

doi 10.18699/vjgb-26-44

## Пути адаптации разных сортов груши к низкотемпературному стрессу в весенний период

А.Е. Мишко , А.В. Ключкина 

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

 mishko-alisa@mail.ru

**Аннотация.** Хорошо известная семечковая культура – груша – на территории России занимает около 7 % общих площадей насаждений многолетних плодовых культур. Основную долю грушевых садов составляют зарубежные европейские сорта. Возвратные заморозки, которые характерны для южных регионов страны в весенний период, приводят к значительным потерям урожая. В настоящей работе изучены особенности ответных реакций цветочных почек сортов груши на низкотемпературный стресс. Исследовали крымский сорт Джанкойская поздняя, два краснодарских сорта Левен и Фламенко, а также межвидовой гибрид Киффер. Цветочные почки на разных стадиях развития промораживали в климатической камере в течение 12 ч при температуре  $-1.5 \dots -2.0$  °C. После стресса определяли активность некоторых ферментов антиоксидантной системы, содержание фенольных соединений, малонового диальдегида и уровень экспрессии генов тех же ферментов и белков, участвующих в холодовой адаптации. Выявлено, что осенний сорт Киффер в условиях Краснодарского края быстрее других изученных сортов начинает цвести, вследствие чего наиболее подвержен воздействию возвратных заморозков, о чем свидетельствуют высокие значения малонового диальдегида и уровень активности супероксиддисмутазы. Отечественные сорта Левен (зимний сорт) и Фламенко (летний) обладали самыми высокими показателями активности пероксидазы и экспрессии генов *PcDREB2*, *PcCAP160*, *PcCOR413*, *PcPOX1* на фоне сниженного уровня малонового диальдегида. Как правило, данные сорта позднее выходили из состояния покоя по сравнению с сортом Киффер. Крымский сорт зимнего срока созревания был ближе по исследуемым параметрам к межвидовому гибриду, но отличался меньшими показателями ферментативной активности и экспрессией рассматриваемых генов. Полученные результаты позволяют заключить, что в условиях произрастания груши на территории южного региона страны, где возможны возвратные заморозки в весенний период, большей физиологической устойчивостью обладают сорта с началом цветения во второй-третьей декадах апреля, характеризующиеся высокими показателями антиоксидантной ферментативной активности, в первую очередь пероксидазы, и уровнем экспрессии генов *PcDREB2*, *PcCAP160* и *PcCOR413*.

**Ключевые слова:** груша; холодовой стресс; устойчивость; антиоксидантная система защиты; экспрессия генов

**Для цитирования:** Мишко А.Е., Ключкина А.В. Пути адаптации разных сортов груши к низкотемпературному стрессу в весенний период. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(3):403-411. doi 10.18699/vjgb-26-44

**Финансирование.** Публикация подготовлена в рамках реализации государственного задания FGRE-2022-0001 (рег. номер 225020408372-9) Министерства науки и высшего образования РФ.

## Adaptive responses of pear cultivars to low-temperature stress in the spring period

А.Е. Mishko , А.В. Klyukina 

North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking, Krasnodar, Russia

 mishko-alisa@mail.ru

**Abstract.** The pear is one of the most famous pome crops. It occupies about 7 % of the total area of perennial fruit crops in Russia. Orchard plantings are predominantly composed of foreign European cultivars. Spring frosts, which are typical for the southern regions of the country, lead to significant crop losses. This study determined the response characteristics of pear flower buds to low-temperature stress. The Crimean cultivar Dzhankoyskaya Pozdnyaya, two cultivars – Leven and Flamenco – of Krasnodar selection and the interspecific hybrid Kieffer were investigated. Flower buds at different developmental stages were exposed to a climatic chamber for 12 hours at temperatures  $-1.5 \dots -2$  °C. After stress exposure, the activity of certain antioxidant enzymes was determined, along with the content of phenolic compounds, malondialdehyde, and the gene expression level of its enzymes and proteins involved in cold adaptation. It was revealed that the autumn-ripening cultivar Kieffer, under conditions of the Krasnodar region, begins to bloom earlier than other studied cultivars, making it more susceptible to recurrent frosts. This is evidenced by high values of malondialdehyde and the activity level of superoxide dismutase. The Russian cultivars, Leven (winter cultivar) and Flamenco (summer cultivar), showed the highest activity of peroxidase and gene expression of *PcDREB2*, *PcCAP160*, *PcCOR413*, *PcPOX1*, with a reduced level of malondialdehyde. These cultivars typically emerged from dormancy later compared to Kieffer. The

Crimean winter-ripening cultivar was closer to the interspecific hybrid in terms of the studied parameters but showed lower enzyme activity and gene expression levels. The obtained results suggest that under pear cultivation conditions in the southern region of the country, where spring frosts are possible, cultivars with flowering starting in the second-to-third decade of April and high indicators of antioxidant enzyme activity (primarily peroxidase) and gene expression levels of *PcDREB2*, *PcCAP160*, and *PcCOR413* demonstrate greater resistance.

**Key words:** pear cultivars; low-temperature stress; resistance; antioxidant system defense; gene expression

**For citation:** Mishko A.E., Klyukina A.V. Adaptive responses of pear cultivars to low-temperature stress in the spring period. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(3):403-411. doi 10.18699/vjgb-26-44

## Введение

Семечковые культуры, в частности груша, являются ценным ресурсом для отрасли садоводства Краснодарского края. Доля груши в общих посадках многолетних плодовых насаждений чрезвычайно мала и составляет около 7 %, но заинтересованность производства в данной культуре постоянно растет. Причины недостаточного ее распространения даже в самых благоприятных условиях юга России просты – по сравнению с яблоней, груша отличается более высокой требовательностью к условиям произрастания, главным образом к уровню водообеспечения, особенно в начале вегетации и в период созревания плодов (Asayesh et al., 2023). Морозостойкость культуры высока – по данным различных исследователей, цветочные почки груши в состоянии органического покоя могут выдерживать температуры до  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Сотник и др., 2017; Бандурко, 2024). Ключевую роль играют не только отрицательные температуры и продолжительность морозного периода (морозов), но и фаза цикла развития генеративных органов (Xiao et al., 2022).

Одним из важнейших свойств адаптации сортов плодовых культур к условиям выращивания является их устойчивость к низкотемпературным стрессам в период вегетации. В Краснодарском крае к значительным экономическим потерям приводят возвратные весенние заморозки, участвовавшие в последнее время. Многолетний мониторинг погодных условий позволил выявить основные стрессовые факторы для культуры груши на территории края в течение зимне-весеннего периода – это отсутствие низких температур в декабре–январе, необходимых для закаливания растений, и заморозки в период начала вегетации (март–апрель). Каждый из этих негативных факторов при воздействии на сорта груши может приводить к снижению урожайности или к полной потере урожая (Evers et al., 2021; Lee et al., 2023; Zhao et al., 2023). Установлено, что любая культура, и в частности сорт, имеет свой порог критических минимальных температур, способный инициировать с высокой долей вероятности гибель цветочных почек (Клюкина и др., 2024). Кроме того, для различных сортов характерны разные сроки периода глубокого покоя, продолжительность которого при конкретных условиях температурного режима будет определять дальнейшую скорость выхода из него (Gabay, Flaishman, 2024).

Устойчивость сортов к низкотемпературному стрессу представляет собой сложные взаимодействия физиолого-биохимических и молекулярно-генетических процессов, которые отражены рядом показателей. Любое значительное стрессовое воздействие на растение приводит к возникновению вторичного окислительного стресса, вы-

званного ростом активных форм кислорода (АФК) в клетках (Suzuki et al., 2012). Одной из важных защитных реакций на такое негативное влияние является увеличение активности антиоксидантных ферментов, сдерживающих рост свободных радикалов, избыточное накопление которых может привести к разрушению липидов, белков, нуклеиновых кислот, вплоть до клеточной гибели. Супероксиддисмутаза нейтрализует супероксидный анион, пероксидазы – перекись водорода (Dumanovic et al., 2021). Полифенолоксидаза катализирует реакции окисления разнообразных фенольных соединений, синтезируя или деградируя необходимые в поддержании гомеостаза растения метаболиты (Zhang S., 2023).

Одновременно с ферментами защитную функцию выполняют многочисленные фенольные соединения (Dumanovic et al., 2021). Флавоноиды относятся к главным антиоксидантам фенольной природы. Они способны восстанавливать АФК до стабильных и менее вредных форм (Tremel, Mejkal, 2016). На генетическом уровне низкотемпературный стресс индуцирует экспрессию функциональных и регуляторных генов, продукты которых либо непосредственно защищают клетки от повреждений (ферменты биосинтеза осмолитов, ферменты детоксикации и др.), либо участвуют в передаче сигналов и регуляции экспрессии генов (Yang, Huang, 2018; Zhang Y. et al., 2023).

В связи с участвовавшими возвратными заморозками на территории Краснодарского края целью данного исследования стало изучение ответных реакций сортов груши на низкотемпературный стресс в весенний период.

## Материал и методы

Исследования проведены в Прикубанской зоне садоводства Краснодарского края ( $45^{\circ}16'N$ ,  $38^{\circ}93'E$ ) в марте–апреле 2023–2025 гг. на базе генетической коллекции ЦКП «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (СКФНЦСВВ). В качестве объектов изучения были выбраны сорта груши *Pyrus communis* L. отечественного происхождения Левен и Фламенко (селекция СКФНЦСВВ), крымский сорт Джанкойская поздняя и американский сорт Киффер, который является межвидовым гибридом (*P. communis* × *P. pyrifolia* Nakai). Сорта были привиты на подвое ВА-29. Год посадки – 2007, схема посадки –  $5 \times 2$  м. Отбирали по 10 побегов с цветочными почками с 5–7 деревьев каждого сорта.

Анализ реакции генеративных органов на низкие температуры весеннего периода проводили на основе критических минимальных температур для каждой фазы развития цветочных почек в климатической камере ВРС500D/CVSI-Spector (Fujian Jiupo Biotechnology Co, Китай) по

общепринятой методике (Программа и методика сортоизучения..., 1999; Новые методы..., 2023). Фазы развития цветочных почек определены согласно общепринятым методикам (Коломиец, 1952; Шитт, 1958). Температурные показатели изученного периода получены с местной метеостанции (синоптический индекс 34927). В лабораторных условиях был смоделирован температурный режим, соответствующий естественным возвратным заморозкам: постепенное понижение температуры в течение суток до критической в  $-1.5...-2.0$  °C. Контрольные образцы не подвергали низкотемпературному стрессу. После окончания эксперимента растительный материал замораживали в жидком азоте для дальнейшего использования в серии биохимических и молекулярно-генетических анализов.

В цветочных почках груши определяли общее содержание фенольных соединений и флавоноидов (Ainsworth, Gillespie, 2007; Nigmawanti et al., 2021). Экстракцию растворимых белков проводили согласно методике (Wei et al., 2018), их концентрацию оценивали с помощью окрашивания раствором Кумасси (Bradford, 1976). Активность ферментов супероксиддисмутазы (SOD), пероксидазы (POX) и полифенолоксидазы (PPO) измеряли стандартными колориметрическими методами (Бояркин, 1951; Queiroz et al., 2011; Ефимова и др., 2018). Содержание малонового диальдегида (MDA) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (Bonuapour, Jamali, 2020).

Для анализа уровня экспрессии генов из цветочных почек груши выделяли РНК с помощью модифицированного СТАВ-метода (Сундырева и др., 2018). Синтез кДНК осуществляли с помощью обратной транскриптазы MMLV («Евроген», Россия) согласно инструкции производителя. ПЦР в реальном времени проводили с использованием набора qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Праймеры были подобраны из литературных источников (табл. 1). В качестве референсного гена был взят консервативный фрагмент последовательности гена актина. Относительную экспрессию исследованных генов рассчитывали с помощью  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  метода (Livak, Schmittgen, 2001).

Измерения проводили в 2–4-кратной аналитической повторности. Достоверность различий определяли по результатам теста Тьюки однофакторного дисперсионного анализа при уровне значимости 0.05. Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения STATISTICA 12. Результаты представлены в виде средних значений и их стандартных ошибок.

**Таблица 1.** Последовательности праймеров, использованных для проведения ПЦР в реальном времени

Ген	Последовательности праймеров 5'→3'	Литературный источник
PPO1	F CCTACTCACAAGCCCAAGC	Busatto et al., 2021
	R CCTCCAAGACCAAGAAGCAC	
SOD1	F GGGAGATGGCCCAACTACTG	Azarabadi et al., 2017
	R CCAGTTGACATGCAACCGTT	
POX1	F AAGGCATGCATGTGGTCACT	Zhai et al., 2018
	R CGACATATCCACCATGCCCA	
DREB2	F GCAAAGAAACAGACCTTGTGC	Nham et al., 2017
	R GCATATAAGTCGTCATCAACC	
COR413	F GGTCGAACAGCACTGAAGGA	
	R CTCAAATGGGTTGCCTCCCT	
CAP160	F GCCACTACTGTATTGCCGA	
	R ATACCTGTGCTCAGGTGC	
Actin	F CTGCTGGCATTTCATGAGACT	Şahin et al., 2022
	R TCTGGTGGAGCTACAACCTT	

Примечание. F – прямой праймер, R – обратный праймер.

## Результаты

Температурные условия в изучаемый период были разнообразными (табл. 2), что отлично отражают фазы развития цветочных почек (рис. 1). Отбор растительного материала проводили в третьей декаде марта или первой декаде апреля, приуроченного к началу цветения груши.

Условия для распускания генеративных почек в 2023 г. были благоприятными: после весенних заморозков в марте (до  $-6.3$  °C) наблюдали потепление в апреле до  $+5.4$  °C, что привело к раннему прохождению фазы «начало цветения» у сорта Киффер, тогда как сорта Фламенко, Левен и Джанкойская поздняя остались в фазе «обособление бутонов».

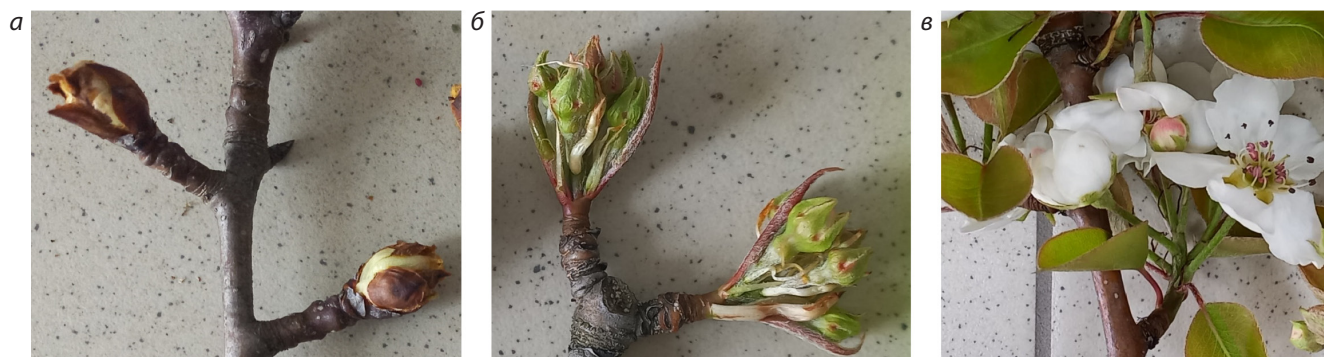
Состояние генеративных органов в 2024 г. отличалось от данных за 2023 г. Заморозки в марте достигали температуры  $-4.3$  °C, в апреле минимальная температура составила лишь  $+2.0$  °C. Большинство сортов (Левен, Джанкойская поздняя и Фламенко) остались в фазе «распускание почек», а сорт Киффер – в фазе «обособление бутонов».

За три года исследований минимум температуры (до  $-13.9$  °C) был зафиксирован только в марте 2025 г. Ми-

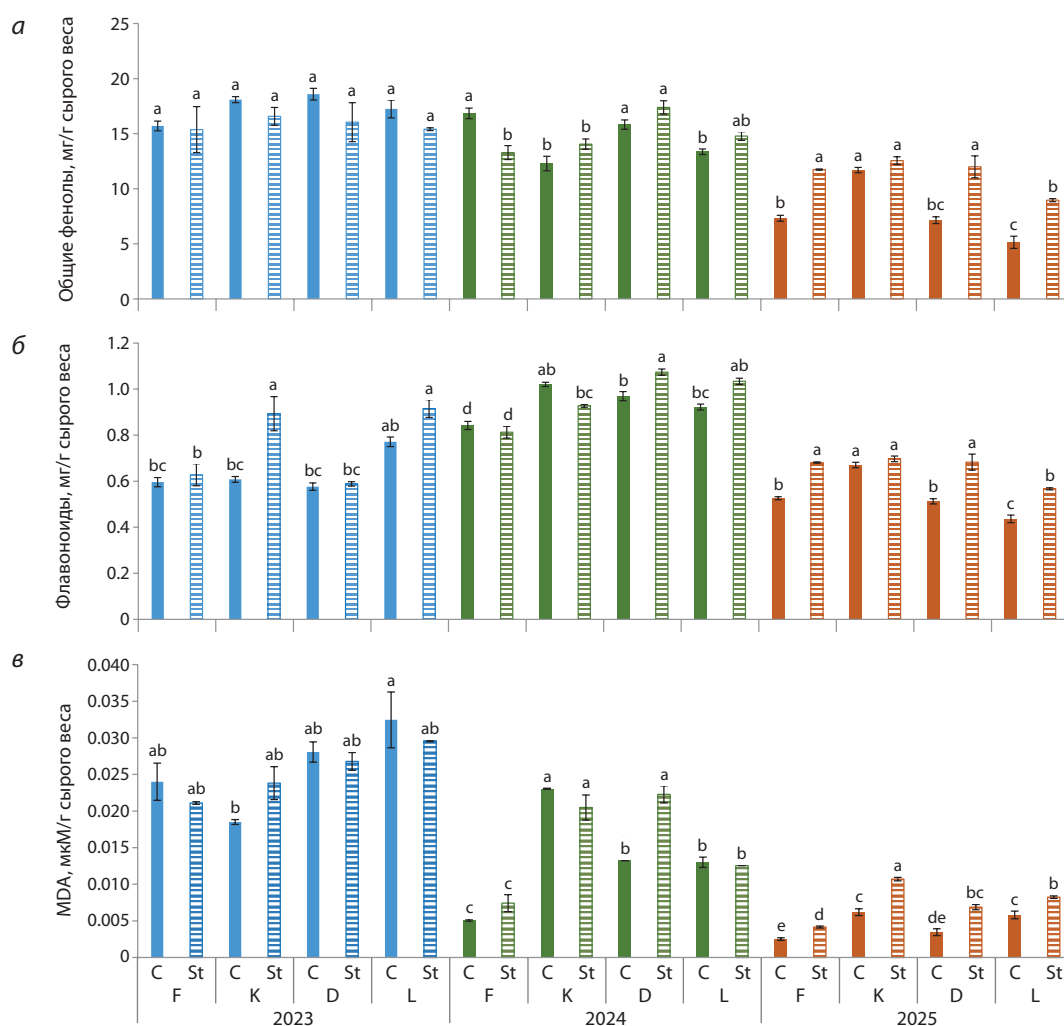
**Таблица 2.** Температурный режим в зимне-весенний период 2023–2025 гг.

Месяц	Минимальные температуры воздуха, °C								
	2023 г.			2024 г.			2025 г.		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Январь	<b>-13.4</b>	-9.7	-8.1	-11.3	<b>-14.2</b>	-12.0	<b>-6.2</b>	-5.5	-3.1
Февраль	<b>-14.5</b>	-11.5	-8.4	-2.9	-1.6	<b>-4.5</b>	-8.3	-8.4	<b>-18.6</b>
Март	<b>-6.3</b>	2.3	1.5	<b>-4.3</b>	-3.5	-0.8	<b>-13.9</b>	-0.6	0.2
Апрель	<b>0.2</b>	5.4	5.2	<b>2.0</b>	10.1	2.0	<b>0.2</b>	0.3	3.1

Примечание. I–III – декады месяцев. Жирным шрифтом выделен абсолютный минимум температур за месяц.



**Рис. 1.** Фазы развития цветочных почек груши.  
а – распускание почек; б – обособление бутонов; в – начало цветения.

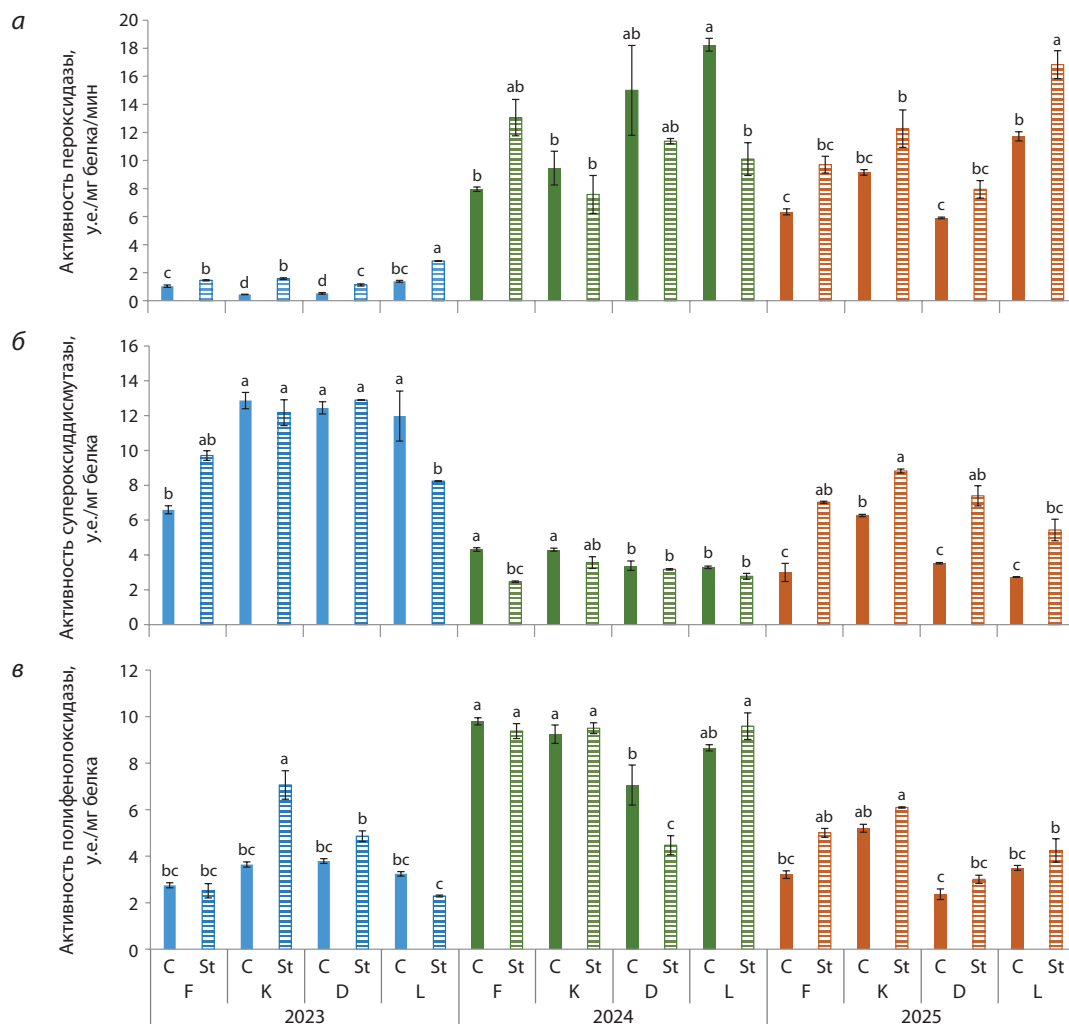


**Рис. 2.** Содержание общих фенолов, флавоноидов и малонового диальдегида (MDA) в генеративных почках груши при низкотемпературном стрессе в 2023–2025 гг.

F – Фламенко; К – Киффер; D – Джанкойская поздняя; L – Левен; C – контроль, St – стресс. Малыми латинскими буквами отмечены достоверные различия в определенный год исследования по результатам теста Тьюки при  $p \leq 0.05$ .

нимальная температура воздуха первой декады апреля составила  $+0.2^{\circ}\text{C}$ . При таких условиях сорта Джанкойская поздняя и Фламенко находились в фазе «распускание почек», в то время как сорта Киффер и Левен достигли фазы «обособление бутонов».

Содержание общих фенолов в цветочных почках груши было различным в зависимости от года исследования (рис. 2, a). Максимальные значения, варьирующие в среднем от 17.2 до 18.6 мг/г сырого веса, у большинства сортов были выявлены в 2023 г. Минимальные показатели



**Рис. 3.** Активность пероксидазы, супероксиддисмутазы и полифенолоксидазы в генеративных почках груши при низкотемпературном стрессе в 2023–2025 гг.

Усл. обозн. см. на рис. 2.

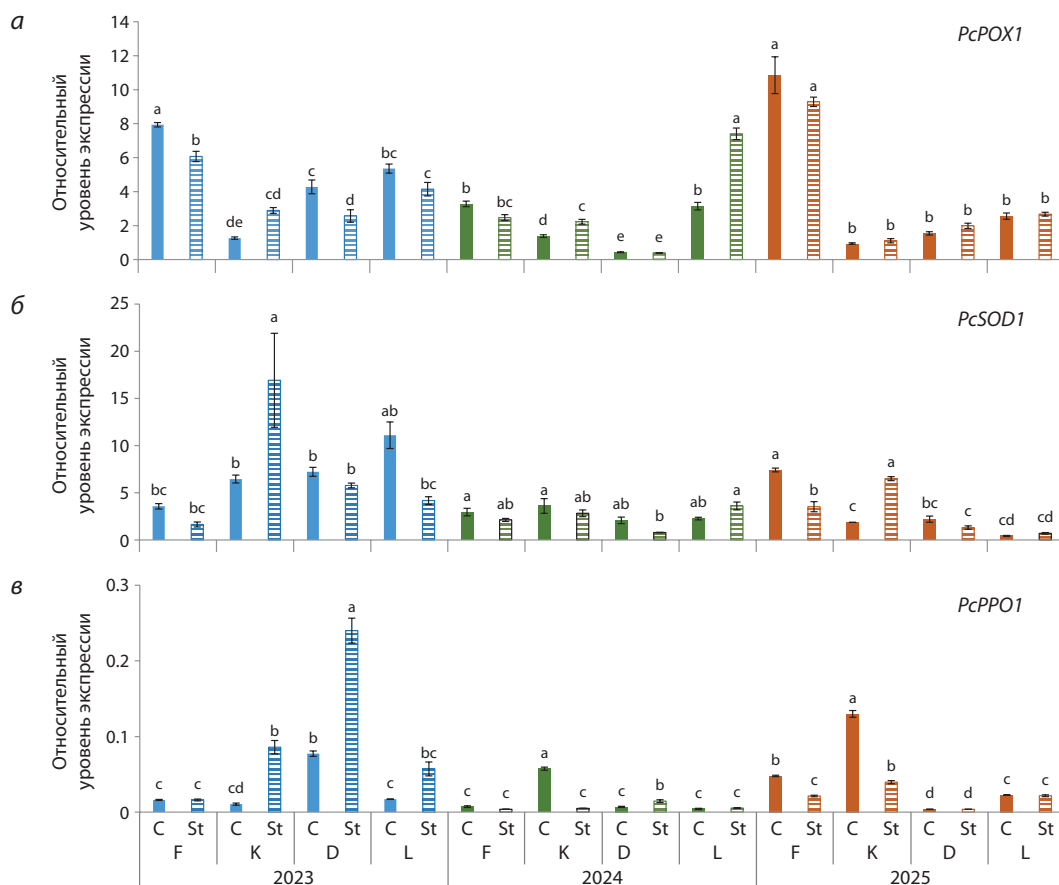
(5.1–11.7 мг/г сырого веса) соответствовали весеннему периоду 2025 г. После кратковременного низкотемпературного стресса наблюдался значительный рост данного параметра только в 2025 г. Почти двукратное увеличение фенолов было характерно для таких сортов, как Фламенко, Джанкойская поздняя и Левен. Сорт Левен за весь период изучения в среднем имел самые низкие показатели этого параметра, составляющие ~12 мг/г сырого веса.

При сопоставлении данных по содержанию флавоноидов наибольшие показатели, изменяющиеся в пределах от 0.8 до 1.1 мг/г сырого веса, были выявлены в 2024 г. (см. рис. 2, б). В период 2025 г. накопление флавоноидов в цветочных почках груши достигало минимальных значений – 0.4–0.6 мг/г сырого веса. При этом у всех сортов, за исключением Киффер, в 2025 г. стрессовое воздействие инициировало рост флавоноидов более чем на 30%. У сорта Киффер количество флавоноидов резко возросло (в 1.5 раза) в условиях 2023 г. Таким образом, на протяжении трехлетнего эксперимента максимальные показатели содержания флавоноидов после стресса были выявлены у разных сортов: в 2023 г. – Киффер и Левен, в 2024 г. –

Джанкойская поздняя и Левен, в 2025 г. – Фламенко, Джанкойская поздняя и Киффер.

Значительные различия по накоплению малонового диальдегида были обнаружены в зависимости от года исследования. Самые высокие показатели (в среднем 0.03 мкМ/г сырого веса) были характерны для 2023 г., наименьшие (0.004 мкМ/г сырого веса) – для 2025 г. (см. рис. 2, в). Низкотемпературный стресс вызвал увеличение MDA в 1.5–2 раза в 2025 г. у всех сортов груши, в 2024 г. – у сортов Фламенко и Джанкойская поздняя на 45 и 65 % соответственно, в 2023 г. – только у сорта Киффер на 30%. При анализе средних значений данного параметра за 2023–2025 гг. стрессовые максимальные показатели имели сорта Левен, Джанкойская поздняя и Киффер.

Изменения в активности исследованных ферментов также зависели от года изучения (рис. 3). Активность пероксидазы достигала максимальных показателей (от 5.9 до 18.3 у.е./мг белка/мин) в весенний период 2024–2025 гг., минимальных, изменяющихся в пределах 0.5–1.4 у.е./мг белка/мин, – в 2023 г. (см. рис. 3, а). Стресс чаще всего приводил к увеличению активности ПОХ, в некоторых



**Рис. 4.** Относительный уровень экспрессии генов *PcPOX1*, *PcSOD1*, *PcPPO1* в генеративных почках груши при низкотемпературном стрессе в 2023–2025 гг.

Усл. обозн. см. на рис. 2.

случаях более чем в 2 раза. Наиболее высокие показатели активности фермента после воздействия низких температур воздуха в моделируемых условиях были характерны для сорта Левен – 11.6 у.е./мг белка/мин в среднем за весь период изучения.

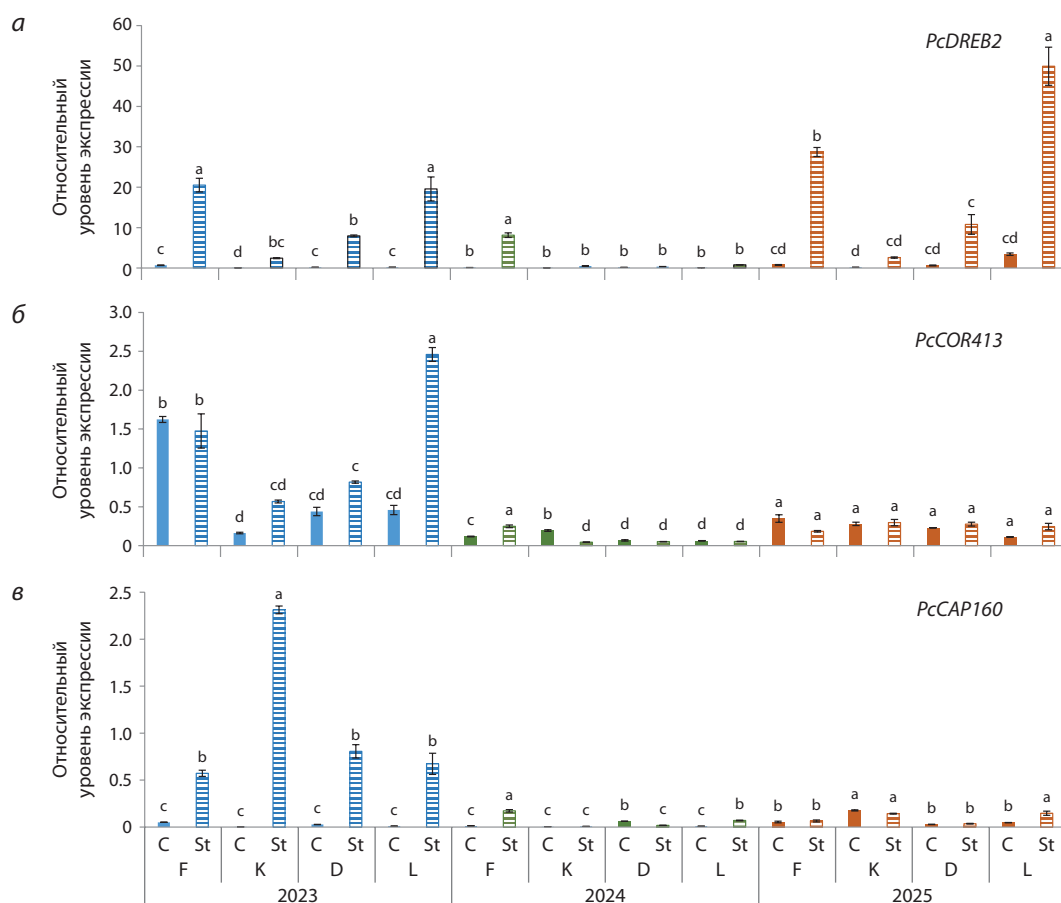
Динамика активности супероксиддисмутазы имела обратную направленность по сравнению с изменениями активности пероксидазы, а именно: максимальный рост приходился на 2023 г., а минимум – на 2024 г. Самые высокие значения SOD в течение всего периода изучения были выявлены у сорта Киффер, в среднем 6.8 у.е./мг белка (см. рис. 3, б). После стресса активность фермента в почках груши увеличилась в 1.4–2.4 раза только в 2025 г. За три года исследования максимальные показатели при кратковременном негативном воздействии, составляющие в среднем 8.0 у.е./мг белка, имели сорта Киффер и Джанкойская поздняя.

Активность полифенолоксидазы изменялась тоже в зависимости от года исследования: максимум приходился на 2024 г., минимум – на 2023 и 2025 гг. (см. рис. 3, в). Сортовые различия были выражены слабо, только для сорта Джанкойская поздняя были характерны наиболее низкие показатели РПО в 2024 и 2025 гг. – 7.1 и 3.0 у.е./мг белка соответственно. Низкотемпературный стресс не приводил к значительному изменению активности фермента, за

исключением двух вариантов: увеличение РПО в 2 раза у сорта Киффер в 2023 г. и снижение РПО на 60 % у сорта Джанкойская поздняя в 2024 г.

Согласно данным уровня относительной экспрессии генов тех же изученных антиоксидантных ферментов, в 2023 г. были выявлены наибольшие средние показатели *PcPOX1* и *PcSOD1* (рис. 4, а, б). При этом максимальные значения по относительной экспрессии гена пероксидазы имел сорт Киффер в 2025 г. В отношении гена *PcPPO1* отмечен высокий уровень экспрессии в 2025 г. с максимумом у сорта Киффер (см. рис. 4, в). После стрессового воздействия уровень экспрессии генов антиоксидантных ферментов значительно не изменился, кроме отдельных вариантов: резкое увеличение *PcSOD1* наблюдалось у сорта Киффер в 2023 и 2025 гг., показателей *PcPOX1* – у сорта Левен в 2024 г. Также зафиксировано снижение значений экспрессии *PcPOX1* у сортов Фламенко и Джанкойская поздняя в 2023 г., *PcSOD1* – у сорта Фламенко в 2025 г., *PcPPO1* – у сорта Киффер в 2024 и 2025 гг. (в 2023 г., напротив, у этого сорта был отмечен рост данного параметра).

Генетический анализ был проведен и для группы генов, отвечающих за устойчивость к низкотемпературному стрессу – были исследованы транскрипционный фактор *PcDREB2* (рис. 5, а) и белки холодовой акклиматизации



**Рис. 5.** Относительный уровень экспрессии генов *PcDREB2*, *PcCOR413*, *PcCAP160* в генеративных почках груши при низкотемпературном стрессе в 2023–2025 гг.

Усл. обозн. см. на рис. 2.

*PcCOR413*, *PcCAP160* (см. рис. 5, б, в). В контрольных условиях сортовых отличий не обнаружено за весь период исследования, за исключением показателей *PcCOR413* сорта Фламенко в 2023 г., которые на 78 % превышали значения остальных.

Воздействие низких температур на генеративные почки груши у всех изученных сортов вызвало значительное повышение (в 2–5 раз) относительного уровня экспрессии гена *PcCOR413* только в 2023 г. У сорта Фламенко выявили рост стрессовых значений этого гена в 2 раза в 2024 г., поскольку в первый год исследования, как отмечено ранее, контрольные показатели были достаточно высокими. Что касается уровня относительной экспрессии гена *PcCAP160*, то его значения в стрессовых условиях резко увеличились в 2023 г., особенно у сорта Киффер, а также в 2024 г. у сортов Фламенко и Левен (в 8–14 раз) и в 2025 г. у последнего из них (в 3 раза). Изменения показателей *PcDREB2* носили еще более динамичный характер. В 2023 г. превышение контрольных значений в 30–46 раз отмечено для сортов Фламенко и Джанкойская поздняя, в 109 раз – для сорта Левен, в 122 раза – для сорта Киффер с минимальными значениями. В следующий год рост показателей *PcDREB2* был не таким значительным – в 2–17 раз, но у сорта Фламенко уровень экспрессии увеличился в 68 раз. Максимальные значения *PcDREB2* были выявлены

после стресса в 2025 г. у сортов Фламенко и Левен. Менее значительное повышение экспрессии зафиксировано у сортов Киффер и Джанкойская поздняя.

### Обсуждение

Полученные данные позволяют утверждать, что от стадии развития генеративной почки зависят ее физиолого-биохимические и молекулярно-генетические особенности. Так, на этапе «распускание почек» характерны наличие высокой активности ферментов POX и PPO и накопление флавоноидов. В более холодных условиях весеннего периода 2025 г. на этом же этапе развития генеративных структур была отмечена более резкая ответная реакция на стресс в виде усиления активности пероксидазы, супероксиддисмутазы, увеличения накопления общих фенолов, флавоноидов, MDA и высокой экспрессии гена *PcDREB2*. Схожие результаты по увеличению активности антиоксидантных ферментов при распускании почек груши *P. pyrifolia* были представлены в работе (Hussain et al., 2015).

Для стадии «обособление бутонов» можно отметить максимальное накопление общих фенолов и MDA, наибольшую активность SOD и высокий уровень экспрессии *PcCOR413*. При стрессе наблюдали увеличение активности POX и резкий рост экспрессии генов *PcPPO1*, *PcDREB2*, *PcCOR413* и *PcCAP160*. Стадия развития

генеративных почек груши «начало цветения», которая была зафиксирована только у сорта Киффер в 2023 г., характеризуется более интенсивным ответом на стресс: усилением синтеза флавоноидов, активности PPO и показателей уровня экспрессии всех исследованных генов. Повышение активности SOD и доли транскриптов генов, связанных с биосинтезом флавоноидов, было отмечено китайскими исследователями при изучении ответной реакции цветков разных генотипов азиатских груш, подверженных низкотемпературному стрессу от +2 до -4 °C в течение 4 ч (Li et al., 2023; Lin et al., 2023). В другой работе воздействие низкими температурами на культуру клеток яблони приводило к активации экспрессии генов *DREB/CBF* (Du et al., 2015).

Как представлено выше, уровень экспрессии гена *PcDREB2* в генеративных почках груши после стресса отличался максимальным ростом (почти в 100 раз), что соответствует данным груши уссурийской (*P. ussuriensis* Maxim. ex Rupr.) – с наибольшей экспрессией генов *DREB1* и *DREB2* в первые 12 ч в условиях гипотермии (Yang, Huang, 2018). В то же время в плодах сорта Вильямс при действии низких температур группа ученых не выявила увеличения экспрессии генов *CBF1*, *CBF4*, *DREB2*, *COR413*, за исключением гена *CAP160* (Nham et al., 2017).

По результатам проведенного сравнительного анализа изученных сортов груши можно заключить, что осенний сорт Киффер обладает способностью к быстрому выходу из состояния глубокого покоя, что определяет его более ранние сроки распускания цветочных почек. Это связано с происхождением сорта, одной из родительских форм которого является вид *P. pyrifolia*, не требующий низких температур для вступления в фазу глубокого покоя и быстро выходящий из него после теплых зим (Gabaу, Flaishman, 2024). Достаточно высокие стрессовые показатели MDA, скорее всего, обуславливают повышенную восприимчивость сорта Киффер к низким температурам весеннего периода на фоне быстрой ответной реакции. Для сорта Джанкойская поздняя зимнего срока созревания было характерно, так же как и для сорта Киффер: высокое содержание фенольных соединений, рост содержания MDA и активности SOD в стрессовых условиях, но в целом в меньшей степени выраженная антиоксидантная система защиты и экспрессия генов холодовой устойчивости. Сорта Фламенко и Левен имели схожие ответные реакции на низкотемпературный стресс, хотя по срокам созревания первый относится к группе летних сортов, а второй – к зимним. Активность SOD и содержание MDA за весь период исследования в среднем были на уровне контрольных значений или ниже их, при этом значения POX и экспрессии генов *PcPOX1*, *PcDREB2*, *PcCAP160* и *PcCOR413* достигали максимума.

## Заключение

Выявлена разница в способах адаптации сортов груши различного срока созревания и происхождения к низкотемпературным стрессам зимне-весеннего периода как на экологическом, так и на физиологическом уровне. Растения груши, для которых характерно более раннее начало цветения, как это было установлено для сорта

Киффер, обладают большей восприимчивостью к низким температурам за счет роста активности SOD на фоне высокого уровня накопления MDA. У сортов более позднего периода цветения (вторая-третья декада апреля) защитные механизмы сдерживания окислительного стресса в растительных клетках срабатывали быстрее: были установлены максимальные показатели экспрессии генов холодовой устойчивости и активности пероксидазы при низких показателях MDA.

Полученные результаты позволят в дальнейшем проводить оценку сортов груши по признакам-маркерам холодовой устойчивости для создания современного перечня перспективных сортов данной культуры и их рационального размещения на территории юга России с целью получения стабильных и качественных урожаев.

## Список литературы / References

- Бандурко И.А. Оценка генофонда груши по устойчивости к неблагоприятным факторам зимнего периода в предгорной зоне северо-западного Кавказа. *Science and Innovation*. 2024;21:88-92 [Bandurko I.A. Assessment of the gene pool of the Pear by resistance to adverse factors of the winter period in the foothill zone of the North-West Caucasus. *Science and Innovation*. 2024;21:88-92 (in Russian)]
- Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы. *Биохимия*. 1951;16(4):352-355 [Boyarkin A.N. A fast assay of peroxidase activity. *Biochemistry*. 1951;16(4):352-355 (in Russian)]
- Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мурган О.К., Кузнецов В.В. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению. *Физиология растений*. 2018;65(3):196-206. doi 10.7868/S001533031803003X [Efimova M.V., Kolomeichuk L.V., Boyko E.V., Malofii M.K., Vidershpan A.N., Plyusnin I.N. Golovatskaya I.F., Murgan O.K., Kuznetsov V.I.V. Physiological mechanisms of *Solanum tuberosum* L. plants' tolerance to chloride salinity. *Russ J Plant Physiol*. 2018; 65(3):394-403. doi 10.1134/S1021443718030020]
- Клюкина А.В., Драгавцева И.А., Оплачко Р.А. Изучение потребности сортов плодовых культур в температурном режиме прохождения фаз их развития (на примере сортов груши). *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2024;89(5):49-58. doi 10.30679/2219-5335-2024-5-89-49-58 [Klyukina A.V., Dragavtseva I.A., Oplachko R.A. Study of fruit crops varieties' needs in temperature regime of their development phases (on the example of pear varieties). *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2024;89(5):49-58. doi 10.30679/2219-5335-2024-5-89-49-58 (in Russian)]
- Коломиец И.А. Биологический анализ развития цветочных почек у яблони. *Доклады Академии наук СССР*. 1952;84(4):821-824 [Kolomiys I.A. Biological analysis of flower bud development in an apple tree. *Doklady Akademii Nauk SSSR = Reports of the USSR Academy of Sciences*. 1952;84(4):821-824 (in Russian)]
- Новые методы радикального повышения урожая сортов плодовых культур на основе теории эколого-генетической организации количественных признаков в условиях флуктуации климата. Краснодар, 2023 [New Methods for a Quantum Leap in Fruit Crop Yields Based on the Theory of the Environmental and Genetic Organization of Quantitative Traits in the Context of Climate Fluctuation. Krasnodar, 2023 (in Russian)]
- Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1999 [Program and Methodology of Studying Varieties of Fruit, Berry, and Walnut Crops. Orel, 1999 (in Russian)]
- Сотник А.И., Бабина Р.Д., Хоружий П.Г. Сравнительная оценка сортов груши (*Pirus communis* L.) по устойчивости генератив-

- ных органов к низкотемпературным стрессам в условиях Крыма. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2017;3(65):72-74
- [Sotnik A.I., Babina R.D., Khoruzhy P.G. Comparative assessment of resistance of the generative organs of pear varieties (*Pirus communis* L.) to low-temperature stresses under the conditions of Crimea. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2017;3(65):72-74 (in Russian)]
- Сундырева М.А., Степанов И.В., Супрун И.И., Ушакова Я.В. Модифицированный протокол выделения РНК из зрелых листьев винограда для проведения ОТ-ПЦР. *Научный журнал КубГАУ*. 2018;143:16-30. doi 10.21515/1990-4665-143-012
- [Sundyreva M.A., Stepanov I.V., Suprun I.I., Ushakova Y.V. A modified protocol of RNA isolation from mature leaves of grapes for RT-PCR. *Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*. 2018;143:16-30. doi 10.21515/1990-4665-143-012 (in Russian)]
- Шитт П.Г. Учение о росте и развитии плодовых и ягодных растений. М., 1958
- [Shitt P.G. The Doctrine of the Growth and Development of Fruit and Berry Plants. Moscow, 1958 (in Russian)]
- Ainsworth E.A., Gillespie K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nat Protoc*. 2007;2:875-877. doi 10.1038/nprot.2007.102
- Asayesh Z.M., Arzani K., Mokhtassi-Bidgoli A., Abdollahi H. Enzymatic and non-enzymatic response of grafted and ungrafted young European pear (*Pyrus communis* L.) trees to drought stress. *Sci Hortic*. 2023;310:111745. doi 10.1016/j.scienta.2022.111745
- Azarabadi S., Abdollahi H., Torabi M., Salehi Z., Nasiri J. ROS generation, oxidative burst and dynamic expression profiles of ROS-scavenging enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in response to *Erwinia amylovora* in pear (*Pyrus communis* L.). *Eur J Plant Pathol*. 2017;147:279-294. doi 10.1007/s10658-016-1000-0
- Bonyanpour A.R., Jamali B. Seasonal enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses in seven Iranian pomegranate cultivars. *Adv Hortic Sci*. 2020;34(3):265-276
- Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72(1-2):248-254. doi 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Busatto N., Giné-Bordonaba J., Larrigaudière C., Lindo-Garcia V., Farneti B., Biasioli F., Vrhovsek U., Costa F. Molecular and biochemical differences underlying the efficacy of lovastatin in preventing the onset of superficial scald in a susceptible and resistant *Pyrus communis* L. cultivar. *Postharvest Biol Technol*. 2021;173:111435. doi 10.1016/j.postharvbio.2020.111435
- Du F., Xu J.-N., Li D., Wang X.-Y. The identification of novel and differentially expressed apple-tree genes under low-temperature stress using high-throughput Illumina sequencing. *Mol Biol Rep*. 2015;42:569-580. doi 10.1007/s11033-014-3802-5
- Dumanovic J., Nepovimova E., Natic M., Kuca K., Jacevic V. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview. *Front Plant Sci*. 2021;11:552969. doi 10.3389/fpls.2020.552969
- Evers S.M., Knight T.M., Inouye D.W., Miller T.X., Salguero-Gómez R., Iler A.M., Compagnoni A. Lagged and dormant season climate better predict plant vital rates than climate during the growing season. *Glob Chang Biol*. 2021;27(9):1927-1941. doi 10.1111/gcb.15519
- Gabay G., Flaishman M.A. Genetic and molecular regulation of chilling requirements in pear: breeding for climate change resilience. *Front Plant Sci*. 2024;15:1347527. doi 10.3389/fpls.2024.1347527
- Hikmawanti N., Fatmawati S., Asri A.W. The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2021;755:012060. doi 10.1088/1755-1315/755/1/012060
- Hussain S., Liu G., Liu D., Ahmed M., Hussain N., Teng Y. Study on the expression of dehydrin genes and activities of antioxidative enzymes in floral buds of two sand pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) cultivars requiring different chilling hours for bud break. *Turk J Agric For*. 2015;39(6):930-939. doi 10.3906/tar-1407-164
- Lee J.C., Park Y.S., Jeong H.N., Kim J.H., Heo J.Y. Temperature changes affected spring phenology and fruit quality of apples grown in high-latitude region of South Korea. *Horticulturae*. 2023;9(7):794. doi 10.3390/horticulturae9070794
- Li Y., Zhang J., Wang S., Zhang H., Liu Y., Yang M. Integrative transcriptomic and metabolomic analyses reveal the flavonoid biosynthesis of *Pyrus hopeiensis* flowers under cold stress. *Hortic Plant J*. 2023;9(3):395-413. doi 10.1016/j.hpj.2022.11.004
- Lin S., Li Y., Zhao J., Guo W., Jiang M., Li X., Liu W., Zhang J., Yang M. Transcriptome analysis of biochemistry responses to low-temperature stress in the flower organs of five pear varieties. *Forests*. 2023;14(3):490. doi 10.3390/f14030490
- Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  method. *Methods*. 2001;25(4):402-408. doi 10.1006/meth.2001.1262
- Nham N.T., Macnish A.J., Zakharov F., Mitcham E.J. ‘Bartlett’ pear fruit (*Pyrus communis* L.) ripening regulation by low temperatures involves genes associated with jasmonic acid, cold response, and transcription factors. *Plant Sci*. 2017;260:8-18. doi 10.1016/j.plantsci.2017.03.008
- Queiroz C., da Silva A.J.R., Lopes M.L.M., Fialho E., Valente-Mesquita V.L. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) after processing. *Food Chem*. 2011;125(1):128-132. doi 10.1016/j.foodchem.2010.08.048
- Şahin Ö., Dumanoglu H., Sarikamis G., Javadisaber J., Ergül A., Aydemir B.Ç. Tolerance of *Pyrus* spp. and *Cydonia oblonga* as pear rootstocks to iron chlorosis determined by in vitro growth, antioxidant and molecular responses. *Sci Hortic*. 2022;296:110911. doi 10.1016/j.scienta.2022.110911
- Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell Environ*. 2012;35(2):259-270. doi 10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x
- Tremil J., Mejkal K. Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2016;15(4):720-738. doi 10.1111/1541-4337.12204
- Wei Z., Gao T., Liang B., Zhao Q., Ma F., Li C. Effects of exogenous melatonin on methyl viologen-mediated oxidative stress in apple leaf. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1):316. doi 10.3390/ijms19010316
- Xiao L.J., Asseng S., Wang X.T., Xia J.X., Zhang P., Liu L.L., Tang L., Cao W., Zhu Y., Liu B. Simulating the effects of low-temperature stress on wheat biomass growth and yield. *Agric For Meteorol*. 2022;326:109191. doi 10.1016/j.agrformet.2022.109191
- Yang T., Huang X.-S. Deep sequencing-based characterization of transcriptome of *Pyrus ussuriensis* in response to cold stress. *Gene*. 2018;661:109-118. doi 10.1016/j.gene.2018.03.067
- Zhai R., Liu J., Liu F., Zhao Y., Liu L., Fang C., Wang H., Li X., Wang Z., Ma F., Xu L. Melatonin limited ethylene production, softening and reduced physiology disorder in pear (*Pyrus communis* L.) fruit during senescence. *Postharvest Biol Technol*. 2018;139:38-46. doi 10.1016/j.postharvbio.2018.01.017
- Zhang S. Recent advances of polyphenol oxidases in plants. *Molecules*. 2023;28(5):2158. doi 10.3390/molecules28052158
- Zhang Y., Wu L., Liu L., Jia B., Ye Z., Tang X., Heng W., Liu L. Functional analysis of *PbbZIP11* transcription factor in response to cold stress in Arabidopsis and pear. *Plants*. 2023;13(1):24. doi 10.3390/plants13010024
- Zhao Y., Hu M.Y., Wang Q., Yan X.K., Lu M.Y., Wu C.H., Li H.Y., Zhang M.J. Climate variation and its influence on the cold tolerance and phenology periods of pear cultivars in Jilin, China. *Int J Fruit Sci*. 2023;23(1):165-180. doi 10.1080/15538362.2023.2249995

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 04.07.2025. После доработки 25.09.2025. Принята к публикации 11.12.2025.