

Л.М.Дорофеева, С.А.Мамаев

ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВИДОВ РАСТЕНИЙ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ КАК ОСНОВА ИНТРОДУКЦИИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

При разработке проблем интродукции растений, особенно в условиях континентального и резкоконтинентального климата особое место занимает изучение устойчивости к экстремальным температурам растений как важнейшего фактора их адаптации. При благоприятном сочетании многих условий среды - влажности почвы и воздуха, достаточной инсоляции, хорошего минерального питания - недостаточная термоустойчивость, особенно к низким температурам, становится лимитирующим фактором в новых условиях произрастания. Температурный фактор является "универсально" действующим в том смысле, что под его контролем находятся все процессы, протекающие в растительных организмах, а термоустойчивость - одно из биологических свойств, которое обеспечивает приспособленность вида к среде обитания, а также границы его распространения.

Можно привести большое число примеров из практики интродукции, когда из-за неблагоприятного воздействия отдельных суровых зим, повторяющихся на Урале через 10-20 лет, были уничтожены многие сорта крупноплодных яблонь, груши, сливы, вишни и некоторые ценные древесные экзоты. Особо следует отметить зимы 1967-1968 гг., 1968-1969 гг., которые нанесли ущерб плодоводству на Урале, а в дендрарии Ботанического сада УНЦ АН СССР сильно пострадали такие виды, как ясень пенсильванский, аралия манчжурская, клен остролистый, абрикос сибирский, бархат амурский, сосна черная, орех серый и др. (Мамаев,

1982). Для степных и полупустынных районов приводится много данных о повреждающем действии высоких температур. Отмеченные факты еще раз подтверждают важность исследования потенциальной термоустойчивости растений с целью возможности прогнозирования процесса акклиматизации.

Основные сведения об устойчивости растений при интродукции получены путем длительных наблюдений за их состоянием в естественных условиях после суровых зим. Как правило, оценка зимостойкости затягивается на продолжительное время. При этом используется визуальный способ оценки устойчивости на основе применения специальных шкал зимостойкости (Лалин, Сиднева, 1973). Он не всегда достаточно репрезентативен, а, кроме того, отражает результат воздействия целого ряда факторов, из которых нередко трудно вычленить основной.

Более перспективным путем ускорения испытания растений по их устойчивости могут быть опыты по моделированию климатических факторов в лабораторных условиях — они дают объективную картину. Но в данном случае изучение термостойкости на целых древесных многолетних растениях значительно усложнено из-за больших размеров, поэтому в основном исследовании проводятся на обрезанных частях растения — побегах, листьях, плодах, цветках, в зависимости от целей и задач, стоящих перед исследователями. Возможность использования отделенных от растения побегов для определения устойчивости и последующей интерпретации полученных данных для всего растения известна. Следует иметь в виду, что получаемые при этом данные, конечно, относительны и не могут быть полностью идентичны природной зимостойкости. В таких опытах важно получить представление об относительной устойчивости испытываемых растений или вариантов и выявить дифференцировку их по устойчивости.

Для промораживания растительных объектов служат морозильные камеры и криостаты, имеющие очень широкий диапазон температур — от 0° до $100-140^{\circ}$ и ниже. Чаще используются климатические камеры с амплитудой температур от 0 до -70°C , в которых можно задавать различные программы промораживания, необходимые скорости снижения температуры и т.д. Вопрос о методах промораживания растений и их подготовке к испытанию на холодо- и морозостойкость разработан довольно хорошо. Одной из основных задач, стоящих перед исследователями при испытании термостойкости растений, является определение потенциальной устойчивости в разные жизненные периоды, что необходимо для разработки общих представлений о специфике адаптационной способности растений и рекомендаций по отбору более устойчивых форм при селекции на морозо-

стойкость. В связи с этим и способам определения устойчивости предьявляется целый ряд требований: необходимость достаточно четкого разделения устойчивых образцов от неустойчивых; удобство для испытания репрезентативного количества материала без больших затрат времени; получение при оценке устойчивости числовых характеристик.

Для определения степени повреждения растительных тканей после воздействия экстремальных температур используются различные методы. В частности, в лабораторной практике широко распространен метод отрастания (см.: Методы определения...). Срезанные ветви после промораживания и оттаивания отрастают в сосудах с водой при комнатной температуре. Но в отдельных случаях растения неспособны к отрастанию: это особи, находящиеся в глубоком покое, и срезанные части некоторых растений, которые не способны к регенерации без корней. Довольно широко используется в плодоводстве как в полевых исследованиях, так и после искусственного промораживания, метод оценки степени повреждения тканей по изменению их окраски (побурению). Метод довольно прост, но ограничен в своем применении, ибо не пригоден при испытании в широком интервале температур. Кроме того, он требует применения микротомной техники и микроскопов. При этом, как и в первом случае, используется балльная оценка устойчивости (чем вносится элемент субъективизма).

Наряду с названными выше методами для оценки жизнеспособности замороженных тканей используются соли тетразолия (ТТХ). Этот метод основан на снижении метаболической активности растительных клеток при их повреждении (*Karcher, Eggarter*, 1960). В живых клетках бесцветные соли тетразолия под действием ферментов дегидрогеназ способны восстанавливаться в окрашенную форму — формазан. В мертвых клетках формазан не образуется. Учет повреждений делается на срезах, при этом используется шестибалльная система. К сожалению, все из перечисленных методов не могут быть универсальными и страдают рядом недостатков — либо трудоемки и требуют больших затрат времени, либо недостаточно объективны.

Одним из достаточно быстрых и точных критериев оценки повреждения является метод определения электропроводности вытяжек, который был предложен еще Декстером (*Dexter* и др., 1930). Этот метод нашел широкое применение, главным образом, при испытании морозостойкости плодовых культур (*Иванов*, 1931; *Перк*, 1972; *Сергеев* и др., 1961; *Эльгор*, *Лодерия*, 1950; *Lapins*, 1962; *Schubert*, 1965; *Wilner*, 1959), он отличается простотой, хорошей чувствительностью и возможностью получения объективных количественных показателей, по-

этому удобен в серийных испытаниях при интродукционной работе. Метод был опробован и модифицирован в Ботаническом саду УНЦ АН СССР при исследовании жаро- и морозостойкости вегетативных органов некоторых древесных растений (Мамаев, Дорофеева, 1977). Суть его сводится к тому, что под воздействием экстремальных повреждающих температур в клетках растительных тканей происходят деструктивные процессы, следствием которых является дополнительный выход электролитов (ионов) из клеток, что регистрируется по увеличению электропроводности вытяжки по сравнению с контрольными необработанными образцами. Привлекает внимание тот факт, что метод оценки повреждаемости по вымываемости электролитов хорошо показал себя при определении устойчивости как к высокой, так и к низкой температуре.

Ниже описана схема опыта по определению морозостойкости побегов древесных растений. Как показали наши и литературные данные (Александров и др., 1959; Дорофеева, 1978; Туманов, 1979; *Bibl. Maier*, 1969), морозостойкость величина не постоянная, она может существенно меняться в зависимости от сезона. Так, например, амплитуда изменчивости морозостойкости для хвои и побегов у сосны обыкновенной составляет между периодом активного роста и периодом покоя 37-39°.

Учитывая это обстоятельство, для более полной характеристики морозостойкости необходимо изучать ее в годичном цикле, с целью получения данных о критических температурах, которые способны выносить органы растений в разные периоды. Для характеристики собственно морозостойкости достаточно проводить испытания в три срока:

в конце осени - начале зимы для проверки степени закалывания и уровня подготовки к зиме;

в середине зимы, в наиболее холодный период года для определения максимальной устойчивости, какую могут развить растения в условиях естественной закалки;

в конце зимы, когда морозостойкость заметно падает, для оценки стабильности морозостойкости в период оттепелей.

Для опытов по промораживанию необходимо брать однолетние побеги, так как обычно они прежде всего страдают от морозов. Побеги срезают из средней части кроны одновозрастных деревьев с южной стороны, укладывают в полиэтиленовые мешки, в которых в период проведения опытов хранят в условиях, приближенных к естественным. Срок хранения не должен превышать недели.

Учитывая существование большой сезонной изменчивости свойства термостойкости, температура, при которой ведется изучение термостойкости, сильно колеблется в разные периоды года. Подбор температур

для промораживания производится на основе анализа многолетних данных о метеорологических условиях местности, а также экспериментальным путем, т.е. с помощью пробного промораживания, для чего опытный материал подвергается воздействию серии температур различного диапазона с интервалом 2-5°. Это необходимо для учета степени разнотемпературности материала.

В качестве примера приводим следующие варианты, выбранные в эксперименте. Для промораживания в поздней осенний период используется температура: -16, -19, -21°C; в середине зимы -40, -45, -50, -55°C; в поздней зимний период: -20, -25, -30°C (в условиях Свердловска).

Для промораживания отделенные от растения побеги помещают в климатическую камеру, где начальная температура должна быть максимально приближена к температуре, при которой растения находились в естественных условиях в данный период. В камере температура снижается со скоростью 5° в час до заданной. Продолжительность пребывания образцов в камере при заданной температуре - два часа. По истечении срока промораживания опытный материал переносят в помещение с температурой около 0° (0+2°) для оттаивания.

После промораживания необходимо оценить степень повреждения, а следовательно, устойчивость испытанных образцов. Для этого рекомендуется использовать, как отмечено выше, метод десорбции ионов из поврежденных тканей в дистиллированную воду.

Процедура обработки замороженных побегов сводится к следующему. Побеги измельчаются острой бритвой на кусочки длиной около 5мм, затем навеска из них (1г), споласкивается дистиллированной водой, подсушивается фильтровальной бумагой и помещается в химический стакан, куда заливается дистиллированная вода (50мл). Стаканы с навеской побегов, залитых водой, хранятся 24 часа при комнатной температуре до завершения экзосмоса электролитов. Таким же образом обрабатываются побеги, которые не подвергались действию температуры, эти пробы считаются контрольными.

После настаивания у опытных и контрольных вытяжек измеряется сопротивление R с помощью моста переменного тока Р-577 и электролитической ячейки. Величина сопротивления пересчитывается на величину абсолютной удельной электропроводности E

$$E = \frac{\lambda}{R} \quad (I)$$

где λ - постоянная ячейки, зависящая от ее геометрических размеров, величина λ определяется опытным путем при измерении сопро-

тивления контрольного раствора с известной удельной электропроводностью.

Контрольные пробы с измеренным сопротивлением кипятят (две минуты) с целью убить ткани и снова оставляют на 20 часов для десорбции электролитов из мертвых клеток. Измерение сопротивления вытяжек кипяченых проб (предварительно их объем доводился до 50 мл) дает представление об общем содержании ионов (электролитов) в клетках.

Как показали исследования, контрольный выход электролитов из необработанных температурой тканей не остается постоянным, а подвержен в течение сезона значительным изменениям. Это свидетельствует о том, что применяемая некоторыми исследователями величина относительной электропроводности (отношение величины опытной электропроводности к контрольной) не годится для определения устойчивости растительных тканей с учетом временной динамики, а также для сравнения разных видов и разновозрастных тканей. Во всех случаях контрольная величина неоднородная.

В связи с этим нами предложен коэффициент повреждения K , который рассчитывается по формуле

$$K = \frac{K_{\text{опыт.}} - K_{\text{контр.}}}{K_{\text{общ.}} - K_{\text{контр.}}} \quad (1)$$

$$\text{или } K = \frac{C}{a} \quad (2)$$

В клетках растений имеется определенный фонд свободных или слабоудерживаемых ионов, выход которых наблюдают при погружении живых тканей в дистиллированную воду и который обозначается как контрольный выход электролитов ($K_{\text{контр.}}$); существует также общий фонд электролитов ($K_{\text{общ.}}$), объединяющий свободные и связанные макромолекулами протоплазмы ионы. О суммарном содержании электролитов можно получить представление при измерении электропроводности вытяжки, полученной при кипячении. Под действием температурного фактора наблюдаются деструктивные процессы, результатом которых является освобождение определенной доли связанных в живом состоянии ионов. Чем больше степень экстремальности температурного фактора, тем больше должна быть отдача этих ионов. Следовательно, в формуле (2) величина C характеризует добавочную величину электролитов, которые находились в контрольных необработанных температурой тканях в связанном состоянии, но освободились в результате повреждающей температуры. Эта величина зависит от интенсивности действующего фактора и равна разнице между количеством электролитов в опыте и контроле. Разница между общим содержанием электролитов и количеством свободных ионов $K_{\text{контр.}}$ дает

величину содержания ионов, которые находятся в связанном состоянии в живой клетке (а), но могут освобождаться под действием температурного фактора.

Таким образом, коэффициент повреждения показывает, какая доля связанных в нативном состоянии электролитов освобождается непосредственно под действием той или иной температуры. Данный показатель может служить критерием при сравнении повреждаемости, а, следовательно, и устойчивости различных образцов.

Л и т е р а т у р а

Мамаев С.А. Основные итоги и важнейшие проблемы интродукции растений на Урале. - В кн.: Интродукция и акклиматизация декоративных растений. Свердловск, 1982, с.3-23.

2. Лапин П.И., Сиднева С.В. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений. - В кн.: Опыт интродукции древесных растений. М., 1973, с.7-67.

Методы определения морозостойкости растений. - М.: Наука, 1967, 87 с.

Dexter S.T., Tottingam W.E., Grober K.E. Preliminary results in measuring the hardiness of plants. - *Plant Physiology*, 1930, 5, 3, 215-223.

Larcher W., Eggarter H. Anwendung des Triphenyltetrazoliumchlorides zur Beurteilung von Frostschäden in verschiedenen Achsen Geweben bei Pyrus - Arten. - *Protoplasma*, 1960, Bd. 51, 3. 596-619.

Иванов С.М. Определение морозостойкости растений по изменению электропроводности их сока при повреждении морозом. - Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. Л., 1931, т.27, в.5, с.283-306.

Пери А.Я. О диагностике растений на морозостойкость. - В кн.: Почвоведение и ботанические исследования в Якутии. Якутск, 1972, с. 184-191.

Сергеев Л.И., Сергеева К.А., Мельников В.К. Морфофизиологическая периодичность и зимостойкость древесных растений. - Уфа: Башкирский филиал АН СССР, 1961, - 222с.

Эльгорт С.Г., Ладария З.Н. Изменение проницаемости протоплазмы цитрусовых при морозах. - ДАН СССР, 1950, т.50, № 5, с.913-916.

Lapins K. Artificial freezing usa routine test of cold hardiness of young apple seedlings. - Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci., 1962, 81, 26-34.

Schubert E. Untersuchungen zur Prüfung der Frosthärte bei Obstgehölzen unter besonderer Berücksichtigung der Frühselektion. - Archiv Gartenbaum, 1965, 13, 7, 583-597.

Wilner J. Note on electrolytic procedure for differentiating between frost injury of roots and shoots in woody plants. - Canad. J. Plant. Sci., 1959, 39, 4, 512-513.

Мамаев С.А., Дорофеева Л.М. К методике оценки термостойкости вегетативных органов сосны обыкновенной. - Экология, 1977, № 3, с. 90-93.

Александров В.Я., Лютова М.И., Фельдман Н.Л. Сезонные изменения устойчивости растительных клеток к действию различных агентов. - Цитология, 1959, т. I, № 6, с. 672-680.

Дорофеева Л.М. Изменчивость вегетативных органов сосны обыкновенной по термостойкости в годичном цикле. - Тр./Ин-т экологии растений и животных. Уральск. научный центр АН СССР, 1978, вып. II6. Структура популяций и устойчивость растений на Урале, с. 98-109.

Туманов И.И. Физиология закалывания и морозостойкости растений. М.: Наука, 1979, - 350 с.

Bibl R., Maier R. Tageslänge und Temperaturresistenz. - Österr. bot. Z., 1969, 117, № 2, 176-194.