

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
СИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи



Столбикова Александра Вячеславовна

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КАРЛИКОВЫХ
ФОРМ ЯБЛОНИ *MALUS BACCATA* (L.) BORKH.**

1.5.21 – физиология и биохимия растений

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

**Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Рудиковский Александр Викторович**

Иркутск-2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Особенности произрастания <i>Malus baccata</i> (L.) Borkh.	13
1.2. Причины карликовости растений	16
1.3. Водный дефицит как угнетающий фактор.....	21
1.4. Физиолого-биохимические параметры, характеризующие адаптацию растений к водному дефициту.....	24
1.4.1. Фотосинтетическая регуляция растений в условиях засухи.....	25
1.4.2. Фитогормональная регуляция ростовых процессов растений в условиях засухи	30
1.4.3. Липидный и жирнокислотный состав мембран растений в условиях засухи.....	41
1.4.4. Особенности аминокислотного состава растений в условиях засухи	49
Выводы из литературного обзора	52
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	54
2.1. Объекты исследования	54
2.2. Методы исследования	55
2.2.1. Характеристика района исследования	55
2.2.2. Измерение параметров роста яблони	56
2.2.3. Количественный анализ пигментов.....	56
2.2.4. Измерение флуоресценции хлорофилла	58
2.2.5. Биотесты.....	59
2.2.6. Количественный анализ абсцизовой и индолилуксусной кислот	61
2.2.7. Количественный анализ жирных кислот	62
2.2.8. Разделение липидов на классы.....	65
2.2.9. Количественный анализ свободных аминокислот.....	66
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	67
3.1. Условия произрастания <i>Malus baccata</i> (L.) Borkh	67
3.2. Параметры роста карликовой и высокорослой яблони	71

3.3. Основные фотосинтетические параметры карликовой и высокорослой яблони	73
3.4. Фитогормональный статус карликовой и высокорослой яблони	79
3.5. Липидный и жирнокислотный профиль карликовой и высокорослой яблони	88
3.6. Профиль свободных аминокислот карликовой и высокорослой яблони...	97
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	101
ВЫВОДЫ	108
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	111

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АБК – абсцизовая кислота
- АТФ – аденинтрифосфорная кислота
- АФК – активные формы кислорода
- ГБ – гиббереллин
- ГК₃ – гибберелловая кислота
- ДГДГ – дигалактозидиглицерид
- ДТК – диэтилдитиокарбамат натрия
- ЖК – жирная кислота
- ИДС – индекс двойной связи или индекс ненасыщенности
- ИПК – индолил-3-пировиноградная кислота
- ИР₃ – инозитолтрифосфат
- ИУК – индолил-3-уксусная кислота
- ИФХ – индукция флуоресценции хлорофилла
- Кар – каротиноиды
- МГДГ – моногалактозидиглицерид
- МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот
- НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
- НЖК – насыщенные жирные кислоты
- ПМ – плазматическая мембрана
- ПНЖК – ненасыщенные жирные кислоты
- ППВ – полная полевая влагоемкость
- РЦ – реакционный центр
- ССКІ, ССКІІ – светособирающие комплексы 1 и 2 соответственно
- СХДГ – сульфохиновозиндиглицерид
- ТАГ – триацилглицерол
- Твин-20 – неионогенное ПАВ
- ТМС – trimethylsilylные производные
- TMCS – trimethylchlorosilane
- ФАР – фотосинтетически активная радиация
- ФГ – фосфатидилглицерин

Фл – флуоресценция
ФСI, ФСII – фотосистемы 1 и 2 соответственно
ФСII – фотосистема 2
ФСА – фотосинтетический аппарат
Хл *a*, *b* – хлорофиллы *a* и *b* соответственно
ЭР – эндоплазматический ретикулум
b6/f – цитохромный комплекс
BSTFA – N,O-(бистриметилсилил)трифторацетамид
CF0-CF1 – сопрягающий комплекс
ETR – скорость электронного транспорта
M.9 и M.27 – Malling 9 и Malling 27 - карликовый и суперкарликовый коммерческие подвои *Malus domestica* для яблонь и груш
NPQ – параметр нефотохимического тушения флуоресценции
PPFD – плотность потока фотосинтетических фотонов облучающей поверхность в мкмоль/(м²с)
Rf – фактор удерживания вещества в хроматографии

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Известно, что реакция растения на любые стрессоры – это многостадийный процесс, затрагивающий как все системы организма в целом, так и каждую клетку в отдельности (Shumilina, 2018). Адаптация растений к неблагоприятным условиям произрастания обеспечивается за счет физиолого-биохимических механизмов регуляции их жизнедеятельности. При длительном умеренном воздействии угнетающего фактора адаптация растений происходит на генетическом уровне, что может привести к изменению морфологических признаков растения, в частности к снижению роста.

Одним из самых распространенных абиотических стрессоров в мире является засуха. В условиях недостаточной водообеспеченности – это самая серьезная угроза для полевых и сельскохозяйственных культур, поскольку дефицит влаги нарушает нормальный рост растений и снижает эффективность водопользования (Li et al., 2019). Адаптация растений к засушливым условиям сводится к трем основным стратегиям – убегание от засухи (англ. escape), акклиматизация (англ. avoidance) и толерантность (англ. tolerance) (Yildirim, Kaya, 2017). В природных условиях, как в многофакторной системе, растения при засухе зачастую прибегают к нескольким стратегиям одновременно. Основной целью этих стратегий является ограничение потери воды (Mittler et al., 2001; Chaves et al., 2003). Для деревьев одним из механизмов адаптации к засухе является сокращение растяжения и деления клеток, которое выражается в уменьшении листовой поверхности, замедлении роста ствола и веток. Все это может существенно повлиять на ростовые процессы растения и стать причиной формирования его карликовости, при этом карликовость может быть закреплена на генетическом уровне. Известны низкорослые породы дуба в Европе (*Quercus suber*) и Северной Америке (*Quercus oleoides*), которые в условиях длительной засухи способны поддерживать необходимую фотосинтетическую активность, снизив интенсивность роста (Ramírez-Valiente et al., 2017; Jazzar et al., 2019). В условиях умеренной длительной засухи карликовые деревья способны не только сохранить все стадии вегетации, но и приобрести устойчивость к ряду сопутствующих стрессоров, например воздействию солей и сильных ветров (Foster et al., 2007). Этую

адаптивную особенность древесных растений можно использовать в растениеводстве. Например, считается, что применение таких карликовых растений в качестве подвоев позволит уменьшить влияние неблагоприятных условий на урожайность и увеличить плотность посадки растений (Чукуриди, 2004; Рудиковский и др., 2008).

В результате поисковых экспедиционных работ, проводимых сотрудниками СИФИБР СО РАН, на территории Селенгинской Даурии (республика Бурятия) были найдены популяции яблони ягодной карликовой и высокорослой формы. По морфологическим признакам карликовые деревья отличались низким ростом (до 110 см), по сравнению с высокорослой яблоней (от 250 см), и кустовой формой; более узкими листьями и меньшим их количеством на побегах. Для карликовых яблонь были также характерны более крупные цветки, меньшее количество завязавшихся плодов. Логично было предположить, что снижение скорости роста этих деревьев обусловлено существенным недостатком влаги в весенне-летний период, неравномерностью выпадения осадков и тонким плодородным слоем в местах их обитания (Рудиковский и др., 2008). Для высокорослой и карликовой яблонь, произрастающих в республике Бурятия, были расшифрованы нуклеотидные последовательности внутреннего транскрибуируемого спейсера ITS1, находящегося между генами *18S rPHK* и *5,8S rPHK*. Было установлено, что карликовая и высокорослая яблони – это экологические формы *Malus baccata* var. *sibirica*, обладающей, как известно, большой морфологической пластичностью. По числу хромосом обе формы являются диплоидными. Однако по степени генетической дифференциации быстро эволюционирующих микросателлитных маркеров деревья отличались значительно (Рудиковский и др., 2014).

Полученные данные позволяют предположить, что найденные в Селенгинском районе (республика Бурятия) карликовые яблони являются «окраинными» популяциями *Malus baccata* (L.) Borkh. По-видимому, перенос яблони сибирской из характерных мест обитания (по берегам рек) в зону контакта леса и степи вызвал процессы, связанные с уменьшением размеров деревьев и формированием кустовидной формы. Считается, что эти признаки являются начальным этапом экологического видеообразования (Foster, 2007; Рудиковский и

др., 2014). Известно, что адаптивные реакции любого организма, в том числе растительного, сопровождаются изменениями в физиологических и биохимических процессах, протекающих в их тканях. В условиях водного дефицита, в первую очередь, изменяется интенсивность фотосинтеза, как основного процесса, обеспечивающего накопление биомассы растения. Происходит изменение пластичности клеточных мембран за счет изменения в содержании липидов и насыщенности их жирных кислот. Изменяется фитогормональный состав растений, регулирующий процессы роста и развития. Происходит накопление пула свободных аминокислот, выполняющих роль низкомолекулярных осмолов. Поэтому для выяснения путей формирования карликовости дикорастущей яблони сибирской (*Malus baccata* (L.) Borkh.), произрастающей в условиях водного дефицита, представляется необходимым провести сравнительный анализ физиологических (активность и эффективность фотосинтеза) и биохимических (липидный, фитогормональный и аминокислотный профили) особенностей двух экологических форм этого вида.

Целью данной работы был анализ особенностей физиолого-биохимических процессов в тканях яблони сибирской (*Malus baccata* (L.) Borkh.), произрастающей в условиях контакта леса и степи на территории Селенгинского района республики Бурятия, в связи с их способностью влиять на формирование карликовости у этого вида.

Для достижения этой цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Охарактеризовать климатические условия и провести анализ влагоемкости почвы в местах произрастания карликовых и высокорослых форм яблони (зона контакта леса и степи, с. Ягодное) и сравнить их с соответствующими условиями на территории экспериментального участка СИФИБР СО РАН (г. Иркутск), куда были перенесены упомянутые формы;
2. Провести сравнительную оценку динамики роста карликовой и высокорослой яблони, перенесенных на территорию экспериментального участка СИФИБР СО РАН (г. Иркутск);

3. Провести сравнительный анализ качественного и количественного состава фотосинтетических пигментов мембран хлоропластов и оценить эффективность работы ФС II в листьях двух изучаемых форм яблони;
4. Провести сравнительный количественный анализ содержания эндогенных регуляторов роста: абсцизовой и индолилуксусной кислот в верхушечных почках, коре (флоэма+камбий) и плодах у карликовой и высокорослой яблони на стадии активного роста;
5. Экспериментально проверить являются ли ростовые процессы карликовой яблони сибирской гиббереллинозависимыми.
6. Провести сравнительный анализ содержания липидных компонентов, в том числе жирных кислот, в листьях, корнях и плодах карликовой и высокорослой яблони;
7. Провести сравнительный количественный анализ содержания свободных аминокислот, в том числе так называемых «стрессовых», в листьях карликовой и высокорослой яблони.

Научная новизна. Впервые проанализированы основные физиологобиохимические параметры тканей *Malus baccata* (L.) Borkh., которые участвуют в регуляции ростовых процессов у деревьев под воздействием засушливых условий контактной зоны леса и степи в республике Бурятия. Выявлено, что в листьях карликовой формы *M. baccata* снижено общее содержание хлорофиллов и каротиноидов, по сравнению с высокорослой формой, а также снижена относительная скорость электронного транспорта. Впервые комплексно изучен жирнокислотный состав листьев, корней и плодов двух форм яблони сибирской. Установлено, что индекс ненасыщенности жирных кислот, корней и листьев в карликовой яблоне ниже, чем в высокорослой. Впервые показано, что низкорослые формы *M. baccata* являются гиббереллин-чувствительными, а в молодых разворачивающихся листьях карликовой формы *M. baccata* содержание индолилуксусной кислоты в три раза ниже, чем в высокорослой, на фоне одинакового содержания абсцизовой кислоты. Установлено, что содержание свободных аминокислот, суммарных липидов и фосфолипидов в листьях карликовых форм яблони ниже по сравнению с высокорослой формой. На

основании полученных данных предложен возможный путь биохимической адаптации *Malus baccata* (L.) Borkh. к умеренной длительно действующей почвенной и воздушной засухе.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты анализа липидного и жирнокислотного состава тканей яблони сибирской, а также аминокислотного состава листьев и содержания фотосинтетических пигментов дают важную информацию для понимания биохимических путей адаптации древесных растений к длительно действующей умеренной засухе. Полученные данные по составу и содержанию фитогормонов в листьях *M. baccata* расширяют современные представления об участии абсцизовой и индолилуксусной кислот в формировании карликовости у растений яблони в условиях длительно действующего умеренного водного дефицита.

Полученная информация может быть использована при отборе новых низкорослых холодостойких и засухоустойчивых подвоев яблони для климатических зон Сибири, Дальнего Востока и северных территорий России.

Экспериментальные данные, полученные в настоящей работе, могут быть использованы при написании учебных пособий для лекционных курсов по физиологии растений, читаемых студентам биологических факультетов в университетах и сельскохозяйственных вузах.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на VI съезде общества физиологии растений России «Современная физиология растений: от молекул до экосистем» (г. Сыктывкар, 2007); Всероссийской конференции молодых ученых «Биоразнообразие: глобальные и региональные процессы» (г. Улан-Удэ, 2010); II Международной научной конференции «Разнообразие почв и биоты северной и центральной Азии» (г. Улан-Удэ, 2011); Всероссийской научной конференции «Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде» (г. Иркутск, 2016); Всероссийской конференции «Проблемы изучения и сохранения растительного мира Евразии» (Иркутск - Кырэн, 2017);

По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК РФ и базу Web of Science.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Особенностью карликовой формы яблони сибирской является снижение интенсивности физиологических и биохимических процессов в ее тканях. Относительная скорость электронного транспорта в листьях дикорастущей карликовой яблони достоверно ниже, чем в высокорослой форме. Ткани карликовой формы содержат меньшее количество суммарных липидов и фосфолипидов, фотосинтетических пигментов, свободных аминокислот по сравнению с высокорослой формой. Гормональная регуляция ростовых процессов у карликовой формы яблони сибирской осуществляется за счет снижения синтеза индолилуксусной кислоты в апексах, приводящего к низкому росту и загущенной кроне карликовых деревьев.
2. В условиях почвенной и воздушной засухи оптимальной стратегией адаптации для яблони сибирской является стратегия акклиматизации, которая выражается в уменьшении ассимилирующей поверхности, снижении интенсивности физиологической и биохимической активности.

Личное участие автора. Автор лично принимал участие в планировании и проведении экспериментов, статистической обработке, обобщении и интерпретации полученных данных, представлении их на конференциях, а также в написании статей, опубликованных по результатам работы. В диссертационной работе использованы экспериментальные материалы, полученные лично автором и его научным руководителем совместно с сотрудниками лабораторий физико-химических методов исследования и физиолого-биохимической адаптации растений, а также отдела биоразнообразие и биологические ресурсы СИФИБР СО РАН.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения и трех глав, включающих: обзор литературы, описание объектов и методов исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение. Также заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 228 библиографический источник, 129 из которых на английском языке. Материалы диссертации изложены на 134 страницах машинописного текста, иллюстрированы 21 рисунками и 12 таблицами.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю работы к.б.н. А.В. Рудиковскому за помощь при планировании лабораторных экспериментов, обработке и анализе первичных экспериментальных результатов. Автор выражает глубокую благодарность к.б.н. Л.В. Дударевой за поддержку и ценные замечания при написании рукописи. Автор выражает сердечную благодарность д.б.н., доценту Т.П. Побежимовой и д.б.н. Н.В. Озолиной за внимательное отношение и ценные рекомендации при написании рукописи. Автор благодарит к.б.н. В.И. Белькова, к.б.н. А.И. Катышева за ценные замечания. Автор выражает искреннюю благодарность всем сотрудникам лаборатории физико-химических методов исследований СИФИБР СО РАН за помощь в работе и доброжелательное отношение. Автор сердечно благодарен своей семье за всестороннюю поддержку при написании рукописи.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Особенности произрастания *Malus baccata* (L.) Borkh.

Яблоня (лат. *Malus*) – одно из самых распространенных дикорастущих плодовых деревьев умеренной климатической зоны (Spengler, 2019). Данные археологических раскопок в Северной Америке и Евразии показывают, что это растение появилось еще во время эоцена (56,0–33,9 млн. лет назад) (Spengler, 2019). Морфология плодов в семействе Rosaceae возникла в результате серии событий полиплоидии в раннем олигоцене, включая дупликацию всего генома, которая, по-видимому, привела к разнообразию видов *Malus*. Климатические изменения с позднего миоцена до плейстоцена (возникновение и таяние ледников, изменение лесного покрова) вызвали фрагментацию популяций, колебания ареала и их генетическую изоляцию (Spengler, 2019). Существует как минимум 5 географических центров видового разнообразия яблони: Европа, Средняя Азия, Восточная Азия, Сибирь и Дальний Восток, а также Западное побережье Северной Америки (Ванина, 2016). В России произрастает от 7 до 10 диких видов рода яблони (*Malus* Mill.) (Чурикова, 2016). Наибольшие площади леса с участием этих видов занимают в европейской части страны, на Северном Кавказе, в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке (Чурикова, 2016). Особую ценность для селекции представляют следующие дикорастущие виды: зимостойкие – *M. baccata* (L.) Borkh.; устойчивые к парше – *M. kansuensis* (Batal.) Schneid.; обладающие высокой регенерационной активностью – *M. sieboldii* (Regel) Rehd. Они могут использоваться для улучшения сортимента имеющихся и вновь создаваемых сортов (Ванина, 1997; Чурикова, 2016).

M. baccata (L.) Borkh. по систематике В. Т. Лагенфельда (1991) относится к ягодным (*Baccatae* Rehd.) яблоням, так же как *Malus mandschurica* (Maxim.) Kom., *Malus hymalaica* (Maxim.) Vass., *Malus sachalinensis* (Korn.) Likh. (Лангенфельд, 1991). Основными зонами распространения ягодных яблонь является Восточная Сибирь, Дальний Восток и Северный Китай. Все ягодные яблони имеют диплоидный набор хромосом ($2n=34$) (Васильева, 1991). Сибирская разновидность *Malus baccata* var. *sibirica* (далее яблоня сибирская), имеет непосредственные родственные связи с *M. himalaica*, от которой, по-видимому, она возникла, а затем

распространилась на восток к юго-западному, центральному и восточному регионам Китая. В России *M. baccata* произрастает в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке до берегов Тихого океана (западная граница её ареала проходит близ Иркутска) (рис.1) (Коропачинский, 2012). Это небольшое дерево высотой 4–8 м, с низкой, округло-шаровидной кроной и кривым стволом диаметром около 15 см, или крупный кустарник высотой 3–5 м. В культуре иногда достигает 10 м. Кора ствола серая, трещиноватая. Вид характеризуется мелкими шаровидными плодами и овальными обычно голыми или слегка опущенными (лишь в молодости и по главной жилке) листьями с округленно-клиновидным основанием, острой или заостренной верхушкой (Лагенфельд, 1991).

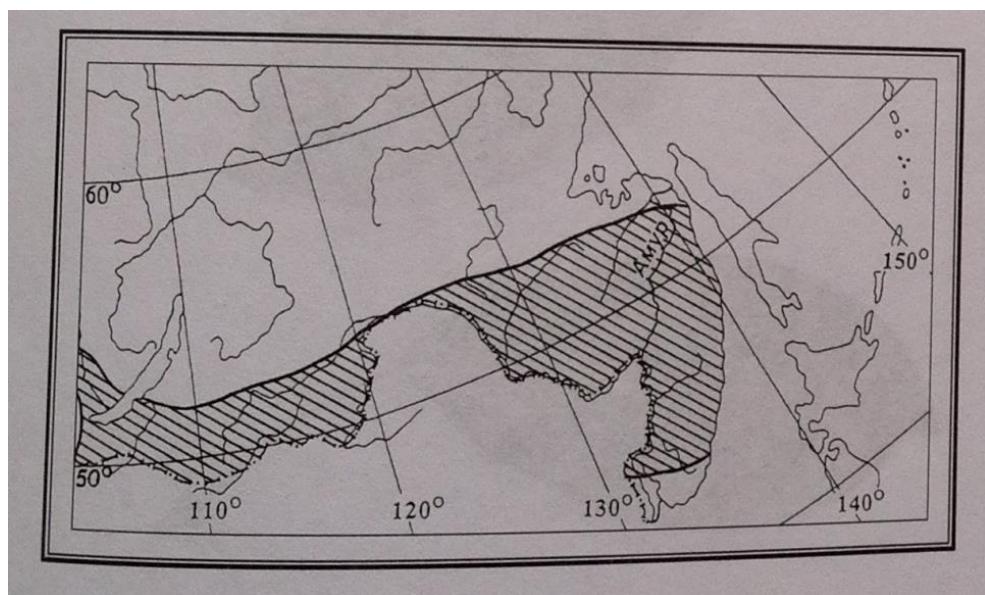


Рисунок 1. Ареал обитания *Malus baccata* (L.) Borkh. в России (от Восточной Сибири до Дальнего Востока) (Коропачинский, 2012)

В Восточной Сибири эта яблоня встречается в южных районах, в лесостепной полосе, главным образом, в долинах и по берегам рек, на пойменных почвах с высоким горизонтом подпочвенных вод. Иногда *M. baccata* встречается и на горных склонах, где зимой бывают сильные и стойкие морозы (45–50 °С) почти при полном отсутствии снежного покрова, в результате чего почва глубоко промерзает (Васильева, 1991). Отмечены случаи произрастания яблони сибирской в таких местах, как долина р. Шилки, где в подпочве имеется слой

вечной мерзлоты (по данным Забайкальской экспедиции Института им. Мичурина) (Васильева, 1991). У селекционеров *Malus baccata* var. *sibirica* особенно популярна из-за её исключительной морозостойкости и скороплодности. Яблоня сибирская — основной подвой яблони для Урала, Сибири и Дальнего Востока (Васильева, 1991). Она первая из лесных яблонь Восточной Азии, которая была культивирована в Европе с 1790 г. Полученные гибриды *M. baccata* отличались особой морозостойкостью и использовались в садах северной Европы и США, в основном, как декоративные растения. Например, одно из первых упоминаний о декоративных свойствах яблони было в 1917 г. — один из экземпляров *Malus baccata* был посажен в Ботаническом саду Гарварда в окрестностях Бостона (Arboretum, 1917).

Лесной тип растительности, в котором встречается *M. baccata*, характеризуется хвойными (сосновыми) фитоценозами в переходной полосе между лесом и степью на высоте 577–880 м (Шелкунов, 2014). Выделенные ассоциации характеризуются наличием ярусности и небольшой степенью сомкнутости древесного и мелколиственного кустарникового полога (*Spiraea media*, *Rosa acicularis*, *Caragana microphylla* и *Cotoneaster melanocarpus*). Причем, *M. baccata* произрастает в лесах не только единично, но и как содоминант в яблоневой и черемуховой формациях (Шелкунов, 2014).

Интересной особенностью яблони сибирской является большой разброс в росте деревьев: наряду с высокорослыми деревьями до 5 м высотой, встречаются низкорослые формы — крупные кустарники до 1,5 м (Коропачинский, 2012). Среди изучаемых популяций в Прибайкалье выделяют в зависимости от высоты следующие формы деревьев: карликовая (1,1–1,5 м), полукарликовая (1,9–2,5 м) и высокорослая (более 2,5 м) (Шелкунов, 2014). В республике Бурятия дикорастущая карликовая форма *M. baccata* обнаружена только в Селенгинском районе (Шелкунов, 2014). Полукарликовые и высокорослые деревья встречаются в основном в поймах рек. Значительную разницу между максимальными и минимальными значениями высоты деревьев, произрастающих на территории Республики Бурятия, объясняют широкими границами нормы реакции *M. baccata*, которая является ответом на разнородность климатических условий. При этом

отмечают низкий уровень индивидуальной изменчивости высоты дерева внутри ценопопуляций (0,0–7,8%) (Шелкунов, 2014). О способности растений замедлять рост в неблагоприятных условиях известно давно, однако этот механизм на уровне физиолого-биохимических процессов у *M. baccata* изучен не достаточно (Кузнецова, 2010; Баханова и др., 2018). В связи с тем, что *M. baccata* (L.) Borkh. в естественной среде обитания представлена карликовой и высокорослой формой, она может стать хорошим объектом для исследований процессов видообразования и биотехнологических исследований (Teixeira da Silva et al., 2019).

1.2. Причины карликовости растений

Карликовость растений или нанизм (от греч. *nanos* – карлик), низкорослость, общее недоразвитие растений; нанизм одна из форм гипоплазии (Воробьев, 1985), представляет распространенное явление в растительном царстве, причин которого может быть несколько. Так, например, карликовость может быть вызвана патогенными микроорганизмами, дефицитом элементов минерального питания, абиотическими и эдафическими факторами. В ряде случаев (это явление особенно свойственно представителям рода *Draba* и почти всем видам мохообразных) карликовостью называют совокупность наследственно закрепленных морфологических приспособлений к неблагоприятным условиям среды, причем наблюдаются карликовые разновидности, имеющие характер новых видов (Баландин, 2009).

Патогенные микроорганизмы способны поражать растения, угнетая их жизнедеятельность. В этом случае карликовость представляет собой неспецифический симптом инфекционных болезней растений, связанных с непосредственным извлечением питательных веществ из тканей растения патогенным организмом, распадом фотосинтезирующей ткани, нарушениями обменных процессов или баланса ростовых веществ (Воробьев, 1985). Существенное отставание в росте наблюдается при многочисленных микоплазменных болезнях (например, при карликовости шелковицы, желтухе астр), системных вирусных заболеваниях (инфекционном хлорозе малины, ямчатости древесины косточковых), диффузном поражении растений головнёвыми грибами, некоторых бактериозах (Свиридова, Ванькова, 2012). Карликовость

растения в результате поражения микроорганизмами является одним из тревожных симптомов, предвещающих неминуемую гибель. Например, фитоплазмоз стал причиной гибели тысяч деревьев миндаля в Ливане (Abou-Jawdah et al., 2009), а в Испании в грушевых садах фитоплазмы приводили к постепенному усыханию деревьев (Avinent et al., 1997).

Минеральное питание. Недостаток или избыток элементов минерального питания в природе также может оказывать пагубное влияние на рост и развитие растений. Любые отклонения в содержании питательных элементов от оптимального уровня вызывают нарушение биохимических и физиологических процессов в растениях. Недостаток в почве таких минералов, как азот, фосфор, калий, бор, сера, железо и др., могут приводить к торможению ростовых процессов. Обычно такая карликовость сопровождается и другими физиологическими и морфологическими признаками увядания растения. Изменения внешнего вида настолько характерны, что могут служить признаком для определения типа нарушения в минеральном питании (Абдукаримов и др., 2015). Так, например признаком недостатка меди (торфяные, кислые и песчаные почвы) является то, что верхушечные листья, начиная с краев, буреют, деформируются и опадают; рост растений замедляется, кора побегов трескается, на ней появляются вздутия, а сами побеги усыхают. При остром недостатке меди рано прекращается деятельность верхушечных точек роста, наступает несвойственное растению образование боковых почек и новых побегов, деревья приобретают кустовидную форму. Верхушки побегов усыхают, у молодых листьев отмечается хлороз. Азотное голодание также замедляет рост, вызывает мелколистность и окрашивание листьев в бледно-зеленый, желтый цвета. Недостаток фосфора вызывает темно-зеленый или голубой цвет листьев, появляются фиолетовые пятна и некрозы, наблюдается уменьшение листовой пластинки (Абдукаримов и др., 2015).

Карликовость растений, испытывающих глубокий дефицит минерального питания, не закрепляется в последующем поколении и в интродукции при минеральной обеспеченности приводит к активации ростовых процессов.

Генетические причины. Встречаются карликовые растения-мутанты, в генах которых нарушен процесс гормональной активации роста. Их можно разделить на два класса (Кулаева, Кузнецов, 2004):

- мутанты, карликовость которых устраняется при обработке растений гиббереллином (ГБ) – гормоном, активирующим ростовые процессы. Это мутанты с прерванным процессом биосинтеза гиббереллинов в результате мутации гена одного из ферментов биосинтетического пути;
- мутанты, карликовость которых не устраняется при действии на растения гиббереллином. Это мутанты с нарушениями в системе восприятия и передачи гормонального сигнала.

Как показали исследования генов карликовости у риса (*sd1*) и пшеницы (*Rht1*), мутации растений, которые не устраняются при действии на них гиббереллина, оказались важными для создания новых форм растений, обеспечивших “зеленую революцию” в 60–70-е годы двадцатого века (Кулаева, Кузнецов, 2004). Известны устойчивые к полеганию карликовые мутанты пшеницы, кукурузы, риса и других растений (Asano et al., 2009; Miao et al., 2020).

В настоящее время актуальна проблема оптимизации трудозатрат при выращивании плодовых деревьев: за последние 60–70 лет системы посадки яблоневых, персиковых садов и кокосовых плантаций претерпели значительные изменения от культивирования больших деревьев с широкой кроной до компактных и близко расположенных (Robinson et al., 2007; Gomes et al., 2008; Weibel, 2008; Reig et al., 2019). Поэтому использование низкорослых генетических мутантов растений нашло широкое применение в плодоводстве. Доказано, что экономически выгодно выращивать низкорослые сады, так как это дает возможность собирать урожай на 2–3 года раньше и облегчает уход за посадками (при обрезке, обработке от вредителей, сборе урожая и др.) (Perry et al., 2008). Например, карликовые подвои яблони Malling 9 (M.9) и Malling 27 (M.27) широко используются в селекции яблони и ее коммерческом выращивании для сокращения ювенильного периода, снижения вегетативного роста и увеличения цветения привоя (Foster et al., 2014). В этих подвоях выявили гены, контролирующие карликовость: *Dw1* и *Dw2*, локусы которых были найдены в совместной

локализации к областям на хромосоме 5 и хромосоме 11, соответственно (Fazio et al., 2014; Foster et al., 2015). Также был идентифицирован третий локус на хромосоме 13 в области, которая ранее не была связана с карликовостью и обозначена, как ген *Dw3* (Harrison et al., 2016). Гены карликовости *Dw1*, *Dw2* и *Dw3* отвечают за низкий рост самих М.9 и М.27, а также карликообразование привоев этих яблонь.

Климатические и эдафические условия. Карликовость растений может быть результатом адаптации к некоторым абиотическим факторам среды, таким, как засушливые условия произрастания, сильное уплотнение почвы, слишком низкие или слишком высокие температуры. Так, карликовость древесных растений обычно наблюдается в северных и высокогорных районах, для которых характерны бедные каменистые почвы, недостаток или недоступность почвенной влаги, а также неблагоприятные температурные условия. Например, в тундровой зоне и в горах, особенно на каменистых россыпях, часто встречаются сосны, ели, березы и деревья других пород, рост которых в возрасте 50 лет и более не превышает 1–1,5 м (Куприянов, Лабазников, 1999; Кузнецова, Слагода, 2016).

Для территории Прибайкалья, в частности республики Бурятия характерно большое разнообразие геоморфологических, геокриологических, климатических и фитоценотических условий. Считается, что на формирование почвенного покрова здесь оказывает существенное влияние расположение горных систем Байкальской котловины тектонического происхождения (Убугунов, 2011). Гусиноозерская котловина – значительная по площади межгорная депрессия Селенгинского района (рис. 2), простирающаяся в северо-восточном направлении между отрогами Хамар-Дабана и хребтом Моностой (Дегтярева, 2017). Строение ландшафта Селенгинского среднегорья обуславливает разнообразие почв со сменой режима влажности: от затапливаемых паводками кислых до нейтральных или слабощелочных почв послепожарных территорий с горно-котловинным рельефом (Шахматова, 2011).

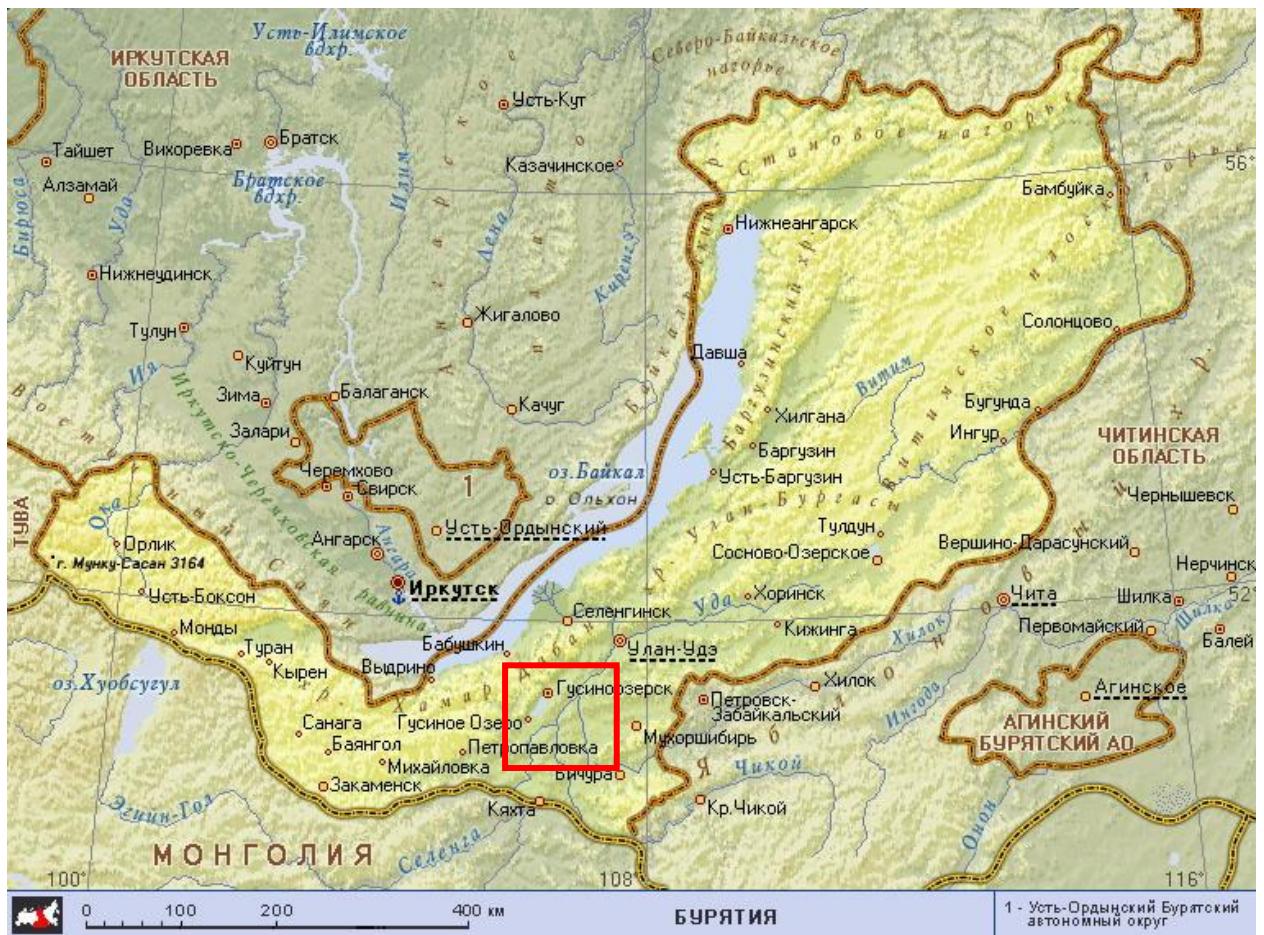


Рисунок 2. Физическая карта республики Бурятия (масштаб 1:400 000)

Примечание: красным цветом выделена область Селенгинского района

Для подножья Хамар-Дабанского хребта в лесостепной зоне Селенгинского среднегорья характерны серые лесные почвы, которые характеризуются высокой водопроницаемостью и, соответственно, малой водоудерживающей способностью. Особенностью этих почв является низкая полевая влагоемкость (Пигарева и др., 2008). В результате недостатка влаги в весенне-летний период и высокой инсоляции сформировался слаборазвитый, органо- и гумусо-аккумулятивный, структурно-метаморфический литозем (Убугунов, 2011). Вероятно, переход яблони сибирской от высокорослых форм к карликовым на этой подгорной лесостепной экотонной территории является результатом адаптации к структурным особенностям почвенного покрова и засушливым условиям произрастания (Рудиковский и др., 2008; Баханова, 2011 а).

1.3. Водный дефицит как угнетающий фактор

В зависимости от места проявления, в котором наблюдаются признаки недостатка влаги, различают атмосферные, почвенные и комбинированные засухи (Ионова и др., 2019). При нарушении водного баланса вследствие атмосферной засухи у растений активируются неспецифические реакции, обеспечивающие их выживание за счет мобилизации и формирования защитных систем (Пятыгин, 2008). Так, высокие температуры и недостаточность увлажненности воздуха вызывают временное, более сильное открывание устьиц, что приводит к ускорению транспирации и поступлению воды из корней в побеги. В клетках корней в свою очередь уменьшается водный потенциал и увеличивается поступление воды из почвы. Усугубляют влияние атмосферной засухи суховейные явления, однако, если температурные условия среды находятся в пределах толерантной зоны и корневая система хорошо развита, то непродолжительный водный дефицит не причиняет сильного вреда тканям растений (Ионова и др., 2019). Атмосферная засуха часто предшествует почвенной.

Действие комбинированной засухи (атмосферная+почвенная) приводит к увяданию растений: клетки теряют тургор, закрываются устьица и уменьшается транспирация. Недостаток углекислого газа ведет к снижению скорости фотосинтеза, образование и рост органов приостанавливается. Также почвенная засуха может ограничивать рост и продуктивность растений, нарушая поглощение ионов аммония и нитрат-ионов из воды, препятствуя метаболизму азота и вызывая окислительный стресс (Huang et al., 2018). С другой стороны, непосредственной реакцией на температурное воздействие и засуху является увеличение текучести мембран, как следствие нарушения электростатического и водородного взаимодействия между белками внутри мембранны. В результате меняется ее структура и увеличивается проницаемость. Происходит миграция из клеток водорастворимых веществ, нарушается активность ферментов, связанных с мембраной, и работа переносчиков электронов. Активизируется перекисное окисление липидов (Iqbal, 2019). Эти процессы, при достаточной интенсивности и длительности засушливых условий произрастания, приводят к нарушению синтеза сахаров, транспорта воды и поглощения корнями питательных веществ, которые

необходимы для нормального функционирования растения. Все это приводит к значительным экономическим потерям в сельском хозяйстве (Ali, 2019). L. Huang с соавторами после 28 дней воздействия засухой на проростки яблони *M. prunifolia* показали значительное ингибирование роста проростков, которое выражалось в снижении высоты саженцев, количества листьев на них и уменьшении листовой поверхности (Huang et al., 2018). Установили снижение содержания хлорофилла в листьях и интенсивности фотосинтетических процессов, как следствие – снижение накопления биомассы растения. Биомасса корней также была значительно ниже, по сравнению с контрольными образцами *M. prunifolia*: уменьшилась общая длина, площадь поверхности и объем корней (Huang et al., 2018).

Как уже говорилось во введении, любая адаптация растений к засушливым условиям произрастания сводится к основным трем стратегиям – убегание, акклиматизация и толерантность. (Yildirim, Kaya, 2017). Основной целью этих стратегий является ограничение потери воды. Стратегия убегания выражается в сокращении жизненного цикла растения, который завершается до момента физиологического дефицита влаги (характерно для однолетних растений и растений саванн). Эти растения могут сочетать короткие жизненные циклы с высокими темпами роста и газообмена, используя максимально доступные ресурсы пока доступна влага.

Для выживания в условиях умеренной засухи важно соблюдение баланса между поглощением воды корневой системой и транспирацией (Кудоярова и др., 2013). Стратегия акклиматизации реализуется через избегание обезвоживания тканей. Для этого все ткани растения сохраняют водный потенциал настолько высоко, насколько это возможно, или путем переноса воды в ткани с ее низким содержанием (характерно как для однолетних, так и для многолетних растений). Снижение потери воды в таких растениях достигается с помощью минимально открытых устьиц. Уменьшение поглощения света достигается через скручивание листьев и увеличение плотности отражающего слоя. Форма листьев заостряется, площадь ассимилирующей поверхности уменьшается за счет снижения роста листа и опадания более старых листьев. Поглощение воды максимизируется путем увеличения роста корней (Кудоярова и др., 2013). На молекулярном уровне

активируются механизмы устойчивости клеточных мембран к обезвоживанию. С помощью ферментов происходят качественные и количественные изменения в составе их липидов, прежде всего жирных кислот фосфолипидов. В мембранах хлоропластов уменьшается доля фотосинтетических акцепторных молекул, активнее работают механизмы диссипации избыточной энергии (Кузнецов, Шевякова, 1999).

Для реализации стратегии толерантности к определенной степени обезвоживания включаются одновременно (или последовательно) механизмы регулирования водного потенциала растения. Во-первых, вследствие активации сигнальных цепей ионной и ферментативной природы, происходит индукция синтеза макромолекул с новыми свойствами, обеспечивающих «нормальное» протекание клеточного метаболизма при стрессе, например белков теплового шока, шаперонов или белков позднего эмбриогенеза (LEA) (Bielsa et al., 2016). Индукция синтеза белков, устойчивых к дегидратации, может происходить вследствие активного накопления абсцизовой кислоты (АБК), которая также активирует работу замыкающих клеток устьиц. Трансдукция АБК-сигнала активно изучается (Luan, 2002). Были обнаружены новые соединения, влияющие на регулирование водного потенциала (Wilkinson et al., 2010). Во-вторых, происходит оптимизация внутриклеточной среды для функционирования ферментных систем за счет аккумуляции низкомолекулярных органических соединений, обладающих протекторными и осморегуляторными свойствами, такими, как бетаин, пролин, полиамины. Известно, что содержание пролина в засушливых условиях значительно возрастает, стабилизируя фосфолипиды мембран (Ali, 2019). Кроме этого, пролин является постоянным участником стрессовых реакций у растений. Ему отводится роль не только совместного осмолита, но еще и химического шаперона и специализированного антиоксиданта (Кудоярова и др., 2013). Оба пути адаптации направлены на решение одних и тех же задач: на обеспечение организма энергией, восстановителями, предшественниками нуклеиновых кислот и белков, а также на поддержание функционирования клеточных регуляторных систем в условиях стресса (Кузнецов, Шевякова, 1999).

В целом, к молекулярным механизмам устойчивости растений в засушливых условиях относят: гормональную регуляцию, перестройки процесса фотосинтеза, стабилизацию клеточных мембран, детоксикацию и выведение продуктов распада, осмотическую регуляцию (Chaves et al., 2003; Пятыгин, 2008; Федулов и др., 2015). На организменном уровне адаптация растений к засушливым условиям произрастания сводится к ограничению потери воды. Как уже говорилось выше, таким механизмом является сокращение растяжения клеток листьев. Уменьшение размера листьев сопровождается увеличением плотности жилкования, это позволяет растению поддерживать поток воды по соседним сосудам при закупоривании одного из них, которое может произойти при снижении водного потенциала (Scoffoni et al., 2011). В деревьях замедляется рост стебля, веток и клеточное деление. Все это, может существенно повлиять на ростовые процессы и стать одной из причин формирования карликовости.

В природе известны засухоустойчивые породы дуба *Quercus suber* и *Quercus oleoides*, которые широко распространены в тропическом климате и являются хорошим примером фенотипической пластичности вида (Ramírez-Valiente et al., 2017; Jazza et al., 2019). В условиях длительной засухи они способны поддерживать фотосинтетическую активность, снижая интенсивность роста деревьев. В Австралии известны карликовые популяции эвкалипта *Eucalyptus globulus* (высотой до 4 м), которые произошли от местных высокорослых деревьев (15–60 м) под воздействием избытка солей и сильных ветров на гранитных склонах (Foster et al., 2007). По сравнению с высокорослыми растениями карликовые формы могут быть более устойчивыми к резким изменениям температурных условий произрастания, засухе и сильным ветрам.

1.4. Физиолого-биохимические параметры, характеризующие адаптацию растений к водному дефициту

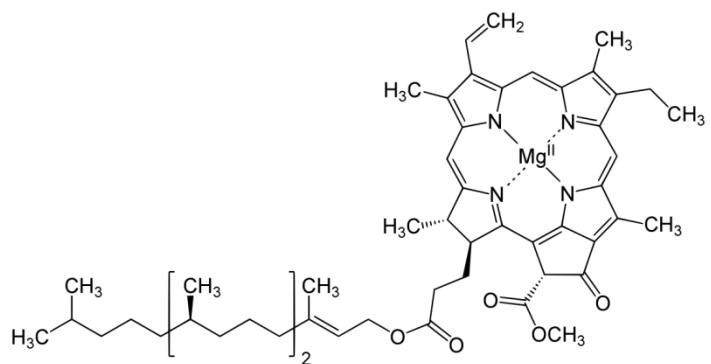
Существует несколько физиолого-биохимических параметров растений, характерные изменения в которых являются маркерами стрессового воздействия засухой (Ali, 2019). К основным параметрам, характеризующим адаптацию растений к водному дефициту, можно отнести:

1. Фотосинтез, так как это основной процесс, обеспечивающий накопление биомассы растения, который особенно чувствителен к водному дефициту из-за механизмов устьичной регуляции и избыточной солнечной радиации.
2. Фитогормональный состав, так как засуха вызывает значительное накопление абсцизовой кислоты, влияющей на механизм закрывания устьиц и индуцирующей синтез стрессовых белков, наряду с этим может происходить снижение уровня ауксинов и гиббереллинов, регулирующих рост растения.
3. Липидный и жирнокислотный состав, так как он характеризует пластичность клеточных мембран за счет изменения в содержании липидов и ненасыщенности их жирных кислот. Изменение в ЖК составе индуцирует запуск адаптивно-приспособительных реакций и поэтому также является характерным показателем стрессоустойчивости растений.
4. Пул свободных аминокислот, так как известно, что аминокислоты являются низкомолекулярными осмолитами. В частности содержание пролина в листьях растений в условиях водного дефицита резко возрастает, поэтому может служить неким маркером стрессового состояния, связанного с засухой.

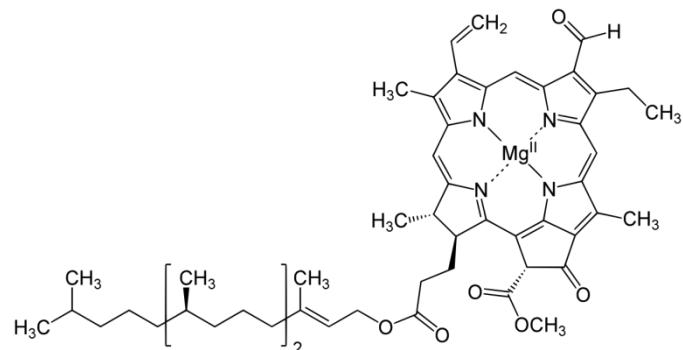
Рассмотрим эти физиолого-биохимические параметры более подробно.

1.4.1. Фотосинтетическая регуляция растений в условиях засухи

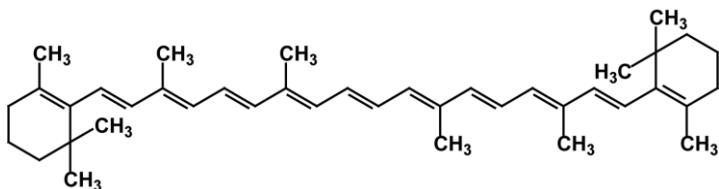
Растения в ходе фотосинтеза поглощают и утилизируют энергию солнечного излучения с помощью пигментов фотосинтетического аппарата (ФСА), которые находятся в тилакоидных мембранах хлоропластов. Главной функцией пигментов является улавливание квантов света и преобразование их энергии в энергию химических взаимодействий, конечным результатом которых являются реакции синтеза АТФ и НАДФН. Как известно, источником энергии в фотосинтезе служит электромагнитное излучение видимой области спектра в интервале длин волн 400–800 нм с энергией 1–3 эВ. Поэтому вся фоторецепторная система растений построена на основе двух химических структур, поглощающих практически весь доступный диапазон энергий: тетрапирролов, образующих циклическую структуру хлорофилла, а также фикобилинов и полизопреноидов, составляющих структурную основу каротиноидов (рис. 3).



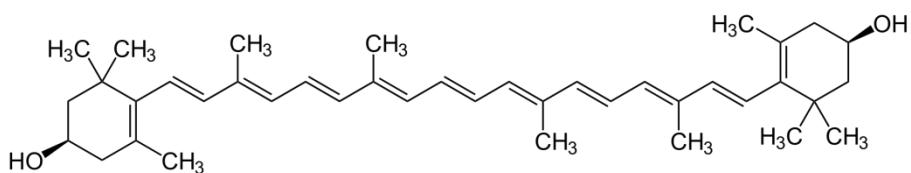
Хлорофилл а



Хлорофилл б



β -Каротин



Зеаксантин

Рисунок 3. Структурные формулы хлорофиллов *a*, *b* (<https://ru.wikipedia.org/wiki/Хлорофилл>) и некоторых каротиноидов высших растений (<https://ru.wikipedia.org/wiki/Каротиноиды>)

Все пигменты, входящие в ФСА высших растений, входят в состав фотосинтезирующих систем в виде хромопротеинов, т.е. пигмент-белковых комплексов для которых характерна высокая структурно-функциональная упорядоченность (рис. 4) (Тейлор. Биология в 3 т., 2021).

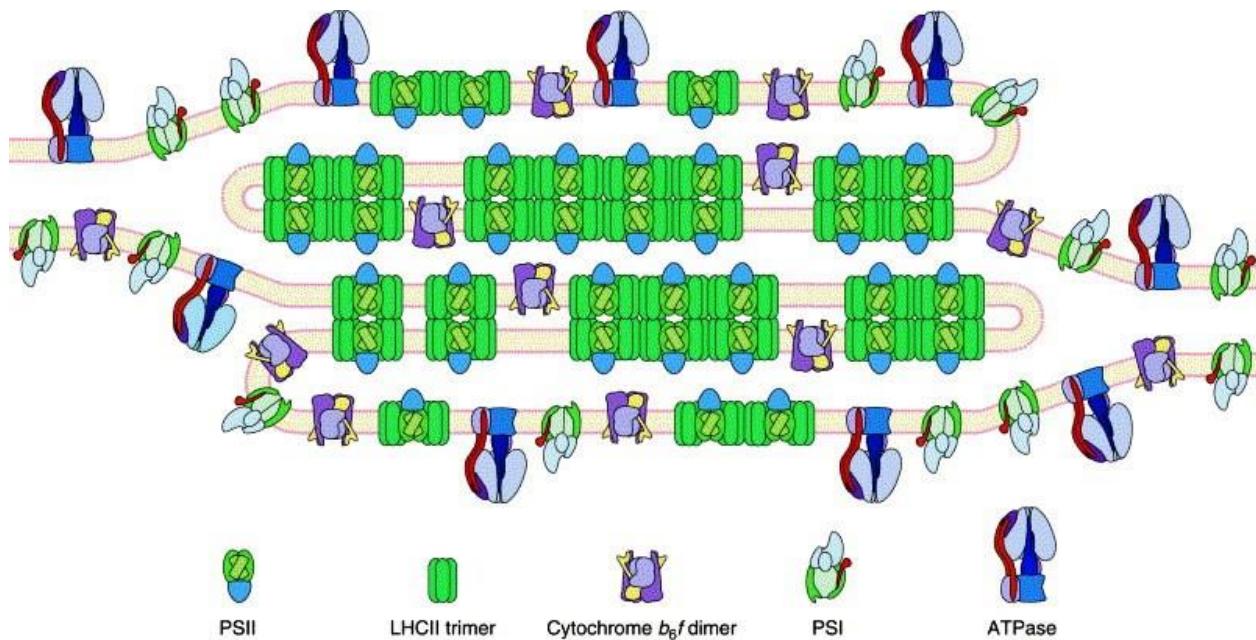


Рисунок 4. Система организации структурных компонентов тилакоидной мембраны (Allen, Forsberg, 2001)

Обозначения: *PSI* – фотосистема I, *PSII* – фотосистема II, *LHCII* – светособирающий комплекс II, *Cytochrome b_6/f dimer* – цитохромный b_6/f -комплекс, *ATPase* - сопрягающий комплекс *CF0-CF1* осуществляет синтез АТФ

Оптимальная скорость фотосинтеза осуществляется в достаточно узком диапазоне интенсивностей света, поэтому не вся энергия, поглощенная антенным комплексом, может быть использована в фотохимических реакциях. Известно, что дисбаланс между поглощенной энергией света и способностью растения к ее утилизации возникает не только при действии высоких потоков солнечной радиации, но и при экстремальных температурах, засухе, дефиците элементов минерального питания и др. (Лебедев, 2013; Иванов и др., 2013; Кудоярова и др., 2013; Венжик и др., 2015). В таких условиях регуляция функционирования ФСА и усвоение им поглощенной энергии света менее эффективны, что делает его более

уязвимым для фотоповреждения. Защитные механизмы, обеспечивающие эффективную работу ФСА, перераспределяют потоки поглощенной энергии света между фотосистемами, изменяя стехиометрию ФСI и ФСII, состав и соотношение компонентов ССК, диссипацию энергии возбуждения хлорофилла (Хл) в виде тепла (посредством нефотохимического тушения). Например, засуха и высокая инсоляция приводят к изменению количественного соотношения содержания пигментов тилакоидов: меняется содержание хлорофиллов *a* и *b*. Некоторые авторы наблюдали увеличение содержания зеленых пигментов при снижении влажности почвы до определенного уровня. Зачастую происходит увеличение содержания Хл *b*, как основного компонента ССК ФСII (Maslova, Popova, 1993; Слемнев и др., 2012). Этот эффект рассматривают как «защитную фазу торможения», в течение которой происходит интенсивное обновление клеточных структур, в том числе адаптивное изменение пигментного состава. С другой стороны, N. Bhusal с соавторами (2019) в опыте на засухоустойчивость сортов яблони *Hongro* и *Fuji* установили значительное снижение суммы хлорофиллов (Хл *a+b*) в листьях двух сортов в течение всего периода засухи (60 сут.) (Bhusal et al., 2019).

В условиях засухи возрастает количество каротиноидов, которые выполняют не только акцепторную функцию, но и защитную. Так, фотопротекторными свойствами обладают кислородсодержащие каротиноиды, причем содержание отдельных ксантофиллов сильно варьирует в зависимости от условий произрастания растений. Было установлено, что менее продуктивный сорт озимой пшеницы при недостаточном влагообеспечении продуцировал больше фотопротекторного пигмента зеаксантина, по сравнению с засухоустойчивым сортом (Прядкина, 2010; Пшеничникова и др., 2015). Накоплено внушительное количество данных не только о широком распространении зеаксантин-зависимой тепловой диссипации, но и о механизмах этого процесса (ксантофилловый цикл) (Ruban et al., 2002; Wentworth et al., 2003).

Важную роль в защите от фотоповреждения играет также тушение возбужденных (триплетных) состояний Хл и синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$), главным образом, с участием экстратилакоидных каротиноидов (Havaux, 1998; Farooq et al.,

2009), т.е. каротиноидов, не участвующих в поглощении и передаче энергии света на молекулы Хл, называемых также вторичными каротиноидами. Благодаря большому числу конъюгированных двойных связей, они являются эффективными перехватчиками свободных радикалов, в том числе активных форм кислорода (АФК). В качестве такого перехватчика может выступать β -каротин, расположенный в непосредственной близости от реакционного центра ФСII, который защищает его от фотоокислительных повреждений через тушение синглетного кислорода (Лебедева и др., 2008). Таким образом, некоторые исследователи считают, что увеличение содержания каротиноидов влияет на засухоустойчивость растения (Jaleel et al., 2009). Однако при более сильном воздействии засухи наблюдается разрушение пластид, что приводит, естественно, к уменьшению содержания хлорофилла и пигментов в целом (Waraich et al., 2011).

Современные данные свидетельствуют о том, что действие на растение стрессоров разной природы сопряжено с состоянием реакционных центров ФСII. Установлено, что в оптимальных условиях флуоресценция в основном излучается антенными комплексами фотосистемы II, а вклад фотосистемы I составляет 5–30% у С3 растений (Нестеренко и др., 2007; Гольцев и др., 2016). Основную роль в регуляции активности ФСII играет редокс-состояние пластохинонового пула, которое определяется отношением скоростей реакций фотосинтеза, темнового/светового дыхания и других метаболических процессов в растительной клетке. Считается, что флуоресценция (Фл) хлорофилла *a* представляет собой вторичное излучение световой энергии, поглощенной молекулой хлорофилла и является мерой энергии поглощаемых квантов света, которые не были использованы в процессе фотосинтеза. При нормальной и эффективной работе фотосинтетических реакций интенсивность флуоресценции хлорофилла *a* остается низкой, а любое нарушение процесса фотосинтеза понижает его эффективность, что приводит к значительному увеличению Фл (Гольцев и др., 2016).

Были разработаны и получили распространение недеструктивные методы исследования фотосинтетической активности растений, основанные на анализе спектров возбуждения флуоресценции Хл, выступающего в роли естественного флуоресцентного зонда (Соловченко, Мерзляк, 2008; Baker, 2008). С помощью

метода индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ) возможно оценить работу всех этапов световой фазы ФС: фотолиза воды, переноса электрона, генерацию градиента pH на тилакоидной мембране и синтеза АТФ (Гольцев и др., 2016). Метод позволяет проследить эффективность работы ФСА, а именно, эффективность использования энергии фотосистемой и степень ее повреждения избытком света на уровне листа. При детальном анализе измеряемых сигналов (ЛР-тест) можно оценить воздействие целого ряда стрессовых факторов на растение, в частности водного дефицита и теплового воздействия (Нестеренко и др., 2007; Рибейро и др., 2008; Гольцев и др., 2016). Показано, что при недостатке влаги и высокой инсоляции в проростках фасоли и пшеницы происходит снижение скорости электронного транспорта и квантовой эффективности в ФСП, в то время как возрастают интенсивность нефотохимического тушения флуоресценции. При этом растения, испытавшие предварительный водный дефицит, оказываются более термостабильными (Рибейро и др., 2008; Lu, Zhang, 1999).

Однако считается, что на основе только метода ИФХ нельзя судить о степени патологии ФСА растений, т.к. значения параметров флуоресценции могут меняться не только под действием стрессовых факторов, но и при естественном старении растений (Нестеренко и др., 2001). Учет возрастного состояния ФСА необходим для более корректного сравнения растений, выращенных при длительно действующем экстремальном факторе и при нормальных условиях. Так, с помощью онтогенетического подхода при флуоресцентных измерениях продемонстрирована возможность выявлять неоптимальные для растений условия культивирования (Шихов и др., 2011).

1.4.2. Фитогормональная регуляция ростовых процессов растений в условиях засухи

Известно, что рост и дифференциация растительных тканей определяются взаимодействием разных типов фитогормонов, поэтому их значение в образовании карликовых форм растений нельзя недооценивать.

Гиббереллины – гормоны, регулирующие рост растений растяжением клеток. В настоящее время известно более 110 гиббереллинов, однако многие из

них не обладают активностью, они представляют собой тетрациклические дитерпеновые кислоты, содержащие 20 или 19 углеродных атомов (Binenbaum et al., 2018). **Гибберелловая кислота (ГК₃)** (рис. 5) - основной представитель класса гиббереллинов.

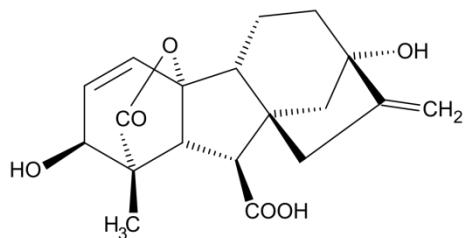


Рисунок 5. Структурная формула гибберелловой кислоты (Гиббереллины [сайт] <https://ru.wikipedia.org/wiki/Гиббереллины>)

Гиббереллины синтезируются в молодых растущих тканях растений – в молодых листьях, частях цветков, формирующихся семенах, в верхушке корня. Наибольшее количество гиббереллина содержится в незрелых семенах и плодах. Непосредственным предшественником гиббереллинов является энтаурен, синтезируемый из геранилгераниол дифосфата. Известно, что синтез изопентенилдифосфата (изопреноидного звена C5), исходного соединения для синтеза дитерпеноидов в растениях, идет по двум независимым путям: ацетат-мевалонатный путь и мевалон-независимый путь. Причем первый путь характерен для цитоплазмы, а второй – для пластид (Dubey et al., 2003). Существуют свободные и связанные формы гиббереллинов. Большинство связанных форм образуются за счет ковалентных связей гиббереллинов с моносахаридами и служат для запасания и транспорта гормонов в растении (Liu, Sherif, 2019).

Наиболее характерный эффект, который гиббереллины вызывают у растений – это удлинение стебля. Этот гормон увеличивает количество междуузлий, индуцирует цветение и образование партенокарпических ягод, регулирует пол растения, активирует завязывание и развитие плодов, стимулирует процессы прорастания семян. Удлинение стебля достигается за счет резкой активации процессов деления и растяжения клеток интеркалярных меристем (Liu, Sherif,

2019). Отмечено, что уровни ГК₃ понижаются при индукции покоя и повышаются при выходе из покоя или распускании почек. Такая динамика содержания гиббереллина была зарегистрирована для многих древесных видов, таких как черешня (*P. avium*), гибридная осина (*Populus tremula × Populus tremuloides*), виноградная лоза и японский абрикос (*P. tume*) (Liu, Sherif, 2019).

Известно, что определенные гены растений (DELLA-белки) кодируют репрессор, блокирующий активацию роста стебля. Эти белки играют центральную роль в сигналинге гиббереллинов и принимают участие в перекрестном взаимодействии (англ. *cross-talk*) других биорегуляторов (Li et al., 2019). У арабидопсиса известно 5 DELLA-белков, причем за связывание с разными участками ГК-сигналинга отвечают различные участки DELLA-белка. Гиббереллин запускает деградацию этих белков, снимая репрессию с генов роста. При нарушениях структуры в этих сайтах связывания могут формироваться неодинаковые по высоте фенотипы (Билова и др., 2016). Гиббереллин связывается с рецептором GID1 (англ. Gibberellin Insensitive Dwarf 1), чтобы способствовать убиквитин-зависимой деградации белков DELLA, таким образом, снимая их отрицательную регуляцию (рис. 6) (Долгих, Долгих, 2019; Nelson, Steber, 2018).

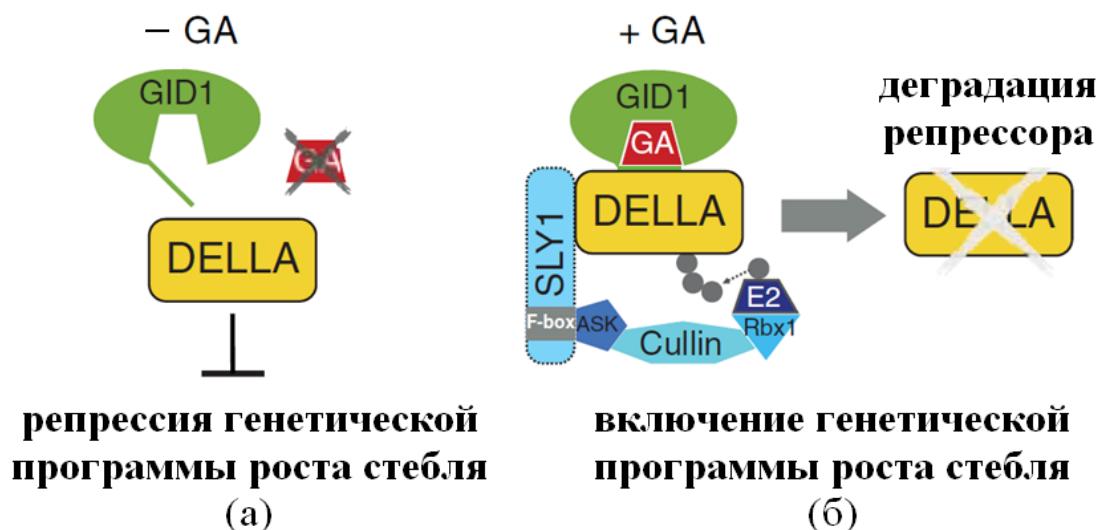


Рисунок 6. Репрессия генетической программы роста стебля и ее дерепрессия гиббереллином путем деградации репрессора (Nelson, Steber, 2018).

Примечание: (а) В отсутствие гиббереллина (GA) белки DELLA стабильны и подавляют программу роста стебля. (б) Связывание GID1 с GA позволяет образовывать GID1-GA-DELLA комплекс, который, в свою очередь, позволяет белку F-бокса SLY1/GID2 связываться и полуубиквитинировать DELLA, тем самым нацеливая DELLA на разрушение протеасомой 26S. Убиквитинилигазный комплекс SCFSLY1 E3 состоит из белков Skp1 и ASK1, Cullin – куллина, белков F-бокса SLY1 и RBX1. SCF E3 катализирует перенос убиквитина (темно-серые кружки) от E2 до DELLA.

Мутации, которые снижают уровни гибберелловой кислоты или нарушают взаимодействие между DELLA и GID1, стабилизируют DELLA и, следовательно, ингибируют рост растения (Serrano-Mislata et al., 2017). Если ген-блокатор подвергается мутации в той части, которая отвечает за взаимодействие с гормоном, а белок, даже в его присутствии, продолжает работать как репрессор, то растение становится гиббереллин-нечувствительным карликом. Этот процесс был подробно изучен A. L. Silverstone (2001) на арабидопсисе и F. Gubler (2002) на модельной системе – алейроновом слое ячменя у которых гиббереллин индуцирует синтез и секрецию α -амилазы. В обоих случаях важна последовательность DELLA (17 остатков аминокислот) на N-конце и С-конец молекулы. Мутации в DELLA районе в SLN1-гена (у ячменя) и в RGA-гена (у арабидопсиса) ослабляли ответ на гиббереллин и вызывали карликовость растения. Этот механизм (как было сказано в гл. 1.2.) лежал в основе «зеленой революции» 60–70-е годы XX столетия, приведший к значительному увеличению урожая агрономических культур. Были выведены новые сорта низкорослых злаков, устойчивых к полеганию, а также с повышенной урожайной способностью (Кулаева и др., 2004). Используя механизм разрушения белков DELLA путем создания комплекса GID1-GA-DELLA, были выведены низкорослые гибридные сорта яблони *M. domestica* (SH6) и *M. honanensis* (S19), в которых экспрессия *GID1c* в листьях была ниже, чем в листьях контрольных деревьев. Более того, содержание ГК₃ в этих гибридах было ниже, чем в высокорослых деревьях, что влияло на карликовые черты яблони (Hao et al., 2019). В природе такие мутации могут образоваться в результате естественного

отбора, в процессе адаптации растений к неблагоприятным факторам произрастания, и закрепиться в последующих поколениях, как наиболее эффективной модели для выживания в конкретных условиях. Поэтому для представляющей работы изучение гиббереллин-зависимости карликовой формы яблони сибирской представляет особый интерес.

Следующая группа фитогормонов, стимулирующих рост растяжением и делением клетки – ауксины. Основным гормоном этой группы является **индолил-3-уксусная кислота** (ИУК) (рис. 7). ИУК вызывает самые разнообразные физиологические эффекты: активацию деления и растяжения клеток, формирование сосудов и боковых корней, обладает аттрагирующим эффектом – способностью притягивать питательные вещества. Ауксин играет главную роль в ростовых движениях – тропизмах и настиях. Полярный транспорт ИУК обуславливает явление апикального доминирования, т.е. тормозящего влияния апикальной почки на рост пазушных почек (Liu, Sherif, 2019).



Рисунок 7. Структурная формула индолил-3-уксусной кислоты (Ауксины [сайт] <https://ru.wikipedia.org/wiki/Ауксины>)

ИУК присутствует практически во всех тканях растительного организма – в молодых почках и листьях, цветках, камбии, проводящей системе, семенах. Для синтеза ИУК в апикальных меристемах побегов, молодых листьях и развивающихся плодах, ее инактивации и катаболизма характерна множественность метаболических путей. Ферменты, участвующие в процессах биосинтеза ауксина, находятся в митохондриях и хлоропластах. Все это резко повышает надежность системы, отвечающей за регулирование концентрации этого фитогормона в клетках и тканях растения. Предшественниками ИУК могут быть:

аминокислота триптофан, индолил-3-ацетальдоксим, индолил-3-ацетонитрил, индолил-3-ацетальдегид. В зависимости от вида растения синтез гормона может идти по триптофан-зависимому и триптофан-независимому путям (Casanova-Sáez, Voß, 2019). Биосинтез ИУК через L-триптофан включает несколько этапов превращения: на первом этапе триптофан превращается в индолил-3-пировиноградную кислоту с помощью аминотрансферазы (Zhao, 2012). Далее индолил-3-пировиноградная кислота (ИПК) превращается в индолил-3-пируват под действием триптофанинотрансферазы. Затем flavinсодержащие монооксигеназы YUCCA (YUC) катализируют превращение индолил-3-пирувата до индолил-3-ацетальдегида – эта реакция является лимитирующей стадией на пути синтеза ИУК (Song et al., 2016). Дальнейшее превращение индолил-3-ацетальдегида в ИУК идет с помощью оксидазы, либо дегидрогеназы. Оба фермента находятся в цитозоле (Zhao, 2012).

Установлено, что гены семейства YUCCA играют значительную роль в ауксин-зависимых процессах развития растений. Так, у яблони из активно растущих органов растения было выделено больше генов *MdYUCCA*, чем у других изученных видов розоцветных (Song et al., 2020). *MdYUCCA2b* в основном содержался в цветках, *MdYUCCA4a* – в листьях, ксилеме и молодых плодах. *MdYUCCA6a* был обнаружен во всех исследованных тканях и показал высокую экспрессию в лепестках. *MdYUCCA6b* был также высоко экспрессирован в ксилеме, корнях и лепестках. *MdYUCCA8a* и *MdYUCCA10a* – в верхушке побегов, молодых плодах и ксилеме и т. д. В исследовании C. Song (2016) на мутантах яблони (Fuji/M9 и Fuji/MM106) была выявлена прямая зависимость роста деревьев от экспрессии генов YUCCA (Song et al., 2016). Было установлено, что в листьях и корнях саженцев яблони с карликовым привоем (Fuji/M9) содержание ИУК ниже, чем в саженцах с высокорослой вставкой (Fuji/MM106). Это коррелировало с более низким уровнем экспрессии гена *MdYUCCA10a* в этих органах карликовых деревьев по сравнению с высокорослыми (Song et al., 2016). Также была выявлена температурозависимость экспрессии генов YUCCA (Song et al., 2020). При воздействии высоких температур на саженцы яблони *M. domestica* значительно повышалась экспрессия генов *MdYUCCA4a*, *MdYUCCA6a*, *MdYUCCA8a* и

MdYUCCA10a, в следствие чего увеличилось содержание ИУК, что вызывало удлинение стебля и расширение апикального доминирования. С другой стороны, повышенная температура ингибировала экспрессию генов *MdYUCCA2b* и *MdYUCCA6b*, отвечающих за развитие репродуктивных органов (Song et al., 2020).

Помимо генов YUCCA, отвечающих за биосинтез ИУК, были найдены гены PIN (*MdPIN1b* и *MdPIN8a*), отвечающие за ИУК-транспорт, и гены ауксин-связанной гидролазы (*MdIAR3c* и *MdILL6c*), которые отвечают за гидролиз конъюгированного ауксина в свободную ИУК (Song et al., 2016).

Известно, что большая часть ауксина в растении находится в неактивной форме. Было обнаружено несколько ауксин-связанных форм, которые делятся на три основные группы: сложноэфирные ИУК-коньюгаты, амид-связанные ИУК-коньюгаты и метил-связанные ИУК-коньюгаты. Известны коньюгаты ИУК с глюкозой, миоинозитом, аспартатом, олигосахаридами и гликопротеинами. Считается, что гормон-связанные молекулы могут служить запасной или транспортной формой ИУК (Casanova-Sáez et al., 2021). Полярный трансмембранный транспорт ауксина (ауксин распространяется из верхушечной части стебля вниз по растению) осуществляется двумя переносчиками, один из которых обеспечивает вход гормона в клетку – высоко гидрофобный полипептид (AUX1), а второй, состоящий из двух трансмембранных доменов (TMD1 и TMD2), – выход (Кулаева и др., 2004; Casanova-Sáez et al., 2021). Однако в основном ИУК распределяется по растению не полярно, а по флоэме, что гораздо быстрее полярного механизма. По флоэме также перемещаются и связанные формы ИУК. Механизмы транспорта ИУК не зависят друг от друга и распространяются, в основном, по базипетальному пути (направленному к основанию). Принципы действия ИУК во всех случаях одинаковы и начинаются со связывания ауксина с рецептором. Среди белков-рецепторов ауксина лучше всего изучен ауксинсвязывающий белок (ABP1), выделенный из мембран колеоптилей кукурузы. Функционально активный белок (димер белка 22 кДа) локализован в плазмалемме. Он принимает участие в гиперполяризации ауксином мембранны и в подкислении клеточной стенки, что важно для ее растяжения. Дальнейший путь передачи ИУК сигнала зависит от специализации клетки, определяемой набором

генов, и от концентрации других сигнальных молекул, т.е. определяется: будет ли клетка расти растяжением или дифференцироваться (Кулаева и др., 2004). Окисление ауксина является основным путем деградации ауксина у всех анализируемых видов (Casanova-Sáez, Voß, 2019).

Изучение механизмов передачи ауксинового сигнала со временем позволит избирательно усиливать одни программы при одновременном блокировании других. Например, активирование развития корневой системы при сдерживании роста стебля позволит быстрее и эффективнее укоренять саженцы (Кулаева и др., 2004). Также ауксины могут участвовать и в механизмах адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды. Ауксин-зависимые приспособительные процессы выражаются в замедлении растяжения клеток и уменьшении уже существующей у растения листовой поверхности. Был проведен опыт с ауксинодефицитными мутантами *Arabidopsis thaliana* *cyp79b2cyp79b3*, в котором растения выращивали при высоких температурах (Casanova-Sáez, Voß, 2019; Song et al., 2020). Невысокий рост мутантов арабидопсиса в этом опыте позволил растениям адаптироваться к стрессору, что согласуется с температуро- зависимым снижением синтеза ИУК. В условиях водного дефицита снижение синтеза ИУК – это второй механизм сокращения потери воды (после устьичного регулирования), который реализуется лишь в условиях длительной засухи (Кулаева и др., 2004). В основе этого явления лежит частичное или полное сбрасывание листьев, обусловленное работой гормонов этилена и ауксина. Падение тургорного давления инициирует сильное торможение растяжения листьев, их числа, роста стебля и боковых побегов.

Известно, что основную роль в гормональной регуляции ростовых процессов в условиях засухи играет абсцизовая кислота (Iqbal, 2019). **Абсцизовая кислота (АБК)** (рис. 8) синтезируется у всех покрытосеменных и голосеменных растений, а также у папоротников и хвощей. Она содержится практически во всех тканях растения, однако в покоящихся семенах и при стрессовых ситуациях ее содержание резко возрастает.

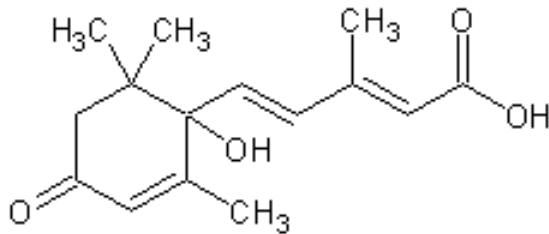


Рисунок 8. Структурная формула абсизовой кислоты (Абсизовая кислота [сайт], 2008)

По химическому строению АБК является сесквитерпеном (C15), начальные этапы синтеза которого идут в пластидах, где производное изопрена – изопентенилпирофосфат – служит предшественником для последовательного синтеза ксантофиллов. АБК образует коньюгаты с глюкозой или окисляется до фазеевой кислоты, которая далее превращается в дигидрофазеевую, которые участвуют в метаболических процессах. АБК синтезируется в листьях и в корневом чехлике и транспортируется как по флоэме, так и по ксилеме, однако во флоэмном соке его содержание выше. Основная роль АБК в растениях – подавление меристематического роста и регуляция старения и опадания листьев, т.е. абсизовая кислота имеет особое значение в регулировании покоя (Liu, Sherif, 2019). Наблюдается связь определенных стадий покоя с эндогенным содержанием АБК. Например, в древесных растениях эндогенные уровни абсизовой кислоты повышаются при установлении режима покоя и снижаются по мере выхода из этого состояния (Li et al., 2018). Определенное количество абсизовой кислоты в растениях есть всегда, однако АБК называют «гормоном стресса» в связи с тем, что разнообразные по природе стрессирующие воздействия вызывают ее быстрое накопление (Высоцкая и др., 2014; Wang, 2014). Ранее считалось, что, благодаря особенностям замыкающих клеток, устьица закрываются в результате потери тургора и открываются при его восстановлении (гидропассивное закрытие устьиц). Однако в большинстве случаев устьица закрываются еще до потери листом тургора, что очень важно для поддержания роста листа растяжением, синтеза белка, фотосинтетической активности и других, чувствительных к тургору процессов. Альтернативное объяснение этого механизма может заключаться в запуске процессов, приводящих к закрытию устьиц под влиянием химических

сигналов, поступающих в устьица из других клеток, тканей и органов (Высоцкая и др., 2014; Wang, 2014).

В настоящее время выяснено, что роль химического активатора сигналов в устьичном регулировании принадлежит АБК. Причем Л. П. Попова с соавторами (2000) показали, что рецепторы АБК сигнала находятся в клеточной мемbrane и обеспечивают чувствительность устьичных клеток к апопластной АБК, т.е. поступающей из корней по ксилеме и направляющейся к устьицам вместе с транспирационным потоком (цит. по Высоцкая и др., 2014). N. Bhushal с соавторами (2019) в опытах по засухоустойчивости сортов яблони *Hongro* и *Fuji* (*Malus × domestica* Borkh.) наблюдали значительное повышение АБК в ксилемном соке под воздействием водного дефицита у обоих исследуемых сортов (Bhushal et al., 2019). Повышение концентрации АБК в ксилемном соке было обнаружено не только при действии засухи, но и при многих других корневых стрессах: гипо- и гипертермии, засолении почв и патогенезе, при которых происходило закрытие устьиц (Skriver, Mundy, 1990; Moons et al., 1997; Fricke et al., 2004; Леи, 2008). Установлена транспортная цепочка передачи АБК-сигнала через инозитолтрифосфат (ИР₃), который активирует выход ионов кальция из эндоплазматического ретикулума (ЭР) и вакуоли в цитоплазму. Создавшийся электрический потенциал инициирует выход ионов калия, хлорид-ионов и малата из замыкающих клеток устьиц, тем самым снижая в них тургорное давление и, соответственно, транспирацию (Кулаева и др., 2004). Эти данные подтверждают участие АБК в адаптации растений к неблагоприятным воздействиям.

АБК способна влиять не только на состояние устьиц, но и на другие процессы, обеспечивающие приспособление растений к условиям обитания. Так, в опытах с ингибитором синтеза АБК и в экспериментах с экзогенной АБК было показано, что этот гормон тормозил рост корней в меньшей степени, чем побегов, подобное наблюдалось также у контрольных растений, испытывающих дефицит воды (Высоцкая и др., 2014). Этот эффект обусловлен тем обстоятельством, что уменьшение транспирирующей поверхности помогает растению экономить воду и способствует повышению поглотительной способности корней.

Известно, что АБК влияет на синтез и регуляцию (*cross-talk*) других гормонов, определяющих рост растения, таких как этилен, ауксин и гиббереллин. Например, установлено, что в древесных растениях при выходе из состояния покоя снижение уровня АБК сопровождается постепенным увеличением уровня ГК₃ (Liu, Sherif, 2019). Трансгенные исследования также показали, что мутации в пути биосинтеза АБК приводят к более высокому содержанию гиббереллина за счет стимулирования генов синтеза ГАЗох (Oh et al., 2007). С другой стороны, ингибирование путей биосинтеза ГК₃ активизирует синтетические гены АБК (ABA1 и NCEDs), подавляя катаболический ген АБК CYP707A2 (Oh et al., 2007). Взаимовлияние гормонов АБК и этилена было показано в исследованиях с дефицитными по этилену мутантами (etr1-1) *Betula pendula* (Ruonala et al., 2006). Было установлено, что мутация вызывает прекращение образования терминальных почек и биосинтеза АБК, а также задержку периода покоя у европейской белой бересклета. Взаимовлияние ИУК, АБК и этилена было показано в опыте с гербицидами, содержащими высокие концентрации ауксинов (Fedoroff, 2002). Под воздействием гербицидов у растений снижалась скорость роста клеток, транспирация и ассимиляция углерода, что сопровождалось быстрым старением листьев и гибеллю всего растения. В этом эксперименте было установлено, что высокое содержание ауксина индуцирует экспрессию генов, кодирующих 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатсингазу, фермента, влияющего на скорость биосинтеза этилена. Накопление сингазы, в свою очередь, сопровождается высвобождением этилена, за которым, следует увеличение синтеза АБК и накопление перекиси водорода (Fedoroff, 2002). Также в экспериментах с гидропонными системами риса и арабидопсиса было показано, что накопление АБК модулирует транспорт ауксина в кончике корня, это усиливает секрецию протонов для поддержания первичного удлинения корня и развития корневых волос при водном стрессе (Xu et al., 2012). Взаимовлияние гормонов на пути синтеза и передачи сигналов также было изучено на трансформированных вектором сверхэкспрессии (OE) *GID1c* мутантах яблони *M. domestica* (SH6) (Hao et al., 2019). Результаты показали, что OE *GID1c* не только приводило к усилиению экспрессии генов, связанных с биосинтезом и накоплением ГК₃, но и усиливало

экспрессию *BES1* в сигнальном пути брацциностероидов, что увеличивало их содержание. Также ОЕ *GID1c* активировал уровни транскриптов ауксинчувствительных генов *AUX* и *ARFa*, что способствовало накоплению ИПК и ИУК. Установлено, что *GID1c* может активировать уровни транскриптов связанных АБК-генов *ABI* и *NCED*, чтобы контролировать содержание АБК и влиять на рост растений. Было высказано предположение, что *GID1c* активирует первичные гены, участвующие в биосинтезе и метаболизме гормонов, и усиливает сорегуляцию гиббереллинов, брацциностериоидов, ауксинов и абсцизовой кислоты, участвующих в регулировании роста растений (Hao et al., 2019).

1.4.3. Липидный и жирнокислотный состав мембран растений в условиях засухи

Липиды и жирные кислоты играют важную роль в регуляции процессов жизнедеятельности растений. Синтез жирных кислот *de novo* идет в пластидах, дальнейшая их модификация и сборка ацильных липидов в эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях. Впоследствии, липофильные соединения распределяются внутри клетки и доставляются транспортными белками в места их назначения (Cassim et al., 2018). Основные липиды, входящие в состав плазматической мембраны растений, представлены в таблице 1:

Таблица 1

Основные липиды, входящие в состав плазматической мембраны растений (Cassim et al., 2018)

Класс липидов	Структурная формула	Название липида
1. Глицеролипиды: гальактолипиды, фосфолипиды		Триацилглицерид (ТАГ)

		Фосфатидилсерин (ФС)
2. Сфинго-липиды		Церамид
		Гликосфинголипид
		Гликозилинозитолфосфорилцерамид

3. Свободные и связанные фитостерины	 	β-Ситостерин (свободный фитостерин)
--	----------	---

Липиды – главные компоненты мембран (строение мембран и их функции будут рассмотрены ниже). Помимо этого, функциями липидов являются: запасающая – нейтральные липиды (ТАГ) в элайопластах составляют основную долю суммарных липидов и являются основным источником резервной энергии и углерода (Сидоров, Цыдендамбаев, 2014); защитная - входят в состав защитного слоя в виде углеводородов и восков. Уровень последних повышается в листьях при водном стрессе, что препятствует излишней потере воды (Cameron et al., 2006); транспортная – например, липиды – переносчики некоторых витаминов; регуляторная – транспорт воды, солей и регуляция активности некоторых ферментов. Простые липиды (жирные кислоты, жирные альдегиды, жирные спирты, сфингозиновые основания и др.) в основном являются предшественниками

сложных нейтральных и полярных липидов. Кроме того, свободные жирные кислоты выступают активными регуляторами многих процессов. Известно, например, что линоленовая кислота, входящая в состав галактолипидов, в хлоропластах может ингибировать электронный транспорт в ФСII путем смещения эндогенного хинона из хинонсвязывающих пептидов, а также блокирует увеличение поглощения (максимум при 320 нм) и фотоокисление первичного донора P680 (Scotti-Campos, Pham-Thi, 2017). Есть данные о том, что некоторые свободные жирные кислоты являются активными участниками митохондриальных процессов. Например, они регулируют работу ионных каналов и участвуют в разобщении окислительного фосфорилирования в митохондриях, что является механизмом адаптации к холодовому и окислительному стрессу (Грабельных и др., 2009). Еще более разнообразны регуляторные функции, выполняемые производными окисленных ненасыщенных жирных кислот, оксилипинами. Большая часть оксилипинов у цветковых растений образуется из линоловой и линоленовой кислот, из которых ферментативным превращением (липоксигеназой) синтезируются гидрокси- и эпокси- жирные кислоты, метаболиты алленоксидсингтазной ветви (жасмонаты), альдегиды, кетоны и др. оксилипины (Савченко и др., 2014). Оксилипины вовлечены в процессы роста и развития растений, а также в формирование ответных реакций организма на сигналы внешней среды. Так, оксилипины участвуют в переносе стрессовых сигналов, регулируют экспрессию стресс-индцируемых генов, а также взаимодействуют с многочисленными сигнальными путями в растительных клетках, включая сигнальные пути гормонов – ауксина, гиббереллина, этилена и абсцизовой кислоты. Например, жасмонаты традиционно рассматриваются как гормоны, защищающие растения от повреждений насекомыми и некротрофными микроорганизмами. Кроме того, они участвуют в процессах адаптации при абиотических стрессах, суть которых зачастую сводится к «переключению» растительного организма с режима роста на режим защиты, так как во многих случаях инициирование защитных процессов сопровождается торможением роста растения и ингибированием фотосинтеза (Савченко и др., 2014). Стерины – это еще один класс полифункциональных липидов, которые разнообразны по своему

строению. В растениях они могут находиться в свободном состоянии, как производные сложных эфиров, а также в виде стерилгликозидов и ацилстериолгликозидов, углеводных производных стеринов, наличие которых не характерно для животных клеток. Стерины оказывают упорядочивающее действие на структуру биологических мембран, выполняют важные регуляторные функции. Известно, что стерины являются предшественниками растительных гормонов брацисиостероидов, регулирующих рост и развитие растений, кроме того, стерины принимают непосредственное участие в трансмембранный трансдукции сигналов внутрь клетки, являясь составной частью липидных рафтов на которых локализуются ферментные и сигнальные комплексы (Валитова и др., 2016).

Как было сказано выше, первым защитным барьером от неблагоприятных факторов для листьев растений служат кутикулярные воски. Сама кутикула листа состоит из полиэфирной матрицы кутина и внутренних/поверхностных кутикулярных восков, образующих гидрофобную поверхность для защиты растений. Растительные кутикулярные воски представляют собой сложные смеси гидрофобных липидов, состоящие в основном из жирных кислот с очень длинной цепью (C₂₆–C₃₄) и их производных, состав которых варьирует у разных видов растений, их органов и тканей (Bernard, Joubès, 2013). Факторы окружающей среды (например, свет, температура и влажность) значительно влияют на состав воска. Неоднократно показано, что засуха увеличивает содержание и изменяет состав кутикулярного воска у арабидопсиса (Lee, Suh, 2014), пшеницы (Zhang et al., 2015) и других растений. В этих исследованиях установлено, что общее количество воска на единицу площади листьев у растений, находящихся под воздействием водного дефицита, увеличивалось более чем на 80%, а толщина кутикулы на 49%, по сравнению с контрольными растениями. Однако в других исследованиях было показано, что толщина слоя воска напрямую не связана с потерей воды (Xue et al., 2017). На засухоустойчивость растений влияет содержание длинноцепочечных алканов (с длиной цепи > C₂₉) (Panikashvili et al., 2007). Идентифицирован ген биосинтеза алкана *AtCER1*, связанный с реакциями стресса на засуху, и ген *AtCER6*, который активирует накопление воска при стрессе (Xue et al., 2017).

Известно, что устойчивость растений к неблагоприятным факторам окружающей среды определяется специфическими реакциями, зависящими от типа воздействия, и неспецифическими реакциями клетки, возникающими при действии любых стрессоров (Чиркова, 1997). В настоящее время установлено, что суть неспецифических реакций в большой степени сводится к изменениям в мембранных образованиях клетки. Именно мембрана становится первичной мишенью повреждающего воздействия, поэтому способность к сохранению целостности ее структуры является основой устойчивости клетки. Согласно первичной гипотезе жидкостно-мозаичного строения мембраны, мембрана – это динамическая структура, состоящая из бислоя липидных молекул, в котором гидрофобные концы жирных кислот (ЖК) обращены друг к другу, а гидрофильные головки образуют заряженный слой на поверхности мембран с белково-углеводными компартментами. Впоследствии, было введено понятие латеральной гетерогенности мембран, когда самосборка определенных липидов может способствовать агрегации белков и образованию молекулярных комплексов (рис. 9) (Yu et al., 2020). Устойчивость мембран связывают, в частности, с изменениями в составе их глицеролипидов (см. табл. 1).

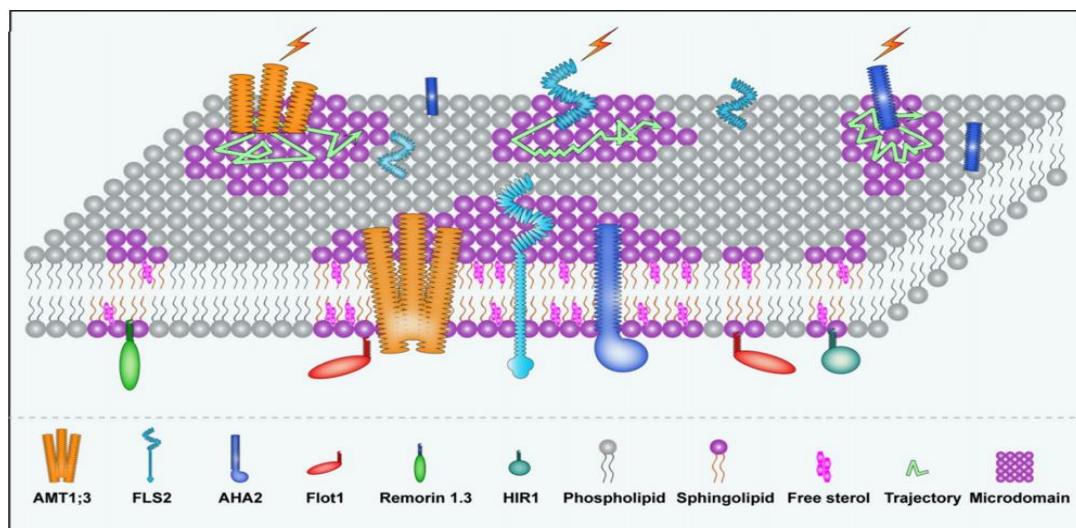


Рисунок 9. Плазматическая мембрана (ПМ) растительных клеток (Yu et al., 2020)

Примечание: В плазматической мембране существуют микродомены разных размеров, которые состоят из сфинголипидов, стеринов и специальных белков. Flot1, Remorin1.3, HIR1 – маркерные белки для разных микродоменов. В ответ на

раздражители сигнальные белки, такие как AMT1:3, FLS2 и AHA2 собираются в характерные микродомены для передачи сигналов.

Известно, что в хлоропластах моногалактозилдиглицериды (МГДГ) занимают около 50% от общего количества полярных липидов, дигалактозилдиглицериды (ДГДГ) – 30%, сульфохиновозиндиглицериды (СХДГ) от 5 до 10%, а фосфатидилглицериды (ФГ) – 10% (Dörmann, Hözl, 2009; Nakamura, 2010). Гликолипиды накапливаются в основном в пластидах, а за их пределами присутствуют в ограниченном количестве. Было показано, что они играют важную роль в стабилизации мембран тилакоидов, а МГДГ и ДГДГ входят в состав фотосинтезирующих пигмент-белковых комплексов для поддержания их активности (Stroebel et al., 2003). Например, МГДГ формирует и поддерживает структуру недвойного слоя для работы ксантофильного цикла (Aronsson et al., 2008). СХДГ входит в состав цитохром b_6f – комплекса и поддерживает его активность (Stroebel et al., 2003), а также стабильность работы донорно-акцепторного центра в ФСII в условиях высокотемпературного стресса (Sato et al., 2003; Minoda et al., 2003). СХДГ и ФГ являются анионными липидами и поддерживают определенный уровень рН в мембране.

В стрессовых условиях меняется не только количественный состав липидов, но и качественный и количественный составы входящих в их состав жирных кислот. ЖК больше всего подвержены влиянию внешнего воздействия, они относятся к самым быстро обновляемым липидным компонентам мембран (Чиркова, 1997). При действии стрессора могут происходить сдвиги в соотношении различных групп ЖК, изменение степени их ненасыщенности, которая определяет уровень подвижности липидного бислоя. Так, при отклонении температуры от нормальной в сторону повышения мембранные растягиваются, то есть возрастает подвижность липидных молекул в бислое и текучесть мембран увеличивается (рис. 10). Этот процесс может привести к разделению липидной фазы и полному разрушению мембранных структур. Может произойти полная или частичная дезинтеграция мембран с их хаотичным слиянием и образованием инвертированных фаз внутри (Лось, 2001а).

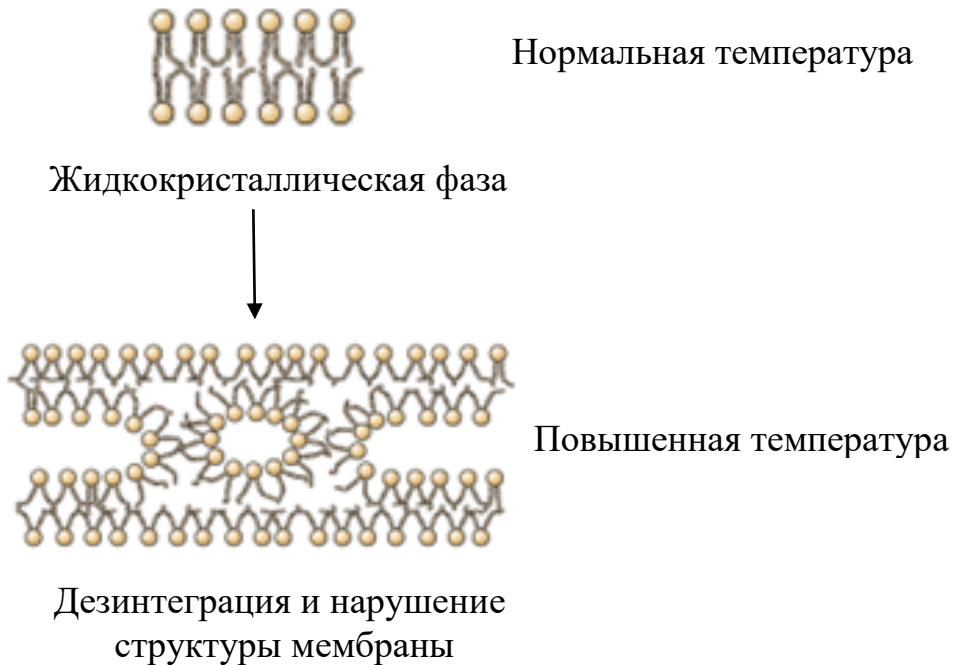


Рисунок 10. Изменение структуры и свойств мембран при повышении температуры (Лось, 2001 а)

Для предотвращения увеличения проницаемости мембраны при засухе и повышенных температурах в растении запускается ряд биохимических процессов, стабилизирующих бислой. К таким реакциям можно отнести активирование синтеза стрессовых белков теплового шока, часть из которых связывается с липидами и предотвращает их растекание (Vigh et al., 1998; Sakamoto, Murata, 2002), а также накопление низкомолекулярных осмолитов, например пролина (Matysik et al., 2002; Маевская, Николаева, 2013). Однако важным механизмом теплового регулирования является ограничение десатурации ЖК и стремление к уплотнению мембраны (Лось, 2001 б). Так, было показано, что трансгенные растения табака, в которых снижена экспрессия хлоропластной $\omega 3$ десатуразы и, следовательно, блокировано образование триеновых ЖК, оказались более устойчивыми к высоким температурам, чем представители дикого типа (Murakami, 2000).

У растений поддержание водного баланса в условиях засухи или гиперосмотическом стрессе – органоспецифично. В отношении липидов надземные и подземные органы одного и того же растения реагируют на

стрессовое воздействие по-разному (Попов и др., 2012; Цыдендамбаев и др., 2013). Для надземной части растений пластичность мембран при водном дефиците обуславливается высоким содержанием нейтральных липидов и насыщенных жирных кислот в целом, а также линоленовой кислоты (Асилбекова, Турсунходжаева, 2009). Снижение содержания МГДГ и увеличение содержания жирных кислот, содержащих менее 16 атомов углерода в хлоропластах, рассматривается, как общая стратегия адаптации растений к засухе, засолению и другим стрессам (Virdi, 2016; Liu et al., 2019). Для корней регулирование текучести бислоя характеризуется синтезом длинноцепочечных насыщенных кислот C20–C23 ряда (Yili et al., 2006). Изменение скорости роста и развития корневой системы – одна из наиболее важных реакций, обеспечивающих адаптацию растений к дефициту воды (Веселов и др., 2015). Поэтому изучение содержания липидов и их жирнокислотного состава не только в листьях, но и в корнях, является важным аспектом для выяснения причин формирования карликовости у растений в условиях водного дефицита.

1.4.4. Особенности аминокислотного состава растений в условиях засухи

Аминокислоты играют важную роль в растениях. Являясь строительными блоками для ферментов и белков, они участвуют в метаболизме растений. Кроме того, они служат предшественниками или донорами азота для синтеза большого количества соединений, имеющих решающее значение для развития растений, включая нуклеотиды, хлорофилл, гормоны и вторичные метаболиты (Tegeder, 2012). В целом, аминокислоты, синтезируемые растениями, подразделяются на 2 категории: 1) 20 протеиногенных, т.е. входящих в состав белков, и 2) свыше 200 непротеиногенных, которые встречаются в свободном состоянии. Многие из 20 белковых аминокислот производятся в пластидах корней или листьев, но они также синтезируются в других клеточных компартментах, включая цитозоль, митохондрии и пероксисомы (Tegeder, 2012). Пути биосинтеза протеиногенных аминокислот представлены на рис. 11.

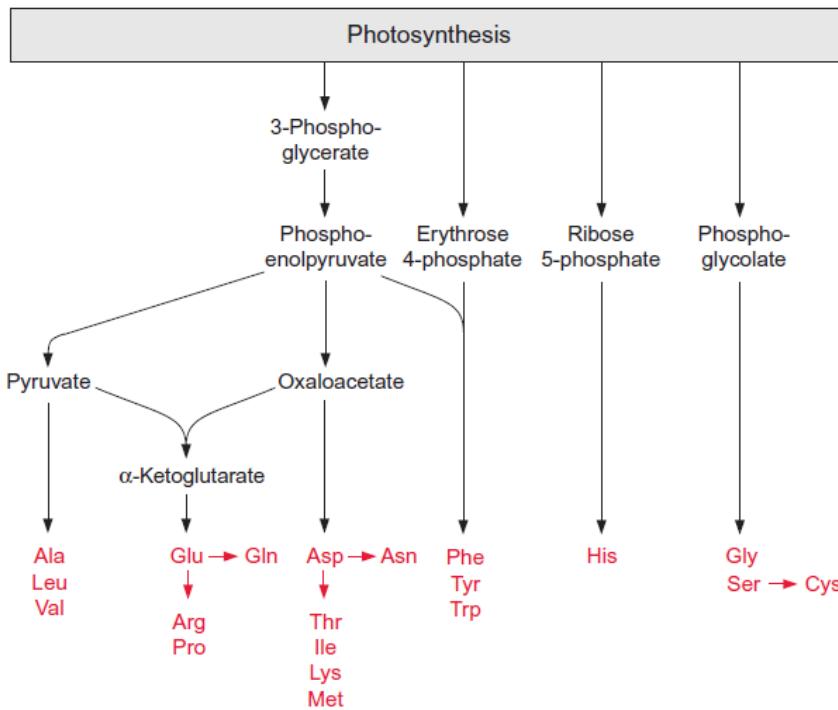


Рисунок 11. Пути биосинтеза протеиногенных аминокислот (Heldt et al., 2011)

Примечание: на рисунке представлены пути биосинтеза протеиногенных аминокислот: Ala – L-аланин, Leu – L-лейцин, Val – L-валин, Glu – L-глутамат, Gln – L-глутамин, Arg – L-аргинин, Pro – L-пролин, Asp – L-аспартат, Asn – L-аспарагин, Thr – L-треонин, Ile – L-изолейцин, Lys – L-лизин, Met – L-метионин, Phe – L-фенилаланин, Tyr – L-тироzin, Trp – L-триптофан, His – L-гистидин, Gly – L-глицин, Ser – L-серин, Cys – L-цистеин.

Аминокислоты помимо транспортной, запасной и субстратной функций могут находиться в растительной клетке в свободном состоянии. Функции свободных аминокислот разнообразны. Выделяют группу «стессовых» аминокислот, которые принимают участие в неспецифическом ответе растительного организма на стрессоры различной природы. К ним относятся аланин, фенилаланин, γ-аминомасляная кислота, пролин (Епринцев и др., 2003; Chaves et al., 2003).

Известно, что в процессе адаптации растений к кратковременному и длительному водному дефициту важная роль принадлежит низкомолекулярным осмолитам, таким, как аминокислоты, сахара, спирты, бетаины, благодаря которым

при изменении осмоса обмен веществ в организме остается неповрежденным. Свободные аминокислоты в этом случае обеспечивают регуляцию осмотического давления, детоксикацию свободного амиака, поставку углеводородных скелетов для энергетического метаболизма и др.

Особое место в группе протекторных аминокислот занимает пролин (рис. 12). На сегодняшний день увеличение содержания пролина зарегистрировано при действии стрессоров разной природы: тяжелых металлов (Гаджиева и др., 2010; Елькина, 2014), фитопатогенов (Котляров, Багрянцев, 2013), при окислительном стрессе (Сошинкова и др., 2013), при действии ультрафиолета (Matysik et al., 2002) и др.. Другими словами, пролин участвует в обеспечении поддержания клеточного гомеостаза и его перехода в новое адаптивное состояние (Кузнецов и др., 1999; Колупаев и др., 2014). Большее число работ посвящено осмопротекторным свойствам пролина в условиях засухи, засоления и других факторов, в основе которых лежит понижение водного потенциала клеточного сока (Келес, Онсел, 2004; Гаджиева и др., 2010; Стаценко и др., 2014; La et al., 2018; Alhasnawi, 2019).

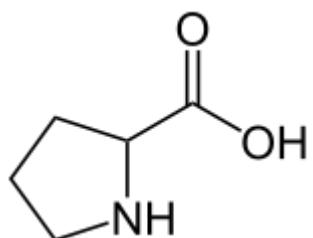


Рисунок 12. Структурная формула пролина (Пролин [сайт], обновление в 2023 г)

Пролин (пирролидин- α -карбоновая кислота) – это гетероциклическая аминокислота, в которую атом азота входит в составе вторичного амина. Пролин является иминокислотой, сочетающей в себе функции стрессового метаболита и соединения, задействованного в регуляции клеточных процессов. Пролин в растениях может синтезироваться двумя путями: глутаматным и орнитиновым. Считается, что синтез пролина, индуцированный действием стрессоров, происходит в основном по глутаматному пути (Heldt et al., 2011; Liang et al., 2013; Колупаев и др., 2014). Ключевым ферментом этого пути является Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатсинтаза, локализованная в цитоплазме и хлоропластах.

Молекулы пролина за счет гидрофильных и гидрофобных групп способны образовывать агрегаты, которые ведут себя как гидрофильные коллоиды и связываются с поверхностными гидрофобными остатками белков. Предполагается, что эти свойства пролиновых агрегатов обладают более высокой стресс-протекторной эффективностью при уменьшении водного потенциала клеточного сока и увеличении концентраций солей, чем другие осмолиты, например сахара (Кузнецов, Шевякова, 1999). Увеличение содержания пролина при действии стрессоров может быть связано как с изменениями активности ферментов его синтеза, так и с усилением процессов катаболизма. Предполагают, что многократное увеличение концентрации свободного пролина в клетках растений (в десятки раз) является показателем стрессового состояния организма (Perez-Alfocea, Larher, 1995; Стаценко и др., 2014), а его протекторные свойства опосредованы антиоксидантной активностью (Яхин и др., 2012). Было показано, что накопление пролина в клетках более устойчивых растений к засухе и засолению было выше (Келес, Онсел, 2004). Следовательно, изучение содержания в карликовой и высокорослой яблоне стрессовых аминокислот, в частности пролина, в условиях засухи может быть актуальным для данного исследования.

Выводы из литературного обзора

Необходимым этапом выяснения возможных причин формирования карликовой формы *M. baccata* на территории лесостепного экотона (Селенгинский район, республика Бурятия) является анализ природно-климатических особенностей этого местообитания. В первую очередь тех, которые могут повлиять на потенциал роста деревьев. Для выяснения путей формирования карликового габитуса растений при действии неблагоприятных климатических факторов необходимо изучение тех физиолого-биохимических процессов, для которых известно влияние на ростовые процессы. При анализе литературы по этому вопросу можно выделить возможные направления исследований, которые могут пролить свет на участие критически важных физиологических и биохимических процессов в формировании карликовости у растений яблони сибирской. С нашей точки зрения такими процессами являются:

1. Фотосинтез, как основной процесс, обеспечивающий накопление биомассы растения, и, в целом, ростовые процессы. Фотосинтез особенно чувствителен к водному дефициту.

2. Баланс фитогормонов, поскольку он является важнейшим фактором, регулирующим рост и развитие растений. Мы полагаем, что водный дефицит может быть одной из причин карликовости яблони сибирской в изучаемом регионе. Поэтому различия в гормональном составе тканей карликовой и высокорослой яблони могут быть показателями адаптационных процессов, так как засуха вызывает значительное накопление абсцизовой кислоты, влияющей на механизм закрывания устьиц и индуцирующей синтез стрессовых белков. Наряду с этим может происходить снижение уровня ауксинов и гиббереллинов, регулирующих рост растения.

3. Липидный и жирнокислотный состав, в том числе степень ненасыщенности жирных кислот. Изменения в этих показателях характеризуют пластичность клеточных мембран. Они индуцируют запуск адаптивно-приспособительных реакций. Таким образом, жирнокислотный и липидный состав тканей является характерным показателем стрессоустойчивости растений. Поэтому сравнительный анализ этих показателей может дать информацию о различиях в реакции высокорослых и карликовых растений на условия водобез обеспеченности.

4. Свободные аминокислоты. Известно, что свободные аминокислоты являются низкомолекулярными осмолитами, в частности, показано, что содержание пролина в условиях водного дефицита резко возрастает. Поэтому содержание свободных аминокислот, в том числе пролина, может служить маркером стрессового состояния изучаемых растений, вызванного засухой.

Комплексное изучение вышеназванных параметров позволит приблизиться к пониманию физиолого-биохимических путей формирования карликовости у яблони сибирской, вызванной условиями произрастания.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

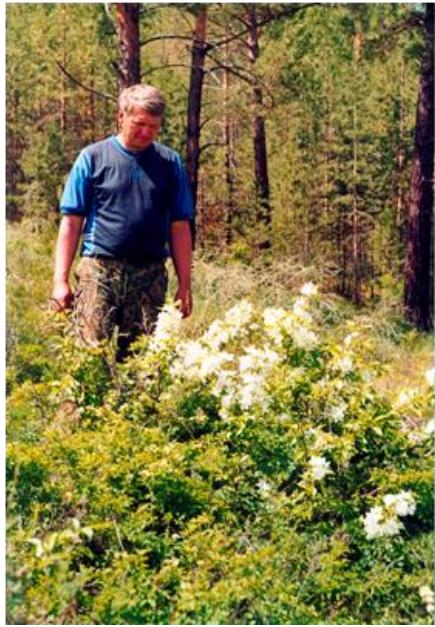
2.1. Объекты исследования

Объектами исследования служили карликовые и высокорослые деревья *M. baccata*, произрастающие на территории республики Бурятия в Селенгинском районе. В отличие от лесостепных районов, для которых характерно произрастание высокорослой формы яблони сибирской, карликовые обнаружены в подлеске редкостойного соснового леса.

1. Одна из форм яблони представляет собой суперкарликовое растение, которое произрастает в долине реки Загустай у подножья южного склона Хамбинского хребта Гусиноозерской котловины в окрестностях сёл Загустай и Ягодное. Популяция очень малочисленна и насчитывает всего 12 растений. Возраст самого высокого растения (110 см) составляет 22 года к моменту проведения исследований (рис. 12а), диаметр ствола – 2,2 см. Развитие прикорневых побегов у взрослых растений придает дополнительную кустистость описываемой форме. Кора на стволе серая, скелетные ветки коричневые с серым налетом сверху. Побеги голые, тонкие, красновато-коричневые. Почки красно-коричневые, острояйцевидные. Листья 3–5 см длиной и 1,5–3 см шириной, цельные, светло-зеленые, неопущенные, овальные или слегка яйцевидные, острые, с городчатой формой края. Черешки листьев тонкие, до 3 см длиной. У листьев яблони описываемой формы отсутствует быстрое сужение на верхушке листа, обычно характерное для *M. baccata*, произрастающей в Иркутской области и Бурятии (Рудиковский и др., 2008).

2. Высокорослая яблоня (рис. 12б), произрастающая также в районе с. Ягодное, ранее входила в группу искусственных насаждений, однако со временем одичала и, размножаясь корнеотпрысками, образовала куртину, которую принимают за дикорастущую заросль. Средняя высота деревьев составляет 3 м. Возраст растений 30 лет (на момент времени обнаружения 2003 г.), диаметр ствола 19–25 см (Рудиковский и др., 2008).

Изучали каждую из этих форм яблони, произрастающих на территории экспериментального участка СИФИБР СО РАН г. Иркутска, куда они были пересажены в 2003 г.



а



б

Рисунок 12. Карликовая (а) и высокорослая (б) формы *M. baccata* в Селенгинском районе республики Бурятия

Для анализа использовали свежий материал, либо образцы, хранившиеся до анализа в жидком азоте. А также в отдельных случаях лиофильно высушенные с помощью установки «Иней» (Россия) и хранившиеся при температуре -80°C .

2.2. Методы исследования

2.2.1. Характеристика района исследования

Данные по климатическим показателям на период исследования были взяты с интернет портала www.rp5.ru (Расписание погоды [сайт], 2004).

Влагоемкость почвы измеряли по стандартному методу трубок (Козлова, 2009). Весовую влажность почвы при полной полевой влагоемкости (ППВ) и процент от ППВ вычисляли по формуле:

$$\% \text{ ППВ} = \frac{(\bar{\sigma} - \sigma)}{(\bar{\sigma} - a)} \cdot 100,$$

где: a – масса бюкса, г; $\bar{\sigma}$ – масса бюкса с сырой почвой, г; σ – масса бюкса с абсолютно сухой почвой, г; $(\bar{\sigma} - \sigma)$ – масса воды, г; $(\bar{\sigma} - a)$ – масса сухой почвы, г.

Результаты измерения влажности почвы представлены как средние значения из 5–10 повторностей и их стандартные отклонения. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы MS Excel, коэффициент вариации $V \leq 33\%$. Однородность выборки и достоверность различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью t-критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$).

2.2.2. Измерение параметров роста яблони

Для детального исследования параметров роста яблони сибирской в процессе вегетации корневые отпрыски карликовой и высокорослой форм, произрастающих вблизи с. Ягодное, были пересажены в более благоприятные климатические условия на территорию экспериментального участка СИФИБР СО РАН г. Иркутск (природно-климатическая характеристика участка в п.3.1). Все пересаженные деревьяросли без полива и в первые два года их обрезали для формирования одностольного дерева с вертикальным стволом. Морфометрические измерения проводили на трехлетних растениях. Высоту дерева измеряли в м; длину прироста однолетних побегов, а также диаметр штамба – в см.

2.2.3. Количественный анализ пигментов

Для определения состава фотосинтетических пигментов в июне были отобраны образцы полностью сформировавшихся листьев с хорошо освещенной средней части кроны у карликовой и высокорослой яблонь, произрастающих в с. Ягодное и г. Иркутске. Извлечение общих пигментов и β -каротина проводили ацетоном и петролейным эфиром по методу (Туманов, Чирук, 2007). Навеску листа без дефектов, черенков и центральной жилки массой 0,1 г тщательно гомогенизировали в ступке. Для нейтрализации органических кислот и обезвоживания образца добавляли смесь солей Na_2SO_4 и CaCO_3 (1 г и 0,02 г, соответственно). В однородную порошкообразную массу для экстракции фотосинтетических пигментов добавляли 15 мл ацетона (безводного) с диэтилдитиокарбаматом натрия (ДТК) (20 мг/л). Полученную гомогенную смесь отфильтровывали на воронке Бюхнера через фарфоровый фильтр (\varnothing пор 41) совместно с бумажным. Для удаления остатков солей фильтрат центрифугировали

в течение 5 мин при 10000 g, 4 °C на центрифуге Allegra 64 R (Beckman, США), супернатант доводили до объёма 20 мл ацетоном. Отдельно от основных фотосинтетических пигментов выделяли β-каротины. Навеску листа 0,1 г тщательно растирали в фарфоровой ступке со смесью солей Na_2SO_4 и CaCO_3 (1 г и 0,02 г, соответственно) до однородной порошкообразной массы. Затем добавляли петролейный эфир (безводный) и экстрагировали β-каротин, помешивая. Далее смесь фильтровали на воронке Бюхнера через фарфоровый фильтр совместно с бумажным. Полученный фильтрат выпаривали под вакуумом. Сухой остаток перерастворяли в 3 мл ацетона.

Содержание каротиноидов оценивали спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-56 (Чехия) в диапазоне длин волн 350–750 нм.

Реактивы и посуду перед использованием охлаждали в холодильнике. Экстракты пигментов хранили в холодильнике в морозильной камере при температуре –20 °C до начала анализа.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Sigma Plot_11 по методу расчета спектрального распределения максимумов гауссовых пиков (GPS) (Kupper et al., 2007). Анализ проб проводили в 4–7 биологических повторностях. Концентрации пигментов рассчитывали по формуле:

$$m = C \cdot M \cdot V,$$

где: m – масса вещества, г; C – количество вещества, моль/л; M – молярная масса вещества, г/моль; V – объем раствора, л.

Долю хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) рассчитывали по соотношению (Головко и др., 2007):

$$(1,2b+b)/\Sigma(a+b),$$

где a – хлорофилл a, b – хлорофилл b.

Считали, что практически весь хлорофилл b находится в ССК, а соотношение хлорофиллов a и b в этом комплексе равно 1,2:1,0 (Lichtenthaler, 1987).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью методов математической статистики в программах MS Excel и SigmaPlot_11. В таблицах представлены средние значения 4–7 биологических повторностей и их стандартные ошибки. Однородность выборки проверяли по методу Шапиро-Уилка,

достоверность различий полученных значений определяли с помощью U-критерия (Манна-Уитни) ($p \leq 0,01$).

2.2.4. Измерение флуоресценции хлорофилла

Измерение флуоресценции хлорофилла *a* проводили на деревьев яблони в с. Ягодное и г. Иркутске в утренние часы (9-11 ч), в полуденные часы (12-14 ч) и вечером (19-20 ч). Для анализа использовались листья со средней части растений, полностью развитые, без признаков поражения. Измерение проводили с помощью портативного импульсного флуориметра PAM-2500 («Walz, Effelrich», Германия). Для регистрации минимального уровня флуоресценции (F_0), листья, затемненные в течение 30 мин, освещали модулированным измерительным светом низкой частоты (5 Гц) и низкой интенсивности (630 нм). Интенсивность флуоресценции хлорофилла при закрытых реакционных центрах (F_m) измерялась после воздействия импульса света высокой интенсивности (25000 мкмоль/($m^2\cdot s$), 630 нм).

Максимальный квантовый выход фотосистемы II (F_v/F_m) рассчитывали по формуле:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

Коэффициент нефотохимического тушения $Y(NPQ)$ вычисляли по формуле:

$$Y(NPQ) = (F_m - F_m')/F_m',$$

где: F_m' – интенсивность флуоресценции хлорофилла во время насыщающей вспышки, созданной на фоне постоянно действующего актиничного света (адаптированные к свету листья).

Также рассчитывали реальный квантовый выход фотосистемы II ($Y(II)$) в адаптированном к свету состоянии. Для этого проводилась регистрация изменений показателей флуоресценции хлорофилла *a* под действием актиничного (действующего) красного света 677 мкмоль/($m^2\cdot s$), поддерживающего фотосинтез:

$$Y(II) = F_m' - F_s/F_m',$$

где: F_s – стационарный уровень флуоресценции хлорофилла *a* на адаптированных к свету листьях.

Относительную скорость транспорта электронов фотосистемы II (ETR) рассчитывали по формуле:

$$ETR=Y(II)\cdot Q\cdot 0,84\cdot 0,5,$$

где: Q – плотность фотосинтетического потока фотонов, мкмоль/($m^2\cdot c$); 0,84 – доля поглощенного света; 0,5 доля энергии возбуждения, попадающей на ФСП (Рибейро и др., 2008; Гольцев и др., 2016).

Обработку полученных результатов проводили с помощью методов математической статистики в программе MS Excel. В таблицах представлены средние значения 5–10 биологических повторностей и их стандартные отклонения. Коэффициент вариации $V \leq 33\%$, Однородность выборки и достоверность различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью t -критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$).

2.2.5. Биотесты

Биологическая проба на гиббереллины. О содержании в тканях эндогенных гиббереллинов можно судить по способности растительного экстракта, содержащего фитогормоны, увеличивать рост карликовых растений, например гороха.

Для выделения растительного экстракта, содержащего гиббереллины, листья карликовой и высокорослой яблони сибирской фиксировали жидким азотом и хранили при $-70\ ^\circ C$ до начала анализа. Навеску листьев (1,5 г) гомогенизировали в жидким азоте. Гормоны экстрагировали 80% раствором метанола в дистиллированной воде, центрифугировали и очищали от пигментов методом твердофазной экстракции на патронах C18 Sep-Pak (Waters, Ирландия). Для этого через два последовательно соединенных патрона пропускали: 5 мл метанола 100%; 5 мл 0,5% раствора муравьиной кислоты в дистиллированной воде; экстракт (0,5% раствор муравьиной кислоты в метанольном экстракте из листьев яблони). Очищенный экстракт собирали в круглодонную колбу, метанол выпаривали под вакуумом досуха, остаток разбавляли водой.

Биотест проводили на семенах карликового гороха сорта Шустрик согласно методике (Бояркин, Дмитриева, 1966). Семена предварительно промывали теплой водой с мылом, обрабатывали 3% раствором перекиси водорода в воде. Затем заливали прокипяченной и остуженной до температуры $60\ ^\circ C$ дистиллированной

водой и оставляли для набухания на 6 часов в термостате при 26 °С. Подготовленный горох раскладывали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, заранее смоченную в экспериментальной среде. В качестве экспериментальных сред использовали: водный раствор экстракта листьев карликовой и высокорослой яблони, стандартные растворы гибберелловой кислоты (Sigma Aldrich, Великобритания) в концентрациях: 0,0001%, 0,00001% и 0,000001%. В качестве контроля использовали одновозрастные растения, выращенные на десионизированной воде. Горох выращивали в вегетационной камере в течение 4 суток, в темноте, при 26 °С и относительной влажности 80%. По окончании опыта измеряли длину проростков с точностью до 1 мм. Каждый эксперимент проводили в 16-ти биологических повторностях.

Средние значения и их стандартные отклонения, нормальность распределения выборки (критерий Шапиро-Уилка), а также достоверность различий сравниваемых средних значений (критерий Манна-Уитни, $p \leq 0,01$) вычисляли с помощью программных пакетов MS Excel и SigmaPlot.

Экзогенное нанесение гиббереллина. Опыт по установлению гиббереллин-зависимости карликовой формы яблони сибирской проводили на карликовых деревьях (пересаженных на экспериментальный участок СИФИБР СО РАН г. Иркутск) с помощью биотеста дважды: в 2013 и 2015 гг. (в июне и июле, соответственно). В первом эксперименте использовали по 12 конусов нарастания для контрольной и опытной групп, во втором – по 19 конусов. Изначально отмечали точку отсчета, отметку ставили на расстоянии 15 см от верхушки. На конусы нарастания наносили по 10 мкг гибберелловой кислоты (Sigma Aldrich, Великобритания) в водном растворе Твин-20. Контроль обрабатывали 10 мкл водного раствора Твин-20. Обработка проводилась один раз в неделю в течение месяца, вечером в 18 часов в ясную погоду. Первое измерение проводили в конце месяца, а через неделю – повторное накопительное, которое позволяет количественно оценить влияние гиббереллина.

Результаты представлены в виде средних значений длины прироста и их стандартных отклонений, см. Однородность выборки и достоверность различий

сравниваемых средних значений оценивали с помощью t-критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$).

2.2.6. Количественный анализ абсцизовой и индолилуксусной кислот

Для анализа брали образцы верхушечных почек и молодых разворачивающихся листьев карликовой и высокорослой дикорастущей (с. Ягодное) и пересаженной в более благоприятные условия (г. Иркутск) яблони. Пробы коры (флоэмная часть и часть камбия) и завязи (плод целиком с кожурой и семенами) обеих форм отбирали на экспериментальном участке СИФИБР СО РАН в период их активного роста.

Навеску образца без видимых дефектов массой 1 г гомогенизировали в ступке с жидким азотом. Затем добавляли 80% метиловый спирт с ДТК (диэтилдитиокарбамат натрия) (20 мг/л) и 10 мкг внутреннего стандарта – 4-метоксибензойной кислоты (Fluka, США). Фитогормоны экстрагировали 10 мин в УЗ-ванне (Сапфир, Россия) со льдом в затемненных условиях. Затем раствор центрифугировали 15 мин при 4 °C и 20000 g на центрифуге Allegra 64 R (Beckman, США). Супернатант подкисляли муравьиной кислотой до 0,5% раствора. Экстракт очищали методом твердофазной экстракции (ТФЭ) с помощью сдвоенного патрона Sep-Pak C18 (Waters, Ирландия). Поочередно пропускали через патроны: 5 мл метанола 100%, 5 мл раствора муравьиной кислоты в воде 0,5%, экстракт (0,5% раствор муравьиной кислоты в супернатанте). Последнюю фракцию выпаривали на роторном испарителе RVO-64 (Чехия) при 30 °C. Сухой остаток перерастворяли в 5 мл раствора муравьиной кислоты в воде 1%.

Для концентрации и выделения фитогормонов использовали патрон Oasis MAX 6cc (Waters, США), поочередно пропуская: 5 мл метанола 100%, 5 мл воды деионизированной, 5 мл пробы (сухой остаток в растворе муравьиной кислоты в воде 1%), 5 мл раствора гидроксида аммония в воде 5%, 5 мл метанола 100%, 10 мл раствора муравьиной кислоты в метаноле 2%. Последнюю фракцию выпаривали, к сухому остатку добавляли 300 мкл этилацетата (Экос-1, Россия), 100 мкл бис(trimethylsilyl)ацетамида (Sigma-Aldrich, Швейцария) и 100 мкл

тексаметилдисилоксана (Sigma, Германия). Смесь силилировали 30 мин при 70 °С в сушильном шкафу Binder (Германия).

Анализ триметилсилильных (TMS) производных фитогормонов проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890NMSD/DS Agilent Technology (США). Для разделения использовали капиллярную колонку HP-5MS (30 м × 250 мкм × 0,25 мкм). Неподвижная фаза – 5% фенилметилсилоксан. Подвижная фаза – гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Температура испарителя 250 °С, источника ионов 230 °С, детектора 150 °С. Энергия ионизации 70 Эв. Регистрацию ионов проводили в режиме поиска индивидуальных масс (SIM). Идентификацию фитогормонов проводили по характерным масс-спектрам стандартных соединений в библиотеке NIST 08.

Количественное содержание фитогормона рассчитывали по методу внешней калибровки с учетом отклика внутреннего стандарта по следующей формуле:

$$C_{\phi_e} = \frac{(C_{cm} \cdot S_{\phi_e})}{(a \cdot S_{cm} \pm b \cdot S_{\phi_e})},$$

где C_{ϕ_e} – концентрация фитогормона, мкг/г сух. массы; C_{cm} – концентрация стандарта, мкг/г; S_{ϕ_e} и S_{cm} – площади пиков на хроматограмме фитогормона и стандарта соответственно; a и b – калибровочные коэффициенты.

Данные представлены в таблице, как средние значения из 45 биологических повторностей и их стандартные отклонения. Коэффициент вариации $V \leq 33\%$. Однородность выборки и достоверность различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью t -критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$) с помощью программных пакетов MS Excel и SigmaPlot.

2.2.7. Количественный анализ жирных кислот

Для определения липидного и жирнокислотного состава тканей обеих форм яблони, произрастающей в естественных условиях (с. Ягодное) и на экспериментальном участке СИФИБР СО РАН (г. Иркутск) в июне были отобраны пробы листьев и корней, а в сентябре – плодов. В период, когда исследуемые образцы тканей полностью сформировались.

Экстракция липидов. Экстракцию липидов проводили по классическому методу Фолча (Folch et al., 1957). Навеску образца (лист, корень, плод) без видимых дефектов массой 0,5 г гомогенизировали в ступке с жидким азотом, добавляли 10 мкг внутреннего стандарта (жирной кислоты C19 Sigma (США)), смесь хлороформ:метанол (2:1) с добавлением ионола в качестве антиоксиданта (из расчета 0,00125 г на 100 мл смеси хлороформ:метанол). Смесь тщательно перемешивали и оставляли на 30 мин до полной диффузии липидов в растворитель. Количество переносили раствор в делительную воронку через фильтр. После полного расслаивания фаз, нижнюю хлороформную фракцию отбирали в круглодонную колбу и выпаривали растворитель досуха с помощью роторного испарителя RVO-64 (Чехия) при температуре $T < 40$ °C. Сухой липидный остаток взвешивали с помощью электронных весов GR-120 (A&D Company Ltd., Япония) и герметично хранили в морозильной камере при температуре -20 °C не более двух месяцев.

Метилирование жирных кислот. Для получения метиловых производных жирных кислот использовали кислотный катализ (Christie, 1993). Для этого к сухому липидному остатку добавляли 2 мл 1% раствора серной кислоты в метаноле и метилировали пробы с обратным холодильником на водяной бане при температуре 80 °C в течение 30 мин. Затем пробу охлаждали и добавляли 1 мл 5% раствора хлорида натрия в воде. Метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) трижды экстрагировали гексаном по 2 мл. Гексановый экстракт выпаривали с помощью роторного испарителя RVO-64 (Чехия) при температуре $T < 40$ °C досуха и прерастворяли в 200 мкл хлороформа.

Очистка метиловых эфиров жирных кислот. От пигментов, фталатов и других примесей избавлялись с помощью preparative тонкослойной хроматографии в камере с бензолом в качестве подвижной фазы (Morrison, Smith, 1964). Для этого, МЭЖК, растворенные в 200 мкл хлороформа, наносили с помощью микропипетки (Ленпипет, Россия) тонкой полоской на нижнюю часть пластины Sorbfil (Россия) 10 × 5 см. После высыхания, пластину погружали в камеру для тонкослойной хроматографии и выдерживали до полного прохождения элюента. В качестве элюента использовали бензол (ЗАО «Реактив», Россия). Для

визуализации зоны МЭЖК пластиинки обрабатывали 10% раствором серной кислоты в этаноле и нагревали на плитке при 100 °C. Зону МЭЖК (фактор удерживания $R_f=0,71\text{--}0,73$) удаляли с пластиинки шпателем и элюировали с силикагеля хлороформом.

Анализ. Анализ метиловых эфиров жирных кислот проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890NMSD/DSAgilentTechnology (США). Для разделения использовали капиллярную колонку HP-INNOWAX ($30\text{ м} \times 250\text{ мкм} \times 0,50\text{ мкм}$). Неподвижная фаза – полиэтиленгликоль. Подвижная фаза – гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Температура испарителя 250 °C, источника ионов 230 °C, детектора 150 °C. Диапазон сканирования 41–450 а.е.м. Объем вводимой пробы – 1 мкл, разделение потоков 5:1. Хроматографирование выполняли в изократическом режиме при 200 °C. Регистрацию проводили по полному ионному току (режим SCAN).

Идентификация и расчет интегральных показателей. Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот проводили по временам удерживания компонентов стандартной смеси FAME mix C8–C24 Supelco (США) и библиотеке масс-спектров NIST 08. Относительное содержание каждой жирной кислоты рассчитывали в процентах от суммарного содержания всех жирных кислот в пробе.

Расчет основных интегральных показателей жирнокислотного профиля суммарных липидов проводили по известным формулам (Lyons et al., 1964). Для оценки степени ненасыщенности жирных кислот в составе суммарных липидов использовали индекс ненасыщенности (индекс двойной связи - ИДС), который рассчитывали по формуле:

$$\text{ИДС} = \sum P_j \cdot n_j / 100,$$

где: P_j – содержание кислоты, %; n_j – число двойных связей в кислоте.

Также определяли сумму насыщенных ($\Sigma\text{НЖК}$) и ненасыщенных ($\Sigma\text{ПНЖК}$) жирных кислот и их соотношение $\Sigma\text{ПНЖК}/\Sigma\text{НЖК}$.

Данные в таблицах представлены в виде средних значений из 4–6 биологических повторностей и их стандартных отклонений. Коэффициент вариации $V \leq 33\%$. Однородность выборки и достоверность различий сравниваемых

средних значений оценивали с помощью t-критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$) с помощью программных пакетов MS Excel и SigmaPlot.

2.2.8. Разделение липидов на классы

Тонкослойная хроматография. Для качественного подтверждения состава нейтральных липидов в листьях и корнях яблони использовали классическую методику М. Кейтса (Кейтс, 1975). В качестве образцов сравнения использовали липидный экстракт говяжьей печени и стандартные соединения: нонадекановая кислота (Nonadecanoic acid, Sigma (Швейцария)), смесь триглицеридов (Triglyceride Mix, Supelco (США)), смесь моноглицеридов (Monoglyceride Stock Solution, Supelco (США)). Образцы липидов точечно наносили на нижнюю часть пластины Sorbfil (Россия) 10×7 см, в качестве элюэнта использовали систему для разделения - гексан:диэтиловый эфир:уксусная кислота (80:20:1). Для визуализации зоны липидов пластиинки обрабатывали 10% раствором серной кислоты в этаноле и нагревали на плитке при 100°C до проявления темных пятен. R_f (фактор удерживания вещества в хроматографии) пятен липидов рассчитывали по формуле:

$$R_f = l/L,$$

где l – расстояние, пройденное веществом, L – расстояние, пройденное растворителем.

Идентификацию липидов осуществляли путем сравнения R_f полученных пятен с R_f пятен стандартов.

Колоночная хроматография. Для разделения липидного экстракта на основные классы: фосфо-, глико- и нейтральные липиды, использовали классическую методику М. Кейтса, предварительно подготовив колонку, как указано в (Кейтс, 1975), с высотой слоя адсорбента 16 см. В качестве адсорбента использовали силикагель КСК (100–200 меш) (Реахим, Россия). Наносили липидный экстракт из листьев яблони и поочередно смывали нейтральные липиды, гликолипиды и фосфолипиды 10 мл хлороформа (Экос-1, Россия), 40 мл ацетона (Экос-1, Россия) и 10 мл метанола (Вектон, Россия), соответственно. Полученные фракции высушивали на роторном испарителе RVO-64 (Чехия) и определяли массу липидов на электронных весах GR-120 (A&D Company Ltd., Япония).

Относительное содержание каждого липида рассчитывали в процентах от суммарного содержания всех липидов в пробе.

2.2.9. Количественный анализ свободных аминокислот

Аминокислотный анализ проводили на июньских и июльских листьях карликовой и высокорослой яблонь, произрастающих на участке СИФИБР СО РАН. Навеску листьев 0,1 г гомогенизировали в ступке с жидким азотом, с добавлением горячего (60 °C) 80% этанола и экстрагировали аминокислоты 15 мин при периодическом помешивании. В качестве внутреннего стандарта добавляли 10 мкг норвалина (Biochemical, Англия). Свободные аминокислоты экстрагировали 1 мин на УЗ-ванне (Сапфир, Россия), затем отфильтровывали и очищали от пигментов с помощью хлороформа. Очищенный водно-спиртовой экстракт выпаривали досуха на роторном испарителе RVO-64 (Чехия) при 50 °C, добавляли 500 мкл этилацетата и 200 мкл N,O-(бистриметилсилил)трифторацетамид (BSTFA)/триметилхлорсилан (TMCS) 1% (Fluka, Швейцария). Пробу силирировали в течение 40 мин при 70 °C. ТМС-производные аминокислот анализировали на хромато-масс-спектрометре 7000/7890A Triple Quad Agilent Technology (США). Для разделения использовали капиллярную колонку HP-5MS (30 м×250 мкм×0,25 мкм). Неподвижная фаза – 5% фенилметилсилоксан. Подвижная фаза – гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Разделение потоков 5:1 (Split). Энергия ионизации 70 Эв. Объем вводимой пробы 1 мкл. Идентификацию пиков проводили по временам удерживания стандартных соединений аминокислот и с помощью библиотеки масс-спектров NIST 8.0.

Количественное содержание аминокислот рассчитывали по методу внешней калибровки с учетом отклика внутреннего стандарта по формуле, указанной в п. 2.2.6.

Данные представлены в таблице, как средние значения из 3–5 биологических повторностей и их стандартные отклонения. Коэффициент вариации $V \leq 33\%$, нормальность распределения выборки (критерий Шапиро-Уилка), а также достоверность различий сравниваемых средних значений (критерий Манна-Уитни, $p \leq 0,01$) вычисляли с помощью программных пакетов MS Excel и R-статистика.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Условия произрастания *Malus baccata* (L.) Borkh

Забайкалье является древнейшим очагом формового разнообразия яблони сибирской (*Malus baccata* (L.) Borkh), которая представляет интерес в качестве объекта изучения физиологии древесных растений и процессов микроэволюции, а также в качестве материала для селекции и интродукции яблони (Рудиковский и др., 2008; Баханова, 2011 б); Чурикова, 2016). Сёла Загустай ($51^{\circ}19'25''$ с. ш., $106^{\circ}29'25''$ в. д.) и Ягодное ($51^{\circ}24'05''$ с. ш., $106^{\circ}30'30''$ в. д.), где произрастают исследуемые формы яблони, располагаются у подножия хребта Хамар-Дабан Гусиноозерской котловины в дельте реки Селенги республики Бурятия (рис. 13).

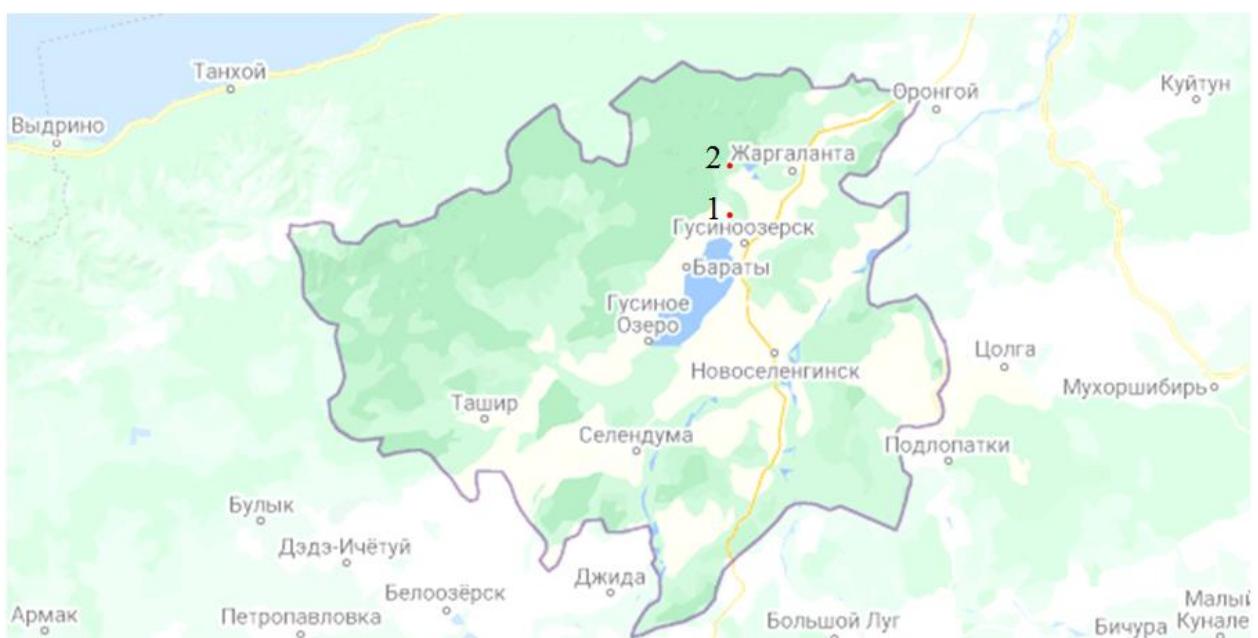


Рисунок 13. Селенгинский район республики Бурятия (Картографические данные Google [сайт], 2021)

Примечание: красными точками обозначены районы исследования *M. baccata*: 1 – с. Загустай, 2 – с. Ягодное.

Климат Гусиноозерской котловины резко-континентальный восточносибирский, характеризуется низкими зимними температурами, небольшим количеством осадков и сухостью воздуха (Дегтярева, 2017 а). Значительное влияние на климат котловины оказывают три фактора: сухой и холодный климат

северных областей Сибири, формирующий погодные условия в зимний период; жаркий и сухой климат монгольских степей; теплый и влажный – Тихоокеанский (Голубцов, 2017). Зима продолжительная, морозная, почти безветренная и малоснежная, характеризуется большим количеством солнечных дней. Снежный покров в Гусиноозерской котловине не превышает 10 см. Малоснежные зимы в сухой степи создают условия для глубокого сезонного промерзания почвы. Средний минимум самого холодного месяца января -34°C , а абсолютный минимум -55°C (Дегтярева, 2017 б). Весна характеризуется большой сухостью, холодными и сильными северо-западными ветрами, а также заморозками. Весной бывают пыльные бури (Воинков, 2007). Лето в Гусиноозерской котловине короткое, в первой половине засушливое с отдельными суховеями, во второй (июль-август) постепенно усиливается циклоническая деятельность, с Тихого океана поступают влажные воздушные массы. Увеличивается скорость ветра и выпадает основная масса атмосферных осадков: на июль и август приходится 60–70% годовой нормы. Максимальное количество осадков 250–300 мм в год. Средний максимум наиболее теплого месяца – июля $+20^{\circ}\text{C}$, максимальная температура воздуха летом может достигать $+40^{\circ}\text{C}$ (Дегтярева, 2017 б). Отличительной чертой климата Бурятии является большая продолжительность солнечного сияния – 1900–2200 ч, и по данному показателю не уступает, а порой превосходит южные районы России (Экологический мониторинг озера Байкал [сайт], 2013). В табл. 2 представлены показатели температуры и количество выпавших осадков в период активной вегетации *M. baccata* на территории пробоотбора за 2007–2017 гг.

Таблица 2

Температура и количество выпавших осадков в Новоселенгинске (22 км от Гусиноозерска) за период 2007–2017 гг. (Расписание погоды [сайт], 2004)

Год	Май					Июнь					Июль					Август				
	температура, °С			осадки, мм	влажн. воздуха, %	температура, С			осадки, мм	влажн. воздуха, %	температура, С			осадки, мм	влажн. воздуха, %	температура, С			осадки, мм	влажн. воздуха, %
	Cр	Min	Max			Cр	Min	Max			Cр	Min	Max			Cр	Min	Max		
2007	13,0	1,9	26,0	36	50	17,1	4,3	32,7	48	58	23,3	9,9	37,9	9	50	18,4	6,8	32,7	54	68
2008	9,9	-5,0	24,7	10	42	19,7	6,0	30,7	71	55	20,8	13,2	30,7	97	67	16,8	2,6	29,6	6,4	64
2009	12,0	-2,4	31,2	5,7	45	17,2	4,5	31,3	55	53	20,3	8,7	30,7	40	60	17,4	2,7	33,2	45	64
2010	11,7	-2,8	30,1	4,4	46	19,0	5,0	39,3	20	49	22,2	8,8	35,2	51	56	17,2	4,2	32,3	29	59
2011	10,1	-4,9	29,9	16	49	20,7	6,6	32,9	18	46	20,6	6,8	36,1	38	56	18,6	5,6	34,2	38	66
2012	11,1	-3,6	30,9	32	46	18,1	4,2	33,3	57	38	20,2	9,8	30,5	54	65	16,6	1,3	30,2	49	70
2013	11,5	-2,9	27,8	8,4	47	17,1	0,2	31,7	58	56	19,9	8,7	31,2	22	62	18,5	5,6	29,8	69	67
2014	9,8	-4,6	33,5	6,3	51	17,3	0,5	31,8	59	59	20,2	9,0	33,7	31	60	17,7	5,3	32,7	44	62
2015	10,9	-6,1	30,1	20	45	18,5	5,4	35,0	31	48	23,8	11,3	37,9	66	51	20,6	10,4	38,2	43	60
2016	10,5	-3,9	29,9	10	43	19,3	5,4	31,7	10	44	22,5	9,3	40,0	71	55	17,7	6,0	32,9	95	72
2017	12,4	-5,5	35,2	13	44	20,3	4,3	37,1	15	45	21,8	10,4	36,5	32	51	18,2	-0,6	31,6	36	60

Местность произрастания изучаемых растений находится в зоне контакта двух коренных формаций: сухой степи и горной тайги. Для сухих степей характерны каштановые и темно-каштановые почвы, которые сформировались преимущественно на легких и грубых хрящеватых грунтах (Рудиковский и др., 2008). Исследование агрофизических свойств почвы выявило, что в местах произрастания карликовой формы яблони плодородный слой занимает всего 10 см, за ним следует дресьва (продукт выветривания горных пород), которая характеризуется слабой водоудерживающей способностью (рис. 14). В результате исследования влагоудерживающих свойств почвы было установлено, что в с. Ягодное влажность почвы (в процентах от полной полевой влагоемкости – ППВ) в местах произрастания двух форм яблони ягнодной различалась. Так в местах произрастания карликовой яблони она составила $64,7 \pm 0,7\%$, а в высокорослой яблони – $73,2 \pm 1,3\%$. Известно, что оптимальная увлажненность почвы, обеспечивающая наиболее благоприятное развитие для яблони, составляет 70–80% от полной полевой влагоемкости (Алферов и др., 2012). Как видно из полученных данных, популяция карликовых растений существует в условиях неоптимальной

влагообеспеченности. Такое содержание влаги в почве можно охарактеризовать как умеренную засуху.



Рисунок 14. Срез почвы в местах произрастания *M. baccata* в с. Ягодное республика Бурятия

Примечание: а – срез почвы в месте произрастания карликовой яблони, б – срез почвы в месте произрастания высокорослой яблони.

Территория г. Иркутска выбрана нами, как территория с более благоприятными климатическими условиями, по сравнению с местами произрастания яблони в Селенгинском районе. Климат г. Иркутска согласно метеонаблюдениям за последние 20–30 лет является менее континентальным (Иванова, Суворова, 2014). В вегетационный период характерны майско-июньские заморозки, температурные показатели и количество выпавших осадков на период изучения биохимических характеристик пересаженной яблони представлены в табл. 3. Почва на территории экспериментального участка СИФИБР СО РАН (52.23929° с. ш., 104.27107° в. д.) серая лесная неоподзоленная суглинистая, на юрских углистых суглинках, подстилаемых песком (Иванова, Суворова, 2014). Серые лесные и дерново-карбонатные почвы этой местности обладают щелочной и нейтральной реакцией. Для них характерна средняя обеспеченность элементами минерального питания. Грунтовые воды залегают на значительной глубине (11–50 м) и не оказывают заметного влияния на режим влажности почв (Иванова,

Суворова, 2014). Установленная нами влажность почвы на территории экспериментального участка СИФИБР СО РАН (г. Иркутск) составила $78,1 \pm 1,1\%$ от ППВ, что соответствует оптимальным значениям влажности для этого вида 70–80% от ППВ (Алферов и др., 2012).

Таблица 3

Показатели температуры и количество выпавших осадков в г. Иркутске за период 2007–2017 гг. (Расписание погоды [сайт], 2004)

Год	Май					Июнь					Июль					Август				
	температура, °C			осадки, мм	влажн. воздуха, %	температура, С			осадки, мм	влажн. воздуха, %	температура, С			осадки, мм	влажн. воздуха, %	температура, С			осадки, мм	влажн. воздуха, %
	Cр	Min	Max			Cр	Min	Max			Cр	Min	Max			Cр	Min	Max		
2007	11,5	-1,9	32,1	62	-	18,5	2,3	33,6	15	-	19,2	3,9	30,8	-	-	17,2	15,6	19,5	-	-
2008	8,7	-4,7	23,4	-	-	16,7	4,4	32,1	-	-	18,4	4,8	29,1	-	-	14,3	1,1	26,6	-	-
2009	9,6	-4,4	28,4	48	56	14,2	2,5	28,9	86	68	18,0	6,1	27,7	89	71	15,2	1,7	29,2	56	76
2010	8,4	-6,5	29,2	42	55	15,1	0,9	32,2	55	66	18,6	8,6	30,8	44	71	14,5	3,1	22,5	125	77
2011	9,0	4,2	24,9	17	53	17,7	3,1	31,1	39	61	16,5	2,1	31,2	113	72	15,9	3,3	28,5	65	76
2012	9,3	2,2	28,9	50	54	16,7	4,1	30,4	22	63	17,6	7,2	27,2	151	77	14,6	-0,4	26,8	49	81
2013	8,7	-4,5	24,7	47	56	14,8	-1,2	30,6	58	67	17,1	5,7	30,4	63	72	17,3	2,8	28,6	30	72
2014	8,2	-4,7	26,0	44	54	15,4	0,6	29,7	67	68	18,4	5,8	31,2	73	68	15,9	2,7	30,1	73	73
2015	10,2	-6,2	29,5	47	53	16,7	4,0	31,9	44	60	20,3	7,7	32,7	65	68	18,9	8,3	34,7	76	68
2016	10,0	-2,2	28,8	35	48	17,5	5,5	31,5	46	57	20,4	10,9	32,9	114	68	16,6	6,8	27,3	221	80
2017	11,5	-1,9	32,1	62	55	18,4	2,3	33,6	15	61	19,3	9,2	32,3	69	68	16,5	-0,2	30,7	70	73

3.2. Параметры роста карликовой и высокорослой яблони

В результате измерения параметров интенсивности роста у исследуемых форм (г. Иркутск) в течение летнего сезона 2009 г. было установлено, что достоверных изменений длины прироста и диаметра штамба у карликовой формы не было, в то время, как у высокорослых деревьев длина годового прироста составляла $12,1 \pm 0,8$ см, при среднем увеличении штамба в 1 мм (рис. 15). К концу сезона вегетации по основным признакам, характеризующим ростовые параметры дерева, высокорослая яблоня также существенно опережала карликовую (табл. 4).

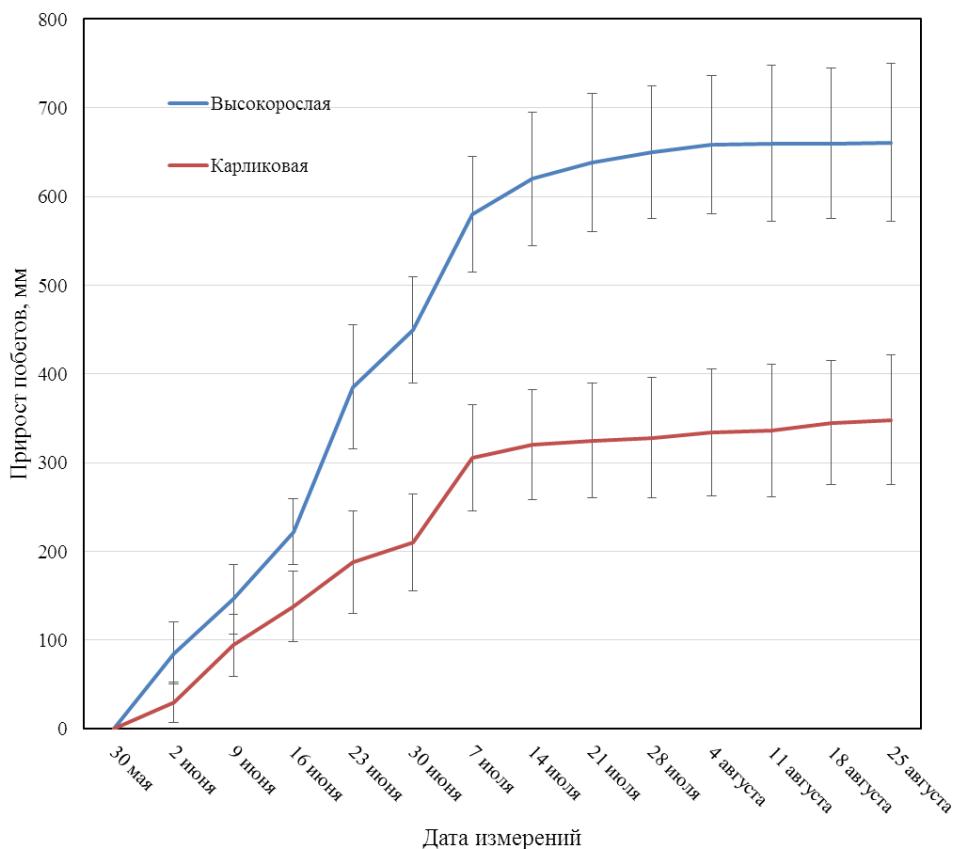


Рисунок 15. Динамика прироста побегов карликовых и высокорослых форм *M. baccata* в период вегетации (г. Иркутск).

Таблица 4

Особенности роста и морфологические признаки деревьев *M. baccata*

Признак	Карликовое дерево	Высокорослое дерево
Высота дерева, м	$1,34 \pm 0,25$	$2,39 \pm 0,44^*$
Диаметр штамба, см	$1,92 \pm 0,20$	$3,15 \pm 0,40^*$
Число междуузлий на однолетнем приросте, шт	20 ± 3	25 ± 3
Длина однолетнего прироста, см	$35,6 \pm 4,5$	$67,3 \pm 5,1^*$
Скелетные ветви меньше 5 см, шт	$1,2 \pm 0,2$	$8,9 \pm 0,6$
Скелетные ветви больше 5 см, шт	$7,3 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,2$
Длина междуузлия, см	$2,2 \pm 0,7$	$2,5 \pm 0,8^*$
Толщина однолетнего прироста, мм	$0,34 \pm 0,10$	$0,44 \pm 0,12^*$
Количество устьиц на единицу площади листа	$253,4 \pm 3,5$	$153,2 \pm 5,3^*$

Где n=30

*Различия параметров между карликовой и высокорослой яблоней достоверны по критерию Стьюдента при $P < 0,05$;

Как видно из графика и табличных данных, замедленные темпы роста и нарушение апикального доминирования в карликовых деревьях *M. baccata* сохраняются и при переносе в более благоприятные климатические условия на территорию экспериментального участка СИФИБР СО РАН в г. Иркутск (Rudikovskii et al., 2019).

3.3. Основные фотосинтетические параметры карликовой и высокорослой яблони

В рамках настоящего исследования в начале сезона вегетации (май-июнь) был проведен сравнительный анализ пигментного состава фотосинтетических тканей, а также была измерена флуоресценция хлорофилла в листьях карликовой и высокорослой дикорастущей яблони сибирской (республика Бурятия) и перенесенной в более благоприятные условия по водообеспеченности (г. Иркутск).

В листьях яблони были проанализированы следующие пигменты, входящие в ФСА: Mg-хлорофилл *a*, Mg-хлорофилл *b*, феофитин *a*, феофитин *b*, β-каротин, t-лютеин, неоксантин, виолаксантин, t-зеаксантин, c9-зеаксантин, c13-зеаксантин. Было установлено, что суммарное содержание хлорофиллов (Хл *a+b*) существенно отличалось у карликовых и высокорослых форм яблони, произрастающих в естественных условиях. Так, карликовые деревья содержали примерно в два раза меньше хлорофиллов ($1,79 \pm 0,17$ мг/г сухого веса), чем высокорослые ($4,30 \pm 0,64$ мг/г сухого веса) (табл. 5). Как известно, в растениях основными светособирающими пигментами и пигментами реакционного центра служат молекулы хлорофилла *a* и хлорофилла *b*. Уменьшение этих пигментов в растениях пустынь, степей и тундр обычно является адаптивным признаком в условиях высокой инсоляции и водного дефицита (Слемнев и др., 2012). В таких экосистемах достаточно небольшого количества хлорофилла для протекания фотосинтетического процесса и уменьшения опасности фотодеструкции клетки (Иванов и др., 2013). Поэтому уменьшение суммарного содержания хлорофилла *a* и хлорофилла *b* в карликовых дикорастущих деревьях может быть одним из приспособительных механизмов карликовой яблони в условиях водного дефицита. Карликовая и высокорослая формы яблони, перенесенные в г. Иркутск, по

суммарному содержанию зеленых пигментов достоверно между собой не различались, однако наблюдается разница по этому показателю в сравнении с дикорастущими деревьями (табл. 5). Меньшее содержание хлорофиллов в дикорастущей высокорослой яблоне, по сравнению с ее перенесенной формой, свидетельствует о более неблагоприятных условиях произрастания в с. Ягодное по сравнению с г. Иркутском.

Считается, что показателем стресса у растения является не только снижение суммарного содержания хлорофиллов, но и соотношение содержаний Хл *a* и Хл *b*, которое косвенно связывают с величиной мобильной антенны, содержащей хлорофилл *b* (Слемнев и др., 2012). Как уже было сказано, под воздействием неблагоприятного фактора происходит увеличение содержания хлорофилла *b*, как основного компонента ССК ФСП (Lichtenthaler, 1987; Maslova, Popova, 1993; Слемнев и др., 2012). А большинство изученных видов растений из экстремальных зон (пустыни, горы, тундра) характеризуются низким содержанием хлорофилла *a*, по сравнению с бореальными видами (Лебедева и др., 2008). В листьях *M. baccata* соотношение между хлорофиллами варьировало в пределах 2–3 (см. табл. 5), по-видимому, такой индекс Хл *a/b* характерен для яблони, как для вида, в целом. Например, M. Bertamini с соавторами для *M. pulmilla* выявили индекс соотношения хлорофиллов в 2,62 (Bertamini et al., 2002). C. Kumar с соавторами установили этот параметр для 32 видов дикорастущих яблонь (в том числе для гималайских разновидностей), значение Хл *a/b* в листьях этих деревьев колебалось в пределах 2–4 (Kumar et al., 2018). При исследовании других фруктовых деревьев семейства *Rosaceae* этот показатель составлял: для персика – 4,5 (Abad'ia et al., 1999), груши – 3,5 (Abad'ia et al., 1999; Morales et al., 2000). Нами было установлено, что у карликовой и высокорослой форм яблони сибирской (с. Ягодное) соотношение хлорофиллов в листьях достоверно не различалось (табл. 5). Возможно, это связано с уменьшением содержания обоих типов хлорофиллов в листьях карликовой формы. У карликовой и высокорослой форм *M. baccata*, культивируемых в г. Иркутске, достоверных различий в значении индекса Хл *a/b* не обнаружено.

Таблица 5

Содержание фотосинтетических пигментов и их соотношения в листьях карликовой и высокорослой *M. baccata*

Параметр	с. Ягодное		г. Иркутск	
	Карликовая форма	Высокорослая форма	Карликовая форма	Высокорослая форма
Хл <i>a+b</i> , мг/г сухого веса*	1,79±0,17**	4,30±0,64	5,60±0,47	6,97±1,39
Соотношение Хл <i>a/b</i>	2,87±0,22	2,71±0,08	3,45±0,19	2,82±0,28
Доля Хл в ССК	0,57±0,03	0,60±0,01	0,50±0,02	0,59±0,04
Кар, мг/г сухого веса*	0,40±0,04**	0,76±0,13	1,11±0,06	1,31±0,26
Соотношение Хл/Кар	4,53±0,42	5,75±0,52	4,93±0,19	5,39±0,28

*данные представлены в виде средних значений и их стандартных ошибок

**различия между карликовой и высокорослой формой в с. Ягодное достоверны по критерию Манна-Уитни, $p\leq 0,01$

Известно, что хлорофилл *b* служит вспомогательным светособирающим пигментом, на долю которого приходится 15–20% от общего содержания хлорофиллов (Beale, 1999; Тютерева и др., 2017). В отличие от хлорофилла *a*, который входит в состав РЦ фотосистем, он находится только в светособирающих комплексах ФСI и ФСII, а также в «малой антенне» ФСII (в мономерных белках CP29, CP26, CP24, связывающих молекулы хлорофилла и ксантофилла). Доля хлорофилла *b* в ССКI и ССКII составляет примерно 22% и 43% от суммарного количества хлорофиллов соответственно, причем 50% энергопередачи на хлорофилл *a* поступает именно с хлорофиллом *b* (Voitsekhojkaja, Tyutereva, 2015). Считается, что для учета вклада в ССК одновременно хлорофиллов *a* и *b* более наглядным показателем может быть доля хлорофиллов, принадлежащих светособирающему комплексу (Головко и др., 2007; Новаковская, Дымова, 2012; Афанасьева, 2018). Так как основная функция пигментов ССК состоит в поглощении и передаче энергии квантов света в реакционные центры, то снижение светопоглощающих свойств фотосинтетического аппарата может стать маркером стрессового состояния растений в засушливых условиях. Наши экспериментами было установлено, что для карликовой и высокорослой формы характерны высокие содержания хлорофиллов в ССК (>55% от общего пула зеленых пигментов). По

этому показателю не обнаружено достоверных различий между яблонями, произрастающими в разных условиях обитания (табл. 5).

Известно, что в засушливых условиях произрастания в листьях растений увеличивается количество каротиноидов, которые выполняют не только акцепторную функцию, но и напрямую подавляют триплетный хлорофилл, защищая фотосинтетические ткани хлоропласта от окислительного повреждения (Havaux, 1998; Farooq et al., 2009). В результате анализа пигментного состава листьев карликовой и высокорослой формы (с. Ягодное) установлено, что в листьях карликовой яблони суммарное содержание каротиноидов (Кар) достоверно ниже, чем в листьях высокорослой (табл. 5). Достоверных различий в количестве каротиноидов между формами яблони, перенесенными в г. Иркутск, не наблюдали, однако заметна значительная разница по этому показателю в сравнении с дикорастущими деревьями. В высокорослой яблоне г. Иркутска содержание каротиноидов выше, чем в высокорослой форме из с. Ягодное (табл. 5). Для оценки отклика ФСА растений на стрессовое воздействие часто используют параметр соотношения суммарных содержаний хлорофиллов к каротиноидам, отражающий состав фотосинтетической антенны. Поэтому Хл/Кар может быть характерным показателем пластичности ФСА яблони при недостатке влаги. В результате анализа было показано, что карликовые и высокорослые формы по этому параметру достоверно не различались независимо от места произрастания (табл. 5).

Для регистрации первичных изменений в клеточных структурах под действием стресса целесообразно использовать биофизические методы, например индукцию флуоресценции хлорофилла (ИФХ). Результаты флуоресцентного анализа показали, что между всеми изучаемыми формами яблони по измеренной в темноте фоновой флуоресценции F0 различий нет (табл. 6). Возможной причиной этого может служить значительное повышение показателя F0, отражающего повреждение тилакоидных мембран, которое сопровождается снижением квантового выхода (Рибейро, 2008; Гольцев и др., 2016). В нашем исследовании такого эффекта не наблюдали, скорее всего, одинаковый уровень фоновой флуоресценции в карликовой и высокорослой формах (0,11–0,12) – видоспецифичный показатель, характерный для яблони сибирской в целом.

Показатели реальной квантовой эффективности ФСII (видимого квантового выхода) достоверно не различались между дикорастущими формами (в среднем 0,12), однако этот показатель достоверно ниже, чем в формах яблони, перенесенных в г. Иркутск, (в среднем 0,18). Меньший квантовый выход ФС у дикорастущих яблонь, по сравнению с интродуцированными, может свидетельствовать о большей потере энергии возбуждения при ее переносе к реакционным центрам.

Как было сказано выше, значимый вклад в ССК листьев яблони могут вносить кислородсодержащие каротиноиды, которые участвуют в процессах нефотохимической утилизации поглощенной световой энергии. Показано увеличение количества деэпоксидированного пигмента зеаксантина при засухе у *M. domestica* (Sircelj et al., 2007) и *T. aestivum* (Прядкина, 2018), а также при дефиците железа у *P. communis* (Morales et al., 2000), которое связано с утилизацией избытка поглощенной энергии путем ее тепловой диссиpации в стрессовых условиях произрастания. Поэтому при изучении работы ФСII методом индукции флуоресценции хлорофилла, параметр нефотохимического тушения излучения (NPQ) может отражать процессы светорассеивания. В наших экспериментах было установлено, что по коэффициенту NPQ карликовая и высокорослая формы (с. Ягодное) не различались. Однако при сравнении с деревьями, пересаженными в г. Иркутск, этот показатель был достоверно выше (табл. 6). Повышенное значение коэффициента NPQ в деревьях *M. baccata*, произрастающих в республике Бурятия, может свидетельствовать об адаптации ФСА этих растений к более засушливым условиям по сравнению с г. Иркутском.

Показатели флуоресценции у карликовой и высокорослой яблони, произрастающих в естественных условиях, отличались только в отношении скорости электронного транспорта (ETR) (табл. 6). Так, у высокорослых форм яблони значение ETR достигало $61,8 \pm 8$ мкмоль/($m^2 \cdot s$), что было примерно на 30% выше, чем у карликовых деревьев ($38,7 \pm 3,5$ мкмоль/($m^2 \cdot s$)). Исходя из литературных данных (Рибейро и др., 2008), пониженная ETR у карликовой формы может быть связана с повышением интенсивности фотодыхания – физиологического процесса, защищающего ФСА от избытка световой энергии при

почвенной и воздушной засухе. Деревья, растущие в г. Иркутске, по данному коэффициенту достоверно не различались.

Таблица 6

Основные параметры флуоресценции хлорофилла в ФСII в листьях карликовой и высокорослой *M. baccata*

Параметр	с. Ягодное		г. Иркутск	
	Карликовая форма	Высокорослая форма	Карликовая форма	Высокорослая форма
Фоновая флюоресценция, F0, отн. ед.	0,11±0,00	0,12±0,02	0,11±0,00	0,12±0,01
Максимальная фотохимическая эффективность ФС II, Fv/Fm, отн. ед	0,76±0,01	0,76±0,02	0,78±0,02	0,77±0,01
Реальная квантовая эффективность ФС II, Y(II), отн. ед.	0,12±0,01	0,12±0,01	0,17±0,03	0,20±0,03
Нефотохимическое тушение, Y(NPQ), отн. ед.	0,63±0,01	0,62±0,03	0,52±0,04	0,51±0,04
Скорость электронного транспорта, ETR, мкмоль/(м ² ·с)	38,7±3,5*	61,8±8,8	49,5±6,2	54,4±8,3

Примечание: данные представлены в виде средних значений 5–10 биологических повторностей и их стандартных отклонений;

* различия между карликовой и высокорослой формой в с. Ягодное достоверны по критерию Манна-Уитни, p≤0,01

Таким образом, обнаружено, что яблони, растущие в естественных условиях при недостатке почвенной и воздушной влаги, имеют различия в работе ФСА по сравнению с деревьями, произрастающими в более благоприятных условиях.

Кроме того, установлено, что карликовая и высокорослая яблони, произрастающие в естественной среде, отличаются количественным составом пигментов и величиной относительной скорости потока электронов в ФСII, что свидетельствует об уменьшении эффективности работы ФСА в карликовой форме, по сравнению с высокорослой. Такие изменения в работе ФСА карликовой яблони

могут приводить к замедлению синтеза углеводов и, соответственно, других органических веществ в клетке, что замедляет рост растения в целом.

3.4. Фитогормональный статус карликовой и высокорослой яблони

Следующей задачей, поставленной в работе, было выявление различий в гормональном балансе у карликовой и высокорослой форм яблони, которые могут быть, как показателями адаптационных процессов, так и особенностей роста и развития. В рамках исследования нами была проанализирована зависимость роста карликовой яблони от эндогенного нанесения гиббереллина на побеги, а также проведен сравнительный анализ содержания абсцизовой и индолил-3-уксусной кислот в различных органах яблони обеих форм.

Опыт по выявлению гиббереллин-зависимости карликовой формы яблони сибирской проводили на карликовых деревьях, пересаженных в г. Иркутск. В ходе эксперимента при нанесении гибберелловой кислоты (ГК_3) на конусы нарастания карликовых деревьев наблюдали более интенсивное (на 50%) удлинение конусов нарастания по сравнению с контрольными растениями: $30,75\pm3,22$ см и $20,50\pm3,21$ см, соответственно (рис. 16). Повторный эксперимент подтвердил эту тенденцию, скорость роста обработанных конусов в этом случае увеличивалась на 30 %: $16,14\pm1,20$ см – контроль, $20,92\pm1,91$ см – опыт (рис. 16).

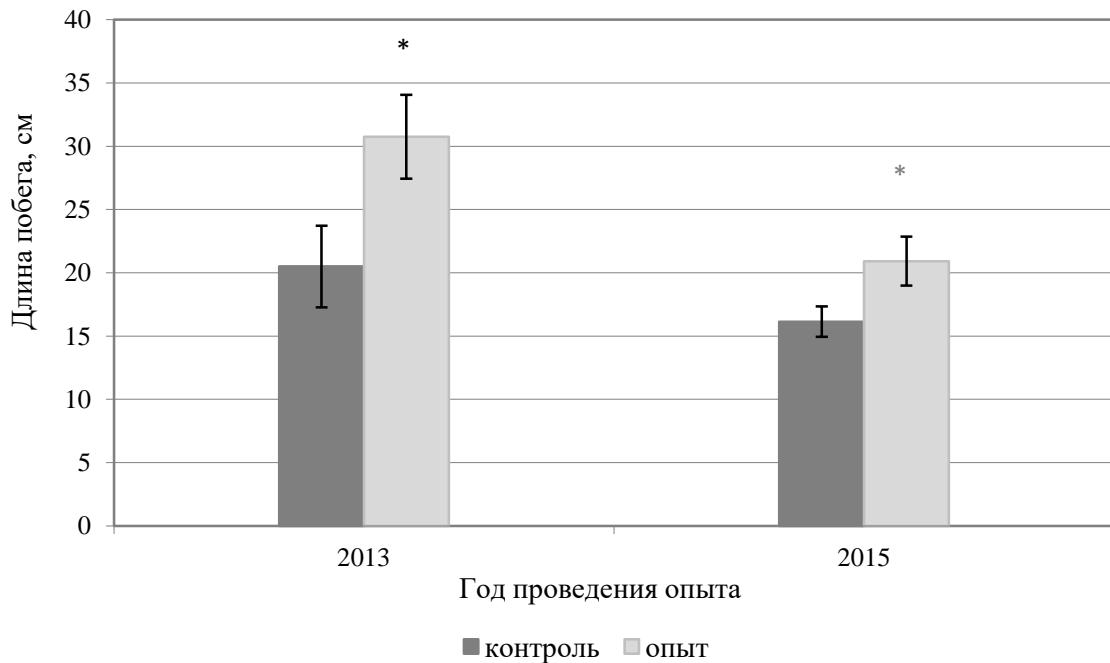


Рисунок 16. Длина побегов карликовой яблони после экзогенного нанесения гибберелловой кислоты

Примечание: контроль обрабатывали 10 мкл водного раствора Твин-20, опыт – 10 мкг гибберелловой кислоты в водном растворе Твин-20.

**Достоверность различий сравниваемых средних значений длины побегов контрольных и опытных растений оценивали с помощью t-критерия ($P \leq 0,05$)*

Таким образом, после нанесения экзогенной ГК₃ на апикальные части побегов карликовой формы *M. baccata* мы наблюдали значительное увеличение роста этих побегов по сравнению с таковыми у побегов без применения ГК₃ (Столбикова и др., 2018). Чувствительность к этому гормону, которая проявляется у карликовых деревьев *M. baccata*, может быть обусловлена его сниженным эндогенным содержанием из-за нарушений в биосинтезе ГК₃, или из-за накопления репрессоров передачи сигналов ГК₃ – белков DELLA. Так, например, была установлена пониженная экспрессия генов *GID1* (Gibberellin Insensitive Dwarf 1) в карликовых гибридах яблони наряду с низким эндогенным содержанием ГК₃ по сравнению с высокорослыми гибридами (Hao et al., 2019). Экзогенная обработка деревьев яблони гиббереллином увеличивала экспрессию гена *GID1*, что привело к

его накоплению и образованию комплекса GID1-GA-DELLA. Данный комплекс ориентирован на деградацию DELLA-белков и, соответственно, на интенсификацию процессов роста.

Для качественного определения эндогенного содержания гиббереллина в листьях обеих форм яблони сибирской оценивали способность растительного экстракта, содержащего фитогормоны, увеличивать рост карликового гороха сорта Шустрик. Результаты биотеста на определение эндогенного содержания ГК₃ представлены в виде гистограммы (рис. 17):

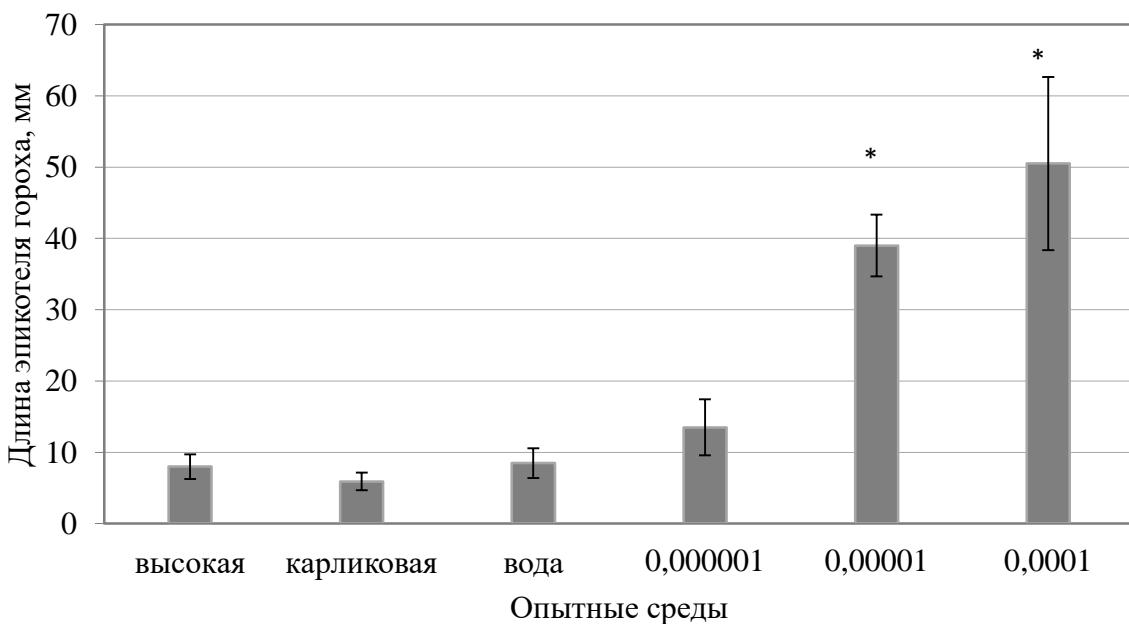


Рисунок 17. Зависимость длины эпикотиля гороха сорта Шустрик от количества гиббереллина.

Примечание: в качестве опытных сред для выращивания проростков гороха использовали экстракты из листьев карликовой и высокорослой яблони (с. Ягодное), деионизированную воду и стандартные растворы гиббереллина с концентрациями ГК₃ – 0,000001%, 0,00001% и 0,0001%.

**Достоверность различий сравниваемых значений опыта и контроля оценивали по критерию Манна-Уитни, p=0,01*

Как можно видеть из данных, представленных на гистограмме, стандартный раствор ГК₃ усиливал рост карликового гороха Шустрик пропорционально

концентрации гиббереллина. Суммарные гормональные экстракты из листьев высокорослой и карликовой яблони достоверно не увеличивали рост гороха по сравнению с контролем. Длина проростков в высокорослой среде – $8,0 \pm 1,7$ см; карликовой среде – $5,9 \pm 1,2$ см и водной среде – $8,5 \pm 2,1$ см. Так как формы *M. baccata*, произрастающие в республике Бурятия, имеют явные отличия в росте (карликовые деревья высотой до 110 см, высокорослые 200–250 см) (Рудиковский и др., 2008), то вполне очевидно, что высокорослая яблоня имеет нормальный гиббереллиновый статус. Поскольку гормональные вытяжки ни из листьев карликовой, ни из листьев высокорослой яблони не смогли нивелировать карликовость у гороха, логично предположить, что полученные экстракты содержат, помимо гормональной компоненты, вещества, имеющие ретардантные свойства, другими словами, угнетающие ростовые процессы. Было установлено, что в листьях *Malus domestica* содержится значительное количество фенольных соединений таких, как флоридзин, *n*-гидроксибензойная кислота, *n*-кумаровая кислота, которые положительно влияют на рост и развитие растений (Yıldırım et al., 2016; Zhou et al., 2019). С другой стороны, в опытах с экзогенным флоридзином было показано, что внесение флоридзина в среду для проращивания пыльцы яблони может не только угнетать проращивание, но и разрушать оболочки пыльцевых зерен (Палфитов, 2017). По всей видимости, в листьях как карликовой, так и высокорослой яблони сибирской присутствуют соединения, обладающие ретардантными свойствами и, возможно, имеют фенольную природу. Поэтому выявить различия в содержании гиббереллинов в листьях двух форм *M. baccata* по результатам биотеста не удалось.

Как было сказано выше, помимо гиббереллинов, гормональный статус растения, характеризующий его ростовые качества, может определяться содержанием индолилуксусной кислоты и гормона-антагониста ИУК – абсцизовой кислоты. Анализ содержания этих гормонов в карликовой и высокорослой форме *M. baccata* был задачей этого раздела работы. Для этого в период активного роста были отобраны пробы верхушечных листьев, коры и завязей карликовой и высокорослой форм яблони и проведен сравнительный анализ содержания ИУК и АБК в этих органах.

В результате проведенных исследований показано, что содержание АБК и ИУК в верхушечных почках и молодых разворачивающихся листьях карликовой и высокорослой *M. baccata* в с. Ягодное различалось и это соотношение сохранялось при переносе обеих форм на территорию экспериментального участка СИФИБР (рис. 18). Так, содержание ауксина в дикорастущей карликовой яблоне достигало $0,12 \pm 0,01$ мкг/г сухого веса, а в высокорослой – было втрое выше $0,35 \pm 0,06$ мкг/г сухого веса. Содержание АБК было примерно одинаковым в обеих изучаемых формах: в высокорослых $0,21 \pm 0,04$ мкг/г сухого веса и в карликовых деревьях $0,21 \pm 0,02$ мкг/г сухого веса. В деревьях, перенесенных в более благоприятные условия по водообеспеченности (г. Иркутск), наблюдали схожие значения (рис. 18). Содержание ИУК в верхушечных листьях карликовых деревьев составляло $0,10 \pm 0,01$ мкг/г сухого веса, а в высокорослых – было выше в три раза: $0,32 \pm 0,04$ мкг/г сухого веса. В показателях содержания АБК для карликовой и высокорослой яблони достоверных различий не наблюдали, значения составляли $0,22 \pm 0,04$ мкг/г сухого веса и $0,18 \pm 0,02$ мкг/г сухого веса соответственно. Похожую тенденцию в снижении ИУК в карликовых мутантах яблони M.9 наблюдали T. Tworkoski и S. Miller, при этом достоверной разницы в содержаниях АБК между карликовой и высокорослой яблонями также не было обнаружено (Tworkoski, Miller, 2007). Известно, что недостаток ИУК в молодых листьях и семядолях может привести к нарушению апикального доминирования (Hayat et al., 2019), поэтому установленное в данной работе меньшее содержание ИУК в апексах карликовой яблони может обуславливать у нее более интенсивный рост скелетных ветвей второго порядка и сильное загущение кроны.

Известно, что функциональное взаимовлияние фитогормонов имеет большое значение для роста и развития растений, особенно в условиях абиотического стресса. Было доказано перекрестное взаимодействие факторов трансдукции АБК и ИУК на мутантах со сниженной восприимчивостью к этим гормонам (Popko et al., 2010). Увеличение АБК во время стресса в таких растениях способствовало снижению свободного ауксина и, как следствие, замедлению ростовых процессов. В связи с подобным плейотропным эффектом использование отношения ИУК/АБК

в качестве показателя, характеризующего скорость роста растения, представляется логичным.

Индекс соотношения гормонов-антагонистов ИУК/АБК для карликовой и высокорослой яблони при переносе деревьев в г. Иркутск не изменялся и составлял 1,7–1,8 для высокорослой формы и 0,5 – для карликовой (рис. 18). По-видимому, высокая скорость роста у *M. Baccata*, обычная для высокорослых деревьев, может быть охарактеризована соотношением ИУК/АБК>1 (Rudikovskii et al., 2019) и этот показатель может использоваться в качестве диагностического признака карликовости для этого вида яблони.

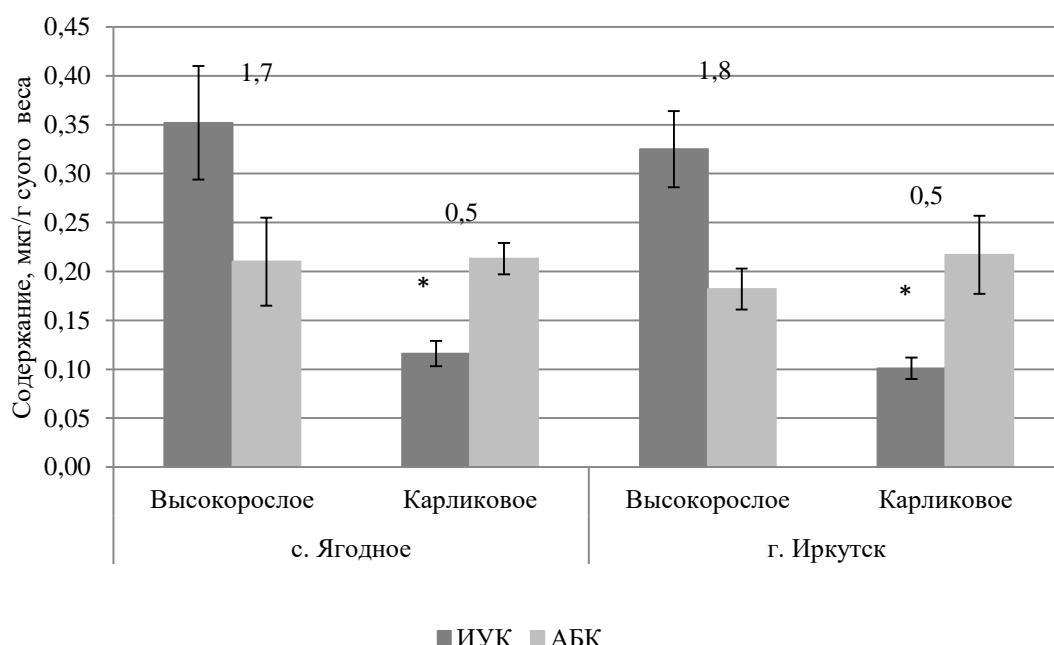


Рисунок 18. Содержание индолилуксусной и абсцизовой кислот в верхушечных почках и молодых разворачивающихся листьях карликовой и высокорослой *M. baccata*, произрастающей в с. Ягодное и г. Иркутске.

Примечание: ИУК – индолилуксусная кислота, АБК – абсцизовая кислота; цифрами указаны соотношения ИУК/АБК в каждой форме; однородность выборки из 4-5 повторностей.

**Достоверность различий сравниваемых средних значений содержания ИУК в карликовой и высокорослой яблоне оценивали с помощью t-критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$).*

В результате анализа содержания ИУК, АБК в коре и завязи были найдены заметные различия в содержаниях этих фитогормонов в карликовой и высокорослой формах яблони (г. Иркутск), в отношении завязей, но не коры. (рис. 19). Было показано, что в коре достоверных различий в содержании ИУК между высокорослой яблоней ($0,61\pm0,15$ мкг/г сухого веса) и карликовой ($0,65\pm0,28$ мкг/г сухого веса) – нет (рис. 19). Содержание АБК также достоверно не различалось у обеих форм и составляло у высокорослой формы $0,52\pm0,14$ мкг/г сухого веса, а у карликовых деревьев $0,52\pm0,06$ мкг/г сухого веса. Индекс соотношения ИУК/АБК в коре яблони также практически не различался между формами, он составил 1,2 в высокорослой яблоне и в карликовой яблоне – 1,3 (рис. 19). Равномерное распределение основных гормонов, регулирующих рост в коре *M. baccata*, может обуславливаться функциональными особенностями вторичной коры в стволе дерева, которая играет в основном проводящую роль. Известно, что камбий двудольных древесных растений, в том числе яблони, в течение вегетационного периода образует вторичную ксилему (древесину) и вторичную флоэму (луб), по которым в стволе идет массовый транспорт биологически важных соединений. Через флоэму осуществляется перенос сахаров, гормонов и других веществ, синтезированных в листьях, к корням. Наши данные о содержании ИУК в коре двух форм яблони согласуются с результатами исследования L. Michalczuk, который обнаружил незначительные различия в содержании ИУК в коре между карликовым (М.9) и высокорослым (ММ.106) генотипами яблони (Michalczuk, 2002). J. S. Kamboj с соавторами также достоверной разницы в концентрациях ИУК в коре яблочных мутантов не установили, тогда, как содержание АБК в коре карликовых деревьев было достоверно выше, чем в высокорослых (Kamboj et al., 1999).

Несмотря на установленное нами одинаковое содержание ИУК и АБК в коре, карликовая и высокорослая формы *M. baccata* могут отличаться по скорости потоков флоэмного сока и общему количеству перенесенного вещества от листьев к корням. Известно, что на скорость движения флоэмного сока может влиять толщина коры и диаметр сосудов в ней. N. Harrison с соавторами установили отрицательную корреляцию между процентным содержанием слоя коры и

диаметром отверстий в карликовых и высокорослых мутантах яблони (по данным микроскопического анализа в карликовых мутантах кора толще, а сосуды в ней уже) (Harrison et al., 2016). Кроме того, H. L. Li с соавторами обнаружил сниженную скорость базипетального транспорта ИУК от проростков к корням в карликовом мутанте яблони M.9 по сравнению с высокими деревьями MM (Li et al., 2012). Тот же эффект они наблюдали при использовании карликового подвоя для сорта Fuji, что свидетельствует о влиянии интеркалярной вставки M.9 на сокодвижение в яблоне. Поскольку сосудистая клеточная организация занимает центральное место в онтогенезе растений, то, по-видимому, такое строение сосудистой ткани в коре может замедлять скорость движения флоэмного сока и снизить поставки ИУК в корень. Менее развитые корни поставляют меньше питательных веществ и цитокининов в надземные органы, что приводит к уменьшению роста растений.

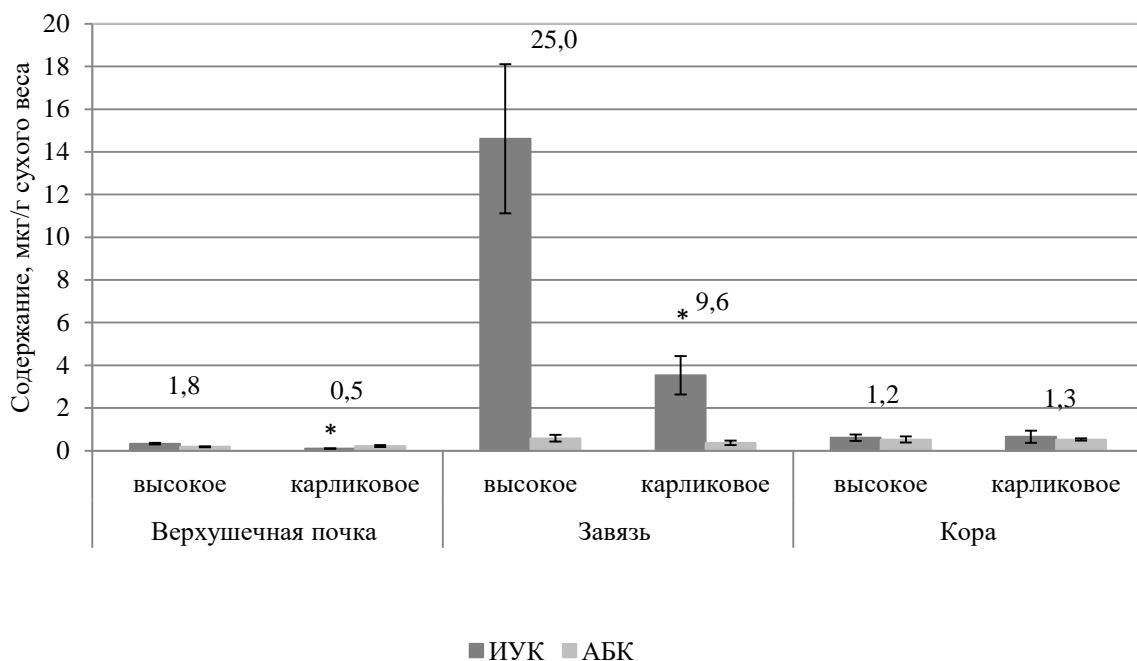


Рисунок 19. Содержание индолилуксусной и абсцизовой кислот в молодых разворачивающихся листьях, завязи и молодой коре карликовой и высокорослой форм *M. baccata*, произрастающей в г. Иркутске.

Примечание: ИУК – индолилуксусная кислота, АБК – абсцизовая кислота; цифрами указаны соотношения ИУК/АБК в каждой форме; однородность выборки из 5 повторностей;

* *Достоверность различий сравниваемых средних значений содержания ИУК в карликовой и высокорослой яблоне оценивали с помощью t-критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$).*

В результате анализа гормонального состава завязей двух форм яблони сибирской установили, что содержание ИУК между ними достоверно различалось: в высокорослой яблоне содержание этого гормона составляло $14,62 \pm 3,49$ мкг/г сухого веса, а в карликовой $3,53 \pm 0,90$ мкг/г сухого веса (рис. 19). В содержании АБК достоверных различий между высокорослой и карликовой формами не установлено, количество этого гормона составляло $0,58 \pm 0,16$ мкг/г сухого веса и $0,37 \pm 0,10$ мкг/г сухого веса, соответственно (рис. 19). Соотношение индекса ИУК/АБК, характеризующего функциональное взаимовлияние фитогормонов, между карликом и высокорослым деревом составило 9,6 и 25,0 соответственно (рис. 19). Таким образом, наибольшее количество ИУК содержалось в завязи высокорослой формы *M. baccata*, которое более чем в 4 раза превышало содержание этого гормона в завязи карликовой формы. Кроме того, на фоне низкого содержания АБК, содержание ауксина в развивающихся плодах было в 2–3 раза выше его количества в коре и листьях карликовой и высокорослой формы яблони. Полученные данные подтверждают, что еще на начальных этапах формирования плода (опыление и последующее оплодотворение) происходит значительное изменение гормонального баланса, в первую очередь это касается ослабления ингибирующего действия АБК. Установлено, что в завязи в результате экспрессии гена гидроксилазы АБК – фермента, превращающего АБК в неактивные фазеевую и дигидрофазеевую кислоты, уровень АБК снижается (Обручева, 2014). С другой стороны, в перикарпе происходит активное накопление ауксинов, а также гиббереллинов, синтез которых индуцируется ауксинами (Jong et al., 2009). Ауксины и гиббереллиновая кислота вызывают интенсивный рост плода, причем ауксины в большей степени влияют на деление клеток, а гиббереллины – на

их растяжение. Активно растущие плоды обладают большой аттрагирующей способностью и до 8–12 дня являются основным акцептором притекающих ассимилянтов, затем эта роль переходит к интенсивно растущим семенам (Обручева, 2014). Меньшее содержание ауксина в молодых плодах карликовой *M. baccata*, по сравнению с плодами высокорослой яблони, хорошо согласуется с данными об интенсивности плодоношения этих форм. Карликовые деревья закладывают небольшое количество мелких каплевидных плодов с малым числом выполненных семян, тогда как для высокорослой яблони характерны высокая урожайность и более крупный размер плодов (Рудиковский и др., 2008).

3.5. Липидный и жирнокислотный профиль карликовой и высокорослой яблони

Как было сказано выше, клеточная мембрана у растений – это первичный барьер при стрессовом воздействии. Липидный и жирнокислотный состав мембранных характеризует её пластичность за счёт изменения в содержании липидов и ненасыщенности их жирных кислот. Поэтому определение липидного и жирнокислотного профиля обеих форм *M. baccata*, произрастающих в с. Ягодное и пересаженных в г. Иркутск, было задачей этого раздела.

В результате анализа липидного профиля листьев карликовой и высокорослой яблонь (с. Ягодное) были установлены значимые различия в содержании как суммарных липидов, так и фосфолипидов. В листьях высокорослой и карликовой форм яблони относительное содержание суммарных липидов составляет соответственно $10,0 \pm 0,5\%$ и $7,0 \pm 0,3\%$ от сухой массы образца. При этом большую часть от общего содержания липидов составляют фосфолипиды: ткани листьев высокорослой яблони содержат $58,0 \pm 1,4\%$, а карликовой яблони – $48,0 \pm 0,9\%$ от общего количества липидов соответственно. Известно, что под воздействием стрессовых факторов уменьшение содержания суммарных липидов, как структурного компонента мембран в листьях растений, может свидетельствовать об уменьшении количества хлоропластов, митохондрий и общей площади цитоплазматических мембран (Новицкий и др., 2015). В связи с этим, установленное нами меньшее содержание суммарных липидов и

фосфолипидов в листьях карликовой яблони может означать снижение интенсивности липидного метаболизма под воздействием почвенной засухи совместно с частыми ветрами.

По данным тонкослойной хроматографии состав классов липидов был одинаковым в обеих формах яблони, однако нами выявлены органоспецифические отличия в составе суммарных липидов листьев и корней (табл. 7). Качественный анализ липидного состава показал, что особенностью листьев является наличие восков. Общеизвестно, что воска входят в состав кутикулярного слоя листа и принимают участие в защите от бактериальных и грибковых повреждений, а также от излишней потери воды (Samuels et al., 2008). В корнях, в отличие от листьев, присутствуют жирные альдегиды, которые могут ингибировать прорастание семян и обладают антибиотическими свойствами (Zhuang et al., 1996).

Таблица 7

Распределение нейтральных липидов листьев и корней обеих форм *M. baccata* (с. Ягодное) на одномерной ТСХ*

Липиды	Rf	
	Листья	Корни
Фосфолипиды	на стартовой линии	
Диглицериды	0,17	0,18
Стерины	0,25	0,26
Жирные спирты	0,36	0,34
Свободные жирные кислоты	0,45	0,40
Триглицериды	0,47	0,52
Жирные альдегиды	-	0,64
Углеводороды и воски	0,91	-

*Система: гексан:диэтиловый эфир:уксусная кислота (80:20:1)

В связи с изучением адаптации *M. baccata* к условиям почвенной засухи и воздействию частых ветров, особый интерес представляет анализ жирнокислотного (ЖК) состава корней, листьев, а также плодов яблони, произрастающей в с. Ягодное. В результате проведенных исследований установили, что особенности ЖК состава имеют закономерные органоспецифические различия.

Как видно из табл. 8, жирнокислотный состав суммарных липидов корней представлен 18 кислотами с числом углеродных атомов C14–C23.

Таблица 8

Жирнокислотный состав суммарных липидов корней карликовой и высокорослой формы *M. baccata* (с. Ягодное), а также интеграционные параметры жирнокислотного состава

Жирная кислота		Массовая доля кислоты, %	
Название (тривиальное или IUPAC)	Формула	Карликовая форма	Высокорослая форма
Миристиновая	14:0	1,14±0,06*	0,88±0,16
Пентадекановая	15:0	0,93±0,10*	0,53±0,07
Пальмитиновая	16:0	20,6±1,04	21,12±0,81
Гексадециновая	16:1ω9	4,33±0,76*	1,7±0,49
Пальмитолеиновая	16:1ω7	1,22±0,01*	0,38±0,04
Гексадециновая	16:1 ω5	0,77±0,08*	0,3±0,01
Гексадекановая	15-m-16:0i	0,44±0,12	-
Гексадекановая	14-m-16:0a	0,3±0,05	0,49±0,28
Маргариновая	17:0	0,34±0,12*	0,95±0,09
Гептадекановая	17:0i	0,20±0,1	-
Стеариновая	18:0	9,37±1,60*	6,6±0,34
Олеиновая	18:1 ω 9	14,58±2,08*	5,74±0,99
Цис-вакценовая	18:1 ω 7	2,48±0,43*	1,2±0,30
Линолевая	18:2 ω 6	22,69±1,96*	40,87±0,21
α-Линоленовая	18:3 ω 3	12,66±0,44	12,99±1,20
Арахиновая	20:0	2,51±0,66	2,41±2,41
Генэйкоциловая	21:0	0,52±0,04*	0,75±0,12
Бегеновая	22:0	4,02±0,99	2,49±0,83
Трикоциловая	23:0	1,11±0,40	0,62±0,15
НЖК		41,48±1,42*	36,84±1,01
ПНЖК		58,73±2,04*	63,18±0,41
ПНЖК/НЖК		1,42±0,03*	1,71±0,05
ИДС		1,07	1,30

Примечание: НЖК – сумма насыщенных жирных кислот, ПНЖК – сумма ненасыщенных жирных кислот, ИДС – индекс ненасыщенности жирнокислотного состава.

*Достоверность различий сравниваемых средних значений содержания жирных кислот в карликовой и высокорослой яблоне оценивали с помощью t-критерия ($P<0,05$)

Основными кислотами корней яблони сибирской являются пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая. Основными насыщенными кислотами у обеих форм были пальмитиновая (C16:0) и стеариновая (C18:0). Характерной особенностью корней является наличие некоторого количества изомеров кислот с нечетным числом атомов углерода C15–C17, при этом их содержание не превышает 1% от суммы всех кислот. Следует отметить, что корни яблони сибирской наряду с неразветвленными жирными кислотами содержат в небольшом количестве их изомерные формы (изо- и анти- изокислоты). В составе жирных кислот корней карликовой и высокорослой форм яблони преобладают ненасыщенные жирные кислоты. Их содержание относительно суммы кислот составило $58,73 \pm 2,04\%$ и $63,17 \pm 0,41\%$ соответственно. Среди ненасыщенных жирных кислот идентифицированы моноеновые, диеновые и триеновые кислоты, в основном образующие $\omega 9$, $2\omega 6$ и $3\omega 3$ семейства жирных кислот с цис-конфигурацией двойных связей. Среди моноеновых кислот обнаружены в небольшом количестве кислоты семейства $\omega 7$. Преобладающей среди моноеновых кислот у обеих форм была олеиновая. Ее содержание составило $14,58 \pm 2,08\%$ от суммы кислот у карликовой и $5,74 \pm 0,99\%$ – у высокорослой. Содержание стеариновой и олеиновой кислот в корнях карликовой формы заметно выше, чем в корнях высокорослой. Как видно из табл. 8, параметры, характеризующие степень ненасыщенности жирных кислот – индекс ненасыщенности (ИДС) и отношение количества ненасыщенных и насыщенных кислот ПНЖК/НЖК, у двух типов яблони заметно отличаются. У высокорослой формы оба показателя достоверно выше. Так, индекс ненасыщенности жирных кислот в корнях карликовой формы яблони составил 1,07 (самый низкий показатель из всех исследуемых тканей), в корнях высокорослой формы – 1,30 (табл. 8). Индекс ПНЖК/НЖК в корнях карликовой формы составил $1,42 \pm 0,03$, в высокорослой – $1,71 \pm 0,05$. Как было упомянуто выше, на молекулярном уровне важную роль в адаптивных процессах играют липиды, образующие в клеточных и внутриклеточных мембранах растений липидный бислой (Чиркова, 1997). Логично предположить, что липидная адаптация корней к дефициту воды у карликовой формы яблони связана со

снижением синтеза линолевой кислоты и индукцией синтеза длинноцепочечных насыщенных кислот C22–23 ряда.

Жирнокислотный состав суммарных липидов листьев двух экологических форм, произрастающих в с. Ягодное и г. Иркутске, представлен 23 кислотами с числом углеродных атомов в диапазоне C12–C22 (табл. 9).

Таблица 9

Жирнокислотный состав суммарных липидов листьев карликовой и высокорослой формы *M. baccata*, произрастающей в с. Ягодное и г. Иркутске, а также интегральные параметры жирнокислотного состава

Жирная кислота		Массовая доля кислоты, %			
Название (тривиальное или IUPAC)	Формула	с. Ягодное		г. Иркутск	
		Карликовая форма	Высокорослая форма	Карликовая форма	Высокорослая форма
Миристиновая	14:0	0,11±0,01*	0,64±0,19	0,32±0,05*	0,24±0,01
Пентадекановая	15:0	-	0,12±0,02	-	0,10±0,02
Пальмитиновая	16:0	18,14±0,70	18,91±2,13	18,21±0,33	17,26±1,49
Гексадециновая	16:1 ω9	2,07±0,25	1,61±0,28	2,39±0,22	2,39±0,09
Пальмитолеиновая	16:1 ω7	-	0,23±0,11	0,11±0,00*	0,17±0,03
Гексадециновая	16:1 ω5	0,14±0,02	0,14±0,01	0,13±0,01	0,12±0,02
Гексадекановая	17:0-а	0,19±0,01	0,19±0,02	0,11±0,01	0,13±0,01
Гексадекатриеновая	16:3 ω3	0,29±0,09	0,39±0,17	0,47±0,07	0,61±0,10
Стеариновая	18:0	3,84±0,39*	2,67±0,45	5,89±0,40*	3,72±0,17
Олеиновая	18:1 ω9	5,12±0,19	5,46±1,16	5,08±0,29*	2,24±0,21
Цис-вакценовая	18:1 ω7	0,26±0,04	0,33±0,12	0,37±0,07*	0,18±0,04
Линолевая	18:2 ω6	18,04±1,26	16,43±1,81	15,88±0,10*	12,09±1,40
α-Линоленовая	18:3 ω3	48,11±1,64	50,47±1,88	45,99±0,57*	58,28±0,70
Арахиновая	20:0	1,75±0,53	1,41±0,71	1,60±0,06*	1,11±0,06
Генэйкоциловая	21:0	0,13±0,03	-	0,34±0,03*	0,27±0,02
Бегеновая	22:0	0,72±0,27	0,51±0,44	1,00±0,14*	0,55±0,06
НЖК		25,31±0,84	24,45±0,78	26,02±3,39	23,57±1,56
ПНЖК		74,59±1,95	74,99±1,23	73,98±3,39	76,43±1,56
ПНЖК/НЖК		2,95±0,12	3,07±0,10	2,89±0,55	3,25±0,29
ИДС		1,89	1,93	1,89	2,05

Примечание: НЖК – сумма насыщенных жирных кислот, ПНЖК – сумма ненасыщенных жирных кислот, ИДС – индекс ненасыщенности жирнокислотного состава

*Достоверность различий сравниваемых средних значений содержаний жирных кислот в карликовой и высокорослой яблоне оценивали с помощью t-критерия ($P<0,05$)

Доминирующими насыщенными кислотами были пальмитиновая и стеариновая, а доминирующими ненасыщенными кислотами – олеиновая, линолевая и линоленовая. Особенностью ЖК состава было присутствие минорных насыщенных кислот: лауриновой (12:0) (в таблице не представлена, так как ее содержание было $<0,1\%$), миристиновой (14:0), пентадекановой (15:0), маргариновой (17:0), а также полиненасыщенной $\omega 3$ гексадекатриеновой кислоты (16:3), которая характерна для липидов листьев (Lipid maps. Lipidomics gateway [сайт], 2003). В целом достоверных различий между двумя формами дикорастущей яблони по жирнокислотному составу и его интеграционным параметрам (ИДС, НЖК, ПНЖК, ПНЖК/НЖК) не обнаружено. В листьях яблони, перенесенной в г. Иркутск, наблюдается различие в содержании некоторых кислот (табл. 9), однако достоверных различий в индексе двойных связей и отношении количества ненасыщенных и насыщенных кислот также не наблюдалось. В целом обе формы яблони имели характерный для фотосинтезирующих органов состав жирных кислот с высоким содержанием α -линоленовой кислоты (Liu et al., 2019).

Общеизвестно, что мембранный бислой фотосинтезирующих клеток определяется составом глико- и фосфолипидов, а устойчивость растений к различным стрессовым воздействиям в первую очередь связана с изменением количественного состава липидов клеточных мембран листьев и их жирных кислот (Dörmann, Hözl, 2009). Поэтому следующей задачей исследования был сравнительный анализ относительного содержания жирных кислот в фосфолипидах листьев карликовой и высокорослой форм, произрастающей в с. Ягодное (табл. 10).

Таблица 10

Жирнокислотный состав фосфолипидов листьев карликовой и высокорослой форм *M. baccata*, произрастающей в с. Ягодное, а также интегральные параметры жирнокислотного состава

Жирная кислота		Массовая доля кислоты, %	
Название (тривиальное или IUPAC)	Формула	Карликовая форма	Высокорослая Форма
Миристиновая	C14:0	0,32±0,18	0,18±0,08
Пальмитиновая	C16:0	20,87±3,19*	15,68±1,50
Гексадециновая	C16:1 ω9	0,10±0,05	0,18±0,06
Пальмитоолеиновая	C16:1 ω7	0,17±0,06	0,25±0,02
Гексадециновая	C16:1 ω5	3,78±1,26	2,88±0,43
Маргариновая	C17:0	0,22±0,04	0,20±0,02
Гексадекатриеновая	C16:3 ω3	0,21±0,10*	0,64±0,21
Стеариновая	C18:0	3,52±0,50*	2,64±0,28
Олеиновая	C18:1 ω9	3,53±0,72	3,11±0,18
Цис-вакценовая	C18:1 ω7	0,33±0,04	0,31±0,04
Линолевая	C18:2 ω6	10,42±1,30	8,66±1,46
α-Линоленовая	C18:3 ω3	50,36±6,65*	63,49±3,10
Арахиновая	C20:0	0,60±0,15	0,50±0,09
Гондовая	C20:1 ω9	0,24±0,09	0,14±0,03
Скиадоновая	C20:3 ω3	0,20±0,04*	0,36±0,04
Бегеновая	C22:0	0,30±0,09	0,32±0,04
Трикоциловая	C23:0	0,08±0,04	0,07±0,01
НЖК		26,02±2,01*	19,74±1,95
ПНЖК		74,01±2,11*	80,26±1,74
ПНЖК/НЖК		2,84±0,15*	4,06±0,23
ИДС		1,93	2,18

Примечание: НЖК – сумма насыщенных жирных кислот, ПНЖК – сумма ненасыщенных жирных кислот, ИДС – индекс ненасыщенности жирнокислотного состава

*Достоверность различий сравниваемых средних значений содержания жирных кислот в карликовой и высокорослой яблоне оценивали с помощью t-критерия ($P<0,05$)

В результате такого анализа установлено, что в фосфолипидах карликовой формы яблони содержание насыщенной пальмитиновой кислоты выше, что отразилось в сумме НЖК. Интегральные параметры ПНЖК/НЖК и ИДС у

высокорослой формы заметно выше, чем у карликовой. В целом индекс ненасыщенности для листьев обеих форм высокий: 2,18 для высокорослой формы и 1,93 для карликовой, что обусловлено большим содержанием полиненасыщенных кислот (табл. 10). Разница между двумя экологическими формами яблони по этому параметру в фосфолипидной фракции закономерно более выражена, чем во фракции суммарных липидов. У обеих форм наблюдается присутствие некоторого количества изомеров мононенасыщенных кислот ряда C16:1 и C18:1, а также длинноцепочечных ненасыщенных кислот ряда C20, относительное содержание которых при этом не превышает 0,5% (табл. 10).

Результаты анализа жирнокислотного состава суммарных липидов плодов высокорослой и карликовой форм *M. baccata*, произрастающей в с. Ягодное, представлены в табл. 11.

Основными насыщенными кислотами в плодах обеих форм являются пальмитиновая и стеариновая. Также была обнаружена в небольших количествах среднецепочечная лауриновая кислота (C12:0). Как видно из таблицы, в тканях плодов обеих форм преобладают ненасыщенные кислоты. Мононенасыщенные представлены олеиновой, *цис*-вакценовой (C18:1 ω 7) и следовыми количествами пальмитоолеиновой (C16:1 ω 7) кислоты. Основными полиненасыщенными кислотами являются диеновая линолевая и триеновая α -линоленовая.

Обращает на себя внимание соотношение содержания линолевой и линоленовой кислот. Если у высокорослой формы содержание линолевой кислоты заметно выше, чем линоленовой (42,20 \pm 1,41% и 26,98 \pm 2,11% соответственно), то у карликовой содержание этих кислот практически одинаково (33,82 \pm 1,14% и 32,18 \pm 2,11% соответственно) (табл. 11). Известно, что в ЖК статусе плодов яблони основной вклад вносят семена, для которых характерно более высокое содержание линолевой кислоты по сравнению с α -линоленовой (Dadwal et al., 2018; Abbas et al., 2019). Однаковое содержание линолевой и α -линоленовой кислот в плодах карликовых яблонь, возможно, является способом сохранения генеративного аппарата в условиях недостаточной влагообеспеченности в местах произрастания таких яблонь.

Таблица 11

Жирнокислотный состав суммарных липидов плодов карликовой и высокорослой форм *M. baccata*, произрастающей в с. Ягодное, а также интегральные параметры жирнокислотного состава

Жирная кислота		Массовая доля кислоты, %	
Название (тривиальное или IUPAC)	Формула	Карликовая форма	Высокорослая Форма
Лауриновая	C12 : 0	0,47 ± 0,07	0,3 ± 0,22
Миристиновая	C14 : 0	0,69 ± 0,06	0,48 ± 0,13
Пентадекановая	C15 : 0	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,10
Пальмитиновая	C16 : 0	19,71 ± 1,08	18,21 ± 0,70
Гексадециновая	C16 : 1 ω9	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Пальмитолеиновая	C16 : 1 ω7	0,25 ± 0,04	0,18 ± 0,03
Маргариновая	C17 : 0	0,46 ± 0,04	0,38 ± 0,09
Стеариновая	C18 : 0	5,01 ± 0,90	5,05 ± 1,50
Олеиновая	C18 : 1 ω9	2,8 ± 0,13	2,6 ± 1,19
Цис-вакценовая	C18 : 1 ω7	1,17 ± 0,11	0,93 ± 0,01
Линолевая	C18 : 2 ω6	33,82 ± 0,92*	42,2 ± 1,41
α-Линоленовая	C18 : 3 ω3	32,18 ± 1,14*	26,98 ± 2,11
Арахиновая	C20 : 0	2,2 ± 0,78	1,82 ± 1,03
Генэйкоциловая	C21 : 0	0,29 ± 0,12	0,26 ± 0,20
Бегеновая	C22 : 0	0,68 ± 0,37	0,39 ± 0,38
НЖК		29,68 ± 1,10	27,07 ± 0,82
ПНЖК		70,29 ± 0,59	72,93 ± 0,63
ПНЖК/НЖК		2,37 ± 0,10	2,69 ± 0,12
ИДС		1,68	1,69

Примечание: НЖК – сумма насыщенных жирных кислот, ПНЖК – сумма ненасыщенных жирных кислот, ИДС – индекс ненасыщенности жирнокислотного состава

*Достоверность различий сравниваемых средних значений содержания линолевой и линоленовой кислот в карликовой и высокорослой яблоне оценивали с помощью t-критерия ($P<0,05$)

Как было сказано выше, устойчивость растения при повышенных температурах обеспечивается среди прочего ограничением десатурации ЖК и стремлением к уплотнению мембранны (Лось, 2001 б). Также известно, что в условиях гиперосмотического стресса мембрана становится менее эластичной и

проницаемой для проникновения солей внутрь клетки (Озолина и др., 2017). Установленное нами уменьшение содержания ненасыщенных и увеличение синтеза насыщенных ЖК в липидах корней и фосфолипидах листьев карликовой *M. baccata* может свидетельствовать об участии липидов в адаптации этой формы к условиям почвенной и воздушной засухи.

3.6. Профиль свободных аминокислот карликовой и высокорослой яблони

Поскольку известно, что некоторые свободные аминокислоты являются низкомолекулярными осмолитами, повышенное содержание которых может служить характерным признаком адаптации к водному дефициту, то исследование аминокислотного состава листьев карликовой и высокорослой яблони в рамках данной работы представлялось важной задачей. Был проведен сравнительный анализ аминокислотного состава листьев яблони обеих форм, перенесенных в г. Иркутск. Профиль свободных аминокислот листьев яблони (табл. 12) представлен десятью протеиногенными кислотами: аланин, валин, глицин, изолейцин, пролин, серин, треонин, аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота, – и непротеиногенной пироглутаминовой кислотой (5-оксопролин). Выявлены значимые отличия в аминокислотном составе между формами яблони, а также установлены изменения содержания некоторых кислот в листьях в течение летних месяцев (июнь–июль).

Содержание кислот пируватного пути биосинтеза (аланина, валина, лейцина и изолейцина) в карликовой и высокорослой яблоне значимо не различалось в июньских пробах (табл. 12), тогда как в июле содержание валина у карликовой яблони было больше ($217,5 \pm 70,4$ мкг/г сухого веса), чем у высокорослой ($96,1 \pm 28,0$ мкг/г сухого веса). Содержание кислот оксалоацетатного пути биосинтеза: аспарагиновой кислоты и треонина между формами яблони различалось в отношении аспарагиновой кислоты. В июне и июле достоверных различий в содержании треонина не наблюдали, в то время как содержание аспарагиновой кислоты в июле в высокорослой яблоне было выше ($312,5 \pm 57,0$ мкг/г сухого веса), чем в карликовой ($168,9 \pm 21,0$ мкг/г сухого веса). Доминирующей аминокислотой в

листьях яблони обеих форм была глутаминовая кислота, относящаяся к 2-оксоглутаратному пути биосинтеза (табл. 12).

Таблица 12

Аминокислотный профиль листьев карликовой и высокорослой форм *M. baccata*, произрастающей в г. Иркутске, в июне–июле 2017 г.

Аминокислота	Содержание, мкг/г сухого веса			
	Июнь		Июль	
	Карликовая	Высокорослая	Карликовая	Высокорослая
Аланин	175,6±38,3	166,7±20,2	126,6±35,0	195,1±44,2
Валин	29,5±6,5	38,7±0,0	217,5±70,4	96,1±28,0*
Глицин	54,0±4,5	74,2±13,6*	122,7±17,8	116,5±22,7
Лейцин	27,8±6,9	22,1±6,6	10,9±1,4	14,1±2,3
Изолейцин	8,6±0,8	11,3±2,9	25,3±6,0	26,4±6,1
Пролин	49,6±8,2	47,8±8,9	1,0±0,1	1,5±0,6
Серин	38,0±8,4	53,5±1,1*	63,7±7,9	84,0±21,4
Треонин	49,3±8,8	67,9±14,4	43,2±11,8	63,8±20,3
5-Оксопролин	26,0±4,7	21,0±3,2	28,8±3,6	21,9±4,4
Аспарагиновая кислота	113,7±27,6	159,7±10,5	168,9±21,0	312,5±57,0*
Глутаминовая кислота	193,6±28,1	274,3±5,9*	643,0±55,4	678,6±96,9
Σ всех аминокислот	616,1±123,2	958,3±66,8*	1365,1±182,8	1607,0±292,8

*Достоверность различий сравниваемых средних значений содержания аминокислот в карликовой и высокорослой яблоне оценивали с помощью критерия Манна-Уитни

Вероятно, это объясняется тем, что она является предшественником пролина и его производных, и некоторых других протеиногенных и непротеиногенных аминокислот. В июне содержание глутаминовой кислоты у высокорослой формы было заметно выше (274,3±5,9 мкг/г сухого веса), чем у карликовой (193,6±28,1 мкг/г сухого веса). В июле её содержание было в три раза выше по сравнению с июньскими пробами, хотя между формами яблони по этому показателю достоверных различий не наблюдали (табл. 12). Содержание пролина между формами яблони достоверно не различалось. Однако в июньских пробах его количество на порядок было выше, чем в июльских. Увеличение пролина в листьях в июне коррелирует с уменьшением содержания глутаминовой кислоты, что может быть связано с более активными процессами синтеза пролина и его производных в

раннелетний период. Активный синтез осмопротектора, возможно, связан с более засушливым июнем, когда средняя температура месяца составила 18,4 °С (максимальная 33,6 °С) при низком значении количества осадков в месяц 15 мм, тогда как в июле эти показатели составляли 19,3 °С и 69 мм, соответственно. Известно, что при действии угнетающих факторов (влияющих на понижение водного потенциала в клетках растений) количество пролина увеличивается в несколько десятков раз (Кузнецов, Шевякова, 1999; Matysik et al., 2002; Келес, Онсел, 2004; Гаджиева и др., 2010). В нашем случае, десятикратное увеличение пролина в обеих формах яблони в июне также может свидетельствовать о неблагоприятных условиях произрастания, связанном с недостаточной увлажненностью почвы.

Содержание аминокислот, образующихся из рибулозобифосфата (цикл Кальвина), глицина и серина также заметно варьирует в зависимости от периода вегетации. В июне в листьях яблони содержание серина было достоверно выше у высокорослой формы ($53,5 \pm 1,1$ мкг/г сухого веса), чем у карликовой ($38,0 \pm 8,4$ мкг/г сухого веса). Тогда как в июле в целом серина было больше у обеих форм, чем в июне, и различий между формами не было обнаружено (табл. 12). Содержание глицина в июньских образцах листьев высокорослой яблони было выше ($74,2 \pm 13,6$ мкг/г сухого веса), чем у карликовой ($54,0 \pm 4,5$ мкг/г сухого веса). Достоверных различий в содержании глицина в листьях карликовой и высокорослой яблони, собранных в июле, не наблюдали. В целом его содержание было также выше в июле, чем в июне.

Содержание непротеиногенной пироглутаминовой кислоты в листьях обеих форм яблони в течение летних месяцев достоверно не различалось (табл. 12). Известно, что предшественником 5-оксопролина (пироглутаминовой кислоты) является непосредственно глутаминовая кислота, а сам 5-оксопролин представляет собой циклическое производное L-глутаминовой кислоты (рис. 20).

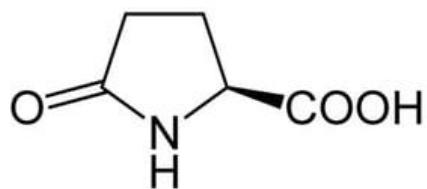


Рисунок 20. Структурная формула пироглутаминовой кислоты (5-оксопролин)
(<https://www.tradeindia.com/hyderabad/d-pyroglutamic-acid-city-196467.html>)

В растениях пироглутаминовая кислота является одним из метаболитов цикла деградации глутатиона в цитозоле, который под воздействием ферментов γ -глутамилциклоферазы и 5-оксопролиназы разлагается до глутамата (Noctor et al., 2012). Особенность пироглутаминовой кислоты превращаться в глутамат (ионизированная форма глутаминовой кислоты), а затем в пролин используется как способ повышения устойчивости растений при засухе. Было показано, что обработка посевов пироглутаминовой кислотой в условиях водного дефицита способствует повышению продуктивности растений более чем на 30%, путем усиления скорости фотосинтеза и антиоксидантной защиты, сохраняя при этом осмотический и водный баланс (Jiménez-Arias et al., 2018). Однако функции свободной пироглутаминовой кислоты в растительной клетке остаются малоизученными, и в литературе встречаются в основном данные о ее локализации в различных частях растения (Horiuchi et al., 1999; Fiehn et al., 2000; Кузмичева и др., 2014; Шапошников и др., 2016).

Проведенный анализ содержания свободных аминокислот в листьях обеих форм *M. baccata* и их суммарного содержания, показал, что карликовая яблоня в июне содержит на 30% меньше аминокислот, чем высокорослая. Меньшее содержание суммы аминокислот в карликовой яблоне по сравнению с высокорослой сохраняется и в июле. Возможно, это связано с более низкой интенсивностью биосинтетических процессов у карликовой яблони по сравнению с высокорослой яблоней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Карликовая и высокорослая формы *M. baccata*, являющиеся объектом этого исследования, произрастают в лесостепной зоне (близ с. Ягодное республики Бурятия). При этом условия произрастания этих форм значительно отличаются по водообеспеченности. Если высокорослые деревья растут в подлеске хвойного леса по берегам ручья, то карликовые яблони обнаружены на открытом пригорке, на значительном удалении от источников воды. Анализ климатических показателей показал, что для данной местности (с. Ягодное) характерны более высокие температуры и низкая влажность воздуха по сравнению с контрольной территорией (г. Иркутск). Кроме того, частые ветра со скоростью 10–14 м/с, характерные для Гусиноозерского района, также могут оказывать губительное иссушающее действие на растения, повышая тем самым транспирацию. Эти показатели могут быть стрессовыми факторами для обеих форм яблони сибирской. В результате сравнительной оценки почвы, где произрастают обе формы, и ее полевой влагоемкости было установлено, что карликовая форма *M. baccata* произрастает на более тонком плодородном слое почвы, по сравнению с высокорослыми деревьями. Дрестьва, располагающаяся в этих местах под плодородным слоем, не позволяет удерживать воду, что затрудняет доступ к почвенной влаге для карликовых форм. Таким образом, обе формы *Malus baccata* (L.) Borkh. произрастают в условиях умеренной воздушной засухи, усиленной ветрами, при этом карликовая яблоня подвергается дополнительно воздействию почвенной засухи. Как уже было сказано выше, адаптация растений к водному дефициту сводится к снижению обезвоживания тканей и выражается в трех стратегиях: толерантность, убегание и акклиматизация, причем многие растения могут их сочетать (Bouzid et al., 2019; Brito et al., 2019). Из представленных выше стратегий адаптации к засушливым условиям стратегия убегания для *Malus baccata* (L.) Borkh, произрастающей в с. Ягодное, не характерна, поскольку различий в периодах вегетации растений и покоя семян между высокорослой и карликовой яблонями не наблюдается. По нашему мнению, эти растения используют стратегии толерантности и акклиматизации, которые, прежде всего, проявляются в физиолого-биохимической адаптации к засухе.

Особенностью засухоустойчивых растений является оптимизация работы фотосинтетической системы. Установленное более низкое содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях карликовой яблони, по сравнению с листьями у высокорослой формы, а также более низкая относительная скорость электронного транспорта в листьях карликов, свидетельствует о снижении фотосинтетической эффективности у низкорослых деревьев. Возможно, это является одной из причин уменьшения количества листьев на побегах карликовых яблонь и изменения формы листовой пластинки (у карликов она уже и короче). Об уменьшении транспирации могут говорить особенности устьичного аппарата карликовой формы *M. baccata* (Rudikovskii et al., 2015). Количество устьиц на единицу площади гипостоматического листа у таких яблонь больше ($253,4 \pm 3,5$), чем у высокорослой формы ($153,2 \pm 5,3$), однако по размеру они значительно уступают устьицам на листьях высокорослой яблони. Таким образом, дикорастущая карликовая *M. baccata* в условиях дефицита почвенной и воздушной влаги, по-видимому, использует изогидрическую стратегию выживания, что приводит к снижению доступа CO_2 и его ассимиляции.

Изучение основных параметров флуоресценции хлорофилла показало, что на фоне повышенного индекса нефотохимического тушения в листьях высокорослой дикорастущей яблони (с. Ягодное) реальный квантовый выход ФСП ниже, чем у высокорослых деревьев, произрастающих в контрольных условиях г. Иркутска. По нашему мнению, такие различия объясняются неблагоприятными природными условиями произрастания *M. baccata*, связанными с действием воздушной засухи.

Большое значение для процессов адаптации растений к недостатку влаги имеет гормональная регуляция, в частности изменение содержаний ауксинов и абсцизовой кислоты. Формирование ответа на стресс, который вызван водным дефицитом, связано с изменением синтеза АБК *de novo*, и его накоплением не только в листьях, но и в засыхающих корнях (Новикова и др., 2009; Кудоярова и др., 2013). Однако до сих пор имеются противоречивые данные о корреляции между уровнем АБК в растении и его засухоустойчивостью. С одной стороны, более засухоустойчивые растения характеризуются повышенным содержанием АБК при почвенной засухе (Леи, 2008; Kholova et al., 2010). С другой – повышение

АБК в листьях наблюдается у менее устойчивых растений (Кудоярова и др., 2013). С третьей – установлено, что в процессе адаптации растений к почвенной засухе увеличение АБК происходит в две стадии: на начальном этапе, связанном с формированием быстрых защитных реакций листа, и ее заключительной фазе, когда изменяется структура листа (Pustovoitova et al., 2003). В результате проведенных исследований было установлено, что содержание АБК в листьях яблони было сходным у обеих изучаемых форм, произрастающих в с. Ягодное. Такие же показатели АБК были выявлены и в листьях изучаемых деревьев г. Иркутска. Это может свидетельствовать о неоднозначной функции АБК в процессах адаптации растений к длительно действующей умеренной почвенной засухе. Н. И. Ненько с соавторами (г. Краснодар) было показано, что в листьях яблочных культур в период почвенной и воздушной засухи изменения в содержании АБК имели сортоспецифичный характер, не связанный с регулированием ростовых процессов. Очевидная закономерность в замедлении роста яблони при засухе проявлялась в снижении ИУК в листьях (Ненько и др., 2016). Другие авторы также связывают замедление роста растений со снижением ИУК при засухе (Pustovoitova et al., 2003). В результате наших исследований было установлено меньшее содержание ИУК в листьях карликовой яблони сибирской, по сравнению с высокорослыми формами. Полученные данные коррелируют с установленным ранее более высоким разнообразием молекулярных форм пероксидазы у карликовых особей *M. baccata*, произрастающих в республике Бурятия (Кузнецова, 2010), которая, как известно, участвует в деградации ИУК. Пероксидаза способна аэробно окислять ИУК до соединений, не содержащих индольной группы, что, в конечном счете, влияет на рост и развитие растений. Увеличение пероксидазной активности в ответ на недостаточное водообеспечение яблони в период вегетации, возможно, повлияло на снижение содержания ауксинов в меристематических тканях дерева. Недостаток ИУК, в свою очередь, мог привести к нарушению апикального доминирования и снижению скорости роста яблони. Известно, что в растении основная часть ауксина синтезируется в молодых листьях и семядолях, последующий базипетальный транспорт ИУК может подавлять рост боковых побегов, обеспечивая интенсивный рост апикальных

меристем (апикальное доминирование). Обнаруженное нами более низкое содержание ИУК в молодых листьях карликовой формы яблони может обуславливать у нее более интенсивный рост скелетных ветвей второго порядка и сильно загущенную крону по сравнению с высокорослой формой.

Общеизвестно, что важную роль в адаптации растений к недостатку почвенной и воздушной влаги играет поддержание осмоса в клетках, которое достигается, прежде всего, за счет проницаемости мембран. Устойчивость мембран в данном случае обуславливается интегральными белками, функции которых в значительной степени зависят от липидного окружения (Yu et al., 2020). По увеличению проницаемости липидного бислоя, по уровню перекисного окисления липидов, изменению насыщенности жирных кислот можно в определенной степени диагностировать состояние самого растения, находящегося под давлением неблагоприятных факторов. Проведенный нами анализ липидного состава в листьях показал, что карликовая яблоня содержит на 3% меньше суммарных липидов и на 10% меньше фосфолипидов по сравнению с высокорослой формой. Известно, что уменьшение содержания мембранных липидов в растении может происходить под влиянием абиотического стресса (Liu et al., 2019). С другой стороны, уменьшение липидов при длительном стрессовом воздействии, как структурного компонента мембран в клетке, может свидетельствовать об уменьшении количества хлоропластов, митохондрий и общей площади цитоплазматических мембран (Новицкий и др., 2015). Исходя из этого, обнаруженное нами более низкое общее содержание липидов в листьях карликовой яблони коррелирует со сниженным содержанием фотосинтетических пигментов по сравнению с высокорослой формой. Это может означать снижение интенсивности метаболизма у карликовой формы *M. baccata*.

В результате исследования жирнокислотного состава листьев, корней и плодов двух форм яблони было показано, что профиль жирных кислот органоспецичен. В связи с разными условиями увлажненности почвы в местах произрастания двух форм яблони сибирской, наибольшие отличия в жирнокислотном составе обнаружили в корнях. В целом, ЖК-состав корней характеризовался большим содержанием насыщенных и моноеновых

ненасыщенных кислот по сравнению с надземными органами. Если принять во внимание тот факт, что большая часть полиненасыщенных жирных кислот в листьях входит в состав полярных липидов хлоропластов, то низкие показатели индексов ИДС и ПНЖК/НЖК в нефотосинтезирующих тканях ожидаемы. Кроме того, выявляются определенные различия в содержании насыщенных и ненасыщенных кислот полярных липидов листьев исследуемых форм, которые выражаются в разнице индексов ненасыщенности и отношений содержания ненасыщенных кислот к насыщенным. Более низкие значения этих индексов у карликовой яблони по сравнению с высокорослой формой обусловлены меньшим содержанием α -линоленовой кислоты. Было доказано, что под воздействием абиотических факторов, влияющих на осмотику растительной клетки, в мембранах тилакоидов снижается содержание α -линоленовой кислоты, как основного компонента гликолипидов, и увеличивается содержание пальмитиновой кислоты (Chen et al., 2018; Liu et al., 2019; Sebastian et al., 2019). Поэтому снижение содержания ненасыщенных жирных кислот, в частности α -линоленовой, в листьях карликовых деревьев может также свидетельствовать о реакции на более засушливые по сравнению с высокорослыми яблонями условия произрастания.

Известно, что адаптация растений к недостатку влаги может начинаться с запуска неспецифических реакций, направленных на поддержание осмоса в клетке, прежде всего это выражается в активации синтеза низкомолекулярных веществ – осмолитов. Особое значение в этой саморегуляции имеют свободные аминокислоты. Доказано, что в засушливых условиях у растений, испытывающих стресс, увеличивается содержание осмопротекторных аминокислот (например, пролина) и уменьшается содержание глутаминовой кислоты – как предшественника таких аминокислот (Lanzinger et al., 2015; Li et al., 2016). В результате проведенного нами анализа различий в содержании пролина между двумя формами яблони сибирской установлено не было, однако содержание глутаминовой кислоты было более высоким у высокорослой формы. При этом была выявлена особенность профиля свободных аминокислот у карликовой *M. baccata*, которая заключалась в более низком содержании общего их количества в листьях этой формы почти на 30%, по сравнению с высокорослыми деревьями. Это

также может быть характерным признаком замедления метаболических процессов, связанных с адаптацией к неблагоприятным условиям произрастания.

По результатам, полученным в данной работе, можно сделать следующее заключение: умеренная длительно действующая почвенная засуха, воздушная засуха, усиленная частыми ветрами, и тонкий плодородный слой почвы и ее слабая способность к водоудержанию оказали плейотропное воздействие на рост и развитие *M. baccata* в с. Ягодное (республика Бурятия). По всей видимости, для деревьев яблони сибирской, которые оказались в этих условиях, центральной стратегией адаптации к засухе стала стратегия акклиматизации. В процессе исследования нами не обнаружено увеличение содержания свободного пролина в карликовых формах *Malus baccata* (L.) Borkh., которое могло бы свидетельствовать о наличии стратегии толерантности. Однако полностью отвергать эту стратегию адаптации у *M. baccata* не следует, так как не изучено содержание белков теплового шока и полиаминов.

Стремление к сокращению обезвоживания тканей выразилось в замедлении всех метаболических процессов, а именно:

1. В снижении содержания фотосинтетических пигментов и относительной скорости электронного транспорта в ФСП.
2. В снижении содержания фитогормонов, ответственных за рост.
3. В снижении содержания суммарных и полярных липидов листьев и ненасыщенности их жирных кислот.
4. В уменьшении количества свободных аминокислот

Замедление этих процессов, по-видимому, привело к уменьшению роста деревьев. В отличие от высокорослой формы, которая имеет характерную для *M. baccata* высоту (выше 2 м), карликовая яблоня в с. Ягодное не достигает и 1,5 м. По всей видимости, такая невысокая кустарниковая форма яблони позволяет ей более успешно адаптироваться к длительному периоду умеренной засухи и более успешно входить в генеративную фазу.

Литературные данные и полученные в работе сведения о влиянии климатических факторов и физиологического-биохимических путях формирования

карликовости у *Malus baccata* (L.) Borkh., произрастающей в с. Ягодное (республика Бурятия), можно обобщить в виде следующей схемы (рис. 21).



Рисунок 21. Схема путей физиолого-биохимической адаптации *Malus baccata* (L.) Borkh. к климатическим условиям произрастания в республике Бурятия, приводящей к формированию карликовости.

Примечание: красным цветом обозначены параметры, установленные в рамках данного исследования

ВЫВОДЫ

На основании полученных результатов были сделаны следующие выводы:

1. Карликовый статус яблони формируется под влиянием совместного действия умеренной почвенной засухи и воздушной засухи в весенне-летний период, усиленной частыми ветрами, характерными для степных зон республики Бурятия.

2. При переносе растений в более благоприятные условия по водообеспеченности (г. Иркутск) наблюдается интенсификация роста у карликовых деревьев. Однако замедленные темпы роста по сравнению с высокорослыми яблонями и нарушение апикального доминирования в карликовых деревьях сохраняются.

3. В листьях дикорастущей (с. Ягодное) карликовой яблони наблюдали более низкое общее содержание хлорофиллов и каротиноидов, по сравнению с высокорослой формой. Установлено, что относительная скорость электронного транспорта в листьях дикорастущей карликовой яблони достоверно ниже, чем в высокорослой форме. Все эти изменения в фотосинетическом аппарате карликовой яблони мы связываем с действием воздушной засухи, характерной для степной зоны в республике Бурятия.

Изучение основных параметров флуоресценции хлорофилла показало, в листьях обеих форм дикорастущей яблони реальный квантовый выход ФСII ниже, чем в деревьях, произрастающих в более благоприятных по водообеспеченности условиях (г. Иркутск).

4. В результате сравнительного анализа количественного содержания эндогенных абсцизовой и индолилуксусной кислот в верхушечных почках, коре (флоэма+камбий) и плодах на стадии активного роста установлено, что содержание этих гормонов органоспецифично и определяется функциями тканей. Более выражено различие между карликовой и высокорослой формой яблони в молодых разворачивающихся листьях. Содержание в них индолилуксусной кислоты в три раза ниже в карликовой яблоне, чем в высокорослой, на фоне одинакового содержания абсцизовой кислоты. Это могло быть причиной нарушения апикального доминирования и

интенсивного роста скелетных ветвей 2-го порядка в карликовой яблоне, приводящего к низкому росту и загущенной кроне.

5. Эксперименты с эндогенным нанесением гиббереллина на верхушечные почки яблони сибирской показали сохранение гиббереллин-чувствительности карликовой формы.

6. а) Сравнительный анализ липидного состава листьев карликовой и высокорослой дикорастущей яблони показал, что у карликовой формы содержание суммарных липидов ниже на 3%, а содержание фосфолипидов на 10% относительно высокорослой формы. Это может быть связано с более низкой интенсивностью метаболизма у карликовых растений в целом под воздействием совместной почвенной и воздушной засухи.

б) В результате сравнительного анализа содержания жирных кислот в корнях, листьях и плодах карликовой и высокорослой яблони установлено, что жирнокислотный состав органоспецичен. Индекс ненасыщенности жирнокислотного состава корней и листьев у карликовой формы яблони был ниже, чем у высокорослой, что могло быть вызвано совместным действием почвенной и воздушной засухи.

7. В результате сравнительного анализа содержания аминокислот в листьях карликовой и высокорослой яблони в июне-июле было установлено увеличение пролина у обеих форм в ответ на засуху в июне. На протяжении этих летних месяцев наблюдали тенденцию к снижению суммы аминокислот в карликовой яблоне по сравнению с высокорослой.

8. У яблони сибирской, произрастающей в республике Бурятия, в условиях длительной умеренной почвенной засухи и воздушной засухи, усиливающейся частыми ветрами, по-видимому, наблюдается давление генетически детерминированного отбора в пользу карликовых форм. Деревья этой формы значительно отличаются от высокорослой не только по морфологическим признакам (рост, загущенность кроны, уменьшение количества и размера листьев), но и по основным физиологико-биохимическим параметрам: меньшее содержание фотосинтетических пигментов, суммарных липидов и свободных аминокислот, а также характерный фитогормональный и

жирнокислотный составы. На основании полученных данных, можно заключить, что адаптация карликовой яблони сводится к стратегии акклиматизации, основной целью которой является избегание обезвоживания тканей путем уменьшения их поверхности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдукаrimов А.Г., Турсынбаев Н.А., Калымбекова Г.Т. (2015) Диагностика питания растений. *Механика и техника*, 3, 85-92.
2. Абсцизовая кислота [сайт], (2008) <https://xumuk.ru/spravochnik/2085.html> (дата обращения: 16.06.2019)
3. Алферов В.А., Ермоленко В.Г., Заерко Т.А., Тимошенко С.Е. (2010) Интенсивная технология размножения клоновых подвоев яблони. *Плодоводство и виноградарство юга России*, 16 (4), 30-36.
4. Асильбекова Д.Т., Турсунходжаева Ф.М. (2009) Липиды листьев *Capparis spinosa* L. *Химия растительного сырья*, 2, 97-99.
5. Ауксины [сайт] <https://ru.wikipedia.org/wiki/Ауксины> (дата обращения: 10.06.2018)
6. Афанасьева Л.В. (2018) Физиолого-биохимическая адаптация лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. к условиям городской среды. Сибирский лесной журнал, 3, 21-29.
7. Баландин С.А. (2009) Карликовые растения. Большая Российская энциклопедия. (электронная версия, 2016). <https://bigenc.ru/biology/text/2047570> Дата обращения: 18.01.2021
8. Баханова М.В. (2011 а) Фенотипическая изменчивость морфологических признаков яблони сибирской (*Malus baccata* (L.) Borkh) в условиях Бурятии. *Вестник Бурятского государственного университета*, 4, 76-81.
9. Баханова М.В. (2011 б) О некоторых особенностях полиморфизма морфологических признаков *Malus baccata* (L.) Borkh в Бурятии. *Ученые записки Забайкальского государственного университета. Серия: Биологические науки*, 1 (36), 14-21.
10. Баханова М.В., Чупарина Е.В., Батуева Ю.М., Ловцова Н.М., Утенкова А.А. (2018) Особенности элементного состава у различных форм яблони сибирской в зависимости от условий произрастания. *Вестник СВФУ. Серия: Биологические науки*, 6 (68), 5-17.
11. Билова Т.Е., Рябова Д.Н., Анисимова И.Н. (2016) Молекулярные основы формирования карликовости у культурных растений. Сообщение I. Нарушение

- роста из-за мутаций генов метаболизма и сигналинга гиббереллинов. *Сельскохозяйственная биология*, **51** (1), 3-16. doi: 10.15389/agrobiology.2016.1.3rus
12. **Бояркин А.Н., Дмитриева М.И.** (1966) Биологическая проба на гиббереллины. В сб: *Методы определения регуляторов роста и гербицидов*, под ред. Ракитина Ю.В. Л.: Наука, с. 99-103.
13. **Валитова Ю.Н., Сулкарнаева А.Г., Минибаева Ф.В.** (2016) Растительные стерины: многообразие, биосинтез, физиологические функции. *Биохимия*, **81** (8), 1050-1068.
14. **Ванина Л.С.** (1997) Перспективы использования видового потенциала рода *Malus* Mill. в условиях средней полосы европейской части России. *Растительные ресурсы*, **33** (4), 80-85.
15. **Ванина Л.С.** (2016) Дикорастущая яблоня Сибири *Malus baccata* (L.) Borkh. *Вестник современной науки*, **12-1** (24), 15-17.
16. **Васильева В.Н.** (1991) Яблоня в Сибири: интродукция, селекция, сорта. Новосибирск: Наука, Сиб. отд., 151 с.
17. **Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Анохина Н.Л., Кудоярова Г.Р.** (2015) Влияние напряженности засухи на образование боковых корней и содержание гормонов у растений ячменя. *Биомика*, **7** (4), 217-223.
18. **Венжик Ю.В., Титов А.Ф., Холопцева Е.С., Таланова В.В.** (2015) Раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия на некоторые физиологические показатели пшеницы. *Труды Карельского научного центра РАН*, **12**, 23-34.
19. **Воинков А.А.** (2007) Фауна и экология Стaphylinид (*Coleoptera, Staphylinidae*) Селенгинского среднегорья. Дисс. канд. биол. наук, Улан-Удэ, 247 с.
20. **Воробьев Г.И.** (1985) Лесная энциклопедия: В 2-х т. М.: Сов. энциклопедия, 563 с.
21. **Высоцкая Л.Б., Веселов Д.С., Фархутдинов Р.Г., Веселов С.Ю.** (2014) Гормональная регуляция водного обмена и роста растений на разных фонах минерального питания и при дефиците воды. Уфа: РИЦ БашГУ, 244 с.

22. Гаджиева И.Х., Алиева З.М., Рамазанова П.Б. (2010) Кросс-адаптация растений к почвенному засолению и тяжелым металлам. *Экология растений. Юг России: экология, развитие*, **1**, 26-32.
23. Гиббереллины [сайт] <https://ru.wikipedia.org/wiki/Гиббереллины> (дата обращения 23.03.2019)
24. Головко Т.К., Табаленкова Г.Н., Дымова О.В. (2007) Пигментный комплекс растений приполярного Урала. *Ботанический журнал*, **92 (11)**, 1732-1742.
25. Голубцов В.А., Рыжов Ю.В., Кобылкин Д.В. (2017) Почвообразование и осадконакопление в Селенгинском среднегорье в позднеледниковые и голоцене. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 139 с.
26. Гольцев Н.Н., Каладжи Х.М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С.И. (2016) Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений. *Физиология растений*, **63 (6)**, 881-907.
27. Грабельных О. И., Пивоварова Н. Ю., Побежимова Т. П., Колесниченко А. В., Войников, В. К. (2009). Роль свободных жирных кислот в энергетическом метаболизме митохондрий проростков озимой пшеницы. *Физиология растений*, **56(3)**, 369-381.
28. Дегтярева М.А. (2017 а) Об особенностях морфологической структуры ландшафтов Гусиноозерской котловины (республика Бурятия). *Матер. IV межд. заочн. научно-практич. конф.* (Брянск): *Географические проблемы сбалансированного развития староосвоенных регионов*, 79-82.
29. Дегтярева М.А. (2017 б) Геоэкологическая оценка ландшафтов Гусиноозерской котловины (Республика Бурятия). Выпускн. квалификац. работа бакалавра – География, Томск, 74 с.
30. Долгих А.В., Долгих Е.А. (2019) Роль универсальных регуляторов роста и развития растений DELLA-белков в контроле симбиозов. *Экологическая генетика*, **17 (1)**, 33-41. doi.org/10.17816/ecogen17133-41.
31. Елькина Г.Я. (2014) Влияние разных уровней загрязнения почвы кадмием на содержание аминокислот в растениях. *Агрономия*, **5**, 72-78.

32. Епринцев А.Т., Солодилова О.С., Хожаинова Г.Н. (2003) Роль свободных аминокислот в адаптивной реакции кукурузы в условиях солевого стресса. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*, 2, 132-135.
33. Иванов Л.А., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Юдина П.К. (2013) Изменение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на Южном Урале. *Физиология растений*, 60 (6), 856-864.
34. Иванова М.В., Суворова Г.Г. (2014) Структура и функция фотосинтетического аппарата хвойных в условиях юга Восточной Сибири. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 82 с.
35. Ионова Е.В., Лиховидова В.А., Лобунская И.А. (2019) Засуха и гидротермический коэффициент увлажнения как один из критериев оценки степени ее интенсивности (обзор литературы). *Зерновое хозяйство России*, 6 (66), 18-22. doi:10.31367/2079-8725-2019-66-6-18-22.
36. Картографические данные google: [сайт]. [2021] URL: <https://www.google.ru/maps/place/Селенгинский+р-н,+Респ.+Бурятия/@51.0932963,105.0606681,8z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x5da5a5af2e2c8627:0x54df74e0c072ec0!8m2!3d51.0761577!4d106.0975785> (дата обращения: 1.04.2021)
37. Кейтс М. (1975) Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. М: Мир, 322с.
38. Келес Ю., Онсел И. (2004) Рост и содержание ряда растворимых метаболитов у двух видов пшеницы, подвергнутых совместному действию нескольких стресс-факторов. *Физиология растений*, 51 (2), 228-233.
39. Козлова А.А. (2009) Учебная практика по физике почв : учеб.-метод. пособие. Иркутск: Изд-во ИГУ, 81 с.
40. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. (2014) Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях. *Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия: Биология*, 2 (32), 6-22.
41. Коропачинский И.Ю. (2012) Древесные растения Азиатской России: 2-е изд. Новосибирск: Гео, 706 с.

42. **Котляров В.В., Багрянцев Е.С.** (2013) Влияние экзогенных аминокислот на фотосинтетическую активность растений сои. *Электронный журнал: Научный журнал КубГАУ*, **89 (05)**, 16 с. <http://ej.kubagro.ru/archive.asp?n=89>
43. **Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С.** (2013) Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды. *Физиология растений*, **60 (2)**, 155-165.
44. **Кузнецов В.В., Шевякова Н.И.** (1999) Пролин при стрессе биологическая роль, метаболизм, регуляция. *Физиология растений*, **46 (2)**, 321-336.
45. **Кузнецова А.О., Слагода Е.А.** (2016) Влияние природных факторов на растения тундровой зоны Западной Сибири. *Матер. всеросс. молодежн. научн.-практ. конф. (с межд. участ.) (Тюмень): Научная и производственная деятельность – средство формирования среды обитания человечества*, 166-169.
46. **Кузнецова Е.В.** (2010) Генетико-биохимическая дифференциация и происхождение карликовых форм яблони сибирской *Malus baccata* (L.) Borkh. Дисс. канд. биол. наук, Иркутск, 139 с.
47. **Кузмичева Ю.В., Шапошников А.И., Азарова Т.С., Петрова С.Н., Наумкина Т.С., Борисов А.Ю., Белимов А.А., Кравченко Л.В., Паракин Н.В., Тихонович И.А.** (2014) Состав корневых экзометаболитов высокосимбиотического сорта гороха триумф и его родительских форм. *Физиология растений*, **61 (1)**, 121-128.
48. **Куприянов А.Н., Лабазников С.Б.** (1999) Рост древесных растений в условиях засушливых степей. *Известия АГУ*, **5**, 126-129.
49. **Кулаева О.Н., Кузнецов В.В.** (2004) Новейшие достижения и перспективы изучения механизма действия фитогормонов и их участия в сигнальных системах целого растения. *Вестник РФФИ*, **2**, 12-36.
50. **Лебедев Е.В.** (2013) Продуктивность, фотосинтез и минеральное питание дуба черешчатого, березы пушистой и липы сердцевидной в европейской части России на уровне организма в онтогенезе. *Лесной вестник*, **3**, 33-39.
51. **Лебедева О.Н., Стafeева Е.Б., Николаевская Т.С., Титов А.Ф.** (2008) Роль пигментов в формировании фотопротекторных свойств растений. *Успехи современной биологии*, **128 (4)**, 369-383.

52. **Леи Я.** (2008) Физиологические ответы *Populusprzewalsku* на окислительный стресс, вызванный засухой. *Физиология растений*, **55** (6), 945-953.
53. **Лось Д.А.** (2001 а) Восприятие сигналов биологическими мембранами: сенсорные белки и экспрессия генов. *Соросовский образовательный журнал*, **7** (9), 14-22.
54. **Лось Д.А.** (2001 б) Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот. *Успехи биологической химии*, **41**, 163-198.
55. **Маевская С.Н., Николаева М.К.** (2013) Реакция антиоксидантной и осмопротекторной систем проростков пшеницы на засуху и регидратацию. *Физиология растений*, **60** (3), 351-359.
56. **Ненько Н.И., Киселева Г.К., Ульяновская Е.В., Шестакова В.В., Караваева А.В.** (2016) Изучение механизмов устойчивости яблони к засухе для формирования многолетних агроценозов. *Научные труды СКЗНИИСиВ*, **9**, 59-70.
57. **Нестеренко Т.В., Шихов В.Н., Тихомиров А.А.** (2001) Термоиндукция флуоресценции хлорофилла и возрастное состояние листьев высших растений. *Физиология растений*, **48** (2), 282-291.
58. **Нестеренко Т.В., Тихомиров А.А., Шихов В.Н.** (2007) Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям. *Журнал общей биологии*, **68** (6), 444-458.
59. **Новаковская Т.В., Дымова О.В.** (2012) Видовое разнообразие и пигментный комплекс макрофитов водоемов окрестностей г. Сыктывкара (республика Коми). *Вестник Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. Биология*, **5** (1), 127-134.
60. **Новикова Г.В., Степанченко Н.С., Носов А.В., Мошков И.Е.** (2009) В начале пути: восприятие АБК и передача ее сигнала у растений. *Физиология растений*, **56** (6), 806-823.
61. **Новицкий Ю.И., Новицкая Г.В., Молоканов Д.Р., Сердюков Ю.А. Юсупова И.У.** (2015) Влияние слабого постоянного магнитного поля на состав и содержание липидов в листьях салата. *Известия РАН. Серия биологическая*, **5**, 487-494. doi: 10.7868/S0002332915040104

62. **Обручева Н.В.** (2014) Гормональная регуляция в онтогенезе плодов у растений. *Онтогенез*, **45** (1), 14-27. doi: 10.7868/S0475145014010066
63. **Озолина Н.В., Гурина В.В., Нестёркина И.С., Дударева Л.В., Катышев А.И., Нурминский В.Н.** (2017) Жирнокислотный состав общих липидов вакуолярной мембранны при абиотическом стрессе. *Биологические мембранны*. Т. 34,(1), 63-69. DOI 10.7868/S0233475517010078
64. **Палфитов В.Ф.** (2017) Прогнозирование плодовитости сортов яблони и выбор лучших среди них опылителей по содержанию флавоноидов в репродуктивных структурах их цветков. Мичуринск: Мичуринский государственный аграрный университет, 160 с.
65. **Пигарева Н.Н., Корсунова Т.М., Пьянкова Н.А.** (2008) Особенности гумусного состояния почв Бурятии. *Почвоведение*, **4**, 431-440.
66. **Попов В.Н., Антипина О.В., Пчёлкин В.П., Цыдендамбаев В.Д.** (2012) Изменения содержания и жирнокислотного состава липидов листьев и корней табака при низкотемпературном закаливании. *Физиология растений*, **59** (2), 203-208.
67. Пролин [сайт] <https://ru.wikipedia.org/wiki/Пролин> (дата обращения: 19.09.2020)
68. **Прядкина Г.А.** (2010) Особенности реакции ксантофиллов виолаксантинового цикла на почвенную засуху у двух контрастных по зерновой продуктивности сортов озимой пшеницы. *Труды БГУ*, **4** (2), 209-914.
69. **Прядкина Г.А.** (2018) Пигменты, эффективность фотосинтеза и эффективность пшеницы. *Plant varieties studying and protection*, **14** (1), 97-108. doi.org/10.21498/2518-1017.14.1.2018.126524
70. **Пшеничникова Т.А., Пермяков А.В., Осипова С.В., Пермякова М.Д., Рудиковская Е.Г., Верхотуров В.В.** (2015) Влияние ограниченных интrogессий от *Triticum timopheevii* Tausch. в геном мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на физиологические и биохимические признаки в условиях полива и засухи. Вавиловский журнал генетики и селекции. 19 (5), 574-580. DOI 10.18699/VJ15.074
71. **Пятыгин С.С.** (2008) Стресс у растений: физиологический подход. *Журнал общей биологии*, **69** (4), 294-298.

72. **Расписание погоды: [сайт].** (2004). URL: <https://rp5.ru/> (дата обращения: 10.10.2017)
73. **Рибейро Р.В., Сантос М.Г., Мачадо У.С., Оливейра Р.Ф.** (2008) Фотохимическая реакция листьев фасоли на тепловой стресс после предварительного водного дефицита. *Физиология растений*, **55** (3), 387-396.
74. **Рудиковский А.В., Рудиковская Е.Г., Дударева Л.В., Кузнецова Е.В.** (2008) Уникальные и редкие формы яблони сибирской Селенгинского района Бурятии. *Сибирский экологический журнал*, **2**, 327-333.
75. **Рудиковский А.В., Кузнецова Е.В., Потемкин О.Н.** (2014) Особенности формирования интродукционных популяций яблони сибирской в Прибайкалье. *Сибирский экологический журнал*, **1**, 123-131.
76. **Савченко Т.В., Застиржная О.М., Клинов В.В.** (2014) Оксилипины и устойчивость растений к абиотическим стрессам. *Биохимия*, **79** (4), 458-475.
77. **Свирилова Л.А., Ванькова А.А.** (2012) Микоплазмы – патогенны растений. *Нива Поволжья: Сельское и лесное хозяйство*, **4** (25), 26-32.
78. **Сидоров Р.А., Цыдендамбаев В.Д.** (2014) Биосинтез жирных масел у высших растений. *Физиология растений*, **61** (1), 3-22. DOI: 10.7868/S0015330314010138
79. **Слемнев Н.Н., Шереметьев С.Н., Маслова Т.Г., Цоож Ш., Алтанцоож А.** (2012) Разнообразие фотосинтетического аппарата растений Монголии: анализ биологических, экологических и эволюционных рядов. *Ботанический журнал*, **97** (11), 1377-1396.
80. **Соловченко А.Е., Мерзляк М.Н.** (2008) Экранирование видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты у растений. *Физиология растений*, **55** (6), 803-822.
81. **Сошинкова Т.Н., Радюкина Н.Л., Королькова Д.В., Носов А.В.** (2013) Пролин и функционирование антиоксидантной системы растений и культивируемых клеток *Thellungiella salsuginea* при окислительном стрессе. *Физиология растений*, **60** (1), 47-60.
82. **Стациенко А.П., Капустин Д.А., Юрова Ю.А.** (2014) Стress-индуцированный пролин в растениях пшеницы в условиях засухи. *Сборник*

статей XII Межд. научн.-практ. конф. ПГАУ (Пенза): Природноресурсный потенциал, экология и устойчивое развитие регионов России, 85-87.

83. **Столбикова А.В., Шишпаренок А.А., Рудиковский А.В., Рудиковская Е.Г., Дударева Л.В.** (2018) Возможное участие гиббереллинов в образовании карликовых форм яблони сибирской *Malus baccata* (L.) Borkh. *Сибирский лесной журнал*, **1**, 59-64.
84. **Тейлор Д.** (2021) Биология: в 3 т. Т. 1/ Д. Тейлор, Н. Грин, У. Старт; под ред. Р. Сопера; пер. 3-го англ. изд. – 13-е изд. – М.: Лаборатория знаний, 454 с. : ил.
85. **Туманов В.Н., Чирук С.Л.** (2007) Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза: практикум. Гродно: ГрГУ им. Я. Купалы, 62 с.
86. **Тютерева Е.В., Дмитриева В.А., Войцеховская О.В.** (2017) Хлорофилл *b* как источник сигналов, регулирующих развитие и продуктивность растений. *Сельскохозяйственная биология*, **52** (5), 843-855. doi: 10.15389/agrobiology.2017.5.843rus
87. **Убугунов Л.Л.** (2011) Почвы внутренней Азии: разнообразие, экологические риски процессов деградации и технологии управления их плодородием. *Матер. II межд. научн. конф. (Улан-Удэ): Разнообразие почв и биоты северной и центральной Азии*, **1**, 16-17.
88. **Федулов Ю.П., Котляров В.В., Доценко К.А.** (2015) Устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды: учебное пособие. Краснодар: КубГАУ, 64 с.
89. **Цыдендамбаев В.Д., Иванова Т.В., Халилова Л.А., Куркова Е.Б., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В.** (2013) Жирнокислотный состав липидов вегетативных органов галофита *Suaeda altissima* при разном уровне засоления. *Физиология растений*, **60(5)**, 700-711.
90. **Чиркова Т.В.** (1997) Клеточные мембранные и устойчивость растений к стрессовым воздействиям. *Соросовский образовательный журнал*, **9**, 12-17.
91. **Чукуриди С.С.** (2004) Практическая ценность интродуцентов семейства *Rosaceae*. *Политем. сетевой электр. научн. журн. Кубанского гос. аграрного ун-та*, **4**, 233-252.

92. Чурикова О.А. (2016) Сохранение генетических ресурсов дикорастущих яблонь *in vivo* и *in vitro*. *Плодоводство и ягодоводство России*, **XXXXVII**, 359-362.
93. Шапошников А.И., Моргунов А.И., Акин Б., Макарова Н.М., Белимов А.А., Тихонович И.А. (2016) Сравнительные характеристики корневых систем и корневой экссудации у синтетического, примитивного и современного сортов пшеницы. *Сельскохозяйственная биология*, **51** (1), 68-78.
94. Шахматова Е.Ю. (2011) Послепожарные изменения в дерново-подбурах в подтаежных ландшафтах Селенгинского среднегорья. *Матер. II межд. научн. конф. (Улан-Удэ): Разнообразие почв и биоты северной и центральной Азии*, **1**, 154-155.
95. Шелкунов А.Н. (2014) Полиморфизм *Malus baccata* (L.) Borkh. на территории Забайкалья: Автореф. дисс. канд. бiol. наук (Улан-Удэ), 24 с.
96. Шихов В.Н., Величко В.В., Нестеренко Т.В., Тихомиров А.А. (2011) Онтогенетический подход при оценке методом индукции флуоресценции хлорофилла реакции растений чуфы на условия культивирования. *Физиология растений*, **58** (2), 290-295.
97. Экологический мониторинг озера Байкал: [сайт]. [2013]. Государственный экологический мониторинг. Республика Бурятия. URL: http://www.baikalake.ru/monitoring/gosecomonit/hunting_resources/buryatiya/2018/ (дата обращения: 12.10.2017).
98. Яхин О.И., Лубянов А.А., Калимуллина З.Ф., Батраев Р.А. (2012) Влияние регуляторов роста на стрессиндуцируемое накопление свободных аминокислот в растениях пшеницы. *Известия Оренбургского ГАУ*, **33** (1-1), 38-40.
99. Abbas A., Anwar F., Ahmad N. (2019) Apple (*Malus pumila*) seed oil. In: *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*, Ramadan M.F. (ed.) Springer: Nat. Switz., pp. 495-504. doi.org/10.1007/978-3-030-12473-1
100. Abad'ia J., Morales F., Abad'ia A. (1999) Photosystem II efficiency in low chlorophyll, iron-deficient leaves. *Plant and Soil*, **215**, 183-192.
101. Abou-Jawdah Y., Sobh H., Akkary M. (2009) First report of Almond witches' broom phytoplasma (*Candidatus phytoplasma phoenicum*) causing a severe disease on

- nectarine and peach trees in Lebanon. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, **39** (1), 94-98. doi.org/10.1111/j.1365-2338.2009.02223.x
102. **Ali O.A.M.** (2019) Wheat Responses and Tolerance to Drought Stress. In: *Wheat Production in Changing Environments*, Hasanuzzaman M., Nahar K., Hossain M. (eds) Springer: Singapore, pp. 129-138. doi.org/10.1007/978-981-13-6883-7_5
103. **Alhasnawi A.N.** (2019) Role of proline in plant stress tolerance: A mini review. *Res. on Crops*, **20**(1), 223-229. doi: 10.31830/2348-7542.2019.032
104. **Allen J.F., Forsberg J.** (2001) Molecular recognition in thylakoid structure and function. *Trends in Plant Science*, **6** (7), 317-326. doi:10.1016/s1360-1385(01)02010-6
105. **Arboretum A.** (1917) Bulletin of popular information. *Harvard University*, **V.III (5)**, 17-20.
106. **Aronsson H., Schottler M.A., Kelly A.A., Sundqvist C., Dormann P., Karim S., Jarvis P.** (2008) Monogalactosyldiacylglycerol deficiency in Arabidopsis affects pigment composition in the prolamellar body and impairs thylakoid membrane energization and photoprotection in leaves. *Plant Physiol.*, **148**, 580-592. doi.org/10.1104/pp.108.123372
107. **Asano K., Hirano K., Ueguchi-Tanaka M., Angeles-Shim R. B., Komura T., Kitano H., Matsuoka M., Ashikari M.** (2009) Isolation and characterization of dominant dwarf mutants, *Slrl-d*, in rice. *Mol. Genet. Genomics*, **281**, 223-231. doi.org/10.1007/s00438-008-0406-6
108. **Avinent L., Llacer G., Almacellas J., Tora R.** (1997) Pear decline in Spain. *Plant Pathol.*, **46** (5), 694-698.
109. **Baker N. R.** (2008). Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology*, **59** (1), 89–113. doi:10.1146/annurev.arplant.59.0
110. **Beale S.I.** (1999) Enzymes of chlorophyll biosynthesis. *Photosynthesis Research*, **60**, 43-73. doi: 10.1023/A:1006297731456
111. **Bernard A., Joubès J.** (2013) Arabidopsis cuticular waxes: Advances in synthesis, export and regulation. *Progress in Lipid Research*, **52** (1), 110-129. doi:10.1016/j.plipres.2012.10.002
112. **Bertamini M., Grando M., Muthuchelian K., Nedunchezhian N.** (2002) Effect of phytoplasma infection on photosystem II efficiency and thylakoid membrane protein

- changes in field grown apple (*Malus pumila*) leaves. *Phys. and Molec. Plant Pathology*, **61** (6), 349-356. doi:10.1006/pmpp.2003.0450
113. **Bhusal N., Han S.-G., Yoon T.-M.** (2019). Impact of drought stress on photosynthetic response, leaf water potential, and stem sap flow in two cultivars of bi-leader apple trees (*Malus × domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 246, 535–543. doi:10.1016/j.scienta.2018.11.021
114. **Bielsa B., Leida C., Rubio-Cabetas M.J.** (2016) Physiological characterization of drought stress response and expression of two transcription factors and two LEA genes in three *Prunus* genotypes. *Scientia Horticulturae*, **213**, 260-269. doi:10.1016/j.scienta.2016.11.006
115. **Binenbaum J., Weinstein R., Shani E.** (2018) Gibberellin localization and transport in plants. *Trends in Plant Science*, **23** (5), 410-421. doi:10.1016/j.tplants.2018.02.005
116. **Bouzid M., He F., Schmitz G., Häusler R.E., Weber A.P.M., Mettler-Altmann T., De Meaux J.** (2019) Arabidopsis species deploy distinct strategies to cope with drought stress. *Annals of Botany*, **124**, 27-40. doi:10.1093/aob/mcy237
117. **Brito C., Dinis L.-T., Moutinho-Pereira J., Correia C.M.** (2019) Drought stress effects and olive tree acclimation under a changing climate. *Plants*, **8** (232), 20 pp. doi:10.3390/plants8070232
118. **Cameron K.D., Teece M.A., Smart L.B.** (2006) Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer proteinin response to periodic drying events in leaves of tree tobacco. *Plant Physiol.*, **140**, 176-183. doi.org/10.1104/pp.105.069724
119. **Casanova-Sáez R., Voß U.** (2019) Auxin metabolism controls developmental decisions in land plants. *Trends in Plant Science*, **24** (8), 741-754. doi:10.1016/j.tplants.2019.05.006
120. **Casanova-Sáez R, Mateo-Bonmatí E, Ljung K.** (2021) Auxin metabolism in plants. *Cold Spring Harbor Perspect. in Biology*, 22 pp. doi:10.1101/cshperspect.a039867.
121. **Cassim A.M., Gouquet P., Gronnier J., Laurent N., Germain V., Grison M., Boutté Y., Gerbeau-Pissot P., Simon-Plas F., Mongrand S.** (2018) Plant lipids: Key

- players of plasma membrane organization and function. *Progress in Lipid Research*, **73**, 1-27. doi:10.1016/j.plipres.2018.11.002
122. **Chaves M.M., Maroco J.P., Pereira J.S.** (2003) Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biology*, **30** (3), 239-267. doi:10.1071/fp02076
123. **Chen D.Q., Wang S.W., Qi L.Y., Yin L.N., Deng X.P.** (2018) Galactolipid remodeling is involved in drought-induced leaf senescence in maize. *Environ. Exp. Bot.*, **150**, 57-68. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.02.017
124. **Christie W.W.** (1993) Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. In: *Advances in Lipid Methodology – Two*, Christie W.W. (ed.) Oily Press. Dundee, pp. 69-111.
125. **Dadwal V., Agrawal H., Sonkhla K., Joshi R., Gupta M.** (2018) Characterization of phenolics, amino acids, fatty acids and antioxidant activity in pulp and seeds of high altitude Himalayan crab apple fruits (*Malus baccata*). *J. Food Sci. Technol.*, **5** (6), 2160-2169. doi.org/10.1007/s13197-018-3133-y
126. **Dörmann P., Hözl G.** (2009) The role of glycolipids in photosynthesis. In: *Lipids in Photosynthesis: Essential and Regulatory Functions*, Wada H., Murata N. (eds). Springer: Japan, pp. 265-282. link.springer.com/book/10.1007%2F978-90-481-2863-1
127. **Dubey V. S., Bhalla R., Luthra R.** (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal of Biosciences*, **28** (5), 637–646. doi:10.1007/bf02703339
128. **Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S.M.A.** (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: *Sustainable Agriculture*, Lichtfouse E. et al. (eds.). Springer: Dordrecht, pp. 153-188. doi:10.1007/978-90-481-2666-8_12
129. **Fazio G., Wan Y., Kviklys D., Romero L., Adams R., Strickland D., Robinson T.** (2014) *Dw2*, a new dwarfing locus in apple rootstocks and its relationship to induction of early bearing in Apple Scions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **139**(2), 87-98. doi.org/10.21273/JASHS.139.2.87
130. **Fedoroff N.V.** (2002) “Cross-talk” in abscisic acid signaling. *Science’s STKE*, <http://www.stke.org/cgi/content/full/sigtrans;2002/140/re10>

131. **Folch J., Less M., Sloane Stanley G.H.A (1957)** Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509.
132. **Foster S.A., McKinnon G.E., Steane D.A., Potts B.M., Vaillancourt R.E.** (2007) Parallel evolution of dwarf ecotypes in the forest tree *Eucalyptus globules*. *New Phytologist*, **175** (2), 370-380. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02077.x
133. **Foster T.M., Watson A.E., van Hooijdonk B.M., Schaffer R.J.** (2014) Key flowering genes including FT-like genes are upregulated in the vasculature of apple dwarfing rootstocks. *Tree Genetics & Genomes*, **10** (1), 189-202. doi:10.1007/s11295-013-0675-z
134. **Foster T.M., Celton J.-M., Chagné D., Tustin D.S., Gardiner S.E.** (2015) Two quantitative trait loci, Dw1 and Dw2, are primarily responsible for rootstock-induced dwarfing in apple. *Horticulture Research*, **2**, 9 pp. doi:10.1038/hortres.2015.1
135. **Fricke W., Akhiyarova G., Veselov D., Kudoyarova G.** (2004) Rapid and tissue specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves. *J. Exp. Bot.*, **55**, 1115-1123. doi.org/10.1093/jxb/erh117
136. **Fiehn O., Kopka J., Dörmann P., Altmann T., Trethewey R.N., Willmitzer L.** (2000) Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat. biotech.*, **18**, 1157-1161. <http://biotech.nature.com>
137. **Gomes, F. P., Oliva, M. A., Mielke, M. S., de Almeida, A.-A. F., Leite, H. G., & Aquino, L. A. (2008).** Photosynthetic limitations in leaves of young Brazilian Green Dwarf coconut (*Cocos nucifera* L. “nana”) palm under well-watered conditions or recovering from drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, **62**(3), 195–204. doi:10.1016/j.envexpbot.2007.08.006
138. **Hao S., Lu Y., Liu J., Bu Y., Chen Q., Ma N., Zhou Z., Yao Y.** (2019) GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 1 Plays an Important Role in the Growth Regulation of Dwarf Apple Rootstocks. *HortsCience*, **54** (3), 416-422. doi.org/10.21273/HORTSCI13685-18
139. **Harrison N., Harrison R.J., Barber-Perez N., Cascant-Lopez E., Cobo-Medina M., Lipska M., Conde-Ruiz R., Brain P., Gregory P.J., Fernandez-Fernandez F.** (2016) A new three-locus model for rootstock-induced dwarfing in apple

- revealed by genetic mapping of root bark percentage. *J. of Exp. Botany*, **67** (6), 1871-1881. doi:10.1093/jxb/erw001
140. **Havaux M.** (1998) Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends Plant Sci.*, **3**, 147-151.
141. **Hayat F., Qiu C., Xu X., Wang Y., Wu T., Zhang X., Nawaz M.A., Han Z.** (2019) Rootstocks influence morphological and biochemical changes in young «Red Fuji» apple plants. *Intl. J. Agric. Biol.*, **21** (5), 1097-1105. doi: 10.17957/IJAB/15.0999
142. **Heldt H.-W., Piechulla B., Heldt F.** (2011) Plant Biochemistry. Translation of the 4th German edition. Elsevier: UK, 622 p.
143. **Horiuchi J.-I., Kanno T., Kobayashi M.** (1999) New vinegar production from onions. *J. Biosci. Bioeng.*, **88** (1), 107-109.
144. **Huang, L., Li, M., Zhou, K., Sun, T., Hu, L., Li, C., & Ma, F.** (2018). Uptake and metabolism of ammonium and nitrate in response to drought stress in *Malus prunifolia*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127, 185–193. doi:10.1016/j.plaphy.2018.03.031
145. **Iqbal J.** (2019) Morphological, Physiological and Molecular Markers for the Adaptation of Wheat in Drought Condition. *Asian J. Biotechnol. Genetic Eng.*, **2**(1), 1-13. doi: 10.9734/AJBGE/2019/46253
146. **Jaleel C.A., Paramasivam M., Abdul W., Farooq M., Al-Juburi H.J., Somasundaram R., Panneerselvam R.** (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol.*, **11**, 100-105.
147. **Jazzar L., Rzgui T., Ben Fradj R., Touhami I., Nasr Z.** (2019) Leaf gas exchange variation under summer drought in Tunisian cork oak from geographically central and marginal populations. *Euro-Mediterr. J Environ. Integ.*, **4** (17), 8 pp. doi:10.1007/s41207-019-0105-1
148. **Jimenez-Arias D., Garcia-Machado F.J., Morales-Sierra S., Luis J.C., Suarez E., Hernandez M., Valdes F., Borges A.A.** (2018) Lettuce plants treated with L-pyroglutamic acid increase yield under water deficit stress. *Environ. Exp. Bot.*, 39 pp. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.034
149. **Jong M., Mariani C., Vriezen W.H.** (2009) The role of auxin and gibberellin in tomato fruit set. *J. Exp. Bot.*, **60** (5), 1523-1532. doi:10.1093/jxb/erp094

150. **Kamboj J.S., Browning G., Blake P.S., Quinlan J.D., Baker D.A.** (1999) GC-MS-SIM analysis of abscisic acid and indole-3-acetic acid in shoot bark of apple rootstocks. *Plant Growth Regul.*, **28**, 21-27.
151. **Kholova J., Hash C.T., Lava Kumar P., Yadav R.S., Kocova M., Vadez V.** (2010) Terminal drought-tolerant pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] have high leaf ABA and limit transpiration at high vapour pressure deficit. *J. Exp. Bot.*, **61** (5), 1431-1440. doi:10.1093/jxb/erq013
152. **Kumar A., Bachhawat A.K.** (2012) Pyroglutamic acid: throwing light on a lightly studied metabolite. *Curr. Sci. India*, **102** (2), 88-297. <https://www.jstor.org/stable/24083854>
153. **Kumar C., Singh S.K., Pramanick K.K., Verma M.K., Srivastav M., Singh R., Bharadwaj C., Naga, K. C.** (2018) Morphological and biochemical diversity among the *Malus* species including indigenous Himalayan wild apples. *Scientia Horticulturae*, **233**, 204-219. doi:10.1016/j.scienta.2018.01.037
154. **Kupper H., Seibert S., Parameswaran A.** (2007) Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: Quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra. *Analytical Chemistry*, **79** (20), 7611-7627. doi:10.1021/ac070236m
155. **La V.H., Lee B.-R., Islam M.T., Park S.-H., Jung H., Bae D.-W., Kim T.-H.** (2018) Characterization of salicylic acid-mediated modulation of the drought stress responses: Reactive oxygen species, proline, and redox state in *Brassica napus*. *Environ. Exp. Bot.*, **157**, 1-10 doi:10.1016/j.envexpbot.2018.09.013
156. **Lanzinger A., Frank T., Reichenberger G., Herz M., Engel K.-H.** (2015) Metabolite profiling of barley grain subjected to induced drought stress: responses of free amino acids in differently adapted cultivars. *J. Agr. Food Chem.*, **63** (16), 4252-4261. doi:10.1021/acs.jafc.5b01114
157. **Lee S.B., Suh M.C.** (2014) Cuticular wax biosynthesis is up-regulated by the MYB94 transcription factor in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.*, **56** (1), 48-60. doi:10.1093/pcp/pcu142

158. **Li X., Blackman C.J., Choat B., Rymer P.D., Medlyn B.E., Tissue D.T.** (2019) Drought tolerance traits do not vary across sites differing in water availability in *Banksia serrata* (Proteaceae). *Funct. Plant Biol.*, **46** (7), 624-633. doi.org/10.1071/FP18238
159. **Li H.L., Zhang H., Yu C., Ma L., Wang Y., Zhang X.Z., Han Z.H.** (2012) Possible roles of auxin and zeatin for initiating the dwarfing effect of M9 used as apple rootstock or interstock. *Acta Physiol. Plant.*, **34**, 235-244. doi: 10.1007/s11738-011-0822-9
160. **Li J., Xu Y., Niu Q., He L., Teng Y., Bai S.** (2018). Abscisic acid (ABA) promotes the induction and maintenance of pear (*Pyrus pyrifolia* white pear group) flower bud endodormancy. *Int. J. Mol. Sci.*, **19** (310), 15 pp. doi:10.3390/ijms19010310
161. **Li Z., Yu J., Peng Y., Huang B.** (2016) Metabolic pathways regulated by abscisic acid, salicylic acid and γ -aminobutyric acid in association with improved drought tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Physiol. Plantarum*, **159** (1), 42-58. doi:10.1111/ppl.12483
162. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. (2013) Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. Redox Sign.*, **19**(9), 998-1011. doi:10.1089/ars.2012.5074
163. **Lichtenthaler H.K.** (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol.*, **148**, 350-382. doi:10.1016/0076-6879(87)48036-1
164. **Lipid Maps. Lipidomics Gateway:** [сайт]. [2003]. <https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/index.php?page=lipids/basics/comp-plant/index.htm> (дата обращения: 10.10.2013)
165. **J., Sherif S.M.** (2019) Hormonal orchestration of bud dormancy cycle in deciduous woody perennials. *Front. Plant Sci.*, **10** (1136). 40 pp. doi: 10.3389/fpls.2019.01136
166. **Liu X., Ma D., Zhang Z., Wang S., Du S., Deng X., Yin L.** (2019) Plant lipid remodeling in response to abiotic stresses. *Environ. Exp. Bot.*, **165**, 174-184. doi:10.1016/j.envexpbot.2019.06.005
167. **Lu C., Zhang J. (1999).** Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany*, 50(336), 1199–1206. doi:10.1093/jxb/50.336.1199

168. **Luan S.** (2002) Signaling drought in guard cells. *Plant Cell Environ.*, **25** (2), 229-237. doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00758.x
169. **Lyons J.M., Wheaton T.A., Pratt H.K.** (1964) Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants. *Plant Physiol.*, **39**, 262-268.
170. **Maslova T.G., Popova I.A.** (1993) Adaptive properties of the plant pigment systems. *Photosynthetica.*, **29**, 195-203.
171. **Matysik J., Alia, Bhalu B., Mohanty P.** (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Curr. Sci. India*, **82**, 525-532.
172. **Miao H., Li C., Duan Y., Wei L., Ju M., Zhang H. (2020)** Identification of a Sidwf1 gene controlling short internode length trait in the sesame dwarf mutant dw607. *Theor. Appl. Genet.*, **133**, 73-86. doi.org/10.1007/s00122-019-03441-x
173. **Michalczuk L.** (2002) Indole-3-acetic acid level in wood, bark and cambial sap of apple rootstocks differing in growth vigour. *Acta Physiol. Plant.*, **24**, 131-136. doi.org/10.1007/s11738-002-0002-z
174. **Minoda A., Sonoike K., Okada K., Sato N. Tsuzuki M.** (2003) Decrease in the efficiency of the electron donation to tyrosine Z of photosystem II in an SQDG-deficient mutant of Chlamydomonas. *FEBS Lett.*, **553**, 109-112. doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00981-5
175. **Mittler R., Merquiol E., Hallak-Herr E., Rachmilevitch S., Kaplan A., Cohen M.** (2001) Living under a ‘dormant’ canopy: a molecular acclimation mechanism of the desert plant *Retama raetam*. *Plant J.*, **25** (4), 407-416.
176. **Moons A., Prinsen E. Bauw, G., Montagu M.V.** (1997) Antagonistic effects of abscisic acid and jasmonates on salt stress-inducible transcripts in rice roots. *The Plant Cell*, **9**, 2243-2259. doi:10.1105/tpc.9.12.2243
177. **Morales F., Belkhodja R., Abadía A., Abadía J.** (2000) Photosystem II efficiency and mechanisms of energy dissipation in iron-deficient, field-grown pear trees (*Pyrus communis* L.). *Photosynthesis Res.*, **63**, 9-21.
178. **Morrison W.R., Smith L.M.** (1964) Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.*, **5**, 600-608.

179. **Murakami Y.** (2000) Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature. *Science*, **287(5452)**, 476-479. doi:10.1126/science.287.5452.476
180. **Nakamura Y., Shimojima M., Ohta H., Kobayashi K.** (2010) Biosynthesis and function of monogalactosyldiacylglycerol (MGDG), the signature lipid of chloroplasts. In: *The chloroplast: basics and applications*, Rebeiz C. et al. (eds.) Springer Science, pp. 185-202.
181. **Noctor G., Mhamdi A., Chaouch S., Han Y., Neukermans J., Marques-Garcia B., Queval G., Foyer C.H.** (2012) Glutathione in plants: an integrated overview. *Plant Cell Env.*, **35**, 454-484. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02400.x
182. **Oh E., Yamaguchi S., Hu J., Yusuke J., Jung B., Paik I., Lee H.-S., Sun T., Kamiya Y., Choi G.** (2007) PIL5, a Phytochrome-interacting bHLH protein, regulates gibberellin responsiveness by binding directly to the GAI and RGA promoters in Arabidopsis seeds. *The Plant Cell*, **19 (4)**, 1192-1208. doi:10.1105/tpc.107.050153
183. **Panikashvili D., Savaldi-Goldstein S., Mandel T., Yifhar T., Franke R. B., Höfer R., Schreiber L., Chory J., Aharoni A.** (2007) The Arabidopsis DESPERADO/AtWBC11 transporter is required for cutin and wax secretion. *Plant Physiol.*, **145**, 1345-1360. doi: 10.1104/pp.107.105676
184. **Perez-Alfocea F., Larher F.** (1995) Effects of phlorizin and chloromercuribenzene-sulfonic acid on sucrose and proline accumulation in detached tomato leaves submitted to NaCl and osmotic stresses. *J. Plant Physiol.*, **145**, 367-373.
185. **Perry R.L., Hull J., Clements J.** (2008) Apple scion and rootstock selection and planning for Michigan. *International Symposium Precision Agriculture for Fruits and Vegetables (Orlando)*, 9 p. <http://fruitadvisor.info/tfruit/pdf/applespacing08usperry.pdf>
186. **Popko J., Hansch R., Mendel R.-R., Polle A., Teichmann T.** (2010) The role of abscisic acid and auxin in the response of poplar to abiotic stress. *Plant Biology*, **12**, 242-258. doi:10.1111/j.1438-8677.2009.00305.x
187. **Pustovoitova T.N., Drozdova I.S., Zhdanova N.E., Zholkevich V.N.** (2003) Leaf growth, photosynthetic rate, and phytohormone contents in *cucumis sativus* plants under progressive soil drought. *Russ. J. Plant Physiol.*, **50 (4)**, 441-443. doi:10.1023/a:1024752219336

188. **Ramírez -Valiente J.A., Center A., Sparks J.P., Sparks K.L., Etterson J.R., Longwell T., Pilz G., Cavender-Bares J.** (2017) Population-level differentiation in growth rates and leaf traits in seedlings of the neotropical live Oak *Quercus oleoides* grown under natural and manipulated precipitation regimes. *Front. Plant Sci.*, **8(585)**, 14 p. doi: 10.3389/fpls.2017.00585
189. **Reig, G., Lordan, J., Miranda Sazo, M., Hoying, S. A., Fargione, M. J., Hernan Reginato, G., ... Robinson, T. L.** (2019). Effect of tree type and rootstock on the long-term performance of “Gala”, “Fuji” and “Honeycrisp” apple trees trained to Tall Spindle under New York State climatic conditions. *Scientia Horticulturae*, **246**, 506–517. doi:10.1016/j.scienta.2018.11.029
190. **Robinson, T. L., DeMarree, A. M., & Hoying, S. A.** (2007). An economic comparison of five high density apple planting systems. *Acta Horticulturae*, **(732)**, 481–489. doi:10.17660/actahortic.2007.732.73
191. **Ruban A. V., Pascal A., Lee P. J., Robert B., Horton P.** (2002). Molecular Configuration of Xanthophyll Cycle Carotenoids in Photosystem II Antenna Complexes. *Journal of Biological Chemistry*, **277(45)**, 42937–42942. doi:10.1074/jbc.m207823200
192. **Rudikovskii A.V., Stolbikova A.V., Rudikovskaya E.G., Dudareva L.V.** (2019) Role of phytohormones in the formation of dwarf and tall Siberian crabapple (*Malus baccata* L. Borkh.). *Zemdirbyste-Agriculture*, **106(2)**, 167-172. doi: 10.13080/z-a.2019.106.022
193. **Rudikovskii A.V., Rudikovskaya E.G., Dudareva L.V., Potemkin O.N.** (2015) Peculiarities of biochemical and morphological adaptation of siberian crabapple (*Malus baccata* L. Borkh) to the conditions of insufficient humidity on the boundary between forest zone and dry steppe. *Contemp. Probl. Ecol.*, **8(3)**, 344-350. doi: 10.1134/S1995425515030105
194. **Ruonala R., Rinne P.L., Baghour M., Moritz T., Tuominen H., Kangasjarvi J.** (2006) Transitions in the functioning of the shoot apical meristem in birch (*Betula pendula*) involve ethylene. *The Plant Journal*, **46(4)**, 628-640. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02722.x

195. **Sakamoto A., Murata N.** (2002) The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant Cell Environ.*, **25**, 163-171. doi:10.1046/j.0016-8025.2001.00790.x
196. **Samuels L., Kunst L., Jetter R.** (2008) Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **59**, 683-707. doi:10.1146/annurev.arplant.59.103006.093219
197. **Sato N., Aoki M., Maru Y., Sonoike K., Minoda A., Tsuzuki M.** (2003) Involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in the structural integrity and heat tolerance of photosystem II. *Planta*, **217**, 245-251. doi.org/10.1007/s00425-003-0992-9
198. **Sebastiana M., Duarte B., Monteiro F., Malhó R., Caçador I., Matos A.R.** (2019) The leaf lipid composition of ectomycorrhizal oak plants shows a drought tolerance signature. *Plant Physiol. Bioch.*, **144**, 157-165. doi:10.1016/j.plaphy.2019.09.032
199. **Scoffoni C., Rawls M., McKown A., Cochard H., Sack L.** (2011) Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiol.*, **156**, 832-843.
200. **Scotti-Campos P., Pham-Thi A.-T.** (2017) Correlation between total lipids, linolenic acid and membrane injury under peg-induced dehydration in leaves of vigna genotypes differing in drought resistance. *Emirates J. Food Agric.*, **28(7)**, 485-92. doi.org/10.9755/ejfa.2016-04-342
201. **Shumilina J.S., Kuznetsova A.V., Frolov A.A., Grishina T.V.** (2018) Drought as a form of abiotic stress and physiological markers of drought stress. *J. Stress Phys. Biochem.*, **14(4)**, 05-15.
202. **Skriver K., Mundy J.** (1990) Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. *The Plant Cell*, **2**, 503-512.
203. **Šircelj H., Tausz M., Grill D., Batič F.** (2007) Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae*, **113(4)**, 362-369. doi:10.1016/j.scienta.2007.04.012
204. **Song, C., Zhang, D., Zhang, J., Zheng, L., Zhao, C., Ma, J., ... Han, M.** (2016). Expression analysis of key auxin synthesis, transport, and metabolism genes in

- different young dwarfing apple trees. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(2). doi:10.1007/s11738-016-2065-2
205. **Song, C., Zhang, D., Zheng, L., Shen, Y., Zuo, X., Mao, J., ... An, N.** (2020). Genome-wide identification and expression profiling of the YUCCA gene family in *Malus domestica*. *Scientific Reports*, 10(1). doi:10.1038/s41598-020-66483-y
206. **Spengler R.N.** (2019) Origins of the apple: the role of megafaunal mutualism in the domestication of *Malus* and *Rosaceous* trees. *Front. Plant Sci.*, **10(617)**, 18 p. doi:10.3389/fpls.2019.00617
207. **Stroebel, D., Choquet, Y., Popot, J.-L., & Picot, D.** (2003). An atypical haem in the cytochrome b6f complex. *Nature*, 426(6965), 413–418. doi:10.1038/nature02155
208. **Tegeder M.** (2012) Transporters for amino acids in plant cells: some functions and many unknowns. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **15**, 315-321. doi:10.1016/j.pbi.2012.02.001
209. **Teixeira da Silva, J. A., Gulyás, A., Magyar-Tábori, K., Wang, M.-R., Wang, Q.-C., & Dobránszki, J.** (2019). In vitro tissue culture of apple and other *Malus* species: recent advances and applications. *Planta*. doi:10.1007/s00425-019-03100-x
210. **Tworkoski T., Miller S.** (2007) Endogenous hormone concentrations and bud-break response to exogenous benzyl adenine in shoots of apple trees with two growth habits grown on three rootstocks. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, **82**, 960-966. doi:10.1080/14620316.2007.11512333
211. **Vigh L., Maresca B., Harwood J.L.** (1998) Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes. *Trends Biochem. Sci.*, **23**, 369-374. doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01279-1
212. Virdi S.K. (2016) HEAT AND WATER STRESS IN PLANTS—A REVIEW. *Harvest* (Online); Bi-Annual journal, 2016(2), 15-42.
213. **Voitsekhoukaja O.V., Tyutereva E.V.** (2015) Chlorophyll b in angiosperms: functions in photosynthesis, signaling and ontogenetic regulation. *J. Plant Physiol.*, **189**, 51-64. doi: 10.1016/j.jplph.2015.09.013
214. **Wang, Y.-F.** (2014) ABA regulation of stomatal movement. In: *Abscisic acid: metabolism, transport and signaling*, Zhang D.-P. (ed.) Springer Neth., pp. 287-313. doi:10.1007/978-94-017-9424-4_15

215. **Waraich E.A., Ahmad R., Ashraf M.** (2011) Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. *Australian J. Crop Sci.*, **5(6)**, 764-777. doi/10.3316/informit.282340708899391
216. **Weibel A.** (2008) Dwarfing mechanisms of Prunus species as interstems and rootstocks on Peach (*Prunus Persica* (L.) Batsch) tree vegetative growth and physiology. All Dissertations. 301. https://tigerprints.clemson.edu/all_dissertations/301
217. **Wentworth M., Ruban A. V., Horton P.** (2003). Thermodynamic Investigation into the Mechanism of the Chlorophyll Fluorescence Quenching in Isolated Photosystem II Light-harvesting Complexes. *Journal of Biological Chemistry*, **278(24)**, 21845–21850. doi:10.1074/jbc.m302586200
218. **Wilkinson S., Davies W.J.** (2010) Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. *Plant Cell Environ.*, **33**, 510-525.
219. **Xu W., Jia L., Shi W., Liang J., Zhou F., Li Q., Zhang J.** (2012) Abscisic acid accumulation modulates auxin transport in the root tip to enhance proton secretion for maintaining root growth under moderate water stress. *New Phytologist*, **197(1)**, 139-150. doi:10.1111/nph.12004
220. **Xue D., Zhang X., Lu X., Chen G., Chen Z.-H.** (2017) Molecular and evolutionary mechanisms of cuticular wax for plant drought tolerance. *Front. Plant Sci.*, **8(621)**, 12 p. doi:10.3389/fpls.2017.00621
221. **Yili A., Tao W., Sagdullaev B.T., Aisa H.A., Ul'chenko N.T., Glushenkova A.I., Rakhmanberdyeva R.K.** (2006) Lipids and carbohydrates from *Capparis spinosa* roots. *Chem. Nat. Compd+*, **42(1)**, 81-82.
222. **Yıldırım F., Yıldırım A.N., San B., Ercişli S.** (2016) The relationship between growth vigour of rootstock and phenolic contents in apple (*Malus × domestica*). *Erwerbs-Obstbau*, **58**, 25-29. doi: 10.1007/s10341-015-0253-7
223. **Yildirim K., Kaya Z.** (2017) Gene regulation network behind drought escape, avoidance and tolerance strategies in black poplar (*Populus nigra* L.). *Plant Physiol. Bioch.*, **115**, 183-199. doi:10.1016/j.plaphy.2017.03.020
224. **Yu M., Cui Y., Zhang X., Li R., Lin J.** (2020) Organization and dynamics of functional plant membrane microdomains. *Cell. Mol. Life Sci.*, **77**, 275-287. doi.org/10.1007/s00018-019-03270-7

225. **Zhang Z., Wei W., Zhu H., Challa G.S., Bi C., Trick H.N., Li W.** (2015) W3 is a new wax locus that is essential for biosynthesis of β -diketone, development of glaucousness, and reduction of cuticle permeability in common wheat. *PLOS ONE*, **10(10)**, 21 p. doi:10.1371/journal.pone.0140524
226. **Zhao Y.** (2012) Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Molecular Plant*, **5(2)**, 334-338. doi:10.1093/mp/ssr104
227. **Zhou K., Hu L., Li Y., Chen X., Zhang Z., Liu B., Li P., Gong X., Ma F.** (2019) MdUGT88F1-Mediated phloridzin biosynthesis regulates apple development and valsa canker resistance. *Plant Physiol.*, **180**, 2290-2305. doi:10.1104/pp.19.00494
228. **Zhuang H., Hamilton-Kemp T.R., Andersen R.A., Hildebrand D.F.** (1996) The impact of alteration of polyunsaturated fatty acid levels on C6-aldehyde formation of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Physiol.*, **111(3)**, 805-812. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.111.3.805>