

Действие аминокислотной обработки на состояние покоя растений, формирование плодов и их холодильное хранение (теоретические положения)

Коломичева Е.А., Мурашев С.В.

s.murashev@mail.ru

*Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики
Институт холода и биотехнологий*

В данной статье рассматриваются теоретические основы аминокислотной обработки плодовых и ягодных растений проводимой осенью и направленной на углубление покоя древесных растений с целью повышения их продуктивности в последующий вегетационный период и получения урожая способного храниться с минимальными потерями.

Ключевые слова: стимуляция, аминокислотная обработка, состояние покоя, холодильное хранение, криопротекторы, потери, плоды.

В отличие от ферментов, под влиянием которых в силу специфичности действия, осуществляются только отдельные химические превращения, основным предназначением фитогормонов является координация взаимодействия между клетками, тканями и органами, создающее их целостное единство, способное выступать как самостоятельный организм. Многоклеточный организм в сравнении с входящими в его состав различными по функциям составными частями приобретает качественно новые свойства. Он обладает устойчивым гомеостазом и повышенной жизнеспособность в изменяющихся условиях окружающей среды. Осуществляя передачу сигналов на расстояние, фитогормоны являются средством контролирующим ход биологических часов в растительных организмах и управления онтогенезом. В силу сказанного изменения, происходящие в растениях под влиянием определенной обработки, следует рассматривать с позиции гормональной системы, регулирующей метаболизм растения.

Повышение продуктивности многолетних плодовых и ягодных растений и получение высококачественного урожая способного храниться с минимальными потерями может быть достигнуто не только стимулирующей обработкой растений, осуществляемой весной-летом, но и осенней обработкой направленной на углубление состояния покоя растений в зимний период, предшествующий вегетации растений и формированию урожая. В северных и центральных районах России с частыми весенними заморозками более устойчивы и урожайны плодовые многолетние культуры с более

глубоким зимним покоем и поздним сроком возобновления весенней вегетации [1].

В состоянии покоя растения обладают максимальной устойчивостью к действию отрицательных температур. Выход из покоя и активизация жизнедеятельности снижают устойчивость. Поэтому весенние заморозки в марте более опасны для растений, чем морозы в состоянии покоя [1].

В состоянии более глубокого покоя многолетние плодовые растения получают меньше повреждений в зимне-весенний период жизни, что создает необходимые предпосылки для увеличения продуктивности растений и формирования высококачественного урожая обладающего защитными механизмами, обеспечивающими более длительное хранение с минимальными потерями.

При переходе в состояние покоя в растениях изменяется соотношение гормонов. Поэтому обработка растений в этот период ингибиторами роста повышает их устойчивость к низким температурам [1, 2]. В связи с этим целью данной работы является теоретическое обоснование влияния осенней обработки плодово-ягодных растений водным раствором глицина направленной на углубление их состояния покоя в зимне-весенний период для повышения продуктивности растений и получения урожая обладающего свойствами необходимыми для хранения с минимальными потерями.

Воспринимая внешние воздействия, гормональная система суммирует их и определяет протекание физиологических процессов в растениях. Усиление синтеза одного гормона способно повлиять на выделение другого гормона, препятствующего его действию. Так рост концентрации ауксина стимулирует синтез этилена [3], а этилен ингибирует синтез и передвижение ауксина [4]. В результате возникает отрицательная обратная связь. Поэтому один и тот же фактор, воздействующий на растение, в зависимости от своей интенсивности может вызывать в физиологии растения противоположные эффекты.

Исследование влияния весенней обработки плодовых растений водным раствором глицина в период бутонизации показали, что существует оптимальная концентрация раствора глицина под влиянием обработки, которой формируются плоды с большей массой по сравнению с контролем и хранящиеся в холодильных условиях с минимальными потерями [5, 6]. Механизм стимулирующего действия глицина на формирование и хранение растительной продукции изложен в работе [7]. Действие аналогичное глицину оказывает и аланин, с учетом разницы в их молекулярных массах.

Особенностью коллагена является повышенное содержание глицина и аланина. Однако использование гидролизата спилка крупного рогатого скота, содержащего коллаген, для обработки растений в качестве заменителя

глицина и аланина менее эффективно. На использование чистого глицина или аланина для осенней обработки плодово-ягодных растений с целью влияния через состояние покоя на продуктивность и способность собранного урожая к холодильному хранению с минимальными потерями получено положительное решение о выдаче патента России (заявка от 12.01.2012 № 2012 101 052, положительное решение от 28.01.2013).

В тоже время при обработке растений раствором глицина в фазе бутонизации существует определенная концентрация, которая отличается от оптимальной величины вызывающей стимулирующий эффект, и оказывающей на формирование плодов обратное – подавляющее воздействие. После обработки растений раствором глицина с концентрацией действующей как ингибитор формируются плоды с более низкой средней массой по сравнению с контрольными плодами, что указывает на замедление роста вследствие подавления синтетических процессов.

Во время холодильного хранения у таких плодов больше величина физиологических потерь массы, обусловленных жизнедеятельностью, и они быстрее снимаются с хранения [6], что свидетельствует об ускоренном старении. Они обладают также характерными биохимическими признаками: повышенной активностью немитохондриальных путей окисления и пониженным вследствие этого содержанием биоактивных веществ (витамин С, фенольные соединения) из-за более быстрого их окисления, которое не сопряжено с синтезом АТФ.

Известно, что активизация такой немитохондриальной оксидазы, как полифенолоксидаза происходит в период старения тканей [8]. Кроме того, её активность негативно влияет на формирование урожая. Например, у картофеля способность к клубнеобразованию сопряжена со слабой активностью полифенолоксидазы [4]. Вероятная причина этого заключается в том, что для прироста биомассы при клубнеобразовании, требуется энергия, в то время как полифенолоксидаза не сопряжена с образованием АТФ, вследствие чего синтетические процессы в растительных организмах замедляются.

Из сказанного следует, что при весенней обработке растений раствором глицина существует концентрация, под влиянием которой замедляется рост плодов, а во время их хранения наблюдается ускоренное старение. В тоже время известно, что именно такие проявления на физиологию растений оказывает абсцизовая кислота (АБК). Растущие ткани и органы растений обычно отвечают на обработку АБК обратимым торможением роста, которое может частично сниматься другими гормонами. Торможение роста, вызываемое АБК, сопровождается подавлением синтетических процессов и ускорением старения тканей [3].

По-видимому, существует концентрация глицина, стимулирующая накопление АБК в растительных тканях. Поскольку такая концентрация глицина оказывает на растения не стимулирующее, а ингибирующее воздействие, то указанная обработка плодово-ягодных растений при переходе к состоянию покоя способна повлиять на гормональный фон растений и обеспечить более глубокое состояние покоя и поздний выход из него весной.

Поэтому был сделан вывод о возможности углубления состояния покоя плодовых и ягодных растений в зимний период путем обработки водным раствором глицина или аланина с концентрацией, которая при обработке весной в период бутонизации оказывает угнетающее влияние на развитие плодов. Такую обработку для углубления покоя плодовых и ягодных растений следует проводить при завершении вегетационного периода – в середине сентября.

АБК относится к веществам терпеноидной (полиизопреноидной) природы и синтезируется в результате окислительного разрыва эпоксикаротиноидов во всех органах растений, но преимущественным местом ее синтеза являются листья и кончики корней. Поскольку каротиноиды содержатся только в мембранах тилакоидов, то ранние этапы синтеза АБК в зеленых и не зеленых частях растений протекают в пластидах. АБК интенсивно метаболизируется, поэтому ее уровень в растительных тканях поддерживается балансом быстро протекающих реакций биосинтеза и инактивации. Инактивация АБК в основном происходит окислением до фазеевой кислоты [3].

В листьях растений зеаксантин и виолаксантин взаимопревращаясь, выполняют протекторную функцию, регулируя аккумуляцию солнечной энергии в хлоропластах. При сильной освещенности виолаксантин, собирающий солнечную энергию, и непосредственно необходимый для синтеза АБК, превращается в зеаксантин, рассеивающий солнечную энергию. В нормальных условиях содержание виолаксантина в зеленых тканях существенно превышает содержание АБК, поэтому скорость синтеза виолаксантина и его превращение в зеаксантин не лимитирует синтез АБК [3].

Исходным метаболическим предшественником синтеза полиизопреноидов, в том числе и АБК, служит ацетил-СоА. Центральным звеном в механизме регулирования клеточного метаболизма под влиянием избыточного экзогенного глицина или аланина также является ацетил-СоА [7]. Вероятно, дополнительное влияние осенью оказывает сокращение светового дня, которое проводится с участием фитохрома.

Накопление АБК у древесных растений является необходимым условием для преодоления неблагоприятного зимнего периода. Переход почек к покою или росту определяется соотношением АБК и гиббереллинов в ткани. Устойчивость многих растений к заморозкам повышается закаливанием и обработкой АБК [3].

Таким образом, обработка плодовых и ягодных растений раствором глицина в середине сентября, по-видимому, стимулирует в листьях накопление АБК, что создает условия для перехода растений в состояние более глубокого покоя.

Морозоустойчивость растений зависит от ряда факторов, в том числе и от характера образования льда. При быстром понижении температуры молекулы воды не успевают диффундировать вследствие чего, вода замерзает, не успевая перемещаться. По этой причине образование кристаллов льда происходит в протопласте клеток. Это вызывает механическое повреждение клеток при расширении льда и усиление механического повреждения вследствие перекристаллизации льда при длительном действии отрицательной температуры. При быстром понижении температуры в метаболизме растения не происходят необходимые адаптационные изменения. Денатурация и агрегация белков, повреждение мембраны приводят к необратимым изменениям, происходящим в протопласте клеток.

В результате образования льда в протопласте происходит механическое повреждение, белки протоплазмы и плазмалеммы подвергаются денатурации и агрегации вследствие чего клетка погибает [1, 4]. Образование внутриклеточного льда летально даже для морозоустойчивых растений.

Внеклеточное образование льда оказалось единственно возможным способом выживания многолетних растений в зимний период [1]. Морозоустойчивость основана на образовании льда в межклетниках. Для этого необходимо медленное понижение температуры и как следствие медленный выход воды из клеток и замерзание ее в межклеточном пространстве. Большое значение имеет увеличение проницаемости мембран, облегчающее выход воды из клеток. Дегидратация протопласта является важнейшим условием выживания при действии отрицательных температур.

В природных условиях чаще всего наблюдается медленное понижение температуры. При медленном замораживании кристаллы льда в первую очередь начинают образовываться в межклетниках и сосудах ксилемы. Образование льда начинается с межклетников вследствие того, что в них содержатся менее концентрированные растворы.

Не смотря на то, что образование льда в межклетниках оказалось единственно возможным для выживания многолетних растений, оно

сопровождается рядом повреждающих эффектов, интенсивно действующих в растениях, у которых не выработаны приспособительные, защитные механизмы. Оно вызывает обезвоживание протопласта и механическое сжатие клеток извне. Возникающие в апопласте кристаллы льда растут за счет воды поступающей по градиенту концентрации из протопласта, что приводит к его обезвоживанию. Одновременно растущие в апопласте кристаллы льда оказывают механическое и режущее воздействие на растительные ткани. Вследствие обезвоживания растет концентрация электролитов в протопласте, приводящая к изменению рН, денатурации белков, нарушению функций мембран и клеточных органелл. При денатурации усиливается окисление сульфгидрильных групп в белках, изменяющее их функциональные свойства.

Чем ниже температура, тем больше образуется льда в межклетниках и тем сильнее обезвоживается цитоплазма. В результате нарушается работа транспортных систем, усиливается пассивный выход из клеток различных водорастворимых веществ: сахаров, ионов (прежде всего калия) и др. Выделяющиеся ионы кальция усиливают повреждение клеток.

Обезвоживание клеток вызывает денатурацию, сближение и агрегацию белков. Воспрепятствовать обезвоживанию клеток и изменению свойств белков могут гидрофильные группы, расположенные на поверхности белков. К таким группам относятся и сульфгидрильные группы, между содержанием которых и морозостойкостью растений существует положительная корреляция [1]. Следовательно, восстановительные свойства растительной ткани непосредственно связаны с ее морозостойкостью. С другой стороны к нуклеаторам льда принадлежит комплекс в состав, которого входит белок с сульфгидрильными группами, окисленными до дисульфидных связей [1].

Таяние льда в межклетниках способно усилить губительное для клеток действие. Образовавшаяся в межклетниках при таянии льда вода препятствует газообмену и усиливает вымывание растворимых в воде веществ из клеток. Таким образом, при замерзании растительной ткани происходит комплекс изменений вызванных дегидратацией протоплазмы и механическим повреждением клеток кристаллами льда.

Клетки разных растений имеют определенные пределы сжатия и обезвоживания, превышение которых, а не только понижение температуры приводит к их гибели [1].

У многолетних древесных растений отсутствует возможность защиты от действия отрицательных температур за счет сокращения длительности онтогенеза. Поэтому у них вырабатываются приспособительные защитные механизмы. У древесных растений вегетативные периоды прерываются

периодами покоя, наступающими при неблагоприятных условиях окружающей среды. Зимой в состоянии покоя деревья и кустарники могут полностью промерзнуть и переносить температуры до $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ и ниже. Способность переносить столь низкие температуры формируется у многолетних растений осенью в ходе закалки, при сокращении светлого периода дня в результате перестройки метаболизма в ответ на действие низких температур.

К действию отрицательных температур более устойчивы завершившие свой рост ветви деревьев, чем молодые растущие побеги, поскольку в первых меньше воды и даже на сильном морозе в них образуется мало льда.

Для прохождения закаливания в растениях должны прекратиться процессы роста. Причем способность к закаливанию существует только у целого растительного организма с корневой системой. Сокращение фотопериода сигнализирует о прекращении роста и накоплении ингибиторов. Закалка (по И.И.Туманову) происходит в два этапа. На первом этапе при низких положительных температурах тормозится рост, сокращается интенсивность дыхания, вследствие чего происходит накопление низкомолекулярных углеводов, являющихся криопротекторами. Существенно изменяется гормональный фон растений. Растет активность ИУК-оксидазы и сокращается количество ауксинов (ИУК). Напротив, происходит накопление АБК, антагониста ИУК, вызывающее адаптивные изменения в липидном составе мембран, стимулирующее синтез стрессорных белков и образование эндогенных криопротекторов [4].

При понижении температуры для увеличения текучести липидов мембран с участием десатураз жирных кислот увеличивается содержание ненасыщенных жирных кислот и уменьшается содержание насыщенных в фосфолипидах мембран. Увеличивается количество полярных липидов [1, 2, 4].

Второй этап закалки протекает при температурах несколько ниже $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и он не зависит от дневного света. На этом этапе благодаря увеличению проницаемости плазмалеммы, в том числе и для воды, происходит обезвоживание клеток. Вода поступает в межклетники. Количество свободной воды в клетках уменьшается, а структура белков изменяется таким образом, что они становятся более гидрофильными и лучше связывают воду. В результате происходящих изменений увеличивается вязкость цитозоля и возникают препятствия для образования кристаллов льда в клетках. Метаболические процессы в растении замедляются, и наступает состояние покоя.

Функции криопротекторов выполняют низкомолекулярные углеводы (моно- и олигосахариды), гидрофильные белки, аминокислоты. Синтез

криопротекторов прежде всего происходит в эпидермисе и клетках непосредственно окружающих межклеточные полости, где и начинается образование льда при медленном замерзании.

Низкомолекулярные углеводы накапливаются в клеточном соке и органеллах и обладают способностью хорошо связывать воду. С повышением их концентрации увеличивается количество связанной воды. У связанной воды замедляется диффузия (увеличивается время оседлой жизни) и понижается температура замерзания, что препятствует образованию льда. Взаимодействуя с белками мембран, низкомолекулярные углеводы стабилизируют их структуру. Так, например, установлено, что хорошими протекторами для мембран хлоропластов при их промораживании в течении 3...4 ч при температуре -25°C являются сахароза и раффиноза, а также органические кислоты: лимонная и янтарная [4].

Углеводы одновременно препятствуют чрезмерному обезвоживанию растений и образованию токсических веществ в клетках, накапливающихся в них вследствие обезвоживания. В период закаливания при низких положительных температурах они являются основным дыхательным субстратом необходимым для обеспечения синтетических процессов происходящих в это время. Сахароза и пролин защищают белки от инактивации в условиях обезвоживания, понижают водный потенциал клетки и тем самым препятствуют ее интенсивной дегидратации.

Таким образом, под влиянием АБК, изменяется метаболизм растений, и наступает состояние покоя, в котором растения способны с наименьшими повреждениями переносить зимне-весенний период.

От глубины покоя растений зависит их способность переносить неблагоприятные последствия зимне-весеннего периода, а, следовательно, зависит продуктивность растений в следующем вегетационном периоде и способность собранного урожая к хранению с минимальными потерями.

Накопление АБК, которое может происходить под влиянием осенней обработки аминокислотами, способно усилить состояние покоя плодовых и ягодных растений. Более глубокое состояние покоя повышает морозоустойчивость и зимостойкость растений. Растения способные с наименьшими повреждениями переносить неблагоприятный жизненный период лучше плодоносят и на них формируются плоды, обладающие усиленными защитными механизмами, которые позволяют им храниться с наименьшими потерями. При отклонении концентрации аминокислот в период осенней обработки от величины, обеспечивающей наиболее глубокое состояние покоя, жизненные процессы в растениях в неблагоприятный период замедляются в меньшей степени, вследствие чего растения получают

больше повреждений, препятствующих им успешно развиваться и плодоносить в последующий вегетационный период.

Заключение

Проведенный теоретический анализ показал возможность влияния на глубину состояния покоя многолетних плодовых и ягодных растений в результате ингибирующего воздействия после обработки водными растворами аминокислот (глицин, аланин), осуществляемой осенью при завершении вегетационного периода, благодаря которой в растениях усиливается накопление АБК. Под влиянием АБК образуются эндогенные криопротекторы и происходят другие изменения, усиливающие морозоустойчивость и зимостойкость растений, что позволяет им лучше переносить неблагоприятный зимне-весенний период. Растения, которые с наименьшими повреждениями преодолели неблагоприятные условия зимне-весеннего периода, отличаются большей продуктивностью, а урожай приобретает качества, благодаря которым он хранится с наименьшими потерями.

Список литературы:

1. Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – М.: Дрофа, 2010. – 638 с.
2. Третьяков Н.Н. и др. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений. – М.: КолосС, 2005. – 640 с.
3. Медведев С.С., Шарова Е.И. Биология развития растений. В 2-х т. Том 1. Начала биологии развития растений. Фитогормоны. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2011. – 253 с.
4. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А.. Физиология растений. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
5. Мурашев С.В. Вержук В.Г., Бурмистров Л.А. Патент на изобретение № 2283576. Способ подготовки плодов семечковых культур к холодильному хранению.
6. Мурашев С.В., Коломичева Е.А., Вержук В.Г. Стимулирующее действие глицина на формирование плодов хеномелеса и сокращение потерь при хранении. / Вестник РАСХН, № 1, 2011. – С. 79-80.

7. Мурашев С.В., Вержук В.Г., Коломичева Е.А. Механизм адаптационного действия глицина на растительные организмы к условиям пониженных температур. // Тез. конф. Годичное собрание общества физиологов растений России. Апатиты, 7-11 июня 2009 г.

8. Медведев С.С. Физиология растений. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 336 с.

**Action of amino acids processing on a condition of rest of plants,
formation of fruits and their refrigerating storage
(theoretical provisions)**

Kolomicheva E.A., Murashev S.V.
*St. Petersburg University
of information technologies, mechanics and optics
Institute of Refrigeration and Biotechnologies*

In this article theoretical bases of the aminoacid processing of fruit and berry plants and directed on deepening of rest of wood plants for the purpose of increase of their efficiency during the subsequent vegetative period and receiving a crop capable to be stored with the minimum losses are considered in the spent autumn.

Keywords: stimulation, aminoacid processing, rest condition, refrigerating storage, cryoprotectants, losses, fruits.