



Биолог. журн. Армении, 1 (66), 2014

О ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ МЕХАНИЗМЕ МОРОЗОСТОЙКОСТИ ВИНОГРАДНОГО РАСТЕНИЯ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ЗИМОВКИ

К.С. ПОГОСЯН

Научный центр "Виноградоплодовиноделия" НАУ

Изучались основные процессы развития морозостойкого состояния под укрытием и открыто зимующих растений винограда в процессе их закаливания и зимовки. Морозостойкость связана с изменением свойств протоплазмы, изменения ее субмикроскопического строения. Выявлены специфика льдообразования в различных тканях, а также зависимость льдообразования от генотипа, различной оводненности тканей лозы.

Морозостойкость – виноград – льдообразование

Ուսումնասիրվել են ցրտադիմացկունության հատկանիշի զարգացման հիմնական գործընթացները՝ կոփման և ձմեռման փուլերում գտնվող բաց ձմեռող և թաղվող խաղողի վազերի մոտ: Ցրտադիմացկունությունը կախված է պրոտոպլազմայի հատկությունների և միկրոսկոպիկ կառուցվածքի փոփոխություններից: Բացահայտվել են տարբեր հյուսվածքներում սառցեգոյացման յուրահատկությունները, ինչպես նաև սառցեգոյացման կախվածությունը գենոտիպից և վազի հյուսվածքների ջրահագեցվածության տարբեր աստիճաններից:

Ցրտադիմացկունություն – խաղող – սառցեգոյացում

The basic development processes of frost resistance features of the open and cover wintering grapevines in the stages of their hardening and wintering were studied. The frost resistance depends on the changes of protoplasm properties and its submicroscopic structure. The specific character of ice formation in various tissues as well as the dependence of ice formation on the genotype of varying water content of tissues vines were revealed.

Frost resistance feature – grapevine – ice formation

Формирование морозо-зимостойкости растений является сложным, многохарактерным явлением, складывающимся поэтапно в годичном цикле роста и развития. При нарушении или существенных отклонениях некоторых важных климатических и агротехнических факторов возможны чувствительные изменения в жизнедеятельности и долговечности растений.

Устойчивость к морозу у многолетних растений начинает развиваться задолго до непосредственного действия мороза. Многолетним растениям присуща внутренняя ритмика роста и развития. У многих видов ритм роста и развития и, соответственно, степень морозоустойчивости происходит и в факторостатных условиях.

Развитие морозостойкого состояния складывается из трех этапов: вхождение в покой, закаливание низкими положительными температурами (первая фаза закаливания) и закаливание отрицательными температурами (вторая фаза закаливания) [5, 12].

Главнейшим фактором, определяющим вхождение многолетних растений в покой, является длина дня, но разные виды растений реагируют на этот фактор неодинаково, как и виноградная лоза. Длина дня оказывает влияние [5, 7, 8] также на продолжительность и условия вегетации, а на развитие морозостойкости открыто зимующей лозы оказывают влияние условия освещения, температура, водный режим, минеральное питание, формировка и нагрузка куста [5, 7, 10]. В зонах с континентальным климатом виноградное растение обычно зимует под земляным укрытием. В связи с этим в последние десятилетия в НИИВВиП РА проводились оригинальные исследования по созданию морозоустойчивых сортов, выдерживающих низкие температуры (-24 -30°C), которые при этом сохраняли нормальный рост и высокую урожайность [5, 8].

В настоящее время значительно расширились сведения о тех изменениях, которые происходят в растениях во время закаливания, и о свойствах, которые лежат в основе высокой морозостойкости. Многие факторы свидетельствуют о том, что морозоустойчивость связана с изменением свойств протоплазмы, ее субмикроскопического строения [3, 6].

У винограда развитие морозостойкости связано с гидролизом крахмала, увеличением сахаров, особенно сахарозы, появляется также раффиноза. Роль сахаров в повышении морозоустойчивости нельзя считать окончательно выясненной. Важное значение имеет метаболический эффект сахаров при низких температурах. Это объясняется их коллигативными свойствами (повышение осмотической концентрации клеточного сока), но существенная роль сахаров состоит во взаимодействии с субмикроскопическими структурами протопласта, в первую очередь с мембранами. О природе этих взаимодействий пока известно очень мало, возможно адсорбция и различные физико-химические межмолекулярные связи. Повышение морозоустойчивости под влиянием сахаров доказано экспериментально путем экзогенного введения их в растения [4, 5].

Данная работа в основном посвящена специфике льдообразования в различных тканях при слабых, умеренных морозах и при критических температурах, а также выяснению влияния на процесс льдообразования различной оводненности тканей растений.

Материал и методика. Исследовали слабоморозостойкие местные сорта Воскеат, Спитак Араксени и др (В.винифера) и морозостойкие (открытая зимовка) селекции Арм. НИИ виноградарства Бурмунк, Меграбуыр (Амуру-европейский), Артагес (Американо-европейский), Чаренци, а также растения, возделываемые в РФ и южных префектурах Японии.

Основные исследования проводились в Армении (НИИ ВВиП) на слабоустойчивых к морозам растениях, в условиях укрывного виноградарства и на новых селекционных морозоустойчивых сортах, зимующих без укрытия на зиму.

Однолетние побеги срезали в опытном саду и до лабораторных работ хранили при температурах 2° или -5° . Различную степень оводненности черенков достигали обезвоживанием в эксикаторе над сухим хлористым кальцием или погружением в смесь воды со снегом. Дифференциальную калориметрию (ДК), дифференциальный термический анализ (ДТА) и определение морозостойкости проводили по методикам, описанным ранее [1, 2, 3, 5, 6].

Использование калориметров Адиабатический и особенно Кальве, который имеет ряд преимуществ, позволяет изучить динамику замерзания и таяния растительных образцов, измеряется также величина теплового потока (в калориях на единицу времени). В калориметре тот или иной процесс может изучаться при мало изменяющейся или почти постоянной температуре, как на целом растении, так и на черенках, почках в лабораторных условиях [2, 3, 4].

Для измерения температуры тканей использовали многоточечный чувствительный самописец "Ohkura Eleclronic" (диапазон $-1,2 \sim 0 \sim 4 \text{ m}$ с частотой 50 с/С) с термопарами (медь – константан диаметром 0,2 мм каждая). Термопары вставлялись в различные части растения: штаб и побеги лозы, почки, а также в окружающие условия – снежный покров, воздух.

Регистрация температур (колебание от +8 +10°C до -15 -28 -30°C) самозаписывающим прибором проводилась в течение 4-5 месяцев [10, 13, 16].

Результаты и обсуждение. Относительно зимнего фитолимата винограда сведений весьма мало, а колебания температуры в различных органах и частях лозы в зимний период и степень морозостойкости растения почти не были изучены. Установлено, что ткани виноградного растения ежедневно, даже в морозную зиму, подвержены большим термическим колебаниям, что связано с температурой окружающего воздуха, прямым действием солнечной радиации, высотой от поверхности снега. Измерения проводились в различных частях штамба, в почке, флореме однолетнего побега. Значительные изменения температуры были отмечены в флореме.

Определение влажности почек и тканей междоузлий показали, что содержание воды в них в течение всей зимы оставалось почти на одном уровне 50,2-50,6 % к сухому весу. Следовательно, блокирование небольшого участка штамба (замороженная часть под снегом) не вызывает прогрессирующего действия на однолетние побеги. В холодные зимы (до -19 -25 -30°C) морозостойкость резко снижается, колебания температуры затрагивают замороженную часть штамба (10-20 см ниже снежного покрова или почвы). Становится возможным восхождение воды из почвы в надземную часть растения, и в течение 2-3 дней содержание воды в тканях побегов существенно повышается (55-60 %), что значительно влияет на степень повреждения почек или тканей при последующем понижении отрицательных температур в пределах -16 -20°C.

Исследования показали, что побеги виноградной лозы в зимнем закаленном состоянии, содержащие 45-47% воды на сырой вес, во время охлаждения в ячейках ДК при слабых морозах давали плохо выраженные экзотермы, заметное льдообразование большей частью начиналось при температуре ниже -10°C. После предварительного увлажнения побеги, содержащие 50 % воды на сырой вес, на кривых ДК (рис. 1, 2, 3) выявляли острый экзотермический пик при -6°C, в процессе дальнейшего охлаждения сначала тепловыделений не было, но в интервале -25 -30°C вновь образовывалась пологая низкотемпературная экзотерма (НТЭ). Эти кривые ДК сходны с полученными ранее [2, 10, 16]. Различия состоят в том, что в наших опытах образцы сравнения полнее уравнивали теплоемкость опытных образцов. Льдообразование в предварительно увлажненных побегах виноградной лозы аналогично замерзанию стеблей многих других древесных растений (яблоня, вишня). Первый экзотермический пик соответствует льдообразованию в проводящих сосудах, НТЭ соответствует замерзанию и гибели клеток сердцевинки и сердцевинных лучей [3, 4, 10, 14].

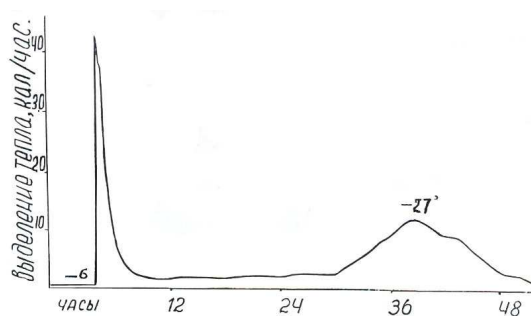


Рис. 1. Дифференциальная калориметрия заморозания побега лозы сорта Бурмунк. Содержание воды в побеге – 50,7% от веса сырого вещества.

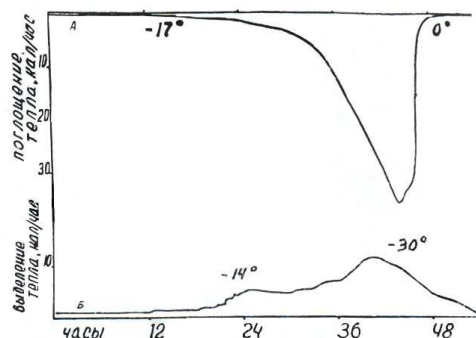


Рис. 2. Дифференциальная калориметрия оттаивания побега виноградной лозы сорта Бурмунк при исходном содержании воды 50,7% (верхняя часть рисунка) и замерзания побега при содержании воды 39,5% (нижняя часть рисунка).

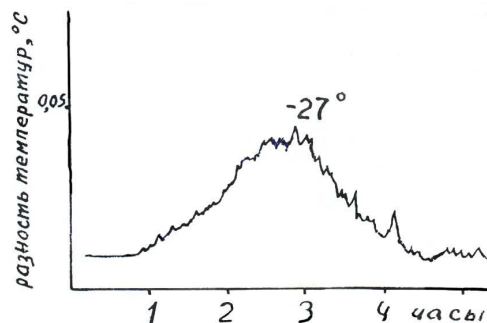


Рис. 3. Дифференциальный термический анализ. Низкотемпературная экзотерма замерзания отрезка виноградной лозы сорта Бурмунк при содержании в ней воды 50,2%.

Таким образом, в паренхимных клетках сердцевины и сердцевинных лучей побегов виноградной лозы до момента вымерзания сохраняется незамерзшая вода. Эту воду можно рассматривать как связанную, поскольку при сильных морозах может замерзать именно связанная вода. В процессе закаливания содержание связанной воды в растениях значительно увеличивается [5-7], соответственно НТЭ наиболее выражены у закаленных растений [3, 10].

Однако таяние воды, замерзающей во время появления НТЭ в стеблях виноградной лозы (рис. 3) и других растений [15], происходит при температуре более высокой, приближающейся к 0°C. В данном случае имеет место гистерозис водо-удерживающей способности клеток при замерзании и таянии. Это явление можно объяснить тем, что в момент гибели замерзает вода, связанная живыми структурами протопласта [4, 5, 10].

Такое объяснение не вполне согласуется с тем фактом, что при повторном замораживании (когда клетки уже погибли) НТЭ может вновь появляться [3, 10], хотя у побегов виноградной лозы повторная НТЭ бывает при более высокой температуре, а при третьем замораживании НТЭ бывает почти незаметной (рис. 3). После экстракции из сердцевины и сердцевинных лучей клеточное содержание НТЭ все же обнаруживается. Этот факт указывает на важную роль анатомических структур стебля, в частности свойств клеточных стенок [14].

Наряду с представлением о высокой водоудерживающей способности морозостойких клеток имеется и другое объяснение явления НТЭ. Ряд зарубежных авторов [14] считают, что до момента появления НТЭ внутриклеточная вода сохраняется в состоянии глубокого переохлаждения.

Но вода, адсорбированная на различных структурах растительных клеток, может быть достаточно подвижной, и изменение свойств такой связанной воды при отрицательных температурах значительно отличается от изменений свойств воды в растворах [3].

Состояние глубокого переохлаждения длительное время сохраняется лишь при малых объемах переохлажденных объектов, при отсутствии в них посторонних включений, способствующих гетерогенному зародышеобразованию (нуклеации) льда и при изоляции от затравки льда извне.

Механизм появления НТЭ остается недостаточно выясненным. Предполагается, что выделение тепла в растениях происходит вследствие образования льда внутри клеток [10, 13, 14]. Льдообразование в закаленных растительных клетках затрудняется особенностями их субмикроскопической структуры и защитными веществами [5, 10].

С помощью ДК высокой чувствительности обнаружена тонкая структура НТЭ: она распадается на отдельные пики. Этот факт рассматривается как подтверждение спонтанной нуклеации льда внутри небольших групп клеток или отдельных клеток [2, 5]. С помощью ДТА обнаружено, что у стеблей виноградной лозы НТЭ состоит из ряда мелких пиков (рис. 3).

С помощью ДТА обнаружили НТЭ также и при замерзании почек (рис. 4). Первый экзотермический пик соответствует льдообразованию в сосудистой системе и соседних тканях почечной оси, а также в почечных чешуях. В этих тканях образуется внеклеточный лед, а клетки частично обезвоживаются, но при умеренных морозах они сохраняются живыми. В процессе дальнейшего охлаждения почек, также как и при замерзании стеблей, тепло сначала не выделяется. Зачаточные стебли и бутоны в почках сохраняются при умеренных морозах оводненными, но при критических температурах замерзают и гибнут, что сопровождается образованием НТЭ (рис. 4).

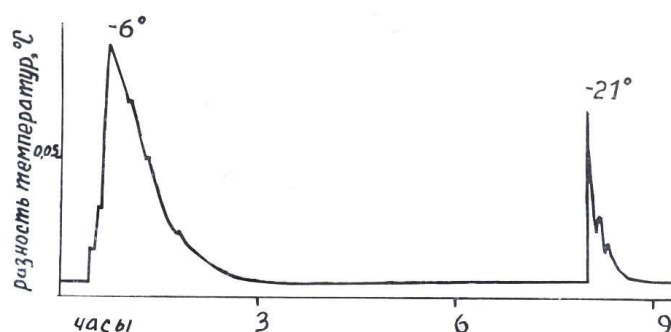


Рис. 4. Дифференциальный термический анализ заморозки почки винограда сорта Воскеат.

В разных почках НТЭ возникает при различных температурах, интервал вымерзания составляет 5–10°С. Средняя температура НТЭ почек снижается при закаливании, что можно объяснить частичным обезвоживанием зачаточных органов, подобно тому, как это имеет место в почках других растений [6, 17]. Это положение подтверждается тем, что частичное обезвоживание побегов приводит к заметному повышению морозостойкости.

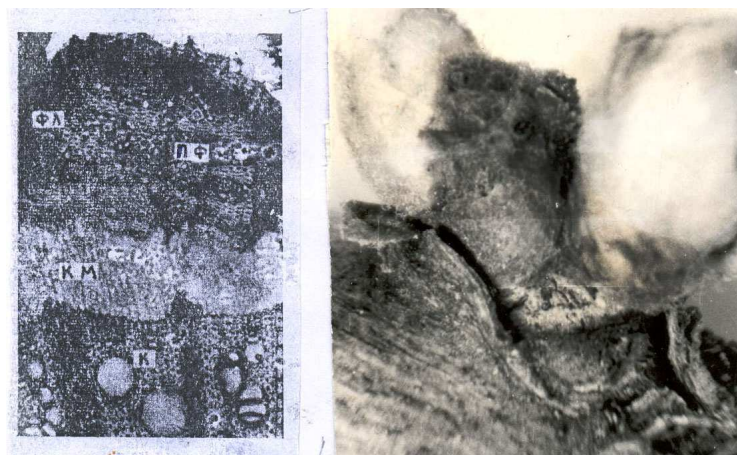


Рис. 4а . Поперечный срез основного побега после замораживания при -28°C (сорт Чаренци).
 ФЛ – флоэмные лучи, ПФ – паренхимы (повреждены), К – ксилема не повреждена,
 КМ – регенерация неповрежденных камбиальных клеток, способных к новому дифференцированию новых тканей (после -24°C).

Рис. 4б. Поврежденный слой камбиальных клеток центральной почки (увеличение $\times 400$).
 Запасные почки не повреждены.

У более морозостойких форм (восточно-азиатских) обезвоживание зачаточных побегов и бутонов в почке при длительных морозах может быть очень сильным, и поэтому НТЭ почек у этого вида обнаруживается лишь после оттепели, причем температура ее повышается соответственно продолжительности оттепели.

Таблица 1. Повреждаемость основных и запасных почек (%) у винограда в зависимости от водообеспеченности в осенний период (10.02.99)

Сорт	Вариант	Содержание во- ды перед II фа- зой закалива- ния, %	-24 ^o		-27 ^o		-29,5 ^o	
			24 ч		6 ч		3 ч	
			почки					
			основные	запасные	основные	запасные	основные	запасные
Кармрени - морозостойки	3 полива (05.10, 18.10, 10.11)	52.6	26	0	73	40	80	38
	2 полива (05.10, 18.10)	47.4	9	2	26	14	62	40
	1 полив (10.11)	49.0	14	0	72	36	75	32
	Без полива	48.4	12	0	30	14	60	18
Зовуни	3 полива (05.10, 18.10, 10.11)	50.3	70	45	100	83	100	86
	2 полива (05.10, 18.10)	46.4	50	22	90	66	100	71
	Без полива	43.2	52	24	100	36	100	60

Следовательно можно сделать вывод, что появление НТЭ почек соответствует их гибели. Поэтому ДТА можно использовать как метод диагностики морозостойкости, что нами предложено.

Установлено, что небольшое искусственное снижение содержания воды (в осенний период) в побегах виноградной лозы уменьшает температуру НТЭ древесины и почек, повышает морозостойкость, что можно объяснить понижением температуры зародышеобразования льда в закаленных клетках. Подтверждается положение о том, что небольшой водный дефицит способствует выживанию тканей лозы при минимальных температурах, в связи с чем целесообразно рациональное сокращение поздних осенних поливов при неукрывном виноградарстве в Армении, особенно в зонах с резко континентальным климатом.

Средние данные повреждаемости, степени адаптации и урожайности с учетом влияния отрицательных температур на различных этапах зимовки свидетельствуют о генетической потенциальной способности ряда новых селекционных сортов, о возможности неукрывного их возделывания в зоне укрывного виноградарства с учетом соответствующей технологии выращивания, подбора микрорайонов, что является огромным резервом для стабилизации отрасли.

Следует отметить, что вина 7 новых технических морозостойких сортов (НИИВВиП) Армении на международных конкурсах вин и коньяков в СССР, Болгарии, Румынии, ФРГ, Венгрии и в 2008г на "Армпродэкспо" были удостоены 13 золотых, 12 серебряных медалей и 3 международных дипломов 1-й степени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красавцев О.А. Особенности механизма вымерзания древесины и цветковых почек вишни. Физиология и биохимия культурных растений. 11, 2, с. 176-180, 1979.
2. Красавцев О.А. Калориметрия растений при t^0 ниже нуля. М., с. 114, 1972.
3. Красавцев О.А., Хвалин Н.Н. Особенности морозостойкости и вымерзания паренхимных клеток древесины яблони. Физиология растений. 25, 1, с. 5-11, 1978.
4. Манк В.В. Особенности спектров ЯМР молекул в гетерогенных системах. Украинский химический журнал, 44, 9, с. 911-918, 1978.
5. Погосян К.С. Физиологические особенности морозоустойчивости виноградного растения. Ереван. Изд-во АН Армянской ССР, 237 с., 1975.
6. Погосян К.С., Красавцев О.А. Содержание незамерзшей воды и динамика льдообразования в побегах винограда. Биолог. журн. Армении, 20, 12, с.42-49, 1975.
7. Погосян К.С., Карапетян Ж.Г. Морозостойкость винограда в зависимости от уровня влагообеспеченности растения. Вестник сельскохозяйственной науки, 3, с.103-107, 1980.
8. Погосян С.А., Хачатрян С.С. Селекция столовых и технических сортов винограда. Ереван, 197 с., 1985.
9. Погосян К.С., Склярова И.А. Физиология и гистохимические изменения при закаливании лозы. М., Журн. "С/х биология". с.241-250, 1989.
10. Сакаи А., Погосян К. Влияние быстроты оттаивания на выживаемость виноградного растения. М., Физиология растений. с.1204-1212, 1974.
11. Соловьева М.А. Зимостойкость плодовых культур при разных условиях выращивания. М., Изд-во "Колос", 239 с., 1967.
12. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкость растений. М., Изд-во "Наука". 350 с., 1979.
13. Sakai A. Freezing avoidance mechanism of primordia shoots of conifer buds. Plant and cell Physiol. 20, 7, p. 1381-1390, 1979.
14. Burke M., George M. Water in plant tissues and frost hardiness. Academic Press, 111-135, 1975.
15. Probsting E., Sakai A. Determining T_{50} of peach flower buds with exotherm analysis. Hort. Science. 14, 5, p.597-599, 1979.
16. Pogolian K.S., Akira Sakai. Freezing Resistance in Grape vines. Low Temperature Science, Ser. B, 27, 1980.
17. Levit I. Responses of plants environmental stresses. 2-nd Edition. Academic Press. 497, 1980.

Поступила 25.11.2013