УДК 634.22

Особенности физиолого-биохимических процессов устойчивости сортов сливы разного генетического происхождения к раннезимним морозам

А.О. Болгова¹, З.Е. Ожерельева¹

Аннотация

В связи с тем, что сорта сливы демонстрируют различную степень устойчивости к морозам необходимо проводить изучение физиолого-биохимических основе адаптации растений в лежащих в начале зимы. исследований – выявить особенности физиолого-биохимических процессов устойчивости сливы к раннезимним морозам на основе изучения модификаций компонентов антиоксидантной системе защиты, в белково-углеводном обмене и интенсивности процесса перекисного окисления липидов в коре однолетних побегов. Исследования проводились в 2022...2024 гг. на базе лаборатории физиологии устойчивости плодовых растений и участках первичного сортоизучения косточковых культур ВНИИСПК согласно общепринятым методикам. В качестве объектов исследований использовались сорта сливы Prunus × rossica Erem., Prunus salicina и Prunus domestica биоресурсной коллекции института. В результате проведенных исследований установлено, что снижение содержания свободного пролина и суммы сахаров, повышение активности антиоксидантного фермента каталаза приводит к снижению интенсивности процесса перекисного окисления мембранных липидов в коре однолетних побегов сортов сливы в раннезимний период. Так, при снижении температуры до -25,0°C у сортов сливы наблюдалось повышение активности фермента каталаза на 6,2...29,6% по сравнению с показателями закалки. При этом зафиксировано снижение уровня пролина и суммы сахаров в коре однолетних побегов соответственно на 29,97% и 27,9% у сортов *P.* × rossica, на 51,22% и 26,5% у *P. domestica*, на 24,94% и 16,1% у *P. salicina*. В контролируемых условиях показана высокая морозостойкость сортов сливы при -25,0°С за счет достаточно высокой скорости закалки. Полученные результаты дают возможность использовать изученные сорта сливы в качестве исходных форм устойчивости к раннезимним морозам. Активность антиоксидантных ферментов, уровень пролина, содержание сахаров и малонового диальдегида являются важными маркерами для оценки морозостойкости сортов сливы.

Ключевые слова: *Prunus domestica, Prunus salicina, Prunus × rossica* Erem., I компонент зимостойкости, аминокислота пролин, сумма сахаров, антиоксидантные ферменты, малоновый диальдегид

Features of physiological and biochemical processes of resistance to early winter frost in plum cultivars of different genetic origin

A.O. Bolgova 1, Z.E. Ozherelieva 1

Abstract

Due to the fact that plum varieties show varying degrees of resistance to early winter frosts, it

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур», 302530, Орловская область, Орловский МО, д. Жилина, Россия, info@vniispk.ru

¹Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), 302530, Russia, Orel region, Orel MO, Zhilina, VNIISPK, info@vniispk.ru

is necessary to study the physiological and biochemical processes underlying plant adaptation at the beginning of winter. The purpose of the research is to identify the features of the physiological and biochemical processes of plum resistance to early winter frosts based on the study of modifications of the components of the antioxidant protection system, in protein-carbohydrate metabolism and the intensity of lipid peroxidation in the bark of annual shoots. The studies were conducted in 2022...2024. on the basis of the laboratory of physiology of resistance of fruit plants and sites of primary variety study of stone crops of VNIISPK according to generally accepted methods. The plum varieties Prunus × rossica Erem., Prunus salicina and Prunus domestica from the bioresource collection of the Institute were used as research objects. As a result of the conducted studies, it was found that a decrease in the content of free proline and the amount of sugars, an increase in the activity of the antioxidant enzyme catalase leads to a decrease in the intensity of the process of peroxidation of membrane lipids in the bark of annual shoots of plum varieties in the early winter period. Thus, when the temperature decreased to -25.0°C, plum varieties showed an increase in the activity of the catalase enzyme by 6.2...29.6% compared with the guenching parameters. At the same time, a decrease in the level of proline and the amount of sugars in the bark of annual shoots was recorded, respectively, by 29.97% and 27.9% in P. x rossica varieties, by 51.22% and 26.5% in P. domestica, by 24.94% and 16.1% in P. salicina. Under controlled conditions, high frost resistance of plum varieties at -25.0°C is shown due to a sufficiently high quenching rate. The obtained results make it possible to use the studied plum varieties as initial forms of resistance to early winter frosts. The activity of antioxidant enzymes, the level of proline, the content of sugars and malondialdehyde are important markers for assessing the frost resistance of plum varieties.

Key words: *Prunus domestica, Prunus salicina, Prunus* × *rossica Erem.*, I component of winter hardiness, amino acid proline, sum of sugars, antioxidant enzymes, malonic dialdehyde

Введение

В условиях Европейской части России в отдельные годы в начале декабря возможны понижения температуры воздуха до -22,0...-25,0°С, поэтому адаптированные сорта плодовых культур должны набирать необходимый уровень морозостойкости уже в начале зимы (Савельев и др., 2010; Данилова, Кичина, 2009; Федотова и др., 2015). Такая ситуация может наблюдаться при сильном поражении болезнями, при поздней посадке, а также при возобновлении интенсивного роста осенью после летней засухи. В подобных условиях растение, как правило, не реализует свой генетически обусловленный потенциал морозостойкости (Гасымов, 2017). Осенью при внезапном снижении температуры, особенно после дождливой и холодной второй половины вегетационного периода, клетки камбия и коры менее устойчивы к морозам, чем древесина. В результате морозы поздней осенью могут повреждать штамб и скелетные ветви (Резвякова, 2011).

Первый компонент зимостойкости – способность растений к быстрой закалке осенью и устойчивость к раннезимним морозам.

И.И. Туманов (1940) установил, что развитие морозостойкости у растений происходит в результате процесса закаливания, который начинается осенью и продолжается в начале зимнего периода. Формирование устойчивости к низким температурам носит поэтапный характер. Изначально растения снижают темпы роста, затем полностью его прекращают, переходя в состояние покоя, затем проходят фазы закаливания. Первая фаза закаливания начинается при снижении среднесуточной температуры до 0,0°C (Данилова, Кичина, 2009). На данном этапе наблюдается активное накопление сахаров в растительных тканях (Satyakam et al., 2022; Jahed et al., 2023), что служит начальной адаптационной реакцией после завершения вегетативного роста. После вступления растений в фазу покоя и

завершения первой стадии закаливания их морозоустойчивость может возрастать до значений -20,0...-25,0°С и ниже (Туманов, 1979; Тюрина, 1991; Данилова, Кичина, 2009). Так, при снижении температуры до -15,0°C (I компонент зимостойкости) все изучаемые сортообразцы сливы не имели каких-либо повреждений (Солонкин и др., 2020). Результаты искусственного промораживания показали, что сорта и гибридные формы P. salicina способны переносить снижение температуры до -25.0°C без значительных повреждений (не более 1,0 балла) почек и тканей однолетних побегов (Ожерельева, Ряполова, 2010). Как показывают многолетние исследования, для условий Беларуси новые сорта сливы также должны выдерживать снижение температуры воздуха в начале зимы до -25,0°C. При этом выявлено наличие более высокого потенциала морозостойкости по I компоненту зимостойкости у образцов сливы диплоидной по сравнению с *P. domestica*. Общая степень подмерзания по сортам P. domestica составила 2,6 балла, и 1,6 балла по сортам сливы диплоидной (Матвеев и др., 2011). Изучение устойчивости сортов и форм сливы разного генетического происхождения по I компоненту зимостойкости методом искусственного промораживания в начале декабря при -30,0°C показало, что ткани однолетних побегов у них повредились незначительно до 1,0 балла. Вегетативные почки повредились при этом сильнее от 0,0 до 2,4 балла (Савельев и др., 2010). Согласно другим данным, большинство проанализированных сортов сливы демонстрируют высокую степень устойчивости при снижении температуры до -25°C: средний балл подмерзания по всем сортам составил 0,66. К числу зимостойких форм отнесены, в частности, сорт Красивая Веча, происходящий от *P. salicina*, а также сорт Надежда, происходящий от *P. domestica* (Федотова и др., 2015).

Анализ литературных данных по изучению I компонента зимостойкости показывает, что в начале зимы сорта сливы проявляют различный потенциал устойчивости в зависимости от температурного режима и физиологического состояния растений. В связи с этим остаётся актуальной задача по изучению морозостойкости сортов сливы различного генетического происхождения к неблагоприятным факторам в начале зимы.

Цель исследований — выявить особенности физиолого-биохимических процессов устойчивости сливы к раннезимним морозам на основе изучения модификаций в антиоксидантной системе защиты, в белково-углеводном обмене и интенсивности процесса перекисного окисления липидов в коре однолетних побегов.

Материалы и методы

Исследование проводили в 2022...2024 гг. на базе лаборатории физиологии устойчивости плодовых растений и участках первичного сортоизучения косточковых культур биоресурсной коллекции ВНИИСПК с серыми лесными почвами, с содержанием гумуса 3...4%, мощностью гумусового горизонта 30...35 см. Год посадки – 2019. Схема посадки 5,0 × 3,0 м. В междурядьях используется естественное залужение, в приствольных полосах гербициды.

В качестве объектов исследований использовали 4 сорта *Prunus* × *rossica* Erem. – Ветразь, Гек, Злато скифов, Кубанская комета, 5 сортообразцов *Prunus salicina* – Неженка, Сувенир Востока, Орловская мечта, Скороплодная, ЭЛС 18743 и 5 сортов *Prunus domestica* – Венгерка белорусская, Венгерка заречная, Евразия 21, Золотое руно, Stanley.

Определение перехода сортов сливы в период глубокого покоя определяли методом отращивания. Однолетние побеги срезали осенью (октябрь – ноябрь) и помещали в сосуды с водой при температуре +18,0...+20,0°С для отращивания. Отсутствие распускания почек служило показателем вступления растений в состояние глубокого покоя.

Для определения устойчивости к раннезимнему морозу сортов сливы в контролируемых условиях использовали многолетние ветви. Ветви средней длины (5 шт.), срезали в конце

ноября с типичных для сорта деревьев плодоносящего возраста. Искусственное промораживание проводили в климатической камере LO-70/180-1000 ТВХ (Россия), согласно методическим рекомендациям (Тюрина и др., 2002). Промораживание проводили в начале декабря.

Температурные режимы промораживания:

- закалка -5.0°C 5 дней; -10.0°C 5 дней;
- промораживание при -25,0°C (I компонент зимостойкости), продолжительность 8 часов, скорость снижения температуры 5,0°C/ч.

Определение содержания сахаров проводилось с использованием резорцинового реактива по методике Туркиной и Соколовой (1972).

Содержание пролина определяли реакцией с реагентом нингидрина (Bates et al., 1973; Прудников, Ожерельева, 2019). Сумму сахаров и содержание пролина устанавливали при длине волны 520 нм с использованием спектрофотометра.

Активность пероксидазы в листьях определяли методом Бояркина (Ермаков и др., 1987). Измерение проводили на ФЭКе при длине волны 670 нм.

Активность каталазы проводили по методике (Шиманов и др., 1995; Прудников, Ожерельева, 2019) на спектрофотометре при длине волны 440 нм.

Количество МДА определяли на основе качественной реакции с тиобарбитуровой кислотой (Стальная, Гаришвили, 1977; Прудников, Ожерельева, 2019) на спектрофотометре при длине волны 535 нм.

Экспериментальные данные обработаны методами дисперсионного ANOVA (Доспехов, 1985) и корреляционного анализа с использованием программного пакета MS Excel.

Результаты и их обсуждение

Рост растений не является непрерывным процессом. В осенне-зимний период у них замедляются или полностью приостанавливаются ростовые процессы, т.е. наступает период глубокого покоя. В период глубокого покоя у сортов сливы наиболее чувствительны к низким температурам сердцевина и древесина однолетних побегов, а также генеративные почки. Деревья с поврежденной древесиной и сердцевиной начинают позже вегетировать, а завязь у них часто осыпается. Повышение морозостойкости плодовых растений в процессе закалки успешно проходит только при прекращении роста и вступлении их в состояние покоя.

Так, у изученных сортов сливы в ноябре не наблюдалось распускание почек, это подтверждает то, что растения в ноябре находились в состояние глубокого покоя. В дальнейшем многолетние ветки срезались в конце ноября. При этом отмечено различие по сроку выхода сортов сливы из периода глубокого покоя. Первыми вышли из состояния покоя сорта Гек, Неженка, Сувенир Востока и ЭЛС 18473. В начале ІІ декады декабря выход из состояния покоя зарегистрирован у сортов Орловская мечта, Скороплодная. В конце ІІ декады декабря почки распускались у сортов Венгерка заречная, Ветразь, Злато скифов, Золотое руно, Евразия 21 и Кубанская комета. Самый поздний выход из состояния глубокого покоя (в начале ІІІ декады декабря) отмечен у сортов Венгерка белорусская и Stanley (таблица 1).

На основании проведённых наблюдений следует, что сорта сливы характеризуются коротким периодом глубокого покоя, из которого выходят уже в декабре. Более продолжительный период глубокого покоя отмечен у сортов *P. domestica* – Венгерка белорусская и Stanley.

Таблица 1 – Сроки выхода сортов сливы разного генетического происхождения из периода глубокого покоя (среднее за 2022...2024 гг.)

Cont	Дата выхода из состояния покоя				
Сорт	07.1209.12.	11.1212.12.	16.1218.12.	20.1221.12.	
	F	. domestica			
Венгерка белорусская				+	
Венгерка заречная			+		
Евразия 21			+		
Золотое руно			+		
Stanley				+	
	I	P. × rossica			
Ветразь			+		
Гек	+				
Злато скифов			+		
Кубанская комета			+		
		P. salicina			
Неженка	+				
Орловская мечта		+			
Сувенир Востока	+				
Скороплодная		+			
ЭЛС 18473	+				

Прекращение роста и вхождение в состояние покоя является стартовым моментом развития способности к закалке. С этого времени постепенно, вследствие определенных биохимических, физиологических и структурных изменений, растения подготавливаются к перезимовке. Разные виды и сорта плодовых культур значительно различаются по времени начала подготовительных к перезимовке процессов, скорости прохождения отдельных этапов и сроках достижения максимальной способности к закалке (Тюрина и др., 2002).

К антиоксидантным ферментам относятся каталаза и пероксидаза. Пероксидаза является одной из важнейших каталитических систем среди биохимических факторов защиты растений и относится к полифункциональным ферментам, выступает в качестве одного из звеньев альтернативной дыхательной цепи, обладающая повышенной чувствительностью к внешним воздействиям (Хозеева и др., 2020).

В условиях понижения температуры до -25,0°C было зафиксировано снижение активности фермента пероксидаза по сравнению с периодом закалки. Установленное снижение составило в 3,4 раза у *P. × rossica*, в 1,4 раза у *P. salicina* и в 1,6 раза у *P. domestica*. Подобная динамика указывает на ослабление интенсивности метаболических реакций, что типично для фазы глубокого покоя (таблица 2).

Каталаза нейтрализует супероксид анион-радикал и пероксид водорода на воду и молекулярный кислород, предотвращая повреждение растительной клетки. В условиях низкотемпературного стресса активность данного антиоксидантного фермента усиливается. Известно, что у морозостойких сортов наблюдается повышенная активность каталазы зимой (Хозеева и др., 2020).

Проведённые исследования показали, что у сортов *P. × rossica*, таких как Ветразь, Гек и Злато скифов, после воздействия температуры -25,0°C в начале зимнего периода наблюдалось повышение активности фермента каталазы на 6,2...11,0% по сравнению с показателями, зафиксированными на этапе закалки.

У сортов, происходящих от *P. domestica* – Венгерка белорусская (на 15,0%), Золотое руно (в 2,8 раза) и Stanley (на 16,8%) – также зафиксировано усиление активности каталазы в условиях действия первого компонента зимостойкости (таблица 3).

Таблица 2 — Активность пероксидазы (в условных единицах) в коре однолетних побегов сливы при действии температуры -25,0°C после закалки (среднее за 2022...2024 гг.)

Cont (douton A)	Этапы моделирования I компонента зимостойкости (фактор B)						
Сорт (фактор А)	Закалка -5,0°С, -10,0°С	I компонент -25,0°C					
P. domestica							
Венгерка белорусская	6,4±3,2	3,0±2,7					
Венгерка заречная	7,7±7,4	6,6±6,3					
Евразия 21	18,1±7,4	3,0±2,2					
Золотое руно	7,9 ± 7,6	3,3±3,0					
Stanley	12,6±12,2	9,8±9,3					
	P. × rossica						
Ветразь	7,1±6,8	3,1±2,8					
Гек	11,8±6,9	3,5±3,0					
Злато скифов	12,6±12,2	6,1±5,7					
Кубанская комета	18,1±17,2	3,0±2,3					
P. salicina							
Неженка	12,6±12,1	12,2±11,9					
Орловская мечта	8,8±8,3	3,6±3,0					
Сувенир Востока	3,6±3,2	1,5±1,3					
Скороплодная	13,6±13,1	8,5±7,9					
ЭЛС 18473	12,6±7,8	12,1±11,7					
	$A F_{\phi} < F_{\tau}$ B HCP ₀₅ =3,3	AB F _Φ <f<sub>τ</f<sub>					

Таблица 3 – Активность каталазы (в условных единицах) в коре однолетних побегов сливы при действии температуры -25°C после закалки (среднее за 2022...2024 гг.)

Cont (douten A)	Этапы мод	Этапы моделирования I компонента зимостойкости (фактор В)					
Сорт (фактор А)	Закалка -	Закалка -5,0°С, -10,0°С		понент -25,0°C			
P. domestica							
Венгерка белорусская	18	,6±9,3		21,4±10,7			
Венгерка заречная	16	,0±8,4		14,6±7,8			
Евразия 21	12	,4±4,7		11,7±5,6			
Золотое руно	6,	1±4,1		16,8±11,1			
Stanley	17,	3±10,3		20,2±7,8			
		P. × rossica					
Ветразь	17	,3±8,9		18,4±6,6			
Гек	26,	26,8±12,8		29,8±15,1			
Злато скифов	23,	23,7±13,4		24,8±12,9			
Кубанская комета	28,3±13,7			28,1±13,8			
P. salicina							
Неженка	23,5±14,0			30,5±19,8			
Орловская мечта	26,	26,4±15,7		28,8±15,9			
Сувенир Востока	6,	6,4±3,6		17,8±9,5			
Скороплодная	7,	7,2±3,6		33,3±23,3			
ЭЛС 18473	30,7±17,6			30,5±21,8			
	A HCP ₀₅ =13,4	B F _φ <f<sub>τ</f<sub>	AB F _φ <f<sub>τ</f<sub>				

При снижении температуры до -25,0°C активность каталазы в большей степени повысилась у представителей *P. salicina*: Неженка – на 29,6%, Орловская мечта – на 9,3%, Сувенир Востока – в 2,8 раза и Скороплодная – в 4,6 раза (таблица 3). Понижение температуры до -25,0°C в начале декабря не повлияло на активность каталазы у сортов Кубанская комета и ЭЛС 18473, ее уровень не изменился по сравнению с закалкой. Отмечено при этом понижение активности каталазы в коре однолетних побегов у сортов

Венгерка заречная (на 9,6%) и Евразия 21 (на 5,5%). По-видимому, в нейтрализации АФК наряду с пролином (таблица 4) могли в этих сортах в большей степени участвовать и другие антиоксиданты, например, полифенолоксидаза, у которого с каталазой есть конкуренция за субстрат – пероксид водорода (Прудников и др., 2015).

Таблица 4 — Содержание аминокислоты пролин в коре однолетних побегов сливы при действии температуры -25,0°С после закалки, мг/кг (среднее за 2022...2024 гг.)

Cont (douten A)	Этапы моделирования I компонента зимостойкости (фактор В)						
Сорт (фактор А)	Закалка -5,0°C, -10,0°0	С І компонент -25,0°С					
P. domestica							
Венгерка белорусская	104,6±41,2	54,4±23,2					
Венгерка заречная	89,1±50,3	61,7±30,7					
Евразия 21	119,9±24,9	67,2±25,6					
Золотое руно	47,0±19,4	34,6±12,0					
Stanley	64,6 ± 24,0	61,6±18,0					
-	P. × rossica						
Ветразь	103,5±33,5	90,9±17,8					
Гек	172,3±9,2	141,5±19,2					
Злато скифов	182,3±19,3	113,3±31,5					
Кубанская комета	137,5±15,9	131,9±32,4					
P. salicina							
Неженка	143,8±9,4	109,4±38,7					
Орловская мечта	163,6±33,0	132,0±20,1					
Сувенир Востока	131,7±16,2	107,6±38,1					
Скороплодная	149,3±10,5	122,4±41,9					
ЭЛС 18473	134,5±14,7	146,6±25,4					
	A HCP ₀₅ =44,5 B HCP ₀₅ =16,	8 AB F_{ϕ} < F_{τ}					

Известно, что в условиях низкотемпературного стресса пролин и сахара защищают растительную клетку от образования внутриклеточного льда. Низкомолекулярный антиоксидант пролин сохраняет функциональную активность клеточных мембран, защищает ферменты от инактивации, а также обеспечивает целостность структурных белков (Прудников, Ожерельева, 2019).

В результате воздействия температуры $-25,0^{\circ}$ С, соответствующей первому компоненту зимостойкости, в среднем для сортов $P. \times rossica$ было зафиксировано снижение концентрации аминокислоты пролин в коре однолетних побегов на 30,0%. У представителей P. domestica данный показатель уменьшился на 51,2%, а у P. salicina — на 24,9% по сравнению с этапом закалки. Снижение содержания пролина объясняется его антиоксидантной функцией: данная аминокислота способствует нейтрализации активных форм кислорода ($A\Phi K$), что, в свою очередь, способствует сохранению растительной клетки и увеличению морозостойкости растений. Примечательно, что у гибридной формы ЭЛС 18743, напротив, отмечено увеличение содержания пролина в коре однолетних побегов в 1,9 раза (таблица 4), который вероятно играл роль криопротектора.

Известно, что под воздействием отрицательной температуры в растительных клетках запускаются механизмы, останавливающие процесс образования кристаллов льда, предотвращая обезвоживание цитоплазмы. Так, криопротекторы регулируют внутриклеточную концентрацию растворенных веществ, снижают температуру замерзания, препятствуют образованию льда и сохраняют текучесть плазматической мембраны. Кроме того, эти молекулы обладают антиоксидантной активностью, поглощая АФК, предотвращая денатурацию белков и, следовательно, снижая клеточные повреждения (Jahed et al., 2023).

Сахара также обладают криопротекторным эффектом. При накоплении растворимых сахаров в клетке понижается водный потенциал цитоплазмы, снижается точка её замерзания, что препятствует образованию внутриклеточного льда.

Результаты определения содержания суммы сахаров показали, что при воздействии температуры -25,0°C, соответствующей первому компоненту зимостойкости, количество углеводов в коре однолетних побегов у большинства исследуемых сортов сливы снизилось, аналогично отмеченному ранее уменьшению уровня свободного пролина, в сравнении с закалкой. В частности, у сортов P. × rossica содержание сахаров уменьшилось на 27,9%, у представителей P. domestica — на 26,5%, а у P. salicina — на 16,1% (таблица 5).

Таблица 5 – Содержание суммы сахаров в коре однолетних побегов сливы при действии температуры -25,0°С после закалки, мг/г (среднее за 2022...2024 гг.)

	, ,	1 ' '	/				
Cont (doutton A)	Этапы моделирования I компонента зимостойкости (фактор В)						
Сорт (фактор А)	Закалка -5,0°	Закалка -5,0°С, -10,0°С		,0°C			
P. domestica							
Венгерка белорусская	1,1±0	,05	1,0±0,03				
Венгерка заречная	1,0±0	,07	0,8±0,07				
Евразия 21	1,1±0	,11	0,8±0,09				
Золотое руно	1,0±0	,07	0,8±0,01				
Stanley	1,0±0	,06	0,7±0,15				
	Р.	× rossica					
Ветразь	1,2±0),07	1,0±0,16				
Гек	1,3±0),26	1,1±0,08				
Злато скифов	1,5±0,34		1,2±0,16				
Кубанская комета	1,3±0,28		1,0±0,16				
P. salicina							
Неженка	1,1±0	,26	1,1±0,13				
Орловская мечта	1,1±0	,09	1,0±0,04				
Сувенир Востока	1,2±0,18		1,1±0,05				
Скороплодная	1,1±0	,24	0,9±0,13				
ЭЛС 18473	1,1±0	,19	1,0±0,15				
	A HCP ₀₅ =0,23 B	HCP ₀₅ =0,1	∖B F _φ <f<sub>τ</f<sub>				

Снижение низкомолекулярных углеводов, вероятно, произошло в результате синтеза белка при действии отрицательной температуры. Сахара, по данным авторов (Колупаев, Трунова, 1992), входят в комплексные соединения с белками и, повышая их устойчивость, оказывают защитное действие к стрессовым воздействиям. К тому же, сахара наряду с пролином и другими осмолитами увеличивают концентрацию клеточного сока за счет снижения свободной воды, что оказывает защитное действие в условиях действия отрицательной температуры.

Низкотемпературный стресс нарушает протекание физиолого-биохимических процессов, что приводит к образованию активных форм кислорода (АФК) с последующим перекисным окислением мембранных липидов (ПОЛ). При этом происходит активация липооксигеназ, что приводит к возникновению в клетке окислительного стресса (Кузнецов, 2005). Уровень повреждения клеточных мембран можно оценить по изменению уровня малонового диальдегида (МДА) – одного из конечных продуктов ПОЛ (Прудников и др., 2017).

Проведённые исследования показали, что в условиях действия температуры -25,0°С в начале зимы у исследуемых сортов сливы наблюдалось снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов. Так, у сортов *P. × rossica* содержание малонового диальдегида снизилось на 12,6% по сравнению с показателями, зафиксированными в

период закалки. У *P. salicina* после охлаждения также отмечено уменьшение уровня МДА в коре однолетних побегов на 15,7% относительно закалки. Аналогичная динамика была установлена и у сортов *P. domestica*, у которых количество МДА снизилось на 30,2% под действием отрицательной температуры (таблица 6).

Таблица 6 — Содержание МДА в коре однолетних побегов сливы при действии температуры -25°С после закалки, мкМоль/г (среднее за 2022...2024 гг.)

	\ 1 ''	,					
Cont (douten A)	Этапы моделирования I компонента зимостойкости (фактор B)						
Сорт (фактор А)	Закалка -5,0°C, -10,0°C	I компонент -25,0°C					
P. domestica							
Венгерка белорусская	16,0±6,0	12,9±4,9					
Венгерка заречная	13,7±4,5	13,3±3,7					
Евразия 21	19,6±8,6	12,4±5,1					
Золотое руно	11,6±4,8	8,5±3,0					
Stanley	11,6±4,1	11,7±4,4					
	P. × rossica						
Ветразь	13,2±3,9	13,0±5,2					
Гек	11,6±4,3	10,0±4,7					
Злато скифов	16,3±6,6	14,4±6,2					
Кубанская комета	13,0±4,9	10,9±4,2					
P. salicina							
Неженка	13,4±5,7	11,2±5,0					
Орловская мечта	13,4±5,3	12,9±4,7					
Сувенир Востока	14,2±5,9	12,5±4,9					
Скороплодная	14,1±6,0	10,1±3,7					
ЭЛС 18473	11,2±4,3	11,0±5,2					
	A $F_{\Phi} < F_{\tau}$ B HCP ₀₅ =1,4	AB F _Φ <f<sub>τ</f<sub>					

Клеточные мембраны являются одной из основных мишеней токсического действия АФК, которые способны запускать цепные реакции перекисного окисления мембранных липидов. И, когда антиоксидантные ферменты перестают справляться с повышением уровня АФК, начинается повреждение мембранного аппарата клетки (Спивак, 2010). В данном случае можно предположить, что антиоксиданты каталаза и пролин нейтрализовали образование АФК, защищая тем самым клеточные мембраны у изученных сортов сливы. Сахара, вероятно, предотвращали образование внутриклеточного льда, увеличивая концентрацию клеточного сока.

Функциональная сопряжённость физиолого-биохимических показателей устойчивости растений — это взаимосвязь между процессами жизнедеятельности растительного организма, которые обеспечивают адаптацию к стрессовым факторам (температуре, водному дефициту, избытку солей и др.). Все системы защиты в растительной клетке тесно взаимосвязаны.

В результате проведенных исследований установлено, что модификация в белковоуглеводном обмене (содержание свободного пролина и суммы сахаров), повышение активности антиоксидантного фермента каталаза приводит к снижению интенсивности процесса перекисного окисления мембранных липидов в коре однолетних побегов сортов сливы разного генетического происхождения в период глубокого покоя.

Показано, что пролин, вероятно, предотвращая окислительный стресс в растительной клетке, в большей степени повышал функционирование антиоксидантного фермента каталаза, который являясь компонентом антиоксидантной системы защиты катализирует разложение перекиси водорода с образованием воды и активного кислорода. К тому же

1 0,86 0,58 Коэффициент корреляции 0,58 0,42 0,5 0,35 0,25 0 -0,1 -0,2-0.34 -0,38 -0,5 Пролин Сумма сахаров Активность Активность

пролин совместно сахарами выполняют роль криопротекторов, защищая растительную клетку от образования внутриклеточного льда (рисунок 1).

Рисунок 1 — Корреляционная связь между физиолого-биохимическими показателями устойчивости сливы при I компоненте зимостойкости (среднее за 2022...2024 гг.)

■ МДА
■ Пролин
■ Сумма сахаров

каталазы

пероксидазы

Согласно результатам эксперимента по искусственному промораживанию, исследуемые сорта сливы характеризуются достаточно высокой скоростью вхождения в закалённое состояние. Это обеспечивает им способность переносить раннезимние морозы до -25,0°C в начале декабря без повреждений генеративных и вегетативных почек, а также коры, камбия и древесины однолетних побегов (таблица 7).

Таблица 7 — Степень подмерзания почек и тканей однолетних побегов сливы при -25,0°C (I компонент зимостойкости) после закалки (среднее за 2022...2024 гг.)

Сорт	Кора	Камбий	Древесина	Вегетативные почки	Доля погибших цветковых		
•		зачатков, %					
Средний балл повреждения зачатков, %							
Венгерка белорусская	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Венгерка заречная	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Евразия 21	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Золотое руно	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Stanley	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
		P. × ros	ssica				
Ветразь	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Гек	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Злато скифов	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Кубанская комета	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
P. salicina							
Неженка	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Орловская мечта	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Сувенир Востока	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Скороплодная	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
ЭЛС 18473	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		

Заключение

В результате искусственного промораживания показано, что изученные сорта сливы обладают высокой морозостойкостью при І компоненте зимостойкости.

На основе изучения интенсивности ПОЛ, активности антиоксидантного фермента каталаза и низкомолекулярных соединений (пролин и сахара) отмечена физиолого-биохимическая устойчивость к I компоненту зимостойкости у изученных сортов сливы, что согласуется с данными искусственного промораживания.

Таким образом, результаты изучения модификаций в антиоксидантной системе защиты, в белково-углеводном обмене и накопления продуктов липопероксидации клеточных мембран могут использоваться для выявления особенности формирования морозостойкости в раннезимний период и в качестве диагностических критериев оценки устойчивости сортов сливы к низкотемпературному стрессу. Полученные результаты дают возможность использовать изученные сорта сливы разного генетического происхождения в селекционном процессе, как источники признаков устойчивости к раннезимнему морозу.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации FGZS-2022-0008.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- 1. Гасымов Ф.М. Изучение сортов сливы по компонентам зимостойкости в полевых условиях Южного Урала // Селекция, семеноводство и технология плодово-ягодных, овощных культур и картофеля. Челябинск: ФГБНУ ЮУНИИСК. 2017. 19. 70-76. https://www.elibrary.ru/ymqavb
- 2. Данилова А.А., Кичина В.В. Динамика морозоустойчивости яблони в раннезимний период в условиях Подмосковья // Садоводство и виноградарство. 2009. 4. 10-14. https://www.elibrary.ru/kxpqdr
- 3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351
- 4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 430.
- 5. Колупаев Ю.Е., Трунова Т.И. Особенности метаболизма и защитные функции углеводов растений в условиях стрессов // Физиология и биохимия растений. 1992. 24, 6. 523-531.
- 6. Кузнецов В.В. Физиология растений. М.: Высшая школа, 2005. 736.
- 7. Матвеев В.А., Волот В.С., Васильева М.Н. Генетический потенциал устойчивости сливы к стрессовым факторам зимнего периода // Плодоводство. 2011. 23. 114-120. https://fruit.belal.by/jour/article/view/508/507
- 8. Ожерельева З.Е., Ряполова И.Н. Изучение зимостойкости сливы методом искусственного промораживания // Аграрный вестник Урала. 2010. 6. 49-50. https://www.elibrary.ru/msxxet
- 9. Прудников П.С., Гуляева А.А. Влияние гипертермии на гормональную систему и антиоксидантный статус *Prunus cerasus* L. // Современное садоводство. 2015. 3. 37-44. https://www.elibrary.ru/ulqlvz
- 10. Прудников П.С., Кривушина Д.А., Ожерельева З.Е., Гуляева А.А. Действие отрицательной температуры на активность компонентов антиоксидантной системы и интенсивность ПОЛ *Prunus avium* L. // Научно-методический электронный журнал «Концепт». 2017. 31. 1256-1260. https://www.elibrary.ru/ypivuv

- 11. Прудников П.С., Ожерельева З.Е. Физиолого-биохимические методы диагностики устойчивости плодовых культур к засухе и гипертермии: метод. рекомендации. Орёл: ВНИИСПК, 2019. 46. https://www.elibrary.ru/bmshhw
- 12. Резвякова С.В. Экологическое обоснование выбора режимов искусственного промораживания плодово-ягодных культур в условиях ЦЧР // Вестник Орловского государственного аграрного университета. 2011. 3. 26-28. https://www.elibrary.ru/ponlpv
- 13. Савельев Н.И., Юшков А.Н., Савельева Н.Н., Земисов А.С., Чивилев В.В., Кириллов Р.Е., Акимов М.Ю., Гладышева М.Б., Кружков Ал.В., Конюхова А.А., Чмир Р.А., Богданов Р.Е., Кружков Ан.В. Генетический потенциал устойчивости плодовых культур к абиотическим стрессорам. Мичуринск: ФНЦ им. И.В. Мичурина, 2010. 212. https://www.elibrary.ru/qlbuzl
- 14. Солонкин А.В., Никольская О.А., Киктева Е.Н. Изучение компонентов зимостойкости сливы различного происхождения // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. 2020. 2. 96-104. https://www.elibrary.ru/foybzl
- 15.Спивак С.Г., Бердичевец И.Н., Литвиновская Р.П., Драч С.В., Картель Н.А., Шпаковский Г.В. Некоторые особенности метаболизма стероидов в трансгенных растениях табака *Nicotiana tabacum*, несущих кДНК СУР11А1 цитохрома p450_{scc} из коры надпочечников быка // Биоорганическая химия. 2010. 36, 2. 241-250. https://www.elibrary.ru/lojpvj
- 16.Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. С. 66-68.
- 17.Туманов И.И. Физиологические основы зимостойкости культурных растений. М.; Л.: Сельхозгиз, 1940. 368 с.
- 18. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. М.: Наука, 1979. 352 с.
- 19. Туркина М.В., Соколова С.В. Изучение мембранного транспорта сахарозы в растительной ткани // Физиология растений. 1972. 19, 5. 912-919.
- 20. Тюрина М.М. Итоги тридцатилетних исследований физиологии зимостойкости плодовых и ягодных растений и разработка методов ее диагностики // Достижения в плодоводстве в Нечерноземной зоне РСФСР. М., 1991. 5-17.
- 21. Тюрина М.М., Гоголева Г.А., Ефимова Н.В., Голоулина Л.К., Морозова Н.Г., Эчеди Й.Й., Волков Ф.А., Арсентьев А.П., Матяш Н.А. Определение устойчивости плодовых и ягодных культур к стрессорам холодного времени года в полевых и контролируемых условиях. М.: ВСТИСП, 2002. 119.
- 22. Федотова И.Э., Острикова О.В., Колесникова А.Ф. Изучение компонентов зимостойкости сортов сливы в зависимости от видового происхождения в условиях контролируемого режима // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. 2015. 4. 261-265. https://www.elibrary.ru/uzdgaz
- 23. Хозеева Е.В., Зимина Ю.А., Срослова Г.А. Окислительный стресс растений: химия, физиология, способы защиты // Природные системы и ресурсы. 2020. 10, 4. 30-43. https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.4.4
- 24.Шиманов В.Г., Мукимов Т.Х., Кучинский С.Ю., Аслидинов С.Д., Халиков Р.А. Патент № 2027171. Способ определения активности каталазы в биологических объектах. 1995. https://www.elibrary.ru/kfkikh
- 25.Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies // Plant and Soil. 1973. 39. 205-207. http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060

- 26. Jahed K.R., Saini A.K., Sherif S.M. Coping with the cold: unveiling cryoprotectants, molecular signaling pathways, and strategies for cold stress resilience // Frontiers in Plant Science. 2023. 14. 1246093. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1246093
- 27. Satyakam G.Z., Singh R.K., Kumar R. Cold adaptation strategies in plants An emerging role of epigenetics and antifreeze proteins to engineer cold resilient plants // Frontiers in Genetics. 2022. 13. 909007. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.909007

References

- 1. Gasymov, F.M. (2017). Study of variety grapes on components of winter resistance in field conditions of South Ural. In *Breeding, seed production and technology of fruit and berry, vegetable crops and potatoes* (Vol. 19, pp. 70-76). South Ural Research Institute of Horticulture and Potato Growing. https://www.elibrary.ru/ymqavb. (In Russian, English abstract).
- 2. Danilova, A.A., & Kichina, V.V. (2009). Dynamics of frost resistance of apple trees in the early winter period in the Moscow region. *Horticulture and Viticulture*, 4, 10-14. https://www.elibrary.ru/kxpqdr. (In Russian, English abstract).
- 3. Dospekhov, B.A. (1985). *Method of field experiment*. Agropromizdat. (In Russian).
- 4. Ermakov, A.I., Arasimovich, V.V., Yarosh, N.P., Peruansky, Yu.V., Lukovnikova, G.A., & Smirnova-Ikonnikova, M.I. (1987). *Methods for the Biochemical Analysis of Plants*. Agropromizdat. (In Russian).
- 5. Kolupaev, Yu.E., & Trunova, T.I. (1992). Properties of metabolism and protective functions of plant carbohydrates under stress conditions. *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants*, 24(6), 523-531. (In Russian).
- 6. Kuznetsov, V.V. (2005). Plant physiology. Vysshaya shkola. (In Russian).
- Matveev, V.A., Volot, V.S., & Vasilyeva, M.N. (2011). The genetic potential of plum resistance to winter stress factors. *Fruit growing*, 23, 114-120. https://fruit.belal.by/jour/article/view/508/507 (In Russian, English abstract).
- 8. Ozherelieva, Z.E., & Ryapolova, I.N. (2010). Study of plum winter hardiness by artificial freezing. *Agrarian Bulletin of the Urals*, 6, 49-50. https://www.elibrary.ru/msxxet. (In Russian).
- 9. Prudnikov, P.S., & Gulyaeva, A.A. (2015). Features of hyperthermia effect on hormonal system and antioxidant status of *Prunus cerasus* L *Contemporary Horticulture*, 3, 37-44. https://www.elibrary.ru/ulqlvz. (In Russian, English abstract).
- 10. Prudnikov, P.S., Krivushina, D.A., Ozherelieva, Z.E., & Gulyaeva, A.A. (2017). The effect of the author's program on real competitors. antioxidant system and intentional lipid peroxidation of *Prunus avium L. Scientific and methodological electronic journal "Concept"*, 31, 1256-1260. https://www.elibrary.ru/ypivuv. (In Russian).
- 11. Prudnikov, P.S., & Ozherelieva, Z.E. (2019). Physiological and Biochemical Methods for Diagnosing the Resistance of Fruit Crops to Drought and Hyperthermia. VNIISPK. https://www.elibrary.ru/bmshhw. (In Russian).
- 12. Rezvyakova, S.V. (2011). Ecological justification of the choice of artificial freezing regimes for fruit and berry crops in the conditions of the Central forest. *Bulletin of the Orel State Agrarian University*, 3, 26-28. https://www.elibrary.ru/ponlpv. (In Russian, English abstract).
- 13. Saveliev, N.I., Yushkov, A.N., Savelieva, N.N., Zemisov, A.S., Chivilev, V.V., Kirillov, R.E., Akimov, M.Yu., Gladysheva, M.B., Kruzhkov, Al.V., Konyukhova, A.A., Chmir, R.A., Bogdanov, R.E., & Kruzhkov, An.B. (2010). *The Genetic Potential of Resistance of Fruit Crops to Abiotic Stressors*. I.V. Michurin Federal Research Center. https://www.elibrary.ru/qlbuzl. (In Russian).
- 14. Solonkin, A.V., Nikolskaya, O.A., & Kikteva, E.N. (2020). Study of components of winter resistance of plum of different origin. *Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex:*

- Science and Higher Education, 2, 96-104. https://www.elibrary.ru/foybzl. (In Russian, English abstract).
- 15. Spivak, S.G., Berdichevets, I.N., Litvinovskaya, R.P., Drach, S.V., Kartel, N.A., & Shpakovski, G.V. (2010). Some Peculiarities of Steroid Metabolism in Transgenic *Nicotiana tabacum* Plants Bearing the CYP11A1 cDNA of Cytochrome P450_{SCC} from the Bovine Adrenal Cortex. *Bioorganicheskaya Khimiya*, 36(2), 241-250. https://www.elibrary.ru/lojpvj. (In Russian, English abstract).
- Stalnaya, I.D., & Garishvili, T.G. (1977). Method for the determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. In V.N. Orekhovich (Eds.), *Modern methods in biochemistry* (pp. 66-68). Medicine. (In Russian).
- 17. Tumanov, I.I. (1940). The physiological foundations of winter hardiness of cultivated plants. Selkhozgiz. (In Russian).
- 18. Tumanov, I.I. (1979). Physiology of hardening and frost resistance of plants. Nauka. (In Russian).
- 19. Turkina, M.V., & Sokolova, S.B. (1972). Study of membrane transport of sucrose in plant tissue. *Russian Journal of Plant Physiology*, 19(5), 912-919. (In Russian).
- 20. Tyurina, M.M. (1991). The results of thirty years of research on the physiology of winter hardiness of fruit and berry plants and the development of methods for its diagnosis. *Achievements in fruit growing in the Non-Chernozem zone of the RSFSR* (pp. 5-17). Moscow. (In Russian).
- 21. Tyurina., M.M., Gogoleva, G.A., Efimova, N.V., Goloulina, L.K., Morozova, N.G, Echedi, Y.Y., Volkov, F.A., Arsentiev, A.N., & Matyash, N.A. (2002). *Determination of the resistance of fruit and berry crops to the stressors of the cold season in field and controlled conditions*. VSTISP. (In Russian).
- 22. Fedotova, I.E., Ostricova, O.V., & Kolesnikova, A.F. (2015). Studying of components of winter hardiness of grades of plum depending on a specific origin in the conditions of the controlled mode. *Scientific notes of Orel State University*, 4, 261-265. https://www.elibrary.ru/uzdgaz. (In Russian, English abstract).
- 23.Khozeeva, E.V., Zimina, Yu.A., & Sroslova, G.A. (2020). Oxidative stress of plants: chemistry, physiology, methods of protection. *Natural Systems and Resources*, 10(4), 30-43. https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.4.4 (In Russian, English abstract).
- 24. Shimanov, V.G., Mukimov, T.Kh., Kuchinsky, S.Yu., Aslidinov, S.D., & Khalikov, R.A. (1995). *Method of catalase activity assay in biological objects* (Patent No. 2027171) https://www.elibrary.ru/kfkikh. (In Russian, English abstract).
- 25.Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060
- 26. Jahed, K.R., Saini, A.K., & Sherif, S.M. (2023). Coping with the cold: unveiling cryoprotectants, molecular signaling pathways, and strategies for cold stress resilience. Frontiers in Plant Science, 14, 1246093. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1246093
- 27. Satyakam, G.Z., Singh, R.K., & Kumar, R. (2022). Cold adaptation strategies in plants An emerging role of epigenetics and antifreeze proteins to engineer cold resilient plants. *Frontiers in Genetics*, 13, 909007. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.909007

Авторы

Анжелика Олеговна Болгова, аспирант, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, bolgova@orel.vniispk.ru

ORCID: 0000-0002-5917-7308

SPIN: 1903-1469

Зоя Евгеньевна Ожерельева, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, ozherelieva@orel.vniispk.ru

ORCID: 0000-0002-1730-4073

SPIN: 2835-8790

Authors

Angelika Bolgova, Postgraduate Student, Junior Research in Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), bolgova@orel.vniispk.ru

ORCID: 0000-0002-5917-7308

SPIN: 1903-1469

Zoya Ozherelieva, Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher in Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), ozherelieva@orel.vniispk.ru

ORCID: 0000-0002-1730-4073

SPIN: 2835-8790

Отказ от ответственности: заявления, мнения и данные, содержащиеся в публикации, принадлежат исключительно авторам и соавторам. ФГБНУ ВНИИСПК и редакция журнала снимают с себя ответственность за любой ущерб людям и/или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в контенте.