
С. А. МАРУТЯН
доктор биологических наук

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МОРОЗОУСТОЙЧИ- ВОСТИ ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ

Согласно директивам XXV съезда КПСС по пятилетнему плану развития народного хозяйства СССР, первоочередной задачей является повышение качества и продуктивности сельскохозяйственных культур.

Задача познать и понять основные генетико-селекционные и физиолого-биохимические принципы и выявить механизмы тех физико-химических реакций, которые лежат в основе наследования и становления биологически ценных признаков растений, есть и остается одной из актуальнейших для теории и практики современного виноградарства.

Все жизненные процессы построены на химической основе и всякие попытки объяснить механизм биологических явлений с точки зрения только морфо-анатомических или чисто физических закономерностей оказываются несостоятельными.

Виноградное растение, как живой организм, представляет сложную гетерогенную систему, которая изменяется во времени с воздействием множества эндогенных и экзогенных факторов.

Сорт растения, его возраст, фаза развития и прочие внутренние факторы, определяющие так называемое физиологическое состояние растений и его отдельных органов, оставляют глубокий след на тип, напряженность процессов обмена веществ. Что мы можем выиграть, всесторонне изу-

чая обмен веществ виноградного растения? Почему в последние два десятилетия биохимические и биофизические методы все шире используются при разработке различных проблем виноградарства?

Объясняется это прежде всего необходимостью новых теоретически обоснованных подходов в решении практических задач виноградарства, возможностью использования новейшего оборудования и достижений современной экспериментальной биологии.

В Армении, в стране древнего виноградарства и виноделия, систематические и целенаправленные исследования по биохимии виноградного растения и продуктов его переработки проводятся с 1946 года, со дня организации лаборатории биохимии, идея создания которой принадлежит академику Н. М. Сисакяну.

Кстати нельзя не вспомнить, что он вместе с заведующим лабораторией канд. биол. наук Б. Л. Африкяном и сотрудниками Института Биохимии им. Баха АН СССР принимал активное участие в начальных этапах организации биохимических исследований растений в нашей республике. Крупным достижением небольшого исследовательского коллектива лаборатории биохимии (Н. М. Сисакян, И. А. Егоров, Б. Л. Африкян, Р. Г. Саакян, Е. Л. Мнджоян, Х. Г. Геворкян, С. А. Марутян) нужно считать начало поиска биохимических связей между сортом и типом продуктов переработки винограда, вопрос который успешно развивается и поныне в разных точках Советского Союза.

Объектом для исследования в начальные годы были главным образом ягоды, гребни и листья аборигенных и интродуцированных сортов винограда. Результаты экспериментов периодически публиковались в научно-теоретическом журнале «Биохимия виноделия», издаваемом АН СССР под редакцией академика Н. М. Сисакяна.

В лаборатории были выполнены тысячи разнообразных химических и биохимических анализов. Одновременно лаборатория занималась методическими вопросами, исходя из специфики объекта и задач исследований.

Главными направлениями работ лаборатории с 1950 го-

да являются: изучение особенностей обмена веществ в связи с вопросами пола, ранне- и позднеспелости, морозоустойчивости виноградного растения в годичном цикле развития; вопросы наследования и становления биохимических признаков в гибридном потомстве; вопросы влияния нагрузки и минерального питания на биохимические процессы; вопросы возрастной биохимии (Б. Л. Африкян, С. А. Марутян, Р. Г. Саакян, Ж. А. Петросян). С 1962 года кроме углубления исследований по углеводам и ферментам были начаты работы по обмену липидов и аминокислот (С. А. Марутян, А. Д. Дограмаджян, Г. С. Арутюнян, Н. Н. Саркисян). С 1965 г. исследования развернулись в области белкового обмена растения (С. А. Марутян, Р. А. Абаджян, А. Антонян).

Выполнены специальные биохимические исследования на плодовых деревьях: на яблоне— в связи с периодичностью плодоношения (Б. Л. Африкян, Г. С. Арутюнян, Ж. А. Петросян); на абрикосе и персике— в связи с морозоустойчивостью (С. А. Марутян, А. Д. Дограмаджян, Г. С. Арутюнян, Ж. А. Петросян, Н. Н. Саркисян); на абрикосе— в связи с системой содержания почвы и вертикальной зональностью насаждений в предгорной зоне Араратской котловины (С. А. Марутян, В. М. Микаелян, Ж. А. Петросян); и в связи с влиянием источников азотного питания (С. А. Марутян, А. А. Маргарян).

За период с 1946 по 1976 гг. лабораторией биохимии выполнены экспериментальные работы, имеющие теоретическое и практическое значение для виноградарства и плодководства. Результаты биохимических исследований опубликованы более чем в 150 научных статьях в журналах всесоюзного и республиканского изданий (Доклады АН СССР, Доклады АН Арм.ССР, Физиология растений, Труды института и др.).

Полученные в лаборатории данные вошли в учебник по химии вина (Г. Г. Агабальянц) и в 12-томник «Физиология сельскохозяйственных растений», изданный Московским госуниверситетом. Некоторые сведения являются первыми в научной литературе по биохимии винограда и плодовых.

Ежегодно в лаборатории биохимии получают консуль-

тацию аспиранты и сотрудники научных учреждений Советского Союза, работающие в области биохимии винограда и плодовых культур. Результаты биохимических исследований лаборатории неоднократно докладывались на республиканских, всесоюзных и международных научных форумах (Болгария, Венгрия, Франция, Бельгия).

Все вышеуказанные работы не могли быть проведены без специальной разработки новых методов. Из числа оригинальных методов и приемов, разработанных сотрудниками лаборатории, следует назвать следующие: метод определения пероксидазы и полифенолоксидазы фотометрическим способом; метод экстракции, разделения, очистки и количественного определения фракций белков из одревесневших тканей плодовых и винограда с применением реактива Фолина; экспресс-метод сжигания и определения фракций азота; экспресс-метод определения крахмала; количественное выделение и определение компонентов липидного комплекса в одной навеске, методы фракционного определения сахаров и полисахаридов; модифицированный метод геля электрофоретического разделения белков и изоэнзимов в побегах и корнях винограда; методы изучения аминокислот и др.

После вышеприведенного краткого экскурса можно прийти к важному заключению о том, что изучение биохимической природы морозоустойчивости виноградной лозы является самым привлекательным и важным в проблематике лаборатории. С разрешением этой проблемы в значительной степени связана интенсификация виноградарства, особенно в зонах с резко континентальным климатом.

В Советском Союзе, по сравнению с другими странами с развитым виноградарством, ведутся более широкие и разносторонние исследования по проблеме морозоустойчивости виноградной лозы.

Специалисты сельскохозяйственных и биологических наук, работающие в этой важной отрасли народного хозяйства, стремятся получить всестороннюю информацию о роли и параметрах внутренних и внешних факторов, участвующих в формировании морозоустойчивости виноградной лозы в разных условиях ее возделывания и найти эффективные

способы повышения этого важнейшего биологического признака.

Физиолого-биохимические аспекты морозоустойчивости виноградной лозы начали освещаться в литературе с 40-х годов текущего века.

Многолетние физиолого-биохимические исследования специалистов по морозоустойчивости виноградной лозы (Мишуренко, 1940—1972; Кондо, 1952—1972; Гриненко, 1947—1972; Мининберг, 1948—1968; Михайлов, 1957—1973; Макаревская, 1966; Голодрига, 1957—1973; Саакян, 1950—1963; Амбарцумян, 1953—1970; Погосян, 1957—1973 и др.) расширили в значительной степени теоретические знания и практические подходы к разрешению этой сложной и важной проблемы виноградарства.

Однако есть еще много совсем невыясненных и недостаточно изученных вопросов физиологии и биохимии морозоустойчивости виноградной лозы, что, по-видимому, связано с методическими трудностями исследования обмена веществ в одревесневших тканях. В тех же случаях, когда удавалось исследовать отдельные соединения, сопоставление полученных данных затруднялось, так как работы проводились в разных экологических условиях, на разных сортах винограда.

В настоящей статье подведены итоги изучения биохимической природы морозоустойчивости виноградной лозы в условиях резко континентального климата юга и изыскания путей биохимической диагностики на растениях различных видов, сортов и возраста.

В качестве объекта исследования служили побеги, корни и почки в осенне-зимний период, пасока—в период весеннего плача, корешки и первые листья—в процессе укоренения черенков у сортов и гибридов *V. vinifera*, *V. labrusca*, *V. amurensis*.

В наших исследованиях особое внимание уделялось следующим мало изученным и слабо освещенным в литературе вопросам: азотный и липидный обмен в период покоя, активность ферментов, динамика АТФ и микроэлементов в условиях низких температур, взаимосвязь различных звеньев

обмена веществ в природных условиях и в опытах лабораторного закаливания и промораживания побегов, различия метаболизма корневой системы в период покоя и в начале вегетации, выясняемый анализом пасоки в период весеннего плача растений, биохимические признаки проявляющиеся при укоренении черенков.

Свойство морозоустойчивости виноградной лозы входит в потенциал этой культуры и формируется в единстве генетической основы растений и условий среды. Феномен морозоустойчивости—многофакторный и обусловлен биохимическими сдвигами всех звеньев обмена веществ в побегах и почках винограда в осенне-зимнее время.

Способность виноградного растения переносить низкие температуры в значительной степени связана с изменением азотистых соединений, которые у виноградного растения представлены весьма широким спектром в виде белков, ферментов, аминокислот, амидов, нуклеиновых кислот, неорганических и других веществ.

По нашим исследованиям, в период вегетации раннеспелые сорта по содержанию белкового и общего азота преобладают над позднеспелыми, но в конце вегетационного срока, как правило, сорта по этим показателям почти выравниваются. Объясняется это особенностями орошаемой культуры на юге, где благодаря полной тепло- и водообеспеченности растений, наличие теплой и затяжной осени способствует накоплению азотистых веществ в побегах всех сортов.

У морозоустойчивых сортов, в отличие от неустойчивых, повышение содержания белкового азота в побегах продолжается до наступления постоянных холодов (-10°), в результате чего возрастают процент белкового азота от общего и отношение белкового азота к небелковому. При опасных для *V. vinifera* морозах у неустойчивых сортов резко снижается количество белкового азота, а после суровой зимы происходит необратимое нарушение весеннего биосинтеза белков в поврежденных от мороза тканях. Снижение белкового азота при сильных холодах сопровождается увеличением количества аминного и амидного азота.

Аналогичная картина отмечается в лаборатории в опытах с промораживанием побегов.

Разделяя взгляд о том, что морозоустойчивость растений зависит не столько от количества общих белков, сколько от их качественного состава и физико-химических свойств, отметим, что одни исследователи обнаруживают корреляцию только с водорастворимыми белками, другие—со спирторастворимыми, третьи—с щелочерастворимыми, четвертые—с остаточными белками.

Применив мягкие режимы экстракции белков и тонко гомогенизированный материал побегов выявлены особенности метаболизма белков в зависимости от условий зимовки и степени морозоустойчивости сорта (Абаджян, 1975).

Оказывается, что общее количество растворимых белков в побегах в суровую зиму, по сравнению с мягкой зимой, значительно выше, вследствие повышенного содержания всех фракций белков.

У неморозоустойчивых сортов, независимо от условий зимы, альбумины и проламины составляют 35—50%, а глютелины—12—22% от суммы растворимых белков. У морозоустойчивых сортов не только не существует таких границ, но и в опасные морозы отмечается перегруппировка фракций. Следовательно, повышенная гибкость в содержании белковых фракций при экстремальных температурах является отличительной чертой метаболизма морозоустойчивых растений.

Туманов (1967) считает, что водорастворимые белки способствуют переходу цитоплазмы в более устойчивое гелеобразное состояние. В ходе закаливания отмечены конфигурационные изменения белковых молекул типа спираль-глобула (Напифуса, 1967, Елисеева, 1968).

Исследования большого числа сортов и гибридов винограда показали, что для морозоустойчивых форм наиболее существенную роль, судя по водорастворимым белкам, играет вторая фаза закаливания, в которой в какой-то степени могут компенсироваться отклонения метаболизма первой фазы. Последнее можно объяснить тем, что у морозоустойчивых сортов, согласно данным Погосьяна (1973), диапазон

закалочных температур шире (-3° до -25°), чем у неморозоустойчивых (-3° до -15°).

Повышение и понижение белковых фракций в тканях винограда может происходить путем синтеза и распада новых белковых молекул и взаимопревращением имеющихся белков. Но в основном в период покоя, когда физиологические процессы в клетках сведены до минимума, самым вероятным путем повышения одних белковых групп и снижения других является переход от одной к другой с изменением структуры, формы, функции. Это подтверждается результатами изменений электрофоретических спектров белков и ферментов.

Впервые на винограде выделены и количественно охарактеризованы липопротейды (Марутян, Абаджян, 1976).

Четко выраженный январский пик липопротейдов к моменту приобретения растениями максимальной морозоустойчивости свидетельствует об их успешном образовании зимой (рис. 1).

В черенках доля липопротейдов в спирторастворимой фракции белков после их промораживания повышается. Морозоустойчивые сорта по этому признаку явно превосходят неустойчивые.

Наши данные по липопротейдам винограда в основном совпадают с гистохимическими наблюдениями Генкеля и Окниной (1964) на плодовых.

Процессы постоянного обновления белковых молекул теснейшим образом связаны с интенсивностью полимеризации и деполимеризации аминокислот.

Результаты хроматографических исследований показывают, что общее количество связанных аминокислот в побегах винограда сильно возрастает в процессе закалывания. Морозоустойчивые сорта характеризуются ранними осенними максимумами глутаминовой кислоты, аланина, валина, лейцинов. При воздействии критических температур у слабоустойчивых сортов в природных условиях и в лабораторных опытах содержание свободных аминокислот в побегах резко повышается, что однако не предохраняет ткани от вымерзания и, как правило, сопровождается снижением количества белкового азота.

По нашим многолетним данным, группировка сортов винограда по степени морозоустойчивости не совпадает с группировкой их по уровню содержания свободных аминокислот в побегах. Однако при ином способе расчета (процент от уровня аминокислот в предварительно убитых холодом клетках) группировки эти совпадают. У морозоустойчивых

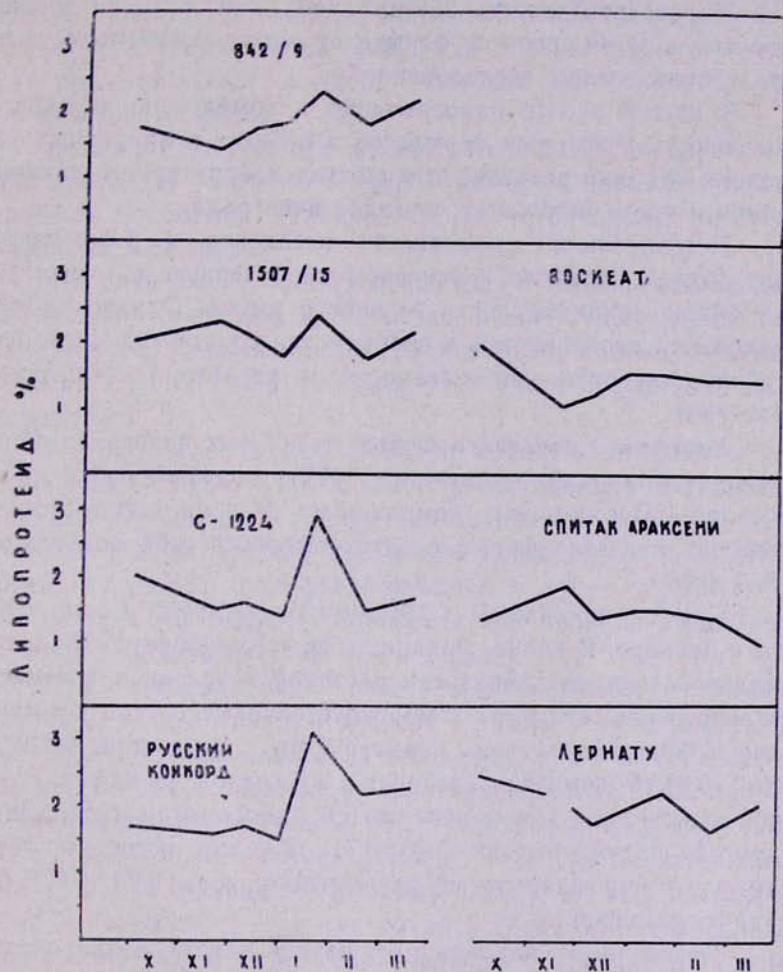


Рис. 1. Количественные изменения липопротейдов в побегах винограда у сортов и гибридов различной морозоустойчивости в осенне-зимний период.

сортов и гибридов в закаленном их состоянии после промораживания черенков при температуре минус 30° свободные аминокислоты увеличиваются в значительно меньшем количестве и поэтому по сравнению с уровнем аминокислот у предварительно убитых тканей процент их ниже (5,1 8,6 17,3, 20,7), чем у слабоустойчивых (94,0, 95,1).

Морозоустойчивость виноградной лозы, с точки зрения участия в этом процессе ферментативного аппарата, остается в целом мало исследованной.

В нашей работе одновременно и комплексно изучалась активность некоторых ферментов в побегах в природных условиях зимовки растений и в опытах лабораторного закалывания и промораживания черенков винограда.

Исследования амилазного комплекса и β -фруктофуранозидазы отразили в основном характерные для винограда общие закономерности годичного ритма. Однако наблюдался ряд особенностей в зависимости от степени морозоустойчивости сорта, интенсивности и характера обмерзания растений.

Методом диск-электрофореза в побегах винограда обнаружен (Марутян, Абаджян, 1977) большой набор форм амилаз. Постоянным компонентом за весь осенне-зимний период является форма с электрофоретической подвижностью 0,06.

Самая подвижная ($OЭП=0,83$) обнаруживается только в декабре. В конце января (в срок приобретения максимальной морозоустойчивости растений в условиях континентального климата юга) у морозоустойчивых сортов исчезают две и появляются три новые формы с подвижностью 0,20, 0,60, 0,66. У неморозоустойчивых же сортов, наоборот, в это время исчезают три и появляются две формы с совершенно другой подвижностью—0,45, 0,71. К весне в составе форм амилаз происходят новые перестройки: зоны 0,09 и 0,35 появляются впервые.

Какой-либо корреляции между действием инвертазы и содержанием сахарозы не проявляется, так как в осенне-зимний период распад крахмала сопряжен с усилением биосинтеза сахарозы в побегах.

Изучение активности протеаз показывает, что без добав-

ки цистеина активность этих ферментов в гомогенатах побегов не появляется. Протеазный комплекс (субстрат альбумин) в побегах активируется по мере похолодания. Однако максимум их активности наступает одновременно в зависимости от сорта: у неустойчивых сортов—в наиболее холодное время года, а у морозоустойчивых—весной. Сравнительно низкую активность протеазного комплекса зимой у морозоустойчивых сортов винограда следует рассматривать как положительный фактор, ослабляющий распад белков от действия морозов.

Согласно полученным данным, каталаза в конце вегетации проявляет низкую, а зимой, наоборот, повышенную активность в побегах наиболее морозоустойчивых сортов и гибридов винограда.

Пероксидазу и О-дифенолоксидазу (полифенолоксидаза) можно причислить к числу широко изученных среди оксидоредуктаз ферментов виноградной лозы, однако сведения относительно ее связи с морозоустойчивостью растений разноречивы.

Наши исследования показали высокую активность пероксидазы в лубе, значительно превосходящую активность полифенолоксидазы, в ксилеме их активность примерно одинаковая. Осенью уровень активности пероксидазы и ее отношение к таковой полифенолоксидазы в лубе морозоустойчивых сортов и гибридов винограда как правило выше, чем у слабоустойчивых (более чем в 2 раза).

При лабораторном промораживании побегов степень активизации пероксидазы зависит от силы и продолжительности воздействия минусовой температуры, от степени закаливания и, самое главное, от генотипа растений. Так, например, у неморозоустойчивого сорта Воскеат воздействие температуры -20° активирует фермент, -30° подавляет активность, а -40° приводит к резкому скачку, но уже патологического характера, так как почки и ткани при этом сильно повреждаются. В этой серии опытов у морозоустойчивого сорта Амурский температура -20° не вызывает изменения активности пероксидазы, -30° стимулирует ее деятельность и далее сохраняет на данном уровне активности при двухча-

совом воздействии температуры -40° . Сорт Бурмунк (гибрид С-1224) занимает промежуточное положение между крайними сортами. Различная реакция указанных трех сортов безусловно, связана с их филогенезом, прошедшим в различных климатических зонах (Армения, Дальний Восток, Москва). В другой серии опытов при сопоставлении кривых активности пероксидазы и содержания свободных аминокислот замечено, что при действии мороза, превышающего предел выносливости данного сорта, происходит патологический подъем активности пероксидазы. В опытах, приведших к полной гибели клеток винограда, наблюдался резкий скачок в активности пероксидазы, что однако уже не диктуется защитноприспособительной реакцией организма, так как реакции окисления выходят из-под контроля.

Поскольку пероксидаза и каталаза по химической природе относятся к гемопротеидам, возможно допустить, что повышенное и более подвижное состояние железа у морозоустойчивых сортов связано с высоким уровнем и пластичностью этих оксидоредуктаз.

Физиологическая роль оксидоредуктаз в растениях хотя и трактуется по-разному, но причастность ее к синтетическим и энергетическим процессам очевидна (Опарин, Гельман, 1952; Туркова, 1963; Манойлов, 1969). В свете этих представлений результаты одновременного изучения динамики АТФ, белков и оксидоредуктаз на одном и том же материале позволяют говорить о высоком уровне их действия и синхронности такового с явлениями биосинтеза в побегах морозоустойчивых сортов в условиях низких температур.

Таким образом, выявлены различия в температурных порогах деятельности ферментативного аппарата. В процессе перезимовки обнаружена изменчивость форм ферментов и их электрофоретической подвижности. Отмечены сортовые различия в наборе форм ферментов в зависимости от степени морозоустойчивости. У морозоустойчивых сортов при критических морозах высокая степень каталазы обеспечивается, например, деятельностью восьми ее форм, тогда как у неморозоустойчивых сортов обнаруживается только 3—4 компонента каталазы.

По-видимому сравнительно легкая повреждаемость тканей неморозоустойчивых и незакаленных растений связана с угнетением обменных и энергетических (АТФ) процессов в условиях низких температур и с нарушением координации действия оксидоредукторов с синтетическими процессами.

Совершенно особое место для понимания механизма морозоустойчивости занимает изучение синтеза и состояния липидов в клетке, поскольку они являются важным энергетическим и строительным материалом, необходимым для обеспечения жизнедеятельности организма.

Изменение физических и химических свойств липидов мембран под действием отрицательных температур приводит к нарушению проницаемости мембран, что является одной из причин повреждения растений морозами.

Обмен липидов в виноградной лозе является одним из наименее изученных разделов биохимии растений.

Многолетние результаты наших микрохимических и хроматографических исследований вскрыли значительную автономность количественных и качественных изменений компонентов свободных и связанных липидов (Дограмаджян, Марутян, Петросян, 1967; Дограмаджян, Марутян 1974; Марутян 1976). Следует объяснить это тем, что свободная фракция липидов размещена по всей клетке и находится в активной взаимосвязи со всеми метаболитами растворимого фонда клетки, а связанная фракция липидов локализована в органеллах, где приобретает новые свойства и выполняет дополнительные функции.

Количество сырого жира зимой в побегах винограда увеличивается в 2—3 раза и особенно сильно во фракции, связанной с белками. Максимум содержания сырого жира у изученных сортов совпадает с низким уровнем крахмала и приходится на наиболее холодное время года.

Морозоустойчивые сорта отличаются от неустойчивых наличием линоленовой кислоты в морозный период и высоким йодным числом.

Триглицериды свободной фракции, вовлекаясь в закалочные реакции при сильных понижениях температуры, поддерживают уровень их в связанной фракции. Интенсивным изменениям подвержен также состав триглицеридов.

У винограда фосфолипиды представлены широким спектром. Наличие фосфатидилхолина, фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина—весьма важный факт, так как показывает, что в побегах винограда при отрицательных температурах (на общем фоне усиления гидролитических процессов) постоянно происходит синтез этих сложных липидов.

В сортовом аспекте заслуживает внимания различный характер изменения абсолютного и относительного содержания фосфолипидов. Если абсолютное количество фосфолипидов у морозоустойчивого сорта снижается, то его относительный процент в сумме жирных кислот, триглицеридов и фосфолипидов повышается. У неустойчивого сорта—полностью противоположная картина.

Вероятно высокая морозоустойчивость винограда и сохранность структурной организации клеток зимой обеспечиваются использованием и постоянным обновлением связанных фосфолипидов, входящих в состав липопротеидов. Такая же специфика в связи с морозоустойчивостью винограда замечена при изучении белкового компонента липопротеидов.

Углеводы относятся к наиболее широко изученным соединениям виноградного растения. Тем не менее, обсуждая литературные сведения по углеводам, Стоев отмечает дискуссионный характер некоторых вопросов.

Изучая годичный цикл углеводного обмена в связи с ранне-позднеспелостью и морозоустойчивостью виноградной лозы, наряду с общими закономерностями, установленными многими исследователями в различных климатических зонах, нами отмечены качественные и количественные сдвиги в зависимости от возраста, нагрузки, формовки куста, характера зимовки и других факторов.

В климатических условиях юга при наличии обеспеченности растений теплом, влагой и оптимальной нагрузкой в соответствии с силой роста достигается высокий уровень откладывания запасов углеводов у всех сортов вне зависимости от сроков созревания, экотипов и возраста растений. В таких условиях сортовые и возрастные различия наиболее четко проявляются перед началом вегетации, при весенней перестройке

углеводного обмена. У молодых растений раннеспелых сортов наблюдается более интенсивный приток углеводов к точке роста, что возможно связано с генетической природой их раннего плодоношения.

Гемицеллюлозы, целлюлоза и лигнин в годичном цикле роста и развития растений подвержены существенным количественным изменениям. Этот факт согласуется с современными представлениями относительно передвижения продуктов распада высокополимерных соединений и вновь их участия в локализованном биосинтезе в других частях растений.

Согласно полученным нами данным, в условиях низких температур побеги винограда характеризуются мобильностью крахмала и гемицеллюлоз, ярко выраженными реакциями биосинтеза олигосахаридов, легкостью взаимопревращения глюкозы, сахарозы, крахмала. Для морозоустойчивых сортов характерна большая динамичность и ранняя перестройка всех звеньев углеводного обмена.

Фосфор принимает самое непосредственное участие в биохимических превращениях, в результате которых происходит освобождение, передача и использование химической энергии. Под влиянием холода прежде всего нарушается сопряженность процессов окисления и фосфорилирования, что ведет к прекращению энергоснабжения клетки.

Обмен фосфорсодержащих соединений в побегах винограда в период осенне-зимнего покоя и в связи с морозоустойчивостью недостаточно изучен, а сведения по макроэргическому фосфору почти отсутствуют.

По нашим данным, (Марутян, 1971), высокая морозоустойчивость у винограда связана с повышенной динамичностью АТФ. Отмечается как использование, так и неоднократное ее преобразование в период осенне-зимнего покоя на фоне высокого уровня общего количества нуклеотидов АТФ, АДФ, АМФ. Морозоустойчивые сорта проявляют по сравнению с неустойчивыми большую способность к аккумуляции химической энергии путем образования макроэргических соединений АТФ при низких температурах. В суровую зиму в поврежденных морозами тканях неустойчивых растений нарушение энергетического баланса выражается полным от-

сутствием весеннего биосинтеза белков. Следовательно, в состоянии покоя у виноградной лозы происходят процессы гидролиза, окисления, а также ресинтеза углеводов с образованием и использованием органических кислот, макроэргических соединений (АТФ), галактолипидов, триглицеридов, фосфолипидов белков, липопротендов и других соединений. Установлено селективное участие зольных элементов в процессе закалывания побегов у различных по степени морозоустойчивости сортов.

Для выявления взаимодействия различных звеньев обмена веществ значительный интерес представляют опыты лабораторного промораживания черенков с одновременным воздействием хлорамфеникола (ХФ) и динитрофенола (ДНФ). Действие этих антиметаболитов зависит от множества факторов. Конечным результатом их действия является приостановка образования новых пептидных связей в присутствии ХФ и снижения энергетических запасов клетки под влиянием ДНФ вследствие разобщения процессов окисления и фосфорилирования.

Путем внесения антиметаболитов (хлорамфеникола и динитрофенола) при лабораторном закалывании и промораживании черенков винограда и дальнейшего сравнения характера количественных изменений моно-, ди-, три-, тетрасахаридов, крахмала, сырого жира, фосфолипидов, липопротендов, галактолипидов, водо-, спирто-, щелочерастворимых белков в одних и тех же образцах выявлены главные звенья, обуславливающие метаболическую специфичность морозоустойчивости виноградной лозы.

По полученным данным из многообразных и взаимосвязанных звеньев метаболизма (крахмал—сахароза, сахароза—моносахара, крахмал—липид, галактолипид—олигосахарид, белок—аминокислота и др.) важную роль в создании повышенной морозоустойчивости виноградной лозы, видимо, играет сопряженность процессов обмена в звеньях фосфолипид $\rightleftharpoons$ липопротенд $\rightleftharpoons$ белок. Остальные изученные звенья совместно с этим ведущим вносят определенный вклад в реализацию потенциала морозоустойчивости.

Присутствие малоната и линоленовой кислоты в сочетании с высоким йодным числом в побегах морозоустойчивых

сортов совпадает с повышенной динамичностью ряда веществ: АТФ и элементов кальция и магния, железа и железосодержащих оксидаз, серы и SH-групп и всего комплекса углеводного, липидного и белкового обмена.

Предполагается наличие более усовершенствованных и эффективных путей трансформации и использования химической энергии у них в зимний период особенно во время экстремальных температур.

Анализируя данные, можно заключить, что морозоустойчивость обуславливается не только способностью растений винограда к накоплению низкомолекулярных веществ, входящих в «молекулярный актив» защитного механизма, но и способностью непрерывного биосинтеза биополимеров (олигосахаридов, белков, фосфолипидов, триглицеридов, нуклеиновых кислот, нуклеотидов, липопротеидов). Весь комплекс этих соединений создает водоудерживающие силы.

Сложность связей между структурой и функцией воздвигла труднопреодолимый барьер на пути исследования преобразующих систем. Тем не менее попытка понять общую картину, происходящую в побегах винограда, нам представляется более обещающей, чем детальное исследование лишь отдельных звеньев метаболизма. Дальнейшее приближение к решению проблемы, связанное со структурой и функцией клетки, следует ожидать, исследуя явления, лежащие на границе физики, химии, биологии. Возникает необходимость иметь дело почти со всеми разделами биохимии—от вопросов промежуточного метаболизма до химии белков, липидов; от биохимии макромолекул до изучения роли ионов металлов и кофакторов.

За последние годы значительно возрос интерес исследователей к биохимии и физиологии корневой системы, в том числе и у винограда, в связи с разрешением различных проблем виноградарства (Мелконян, 1973). Однако имеющиеся по культуре винограда сведения о метаболизме корневой системы в период покоя растений недостаточны, особенно в связи с морозоустойчивостью сорта.

В условиях Армении за осенне-зимний период как в ак-

тивной, так и в проводящей зоне корневой системы морозоустойчивых сортов содержания аминокислот и белков возрастает. Сортные различия по морозоустойчивости резко проявляются перед началом вегетации растений, когда уровень аминокислот, белков, пептидов и активности пероксидазы бывает значительно выше у стойких сортов.

Эти признаки сильнее выражены у гибридов, одним из родителей которых является морозоустойчивый амурский виноград.

В настоящее время более прогрессивным методом изучения метаболизма корней считается анализ пасоки, при котором учитываются своеобразие и специфичность свойств живой материи, так как пасока является продуктом выделения живых клеток (Сабинин, 1963). Особую ценность представляет пасока для изучения вопросов динамической физиологии и биохимии за короткие промежутки жизни растений (сутки, часы, минуты).

Весенний плач растений винограда еще с прошлого столетия является предметом изучения. Однако подробное ознакомление с советской и зарубежной литературой показывает, что пасока в связи с такими биологическими свойствами винограда, как морозоустойчивость, раннеспелость и позднеспелость, совершенно не исследована.

По нашим данным химический состав пасоки в период весеннего плача значительно и закономерно различается в связи с потенциальной морозоустойчивостью растений. В пасоке винограда обнаружена амилазная, фосфорилазная, пероксидазная и протеолитическая активность. Очищенные белки пасоки на силикагеле разделяются на 4—5 подфракций с различной оптической плотностью. Выявлен эндогенный ритм содержания компонентов в пасоке в период весеннего плача в связи со спецификой сорта.

В пасоке морозоустойчивых сортов содержится больше органической формы азота (белков, аминокислот и амидов) и меньше неорганической (аммония, нитратов), чем в пасоке неустойчивых сортов. Активность ферментов, редокс-потенциал, отношения $Mn:Fe$ в пасоке морозоустойчивых сортов подвержены меньшим колебаниям во времени, чем в па-

соке неморозоустойчивых сортов. Значительные различия между сортами неодинаковой морозоустойчивости по аминокислотам отмечаются в первый день плача, а по пероксидазе—на второй.

Озоление препаратов белков, выделенных из пасоки винограда, показало довольно высокое содержание золы, что указывает на транспортировку микроэлементов с пасокой винограда также в качестве белково-минеральных комплексов. Органические комплексы металлов рассматриваются как подвижные формы поглощенных элементов.

В заключение о пасоке отметим, что весенний плач растений у винограда не является чисто механическим процессом, связанным только с корневым давлением, как это, к сожалению, рассматривается еще в пособиях по виноградарству. Плач имеет автономный характер, подвержен эндогенному ритму и очень важен для регуляции процессов ростовой активности в начале вегетации. Плач растений осуществляется за счет энергии макроэргических соединений корневой системы. При помощи пасоки осуществляется влияние корневых метаболитов, в том числе и физиологически активных соединений на рост, развитие и метаболизм надземных органов винограда и других культур.

Детальное биохимическое изучение состава пасоки винограда в ходе весеннего плача дает нам ключ к выявлению разнокачественности метаболизма корневой системы у сортов винограда с разной морозоустойчивостью.

Таким образом, при изучении физиолого-биохимической природы морозоустойчивости винограда нами выявлен ряд характерных особенностей в корнях и побегах взрослых плодоносящих растений. Однако особенности метаболизма на раннем возрастном этапе жизни растений остаются неосвоенными.

Известно, что в процессе укоренения черенков все межклеточные и межтканевые взаимоотношения регулируются устойчивой интеграцией обменных процессов на основе генетической информации растений, охватывающей онтогенез в целом.

Нашими исследованиями выявлено, что биохимические отличия различных по генетической морозоустойчивости растений обнаруживаются и при укоренении черенков винограда. Высокий уровень окислительных процессов в полярно формирующихся органах (листьях, корешках) молодых растений у морозоустойчивых сортов и гибридов сопровождается значительным образованием аминокислот и белков.

Углеводы укореняемого черенка интенсивно транспортируются к точкам роста; образование крахмала в корешках происходит настолько интенсивно, что думать о лимите запасных углеводов не приходится. Количество сахарозы в корешках в два-четыре раза превышает содержание моносахаридов. Из кетокислот превалируют пируват и α -кетоглутарат, как безазотистые предшественники доминирующих в корешках аминокислот—аланина и глутаминовой кислоты.

Отмечено наличие интенсивных процессов дезаминирования, трансаминирования и амидирования в корешках винограда в самом начале их метаболической деятельности (Кретович, Саркисян, Карякина, 1970).

Новые морозоустойчивые селекционные сорта и гибриды различного происхождения (автор С. А. Погосян) Бурмунк, № 846/5 (С. Маленгра×Гарандмак×«Рипария×Рупестрис»), № 1563/21 («Мадлен Анжевин×Амурский»×Сеянец 65/16), № 1507/15 (Адиси×«Амурский×Черный сладкий»), показывающие высокий процент распускания почек (85—100%) при отращивании после воздействия температуры минус 28°, четко отличаются от неморозоустойчивых сортов по содержанию аминокислот, белков, крахмала в корешках в процессе укоренения черенков. Эти данные свидетельствуют о перспективах использования биохимических тестов для оценки морозоустойчивости селекционного материала в самом раннем этапе жизни растений (в период укоренения черенков).

За последние годы значительное внимание уделяется разработке методов диагностики морозоустойчивости плодовых культур и винограда с целью их применения в селекции.

Наши исследования по диагностике развивались в трех направлениях: поиск звеньев метаболизма, наиболее четко

характеризующих морозоустойчивость в период закаливания и воздействия критических температур; поиск звеньев метаболизма, характеризующих потенциальную морозоустойчивость на ранневозрастном этапе в процессе укоренения черенков и, наконец, поиск различий в деятельности корневой системы путем анализа пасоки в период весеннего плача. На первый взгляд эти три направления кажутся вовсе несхожими, но пути их исследования переплелись и теперь они рассматриваются нами в одной связанной схеме. Специфичность метаболизма, обуславливающего морозоустойчивость (конкретную, максимальную и потенциальную), рассматриваем как разные проявления одного и того же феномена в зависимости от физиологического состояния растений на различных этапах годичного цикла развития и возраста растений.

Неоднократные попытки исследователей выявить единые собирательные показатели оценки морозоустойчивости винограда не дали эффекта, поскольку в той или иной обстановке параметры внешних и внутренних факторов становления морозоустойчивости разнообразны и многочисленны.

Использование отдельных показателей для диагностики морозоустойчивости винограда недостаточно и ненадежно. Пути, которые мы предлагаем для диагностики морозоустойчивости виноградной лозы, базируются на совокупном изучении комплекса физиолого-биохимических признаков.

На основании наших исследований разработаны принципы и методы для диагностики морозоустойчивости винограда по совокупности биохимических признаков на различном возрастном уровне растений.

Наиболее удобными объектами для биохимической диагностики являются пасока и корешки винограда с сохранением дефицитного селекционного материала в живом виде для дальнейшей работы с ним.

Задача коренной перестройки живого, изменяющий весь ход его развития, по существу сильно отличается от простой задачи размножения, выращивания.

Ясно, что лучшим путем для ответа на этот вопрос является прямой путь изучения физико-химических реакций на субклеточном уровне.

Подводя итоги всему вышесказанному, можем констатировать, что биохимические процессы на уровне целого растения достаточно четко отражают генотипическую морозоустойчивость особей.

Весьма вероятно, что другие исследователи могут достичь больших успехов в иных направлениях. Во всяком случае несомненно, что настанет день, когда биохимические аспекты морозоустойчивости виноградногo растения будут строго сформулированы. И совершенно очевидно, что изучение генетической биохимии приведет к более глубокому пониманию этого феномена и в конце концов—к генной инженерии комплексной устойчивости винограда к морозам и болезням—проблема, над которой сейчас совместно трудятся генетики, селекционеры, фитопатологи, биохимики.

Ս. Ա. ՄԱՐՈՒԹՅԱՆ

Կենսաբանական գիտությունների դոկտոր

ԽԱՂՈՂԻ ՎԱԶԻ ՑՐՏԱԴԻՄԱՑԿՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱՍՊԵԿՏՆԵՐԸ

Սույն աշխատանքում ամփոփված են խաղողի վազի ցրտադիմացկունության պրոբլեմի հետ առնչվող բազմամյա տարիների կենսաքիմիական ուսումնասիրության արդյունքները:

Հետազոտությունները կատարվել են տարբեր օրգանների, հյուսվածքների սորտերի ու հիբրիդների, ինչպես նաև բույսերի տարբեր հասակների մակարդակով նրանց աճի ու զարգացման տարեկան ցիկլում: Մեծ տեղ է հատկացվել արմատային սխտեմի նյութափոխանակության ուսումնասիրությանը կապված սորտերի ցրտադիմացկունության հետ:

Մավալուն և խոր ուսումնասիրություններ են կատարվել խաղողի վազի նյութափոխանակության այն օղակների զեմով, որոնք մասնագիտական գրականության մեջ դեռևս չեն պարզաբանված և կամ թույլ են հետազոտված:

Այդպիսիք են՝ աղոտային և լիպիդային մետաբոլիզմը, ֆերմենտների զործունեությունը, միկրոէլեմենտների, ֆոսֆորի և ԱՏՖ-ի դինամիկան, նյութափոխանակության տարբեր օղակների փոխադարձ կապը, վազի կոփման կենսաքիմիական մեխանիզմը և շատ ուրիշ հարցեր:

Մեծ տեղ է հատկացվել լիպիդների, սպիտակուցների և ածխա-
ջրատների կոմպլեքսային միացությունների ուսումնասիրությանը:
Այդ առիթով որոշ միացություններ, ինչպես օրինակ լիպոպրոտեիդ-
ներ, ֆոսֆոլիպիդներ, գալակտոլիպիդներ, սպիտակուցների որո-
շակի ֆրակցիաներ, խաղողի բույսից անջատվել են առաջին ան-
գամ: Բացահայտվել են նրանց քանակական փոփոխության օրի-
նաչափությունները ջերմաստիճանային գրադիենտի և գենոտիպի
առումով:

Մշակվել են խաղողի վազի ցրտադիմացկանության ախտորոշ-
ման կենսաքիմիական մեթոդները: