

Солеустойчивость подвойных сортов винограда в условиях *in vitro*

И.И. Рыфф, к.б.н., **М.Н. Борисенко**, д.с.-х.н., профессор,
ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН

В настоящее время остро встал вопрос, связанный с засолением почв. Засолённость наблю-

дается на 20% возделываемых земель, занятых под сельскохозяйственные культуры в мировом масштабе, и на половине орошаемых земель [1]. К причинам, вызывающим засоление земель, относятся: 1) неправильные режимы орошения,

ведущие со временем к поднятию грунтовых вод; 2) ограниченное количество осадков зимой и недостаточное вымывание солей из зоны корнеобитания; 3) плохой дренаж почв.

Высокая концентрация солей приводит к созданию в почвенном растворе низкого водного потенциала, что затрудняет поступление воды через корневую систему [2]. С другой стороны, при засолении нарушается ионный гомеостаз. Особо токсичной является соль хлорида натрия. Избыток ионов Na препятствует накоплению других катионов, жизненно необходимых растению (K^{+} , Ca^{+2}).

Любые стрессы, в том числе и соли (химические стрессоры), вызывают у растений изменения в процессе обмена веществ. У растений, в отличие от животных, реакция на стресс проявляется не в активации метаболизма, а в снижении функциональной активности [3]. В зависимости от концентрации соли стресс приводит к гибели растений или торможению роста и снижению урожая. Одна из причин снижения роста заключается в падении интенсивности фотосинтеза из-за дефицита двуокиси углерода, вызванного закрытием устьиц, при этом, несмотря на снижение транспирации, увеличивается водный дефицит [4].

Виноград является сельскохозяйственной культурой, умеренно восприимчивой к засолению, но обострение проблемы возникновения солевых стрессов угрожает виноградарству как отрасли сельского хозяйства в целом. Во многих регионах для возделывания винограда используется привитая культура. При этом выбор подвоя зависит от ряда факторов: вредителей и болезней, доступности воды, температурного режима, засоления почв.

Одной из мер в борьбе с засолением является выбор солетолерантных подвойных сортов. Галотолерантность (солеустойчивость) сортов винограда исследовалась в полевых условиях и гидропонике [5].

Немногочисленные работы касаются использования метода культуры ткани для селекции на солеустойчивость сортов и подвоев винограда [6, 7], хотя данный метод имеет ряд преимуществ, к числу которых относится возможность получения большого количества растений не небольшом пространстве и хороших результатов за относительно короткий период времени.

Цель настоящего исследования – тестирование на устойчивость к хлориду натрия подвойных сортов винограда *in vitro*.

Материал и методы исследования. Объектами исследования являлись подвойные сорта винограда: Паульсен 1103, Берландери х Рипариа Кобер 5ББ (К5ББ), Шасла х Берландери 41Б (41Б), Рипариа Глуар де Монпелье (РГ де Монпелье), Рипариа х Рупестрис 101-14 (РР 101-14).

Эксперимент был проведён *in vitro* в культуре ткани. На первом этапе осуществлялось введение в культуру ткани верхушечных почек, взятых с побегов винограда *in vivo*. Почки были высажены

на агаризованную питательную среду Мурасиге-Скуга с добавлением цитокинина БАП (6-бензиламинопурина) в концентрации 1 мг/л. Через 21–24 дн. у всех растений наблюдали образование побегов высотой около 1,5 см. На следующем этапе проводили пересадку эксплантов на среду, способствующую корнеобразованию и дальнейшему росту побега с НУК (6-нафтилуксусной кислотой) в концентрации 0,1 мг/л. До значения 5,7 перед автоклавированием корректировалось рН сред. Выросшие *in vitro* растения черенковали с последующим микроклональным размножением. Побеги с двумя пазушными почками пересаживали на опытные среды с искусственно моделируемым засолением.

Наблюдали различия по ростовым реакциям подвоев в среде с высокой концентрацией соли хлорида натрия. В процессе эксперимента засоление поддерживалось на одном уровне 80 мм.

Помимо этого солеустойчивость сортов определяли по накоплению пролина. Изучали два подвойных сорта: 41Б и Паульсен 1103. Искусственный солевой стресс создавали в сосудах путём одноразового введения хлорида натрия. Побеги выдерживали при солевом стрессе 24 ч., растения находились в климатической камере при 12-часовом фотопериоде и температуре воздуха $33\pm 1^{\circ}\text{C}$. В качестве контрольного использовался вариант без внесения хлорида натрия с дистиллированной водой. Выборка включала 10 побегов каждого подвоя, исследование проведено в 3-кратной повторности. Количество свободного пролина определяли спектрофотометрически в сухом растительном материале по методу Бейтса [8]. Анализ проводили на спектрофотометре Specord 40 analytikjena, в качестве стандарта использовали L-пролин («Sigma», США), измерения проводили при длине волны 520 нм.

Результаты исследования. Солевой стресс приводил к торможению ростовых функций у всех исследуемых сортов, но в разной степени. Добавление в питательную среду хлорида натрия в концентрации 80 мМ позволило провести дифференциацию между подвойными сортами по устойчивости к соли. Измерение длины побегов и корней проводили через 40 дн. после их пересадки на экспериментальную среду с хлоридом натрия. Был проведён анализ общей длины пяточных корней и длины побегов изучаемых подвоев при засолении. Ингибирование роста побегов происходило у всех сортов, однако в разном процентном отношении по сравнению с контролем. Меньше всего подавлялся рост у подвойного сорта Паульсен 1103, длина его побега в условиях засоления составляла 75% от контроля, у Руджери 140 была на уровне 71% от контроля, у К5ББ – 67%, РР 101-14 – 63%, 41Б – 51% и РГ де Монпелье – 45% соответственно (рис. 1).

Под действием солевого стресса подавлялся также рост корневой системы. При этом рост

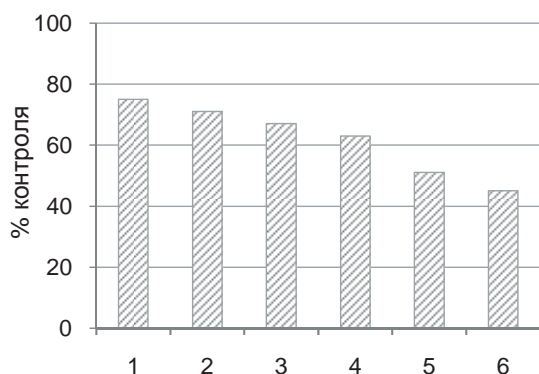


Рис. 1 – Рост побегов подвойных сортов винограда при солевом стрессе:
1 – Паульсен 1103; 2 – Руджери 140; 3 – К5ББ; 4 – PP 101-14; 5 – 41Б; 6 – РГ де Монпелье

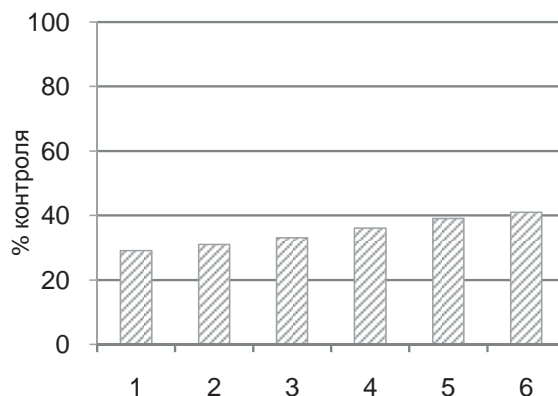


Рис. 2 – Рост корневой системы подвойных сортов винограда при солевом стрессе:
1 – Паульсен 1103; 2 – Руджери 140; 3 – К5ББ; 4 – PP 101-14; 5 – 41Б; 6 – РГ де Монпелье

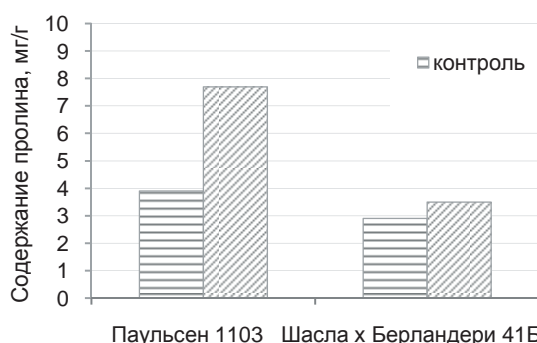


Рис. 3 – Содержание пролина в листьях подвойных сортов винограда (контроль и солевой стресс)

корней замедлялся больше у солеустойчивых сортов. У РГ де Монпелье длина корневой системы составляла 41% от контроля, 41Б – 39%, PP 101-14 – 36%, К5ББ – 33%, Руджери 140 – 31%, Паульсен 1103 – 29% (рис. 2).

Таким образом, с уменьшением длины корневой системы возрастала солелюбовность. По-видимому, это связано с тем, что через меньшую площадь корневой системы проникает меньше токсичных ионов солей. Нами отмечено большее подавление роста корневой системы по сравнению с надземной частью. Корни, в отличие от побегов, постоянно находятся в контакте с засоленной почвой. Соли повреждают клетки зоны растяжения и корневых волосков, нарушая поступление воды и элементов минерального питания. У виноградных растений в наибольшей степени рост корневой системы ингибируется у подвойного сорта Паульсен 1103, наиболее толерантного к солевому стрессу в полевых условиях. По полученным результатам можно сделать заключение, что адаптация к солевому стрессу осуществляется за счёт наиболее сильного подавления роста корневой системы. Корни активно участвуют в адаптации растений к солевому стрессу. Высказывается предположение, что корневая система солеустойчивых сортов обладает механизмом исключения избыточных ионов. Следовательно, можно предположить, что

рост корней у виноградного растения более важен при оценке солелюбовности, чем рост побегов.

Тестирование солелюбовности *in vitro* проводили в основном на сортах вида *V. vinifera* [6, 9], из подвойных сортов, принадлежащих к другим видам рода *Vitis*, в культуре ткани исследовались немногие. Из предложенных для исследования нами 6 подвойных сортов ранее изучались реакции на введение NaCl *in vitro* только у двух сортов: 41 Б и Руджери 140 [7].

Установлено, что в условиях солевого стресса у растений наблюдается повышенное содержание пролина. Проллин является осмотически активным веществом, и повышение его содержания противодействует стрессу, активизируя процесс всасывания воды. Сведения исследователей по поводу связи концентрации пролина с устойчивостью сортов винограда к солевому стрессу расходятся. Одни из них утверждают, что у более чувствительных к засолению сортов наблюдается большее накопление пролина, чем у солеустойчивых сортов [10]. Другие определяют более высокое содержание пролина у солелюбовных сортов по сравнению с восприимчивыми [5].

Нами были проведены исследования по определению содержания пролина на двух подвойных сортах: Паульсен 1103 и 41Б (рис. 3). При солевом стрессе концентрация пролина у сорта Паульсен 1103 возросла с 3,90 до 7,7 мг/г, а у 41Б с 2,9 до 3,5 мг/г. Следовательно, значительное увеличение пролина, в 2,7 раза наблюдалось у солелюбовного подвоя Паульсен 1103, а у восприимчивого к хлоридам подвоя 41Б содержание увеличилось всего в 1,2 раза.

Наши данные совпадают с данными М. Fozouni [5], который изучал накопление пролина в листьях и корнях корнесобственных сортов *V. vinifera* L. – Риш баба и Султани и наблюдал повышенное накопление пролина у солелюбовного сорта – Риш баба.

Выводы. Проведено тестирование на солелюбовность в культуре ткани у четырёх ранее не исследованных

дованных подвойных сортов: К5ББ, Паульсен 1103, РР 101-14, РГ де Монпелье.

Высокая засоленность приводит к нарушению физиологических процессов и ослаблению роста. Реакцию силы роста на засоленность можно рассматривать как основной критерий оценки на толерантность к солевому стрессу в условиях *in vitro*. Следует обратить внимание на изменения, как в росте надземной части, так и корневой системы.

Ещё одним критерием для диагностики устойчивости к хлоридам предлагается определение концентрации пролина в листьях винограда. У солеустойчивого подвойного сорта винограда Паульсен 1103 наблюдается тенденция большего накопления пролина, чем у чувствительного к засолению 41Б.

Литература

- Zhu J.K. Plant salt tolerance // Trends Plant Sci., 2001. № 6. P. 66–71.
- Балконин Ю.В., Строганов Б.П. Значение солевого обмена в солеустойчивости растений // Проблемы солеустойчивости растений. Ташкент: ФАН, 1989. С. 45–64.
- Афанасьева Н.Б., Березина Н.А. Введение в экологию растений. М.: МГУ, 2011. 800 с.
- Кузнецов Вл.В., Дмитриева Т.А. Физиология растений. М.: Абрис, 2011. 786 с.
- Fozouni M., Abbaspour N., Doulati Baneh H. Leaf water potential, photosynthetic pigments and compatible solutes alterations in four grape cultivars under salinity // Vitis, 2012. V. 51. № 3. P. 147–152.
- Sivritepe N., Eris A. Determination of salt tolerance in some grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) under in vitro conditions // Tr. Journal of Biology, 1999. № 23. С. 473–485.
- Troncoso A., Matte C., Cantos M., Lavee S. Evaluation of salt tolerance of in vitro-grown grapevine rootstock varieties // Vitis, 1999. V. 38. № 2. P. 55–60.
- Bates L.S., Waldern R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil., 1973. V. 39. № 1. P. 205–207.
- Skene K.G.M., Barlass M. Response to NaCl of grapevines regenerated from multiple-shoot cultures exhibiting mild salt tolerance in vitro // American J.Enol. Vitic., 1998. V. 3. № 2. P. 125–128.
- Мулту Ф., Бознук С. Влияние засоления на содержание полиаминов и некоторых других соединений в различающихся по солеустойчивости растениях подсолнечника // Физиология растений. 2005. Т. 52. № 1. С. 36–42.