

УДК 634.8:631.52

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА  
СОПРЯЖЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ВИНОГРАДА  
К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОРАМ ЗИМНЕГО ПЕРИОДА  
АНАПО-ТАМАНСКОЙ ЗОНЫ\***

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

*Государственное научное учреждение Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии  
(Краснодар)*

**Реферат.** В анапо-таманской зоне изучена устойчивость сортов винограда различного происхождения к комплексу абиотических стрессов зимнего периода. На основе анатомо-морфологических и физиолого-биохимических показателей установлено, что гибриды евро-американского происхождения обладают сопряженной устойчивостью к стрессовым факторам зимнего периода.

**Ключевые слова:** виноград, сорта, водный режим, сахароза, пролин, морозостойкость

**Summary.** In the Anapa-Taman zone the stability of grapes varieties of different origin to the complex of winter abiotic stress factors is studied. It is established on the basis of anatomic and morphological, physiological and biochemical indexes that the hybrids of Euro-American origin possess the combined stability to the stress factors of winter periods.

**Key words:** grapes, varieties, water regime, saccharose, proline, frost resistance

**Введение.** Участвовавшие в регионах в последние годы погодные аномалии способствуют изменению климатических условий, температурного и гидротермического режимов, оказывающих воздействие на растения винограда, приводят не только к недобору урожая, но и к гибели насаждений [1]. В связи с этим актуально изучение совокупности адаптивных процессов, происходящих в растениях при воздействии стрессоров, общих неспецифических физиолого-биохимических защитных реакций, необходимых для сохранения целостности растительного организма в неблагоприятных условиях среды, для выявления сортов, наиболее приспособленных к условиям возделывания [2, 3]. Физиологический стресс, индуцируя активацию метаболизма, может повышать общие адаптивные реакции растительного организма и способствовать преадаптации к другим возможным стрессорам, увеличению неспецифической устойчивости [3].

Цель работы – изучить физиолого-биохимические закономерности метаболических реакций адаптации растений винограда различных эколого-географических групп и сроков созревания к комплексу стрессоров и выявить сорта с сопряженной устойчивостью к стресс-факторам, перспективные для возделывания в условиях анапо-таманской зоны.

**Объекты и методы исследований.** Работа выполнялась в 2008-2012 гг. на виноградниках Всероссийской ампелографической коллекции АЗОСВиВ в анапо-таманской зоне, в лаборатории физиологии и биохимии растений, проблемно-исследовательской лаборатории СКЗНИИСиВ. Год посадки кустов – 1996, подвой Кобер 5ББ, возделывание на черном паре при схеме посадки 4 x 2,5 м., форма кустов – двусторонний высокоштабный спиральный кордон АЗОС.

---

\* Работа выполнена в рамках проекта РФФИ р\_юг\_а 13-04-96575

Объектами исследований являлись сорта винограда селекции АЗОСВиВ и интродуцированные европейского происхождения (раннего срока созревания – Мадлен Анжевин, среднего – Бархатный, позднего – Каберне Совиньон, Аг Чакрак) и межвидовые гибриды европейско-американской группы (раннего срока созревания – Кристалл (евро-ауро-американский), Краса севера, Бианка; среднего – Достойный, Красностоп АЗОС и позднего – Первенец Магарача, Каберне АЗОС). Отбор образцов побегов проводили в соответствии с общепринятой методикой [4].

Для оценки адаптационной устойчивости растений винограда к абиотическим стрессорам осенне-зимнего периода в побегах определяли оводненность, содержание свободной и связанной форм воды, белка, углеводов, аминокислот, суммы фенолкарбоновых и аскорбиновой кислот и суммы катионов [2, 5-8]. Устойчивость растений к стресс-факторам изучалась в естественных условиях и при моделировании стресса (принудительное обезвоживание; температура 25°C). При изготовлении анатомических препаратов использовали методы общепринятой ботанической микротехники [9]. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с помощью методов вариационной статистики [10].

**Обсуждение результатов.** Потенциал устойчивости сортов винограда к низким температурам определяется не только генотипическими особенностями, но и в значительной степени зависит от условий произрастания и складывающихся погодных условий. В период 2007-2012 гг. характеризовались меньшим количеством выпавших осадков, по сравнению с другими годами исследований, ноябрь 2008, 2010 и 2011 гг. и февраль 2007-2010 гг. (рис. 1).

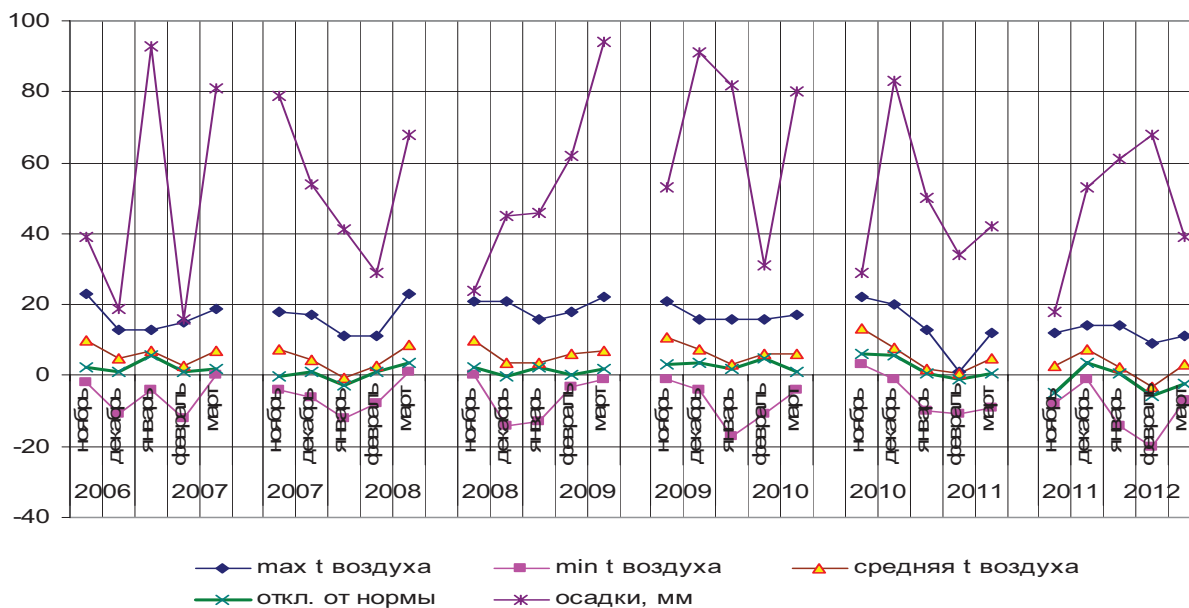
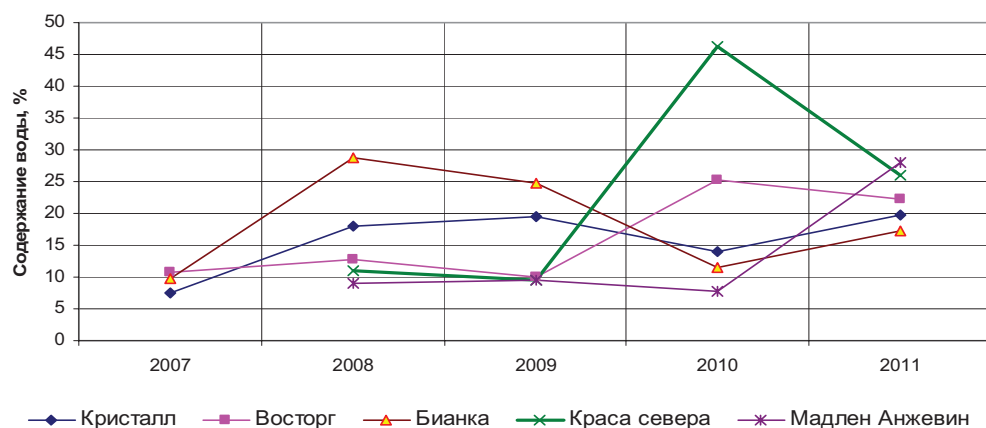
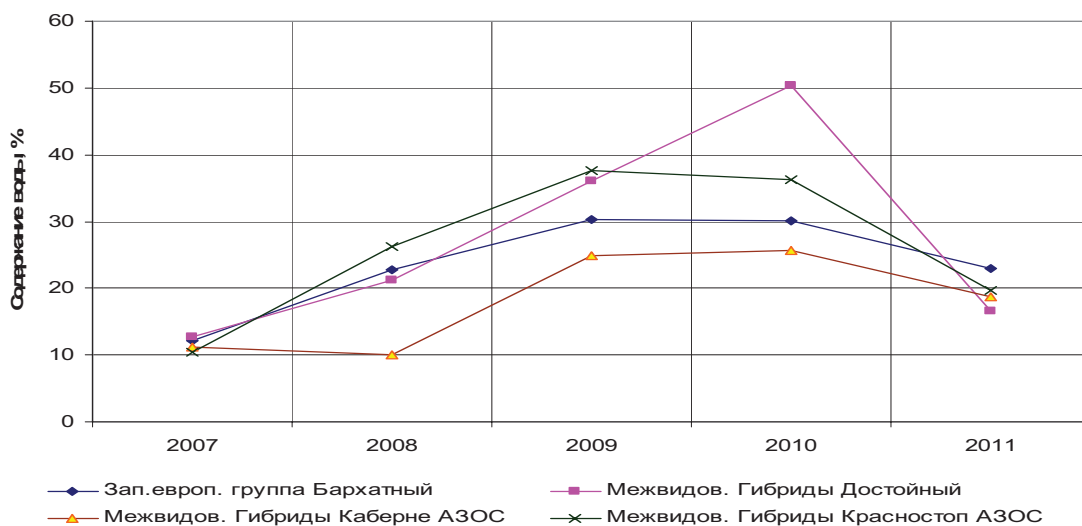


Рис. 1. Погодные условия г. Анапа в зимние периоды 2006-2012 гг.

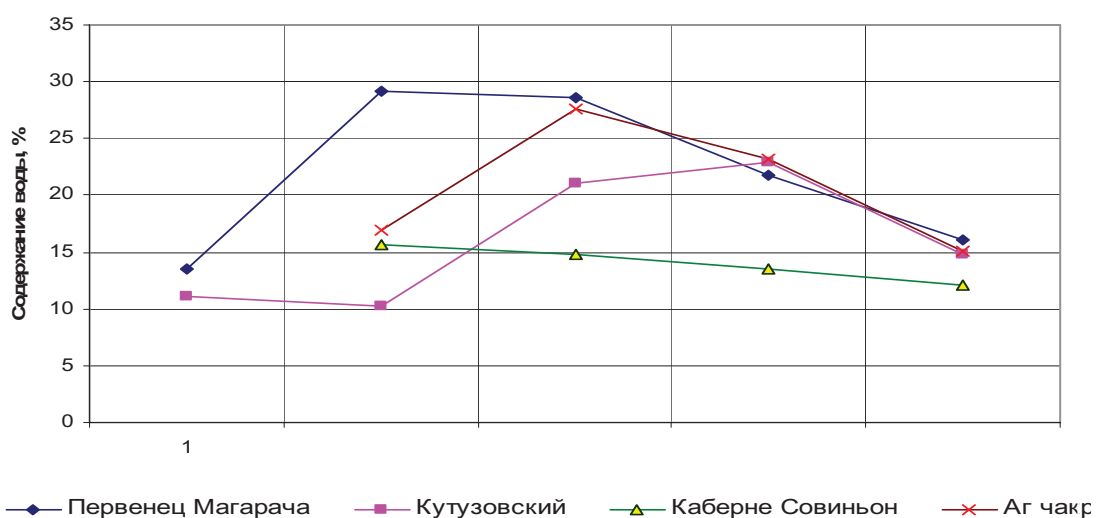
В ноябре 2007, 2009 гг. выпадение осадков и высокая положительная температура воздуха способствовали более позднему вызреванию лозы у сортов раннего (Кристалл, Бианка) и позднего (Первенец Магарача, Каберне Совиньон) сроков созревания. В условиях зимы 2006-2007 гг. более низкими температурами характеризовались декабрь и февраль, 2007-2008 гг. – январь, 2008-2009 гг. – декабрь и январь, 2009-2010 гг. – январь, 2010-2011 гг. – январь и февраль и в зиму 2011-2012 гг. – февраль.



сорта раннего срока созревания



сорта среднего срока созревания



сорта позднего срока созревания

Рис. 2. Оводненность коры побегов винограда в декабре 2006-2011 гг.

Таким образом, проявление экстремально низких температур за анализируемый период постепенно смещается с декабря, когда растения в глубоком покое, на февраль, когда растения находятся в состоянии вынужденного покоя, что отрицательно сказывается на их морозостойкости.

В декабре, за период с 2008 по 2010 гг., отмечается рост оводненности побегов и содержания в них свободной формы воды у сортов среднего и позднего (кроме Первенец Магарача) сроков созревания, что в большей мере согласуется с количеством выпавших осадков ( $K_{\text{коррел.}} 0,74-0,95$ ) и высокой среднемесячной температурой воздуха ( $K_{\text{коррел.}} 0,53-0,94$ ) (рис. 2, табл. 2, 3).

Таблица 1 – Динамика соотношения связанной и свободной форм воды в коре лозы винограда в декабре 2007-2011 гг.

Срок созревания	Происхождение сорта	Сорт	2007	2008	2009	2010	2011
ранний	межвидовые гибриды	Кристалл	7,06	0,74	0,67	0,66	0,59
		Восторг	8,62	0,47	3,15	0,99	0,47
		Бианка	4,19	1,71	0,26	3,66	0,43
		Краса севера		1,59	3,64	1,04	0,38
	западноевропейская группа	Мадлен Анжевин		3,22	2,42	2,99	0,29
средний	западноевропейская группа	Бархатный	2,42	0,43	0,24	0,29	0,4
	межвидовые гибриды	Достойный	1,49	0,63	0,18	0,16	0,79
		Каберне АЗОС	1,2	2,28	0,29	0,41	0,59
		Красностоп АЗОС	1,16	1,7	0,44	0,37	0,56
поздний	межвидовые гибриды	Первенец Магарача	1,97	0,33	0,21	0,91	1,03
		Кутузовский	2,36	0,67	2,42	0,66	0,83
	западноевропейская группа	Каберне Совиньон		0,16	0,7	2,61	1,56
	восточная группа	Аг Чакрак		1,82	0,24	0,47	0,54

В декабре 2011 г, по сравнению с 2010 г., у всех анализируемых сортов винограда среднего и позднего сроков созревания оводненность побегов и содержание в них свободной формы воды снижалось и составило у сортов Бианка и Кристалл 17,3 и 19,6 %, у сортов Краса севера и Мадлен Анжевин – 26,0 и 27,9 %, соответственно (рис. 2).

Высокая среднемесячная температура воздуха в декабре оказала отрицательное влияние на глубину покоя у сортов раннего срока созревания Восторг и Краса севера (с оводненностью лозы  $K_{\text{коррел.}} 0,53-0,57$ ).

Отношение содержания связанной формы воды к свободной ( $K_{\text{связ/своб}}$ ), характеризующее устойчивость клеток к обезвоживанию, в декабре 2010 - 2011 гг.

- более стабильно ( $K_{\text{связ/своб}} = 0,59-0,66$  и  $0,47-0,99$ ) у сортов Кристалл и Восторг, соответственно, что характеризует их большую морозостойкость;
- снижалось ( $K_{\text{связ/своб}} =$  от  $1,04 - 3,66$  до  $0,29-0,43$ ) у сортов Бианка, Краса севера и Мадлен Анжевин, что свидетельствует о росте содержания свободной формы воды и характеризует их низкую морозостойкость в состоянии глубокого покоя (табл. 3).

Таким образом, в декабре у всех исследуемых сортов среднего и позднего (кроме Достойный и Первенца Магарача) сроков созревания в связи с более теплой погодой и выпадением осадков наблюдалось недостаточно полное вхождение растений в состояние глубокого покоя, о чем свидетельствует высокое содержание свободной формы воды в коре побегов.

Большей толерантностью к изменяющимся погодным условиям по показателю соотношения связанной и свободной воды в побегах за изучаемый период характеризовались сорта Кристалл, Красностоп АЗОС. У этих сортов, а также у сорта Первенец Магарача отмечается постепенный рост устойчивости к обезвоживанию, а, следовательно, повышение морозостойкости.

К первым неспецифическим ответам клеток на воздействие разнообразных стрессов относится катаболизм биополимеров, продукты которого способствуют формированию реакции адаптации. Устойчивость клеток растений к обезвоживанию обусловлена присутствием в них таких осмопротекторов, как пролин и сахараза.

Пролин – полярная аминокислота, входит в состав белков крипротекторов клеточных мембран, накопление которых коррелирует с устойчивостью к низким температурам [11].

В декабре 2011 г., по сравнению с 2010 г. больший рост содержания пролина отмечается у межвидовых гибридов среднего срока созревания, чем у раннеспелых сортов (табл. 2).

Таблица 2 – Содержания пролина в тканях лозы сортов винограда

Происхождение сорта	Срок созревания	Сорт	Содержание пролина, мг/кг
Межвидовидовые гибриды	ранний	Кристалл	12,3-19,7
		Восторг	26,0-29,2
		Бианка	35,3-42,0
		Краса севера	23,3-32,2
Западноевропейская группа	средний	Мадлен Анжевин	13,5-38,8
		Бархатный	23,6-68,0
Межвидовые гибриды	средний	Достойный	3,30-92,0
		Каберне АЗОС	17,3-81,0
		Красностоп АЗОС	20,1-55,0
		Первенец Магарача	21,2-36,5
Западноевропейская группа	поздний	Кутузовский	14,0-34,0
		Каберне Совиньон	39,4-438,0
Восточная группа		Аг Чакрак	19,9-488,0

Следует отметить существенный рост содержания этой аминокислоты у позднеспелого сорта Каберне Совиньон, что позволяет предположить снижение интенсивности ее метаболизации. У более морозостойких сортов раннего срока созревания изменение содержания пролина в коре побегов не превышает 20-60 %.

У большинства изучаемых сортов винограда (кроме Мадлен Анжевин) содержание сахарозы в коре побегов в декабре 2009-2011 гг. возросло (табл. 3).

Результаты определения зависимости между динамикой изменения соотношения содержания связанной и свободной форм воды и содержанием пролина и сахарозы в клетках коры побегов винограда в период глубокого покоя в декабре 2009-2011 гг. приведены на рис. 3.

Таблица 3 – Содержание сахарозы в тканях лозы сортов винограда

Происхождение сорта	Срок созревания	Сорт	Содержание сахарозы, мг/кг
Межвидовые гибриды	ранний	Кристалл	6,16-9,21
		Восторг	6,68-9,98
		Бианка	7,06-11,78
		Краса севера	8,17-9,40
Западноевропейская группа	средний	Мадлен Анжевин	17,27-6,83
		Бархатный	9,66-14,79
Межвидов. гибриды	средний	Достойный	7,22-10,66
		Каберне АЗОС	7,13-10,57
		Красностоп АЗОС	10,9-11,83
		Западноевропейская группа	поздний
Кутузовский	7,26-9,69		
Восточная группа	поздний	Каберне Совиньон	7,28-10,98
		Аг Чакрак	6,97-14,14

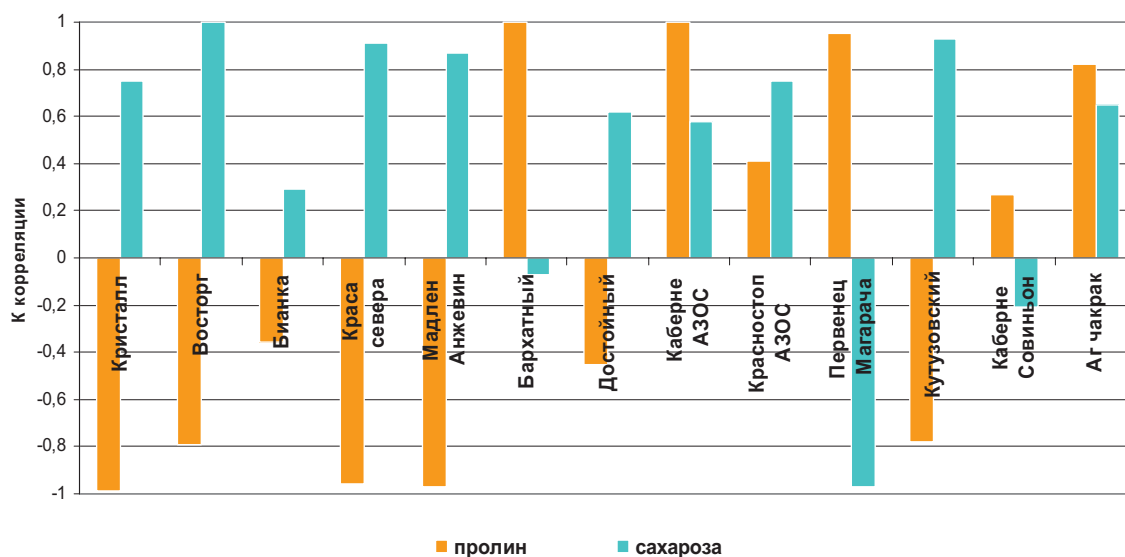


Рис. 3. Зависимость между соотношением содержания связанной и свободной форм воды и содержанием пролина и сахарозы в клетках коры побегов винограда в период глубокого покоя (декабрь 2009-2011 гг.)

У большинства исследуемых сортов винограда наиболее тесная связь устойчивости клеток к обезвоживанию в декабре – с содержанием сахарозы; у сортов Бархатный, Первенец Магарача, Каберне Совиньон – пролина; и у сортов Каберне АЗОС, Красностоп АЗОС и Аг Чакрак – пролина и сахарозы, что свидетельствует о различных механизмах устойчивости сортов к низким температурам в условиях глубокого покоя.

Анатомо-морфологические и гистохимические исследования однолетней лозы изучаемых сортов винограда показали, что благоприятные условия теплой и затяжной осени обусловили полное вызревание побегов (рис. 4).



Рис. 4. Микрофото поперечного среза однолетней лозы

Известно, что между содержанием крахмала и морозостойкостью сорта имеется коррелятивная связь: чем больше крахмала в тканях растения, тем более морозостойчив сорт.

Динамику содержания крахмала в зоне мелкоклеточной сердцевинки лозы винограда определяли гистохимически с помощью раствора Люголя по 5-балльной шкале. Содержание крахмала в начале зимнего периода, оцененное на 1,2-4,5 баллов, было различно у изучаемых сортов и не зависело от эколого-географического происхождения.

Содержание крахмала гистохимически было оценено:

- в 4,0-4,5 балла у более морозостойких сортов (Кристалл, Восторг, Бианка, Достойный, Красностоп АЗОС, Первенец Магарача);
- в 3,0-3,5 балла у относительно морозостойких сортов (Краса Севера, Бархатный, Каберне АЗОС, Кутузовский, Аг Чаграк);
- в 1,2-2,0 балла у сортов с низкой морозостойкостью (Мадлен Анжевин, Каберне Совиньон).

По результатам анатомо-морфологических и гистохимических исследований однолетней лозы проявляют себя как:

- морозостойкие сорта: Кристалл, Восторг, Бианка, Достойный, Красностоп АЗОС, Первенец Магарача;
- средне морозостойкие сорта: Краса Севера, Бархатный, Каберне АЗОС, Кутузовский, Аг Чаграк;
- слабо морозостойкие сорта: Мадлен Анжевин, Каберне Совиньон.

Биохимическая оценка устойчивости побегов винограда к низкотемпературному стрессу при их промораживании позволила установить, что содержание связанной формы воды, характеризующее устойчивость клеток к обезвоживанию, положительно коррелирует с содержанием:

- пролина (К коррел.= 0,64-0,99) у сортов Кристалл, Восторг, Краса севера, Мадлен Анжевин, Кутузовский;
- сахарозы (Ккоррел.= 0,79-0,99) у сортов Бархатный, Первенец Магарача
- пролина (Ккоррел. = 0,47-0,77) и сахарозы (Ккоррел. = 0,47 – 0,99) у сортов Каберне АЗОС, Красностоп АЗОС, Каберне Совиньон (см. табл. 2, 3).

Таким образом, у большинства межвидовых гибридов содержание связанной формы воды положительно коррелирует с содержанием пролина, независимо от сроков их созревания, что, очевидно, связано с генотипическими особенностями сортов.

Адаптация к одному из факторов может приводить в некоторых случаях к увеличению устойчивости одновременно и к другим, то есть наблюдается проявление «сопряжен-

ной устойчивости». Потому представляло интерес выявить, как согласуется устойчивость растений винограда к обезвоживанию с устойчивостью к низкотемпературному стрессу.

При воздействии на растения экстремально низкой температуры может наблюдаться не только потеря воды клетками, но и изменение проницаемости клеточных мембран, что может быть связано с их разрушением. Одним из показателей целостности мембран может служить изменение содержания белка в клетках. Установлено, что среди изучаемых сортов винограда лишь у сортов Кристалл и Достойный содержание белка в тканях лозы изменяется незначительно ( $K=1,2-1,23$ ) (табл. 4).

У всех исследуемых сортов винограда следует отметить значительное уменьшение содержания сахарозы, а также фенолкарбоновых и аскорбиновой кислот, защищающих мембраны клеток от разрушения, что позволяет предположить их активную метаболизацию. При этом отмечается повышение проницаемости мембран для катионов у сортов раннего (кроме сорта Бианка), среднего и позднего (кроме сорта Первенец Магарача) сроков созревания ( $K=0,27-0,45$ ).

У сортов Бианка, Кутузовский, Каберне Совиньон при промораживании побегов отмечалось снижение выхода катионов из клеток, что свидетельствует об их закаливании.

Уменьшение содержания пролина и белка при одновременном увеличении проницаемости мембран у сортов Мадлен Анжевин, Каберне АЗОС, Аг Чакрак при промораживании побегов характеризует их низкую морозостойкость.

Низкой проницаемостью мембран до промораживания ( $0,72-1,43$  мкг/г) и большим содержанием суммы фенолкарбоновых и аскорбиновой кислот ( $0,08-0,15$  мкг/г) после него характеризуются сорта Кристалл, Восторг, Бианка, Краса севера. Достойный, Красностоп АЗОС, Первенец Магарача, а одновременно и большей устойчивостью клеток к обезвоживанию – Кристалл, Достойный, Красностоп АЗОС и Первенец Магарача, что позволяет предположить наличие у этих сортов «сопряженной устойчивости».

Таким образом, результаты биохимических исследований свидетельствуют о недостаточной степени вхождения растений винограда в состояние глубокого покоя в декабре 2011 года, что могло послужить одной из причин вымерзания большинства изучаемых сортов при низких температурах воздуха в конце января – феврале 2012 года.

Отмечающаяся в декабре у сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Первенец Магарача, Достойный большая устойчивость клеток коры побегов к обезвоживанию, а при низкотемпературном стрессе – большая устойчивость белка к разрушению (Кристалл, Достойный), торможение разрушения мембран при увеличении содержания пролина (Кристалл, Бианка, Краса севера, Восторг, Первенец Магарача) и неизменное его количество у сорта Красностоп АЗОС позволяют предположить проявление механизма сопряженной устойчивости у межвидовых гибридов раннего (Кристалл), среднего (Красностоп АЗОС, Достойный) и позднего (Первенец Магарача) сроков созревания.

**Выводы.** Межвидовые гибриды винограда Кристалл, Красностоп АЗОС, Первенец Магарача, Достойный в состоянии глубокого покоя характеризуются большей устойчивостью тканей коры побегов к обезвоживанию, а при низкотемпературном стрессе – устойчивостью белка (Кристалл, Достойный) и клеточных мембран к разрушению, что позволяет предположить у них в условиях зимнего периода анапо-таманской зоны проявление механизма сопряженной устойчивости.



Таблица 4 – Биохимическая характеристика устойчивости побегов винограда к промораживанию в декабре 2011 г.

Срок созревания	Происхождение сорта	Сорт	Пролин, мг/кг		Сумма катионов, мг/г		Сумма фенол-карб. и аскорб. кислот, мг/г x10		Белок, мг/г	
			1	2	1	2	1	2	1	2
ранний	Межвидовые гибриды	Кристалл	12,3	27,5	1,10	2,64	0,48	0,15	2,67	2,67
		Восторг	26	74	0,72	2,7	0,62	0,12	3,17	2,63
		Бианка	42	91,5	0,92	0,80	0,75	0,11	3,21	2,15
		Краса севера	23,3	45	0,99	2,75	1,74	0,12	2,29	4,26
средний	Западноевропейская группа	Мадлен Анжевин	13,5	2,8	0,98	3,32	1,09	0,03	2,76	2,43
		Бархатный	68	197	1,46	4,61	0,75	0,08	3,58	1,72
		Достойный	92	12,9	1,09	3,25	1,09	0,1	2,62	3,14
		Каберне АЗОС	81	52	1,29	3,57	1,32	0,05	3,3	1,45
поздний	Межвидовые гибриды	Красностоп АЗОС	55	53	1,43	3,21	1,01	0,04	3,15	1,59
		Первенец Магарача	36,5	167	0,93	3,14	0,62	0,08	2,23	1,56
		Кутузовский	34	29,5	3,27	3,15	1,9	0,16	2,65	3,26
		Каберне Совиньон	438	99	2,61	2,62	1,95	0,02	1,27	1,72
	Восточная группа	Аг Чакрак	488	53,2	3,95	4,26	1,75	0,15	3,44	1,79

\*1 – до промораживания побегов

2 – после промораживания побегов

### Литература

1. Егоров, Е.А. Актуализация приоритетов в селекции плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда для субъектов Северного Кавказа /Е.А. Егоров // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве.– Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012.– С. 3-45
2. Ненько, Н.И. Физиологические методы в адаптивной селекции плодовых культур / Н.И. Ненько, Т.Н. Дорошенко, Т.А. Гасанова // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве.- Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012.– С. 189-198.
3. Кузнецов, В.В. Элементы неспецифичности реакции генома растений при температурном и холодном стрессе / В.В. Кузнецов, Дж. Кимпел, Дж. Гокджиян, Дж. Ки // Физиология растений.– 1987.– Т. 34.– С. 859-868
4. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур.– М.: Колос, 1970.– Вып. 5.– 159 с.
5. Кушниренко, М.Д. Физиология водообмена и засухоустойчивости растений / М.Д. Кушниренко, С.Н. Печерская.– Кишинев: Штиинца, 1991.– 306 с.
6. Воробьев, Н.В. Определение содержания сахарозы, фруктозы и глюкозы в растительных тканях с помощью антронового реактива / Н.В. Воробьев.– Бюллетень НТИ ВНИИриса.– Краснодар, 1985.– Вып. 33.– С. 11-13.
7. Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству.– Краснодар.– 2010.– 300 с.
8. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина, Г.А.Соловьевой.– М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.
9. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева.– М.: Колос, 1967.– 176 с.
10. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов.– М.: Колос, 1985.–351 с.
11. Тарчевский, И.А. Катаболизм и стресс у растений / И.А. Тарчевский // 52-е Тимирязевское чтение.– М.: Наука, 1993.– 80 с.