

УДК 581 : 576.5 : 634.224

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ СОРТОВ ЯБЛОНИ
РАЗЛИЧНОЙ ПЛОИДНОСТИ
ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВЫХ
КОНВЕЙЕРОВ, УСТОЙЧИВЫХ
К ЗАСУХЕ НА ЮГЕ РОССИИ***

Ненько Наталья Ивановна
д-р с.-х. наук, зав. лабораторией
физиологии и биохимии растений
nenko.nataliya@yandex.ru

Киселева Галина Константиновна
канд. биол. наук
ст. научный сотрудник
galina-kiseleva-1960@mail.ru

Караваева Алла Витальевна
младший научный сотрудник

Ульяновская Елена Владимировна
д-р с.-х. наук
зав. лабораторией сортоизучения
и селекции садовых культур
ulyanovskaya_e@mail.ru

*Государственное научное учреждение
Северо-Кавказский зональный научно-
исследовательский институт садоводства
и виноградарства ФАНО России,
Краснодар, Россия*

Цель настоящей работы – провести оценку степени засухоустойчивости сортов яблони различной ploidy по физиолого-биохимическим и анатомо-морфологическим параметрам для изучения адаптационных механизмов устойчивости яблони к засухе в условиях Северо-Кавказского региона. Для оценки степени засухоустойчивости сортов яблони использованы современные высокоточные физиолого-биохимические методы исследования водного обмена, содержания

UDC 581 : 576.5 : 634.224

**PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL
STUDY OF APPLE TREE
VARIETIES OF DIFFERENT
PLOIDY FOR CREATING
OF QUALITY CONVEYORS
RESISTANT TO DROUGHT
IN THE SOUTH OF RUSSIA**

Nenko Natalia
Dr.Sci.Agr., Head of Laboratory
of Physiology and Biochemistry of Plants
nenko.nataliya@yandex.ru

Kiseleva Galina
Cand.Sci.Biol.
Senior Research Associate
galina-kiseleva-1960@mail.ru

Karavaeva Alla
Junior Research Associate

Ulyanovskaya Elena
Dr.Sci.Agr.
Head of Laboratory of Varieties Study
and Breeding of Garden Culture
ulyanovskaya_e@mail.ru

*State Scientific Organization North
Caucasian Regional Research Institute
of Horticulture and Viticulture of FASO
of Russia, Krasnodar, Russia*

The purpose of this work is to carry out the assesment of apple varieties of various ploidy on physiological-biochemical and anatomic-morphological parameters for studying of adaptive mechanisms of an apple-tree stability to drought under the conditions of North Caucasus Region. For an assessment of degree of drought resistance of an apple-tree varieties the modern high-precision physiological and biochemical methods of research of a water metabolism,

* Статья публикуется в рамках гранта РФФИ р_юг_а № 13-04-96581

белка, сахаров, пигментов (с помощью спектрального метода), пролина (с применением капиллярного электрофореза), а также методы световой микроскопии. По полученным данным исследований, проведенных в контрастные по метеорологическим условиям годы, триплоидные сорта яблони Союз и Родничок проявили себя более засухоустойчивыми в сравнении с диплоидными сортами Рассвет, Фортуна, Эрли Мак, Дейтон. Ксероморфные признаки листовой пластинки, повышенное содержание связанной формы воды, сахарозы, пролина могут служить научно-обоснованными критериями оценки засухоустойчивости сортов яблони. Полученные в процессе исследования результаты убеждают, что увеличение плоидности растений, создание триплоидных сортов может привести к получению растений, более устойчивых к действию экстремальных условий среды.

Ключевые слова: ЯБЛОНЯ, ЗАСУХА, ПЛОИДНОСТЬ, ОВОДНЕННОСТЬ, ПРОЛИН, ПАЛИСАДНАЯ И ГУБЧАТАЯ ПАРЕНХИМЫ

the content of protein, sugar, pigments (by means of a spectral method) and proline (by means of a capillary electrophoresis) are used as well as the methods of light microscopy. According to the obtained data of research, which have been carried out in the contrast years on weather conditions, the Souz and the Rodnichok triploid varieties proved more drought-resistant in comparison with Rassvet, Fortuna, Erly Mac, Dayton diploids. The xeromorphic traits of the leaf sheet, the raised content of the water connected forms, sucrose and proline can serve as scientific-reasonable criteria of an assessment of drought resistance of apple-tree varieties. The obtained during research results convince that the increase in a ploidy of plants and creation of the triploid varieties can lead to receiving the more resistant plants under extreme conditions of the environment.

Key words: APPLE-TREE, DROUGHT, PLOIDY, WATER CONTENT, PROLIN, PALISADE AND SPONGY PARENCHYMA

Введение. На юге России одним из приоритетных направлений селекции яблони является создание сортов с высокой экологической пластичностью, устойчивых к лимитирующим факторам среды, в частности к летней засухе [1]. Достижению этой цели способствует полиплоидия, обеспечивающая, по мнению видных отечественных и зарубежных генетиков современности, дополнительные возможности для адаптации и выживания растительного организма в экстремальных условиях среды [2].

Повышение уровня плоидности положительно влияет на засухоустойчивость сортов и форм яблони. Триплоидные и тетраплоидные сорта яблони имеют более крупные листья и замыкающие клетки устьиц, особенно в сравнении с диплоидными сортами-аналогами. Возможно, эти ана-

томо-морфологические особенности полиплоидов улучшают оводненность тканей листа и повышают способность противостоять засухе [3].

Восстановление после сильной засухи оводненности листьев у полиплоидов происходит более интенсивно, так как удвоение генома растения нередко способствует усилению его адаптивных возможностей, что делает его, в данном случае, более засухоустойчивым [4]. Исследования приспособительных реакций полиплоидных растений к засухе необходимы не только для выяснения физиологических особенностей полиплоидных растений, но и для понимания генетических основ засухоустойчивости.

Цель настоящей работы – провести оценку степени засухоустойчивости сортов яблони различной плоидности по физиолого-биохимическим и анатомо-морфологическим параметрам для изучения адаптационных механизмов устойчивости яблони в условиях Северо-Кавказского региона.

Объекты и методы исследований. Исследования проводили в 2011-2013 гг. на базе ЗАО ОПХ «Центральное» (г. Краснодар). Объектами исследований служили растения яблони диплоидных сортов Рассвет, Фортуна (селекции СКЗНИИСиВ), Эрли Мак, Дейтон (США) и триплоидных сортов Союз, Родничок (селекции СКЗНИИСиВ). Для оценки степени засухоустойчивости различных сортов яблони определяли общую оводненность листьев, содержание свободной и связанной форм воды, пигментов (хлорофилла, каротиноидов), пролина и сахарозы [5-9]. Микрообъекты изучали и фотографировали с помощью микроскопа «Olympus» BX 41 согласно методике [10].

Обсуждение результатов. Для оценки степени засухоустойчивости сортов яблони различной плоидности исследования проводили в разные по метеорологическим условиям годы. Летний период 2011 года был жарким и засушливым. В июле максимальная температура воздуха достигала

39,5°C, а количество выпавших осадков – 3,1 мм. В 2012 году период с конца июля до середины августа был аномально жарким и сухим. Максимальная температура воздуха составляла 38,3°C; средняя температура воздуха 28,7 °C, что на 4,7 °C выше нормы. Осадки составляли 0,3-0,4 мм (2 % от нормы). Летний период 2013 года был относительно не жарким. Средняя температура воздуха в летние месяцы составляла 23,5-24 °C, что на 1,5-2,5 °C выше нормы, количество осадков – 35 мм.

Трехлетние данные физиолого-биохимических показателей сортов яблони различной плоидности, характеризующие физиологическое состояние растений в летние вегетационные периоды 2011-2013 гг., показывают, что у триплоидных сортов Союз и Родничок, в отличие от диплоидных (Рассвет, Фортуна, Эрли Мак, Дейтон), оводненность тканей листа во время воздействия жары и засухи в летний период снижается меньше. Средние значения показателей оводненности листового аппарата у диплоидов составляли 49,27-71,87 %, у триплоидов 55,10-68,55 % (табл. 1).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика физиолого-биохимических показателей сортов яблони различной плоидности в летний вегетационный период 2011-2013 (средние значения)

Показатели	Диплоиды	Триплоиды
Оводненность, %	49,27-71,87	55,10-68,55
Связанная вода, %	51,79-89,30	76,18-85,31
Пролин, мг/г сырого вещества	8,40-98,30	82,2-192,60
Сахароза	2,29-6,43	4,39-6,75
Сумма хлорофиллов а+в, мг/г сухого вещества	2,11-4,73	4,20-4,94
Каротин, мг/г сухого вещества	1,04-2,08	1,98-2,72

Содержание связанной воды у триплоидных сортов яблони почти во все месяцы вегетационного периода больше, чем у диплоидных. У диплоидов оно составляло 51,79-89,30 %, у триплоидов – 76,18-85,31 %.

В период засухи у триплоидных сортов Союз и Родничок по сравнению с диплоидными сортами отмечено повышенное содержание пролина в тканях, обладающего свойствами осмопротектора при адаптации. Способность накапливать пролин во время засухи у триплоидных сортов яблони является генетически обусловленным признаком. Средние значения показателей содержания пролина у диплоидов составляли 8,40-98,30 мг / г сырого вещества, у триплоидов – 4,39-6,75 мг / г сырого вещества.

При воздействии стрессовых условий среды растения накапливают сахара. Повышенное содержание сахарозы, удерживающей воду в клетках, характеризует проявление механизма устойчивости яблони к засухе. У триплоидных сортов выявлено повышенное содержание сахарозы.

В течение летнего вегетационного периода 2011-2013 гг. содержание этого соединения у диплоидных сортов яблони составляли 2,29-6,43 мг на 1 г сухого вещества, у триплоидных – 4,39-6,75 мг на 1 г сухого вещества.

Активность фотосинтетического аппарата яблони – один из параметров, наиболее чувствительный к высокотемпературному стрессу. Триплоидные сорта Союз и Родничок проявляли более высокую фотосинтетическую активность в течение летнего периода.

В отличие от триплоидных сортов яблони изучаемые диплоиды содержали меньше хлорофилла и больше каротиноидов. Средние показатели содержания суммы хлорофиллов *a* и *b* у диплоидов составляла 2,11-4,73 мг/г сухого вещества; у триплоидов этот показатель – 4,20-4,94 мг/г. Повышенное количество хлорофилла, выявленное у триплоидных сортов яблони, свидетельствует о более интенсивной фотосинтетической деятельности листового аппарата.

По результатам биохимических исследований пигментного комплекса у различных по плоидности сортов яблони выявлены различия в содержании каротина. Как известно, каротин выполняет защитные функции: защищает хлорофилл от окисления молекулярным кислородом и регулирует

степень адаптации растений к высокой интенсивности света. Содержание каротина у диплоидов составляло 1,04-2,08 мг/г сухого вещества; у триплоидов 1,98-2,72 мг/г сухого вещества. Более высокое содержание каротина у триплоидных сортов яблони свидетельствует о повышенных защитных свойствах их пигментного комплекса.

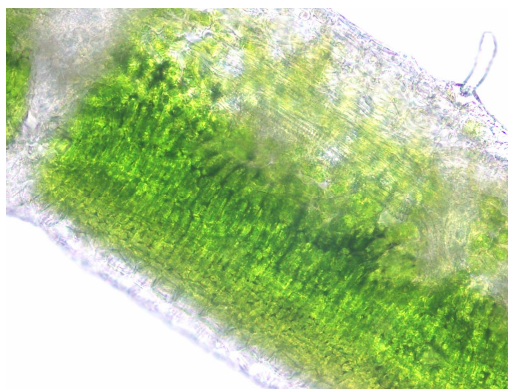
По результатам физиолого-биохимических исследований 2011-2013 гг., у триплоидных сортов яблони Союз и Родничок выявлено повышенное содержание связанной формы воды, сахарозы, пролина, отмечена более высокая устойчивость пигментной системы, что позволяет поддерживать достаточно высокий уровень физиологических процессов у растений в летний период.

Результаты физиолого-биохимических исследований согласуются с данными анатомо-морфологических исследований.

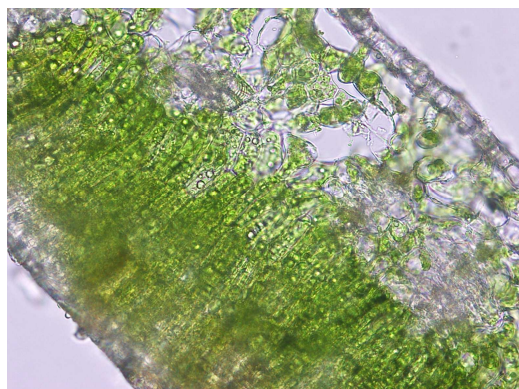
Анатомическое строение листа у растений зависит от возраста, расположения на дереве, освещенности, влажности и т.п., поэтому листья для приготовления анатомических препаратов отбирали с однолетних побегов яблони среднего яруса кроны.

Обобщая трехлетние данные, полученные в контрастные по метеорологическим условиям годы, у триплоидных сортов яблони Союз и Родничок в отличие от изучаемых диплоидных сортов выявлены ксероморфные признаки листа, связанные с засухоустойчивостью: увеличение толщины листовой пластинки, утолщение кутикулы и верхнего эпидермиса, увеличение толщины слоя клеток палисадной паренхимы и индекса палисадности, увеличение количества устьиц на единицу листовой поверхности, уменьшение линейных размеров устьиц.

Следовательно, ксероморфные признаки листовой пластинки триплоидных сортов яблони являются генетически обусловленными признаками и проявляются у растений независимо от метеорологических условий года (рис. 1, 2).

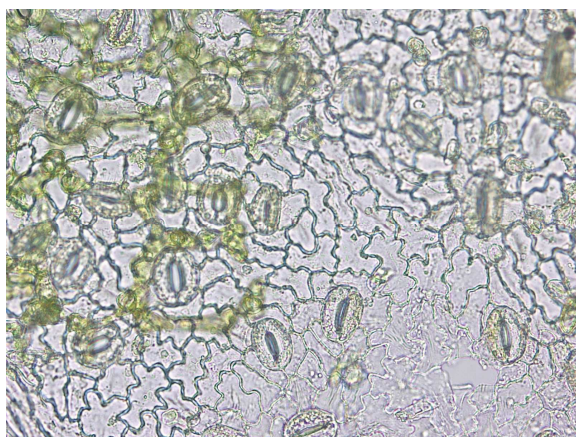


Сорт Дейтон ($2n=2x$)

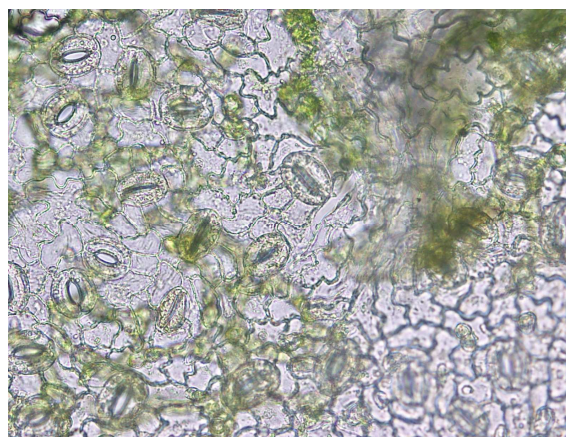


Сорт Родничок($2n=3x$)

Рис. 1. Микрофото поперечного среза листовой пластинки сортов яблони различной плоидности (увеличение 10x40)



Сорт Дейтон ($2n=2x$)



Сорт Родничок($2n=3x$)

Рис. 2. Микрофото устьичного аппарата с нижнего эпидермиса листовой пластинки сортов яблони различной плоидности (увеличение 10x80)

По результатам исследований 2011-2013 гг. выявлено, что у диплоидных сортов яблони общая толщина листовой пластинки составляет 154,6-184,4 мк, у триплоидов 217,6-251,0 мк ($НСР_{0,95}=21,38$); толщина кутикулы и верхнего эпидермиса у диплоидных сортов составляет 10,2-11,7 мк, у триплоидов 11,1-11,9 мк ($НСР_{0,95}=0,47$); индекс палисадности у диплоидов – 1,01-1,27, у триплоидов – 1,39-1,51. Чем больше индекс палисадности, тем более засухоустойчив лист. Количество устьиц на единицу листовой поверхности у диплоидов составляет 200-288 шт. ($НСР_{0,95}=21,38$),

у триплоидов – 281-321 шт.; длина устьиц у диплоидов – 55-56 мк ($НСР_{0,95} = 21,38$), у триплоидов – 51-52 мк; ширина устьиц у диплоидов составляет 31-34 мк, у триплоидов – 28-32 мк ($НСР_{0,95} = 21,38$) (табл. 2).

Таблица 2 – Сравнительная характеристика анатомо-морфологических показателей сортов яблони различной плоидности в летний вегетационный период 2011-2013 гг. (средние значения)

Показатель	Диплоиды	Триплоиды
Общая толщина листовой пластинки, мк	154,6-184,4	217,6-217,0
Кутикула и верхний эпидермис, мк	10,2-11,7	11,1-11,9
Индекс палисадности	1,01-1,27	1,39-1,51
Количество устьиц, шт.	200-288	281-321
Длина устьиц, мк	55-56	51-52
Ширина устьиц, мк	31-34	28-32

Выводы. По полученным физиолого-биохимическим и анатомо-морфологическим данным 2011-2013 гг., триплоидные сорта яблони Союз и Родничок проявили себя более засухоустойчивыми в сравнении с диплоидными сортами Рассвет, Фортуна, Эрли Мак, Дейтон.

Выявлено, что триплоидные сорта яблони Союз и Родничок обладают большей способностью адаптироваться к меняющимся условиям водоснабжения, чем изучаемые диплоидные сорта.

У триплоидов отмечены меньшие отрицательные последствия летнего периода: более быстрое восстановление физиологических функций растений после засухи – больше связанной воды в тканях, пролина, устойчивее пигментная система, высокая оводненность и водоудерживающая способность в условиях летних экстремальных температур. Анатомо-морфологическими исследованиями выявлены признаки ксероморфной структуры листовой пластинки.

Полученные результаты убеждают, что увеличение плоидности растений, создание триплоидных сортов могут привести к получению растений, более устойчивых к действию экстремальных условий среды.

Литература

1. Ненько, Н.И. Физиолого-биохимические особенности адаптации яблони к засухе в интенсивных насаждениях в условиях Северо-Кавказского региона / Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, А.В. Караваева, Т.В. Схалыхо, Ю.И. Сергеев / Расширенное заседание Ученого совета ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии по проблемам интенсивного садоводства, посвященное 100-летию со дня рождения Гавриила Владимировича Трусевича (6 июля 2010) Краснодар: СКЗНИИСиВ. – С. 92-97.
2. Nataliya I. Nenko Stability to the drought of the types of the apple tree of different ploidy / Nataliya I. Nenko, Galina K. Kiseleva, Alla V. Karavaeva, Helen V. Ulyanovskaya / Journal of International Scientific Publications: Ecology & Safety, Volume 7, Part 4, P. 4-12.
3. Ненько, Н.И. Изучение перспективных сортов яблони различной плоидности в связи с адаптацией к засухе / Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, Е.В. Ульяновская // Materiály IX mezinárodní vědecko-praktická konference «Prední vědecké novinky - 2013» (27. srpna – 05. září 2013 roku) – Díl 7. Lekarství. Biologické vědy. Zverolekarství: Praga. Publishing House «Educatoin and Sciense» s.r.o. - 2013. S. 40-45.
4. Ульяновская, Е.В. Новые формы яблони, устойчивые к основным стрессорам южного региона / Е.В. Ульяновская, Е.Н. Седов, Л.И. Дутова, Г.А. Седышева, З.М. Серова // Проблемы агроэкологии и адаптивность сортов в современном садоводстве России: Сб науч. статей. – Орел: ВНИИСПК, 2008. – С. 263-265.
5. 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.
6. Ненько, Н.И. Физиолого-биохимические методы изучения исходного и селекционного материала / Н.И. Ненько, И.А. Ильина, В.С. Петров, М.А. Сундырева // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – С. 530-540.
7. Воробьев, Н.В. Определение содержания сахарозы, фруктозы и глюкозы в растительных тканях с помощью антронового реактива / Т.Н. Воробьева // Бюллетень НТИ ВНИИ риса. – Краснодар, 1985. – Вып. 33. – С. 11-13.
8. 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.
9. Красова, Н.Г. Оценка зимостойкости сортов яблони по биохимическим показателям в условиях Краснодарского края / Н.Г. Красова, С.Н. Артюх, Н.И. Ненько // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – № 15(3). – С. 92-100. – Режим доступа: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/12/03/11.pdf>.
10. Сундырева, М.А. Сорта винограда – источники признаков засухоустойчивости и жаростойкости для анапо-таманской зоны Краснодарского края / М.А. Сундырева, Н.И. Ненько, Г.К. Киселева // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – № 15(3). – С. 101-112. – Режим доступа: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/12/03/12.pdf>.

References

1. Nen'ko, N.I. Fiziologo-biohimicheskie osobennosti adaptatsii yabloni k zasuhe v intensivnyh nasazhdeniyah v usloviyah Severo-Kavkazskogo regiona / N.I. Nen'ko, G.K. Kiseleva, A.V. Karavaeva, T.V. Shalyaho, Yu.I. Sergeev / Rasshirennoe zasedanie Uchenogo soveta GNU SKZNIISiV Rossel'hoz akademii po problemam intensivnogo sadovodstva, posvyaschennoe 100-letiyu so dnya rozhdeniya Gavriila Vladimirovicha Trusevicha (6 iyulya 2010) Krasnodar: SKZNIISiV. – S. 92-97.
2. Nataliya I. Nenko Stability to the drought of the types of the apple tree of different ploidy / Nataliya I. Nenko, Galina K. Kiseleva, Alla V. Karavaeva, Helen V. Ulyanovskaya / Journal of International Scientific Publications: Ecology & Safety, Volume 7, Part 4, P. 4-12.
3. Nen'ko, N.I. Izuchenie perspektivnyh sortov yabloni razlichnoy ploidnosti v svyazi s adaptatsiey k zasuhe / N.I. Nen'ko, G.K. Kiseleva, E.V. Ulyanovskaya // Materiały IX międzynarodni vedesko-prakticka konference «Predni vedeske novinky - 2013» (27srpna – 05 zari 2013 roku) – Dil 7. Lekarstvi. Biologicke vedy. Zverolekarstvi: Praga. Publishing House «Educatoin and Sciense» s.r.o.- 2013. S.40-45.
4. Ulyanovskaya, E.V. Novye formy yabloni, ustoychivye k osnovnym stressoram yuzhnogo regiona / E.V. Ulyanovskaya, E.N. Sedov, L.I. Dutova, G.A. Sedysheva, Z.M. Serova // Problemy agroekologii i adaptivnost' sortov v sovremennom sadovodstve Rossii: Sb nauch. statey. – Orel: VNIISPK, 2008. – S. 263-265.
5. Nen'ko, N.I. Fiziologicheskie metody v adaptivnoy selektsii plodovyh kul'tur / N.I. Nen'ko, T.N. Doroshenko, T.A. Gasanova // Sovremennye metodologicheskie aspekty organizatsii selektsionnogo protsessa v sadovodstve i vinogradarstve. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2012. – S. 189-198.
6. Nen'ko, N.I. Fiziologo-biohimicheskie metody izucheniya ishodnogo i selektsionnogo materiala / N.I. Nen'ko, I.A. Il'ina, V.S. Petrov, M.A. Sundyreva // Sovremennye metodologicheskie aspekty organizatsii selektsionnogo protsessa v sadovodstve i vinogradarstve. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2012. – S. 530-540.
7. Vorob'ev, N.V. Opredelenie soderzhaniya saharozy, fruktozy i glyukozy v rastitel'nyh tkanyah s pomosh'yu antronovogo reaktiva / N.V. Vorob'ev // Byulleten' NTI VNII risa. – Krasnodar, 1985. – Vyp. 33. – S. 11-13.
8. Kiseleva, G.K. Anato-morfologicheskaya otsenka adaptivnogo potentsiala sortov plodovyh kul'tur i vinograda / G.K. Kiseleva. – Sovremennye metodologicheskie aspekty organizatsii selektsionnogo protsessa v sadovodstve i vinogradarstve. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2012. – S. 199-205.
9. Krasova, N.G. Otsenka zimostoykosti sortov yabloni po biohimicheskim pokazatelyam v usloviyah Krasnodarskogo kraya / N.G. Krasova, S.N. Artyuh, N.I. Nen'ko // Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii [Elektronnyj resurs]. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2012. – № 15(3). – S. 92-100. –
Rezhim dostupa: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/12/03/11.pdf>.
10. Sundyreva, M.A. Sorta vinograda – istochniki priznakov zasuhoustoychivosti i zharostoykosti dlya anapo-tamanskoy zony Krasnodarskogo kraya / M.A. Sundyreva, N.I. Nen'ko, G.K. Kiseleva // Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii [Elektronnyj resurs]. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2012. – № 15(3). – S. 101-112. –
Rezhim dos-tupa: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/12/03/12.pdf>.