

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИСТОВОГО АППАРАТА ЯБЛОНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СТРЕССОРОВ ЛЕТНЕГО ПЕРИОДА

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., канд. биол. наук, Караваяева А.В.

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

Реферат. Представлены результаты физиолого-биохимических исследований листа различных сортов яблони в условиях летнего периода. Выявлены наиболее информативные физиолого-биохимические показатели, характеризующие функциональную активность листа в условиях летних стрессов (содержание связанной формы воды, малоновый диальдегид, коэффициент проницаемости клеточных мембран, активность пероксидазы, формирование ксероморфной структуры листовой пластинки). По физиолого-биохимическим показателям выделены сорта, обладающие устойчивостью к повышенным температурам и засухе в условиях Краснодарского края.

Ключевые слова: яблоня, малоновый диальдегид, пероксидаза, проницаемость клеточных мембран, ксероморфные признаки листовой пластинки

Summary. The results of physiological and biochemical studies of the leaf of various varieties of apple trees in the summer are presented. The most informative physiological and biochemical parameters of the leaf were revealed, characterizing its functional activity under summer stress conditions (the content of the bound form of water, malon dialdehyde, the permeability coefficient of cell membranes, peroxidase activity, the formation of xeromorphic structure of the leaf lamina). According to physiological and biochemical indicators, varieties are identified that are resistant to elevated temperatures and drought in the conditions of the Krasnodar region.

Key words: apple, malonic dialdehyde, peroxidase, cell membrane injury, xeromorphic signs of leaf lamina

Введение. Стрессы летнего вегетационного периода обусловлены воздействием лимитирующих факторов среды – экстремально повышенных температур и низкой влагообеспеченностью, нарушающими продукционный процесс. При воздействии этих стрессоров у плодовых растений останавливается рост, осыпаются плоды и листья, плоды не достигают нормального размера, завядают, сокращается закладка цветковых почек, что отрицательно сказывается на урожайности [1, 2].

Длительное обезвоживание плодовых растений в период летней засухи может отрицательно отразиться на их зимостойкости, так как преждевременное опадение листьев, затруднение синтеза запасных веществ приводят к слабому закаливанию растений. Сочетание засухи с жарой и высокой солнечной инсоляцией оказывает максимальное отрицательное влияние на растения, нарушая, наряду с фотосинтезом, дыханием и водным режимом, поглощение элементов минерального питания [3-5].

Устойчивость к повышенным температурам и засухе является важной составляющей адаптивного потенциала сортов плодовых растений. В настоящее время использование физиолого-биохимических показателей в качестве диагностических критериев устойчивости плодовых растений к условиям возделывания является актуальным направлением.

Лист является удобным объектом для получения комплекса информационных показателей растения, реагирующим на изменение климатических факторов. Параметры вод-

ного режима, ксероморфные признаки листовой пластинки служат надежными критериями засухоустойчивости растений [6]. Содержание малонового диальдегида, активность пероксидазы характеризует стрессовое состояние растений [7, 8].

Цель настоящей работы – провести оценку функциональной активности листа различных сортов яблони при воздействии стрессовых факторов летнего периода, выделить сорта, обладающие устойчивостью к жаре и засухе.

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), Пирос (Германия) 1998 г. посадки на подвое М 9 при схеме посадки 2x5.

Сбор материала и проведение физиолого-биохимических исследований проводились на базе ЗАО ОПХ «Центральное», ФГБНУ СКФНЦСВВ (г. Краснодар), ЦКП «Приборно-аналитический». Определение физиолого-биохимических параметров водного обмена, содержания малонового диальдегида, белков, активности пероксидазы, определение коэффициента проницаемости клеточных мембран проводилось согласно методикам [9, 10]. Анатомические исследования листовой пластинки изучали при увеличении 10x40 на микроскопе Olympus BX41 («Olympus corporation», Япония) по разработанной методике [11]. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с помощью общепринятых методов вариационной статистики [12].

Обсуждение результатов. Климатические условия летнего вегетационного периода 2019 г. в сравнении с предыдущим 2018 г. отличались ростом минимальной температуры воздуха в июне и июле на 8 и 5°C, соответственно (рис. 1).

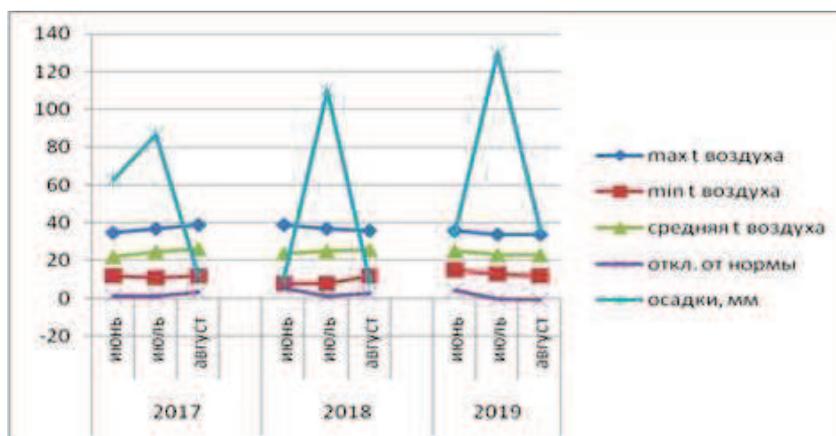


Рис. 1. Гидротермические условия летнего вегетационного периода 2017-2019 гг. (ОПХ «Центральное», г. Краснодар)

На протяжении летнего периода 2019 г. наиболее экстремально высокой максимальной температурой воздуха и низкой влагообеспеченностью характеризовался июнь. Известно, что в ответ на высокотемпературный стресс в растениях происходит синтез белков, обладающих пероксидазной активностью.

В экстремальных условиях июня 2019 г. для определения экспрессивности генетических систем адаптивности сортов яблони изучали белковые спектры на примере белков с пероксидазной активностью. Белковые спектры изучаемых сортов яблони были представлены белками с молекулярной массой: 250, 150, 130, 110, 100, 80, 70, 60 кДа.

До воздействия высокотемпературного стресса в модельном опыте (прогревание листьев при 55°C в течение 2 часов) у сортов Союз, Родничок, Пирос, Айдаред и Прикубанское в белковом спектре в небольшом количестве присутствуют белки с молекулярной массой 100 кДа, у сортов Рассвет и Фортуна – 150 кДа, у сорта Лигол – 130 кДа, у сорта Прикубанское – 110 кДа.

После воздействия высокотемпературного стресса в модельном опыте (прогревание листьев при 55°C в течение 2 часов) в белковых спектрах у сорта Рассвет снижается содержание белка с молекулярной массой 100 кДа, у сорта Фортуна - 130 кДа и появляется у сортов Фортуна и Союз, Пирос белок с молекулярной массой 110 кДа, у сорта Пирос исчезает белок с молекулярной массой 80 кДа и у сорта Айдаред – белки с молекулярной массой 100 и 80 кДа, у сортов Лигол и Прикубанское – 110 и 100 кДа. У сортов Союз, Родничок, Пирос увеличивается содержание высокомолекулярных белков 250,130 кДа.

Известно, что возрастание активности пероксидазы может свидетельствовать о проявлении защитных реакций листовых тканей на высокотемпературный стресс. Отмечено, то адаптивные изменения активности пероксидазы могут иметь место только в границах нормы реакции организма. Превышение адаптивных возможностей ведет к утрате компенсаторных функций, выполняемых ферментом [8].

В летний вегетационный период 2019 года большей пероксидазной активностью (0,08-0,13 сек⁻¹) характеризовались сорта Лигол, Фортуна, Союз, Родничок, а также сорта Пирос и Орфей (0,12 сек⁻¹). Меньшая пероксидазная активность (0,04-0,07 сек⁻¹) отмечалась у сортов яблони отечественной селекции Прикубанское и Рассвет.

Интенсивность перекисного окисления липидов - важный показатель физиологического состояния листа и его ответной реакции на высокотемпературный стресс. Об интенсивности перекисного окисления липидов мембран можно судить по содержанию малонового диальдегида (МДА). Так, повышенные количества малонового диальдегида в клетках при стрессовом воздействии свидетельствуют о деструкции липидных компонентов мембран в результате окислительного стресса и более слабой устойчивости растений к экстремально высоким температурам. У летних сортов яблони в условиях гипертермии и засухи наблюдалось повышение МДА до 50% [8].

Нашими исследованиями в условиях летнего периода 2019 г. низкие значения МДА (0,17-0,31 мкмоль/г) отмечены у сортов Пирос (Германия), Прикубанское, Родничок (отечественной селекции), сорта Айдаред (США), свидетельствующие об их большей устойчивости к высокотемпературному стрессу.

Повреждение клеточных мембран, вызванное высокотемпературным воздействием, ведет к изменению их проницаемости. Проницаемость мембран может быть использована как показатель устойчивости растений в экстремальных условиях. Температурный фактор, приводящий к перегреву листовой поверхности, к усилению количества водопотерь вызывает значительное повышение коэффициента проницаемости клеточных мембран.

При определении коэффициента повреждения мембран в июне 2019 г. в условиях модельного опыта более устойчивыми к высокотемпературному стрессу были сорта Айдаред, Прикубанское, Рассвет, Эрли Мак, Дейтон и Орфей (КП = 11,87 – 24,29) (рис. 2)

Важнейшими показателями физиологического состояния листа в летний вегетационный период являются параметры водного режима. От состояния водного обмена плодового дерева зависят все жизненные процессы, в том числе и способность переносить неблагоприятные условия. Адаптационную устойчивость растений к засухе характеризует изменение соотношения содержания свободной и связанной форм воды. Свободная форма воды участвует только в обмене веществ, а связанная форма воды обеспечивает вододерживающую способность клетки и играет большую роль в устойчивости растений к засухе. Чем засухоустойчивее сорт, тем больше он содержит связанной воды и тем выше его вододерживающая способность.

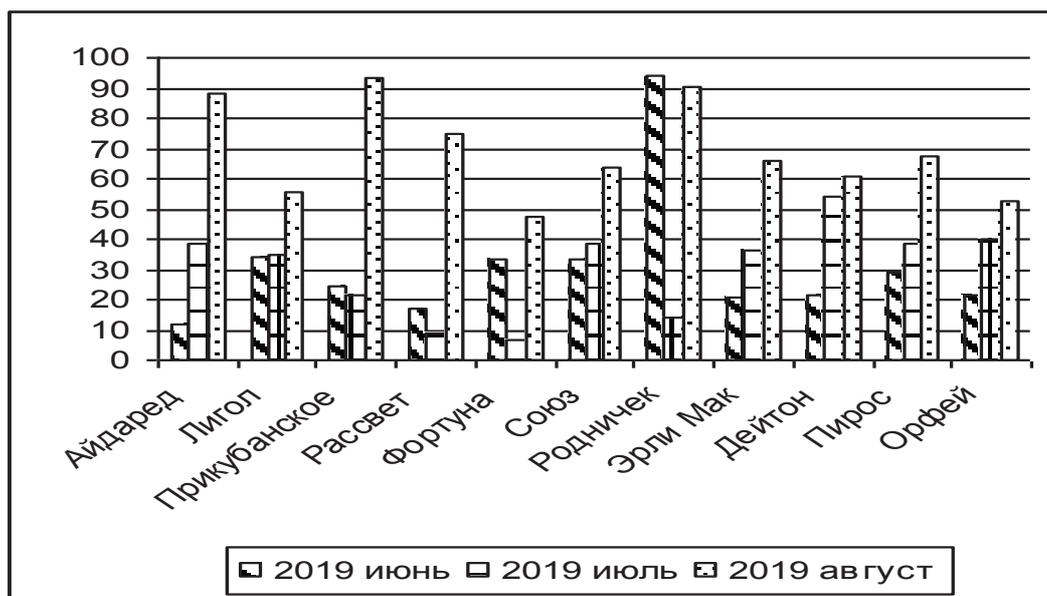


Рис. 2. Динамика коэффициента проницаемости мембран в листьях яблони при высокотемпературном стрессе

Установлено, что сорта Фортуна, Союз, Родничок имеют большую оводненность листовых тканей (60,61-63,75) во все месяцы вегетационного периода, при наступлении стрессовых условий они также меньше снижают оводненность, содержат большее количество связанной формы воды (75,68-82,39 %), вследствие чего являются устойчивыми к засухе.

У сортов Рассвет, Дейтон, Пирос происходят наибольшие изменения, они больше снижают оводненность листового аппарата, у них больше содержание свободной воды, меньше связанной, вследствие чего они являются неустойчивыми к засухе.

Изменение физиологических процессов под действием водного дефицита, усиление фотосинтеза вызывают изменения в анатомо-морфологическом строении листа. Растения в более засушливых условиях отличаются меньшими размерами, формируют ксероморфную структуру листьев как одно из анатомических приспособлений к недостатку воды. Ксероморфная структура – один из признаков при селекции засухоустойчивых сортов.

Анатомо-морфологическая структура листа имеет сортовые особенности, а также зависит от температуры и водообеспеченности. При изучении ксероморфности у других плодовых обнаружено, что сорта персика с большим количеством устьиц на единицу листовой поверхности обладали повышенной засухоустойчивостью [13]. У сортов груши количество устьиц на единицу листовой поверхности зависело от осадков в период вегетации [14], а у миндаля количество устьиц на единицу листовой поверхности не зависело от водообеспеченности [15]. По нашим данным для засухоустойчивых сортов яблони характерно увеличение количества устьиц на единицу листовой поверхности и уменьшение их размеров в сравнении с не засухоустойчивыми сортами.

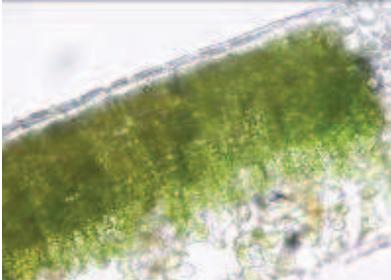
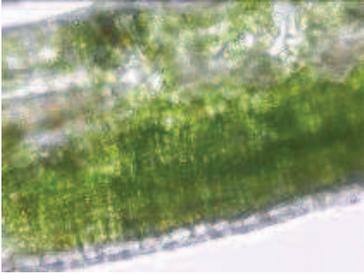
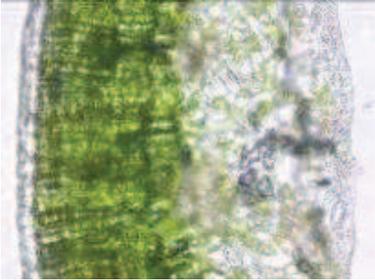
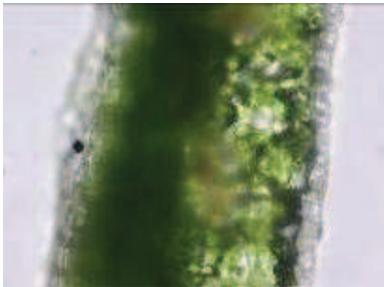
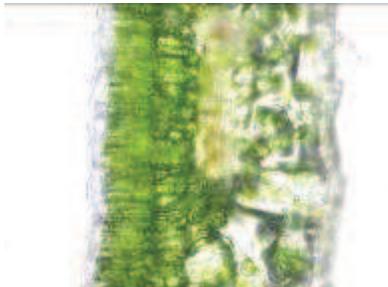
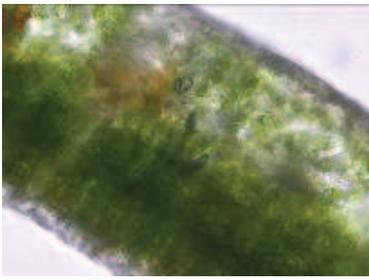
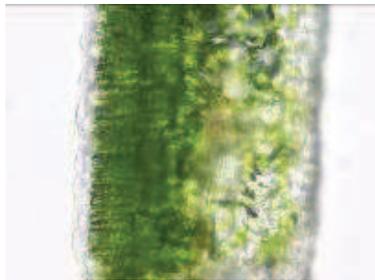
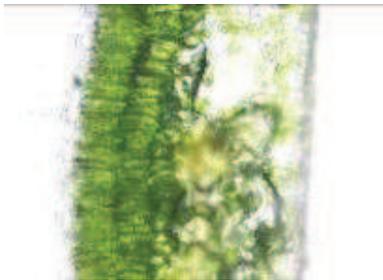
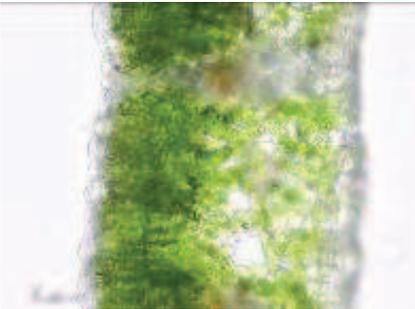
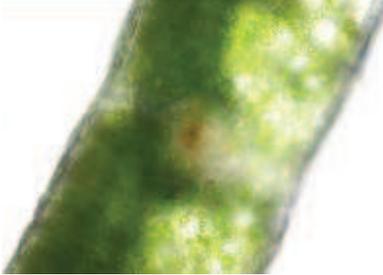
У сортов Союз и Родничок клетки листа крупнее, чем у остальных изучаемых сортов, так как они являются триплоидными по происхождению, поэтому толщина листовой пластинки у них максимальных размеров.

В условиях летнего периода 2019 года у всех сортов, кроме сорта Эрли Мак в различной степени проявлялись ксероморфные признаки листовой пластинки, обуславливающие устойчивость к засухе: увеличение толщины листовой пластинки, кутикулы, индекса палисадности, количества устьиц на единицу листовой поверхности, уменьшение линейных размеров устьиц (табл. 1, 2).

Таблица 1 – Биометрические показатели листовой пластинки яблони в течение летнего вегетационного периода 2019 года

Сорт	Параметры листовой пластинки, мк											
	общая толщина листовой пластинки			толщина палисадного слоя			толщина губчатого слоя			толщина кутикулы и верхнего эпидермиса		
	июнь	июль	август	июнь	июль	август	июнь	июль	август	июнь	июль	август
Рассвет	188,2	188,0	191,9	91,8	85,7	88,1	86,3	92,3	93,7	10,1	10,0	10,1
Фортуна	197,5	197,6	201,0	98,0	88,5	94,7	89,5	98,1	96,3	10,0	11,0	10,0
Союз	200,7	226,3	227,5	107,1	123,9	124,8	82,4	91,1	91,4	11,2	11,3	11,3
Родничок	209,6	234,3	243,7	113,1	135,3	136,2	85,3	87,7	96,1	11,2	11,3	11,4
Эрли Мак	191,9	195,1	198,4	98,0	102,7	102,1	83,8	82,4	86,2	10,1	10,0	10,1
Дейтон	192,9	190,6	190,4	94,2	103,4	97,8	88,6	76,2	82,6	10,1	11,0	10,0
Пирос	186,8	137,7	177,9	97,4	54,3	83,8	79,4	73,4	84,1	10,0	10,0	10,0
Орфей	179,4	184,2	177,8	81,9	87,8	82,4	87,5	86,4	85,4	10,0	10,0	10,0
Айдаред	181,2	190,6	184,4	85,9	95,3	86,8	85,3	86,6	87,6	10,0	10,0	10,0
Лигол	184,3	189,8	182,2	88,0	91,9	88,7	86,3	87,8	83,4	10,0	10,1	10,1
Прикубанское	181,6	193,5	187,4	85,2	102,0	95,5	86,4	81,5	81,9	10,0	10,0	10,0
НСР ⁰⁵	21,12	24,20	23,71	17,27	14,47	12,54	4,37	7,31	5,74	0,21	0,59	0,35

Таблица 2 – Микрофото поперечного среза листовой пластинки яблони в течение летнего вегетационного периода 2019 г. (увеличение 10x40).

 <p data-bbox="316 678 427 712">Рассвет</p>	 <p data-bbox="730 672 858 705">Фортуна</p>	 <p data-bbox="1169 678 1257 712">Союз</p>
 <p data-bbox="304 1066 443 1099">Родничок</p>	 <p data-bbox="719 1066 863 1099">Эрли Мак</p>	 <p data-bbox="1158 1055 1265 1088">Дейтон</p>
 <p data-bbox="323 1440 419 1473">Пирос</p>	 <p data-bbox="743 1440 842 1473">Орфей</p>	 <p data-bbox="1150 1440 1273 1473">Айдаред</p>
 <p data-bbox="576 1850 671 1883">Лигол</p>	 <p data-bbox="1110 1816 1313 1850">Прикубанское</p>	

Индекс палисадности (соотношение толщины палисадного и губчатого слоев) наиболее информативный показатель, определяющий устойчивость к засухе. Наибольшие его значения отмечены у сортов Прикубанское, Фортуна, Союз, Родничок, Орфей, (1,35-1,48), выделенных как высоко засухоустойчивые. Сорта Айдаред, Дейтон, Лигол, Рассвет, Пирос с индексом палисадности 1,06-1,11 выделили как засухоустойчивые, сорт Эрли Мак с индексом палисадности 1,01 - не засухоустойчивый (табл. 3).

Таблица 3 – Соотношение слоёв паренхим в мезофилле листа яблони в течение летнего вегетационного периода 2019 г. (средние значения).

Сорт	Толщина палисадной паренхимы, %	Толщина губчатой паренхимы, %	Индекс палисадности
Рассвет	48,8	45,2	1,08
Фортуна	54,3	41,2	1,39
Союз	54,5	39,8	1,38
Родничок	57,1	38,2	1,48
Эрли Мак	47,8	46,8	1,01
Дейтон	51,4	44,5	1,11
Пирос	47,6	45,4	1,12
Орфей	55,8	38,7	1,38
Айдаред	50,2	44,5	1,06
Лигол	50,6	46,9	1,07
Прикубанское	54,8	41,2	1,35

Выводы. На основании физиолого-биохимических исследований проведена оценка функциональной активности листа различных сортов яблони при воздействии стрессовых факторов летнего периода 2019 г. Изучены белковые спектры сортов яблони различного эколого-географического происхождения при воздействии высокотемпературного стресса в модельном опыте по прогреванию листьев. Установлено, что они представлены белками с молекулярной массой 250, 150, 130, 110, 100, 80, 70, 60 кДа.

Выявлены наиболее информативные физиолого-биохимические показатели листа, характеризующие его функциональную активность в условиях летнего периода (активность пероксидазы, содержание малонового диальдегида, коэффициент проницаемости клеточных мембран).

Установлено, что высокая функциональная активность листа яблони в условиях повышенных температур и засухи обеспечивается:

- обезвреживанием продуктов перекисного окисления липидов с помощью пероксидазы;
- высоким содержанием связанной воды, обеспечивающей достаточную вязкость цитоплазмы;
- формированием ксероморфной структуры листовой пластинки.

Выявлено, что в условиях летнего периода 2019 г. по физиолого-биохимическим параметрам сорта яблони Прикубанское, Фортуна, Союз, Родничок, Орфей проявили себя высоко засухоустойчивыми. Сорта Айдаред, Дейтон, Лигол, Рассвет, Пирос, Эрли Мак менее засухоустойчивыми.

Литература

1. Tworkoskia T., Faziob G., Glenna M. Apple rootstock resistance to drought // *Scientia Horticulturae*. – 2016. – № 204. – P. 70-78.
2. Ненько Н.И., Киселева Г.К., Ульяновская Е.В., Яблонская Е.К., Караваева А.В. Физиолого-биохимические критерии устойчивости яблони к абиотическим стрессам летнего периода // *Сельскохозяйственная биология*. 2019. Т. 54. № 1. С. 158-168. DOI:10.15389/agrobiology.2019.1.158rus
3. Alizadeh A., Alizade V., Nassery L., Eivazi A. Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks // *Tech. J. Eng. App. Sci.* – 2011. - № 23. – P. 86-94.
4. Ненько Н.И., Киселева Г.К. и др. Адаптационная устойчивость яблони к гидротермическим условиям зимнего и летнего периодов [Электронный ресурс] // *Плодоводство и виноградарство юга России*. 2017. № 45(3). С.33-48. Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/15/05/17>
5. Сергеева Н.Н., Ненько Н.И., Сергеев Ю.И., Киселёва Г.К. Влияние удобрений на физиологическое состояние растений яблони в условиях интенсивных насаждений юга России // *Труда Кубанского государственного аграрного университета*. 2010. № 25. С. 76-80.
6. Рынди́н А. В., Белоус О.Г., Маляровская В.И. [и др.] Использование физиолого-биохимических методов для выявления механизмов адаптации субтропических, южных плодовых и декоративных культур в условиях субтропиков России // *Сельскохозяйственная биология*. 2014. С. 40-48.
7. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам / *Физиология и биохимия культ. растений*. 2009. Т.41. № 2. С. 95-61.
8. Голышкина Л. В., Красова Н.Г., Галашева А.М. Влияние гипертермии на активность ферментной системы пероксидазы в тканях однолетних побегов яблони // *Современное садоводство*. 2014. № 4. С. 50-59.
9. Ненько Н.И., Ильина И.А., Воробьева Т.Н. [и др.] Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда / Под общ. ред. Н.И. Ненько. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. 115 с.
10. Кожушко Н.И. К методике определения жаростойкости мягкой яровой пшеницы на проростках // *Бюлл. ВИР*. 1972. № 25. С.12-15.
11. Киселева Г.К., Ненько Н.И. Оценка степени засухоустойчивости яблони и винограда по ксероморфным признакам листовой пластинки // *Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда / Под общей редакцией Н.И. Ненько*. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. С. 36-39.
12. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М., 1979. 463 с.
13. Meng Q.-j., Wang G.-q., Dong S.-f., Zhang L., Gong Z.-d. Relation between leaf tissue parameters and drought resistance of peaches // *Agricultural Research in the Arid Areas*. – 2004. - № 22 (3). С. 123-126.
14. Киселева Н.С. Оценка адаптационной способности различных генотипов груши по морфоанатомическому и физиологическому состоянию листьев // *Сельскохозяйственная биология*. 2009. № 3. С. 34-38.
15. Yadollahi A., Arzani K., Ebadi A., Wirthensohn, M., Karimi S. The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae*, 2011, 129: 403-413 (doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.007).