

УДК 581:576.5:634.224

DOI 10.30679/2219-5335-2023-6-84-108-120

**РОЛЬ ПРОЛИНА
В СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫХ
РЕАКЦИЯХ ВИНОГРАДА
(*VITIS L.*) НА ПОНИЖЕННЫЕ
ТЕМПЕРАТУРЫ**

Киселева Галина Константиновна
канд. биол. наук
старший научный сотрудник
лаборатории физиологии
и биохимии растений
e-mail: galina-kiseleva-1960@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7583-1261>

Ильина Ирина Анатольевна
д-р техн. наук, профессор
заместитель директора по науке
e-mail: kubansad@kubannet.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4615-3331>

Соколова Виктория Викторовна
канд. с.-х. наук
заведующая научно-образовательным
сектором
e-mail: KudryshovaVV@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2527-7981>

Запорожец Наталья Михайловна
канд. с-х. наук
учёный секретарь
e-mail: nat_zaporozhiec@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5932-5526>

Хохлова Анна Александровна
канд. биол. наук
научный сотрудник центра
коллективного пользования
высокотехнологичным оборудованием
e-mail: anemona2009@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6047-2040>

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

UDC 581:576.5:634.224

DOI 10.30679/2219-5335-2023-6-84-108-120

**THE ROLE OF PROLINE
IN STRESS-PROTECTIVE
RESPONSES OF GRAPE
(*VITIS L.*) TO LOW
TEMPERATURES**

Kiseleva Galina Konstantinovna
Cand. Biol. Sci.
Senior Research Associate
of Plant of Physiology
and Biochemistry Laboratory
e-mail: galina-kiseleva-1960@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7583-1261>

Ilina Irina Anatolyevna
Dr. Tech. Sci., Professor
Deputy Chief for Science
e-mail: kubansad@kubannet.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4615-3331>

Sokolova Viktoriya Viktorovna
Cand. Agr. Sci.
Head of Scientific
Educational Sector
e-mail: KudryshovaVV@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2527-7981>

Zaporozhets Natalia Mikhailovna
Cand. Agr. Sci.
Scientific Secretary
e-mail: nat_zaporozhiec@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5932-5526>

Khokhlova Anna Aleksandrovna
Cand. Biol. Sci.
Research Associate
of Center for Collective Use
of Scientific Equipment Use
e-mail: anemona2009@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6047-2040>

*Federal State Budget
Scientific Institution
«North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

Мониторинг ключевого метаболита – аминокислоты пролина в виноградном растении необходим для исследования физиологических механизмов, лежащих в основе приспособительных реакций винограда в условиях изменяющегося климата. Цель настоящей работы – изучить динамику содержания свободного пролина в различных сортах винограда, выделить сорта с повышенной устойчивостью к низким температурам. Объекты исследований – сорта винограда различного генетического происхождения: Кристалл (контроль), Достойный, Красностоп АЗОС, Восторг, Алиготе, Зариф. Содержание пролина определяли методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 104Р по методике, основанной на получении электрофорограммы с помощью прямого детектирования поглощающих компонентов пробы. В январе-феврале у сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг обнаружено повышенное содержание пролина в сравнении с сортами Достойный, Алиготе, Зариф. В побегах сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг оно составляло 7,38-8,26 мкг/г сырого веса; у сортов Достойный, Алиготе, Зариф – 4,12-5,16 мкг/г сырого веса. В почках сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг содержание пролина составляло 7,92-9,21 мкг/г сырого веса, у Достойный, Алиготе, Зариф – 4,57-5,90 мкг/г сырого веса. После искусственного промораживания в побегах сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг содержание пролина увеличивалось в 1,13-1,23 раза, у других изучаемых сортов почти не изменилось. Показано, что пролин выполняет значимую роль в реализации стресс-протекторных реакций винограда на пониженные температуры. Установлено, что по динамике содержания свободного пролина сорта Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг более устойчивы к низким температурам в сравнении с сортами Достойный, Алиготе, Зариф.

Ключевые слова: ВИНОГРАД, ПРОЛИН, УСТОЙЧИВОСТЬ, ИСКУССТВЕННОЕ ПРОМОРАЖИВАНИЕ, КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЭЗ

Monitoring of the key metabolite, the amino acid proline, in the grape plant is necessary to study the physiological mechanisms underlying the adaptive reactions of grapes in a changing climate. The purpose of this work is to study the dynamics of the content of free proline in various grape varieties, to identify varieties with increased resistance to low temperatures. The objects of research are grape varieties of various genetic origin: Kristall (control), Dostoyniy, Krasnostop AZOS, Vostorg, Aligote, Zarif. The content of proline was determined by capillary electrophoresis on a Kapel 104R device according to a technique based on obtaining an electrophoregram using direct detection of the absorbing components of the sample. In January-February, the varieties Kristall, Krasnostop AZOS, Vostorg had an increased content of proline in comparison with the varieties Dostoyniy, Aligote, Zarif. In the shoots of the varieties Kristall, Krasnostop AZOS, Vostorg, it was 7.38-8.26 µg/g fresh weight; in Dostoyniy, Aligote, Zarif – 4.12-5.16 µg/g fresh weight. In the buds of the varieties Kristall, Krasnostop AZOS, Vostorg, the content of proline was 7.92-9.21 µg/g fresh weight, in Dostoyniy, Aligote, Zarif – 4.57-5.90 µg/g fresh weight. After artificial freezing in the shoots of the varieties Kristall, Krasnostop AZOS, Vostorg, the proline content increased by 1.13-1.23 times, in other studied varieties it almost did not change. It has been shown that proline plays a significant role in the implementation of the stress-protective reactions of grapes to low temperatures. It has been established that according to the dynamics of the free proline content, the varieties Crystal, Krasnostop AZOS, Vostorg are more resistant to low temperatures in comparison with the varieties Dostoyniy, Aligote, Zarif.

Key words: GRAPES, PROLINE, STABILITY, ARTIFICIAL FREEZING, CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Введение. Вопросы адаптации и становления механизмов устойчивости винограда в условиях изменяющегося климата продолжают оставаться актуальными [1-3]. Изучая динамику содержания ключевых метаболитов в виноградном растении, в частности аминокислоты пролина, мы получим новые знания для исследования адаптационной устойчивости винограда в изменяющихся экологических условиях.

Аминокислота пролин известна как полифункциональный стрессовый метаболит растений. Кроме осмопротекторной функции она может выполнять роль антиоксиданта и низкомолекулярного шаперона, а также принимать участие в поддержании нативной структуры некоторых ферментов [4-11]. В свете современных исследований пролин выступает в роли метаболического сигнала, который регулирует окислительно-восстановительный гомеостаз и экспрессию некоторых генов в ответ на стресс [12, 13].

В целом, пролин оказывает многстороннее действие на функционирование растений в условиях стресса. В ряде исследований на различных культурах показано, что в ответ на действие стрессоров разнообразной природы содержание пролина в них повышается. Установлено, что при продолжительном низкотемпературном воздействии на растения ржи содержание пролина возрастало почти в 10 раз [9]. Сорт клубники, накапливающий большее количество пролина, был более устойчив к низким температурам и сохранял активность антиоксидантных ферментов при действии гипотермии [14]. Показано, что повышенное содержание пролина коррелирует с устойчивостью к низким температурам некоторых сортов яблони и инжира [15-17]. Выявлена связь между морозостойкостью и увеличением содержания пролина в зимующих почках винограда [18-20].

Общеизвестна роль пролина как осморегулятора при адаптации растений к недостатку воды. Выявлено, что пролин регулирует содержание воды в клетке, обеспечивает при этом достаточный водный потенциал, поддерживающий тургор листа в условиях недостаточной водообеспечен-

ности [21]. Результаты проведенных исследований по поиску связи между содержанием пролина и засухоустойчивостью растений оказались противоречивы. Например, в листьях засухоустойчивого гибрида кукурузы содержание пролина было выше, чем у незасухоустойчивого [22]. Также листья засухоустойчивых сортов риса и винограда содержали больше пролина, чем листья неустойчивых к засухе сортов [23, 2]. Но имеются и другие данные – более засухоустойчивый сорт мандарина в засушливый период содержал меньше пролина, чем незасухоустойчивый [24].

По мнению Колупаева Ю.Е. и др. (2014), увеличение содержания пролина особенно активно происходит на определенной стадии реакции на стресс и при определенной силе стресса. Они предполагают, что при умеренном стрессе увеличение содержания пролина происходит у неустойчивых сортов, а при сильном стрессовом воздействии – у устойчивых генотипов [7].

Также пролин выполняет ряд функций, не имеющих отношения к адаптации и стрессу. Эта аминокислота активно задействована в онтогенезе растений на различных его стадиях. Увеличение содержания пролина является важным сигналом для начала цветения, значительные его количества накапливаются в репродуктивных органах растений, пыльце и семенах [25, 26, 27]. Исследования индийских ученых показали, что пролин участвует в модификации клеточной стенки, особенно при переходе к репродуктивному развитию и во время развития семян [28].

Из вышеприведенных фактов следует, что накопление и содержание пролина может служить показателем, характеризующим адаптационную устойчивость винограда к пониженным температурам. Цель работы – по динамике содержания пролина в побегах и почках винограда выделить сорта с повышенной устойчивостью к низким температурам.

Объекты и методы исследований. Объектами исследований служили побеги и почки сортов винограда: Кристалл (контроль) – евро-амуро-американского происхождения; Достойный, Красностоп АЗОС – евро-американского происхождения; Восторг – амуро-американского происхождения; Зариф – восточно-европейского происхождения; Алиготе – западноевропейского происхождения. Растения 1995 года посадки, подвой Кобер 5ББ. Формировка – двусторонний высокоштамбовый спиральный кордон АЗОС. Схема посадки $3 \times 2,5$ м, почва – чернозем южно-карбонатный. Образцы сортов винограда предоставлены Центром коллективного пользования «Анапская ампелографическая коллекция» АЗОСВиВ – филиала СКФНЦСВВ, расположенной в г.-к. Анапа.

Содержание пролина определяли методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 104Р согласно методике [29]. Перед искусственным промораживанием побегов их выдерживали в холодильной камере при температуре +4 °C в течение 5 дней. Промораживание происходило в морозильной камере Gronland в течение 24 часов при температуре -20 °C, затем побеги оттаивали при температуре 4 °C в течение 5 дней [3]. Содержание малонового диальдегида определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) согласно методике [30]. Статистическую обработку данных проводили с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

Использовалось приборное обеспечение Центра коллективного пользования технологичным оборудованием по направлениям: геномные и постгеномные технологии, физиолого-биохимические и микробиологические исследования; почвенные, агрохимические и экотоксикологические исследования; пищевая безопасность.

Обсуждение результатов. В изучаемый период (2021-2023 гг.) в ноябре максимальные температуры воздуха достигали +20 °C, а минимальные -1 °C. В декабре максимальные достигали +19 °C, а минимальные -8 °C.

В январе максимальные температуры воздуха составляли +18 °С, а минимальные -10 °С. В феврале максимальные температуры воздуха достигали +15 °С, а минимальные -7 °С. Максимальное количество осадков за месяц отмечено в январе 2022 года (127 мм), минимальное – в ноябре этого же года (28,9 мм) (рис. 1).

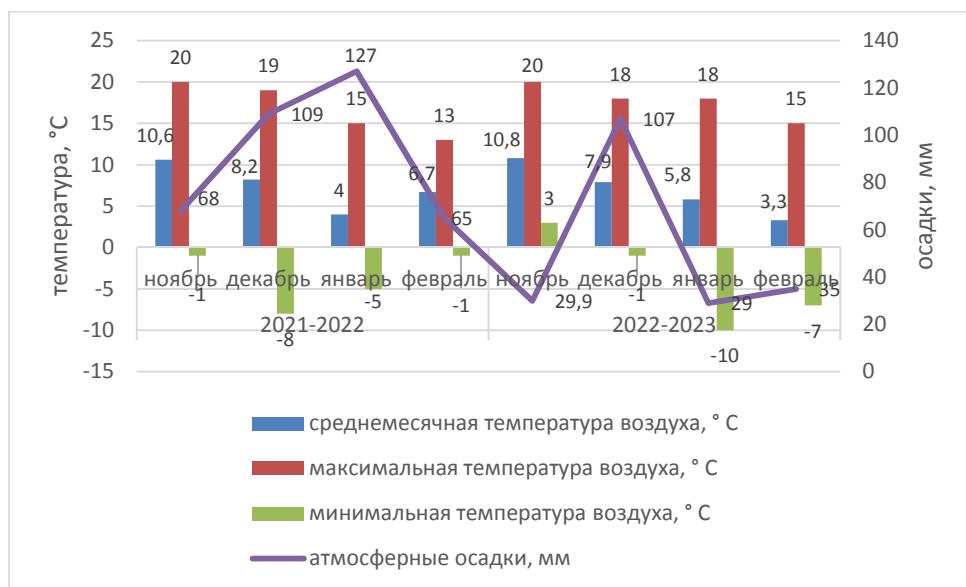


Рис. 1. Метеоданные на участке возделывания винограда («Анапская ампелографическая коллекция» АЗОСВиВ – филиал СКФНЦСВ, г. Анапа, 2021-2023 гг.)

Как известно, конститутивный уровень пролина является видоспецифичным и сортоспецифичным [7]. Повышенное содержание пролина обнаружено у сортов винограда российского происхождения Дружба, Мухчалони, Волго-Дон в условиях Ирана. Иранские исследователи связывают содержание пролина в виноградной лозе с эколого-географическим происхождением сорта, то есть более северные (в данном случае российские сорта) накапливают больше пролина, чем сорта персидского и американского происхождения, и поэтому более морозоустойчивы [19].

В наших исследованиях в ноябре содержание пролина в побегах винограда составляло 1,08-3,05 мкг/г сырого веса, в почках 1,46-3,29 мкг/г сырого веса (рис. 2, 3).

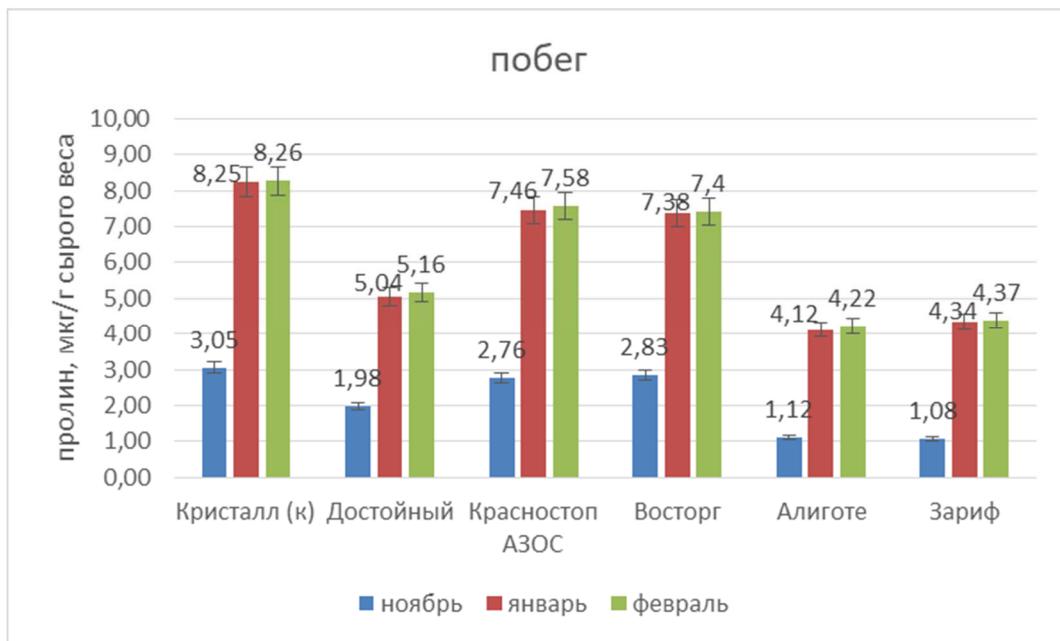


Рис. 2. Содержание пролина в побегах винограда. НСР_{0,5}:
ноябрь – 1,25; январь – 0,61; февраль – 1,04

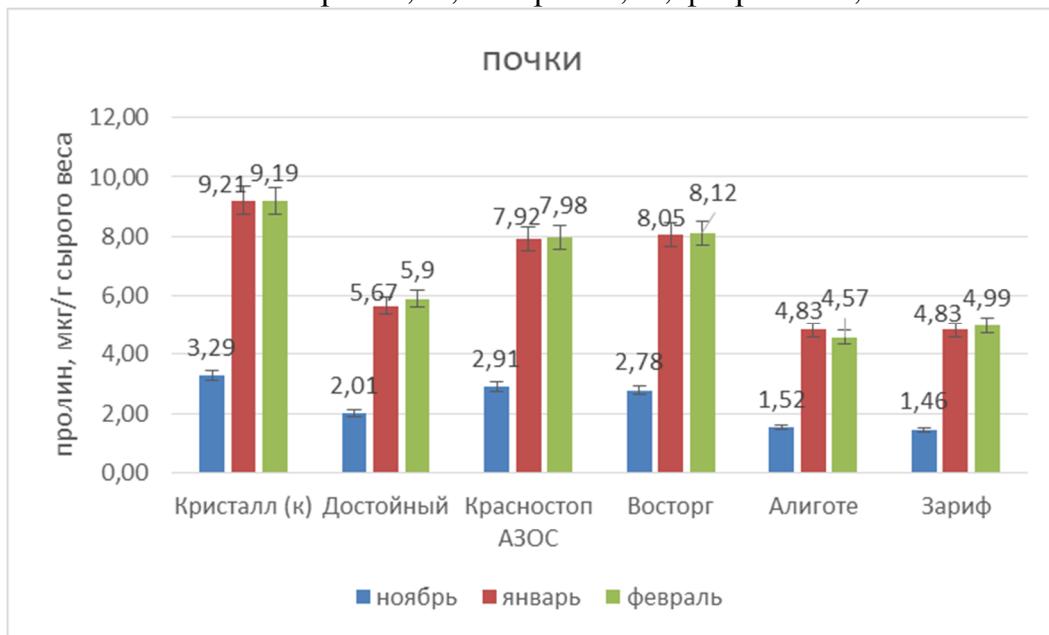


Рис. 3. Динамика содержания пролина в почках винограда. НСР_{0,5}:
ноябрь – 1,14; январь – 1,01; февраль – 0,94

В зимние месяцы наблюдали накопление пролина как в побегах, так и в почках. Повышенное его содержание отмечено в побегах и почках сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг.

В побегах этих сортов содержание пролина в январе-феврале составляло 7,38-8,26 мкг/г сырого веса, у других изучаемых сортов – 4,12-5,16 мкг/г сырого веса. В почках в этот период у сортов Кристалл, Красностоп АЗОС,

Восторг содержание пролина составляло 7,92-9,21 мкг/г сырого веса, у других изучаемых сортов – 4,57-5,90 мкг/г сырого веса.

Искусственное промораживание побегов проводили в период проявления максимальной морозостойкости винограда, в январе. После него содержание пролина в побегах сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг увеличивалось в 1,13-1,23 раз, у других изучаемых сортов почти не изменилось (рис. 4).

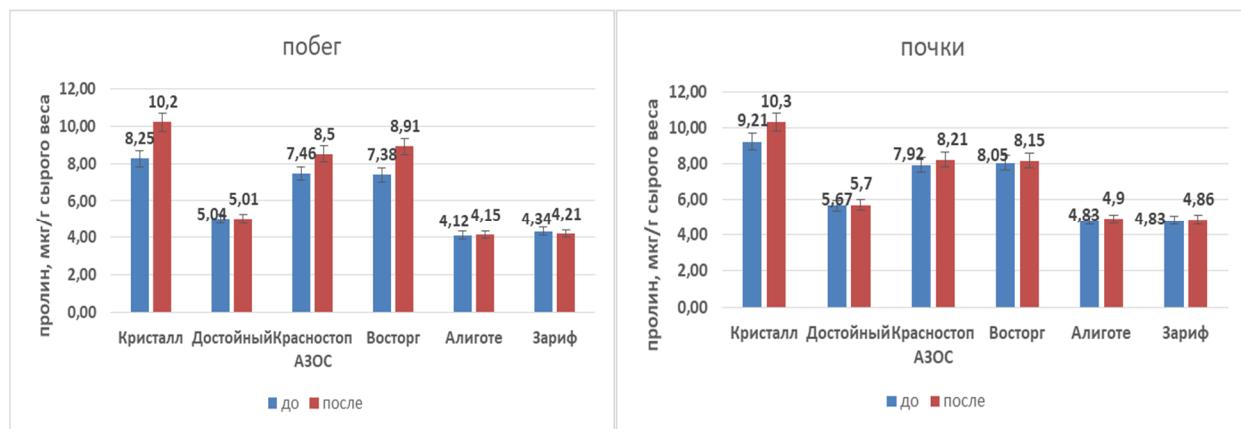


Рис. 4. Содержание пролина в побегах и почках винограда в эксперименте по искусственноому промораживанию.

HCP_{0,5}: до проморозки побегов – 0,19; после проморозки – 1,12.

HCP_{0,5}: до проморозки почек – 0,97; после проморозки – 0,54

В почках после промораживания содержание пролина несколько увеличилось (в 1,12 раз) только у Кристалл, у остальных сортов практически не изменилось. Полученные нами данные подтверждали данные других исследователей, а также гипотезу о том, что аккумуляция пролина в стрессовых условиях основана на активации его синтеза [7-10].

После искусственного промораживания побегов произошло увеличение содержания малонового диальдегида (МДА) вследствие увеличения интенсивности перекисного окисления липидов клеточных мембран (ПОЛ). Заметное увеличение МДА наблюдалось у сортов Достойный, Алиготе, Зариф, у которых оно увеличилось в 1,8-2,5 раз в зависимости от сорта. Сорта Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг оказались более стрессоустойчивыми, показав незначительное увеличение содержания МДА (рис. 5).

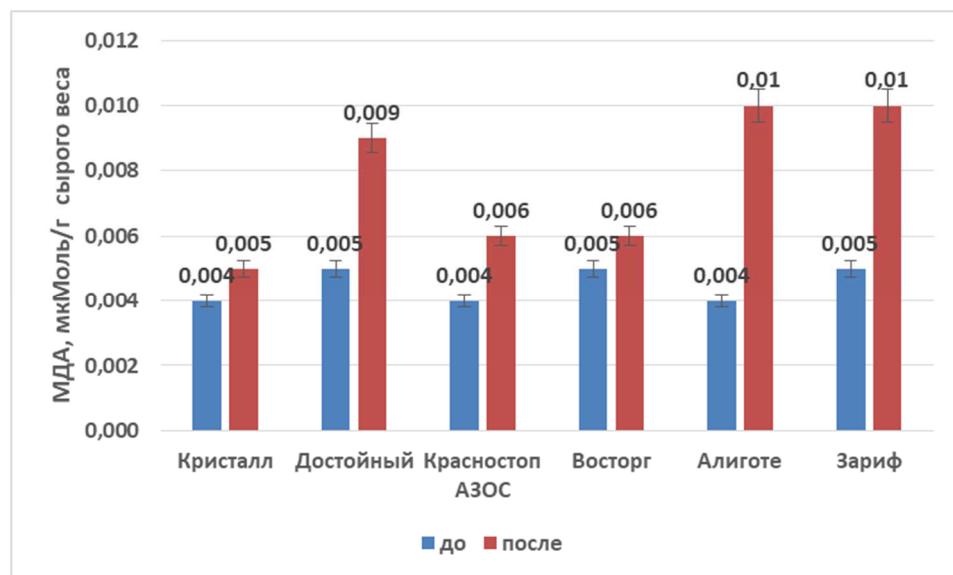


Рис. 5. Содержание МДА в побегах винограда в эксперименте по искусственному промораживанию.

НСР_{0,5}: до проморозки – 0,92; после проморозки – 1,08

Выводы. Изучена динамика содержания пролина в побегах и почках различных сортов винограда в условиях осенне-зимнего периода 2021-2023 гг. В январе-феврале у сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг обнаружено повышенное содержание пролина в сравнении с сортами Достойный, Алиготе, Зариф. В побегах сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг оно составляло 7,38-8,26 мкг/г сырого веса; у Достойный, Алиготе, Зариф – 4,12-5,16 мкг/г сырого веса. В почках сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг содержание пролина составляло 7,92-9,21 мкг/г сырого веса, у Достойный, Алиготе, Зариф – 4,57-5,90 мкг/г сырого веса.

После воздействия искусственно вызванного низкотемпературного стресса в побегах сортов Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг содержание пролина увеличивалось в 1,13-1,23 раз, у других изучаемых сортов почти не изменялось. На основании полученных данных есть достаточно оснований утверждать, что пролин выполняет значимую роль в реализации стресс-протекторных реакций винограда на пониженные температуры.

Итак, сорта Кристалл, Красностоп АЗОС, Восторг содержат повышенное содержание пролина в течение зимовки, в большей степени

повышают его количество после искусственного промораживания, и, следовательно, более устойчивы к низким температурам в сравнении с другими сортами.

Литература

1. Клименко В.П. Толерантность сортов винограда к ожидаемым стрессам водного дефицита // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2023. № 25(2). С. 145-154 <https://doi.org/10.34919/IM.2023.25.2.007>.
2. Клименко В.П. Генетическая интерпретация клоновой селекции винограда // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2019. № 21(4). С. 282-288. <https://doi.org/10.35547/iM.2019.21.4.001>
3. Использование фермента пероксидазы для диагностики устойчивости сортов винограда (*Vitis vinifera L.*) к низким температурам / Г.К. Киселева [и др.] // Садоводство и виноградарство. 2022. № 4. С. 27-33 <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2022-4-27-33>
4. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // Trends Plant Sci. 2010. № 15(2). P. 89- 97 <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
5. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival // Antioxid. Redox Signal. 2013. №19. P. 998-1011 <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074>
6. Proline dehydrogenase is essential for proline protection against hydrogen peroxide-induced cell death / S.K. Natarajan, et. al. // Free Radical Biology Medicine. 2012. № 53(5). P. 1181-1191. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.07.002>
7. 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. № 2(32). С. 6-22 <https://repo.btu.kharkov.ua/handle/123456789/9047>
8. Колупаев Ю.Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений // Успехи современной биологии. 2016. № 136 (2). С. 181-198. EDN: VWRXZB
9. Колупаев Ю.Е., Горелова Е.И., Ястреб Т.О. Механизмы адаптации растений к гипотермии: роль антиоксидантной системы // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія біологія. 2018. № 1(43). С. 6-33. <https://doi.org/10.35550/vbio2018.01.006>
10. Колупаев Ю. Е., Кокорев А. И. Антиоксидантная система и устойчивость растений к недостатку влаги // Физиология растений и генетика. 2019. № 51(1). С. 28-54. <https://doi.org/10.15407/frg2019.01.028>
11. Комбинированное влияние салициловой кислоты и донора оксида азота на развитие индуцированной закаливанием морозоустойчивости проростков пшеницы / Е.И. Горелова [и др.] // Вісник харківського національного аграрного університету. Серія біологія. 2020. №2(50). С.93-104 <https://doi.org/10.35550/vbio2020.02.093>
12. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo / K. Carvalho, et al. // Mol. Biol. Rep. 2013. № 40. P. 3269-3279 <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2402-5>
13. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms / Ed. P. Ahmad. Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. Chapter 16. P. 477-521. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00016-2>
14. Luo Y., Tang H., Zhang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures // J. Agric. Sci. 2011. №3. P. 89-95. <https://www.ccsenet.org/jas>

15. Красова Н.Г. Адаптивный потенциал сортов яблони // Садоводство и виноградарство. 2015. № 3. С. 38-45 <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2015-3-38-45>
16. Physiological mechanisms of resistance to cold stress associated with 10 elite apple rootstocks / Y. Wang, et. al. // Journal of Integrative Agriculture. 2018. Vol. 17(4). P. 857-866 [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61760-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61760-X)
17. Cold Hardiness Assessment in Seven Commercial Fig Cultivars (*Ficus Carica L.*) / H. Karami et. al. // Gesunde Pflanzen. 2018. Vol. 70 (4). P. 195-203. <https://doi.org/10.1007/s10343-018-0431-2>
18. Cold resistance evaluation in 25 wild grape species / J. Zhang et. al. // Vitis. 2012. №5. P.153-160. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20123371981>
19. Karimi R. Cold hardiness evaluation of 20 commercial table grape (*Vitis vinifera L.*) cultivars // International Journal of Fruit Science. 2020. Vol. 20(3). P. 433-450. <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1651242>
20. Ershadi A., Karimi R., Naderi K.M. Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12 grapevine cultivars // Acta physiologae plantarum. 2016. Vol. 38(2). 2. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-2021-6>
21. Functional analysis of a grape WRKY30 gene in drought resistance / D. Zhu, et. al. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2018. Vol. 132 (3). P. 449-459 <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1341-1>
22. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids / S.A. Anjum, et. al. // Front. Plant Sci. 2017. № 6. 69. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00069>.
23. Samota M.K., Sasi M., Singh A. Impact of seed priming on proline content and antioxidant enzymes to mitigate drought stress in rice genotype // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2017. Vol. 6(5). P. 2459-2466. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.275>
24. Zandalinas S.I., Balfagyn D., Arbona V., Gmez-Cadenas A. Modulation of anti-oxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus // Front. Plant Sci. 2017. Vol. 8. 953. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00953>
25. Mattioli R., Costantino P., Trovato M. Proline accumulation in plants: not only stress // Plant Signal. Behav. 2009. Vol. 4. P. 1016-1018. <https://doi.org/10.4161/psb.4.11.9797>
26. LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine, and gammaamino butyric acid in tomato pollen / R. Schwacke, et. al. // Plant Cell. 1999. Vol. 11. P. 377-392 <https://doi.org/10.1105/tpc.11.3.377>
27. Funck D., Winter G., Baumgarten L., Forlani G. Requirement of proline synthesis during *Arabidopsis* reproductive development // BMC Plant Biology. 2012. Vol. 12. 191. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-191>
28. Kavi Kishor P.B., Hima Kumari P., Sunita M.S., Sreenivasulu N. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny // Frontiers in Plant Science. 2015. Vol. 6. 544. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00544>
29. Якуба Ю.Ф., Ильина И.А., Захарова М.В., Лифарь Г.В. Методика определения массовой концентрации свободных аминокислот в побегах и листьях плодовых культур и винограда с применением капиллярного электрофореза // Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. С.80-86. EDN: VSJХОТ
30. Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В., Шевякова Н.И. Методы оценки содержания активных форм кислорода, низкомолекулярных антиоксидантов и активностей основных антиоксидантных ферментов // 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. С. 347-365.

References

1. Klimenko V.P. Tolerance of grape varieties to expected stresses of water deficit // Magarach. Viticulture and winemaking. 2023. № 25(2). P. 145-154 <https://doi.org/10.34919/IM.2023.25.2.007> (in Russian).
2. Klimenko V.P. Genetic interpretation of clone selection of grapes // Magarach. Viticulture and winemaking. 2019. № 21(4). P. 282-288. <https://doi.org/10.35547/iM.2019.21.4.001> (in Russian)
3. Use of the peroxidase enzyme to diagnose the resistance of grape varieties (*Vitis vinifera* L.) to low temperatures / G.K. Kiseleva, et. al. // Horticulture and viticulture. 2022. № 4. P.27-33 <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2022-4-27-33> (in Russian)
4. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // Trends Plant Sci. 2010. №15(2). P. 89- 97 <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
5. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival // Antioxid. Redox Signal. 2013. № 19. P. 998-1011 <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074>
6. Proline dehydrogenase is essential for proline protection against hydrogen peroxide-induced cell death / S.K. Natarajan et. al. // Free Radical Biology Medicine. 2012. № 53(5). P. 1181-1191. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.07.002>
7. Kolupaev Yu. E., Vainer A. A., Yastreb T. O. Proline: physiological functions and regulation of its content in plants under stress conditions // Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Biology series 2014. № 2(32). P. 6-22 <https://repo.btu.kharkov.ua/handle/123456789/9047> (in Russian)
8. Kolupaev Yu.E. Plant cell antioxidants, their role in ROS signaling and plant resistance // Successes of modern biology. 2016. № 136 (2). P. 181-198. EDN: VWRXZB (in Russian)
9. Kolupaev Yu.E., Gorelova E.I., Yastreb T.O. Mechanisms of plant adaptation to hypothermia: role of the antioxidant system // Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Biology series. 2018. № 1 (43). P. 6-33. <https://doi.org/10.35550/vbio2018.01.006> (in Russian)
10. Kolupaev Yu.E., Kokorev A.I. Antioxidant system and plant resistance to water deficit // Plant Physiology and Genetics. 2019. #51(1). P. 28-54 <https://doi.org/10.15407/frg2019.01.028> (in Russian)
11. Combined effect of salicylic acid and nitric oxide donor on the development of hardening-induced frost resistance of wheat seedlings / E.I. Gorelova et. al. // Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Biology series. 2020. № 2(50). P. 93-104 <https://doi.org/10.35550/vbio2020.02.093> (in Russian)
12. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo / K. Carvalho, et al. // Mol. Biol. Rep. 2013. № 40. P. 3269-3279 <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2402-5>
13. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms / Ed. P. Ahmad. Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. Chapter 16. P. 477-521. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00016-2>
14. Luo Y., Tang H., Zhang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures // J. Agric. Sci. 2011. №3. P. 89-95. <https://www.ccsenet.org/jas>
15. Krasova N.G. Adaptive potential of apple varieties // Horticulture and viticulture. 2015. № 3. P. 38-45. <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2015-3-38-45> (in Russian)
16. Physiological mechanisms of resistance to cold stress associated with 10 elite apple rootstocks / Y. Wang, et. al. // Journal of Integrative Agriculture. 2018. Vol. 17(4). P. 857-866. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61760-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61760-X)

17. Cold Hardiness Assessment in Seven Commercial Fig Cultivars (*Ficus Carica L.*) / H. Karami et. al. // Gesunde Pflanzen. 2018. Vol. 70 (4). P. 195-203. <https://doi.org/10.1007/s10343-018-0431-2>
18. Cold resistance evaluation in 25 wild grape species / J. Zhang et. al. // Vitis. 2012. №5. P.153-160. <https://www.cabdilrect.org/cabdilrect/abstract/20123371981>
19. Karimi R. Cold hardiness evaluation of 20 commercial table grape (*Vitis vinifera L.*) cultivars // International Journal of Fruit Science. 2020. Vol. 20(3). P. 433-450. <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1651242>
20. Ershadi A., Karimi R., Naderi K.M. Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12 grapevine cultivars // Acta physiologae plantarum. 2016. Vol. 38(2). 2. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-2021-6>
21. Functional analysis of a grape WRKY30 gene in drought resistance / D. Zhu, et. al. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2018. Vol. 132 (3). P. 449-459 <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1341-1>
22. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids / S.A. Anjum, et. al. // Front. Plant Sci. 2017. № 6. 69. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00069>.
23. Samota M.K., Sasi M., Singh A. Impact of seed priming on proline content and antioxidant enzymes to mitigate drought stress in rice genotype // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2017. Vol. 6(5). P. 2459-2466. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.275>
24. Zandalinas S.I., Balfagyn D., Arbona V., Gmez-Cadenas A. Modulation of anti-oxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus // Front. Plant Sci. 2017. Vol. 8. 953. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00953>
25. Mattioli R., Costantino P., Trovato M. Proline accumulation in plants: not only stress // Plant Signal. Behav. 2009. Vol. 4. P. 1016-1018. <https://doi.org/10.4161/psb.4.11.9797>
26. LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine, and gammaamino butyric acid in tomato pollen / R. Schwacke, et. al. // Plant Cell. 1999. Vol. 11. P. 377-392 <https://doi.org/10.1105/tpc.11.3.377>
27. Funck D., Winter G., Baumgarten L., Forlani G. Requirement of proline synthesis during Arabidopsis reproductive development // BMC Plant Biology. 2012. Vol. 12. 191. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-191>
28. Kavi Kishor P.B., Hima Kumari P., Sunita M.S., Sreenivasulu N. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny // Frontiers in Plant Science. 2015. Vol. 6. 544. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00544>
29. Yakuba Yu.F., Il'ina I.A., Zakharova M.V., Lifar G.V. Method for determining the mass concentration of free amino acids in the shoots and leaves of fruit crops and grapes using capillary electrophoresis // Modern instrumental-analytical methods for studying fruit crops and grapes. Krasnodar: NCFSCHVW, 2015. P. 80-86. EDN: VSJXOT (in Russian)
30. Radyukina N.L., Ivanov Yu.V., Shevyakova N.I. Methods for assessing the content of reactive oxygen species, low molecular weight antioxidants and the activities of the main antioxidant enzymes // Molecular genetic and biochemical methods in modern plant biology / ed. VI.V. Kuznetsova, V.V. Kuznetsova, G.A. Romanova. Moscow, 2012. P. 355-356. (in Russian)