

## ПРОРАЩИВАНИЕ СЕМЯН *CASTANEA SATIVA* MILL.

Адаменко В. Д.  
Национальный дендропарк «Софиевка» НАН Украины

Приведены результаты исследований методов стратификации и проращивания семян *Castanea sativa* Mill. Найдены наиболее эффективные способы сохранения семян, определен период состояния покоя и изучены различные варианты проращивания семян.

## SPROUTING OF SEEDS OF *CASTANEA SATIVA* MILL.

Adamenko V. D.  
National dendrological park "Sofiyivka" of NAS of Ukraine

The results of the research of seed stratification and germination methods for *Castanea sativa* Mill. are cited. The most effective ways to store seeds are found, the period of dormancy is defined and various options for seed germination are studied.

УДК58.084.2: 631.541.1: 634.13

Бублик М. О., Китаєв О. І., Скряга В. А., Матвієнко М. В.  
Інститут садівництва НААН України, Київ

## СПОСІБ ЕКСПРЕСНОЇ ОЦІНКИ СУМІСНОСТІ СОРТО-ПІДЩЕПНИХ КОМБІНУВАНЬ ПЛОДОВИХ РОСЛИН

На прикладі сорто-підщепних комбінацій груші наведено результати вивчення сумісності плодкових дерев люмінесцентним спектральним методом. Запропоновано діагностичні критерії сумісності на ранніх етапах вегетації.

### Вступ

Умови ведення інтенсивного плодового саду потребують високоякісного садивного матеріалу, який би забезпечував швидкий вступ у плодоношення та високу і стабільну продуктивність насаджень. Поєднання скороплідності та водночас стриманого росту, пристосованості до конкретних ґрунтово-кліматичних умов значною мірою забезпечується комбінацією біологічних особливостей сорту та підщепи. Великий набір нових сортів і підщеп надає можливість отримувати велику кількість сорто-підщепних комбінувань високої якості плодів та продуктивності, для яких необхідно швидко визначити рівень їх сумісності, що є головним фактором, який забезпечує довговічність насаджень та стабільність їх продуктивності [5, 7].

У розсаднику за спостереженнями приживлюваності рослин та особливостями росту щепленої рослини можна чітко виявити лише несумісні комбінування [6]. Для виявлення ознак прихованої несумісності, досліджують вміст флавоноїду в зоні, що граничить з поверхнею розділу щеплених компонентів [8], співвідношення ДНК/РНК та вмісту бору в щеплених компонентах [1, 2]. Всі ці методи потребують для проведення аналізів вилучення рослини, її руйнацію, крім тогобіохімічні методи складні у виконанні і недостатньо продуктивні.

Визначення важливих для діагностики показників оцінки сумісності було проведено з використанням люмінесцентних мікроспектральних методів аналізу функціонування фотосинтетичного апарату (ФСА) листків

на прикладі сорто-підщепних комбінувань груші. Порівняно з біохімічними методами дослідження запропоновані методи дають змогу експресно визначати зміни активності ФСА без пошкодження рослини [3].

#### Матеріали та методика досліджень

Визначення важливих для діагностики показників оцінки сумісності за характеристикою функціонування фотосинтетичного апарату (ФСА) проводили із застосуванням чутливих біофізичних методів. Насамперед були використані методи фото- та термоіндукції флуоресценції хлорофілу та вакуолярних пігментів, а також спектральні методи аналізу флуоресценції листків, які дають змогу визначати зміни активності ФСА без порушення його нативності.

Для реалізації способу при тестуванні рослин в саду та саджанців з розсадника Інституту садівництва НААН був застосований лабораторний мікроспектрофлуориметр СМФ-2р.

Дослідження проводили в польових стаціонарних, дрібноділяночних і вегетаційних дослідках. Об'єктами досліджень були листки різних сорто-підщепних комбінацій груші в саду розсаднику. Використовували сорти груші: Вишняця, Малевчанка, Парижанка, Яблунівська та Бере Боск, підщепи: айва А, ВА-29 (контроль) і українську універсальну підщепу розоцвітих (УУПРОЗ-6). Автори підщепи М. В. Матвієнко, П. В. Кондратенко та В. Я. Чупринюк вказують, що УУПРОЗ-6, яка є міжродовим гібридом (*Cydonia vulgaris* × *Malus domestica*), є клоновою підщепою для цілого ряду плодово-декоративних порід підроду яблуневих: яблуня, груша, айва, горобина, глід, хеномелес, мушмула, ірга і кизильник.

Аналізували наступні параметри емісії флуоресценції листків: максимальну інтенсивність флуоресценції хлорофілу «а» —  $F_{\max}^{680}$  ( $\lambda_{\max}=680$  нм) на світловій індукційній кривій (крива Каутського), стаціонарний рівень індукційної кривої —  $F_{st680}$ , коефіцієнт фотоіндукції флуоресценції Кі, а також амплітуди хвиль температурної індукції флуоресценції хлорофілу  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  — відповідно  $F_t^\alpha$ ,  $F_t^\beta$ ,  $F_t^\gamma$  — за термінологією Шрайбера. Крім того, визначали часові параметри появи окремих хвиль флуоресценції  $\tau_\beta$  та  $\tau_\gamma$ . Для характеристики змін спектральних параметрів флуоресценції аналізували емісію

на довжинах хвиль 530, 680 та 740 нм до та після нагріву — відповідно  $F_o^{530}$ ,  $F_{st}^{680}$ ,  $F_{st}^{740}$ ,  $F_t^{530}$ ,  $F_t^{680}$ ,  $F_t^{740}$ .

Параметри світлової індукції флуоресценції дозволяли контролювати співвідношення кількості світлозбиральних та антенних хлорофілів до кількості реакційних центрів —  $F_{\max}^{680}$ , ефективність фотохімічних реакцій Кі, ступінь окисленості переносників електрон-транспортного ланцюга (ЕТЛ) між реакційними центрами (РЦ) фотосистеми 2 (ФС-2) та фотосистеми 1 (Кс). За амплітудними та часовими характеристиками температурної індукції флуоресценції контролювали проникність мембран хлоропластів поблизу реакційних центрів ФС-2 — ( $\tau_{\gamma-\beta}$ ) та стабільність пігмент-білок-ліпідного комплексу ( $\tau_\gamma$ ).

#### Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження з діагностики несумісності були проведені на листках рослин з саду та розсадника, де вивчався їх функціональний стан у варіантах, де сорти груші були щеплені на УУПРОЗ-6, на айву ВА-29 та на айву А зі вставкою груші Кюре.

Проведений аналіз термоіндукції флуоресценції хлоропластних флуорохромів листків хлорофільної та непорфіринової природи для сорто-підщепних комбінувань груші встановив, що термограми флуоресценції досить чітко відображають як сортові особливості, так і сорто-підщепні взаємодії. Визначено, що показовим є не тільки час  $\tau_{\gamma-\beta}$ , але і час появи  $\gamma$ -максимуму —  $\tau_\gamma$ . Подальший нагрів ( $>60^\circ\text{C}$ ) призводить до спаду флуоресценції хлорофілу, потім з'являється нова хвиля флуоресценції, яку по аналогії пропонуємо називати  $\delta$ -хвилею. Під час спаду  $\gamma$ -хвилі флуоресценції починає розгорятись жовто-зелена флуоресценція ( $\lambda_{\max}=530$  нм). Емісія флуоресценції у цій ділянці спектра  $F_t^{530}$  зумовлена окисними процесами, що ініціюється внаслідок нагріву. Встановлено, що інтенсивність флуоресценції при  $\lambda=530$  нм тим більша, чим сильніші прояви несумісності (табл. 1).

Особливо високий її рівень для комбінувань Парижанка/айва А, Бере Боск/Кюре/айва А, тобто на комбінуваннях із прихованою несумісністю. Рівень емісії  $F_t^{530}$  зростає в ряду УУПРОЗ-6 — вставка Кюре/айва—айва А навіть для добре сумісного з айвою сорту Яблунівська.

При цьому і у варіанті зі вставкою рівень  $F_t^{530}$  для сорту Парижанка більший, ніж для

сорту Яблунівська в 2,4 рази, а для несумісного з айвою сорту Бере Боск у 4 рази.

### 1. Мікроспектральні характеристики пластидних та вакуолярних пігментів у листках груші залежно сорто-підщепних відносин

Сорт	Підщепи	Показники температурної флуоресценції		
		хлорофілу, довжина хвилі 680 нм, сек		інших пігментів, довжина хвилі 530 нм, віднос. одиниць
		$\tau_{\beta-\gamma}$	$\tau_{\gamma}$	$F_t$
Яблунівська	УУПРОЗ-6 (контроль)	39	89	10
	Кюре/айва А	25	61	19
	айва А	25	70	26
Парижанка	УУПРОЗ-6 (контроль)	37	85	8
	Кюре/айва А	31	76	46
	айва А	28	75	70
Бере Боск	УУПРОЗ-6 (контроль)	29	74	55
	Кюре/айва А	30	75	78

Поява викликаних нагрівом хвиль флуоресценції хлорофілу  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - відбувалась в межах температур від 20 до 60 ...70°C. У діапазоні фізіологічних температур 20 ...35°C з'являється  $\alpha$ -хвиля, її амплітуда та знак зумовлені редокс-станом переносників ЕТЛ і пов'язані зі змінами передусім водного і значною мірою світлового режиму рослин, які впливають на функціонування фотосинтетичних реакцій з донорного боку ФС-2. Появу  $\beta$ -хвилі в межах передстресових температур (35...45°C) пояснюють змінами в проникності мембран для екзогенних акцепторів та ендогенних донорів електронів на акцепторному боці ФС-2 поблизу її реакційних центрів. Так нагрів листків сприяє інактивації системи розкладу води, що супроводжується вивільненням іонів  $Mn^{2+}$  і може контролюватись за збільшенням сигналу електронного парамагнітного резонансу.

Збільшення температури понад 40°C призводить до інгібування темнових реакцій фотосинтезу, що виявляється у зменшенні активності реакції Хілла з ферриціанідом та падінні квантового виходу фіксації  $CO_2$ . У діапазоні сублетальних температур (50...65°C та вище) виникає лавиноподібний підйом флуоресценції хлорофілу, так звана  $\gamma$ -хвиля, поява якої зумовлена

передусім блокуванням переносу енергії від пігментної матриці до реакційних центрів ФС-2.

Спалах жовто-зеленої флуоресценції ( $\lambda=530$  нм) відбувається за рахунок інтенсивної пероксидації ліпідів мембран. Накопичення перекисів може бути зумовлено як дією стресу, так і несумісністю. Антиоксидантна система при цьому неспроможна повною мірою компенсувати їх новоутворення. Нагрів призводить до розпаду перекисів, що ініціює ланцюгові реакції окислення ліпідів та інших клітинних компонентів (поліфеноли, у тому числі флавоноїди, деякі фенілпропаноїдні амінокислоти та ін.) [4].

Для дослідних рослин, що були висаджені в поле розсадника після зимового щеплення, також були зареєстровані досить чіткі відмінності у рівні функціональної активності ФСА листків на сорто-підщепних комбінуваннях, передусім, малосумісного з айвою сорту Бере Боск.

Так, були визначені сортові особливості функціонування пластидного комплексу листків груші з використанням різних підщеп, що зафіксовано при аналізі спектрів та фотоіндукції флуоресценції хлорофілу. При цьому, параметр  $F_{max}^{680}$  відображає зміни у структурі ФСА. Зменшенню інтенсивності флуоресценції у максимумі індукції відповідає менший розмір фотосинтетичного

ансамблю ФС-2, що характерно для більш освітлених листків; для таких листків показова і більша хлорофіл-ліпідна взаємодія (табл. 2). Коли у розсаднику сорто-підщепні комбінування груші підпали під несприятливий вплив тимчасового перезволоження, значні зміни у функціонуванні темнових реакцій фотосинтезу в листках малосумісної комбінації Бере Боск на айві ВА-29

спостерігались вже за показниками світлової індукції флуоресценції хлорофілу. Так, коефіцієнт  $K_i$ , що корелює з квантовим виходом темнових реакцій фотосинтезу ФС-2, зменшувався порівняно з сумісними комбінуваннями на 22–50%. На 28–32% збільшувалось співвідношення ( $K_s$ ), пов'язане із редокс-станом переносників ЕТЛ між реакційними центрами ФС-1 та ФС-2.

## 2. Мікроспектральні характеристики пігментів у листках груші залежно сорто-підщепних відносин

Сорт	Підщеп	Показники світлової індукції флуоресценції хлорофілу			Показники температурної індукції флуоресценції		
		$\lambda=680$ нм			хлорофілу, $\lambda=680$ нм		$\lambda=530$ нм
		$F_{\max}^{680}$ в.о.	$K_i$	$K_s$	$\tau_{\gamma-\beta}$ сек.	$\tau_{\delta}$ сек.	$F_t^{530}$ , в.о.
Вижниця	УУПРОЗ-6	146	0,80	1,17	19	280	28
	айва ВА-29	162	0,83	1,22	16	163	38
Малівчанка	УУПРОЗ-6	143	0,80	1,21	30	260	33
	айва ВА-29	154	0,79	1,30	25	183	88
Бере Боск	УУПРОЗ-6	163	0,77	1,31	23	254	80
	айва ВА-29	214	0,65	1,48	22	160	98

Серед параметрів температурної індукції флуоресценції суттєва різниця між варіантами на УУПРОЗ-6 та на айві ВА-29 у 30–40% зафіксована для часу розгорання  $\delta$ -хвилі високотемпературної флуоресценції хлорофілу ( $\tau_{\delta}$ ). Можна припустити, що появу  $\delta$ -хвилі термоіндукції флуоресценції хлорофілу зумовлюють процеси пероксидації мембран. Внаслідок нагріву, вивільнена енергія перикисів мігрує до хлорофілів пігментної матриці, що і зумовлює підвищення інтенсивності їх флуоресценції.

Слід зазначити той факт, що за відсутності спаду  $\gamma$ -хвилі флуоресценції  $\delta$ -максимум не виявляється, а амплітуда  $F_t^{\delta}$  у свою чергу залежатиме від ступеня окислення хлорофілу. Чим глибший спад  $F_t^{\gamma}$ , тим менше залишається молекул хлорофілу, спроможних трансформувати енергію транспортного розпаду в емісію флуоресценції. Тому за міру порушення метаболічних функцій слід приймати не інтенсивність  $F_t^{\delta}$ , а швидкість розгорання флуоресценції, або час появи  $\delta$ -максимуму —  $\tau_{\delta}$  у секундах.

На кривій термофлуоресценції може реєструватись декілька  $\delta$ -хвиль, які, можливо, пов'язані з різними центрами ініціації перекисного

окислення мембран. Але найбільші зміни флуоресценції зареєстровані в жовто-зеленій ділянці спектру  $F_t^{530}$ . Інтенсивність емісії флуоресценції при  $\lambda_{\max}=530$  нм під час нагріву у високо-сумісних комбінувань (на УУПРОЗ-6) зростає у 5–7 разів, а у малосумісних на айві ВА-29 збільшувався у 20–22 рази. Відмічено значне зменшення параметрів  $\tau_{\gamma-\beta}$  та  $\tau_{\gamma}$  у варіанті з грушею сорту Вижниця. Рослини цих варіантів мали найбільш розвинену та глибоку кореневу систему, що і зумовило інтенсивний гіпоксичний тиск на них. Таким чином, аналіз термоіндукованих змін флуоресценції хлорофілу та вакуолярних пігментів дає змогу швидко виявляти ознаки прихованої несумісності на ранніх етапах вирощування, та об'єктивно визначати якість сорто-підщепних комбінувань у розсаднику, що значно підвищує ефективність добору високоякісних підщеп, прискорює селекційний процес.

### Висновки

1. Комплексна оцінка сумісності сорто-підщепних комбінувань груші за різними ознаками, що є фенотипним проявом різних фізіологічних процесів, та їх визначення в діапазоні температур, які вищі за фізіологічні і нижчі за летальні, дає

зможу експресно виявити приховану несумісність сорту і підщепи вже на ранніх стадіях вегетації.

2. Встановлено високу чутливість для діагностики сорто-підщепної взаємодії індукованих температурою змін флуоресценції листків через накопичення флуорохромів не порфіринового походження ( $\lambda_{\max} = 530$  нм). Зростання інтенсивності флуоресценції листків у жовто-зеленій ділянці спектра зумовлено передусім пероксидацією ліпідів мембран хлоропластів та мітохондрій.
3. Запропоновано спосіб, застосування якого дає змогу здійснювати багаторазове визначення сумісності компонентів одержаної щепи впродовж вегетації, починаючи з фази 3–4 листка. Це збільшує надійність визначень.
4. Встановлено високий ступінь сумісності універсальної підщепи УУПРОЗ-6 з основними сортами зерняткових культур. Вивчення сумісності у несприятливих зовнішніх умовах надає можливість визначати стійкість сорто-підщепного комбінування до цих умов та вчасно вибракувати неякісні саджанці при масовому їх виробництві.

#### Перелік посилань

1. *Дорошенко Т. Н.* Способ ранней диагностики физиологической совместимости подвоя и привоя плодовых культур / Т. Н. Дорошенко, Е. П. Алешин, А. С. Аникеев. — SU; 1271450; A01G7/00, A01G1/06; 26.12.84; 23.11.86 N43.
2. *Иванова А. С.* Способ ранней диагностики совместимости подвоя и привоя плодовых культур / А. С. Иванова, В. Ф. Иванов, А. Н. Татаринков. — SU; 1630681; A01G7/00, A01G1/06; 01.03.89; 28.02.91 N8.
3. *Китаев О. І.* Спосіб визначення сумісності компонентів сорто-підщепних комбінувань рослин / О. І. Китаєв, А. В. Долід, М. В. Матвієнко, В. О. Романов, П. С. Клочан, О. А. Кищак, Ю. С. Колесник, В. С. Федак. — UA; 83752; C2, G01N 21/64, A01G7/00, A01G1/06; 25.12.06; 11.08.08 N15.
4. *Китаев О. И.* Оценка совместимости сорто-подвойных комбинаций груши / О. И. Китаев, В. А. Скрыга, Н. В. Матвиенко, А. В. Долид // Материалы международного симпозиума «Современное сельское хозяйство — достижения и перспективы» (ГАУ Молдовы, октябрь 2008). — Кишинев, 2008. — С. 27–30.
5. *Матвиенко Н. В.* Сорто-подвойные комбинации груши в плодовом саду / Н. В. Матвиенко, Л. Н. Мацейко, К. Д. Кумпан // Совершенствование технологии возделывания плодовых культур. — К.: Изд-во УСХА, 1990. — С. 53–57.
6. *Трусевич Г. В.* Плодовый питомник / Г. В. Трусевич. — М.: Россельхозиздат, 1974. — 192 с.
7. *Monney Ph.* Etude comparative de differents, portegriffe OHF et cognassiers pour le poirtier / Ph. Monney, N. Evéquoz // Rev. suisse viticult., arboricult. et horticult. — 1999. — Vol. 31, № 6. — P. 291–296.
8. *Musacchi S.* Flavonoids as marker for pear-quince graft incompatibility / S. Musacchi, G. Pagliuca, M. Kindt, M. V. Piretti, S. Sanavini // Journal of applied botany. — 2000. — Vol. 74, № 5–6. — С. 206–211

#### СПОСОБ ЭКСПРЕСНОЙ ОЦЕНКИ СОВМЕСТИМОСТИ СОРТО-ПОДВОЙНЫХ КОМБИНАЦИЙ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ

Бублик Н. А., Китаев О. И., Скрыга В. А.,  
Матвиенко Н. В.  
Институт садоводства НААН Украины, Киев

На примере сорто-подвойных комбинаций груши приведены результаты изучения совместимости плодовых деревьев люминесцентным спектральным методом. Установлено, что с помощью анализа термоиндукционных изменений флуоресценции хлорофилла можно быстро выявлять признаки скрытой несовместимости подвоя и привоя на ранних этапах выращивания растений.

#### EXPRESS ESTIMATION OF THE FRUIT PLANTS CULTIVAR-ROOSTOCK COMBINATIONS COMPATIBILITY

Bublyk M. O., Kitayev O. I., Skryaga V. A.,  
Matviyenko M. V.  
Institute of Horticulture, NAAS, Kyiv

There sult of study in the fruit trees compatibility by the luminescent spectral method have been presented using as pattern pear cultivar-rootstock combinations. The authors have established the possibility of the rapid detection of the rootstock and scion latent incompatibility signs at the early stages of the plant grooving by analyzing the fluorescence.