в 2014 г. больше была обусловлена содержанием пролина ($K_{\text{коррел.}} = 0,99$) (рис. 3).

У сортов евро-американского происхождения в 2012 г. водоудерживающая способность коррелировала как с содержанием пролина, так и сахарозы; в 2013 г. у сорта *Достойный* – преимущественно с содержанием сахарозы; у *Красностоп АЗОС* – с содержанием пролина; в 2014 году у обоих сортов – с содержанием сахарозы. Это позволило сделать вывод, что механизмы устойчивости к низкой влагообеспеченности у изучаемых сортов в процессе адаптации изменяются специфически и обусловлены их генетическим потенциалом. Содержание растворимых углеводов к концу летнего периода увеличивалось. Наибольшее увеличение отмечено к августу у сорта *Достойный*.

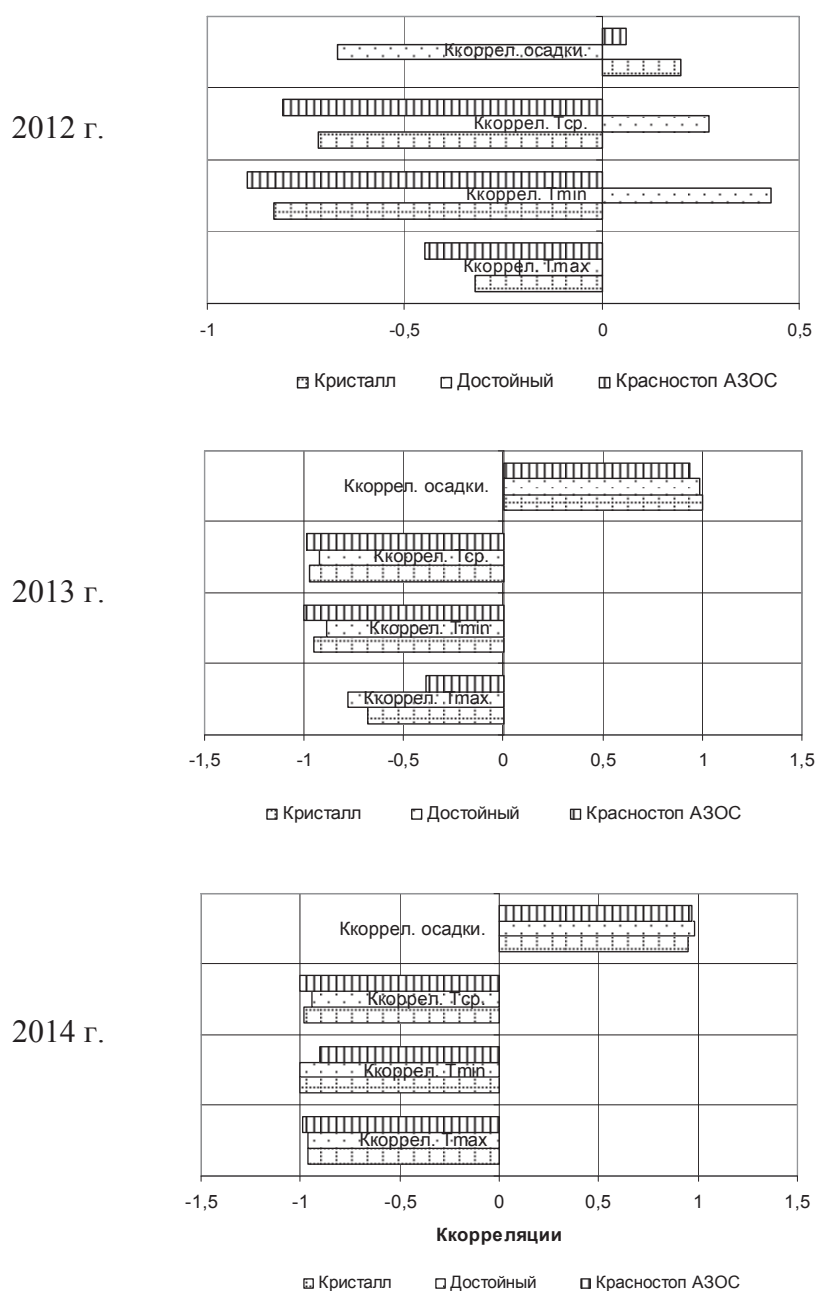


Рис. 1. Влияние гидротермических условий летнего периода 2012-2014 гг. на оводненность листьев винограда

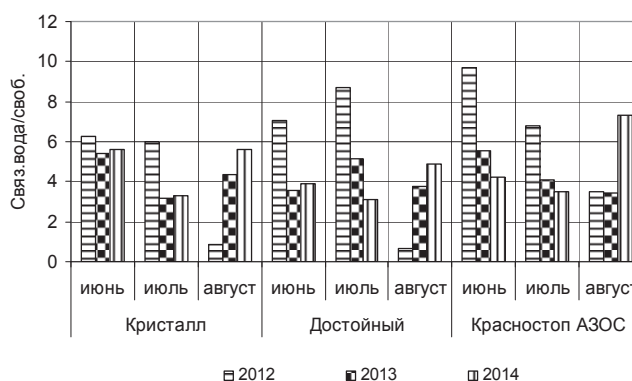


Рис. 2. Динамика отношения содержания связанной воды к свободной в листьях растений в летний период 2012-2014 гг.

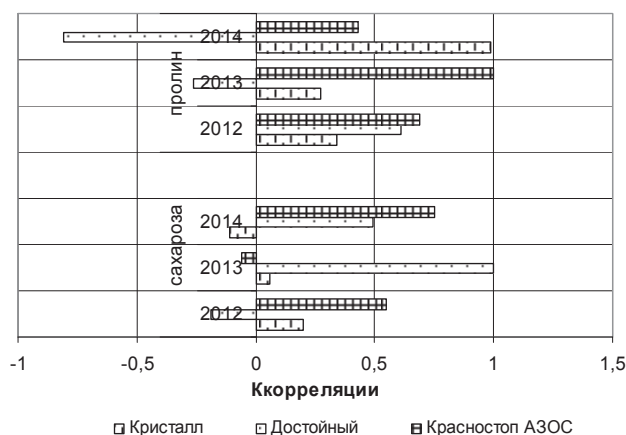


Рис. 3. Биохимическая характеристика засухоустойчивости сортов винограда в летний период 2012-2014 гг.

Об эффективности фотосинтеза в условиях высоких температур и дефицита влаги свидетельствует содержание белков и свободных аминокислот, органических и фенолкарбоновых кислот. Белки протоплазмы характеризуются гидрофильностью и легко вступают во взаимодействие с водой, образуя коллоидную систему, поэтому увеличение их содержания способствует формированию у растений винограда защитных механизмов против абиотических стрессов. Органические и фенолкарбоновые кислоты участвуют в окислительно-восстановительных процессах. Их лабильность позволяет поддерживать равновесие между окислением веществ и их восстановлением. Кроме того они связаны с процессами взаимопревращения белков, углеводов, жиров и являются переносчиками кислорода. Известно, что стрессы вызывают появление свободных радикалов и синглетного кислорода, что ведет к развитию деструктивных эффектов. Чем интенсивнее окислительно-восстановительные процессы в клетках растений, тем устойчивее сорт к стрессам.

При воздействии высокотемпературного стресса в августе параметры содержания белка и суммы свободных аминокислот составили, соответственно, для сортов:

- *Кристалл* (евро-амуро-американского происхождения) 6,6-18,9 мг/г и 0,06-0,53 мг/г;
- *Достойный* (евро-американского происхождения) 14,2-19,0 мг/г и 0,04-0,73 мг/г;
- *Красностоп АЗОС* (евро-американского происхождения) 9,5-20,32 мг/г и 0,04-0,12 мг/г.

В августе 2014 г., в сравнении с 2012 г., отмечалось увеличение содержания белка в листьях винограда, что обусловлено меньшей интенсивностью его гидролиза и характеризует высокую степень устойчивости изучаемых сортов винограда к условиям произрастания (рис. 4, 5).

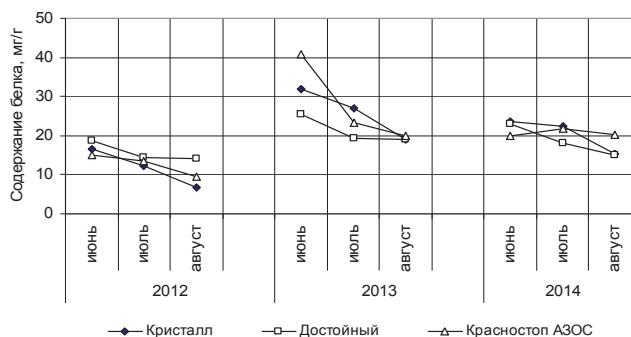


Рис. 4. Динамика содержания белка в листьях винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

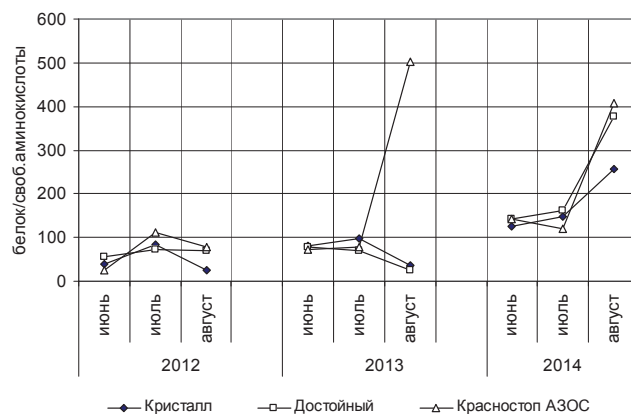


Рис. 5. Динамика гидролиза белка в листьях винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

Снижение содержания белка в листьях изучаемых сортов винограда в августе 2012 и 2013 гг. обусловлено более активным его распадом вследствие активации обменных процессов. Об этом свидетельствует и увеличение содержания органических кислот цикла Кребса (рис. 6).

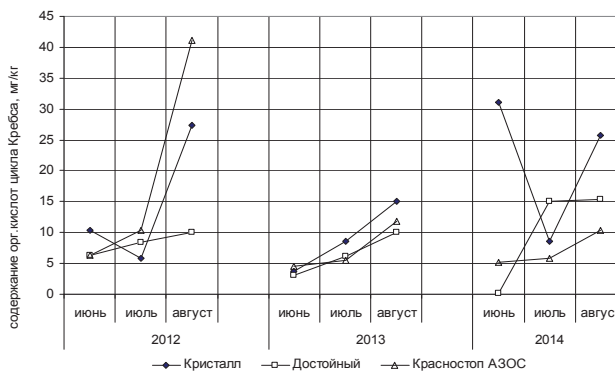


Рис. 6. Динамика содержания суммы органических кислот цикла Кребса (яблочной, янтарной, лимонной) в листьях винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

Жаростойкость винограда оценивали по таким показателям, как коэффициент повреждения мембран, содержание фенолкарбоновых (хлорогеновой, кофейной) и аскорбиновой кислот, защищающих липиды мембран от деструкции. В 2012 году в условиях засухи на протяжении всего летнего периода отмечалось постепенное повышение устойчивости клеточных мембран к разрушению, что сопровождалось повышением содержания фенолкарбоновых и аскорбиновой кислот в листьях винограда (рис. 7-9).

В июле 2013 г. при большом количестве осадков активизировались репарационные процессы и обмен веществ. В августе на фоне засухи и высокой температуры воздуха отмечено повреждение клеточных мембран. В августе 2014 г. у сортов *Достойный* и *Кристалл* отмечено повышение устойчивости клеточных мембран к разрушению при воздействии засухи и жары. Этот факт свидетельствует о высокой степени адаптации изучаемых межвидовых гибридов к гидротермическим условиям места произрастания.

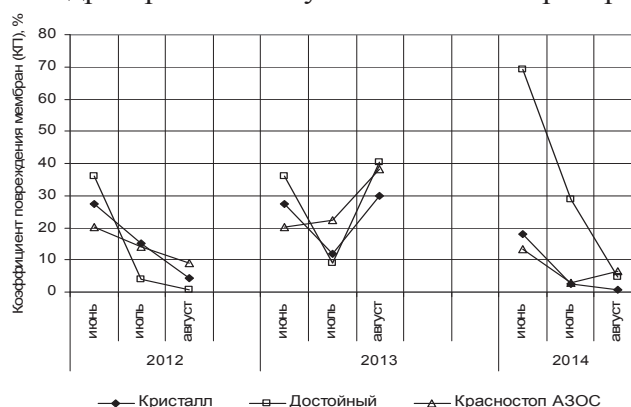


Рис. 7. Жаростойкость винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

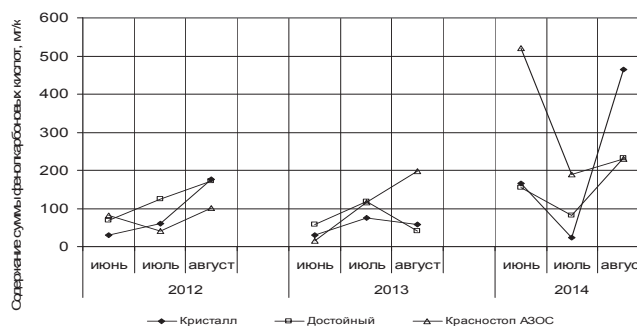


Рис. 8. Динамика содержания суммы фенолкарбоновых кислот в листьях винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

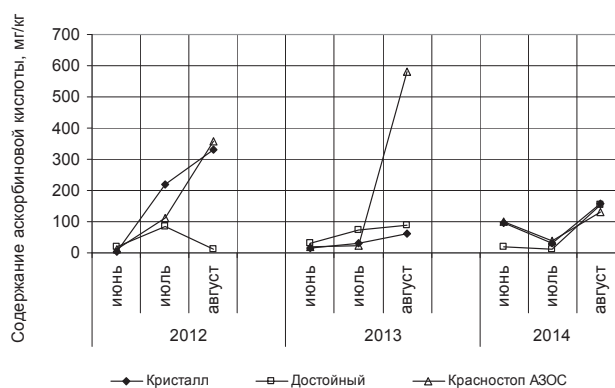


Рис. 9. Динамика содержания аскорбиновой кислоты в листьях винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

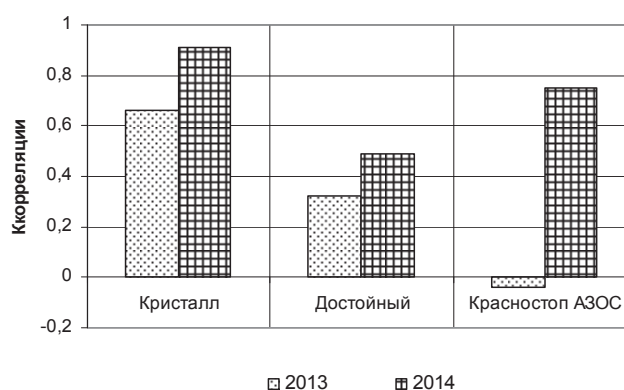


Рис. 10. Зависимость отношения связанной воды к свободной от содержания АБК в листьях винограда

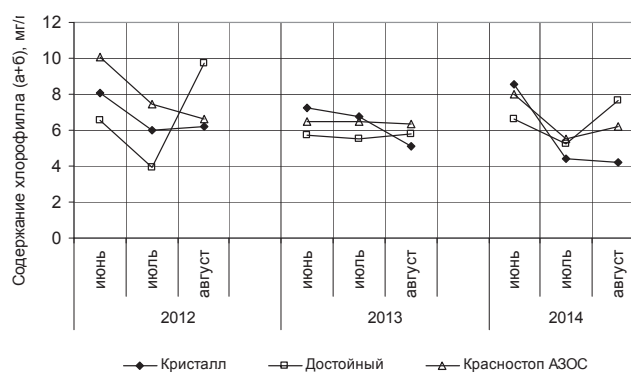


Рис. 11. Динамика содержания хлорофилла (a+b) в листьях винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

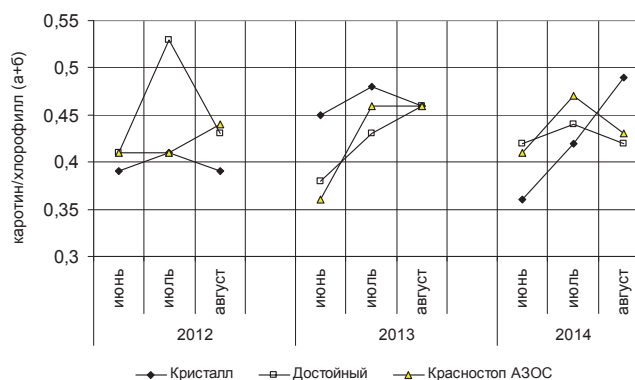


Рис. 12. Динамика соотношения содержания каротина и хлорофилла (a+b) в листьях винограда в условиях летнего периода 2012-2014 гг.

При изучении влияния содержания эндогенных фитогормонов – индолилуксусной (ИУК) и абсцизовой (АБК) кислот на устойчивость сортов винограда к засухе установлено, что с уменьшением содержания свободной и увеличением связанной воды в листьях содержание ингибитора роста АБК ($K_{\text{коррел.}} = 0,49 - 0,91$) и соотношение АБК/ИУК ($K_{\text{коррел.}} = 0,92 - 0,99$ для сорта *Кристалл*) увеличиваются. В летний период 2014 г. эти показатели были выше, чем в 2013 г. (рис. 10). У сорта *Достойный* содержание АБК коррелирует с оводненностью листьев ($K_{\text{коррел.}} = 0,8-0,9$).

В условиях августовской засухи большей устойчивостью пигментного комплекса в листьях характеризовались сорта *Достойный* и *Красностоп АЗОС*, что обусловлено их

эколого-географическим происхождением. Следует отметить у всех изучаемых сортов винограда повышение протекторной функции каротина к хлорофиллу в июле 2012-2014 гг. и у сорта *Кристалл* – в августе 2014 г., что свидетельствует об интенсивном процессе адаптации этого сорта к засухе и жаре (рис. 11-12).

По анатомо-морфологическим показателям в июне 2014 года признаки ксероморфной структуры листовой пластинки более всего проявились у сортов *Достойный* и *Кристалл*, в июле – у сорта *Достойный*, что согласуется с большим содержанием абсцизовой кислоты в листьях (табл. 1, 2). У этих сортов отмечено наибольшее развитие слоя палисадной паренхимы, по сравнению с губчатой, более мощное развитие клеток верхнего эпидермиса с кутикулой, больше устьиц на единицу поверхности листовой пластинки, мельче линейные размеры устьиц, что является признаками ксероморфной организации и обуславливает устойчивость растений к засухе.

Таблица 1 – Биометрические параметры листовой пластинки сортов винограда различного эколого-географического происхождения, 2.06.14

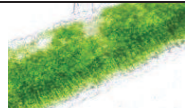
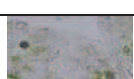
Сорт	Общая толщина листовой пластинки	Толщина палисадного слоя	Толщина губчатого слоя	Толщина верхнего эпидермиса	Индекс палисадности	Микрофото поперечного среза листовой пластинки
Достойный	125,3	61,8	53,1	10,4	1,16	
Красностоп АЗОС	141,4	64,7	65,7	11,0	0,98	
Кристалл	135,4	66,2	58,4	10,8	1,13	

Таблица 2 – Биометрические показатели устьичного аппарата сортов винограда различного эколого-географического происхождения, 2.06.14

Сорт	Параметры устьичного аппарата, усл.ед.			Микрофото устьичного аппарата
	длина устьиц	ширина устьиц	количество, шт./мм ²	
Достойный	25,8	17,2	196	
Красностоп АЗОС	29,7	14,9	205	
Кристалл	30,3	15,5	202	

Выводы. Выявлены биохимические особенности адаптации растений винограда различного эколого-географического происхождения к высокотемпературным стрессам. Определены корреляционные зависимости водного режима растений от гидротермических условий летнего периода. Установлено влияние содержания осмопротекторов (сахарозы), пластических веществ (белка), пролина, органических и фенолкарбоновых кислот, эндогенных фитогормонов (ИУК и АБК), пигментного комплекса на устойчивость растений

винограда к водному и высокотемпературному стрессам. Дано объяснение возможных механизмов биохимических процессов защиты сортов винограда различного эколого-географического происхождения от абиотических стрессов летнего периода.

Литература

1. Алехина, Н.Д. Физиология растений: учебник для студ. вузов / Н.Д., Алехина, Ю.В. Балконин, В.Ф. Гавриленко [и др.] / Под ред. И.П. Ермакова. – М., 2005. – 640 с.
2. Петров, В.С. Селекционно-технологические методы повышения стрессоустойчивости винограда / В.С. Петров И.А., Ильина, Т.А. Нудьга, М.А. Сундырева // Методы и способы повышения стрессоустойчивости плодовых культур и винограда: сб. науч. тр. – Краснодар, 2009. – С. 144-156.
3. Sauerborn, J. Site productivity, the key to crop productivity / J.Sauerborn // J.Agron. and Crop Sci. – 2002. – 188, № 6. – P. 363-367.
4. Kishor, PB Kavi. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance / PB Kavi Kishor, S. Sangam, RN Amrutha, PSriLaxmi [et. all.] // Curr. Sci. – 2005 – Vol. 88, № 3. – P. 424-438.
5. Kaldenhoff, R. Aquaporins and plant water balance / R. Kaldenhoff, M. Ribas-Carbo, Sans J. Flexas, C. Lovisolo [et.al.] // Plant, Cell & Environment. – 2008. – Vol. 31. – P. 658–666.
6. Ненько, Н.И. Сопряженная устойчивость сортов винограда к абиотическим стрессорам летнего периода / Н.И. Ненько, И.А. Ильина, В.С. Петров, Г.К. Киселева, М.А. Сундырева, Т.В. Схаляхо // Europejska nauka XXI wieka - 2014: materiały X Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji (07-15 maja 2014 roku). Volume 28. Rolnictwo Weterynaria: Przemysł. Nauka i studia. – S. 20-40.
7. Yordanov, I. Plant responses to drought and stress tolerance / I. Yordanov, V. Velikova, T. Tsonev: Environmental Stress and Sustainable Agriculture «ESSA»: proceedings of the European Workshop (Varna. 7-12 Sept., 2002) // Bulg. J. Plant Physiol, Spec. Issue. – 2003. – V. XXIX, No 3-4. – P. 187-206.
8. Ильина, И.А. Физиологические и биохимические изменения технических сортов винограда в весенне-летний период / И.А. Ильина, В.С. Петров, Н.И. Ненько, В.В. Кудряшова, Н.М. Запорожец, Т.А. Схаляхо // Виноделие и виноградарство. – 2009. – № 5. – С. 20-22.
9. Воробьев, Н.В. Определение содержания сахарозы, фруктозы и глюкозы в растительных тканях с помощью антронового реактива / Н.В. Воробьев // Бюллетень НТИ ВНИИ риса. – Краснодар, 1985. – Вып. 33. – С. 11-13.
10. Захарова, М.В. Методика определения массовой концентрации винной, яблочной, янтарной, лимонной кислот с применением капиллярного электрофореза / М.В. Захарова, И.А. Ильина, Г.К. Киселева, Г.В. Лифарь, Ю.Ф. Якуба // Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству: сб. науч. тр. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2010. – С. 283-288.
11. Захарова, М.В. Методика определения массовой концентрации аскорбиновой, хлорогеновой и кофейной кислот с применением капиллярного электрофореза / М.В. Захарова, И.А. Ильина, Г.К. Киселева, Г.В. Лифарь, Ю.Ф. Якуба // Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству: сб. науч. тр. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2010. – С. 279-283.
12. Пат. 2517219 Российская Федерация, МПК G01N 33/15 (2006.01), G01N 27/26 (2006.01). Способ определения индолилуксусной кислоты методом капиллярного электрофореза / Якуба Ю.Ф., Ненько Н.И., Яблонская Е.К., Шестакова В.В., Сундырева М.А.; заявитель и патентообладатель ГНУ СКЗНИИСиВ. – № 2012145879/15; заявл. 26.10.12; опубл. 27.05.14, Бюл. № 15. – 7 с.
13. Якуба, Ю.Ф. Способ определения содержания свободной абсцизовой кислоты в вегетативных органах растений методом капиллярного электрофореза / Ю.Ф. Якуба, Н.И. Ненько, Е.К. Яблонская, М.А. Сундырева, В.П. Попов, Я.В. Ушакова // Заявка на изобретение № 2014126532 от 02.07.2014
14. Киселева, Г.К. Анатомо-морфологическая оценка адаптивного потенциала сортов плодовых культур и винограда / Г.К. Киселева // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – С. 199-205.
15. Кириченко, А.В. Биологическое обоснование орошения промышленных виноградников на Юге Российской Федерации: автореф. дис. ... докт. с.-х. наук. – Мичурин. гос. аграр. ун-т, Мичуринск, 2003. – 50 с.