

З.Е. Ожерельева, кандидат сельскохозяйственных наук
П.С. Прудников, кандидат биологических наук
И.Н. Ефремов, аспирант
 E-mail: ozherelieva@vniispk.ru

УДК 634:11:13

DOI: 10.30850/vrsn/2020/4/29-33

ИЗУЧЕНИЕ МОРОЗОСТОЙКОСТИ СОРТОВ ВИШНИ СЕЛЕКЦИИ ВНИИСПК

Исследования проводили на базе лаборатории физиологии устойчивости плодовых растений ФГБНУ ВНИИСПК в 2017–2018 годах. Изучали сорта вишни селекции института. Год посадки – 2015, схема – 5×2 м. Междурядье и приствольная зона – черный пар. Цель исследований – изучить некоторые физиолого-биохимические процессы адаптации в осенне-зимний период и оценить морозостойкость сортов вишни методом искусственного промораживания. Проанализировали динамику фракционного состава воды в тканях однолетних веток сортов вишни. При этом максимальное отношение связанной к свободной воде проявилось у сортов: Быстринка, Ливенская, Муза, Новелла, Шоколадница. В осенний период увеличение связанной и уменьшение свободной воды зависело от накопления аминокислоты пролин в однолетних ветках. Отметили высокий уровень зависимости отношения связанной воды к свободной, а также содержания пролина от минимальной температуры воздуха в осенний период. В начале зимы установили среднюю зависимость между степенью подмерзания сортов и количеством связанной воды в тканях однолетних веток вишни. Характер накопления аминокислоты пролин зависел от воздействия низкотемпературного стресса зимой. Устойчивость к ранним зимним морозам (минус 25°C) отмечена у всех изученных сортов. Вместе с тем, выявлена максимальная морозостойкость при температуре минус 35°C у сортов: Ливенская, Новелла, Орлица, Шоколадница, которые проявили наибольший уровень устойчивости генеративных и вегетативных почек, коры и древесины к повреждающим факторам зимы.

Ключевые слова: вишня, сорт, искусственное промораживание, почки, кора, древесина, морозостойкость.

Z.E. Ozherelyeva, PhD in Agricultural science
P.S. Prudnikov, PhD in Biological sciences
I.N. Efremov, PhD student
 E-mail: ozherelieva@vniispk.ru

STUDYING OF FROST RESISTANCE OF CHERRY VARIETIES IN SELECTION OF ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE FOR FRUIT CROP BREEDING

The studies were conducted on the basis of the laboratory physiology resistance of fruit plant at the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding in 2017–2018. The objects of research were cherry varieties by the Institute selection. The year of setting was 2015. The scheme of setting – 5×2 m. Inter-row spacing and zone near a tree trunk – weedfree fallow. The purpose of the research was to study some physiological and biochemical adaptation processes in the autumn-winter period and evaluated the frost resistance of cherry varieties by artificial freezing method. The dynamics of the fractional composition of water in the tissues of annual branches of cherry varieties was studied. At the same time, the maximum proportion of bound water to free water was found in the varieties Bystrinka, Livenskaia, Muza, Novella, Shokoladnitsa. During the autumn period, the increase of bound water and the decrease of free water depended on the accumulation of the amino acid proline in annual cherry branches. The high level of dependence of bound to free water ratio and the proline amount on the minimum air temperature in the autumn period was noticed in the cherry varieties, which were studied. At the beginning of winter, the average dependence between the degree of freezing of varieties and the amount of bound water in the tissues of annual cherry branches was established. The dependence of the accumulation of the amino acid proline on the effects of low-temperature stress in winter was revealed. The resistance to early winter frosts ($t = -25^{\circ}\text{C}$) was marked in all studied cherry varieties. The maximum frost resistance was marked in Livenskaia, Novella, Orlitsa, Shokoladnitsa varieties at $t = -35^{\circ}\text{C}$. As a result of artificial freezing, frost-resistant varieties of cherry Livenskaia, Novella and Shokoladnitsa, which showed the highest level of resistance of generative and vegetative buds, bark and wood substance to the damaging factors of winter, were identified.

Key words: cherry, variety, artificial freezing, buds, bark, wood substance, frost resistance.

Определение потенциала устойчивости садовых культур к неблагоприятным факторам зимнего периода – приоритетное направление научных исследований, поскольку недостаточная зимостойкость может свести на нет любые преимущества сортов по другим полезным признакам. [7]

Вишня – ценная плодовая культура, которая характеризуется высокой урожайностью, скороплодностью и другими хозяйственными и биологическими свойствами. [1, 3] В средней полосе России вишня распространена широко в любительском садоводстве, в производственных насаж-

дениях их доля невелика. Это в значительной степени обусловлено неблагоприятным воздействием факторов окружающей среды. [2] Значительный ущерб вишне наносят абиотические факторы зимнего периода: ранние и сильные морозы, длительные зимние оттепели. Они вызывают повреждение генеративных почек, коры, камбия и даже полную гибель растений. [6]

В Орловской области за последние 20 лет зима 2005–2006 годов была самой суровой. Сумма отрицательных температур составила 1196,1°C. В феврале максимальная температура воздуха по-

нижалась до минус 36,5°С на уровне кроны, а на поверхности снега до минус 39,3°С. Генеративные почки почти у всех сортов вишни погибли. При этом у большинства деревьев отмечено среднее подмерзание.

Цель работы – изучить некоторые физиолого-биохимические процессы адаптации в осенний период и оценить морозостойкость сортов вишни селекции института методом искусственного промораживания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе лаборатории физиологии устойчивости плодовых растений ФГБНУ ВНИИСПК в декабре 2017 и 2018 годов. Год посадки – 2015, схема – 5×2 м.

Междурядье и приствольная зона – черный пар. В конце ноября заготавливали опытный материал для искусственного промораживания. Многолетние ветки срезали из средней части кроны с разных сторон дерева из расчета 5 шт. на каждый компонент и помещали в полиэтиленовые пакеты. Хранили опытный материал в холодильном шкафу «Polair» CV 114-S (Россия) при минус 3°С до конца декабря. Закаливали и моделировали повреждающие факторы зимнего периода в климатической камере «Espes» PSL-2KPH (Япония) по общепринятой методике. [8] В начале декабря промораживали при минус 25°С (I компонент зимостойкости). Ко времени выхода растений вишни из органического покоя определяли показатель максимальной морозостойкости при минус 35°С (II компонент) в конце декабря. Скорость снижения температуры промораживания – 5°/ч. Экспозиция промораживания – восемь часов. Затем отращивали многолетние ветки в сосудах с водой и по степени побурения тканей оценивали повреждения на продольных и поперечных срезах по шкале: 0,0 баллов – повреждений нет, 5,0 – почки и ткань погибли.

Для изучения состояния водного режима сортов вишни в осенний период исследовали фракционный состав воды в тканях однолетних веток методом Окунцева-Маринчик [4], который основан на изменении концентрации раствора сахарозы при погружении в него ткани однолетней ветки. Определяли вес бюксов на электронных весах «CAS» MWP-300H (Корея), наливали 2 мл раствора 30 %-й сахарозы и взвешивали. Однолетние ветки вишни измельчали в мельнице лабораторной ЛЗМ-1М (Россия). Подготовленные пробы массой 0,4 г погружали в 30 %-й раствор сахарозы. Часть воды из тканей однолетней ветки переходило в раствор, уменьшая его концентрацию. Исходя из начальной и конечной концентрации раствора, определяли количество воды, отнятой раствором из тканей однолетней ветки. По разнице содержания общей воды и воды, перешедшей в раствор, рассчитывали содержание связанной воды. Концентрацию раствора сахарозы в растворе определяли на цифровом рефрактометре «Atago» PAL-1 (Япония).

Содержание пролина находили по реакции с нингидриновым реактивом. Для этого навеску коры однолетней ветки 500 мг растирали в дистиллиро-

ванной воде и кипятили на водяной бане в течение 10 мин. После этого гомогенат центрифугировали при 7000 об/мин, отбирали 2 мл экстракта и добавляли 2 мл ледяной уксусной кислоты и 2 мл нингидринового реактива (30 мл ледяной CH_3COOH + 20 мл 6 М H_3PO_4 + 1,25 г нингидрина) с последующим кипячением на водяной бане в течение часа. Значение содержания аминокислоты рассчитывали с помощью калибровочной кривой на спектрофотометре «BioRad SmartSpec Plus» (США), построенной для чистого пролина при длине волны 520 нм. Содержание пролина выражали в мг/кг сырой массы. [5]

Статистическая обработка результатов выполнена общепринятыми методами с использованием компьютерной программы MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Метеорологические условия осеннего периода 2017–2018 годов различались по температурному режиму и количеству осадков. В сентябре 2017 года температура воздуха понижалась до минус 1,5°С, отмечен недостаток влаги (13,7 мм). В октябре минимальная температура воздуха была ниже нормы (минус 4,8°С), осадков выпало достаточно (54,1 мм), в ноябре она понижалась до минус 9,2°С, сумма осадков – 40,1 мм. Температура воздуха в сентябре 2018 года понижалась до минус 1,0°С, влаги было достаточно (42,5 мм). В октябре минимальная температура воздуха была в норме (минус 2,8°С), осадков выпало – 33,2 мм, в ноябре температура воздуха – ниже нормы (минус 18,5°С), осадков также ниже нормы – 4,8 мм.

В осенне-зимний период отношение связанной воды к свободной – один из существенных признаков приспособления растений к понижению температуры. Отмечено, что у зимостойких сортов отношение связанной воды к свободной выше, чем у не зимостойких. Мы выявили, что в тканях однолетних веток оно повышается в ноябре в 1,1...4,1 раза у изученных сортов вишни по сравнению с октябрём. При этом наибольшее отношение связанной к свободной воде у сортов *Быстринка*, *Ливенская*, *Муза*, *Новелла*, *Шоколадница* (рис. 1). Корреляционный анализ выявил высокий уровень зависимости между отношением связанной воды к свободной и минимальной температурой воздуха осенью ($r = -0,99$).

Показателем водоудерживающей способности клеток растений может служить содержание аминокислоты. [9] Пролин и сахара защищают белки от инактивации в условиях обезвоживания и снижают температуру замерзания содержимого протопласта. Накопление пролина было зарегистрировано в разных видах растений в условиях абиотического стресса. [11] Следовательно, осмолиты способны повышать устойчивость растений к стрессовым условиям. [10]

По мере снижения минимальной температуры воздуха в октябре-ноябре у изученных сортов вишни отмечалось увеличение в 1,1...1,98 раза содержания пролина в коре однолетних веток. У сортов *Быстринка*, *Ливенская*, *Ровесница* и *Тургеневка* максимальное накопление свободного пролина было

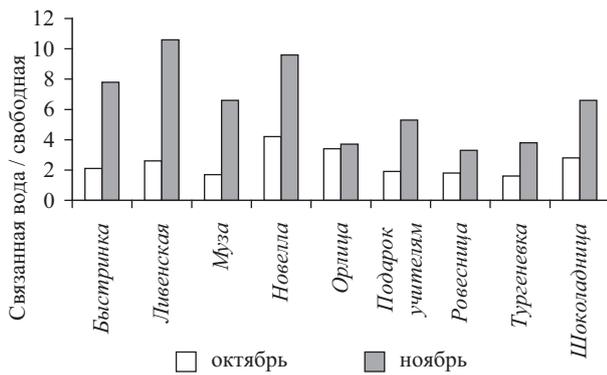


Рис. 1. Отношение связанной воды к свободной в однолетних ветках вишни.

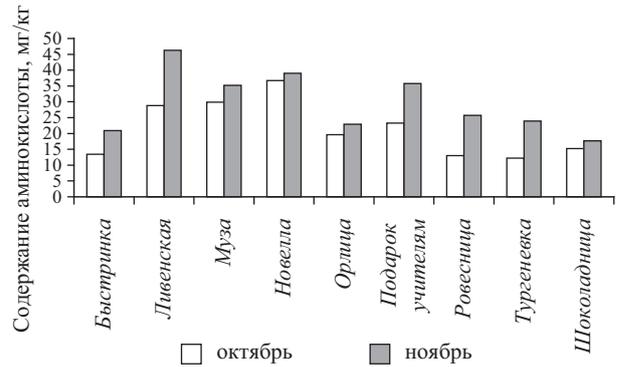


Рис. 2. Содержание аминокислоты пролин в коре однолетних веток вишни.

в коре (рис. 2). Высокий уровень зависимости определили между содержанием пролина в коре однолетних веток вишни и минимальной температурой воздуха осенью ($r = -0,91$).

Установлена значительная связь между количеством связанной воды и содержанием пролина ($r = 0,99$) в однолетних ветках сортов вишни в осенний период.

В начале декабря провели закалку при минус 5°C (5 дн.) и минус 10°C (5 дн.) однолетних веток сортов вишни. После чего определяли содержание аминокислоты пролин в коре однолетних веток вишни. По сравнению с ноябрем оно после закалки увеличилось в 1,2...4,9 раза. Максимальным содержанием пролина в коре характеризовались сорта: *Новелла*, *Ровесница*, *Тургеневка*, *Шоколадница* (рис. 3).

После моделирования раннезимнего мороза (минус 25°C) отметили дальнейшее повышение аминокислоты в коре однолетних веток вишни. У сортов: *Быстринка*, *Ливенская*, *Муза*, *Новелла*, *Орлица*, *Шоколадница* количество пролина увеличилось в 1,4...3,4 раза, а у *Подарок учителям*, *Ровесница*, *Тургеневка* в 1,0...1,2 раза.

В начале зимы морозостойкостью вегетативных почек и тканей однолетних веток при минус 25°C характеризовались все изучаемые сорта. У сорта *Шоколадница* морозостойкость вегетативных почек и тканей была выше, чем у остальных генотипов. По устойчивости коры и древесины к ранним морозам *Шоколаднице* не уступал сорт *Ливенская*. Сорт

Быстринка проявил морозостойкость древесины на уровне *Шоколадницы* и *Ливенской*. Дисперсионный анализ показал достоверные различия между изучаемыми сортами по подмерзанию вегетативных почек ($F_{\phi} = 2,4 > F_{\tau} = 2,3$), коры ($F_{\phi} = 7,4 > F_{\tau} = 2,1$) и древесины ($F_{\phi} = 5,5 > F_{\tau} = 2,1$) (табл. 1). Установлена средняя степень зависимости ($r = -0,62$) между количеством связанной воды и степенью повреждения тканей однолетних веток в начале зимы.

В конце декабря определили увеличение аминокислоты пролин в 2,8...6,6 раза в коре однолетних веток сортов вишни после закалки (минус 5°C – 5, минус 10°C – 5 дн.) перед моделированием условий II компонента морозостойкости. Максимальное повышение содержания свободного пролина (в 5,9...6,6 раза) зафиксировали у сортов: *Быстринка*, *Орлица*, *Шоколадница*. У остальных сортов содержание пролина в коре однолетних веток увеличилось в 2,8...4,5 раза (рис. 4).

После моделирования зимнего мороза (минус 35°C) также отметили повышение аминокислоты в коре однолетних веток вишни в конце декабря. У сортов *Тургеневка* и *Шоколадница* содержание пролина в коре увеличилось в 2,1...2,3 раза, у *Быстринки*, *Ливенской*, *Музы*, *Новеллы*, *Орлицы*, *Ровесницы* отметили увеличение аминокислоты в 1,5...1,9 раза, минимальное увеличение у *Подарка учителям* (рис. 4).

Установлено, что содержание аминокислоты в коре однолетних веток сортов вишни сильно зави-

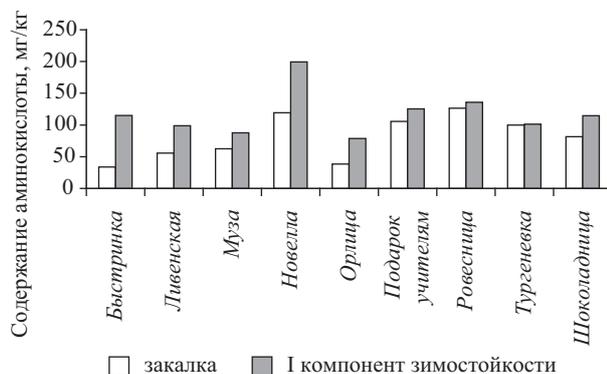


Рис. 3. Содержание аминокислоты пролин в коре однолетних веток вишни после закалки и моделирования раннезимнего мороза минус 25°C в начале декабря (мг/кг).

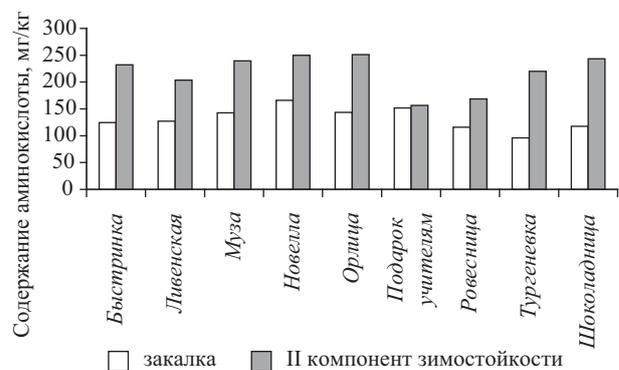


Рис. 4. Содержание аминокислоты пролин в коре однолетних веток вишни после закалки и моделирования зимнего мороза минус 35°C (мг/кг).

Таблица 1.

Повреждение вегетативных почек
и тканей однолетних веток вишни при минус 25°C

Сорт	Степень подмерзания, балл		
	Вегетативные почки	Кора	Древесина
<i>Быстринка</i>	0,7	0,5	0,1
<i>Ливенская</i>	0,7	0,0	0,0
<i>Муза</i>	0,9	0,5	1,0
<i>Новелла</i>	0,7	0,4	0,5
<i>Орлица</i>	0,8	0,8	0,5
<i>Подарок учителям</i>	0,7	0,5	0,6
<i>Ровесница</i>	0,6	0,4	0,9
<i>Тургеневка</i>	0,7	0,5	0,9
<i>Шоколадница</i>	0,3	0,0	0,3
НСР _{0,05}	0,3	0,3	0,4

Таблица 2.

Повреждение вегетативных почек
и тканей однолетних веток вишни
при минус 35°C в конце декабря

Сорт	Степень подмерзания, балл		
	Вегетативные почки	Кора	Древесина
<i>Быстринка</i>	2,7	1,7	1,7
<i>Ливенская</i>	1,9	0,7	1,2
<i>Муза</i>	2,7	2,0	1,4
<i>Новелла</i>	2,0	1,4	1,4
<i>Орлица</i>	2,0	1,0	1,0
<i>Подарок учителям</i>	2,5	1,5	1,7
<i>Ровесница</i>	2,2	1,0	1,1
<i>Тургеневка</i>	2,3	1,1	1,7
<i>Шоколадница</i>	0,8	0,8	1,0
НСР _{0,05}	0,3	0,5	0,4

село от воздействия низкотемпературного стресса зимой ($r = -0,81$).

Максимальной морозостойкостью вегетативных почек и тканей однолетних веток при минус 35°C в конце декабря характеризовался сорт вишни *Шоколадница*. У сортов *Ливенская*, *Новелла*, *Орлица* отметили морозостойкость с обратимыми повреждениями (не более 2,0 балла) вегетативных почек, коры и древесины однолетних веток. Остальные сорта в конце декабря показали средний уровень морозостойкости вегетативных почек. Кора и древесины однолетних веток при этом имели обратимые повреждения. Статистическая обработка результатов искусственного промораживания показала достоверные различия по подмерзанию вегетативных почек ($F_{\phi} = 10,0 > F_{\tau} = 2,3$), коры ($F_{\phi} = 7,6 > F_{\tau} = 2,1$) и древесины ($F_{\phi} = 3,3 > F_{\tau} = 2,1$) между изучаемыми сортами (табл. 2).

По результатам двухлетних исследований установлено, что генеративные почки вишни пострадали от низкой температуры в большей степени, чем вегетативные. Цветковые зачатки вишни в зимний период погибают вследствие заморозания внутри их клеток переохлажденной воды, и лед распространяется на все клетки зачатка. [9] Температура минус 25°C в начале декабря (I компонент морозостойкости) для генеративных почек вишни существенного вреда не оказала. У большинства сортов не наблюдали погибших цветковых зачатков. В начале зимы у сортов *Ровесница* и *Подарок учителям* выявили от 5,0 до 10,0 % поврежденных зачатков цветковых почек. Температура минус 35°C в конце декабря (II компонент морозостойкости) для генеративных почек изучаемых сортов вишни оказалась критической. Зачатки цветковых почек практически у всех погибли. За исключением сортов *Ливенская*, *Новелла*, *Шоколадница*, у которых сохранились зачатки цветковых почек от 30 до 50 %.

В результате исследований выделили морозостойкие сорта вишни *Ливенская*, *Новелла*, *Шоколадница*, которые проявили наибольший уровень морозостойкости генеративных и вегетативных почек, коры и древесины.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Еникеев, Х.К. Культура вишни в Нечерноземной зоне / Х.К. Еникеев // Вишня и черешня. — Киев: Урожай. — 1975. — С. 24–31.
2. Колесникова, А.Ф. Вишня. Черешня / А.Ф. Колесникова. — Харьков: Фолио. М.: ООО «Издательство АСТ». — 2003. — 238 с.
3. Ожерельева, З.Е. Оценка хозяйственно-биологических признаков сортообразцов вишни и черешни на юге Нечерноземья: автореф. дис. ... к. с.-х. наук. / З.Е. Ожерельева. — Брянск. — 2001. — 193 с.
4. Ожерельева, З.Е. Определение морозостойкости земляники садовой в контролируемых условиях (методические рекомендации) / З.Е. Ожерельева, П.С. Прудников, М.И. Зубкова и др. — Орел: ВНИИСПК. — 2019. — 25 с.
5. Прудников, П.С. Физиолого-биохимические методы диагностики устойчивости плодовых культур к засухе и гипертермии / П.С. Прудников, З.Е. Ожерельева. — Орел: ВНИИСПК. — 2019. — 47 с.
6. Савельев, Н.И. Генетический потенциал устойчивости плодовых культур к абиотическим стрессорам / Н.И. Савельев, А.Н. Юшков, Н.Н. Савельева и др. // — Мичуринск — наукоград РФ. — 2010. — 212 с.
7. Ториков, В.Е. Перспективы развития садоводства в Брянской области / В.Е. Ториков, С.Н. Евдокименко, Ф.Ф. Сазонов // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. — 2015. — № 5. — С. 3–8.
8. Тюрина, М.М. Определение устойчивости плодовых и ягодных культур к стрессорам холодного времени года в полевых и контролируемых условиях / М.М. Тюрина, Г.А. Гоголева, Н.В. Ефимова и др. — М., 2002. — 120 с.
9. Lio Y., Tang Y., Zwang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures // Journal Agricultural Science. — 2011. — Vol. 3. — № 2. — P. 89–96.
10. Xiong L. & Zhu J.K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress // Plant Cell and Environment. — 2002. — № 25. — P. 131–139.
11. Yan G., Liming X., Manabu I. & Jian K.Z. An *Arabidopsis* mutation in translation elongation factor 2 causes superinduction of *CBF/DREB1* transcription factor genes but blocks the induction of their downstream targets under low temperatures // PNAS. — 2002. — Vol. 99. — № 11. — P. 7786–7791.

LIST OF SOURCES

1. Enikeev, H.K. Kul'tura vishni v Nechernozomnoj zone / H.K. Enikeev // *Vishnya i chershnya*. – Kiev: Urozhaj. – 1975. – S. 24–31.
2. Kolesnikova, A.F. *Vishnya. Chershnya* / A.F. Kolesnikova. – Har'kov: Folio. M.: ООО «Izdatel'stvo AST». – 2003. – 238 s.
3. Ozherel'eva, Z.E. Ocenka hozyajstvenno-biologicheskikh priznakov sortoobrazov vishni i chershni na yuge Nechernozem'ya: avtoref. dis. ... k. s.-h. nauk. / Z.E. Ozherel'eva. – Bryansk. – 2001. – 193 s.
4. Ozherel'eva, Z.E. Opredelenie morozostojkosti zemlyaniki sadovoj v kontroliruemykh usloviyakh (metodicheskie rekomendacii) / Z.E. Ozherel'eva, P.S. Prudnikov, M.I. Zubkova i dr. – Orel: VNIISPK. – 2019. – 25 s.
5. Prudnikov, P.S. Fiziologo-biohimicheskie metody diagnostiki ustojchivosti plodovykh kul'tur k zasuhe i gipertermii / P.S. Prudnikov, Z.E. Ozherel'eva. – Orel: VNIISPK. – 2019. – 47 s.
6. Savel'ev, N.I. Geneticheskij potencial ustojchivosti plodovykh kul'tur k abioticheskim stressoram / N.I. Savel'ev, A.N. YUshkov, N.N. Savel'eva i dr. // – Michurinsk-naukograd RF. – 2010. – 212 s.
7. Torikov, V.E. Perspektivy razvitiya sadovodstva v Bryanskoj oblasti / V.E. Torikov, S.N. Evdokimenko, F.F. Sazonov // *Vestnik Bryanskoj gosudarstvennoj sel'skohozyajstvennoj akademii*. – 2015. – № 5. – S. 3–8.
8. Tyurina, M.M. Opredelenie ustojchivosti plodovykh i yagodnykh kul'tur k stressoram holodnogo vremeni goda v polevykh i kontroliruemykh usloviyakh / M.M. Tyurina, G.A. Gogoleva, N.V. Efimova i dr. – M., 2002. – 120 s.
9. Lio Y., Tang Y., Zwang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures // *Journal Agricultural Science*. – 2011. – Vol. 3. – № 2. – P. 89–96.
10. Xiong L. & Zhu J. K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress // *Plant Cell and Environment*. – 2002. – № 25. – P. 131–139.
11. Yan G., Liming X., Manabu I. & Jian K. Z. An Arabidopsis mutation in translation elongation factor 2 causes superinduction of CBF/DREB1 transcription factor genes but blocks the induction of their downstream, targets under low temperatures // *PNAS*. – 2002. – Vol. 99. – № 11. – P. 7786–7791.