

ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени О. В. КУУСИНЕНА
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КАРЕЛЬСКОГО ФИЛИАЛА АН СССР
БОТАНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ им. В. Л. КОМАРОВА АН СССР

На правах рукописи

Н. И. БАЛАГУРОВА

**ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ
ЗАМОРОЗКОВ НА ЛИСТЬЯ РАЗЛИЧНЫХ
ПО МОРОЗОСТОЙКОСТИ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ**

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
094. БОТАНИКА

Научный руководитель — доктор
биологических наук профессор
В. Я. Александров.

Петрозаводск
1969 г.

8791
ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени О. В. КУУСИНЕНА
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КАРЕЛЬСКОГО ФИЛИАЛА АН СССР
БОТАНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ им. В. Л. КОМАРОВА АН СССР

На правах рукописи

Н. И. БАЛАГУРОВА

ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ДЕЙСТВИЯ ЗАМОРОЗКОВ НА ЛИСТЯ
РАЗЛИЧНЫХ ПО МОРОЗОСТОЙКОСТИ
ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
094. БОТАНИКА

Научный руководитель — доктор
биологических наук профессор
В. Я. Александров.

Петрозаводск
1969 г

69653 К

1973 г.

1992 г.

Работа выполнена в лаборатории физиологии и экологии растений Института биологии Карельского филиала АН СССР и в лаборатории цитофизиологии и цитэкологии растений Ботанического института им. В. Л. Комарова АН СССР.

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук профессор И. Н. Коновалов.
Кандидат биологических наук Г. М. Козубов.

Отзыв дан Институтом растениеводства им Н. И. Вавилова.

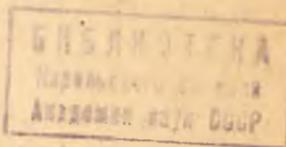
Автореферат разослан « 10 октября » 1969 г.

Защита диссертации состоится « 11 ноября » 1969 г.

на заседании Ученого совета Петрозаводского государственного университета им. О. В. Куусинена (г. Петрозаводск, ул. Ленина, 33).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке.

Ученый секретарь Совета



69653 К

Вопрос о причинах гибели растений от отрицательных температур является одним из важных в физиологии растений. Его значение определяется тем огромным ущербом, который почти ежегодно терпит сельское хозяйство от повреждений растений отрицательными температурами в зимний период, а также во время вегетации. Заморозки, действуя на активно вегетирующие растения, значительно снижают урожай сельскохозяйственных культур, вызывая полное или частичное отмирание надземной массы растений (Wenz, 1931; Заха, 1953; Ржавитин, 1935; Генкель и Марголина, 1952; Сергеев и Зажиян, 1953; Гончарик, 1956; Дроздов и др., 1960, 1964; Дроздов и Сычёва, 1965; Будыкина, 1967 и др.). Неглубокие и кратковременные заморозки могут не вызвать внешне заметных признаков повреждения, однако урожай и качество продукции при этом может сильно снизиться (Иванов, 1935; Петрова и Дроздов, 1963; Будыкина, 1963; Дроздов и др., 1968).

Неудивительно поэтому, что вопрос о предотвращении губительного действия отрицательных температур на растения издавна привлекал внимание исследователей. Огромный экспериментальный и теоретический материал по вопросам гибели и устойчивости живых организмов при отрицательных температурах, приведенный в обзорах Н. А. Максимова (1913, 1929, 1952), И. И. Туманова (1940, 1951), И. М. Васильева (1953, 1957), Д. Левитта (Levitt, 1941, 1956) и др., свидетельствует об отсутствии к настоящему времени единого мнения о причине гибели и устойчивости растений.

В разрешении этих вопросов имеет большое значение всестороннее изучение ответной реакции живого организма на действие повреждающего фактора. Важное место среди этих исследований занимает изучение изменений в функциях и структуре клеток, устойчивость которых часто определяет стойкость всего организма (Александров и Полянский, 1960; Александров, 1963).

Одним из возможных путей изучения проблемы устойчивости является сравнение близкородственных видов, различающихся по морозоустойчивости. Сопоставление их цитофизиологических изменений при действии низких температур и изучение последовательности появления признаков повреждения клеток может способствовать выяснению механизмов альтерирующего действия отрицательных температур и процессов, лежащих в основе устойчивости клеток к охлаждению.

В связи с этим в настоящей работе, посвященной изучению влияния отрицательных температур на активно вегетирующие растения, исследовался ряд цитофизиологических изменений, возникающих в клетках листьев картофеля в ответ на воздействие заморозков. Изучалось действие и последствие заморозков на следующие клеточные показатели: способность протоплазмы к движению и плазмолизу; морфологические и структурные изменения хлоропластов, видимые в световом микроскопе; интенсивность флуоресценции хлоропластов при освещении их возбуждающим светом. Ставилась задача проследить последовательность изменения этих показателей по мере усиления повреждающего действия отрицательных температур для выявления различий в их чувствительности, что в конечном итоге могло бы способствовать обнаружению тех структур и процессов, которые определяют морозостойкость вегетирующих растений. Задачей исследования было также сопоставление изменений, вызванных отрицательными температурами, у двух видов, различающихся по устойчивости к заморозкам.

Объекты и методы исследования

Для исследования были взяты устойчивый к заморозкам дикий вид картофеля *Solanum schreiteri* Buk. и нестойкие сорта Прикульский ранний (*Solanum tuberosum* L.) и Олев (межвидовой гибрид). Более высокую морозостойкость диких видов картофеля по сравнению с представителями *S. tuberosum* отмечал С. М. Букасов (1932, 1954). При испытании на устойчивость к заморозкам *S. schreiteri* выдерживал температуру до -5° , в то время как *S. tuberosum* повреждался при -2° .

Растения картофеля выращивались из семян в условиях вегетационного домика. В опытах использовались растения в возрасте 5 пар настоящих листьев. Исследования проводили на листьях третьего яруса (5-й и 6-й, считая снизу).

Заморозки создавали в специальных холодильных камерах емкостью 8 м³ (4 м²×2 м), охлаждающихся фреоновыми холодильными установками (Дроздов и др., 1966; Курец, 1966; Хилков и Дроздов, 1968). Скорость снижения температуры во время заморозок составляла приблизительно 2° в час. Продолжительность действия минимальной температуры от 30 минут до 5 часов. Максимальная общая продолжительность заморозка достигала 14 часов. Оттаивание длилось в течение часа с постепенным подъемом температуры до +5°.

По мере снижения температуры в ходе заморозка, а также после оттаивания из листьев растений высекали острым бритвенным лезвием кусочки площадью около 1/4 см². На протяжении всего заморозка высечки брали с одного и того же исследуемого листа. Кроме замораживания целых растений в холодильной камере определяли устойчивость клеток листьев картофеля после охлаждения в полупроводниковом микрохолодильнике типа ТЛМ-1-3. Использовалась методика определения устойчивости к низким температурам, разработанная в лаборатории проф. В. Я. Александрова (Александров и др. 1959, 1964). В отличие от нее охлаждение высечек проводилось не в силиконовом масле, а в воздухе. Кусочки листьев из комнатной температуры переносили в воздушную камеру микрохолодильника, охлажденную до заданной температуры. По истечении определенного срока (от 5 до 320 минут) высечки перекладывали в водопроводную воду комнатной температуры. Высечки, взятые из листьев растений в течение заморозка и охлажденные в микрохолодильнике инфильтрировали водопроводной водой в медицинском шприце (Александров, 1954) и микроскопировали при комнатной температуре. В них определяли способность протоплазмы клеток верхнего эпидермиса к движению и плазмолизу, наблюдали за состоянием хлоропластов в клетках столбчатой паренхимы. Движение протоплазмы определяли по перемещению сферосом. Скорость его измерялась временем прохождения сферосомами определенного расстояния на шкале окуляр-микрометра в удлиненных клетках эпидермиса над жилкой. В качестве плазмолитика использовался 1 М раствор сахарозы. О состоянии хлоропластов в клетках столбчатой паренхимы судили по их расположению и внутренней структуре, видимой в световом микроскопе. Кроме того, измерялась интенсивность флуоресценции хлоропластов. Для этого было изготовлено электронное устройство к люминесцентному микроскопу МЛ-2, состоящее из фотоэлектронного умножителя ФЭУ-22, усилителя постоян-

ного тока и регистрирующего прибора Н-320. Источником света служила ртутная лампа ДРШ-250, питаемая через электронный стабилизатор. Для возбуждения флуоресценции хлоропластов использовались сине-фиолетовые лучи в области 400 мкм.

Во время наблюдения кусочки листьев помещали на предметном стекле на столик микроскопа и освещали их возбуждающим светом, падающим через объектив. На регистрирующем приборе получали запись хода флуоресценции.

Помимо исследования клеточных показателей после действия мороза при комнатных условиях, были проведены микроскопические наблюдения непосредственно в холодильной камере на листьях неотделенных от растения во время охлаждения. Для этого перед началом опыта камера, как правило, охлаждалась. Затем в нее вносился микроскоп и вегетационный сосуд с растением, обернутый ватой для предотвращения охлаждения корневой системы. Вегетационный сосуд размещался таким образом, чтобы исследуемый лист находился на предметном стекле под объективом микроскопа, там же помещалась термopара для измерения температуры около листа. Наблюдения в холодильной камере осуществлялись с помощью объектива масляной иммерсии. Вместо иммерсионного масла, которое при низких температурах затвердевает, использовалась смесь силиконовых масел с коэффициентом преломления 1,515 (Александров, 1962; Александров и Шухтина, 1964). Снижение температуры во время заморозка шло выше описанным методом. В ходе заморозка и после его окончания наблюдали за движением протоплазмы в клетках верхнего эпидермиса и за верхним слоем клеток столбчатой паренхимы (сквозь эпидермис). Кроме уже описанных наблюдений за состоянием хлоропластов, в этих опытах было проведено измерение осей зеленых пластид при помощи окуляр-микрометра.

В работе был использован микроскоп МББ-1а, объективы водной (ВИ АПО 70 \times , ап. 1,23) и масляной (МИ АПО 90 \times , ап. 1,30) иммерсии. Увеличение окуляра 7 \times , бинокулярной насадки 2,5 \times .

В проводимых опытах четко разграничивалось два вида воздействия отрицательных температур на растения: 1) переохлаждение — при температуре ниже нуля лед в тканях растений не образуется; 2) льдообразование — в тканях растений при отрицательных температурах образуются кристаллы

льда. Если кристаллы льда начинали появляться при -1° — -2° , то выход воды из протоплазмы осуществлялся постепенно по мере понижения температуры за счет постепенного нарастания льда в межклетниках. Такое льдообразование называли медленным. Если первые кристаллы льда появлялись при более низкой температуре, чем в первом случае, то происходил быстрый рост кристаллов и резкое обезвоживание протоплазмы. Такое льдообразование называли быстрым. Медленное льдообразование обеспечивалось путем нанесения на исследуемый лист при температуре -1° кристалла льда. Быстрое льдообразование происходило самопроизвольно после некоторого переохлаждения растений. При охлаждении высевок в полупроводниковом микрохолодильнике на каждую из них перед погружением в воздушную камеру также наносился кристалл льда.

Макроскопическую оценку повреждений целых растений картофеля проводили через 1—2 дня после заморозка по шкале В. Н. Прокошева (1946).

Результаты исследований

Заморозки с переохлаждением растений до -6° не вызывали повреждения ботвы картофеля как у стойкого, так и у нестойкого видов. Четкая разница между ними проявилась в отношении к заморозкам с медленным льдообразованием в тканях (табл. 1). Растения нестойкого вида начинали повреждаться при заморозках с минимальной температурой -2° и продолжительностью ее действия 30 минут, при этом повреждение составляло в среднем около 10%. Наиболее чувствительными были верхушечные молодые листья. Более продолжительные заморозки с этой же минимальной температурой повреждали листья третьего яруса, на которых проводились наблюдения. Через 1—2 дня после заморозка края листьев подсыхали, а на верхней стороне появлялись светлые пятна. После заморозков с минимальной температурой -2° и продолжительностью ее действия 3 часа, а также заморозков с 30-минутной продолжительностью действия -3° лист нестойкого вида полностью погибал. Растения картофеля сорта Олев были по устойчивости одинаковы с растениями сорта Приекульский ранний.

Растения *S. schreieri* имели легкие повреждения (около 3%) только после 2-часового действия минимальной температуры -2° . При этом повреждался исключительно верхушечный

лист. Лишь после заморозка с минимальной температурой -4° на листовой пластинке 5-го, 6-го листьев начинали появляться светлые пятна, а края подсыхали. Полностью эти листья погибали при заморозках с минимальной температурой -5° .

Таблица 1

**Повреждение целых растений картофеля заморозками
с медленным льдообразованием в тканях**

Минимальная температура заморозка в $^{\circ}\text{C}$	Продолжительность действия минимальной температуры	Повреждение растений в % по Прокошеву	
		<i>S. tuberosum</i>	<i>S. schreiteri</i>
-2	30 мин.	10	0
-2	1 час	35	0
-2	2 часа	45	3
-2	3 часа	56	2
-3	30 мин.	63	0
-3	1 час	64	3
-3	2 часа	67	4
-4	2 часа	—	36
-5	30 мин.	—	54

Следовательно, растения изучаемого дикого вида *S. schreiteri* с одной стороны и двух сортов картофеля Приекульский ранний и Олев с другой резко различаются между собой по своей общей устойчивости к искусственным заморозкам, сопровождающимся образованием льда в их тканях.

I. Признаки повреждения клеток листьев картофеля под влиянием переохлаждения

При изучении действия переохлаждения на клетки листьев картофеля микроскопические наблюдения проводили непосредственно в холодильной камере на листьях неотделенных от растения. Первые заметные в световом микроскопе изменения при этом наступали в хлоропластах и выражались в тенденции их к округлению. В табл. 2 представлены результаты

измерения большой и малой осей хлоропластов в клетках столбчатой паренхимы стойкого и нестойкого видов картофеля. Большая ось хлоропластов не испытывала значительных изменений во время переохлаждения. Но по мере усиления заморозка происходило увеличение малой оси: у нестойкого вида оно было достоверным при -2° , у стойкого при -3° . Такое разбухание хлоропластов было обратимо через несколько часов после помещения растений в условия вегетационного домика.

Таблица 2

Изменение размеров хлоропластов в клетках столбчатой паренхимы листьев картофеля в процессе переохлаждения растений

Виды	Температура воздуха около листа в момент измерения хлоропластов в $^{\circ}\text{C}$	Время, прошедшее после установления в камере 0°C	Малая ось хлоропластов в мк	Достоверность увеличения малой оси по сравнению с контролем (P)	Большая ось хлоропластов в мк	Достоверность увеличения большой оси по сравнению с контролем (P)
<i>S. tuberosum</i>	+18		$1,76 \pm 0,083$		$5,12 \pm 0,128$	
	-0		$1,76 \pm 0,123$	0	$5,12 \pm 0,128$	0
	-2	1 час	$2,40 \pm 0,146$	<0,001	$5,28 \pm 0,133$	>0,10
	-4	2 часа	$2,40 \pm 0$	<0,001	$5,12 \pm 0,123$	0
	-4,8	3 часа	$2,56 \pm 0,110$	<0,001	$5,28 \pm 0,106$	>0,10
<i>S. schreiteri</i>	+18		$1,76 \pm 0,083$		$4,80 \pm 0,117$	
	-1	30 мин.	$1,92 \pm 0,133$	>0,05	$5,12 \pm 0,117$	>0,05
	-2	1 час	$1,92 \pm 0,133$	>0,05	$4,80 \pm 0$	0
	-3	2 часа	$2,24 \pm 0,106$	<0,001	$4,64 \pm 0,173$	>0,10

Другим отклонением от нормального состояния клеток, наблюдаемым в процессе переохлаждения, было торможение движения протоплазмы. Способность протоплазмы к движению сохранялась на протяжении всех заморозков с переохлаждением. Однако скорость его по мере снижения темпера-

туры и увеличения продолжительности ее действия уменьшалась. У нестойкого вида резкое замедление движения протоплазмы в процессе переохлаждения отмечено через 2 часа после начала действия отрицательной температуры, у стойкого через 3—4 часа.

Помимо наблюдения за клетками листьев картофеля в процессе переохлаждения изучалось его последствие. Для этого из листьев растений, находящихся в холодильной камере, в различные сроки развития заморозка брали высечки, которые микроскопировали при комнатной температуре. Как уже отмечалось выше, после заморозка с переохлаждением сохранялось в течение нескольких часов разбухание хлоропластов, наблюдаемое во время заморозка. Естественно, что морфологические изменения хлоропластов должны сопровождаться функциональными нарушениями. Для определения состояния фотосинтетического аппарата может служить способность зеленых растений флуоресцировать при освещении возбуждающим светом. Мы использовали изменение флуоресценции хлорофилла как показатель повреждения листьев после заморозка.

Хлорофилл, находящийся в листьях, при освещении их сине-фиолетовым светом способен испускать красную флуоресценцию, которая определенным образом изменяется во времени. Максимальная интенсивность наблюдается примерно через 1 сек. после включения света, возбуждающего флуоресценцию. Затем в течение нескольких минут происходит уменьшение интенсивности флуоресценции до тех пор, пока она не достигает постоянного уровня. Впервые характер изменения флуоресценции хлорофилла листа во времени был описан Каутским и Хиршем (Kautsky und Hirsch, 1931). Они сразу же отметили зависимость этого процесса от температуры.

По данным Каутского и Шпона (Kautsky und Spohn, 1934) по мере снижения температуры листьев агератума, пеларгонии и парнетирии от 40° до 0° происходит увеличение яркости флуоресценции, так как охлаждение, не влияя на первоначальный подъем, замедляет падение интенсивности флуоресценции. Увеличение выхода флуоресценции при понижении температуры наблюдали также Франк, Френч и Пак (Frank, French und Puck, 1941). По их данным затухание флуоресценции у *Hydrangea* продолжается 3 мин. при 23° и более 10 мин. при 0° .

Данные, полученные на листьях пшеницы подтверждают наблюдение, что снижение температуры во время освещения вызывает уменьшение скорости затухания флуоресценции

и замедляет появление вторичного пика, повышая при этом высоту. (Ghow et al. 1963).

Что касается последствий температурной обработки на интенсивность флуоресценции, то известны лишь работы о результатах прогрева и действия низких положительных температур. Уменьшение интенсивности флуоресценции хлоропластов после кратковременного прогрева, вызывающего обратимое повреждение, было обнаружено В. В. Мельниковой (1964) у синезеленых водорослей, Г. С. Кикидзе (1960) у листьев *Campanula persicifolia*. Г. С. Кикидзе (1965) описано также повышение стационарного уровня флуоресценции хлорофилла листьев после прогрева, происходящее наряду со снижением первоначального пика.

После воздействия низких положительных температур в листьях огурца происходило прежде всего снижение первоначального пика флуоресценции хлорофилла. После увеличения продолжительности охлаждения наблюдалось снижение стационарного уровня. (Кислюк, 1965). В опытах с листьями кукурузы в ряде случаев охлаждение вызывало подъем стационарного уровня, который происходил наряду со снижением первоначального максимума. Более продолжительное охлаждение вызывало снижение стационарного уровня, как это происходило у огурца.

Литературные данные по изучению последствий отрицательных температур на интенсивность флуоресценции хлорофилла нам не известны. Вначале мы провели измерение интенсивности флуоресценции листьев картофеля после переохлаждения растений. Результаты измерений показали, что переохлаждение растений стойкого вида картофеля до -6° не влияет на ход интенсивности флуоресценции их листьев, в то время как у нестойкого вида происходит достоверное повышение минимального уровня на 60% по отношению к контролю уже после 2-часового воздействия -2° . Следовательно, обнаруженное после заморозков увеличение размера малой оси хлоропластов сопровождается у нестойкого сорта повышением стационарного уровня флуоресценции.

Кроме наблюдений за фотосинтетическим аппаратом листьев картофеля после переохлаждения растений были проведены измерения скорости движения протоплазмы. В табл. 3 приводятся данные двух опытов, характеризующие изменение скорости движения протоплазмы в клетках листьев картофеля сразу после прекращения переохлаждения. Результаты остальных опытов аналогичны приведенным. Из табл. 3 видно,

что отдельные растения как нестойкого, так и стойкого вида несколько различались между собой по способности к переохлаждению. Однако для всех характерно снижение скорости движения протоплазмы, увеличивающееся по мере усиления заморозка. Причем у стойкого вида снижение скорости движения происходит более медленно и постепенно, чем у нестойкого сорта. Так, например, резкое замедление движения протоплазмы в клетках *S. schreiteri* наступало через 8 часов 15 минут (2 растение), 8 часов 45 минут (3 растение) при температуре $-5,2^{\circ}$, а в клетках сорта Олев через 4 часа 30 минут при температуре $-3,8^{\circ}$. Несмотря на резкое замедление скорости движения протоплазмы, способность ее к движению после переохлаждения всегда сохранялась, а через несколько часов после помещения высечек во влажную камеру при комнатной температуре возвращалась к норме.

2. Признаки повреждения клеток листьев картофеля под влиянием заморозков с льдообразованием в тканях растений

Микроскопические наблюдения в холодильной камере показали, что при нанесении затравочных кристаллов льда на исследуемый лист при температуре -1° льдообразование начиналось в межклетниках. По мере снижения температуры кристаллы разрастались и вызывали деформацию клеток столбчатой паренхимы. Сильное разрастание кристаллов льда в межклетниках затрудняло наблюдение. Однако, вскоре после наступления льдообразования можно было наблюдать резкое замедление движения протоплазмы: в клетках нестойкого вида оно отмечено при $-1,5^{\circ}$ — $-2,5^{\circ}$, у стойкого после -3° .

Непосредственно в холодильной камере были проведены замеры осей хлоропластов при льдообразовании в межклетниках. Большая ось в течение заморозков не испытывала достоверных изменений (табл. 4). Достоверное увеличение малой оси хлоропластов появлялось в клетках нестойкого вида при установлении на столике микроскопа -1° — -2° (табл. 5). При дальнейшем охлаждении происходило все большее удлинение малой оси хлоропластов, достигающее максимума через 2—3 часа с момента начала действия отрицательной температуры.

Достоверное увеличение малой оси хлоропластов *S. schreiteri* при медленном льдообразовании было отмечено к концу 3-часового воздействия температуры -2° или 30-минутного -3° ,

Таблица 3

Скорость движения протоплазмы в клетках листьев картофеля
после переохлаждения растений во время заморозка
(микроскопирование при комнатной температуре)

Температура воздуха около листа в момент взятия выщечки из него (°C)	Продолжительность действия отрицательной температуры (час)	Скорость движения протоплазмы мк/сек		
		1-ое растение	2-ое растение	3-е растение
сорт Олев				
+18.0		10.4	10.3	9.8
0		10.1	10.8	9.7
-3.2	2	6.5	7.7	5.7
-3.2	2 1/2	6.1	7.9	7.0
-3.5	3 1/2	5.8	6.1	5.1
-3.8	4 1/2	самопроизвольное снятие переохл.	+*)	+
-3.8	5 1/4		+	+
-4.5	6 1/4	самопроизвольное снятие переохл.		+
-5.1	7 1/2			+
-4.8	9			+
-4.8	9 1/2			+
-4.5	10			+
-4.5	10 1/2			+
-4.5	11			+
-6.0	11 1/2			самопроизвольное снятие переохл.
S. schreiteri				
+18		5.8	4.8	4.6
0		5.8	4.8	5.8
-1.8	1 1/2	4.8	4.4	4.9
-3.4	3	4.4	4.9	3.9
-4.3	4 1/2	3.9	3.0	3.3
-4.5	5 1/4	4.1	3.4	3.7
-5.0	6 3/4	4.0	2.6	3.7
-5.2	7 1/2	3.7	2.7	3.5
-5.2	8	самопроизвольное снятие переохл.	2.6	3.1
-5.2	8 1/4		+	2.9
-5.2	8 3/4		+	+
-5.2	9 1/4		самопроизвольное снятие переохл.	самопроизвольное снятие переохл.

*) Имеются отдельные поступательно двигающиеся сферосомы, скорость движения которых практически нельзя измерить.

**Изменение размеров
хлоропластов в клетках столбчатой
в различные сроки развития заморозка с**

Минимальная температура заморозка и продолжительность ее действия (в час)	Сроки проведения				
	Контроль	0°	-1°	-2°	-2° 30 м.
	<i>S. tuberosum</i>				
-2°, 0,5	3,90±0,08	3,90±0,10	4,03±0,08	4,03±0,08	4,03±0,08
-2°, 1	4,03±0,08	4,03±0,12	4,03±0,10	4,03±0,10	4,03±0,13
-2°, 3	4,03±0,25	3,90±0,20	—	4,16±0,18	—
-3°, 0,5	4,16±0,17	4,16±0,22	4,16±0,20	4,16±0,13	—
	<i>S. schreiteri</i>				
-2°, 0,5	4,16±0,22	4,03±0,08	4,03±0,10	4,16±0,13	4,16±0,17
-2°, 1	4,03±0,10	4,03±0,10	4,16±0,19	4,16±0,17	4,16±0,12
-2°, 3	3,90±0,13	—	3,77±0,09	3,90±0,13	—
-3°, 0,5	3,90±0,13	—	3,90±0,10	—	—
-3°, 2	3,85±0,08	—	—	—	—
-4°	3,88±0,12	—	—	3,88±0,10	—

большой оси
паренхимы листьев картофеля
льдообразованием в тканях растений (в микронах)

измерений во время заморозка

-2° 1 час	-2° 2 час	-2° 3 час	-3°	-3° 30 мин.	-3° 1 час	-3° 2 час	-4°
—	—	—	—	—	—	—	—
$4,03 \pm 0,16$	—	—	—	—	—	—	—
$4,16 \pm 0,19$	$4,16 \pm 0,20$	$4,16 \pm 0,18$	—	—	—	—	—
—	—	—	$4,16 \pm 0,30$	$4,16 \pm 0,19$	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
$4,16 \pm 0,10$	—	—	—	—	—	—	—
$3,90 \pm 0,13$	$3,77 \pm 0,09$	$4,03 \pm 0,09$	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	$3,90 \pm 0,10$	$3,90 \pm 0,13$	—
—	—	—	$3,90 \pm 0,14$	—	—	—	$3,90 \pm 0,16$

**Изменение размеров
хлоропластов в клетках столбчатой
в различные сроки развития заморозков с**

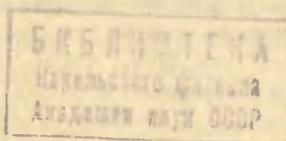
Минимальная температура заморозка и продолжительность ее действия	Контроль	Сроки измерения			
		0°	-1°	-2°	-2° 30 мин.

<i>S. tuberosum</i>					
-2°, 0,5	1.82±0.05	1.95±0.08	2.08±0.10	2.34±0.08	2.47±0.10
-2°, 1 ч.	1.82±0.08	1.95±0.18	2.08±0.18	2.47±0.12	2.60±0.27
-2°, 3 ч.	1.95±0.20	1.82±0.19	—	2.34±0.20	—
-3°, 0,5	1.69±0.09	1.82±0.13	1.82±0.12	2.21±0.09	—
<i>S. schreiteri</i>					
-2°, 0,5	1.56±0.10	1.56±0.13	1.56±0.13	1.56±0.10	1.56±0.10
-2°, 1 ч.	1.56±0.09	1.56±0.09	1.43±0.09	1.43±0.07	1.47±0.10
-2°, 3 ч.	1.43±0.09	—	1.43±0.09	1.56±0.18	—
-3°, 0,5	1.43±0.22	—	—	1.30±0.12	—
-3°, 2 ч.	1.56±0.12	—	—	—	—
-4°	1.56±0.10	—	—	1.56±0.08	—

малой оси
паренхимы листьев картофеля
льдообразованием в тканях растений (в микронах)

во время заморозка

-2° 1 час.	-2° 2 час.	-2° 3 час.	-3°	-3° 30 мин.	-3° 1 час.	-3° 2 час.	-4°
—	—	—	—	—	—	—	—
2.73±0.17	—	—	—	—	—	—	—
2.34±0.26	2.47±0.09	2.60±0.20	—	—	—	—	—
—	—	—	2.60±0.10	2.77±0.10	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
1.56±0.12	—	—	—	—	—	—	—
1.56±0.18	1.69±0.19	2.21±0.18	—	—	—	—	—
—	—	—	1.56±0.17	1.95±0.17	—	—	—
—	—	—	—	—	1.99±0.19	2.10±0.08	—
—	—	—	2.18±0.16	—	—	—	2.50±0.18



при этих воздействиях в клетках нестойкого вида наблюдалась коагуляция протоплазмы. При температуре -4° разбухание хлоропластов в клетках стойкого вида достигало максимума. Дальнейшее усиление заморозков вызывало сильный рост кристаллов льда в межклетниках, затрудняющих наблюдение в процессе замерзания.

Резко менялась микроскопическая картина после оттаивания. После слабых заморозков единственным отклонением от нормального состояния хлоропластов как у стойкого, так и у нестойкого видов было увеличение размера их малой оси. После более длительного воздействия льда разбухшие хлоропласты отходили от стенок клеток, распределялись по всей клетке, образуя скучивания в тех или иных ее местах. Возникали изменения в структуре хлоропластов: они теряли свою тонкозернистую структуру, видимую в световом микроскопе, их содержимое расслаивалось на несколько телец (3—5) сильно преломляющих свет. В клетках нестойкого сорта эти изменения возникали после 1—2-часового воздействия температуры -2° , у стойкого после 1,5—2-часового действия -3° . Все эти изменения были обратимы после возвращения растений в условия вегетационного домика. В зависимости от степени нарушения, которая в свою очередь определялась минимальной температурой и продолжительностью ее действия, репарация повреждений в проводимых заморозках длилась у нестойкого сорта в течение 24—40 часов, у *S. schreiteri* — 1—24 часов. После воздействия температур -2° в течение 3 часов у нестойкого сорта и -5° у стойкого в клетках столбчатой паренхимы исследуемых листьев наблюдалось сильное скучивание и слипание хлоропластов, потеря ими четких границ, что сопровождалось гибелью клеток. Участки таких клеток и представляли собой осветленные пятна на верхней стороне листа.

Обнаруженные после оттаивания морфологические изменения хлоропластов сопровождалось изменением их флуоресценции. У нестойкого сорта эти изменения наступали при -2° и заключались в менее крутом спаде максимума и в более высоком стационарном уровне по сравнению с контролем. Усиление повреждения вызывало понижение как максимального, так и минимального уровня свечения. В клетках *S. tuberosum* максимальный уровень снижался после часового воздействия температуры -2° на 26%, после действия заморозка -3° — на 50%. Полное гашение свечения было обнаружено в листьях *S. tuberosum* после 2-часового действия температуры -4° , т. е. значительно позже наступления коагуляции.

Несколько иной характер изменения флуоресценции после действия заморозков с медленным льдообразованием обнаружен в листьях *S. schreieri*. В них не наблюдалось достоверного повышения стационарного уровня. Максимум начинал снижаться после действия -3° в течение 1 часа в среднем на 29%. Одновременно со снижением первоначальной вспышки после усиления заморозка происходило уменьшение стационарного уровня. Полное гашение свечения хлоропластов наблюдается через некоторое время после наступления коагуляции (при -6°).

Обнаруженное во время наблюдения в камере торможение движения протоплазмы при медленном льдообразовании сохраняется и после оттаивания. Оно отмечено у нестойкого вида через 1—4 часа действия температуры ниже 0° , у *S. schreieri* — через 3,5—6 часов.

Нарушение способности протоплазмы клеток листьев картофеля к плазмолизу наступало всегда после медленного льдообразования одновременно с коагуляцией.

Если после медленного льдообразования наблюдалась некоторая постепенность и очередность в появлении нарушений в клетках у обоих видов картофеля, то быстрое льдообразование в тканях листьев, наступающее после переохлаждения, приводило к очень быстрой коагуляции протоплазмы. Температура гибели клеток листьев картофеля при быстром льдообразовании составляла для нестойких сортов -3° — -4° , для стойкого вида не выше -5° .

3. Признаки повреждения клеток листьев картофеля после внезапного охлаждения в микрохолодильнике

Быстрое замораживание, которое происходит при перенесении листьев из комнатной температуры сразу же в отрицательную действует, по видимому, иначе, чем заморозок. Условия такого быстрого замораживания создавались в камере полупроводникового микрохолодильника, примененного впервые для цитофизиологических исследований В. Я. Александровым с сотрудниками (Александров и др. 1959, 1964).

Опыты проводились следующим образом. В воздушную камеру микрохолодильника, охлажденную до заданной температуры, помещали кусочки листьев картофеля из комнатной температуры. По прошествии определенного времени (5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 минут) их вынимали, помещали в водопровод-

ную воду, в которой затем инфильтрировали и просматривали под микроскопом при комнатной температуре.

В опытах без снятия переохлаждения не обнаружили четких результатов вследствие различной способности клеток к переохлаждению. Переохлаждение устраняли путем нанесения на каждую высечку перед помещением в микрохолодильник кристалла льда в капле воды.

При внезапном замерзании высечек момент остановки движения протоплазмы и нарушения ее способности к плазмолизу совпадал с наступлением коагуляции (Табл. 6). Как видно из табл. 6, коагуляция протоплазмы в клетках листьев картофеля в области температур от $-6,3$ до $-12,4$ наступает через 5—10 минут после начала охлаждения. При этом температура гибели клеток стойкого и нестойкого вида одинакова. В области более высоких температур гибель клеток наступает

Таблица 6

Чувствительность цитофизиологических показателей к внезапному замораживанию высечек из листьев картофеля в полупроводниковом микрохолодильнике

Продолжительность замораживания высечек в мин.	Температура в °С			
	наступление морфологических изменений хлоропластов	нарушение способности протоплазмы к движению	нарушение способности протоплазмы к плазмолизу	Коагуляция протоплазмы
<i>S. tuberosum</i>				
5	-7,5	-12,3	-12,3	-12,3
10	-4,7	-6,3	-6,3	-6,3
20	-2,9	-3,8	-3,8	-3,8
40	-1,5	-2,3	-2,3	-2,3
80	-1,4	-1,7	-1,8	-1,8
160	-0,6	-1,5	-1,8	-1,8
320	-0,6	-1,2	-1,2	-1,2
<i>S. schreiteri</i>				
5	-8,7	-12,4	-12,4	-12,4
10	-5,4	-6,4	-6,4	-6,4
20	-3,9	-4,6	-4,6	-4,6
40	-2,5	-3,1	-3,1	-3,1
80	-2,1	-2,6	-2,6	-2,6
160	-1,1	-2,1	-2,3	-2,3
320	-1,1	-2,1	-2,2	-2,2

при более продолжительных экспозициях, а протоплазма клеток *S. schreiteri* коагулирует при меньших воздействиях отрицательных температур, чем клеток *S. tuberosum*.

Изменения расположения и структуры хлоропластов имели место значительно раньше, чем необратимое повреждение протоплазмы (табл. 6). При различных экспозициях морфологические изменения хлоропластов в клетках *S. schreiteri* наступают после воздействия более низких отрицательных температур, чем в клетках *S. tuberosum*.

Измерения интенсивности флуоресценции после замораживания высечек показали, что этот признак может свидетельствовать о ранних нарушениях в фотосинтетическом аппарате. Первые изменения в ходе кривой флуоресценции — повышение стационарного уровня — после 5-минутного замораживания высечек из листьев отмечено у *S. tuberosum* при -5° , у *S. schreiteri* при -8° , когда еще не обнаружено изменений в расположении и структуре хлоропластов. Последующие изменения флуоресценции — уменьшение первоначальной вспышки — начинается у хлоропластов нестойкого вида после охлаждения при -9° (снижение на 18% по сравнению с контролем), у стойкого при -12° (снижение по отношению к контролю на 29%), т. е. одновременно с изменением расположения и структуры хлоропластов. Коагуляция протоплазмы в клетках столбчатой паренхимы не сопровождалась полным гашением флуоресценции.

После 40-минутного действия температуры -1° не происходило существенных изменений интенсивности флуоресценции ни у стойкого, ни у нестойкого видов. В интервале температур ниже -1° и до -2° наблюдается подъем минимального уровня при неизменном максимальном. У сорта Приекульский ранний он более интенсивен, чем у *S. schreiteri*. 40-минутное охлаждение при -3° ведет к уменьшению выхода флуоресценции, которое происходит как за счет понижения первоначальной вспышки, так и за счет понижения стационарного уровня. У нестойкого вида уменьшение флуоресценции идет сильнее, чем в листьях *S. schreiteri* при тех же самых температурах.

Обсуждение результатов

При воздействии отрицательных температур Левитт (Levitt, 1956) отмечает 2 формы резистентности растений к отрицательным температурам: способность переохлаждаться (*avoidance*) и способность выдерживать лед внутри своих тканей

(tolerance). Способность растений к переохлаждению может служить причиной устойчивости при краткосрочных заморозках. В наших опытах целые растения исследуемых видов картофеля не обнаружили различий в этом виде устойчивости. Как растения *S. schreiteri* так и сортов Олев и Приекульский ранний выдерживали заморозки с переохлаждением до -5° — -6° , не обнаруживая после этого видимых простым глазом признаков повреждения. Но переохлаждение не проходило для растений совершенно бесследно. Микроскопические наблюдения в процессе переохлаждения и после его окончания выявили определенные цитофизиологические изменения (округление хлоропластов, снижение способности протоплазмы к движению, повышение стационарного уровня флуоресценции листьев нестойкого вида). Клетки стойкого и нестойкого видов отличались по появлению цитофизиологических изменений после переохлаждения. Первые видимые в световом микроскопе признаки повреждения появлялись у *S. schreiteri* после более сильного воздействия отрицательных температур, чем это имело место у нестойких сортов. Разная реакция клеток листьев картофеля на переохлаждение позволяет говорить о том, что в основе межвидовой разницы в резистентности к переохлаждению лежат различия в устойчивости самих клеток, их протопластов.

Наши наблюдения показали, что кристаллы льда, возникшие в межклетниках, вызывают в клетках более глубокие изменения, чем переохлаждение. Особенно эти изменения проявляются после оттаивания. Помимо разбухания хлоропластов, наблюдается изменение их структуры и расположения в клетках столбчатой паренхимы. В зависимости от интенсивности заморозка наблюдается после оттаивания подъем стационарного уровня флуоресценции, затем снижение первоначальной вспышки, а после коагуляции протоплазмы сильное уменьшение выхода флуоресценции. Отмечено также в начале заморозка постепенное, а по мере его усиления резкое замедление движения протоплазмы. Эти изменения, вызываемые межклетным льдом обратимы. Однако скучивание и слипание хлоропластов свидетельствует о необратимом повреждении клеток паренхимы.

Растения исследуемых видов картофеля четко различаются между собой по способности выживать после образования льда в их тканях во время заморозка. При этом различия в устойчивости целых растений коррелируют с различиями в сроках наступления цитофизиологических изменений. Несмот-

ря на то, что характер этих изменений одинаков как у *S. schreieri*, так и у сортов Олев и Приекульский ранний, у нестойких сортов они появлялись при менее сильных заморозках, чем у дикого вида. Вероятно, в основе повреждения клеток стойкого и нестойкого к заморозкам вида картофеля при медленном льдообразовании в тканях листьев лежат одинаковые механизмы. Разница в устойчивости к льдообразованию может отчасти зависеть от разной скорости льдообразования, обусловленной тканевыми различиями.

При повреждении клеток листьев картофеля заморозками немаловажное значение имела температура, при которой начиналось образование кристаллов льда в тканях листьев. Если кристаллы льда возникали при -2° , т. е. льдообразование было медленным, то наблюдалась постепенность и очередность появления нарушений в клетках у обоих видов картофеля. Клетки нестойкого вида необратимо повреждались после 3-часового действия температуры -2° , стойкого — около -5° . Быстрое льдообразование приводило к резким нарушениям в клетках, несмотря на то, что кристаллы льда первоначально возникали в межклетниках. Температура гибели клеток листьев картофеля при быстром льдообразовании составляла для нестойких сортов -3° — -4° , для стойкого вида — не выше -5° .

На значение температуры образования льда указывают Г. Салчева и Г. А. Самыгин (1963). Авторы предполагают, что при возникновении кристаллов льда в листьях озимой пшеницы при -10° — -12° вода из клеток выходит очень быстро, что приводит к механическим повреждениям субмикроскопической структуры протоплазмы, в то время как образование льда при -7° — -9° обычно не повреждало клетки.

Мы также можем предположить, что в наших опытах внезапное быстрое льдообразование вызывало быстрый выход воды из клеток, что приводило к разрушению протоплазмы. При медленном льдообразовании вода выходила из клеток постепенно по мере снижения температуры и вызывала ряд последовательно наступающих изменений. Такое постепенное обезвоживание в конце концов тоже приводило к гибели клеток. В этом случае причиной необратимого повреждения могла быть критическая степень обезвоживания протоплазмы. Кроме того, не исключена возможность проникновения межклеточного льда через целлюлозную оболочку и плазмалемму внутрь клеток, и тогда причиной их гибели будет внутриклеточное льдообразование.

Факт большей устойчивости клеток *S. schreiteri* по сравнению с клетками *S. tuberosum* подтвердился в опытах на высечках, замораживаемых в микрохолодильнике. В области температур ниже 0° и до -4° коагуляция протоплазмы в клетках листьев *S. schreiteri* наступала при температурах на $0,8-1,2^{\circ}$ ниже, чем в клетках *S. tuberosum*. С другой стороны, при температурах от -6 до -13° клетки изучаемых видов имели одинаковую устойчивость к отрицательным температурам. Можно предположить, что в этих двух случаях в основе повреждения лежат различные механизмы. Вероятнее всего, что во втором из них происходит внутриклеточное льдообразование, и *S. tuberosum*, и *S. schreiteri* имеют одинаковую к нему устойчивость. Более медленная скорость снижения температуры в первом случае по сравнению со вторым может способствовать межклеточному льдообразованию, при котором клетки *S. schreiteri* устойчивее, чем клетки *S. tuberosum*.

Сопоставление появления клеточных нарушений по мере усиления заморозков и увеличения количества льда в межклетниках показало, что одним из наиболее чувствительных компонентов клеток листьев картофеля являются хлоропласты. О большой чувствительности фотосинтетического аппарата листьев картофеля свидетельствуют также опыты с внезапным замораживанием высечек в микрохолодильнике. Изменение расположения и структуры хлоропластов после различных сроков охлаждения всегда наступали раньше, чем нарушение способности протоплазмы к движению и плазмолизу.

Наблюдения над состоянием пластид в клетках при замораживании и оттаивании активно вегетирующих растений очень немногочисленны. Они свидетельствуют о том, что при действии отрицательных температур хлоропласты могут сохранять свою целостность, меняя положение в клетке. Полная деструкция их необратима (Салчева, Самыгин, 1963; Барская и др., 1964). То, что низкие положительные и отрицательные температуры вызывают разрушение хлоропластов отмечают многие исследователи (Генкель и др., 1959; Проценко и Мишустина, 1960, 1962; Барская, 1961; Барская и др., 1964). Увеличение размеров хлоропластов в листьях озимой пшеницы зимой наблюдал Хебер (Heber, 1959). Обнаружив параллельно с повышением устойчивости и разбуханием хлоропластов накопление в них сахаров, Хебер предположил, что причиной обнаруженного увеличения размеров хлоропластов является осмотическое действие сахаров. Разбухание и структурные изменения хлоропластов были обнаружены И. М. Кислюк (1964)

при действии на листья теплолюбивых растений низких положительных температур. Разбухание хлоропластов происходит также под действием растворов алкалоидов, но только в том случае, если листья были освещены (Lärz, 1942; Bauer, 1943). Авторы высказывают предположение об осмотическом механизме разбухания в результате затруднения выхода сахаров под действием алкалоидов.

По-видимому, разбухание хлоропластов — это неспецифическая реакция на воздействие разнообразных повреждающих агентов. В разных случаях в основе набухания могут лежать различные первичные процессы. Обнаруженное при действии заморозков удлинение малой оси хлоропластов является, вероятно, первой ступенью повреждения пластид, которое обратимо после возвращения растений в оптимальные для их роста условия.

Морфологические изменения хлоропластов, вызываемые отрицательными температурами, сопровождаются изменением интенсивности флуоресценции: повышение стационарного уровня после слабых заморозков, снижение первоначальной вспышки после усиления повреждающего действия и затем общее уменьшение выхода флуоресценции. Отсутствие достоверного повышения минимального уровня после заморозков в листьях *S. schreiteri*, возможно, говорит о лучшей приспособительности его фотосинтетического аппарата к отрицательным температурам в сравнении с *S. tuberosum*.

Очевидно, интенсивность флуоресценции хлоропластов представляется весьма важным признаком, свидетельствующим о ранних стадиях повреждения хлорофиллоносных клеток отрицательными температурами.

Таким образом, хлоропласты в клетках листьев картофеля очень чувствительны к действию отрицательных температур, но предположение о том, что они служат причиной гибели листьев является слишком односторонним.

В результате проведенных опытов обнаружилось, что заморозки вызывают уменьшение способности протоплазмы к движению в клетках листьев картофеля. Результаты наших наблюдений согласуются с данными, полученными при наблюдении за этой функцией в процессе замерзания других растений (Molisch, 1897; Александров и Шухтина, 1964; Das und a., 1966). Одной из возможных причин торможения движения протоплазмы может служить увеличение ее вязкости. В пользу этого предположения можно привести данные об увеличении

вязкости протоплазмы в листьях озимой пшеницы под влиянием отрицательных температур (Голуш и Шарина, 1940). Помимо этого замедление движения протоплазмы может быть вызвано нарушением энергетического обмена в растениях. Известно, что отрицательные температуры приводят к снижению интенсивности фотосинтеза и фотофосфорилирования, играющих важнейшую роль в энергетическом обмене растений (Хебер, 1964; Santarius und Heber, 1965; Heber, 1967; Нюппиева, 1968).

В ы в о д ы

1. Изучалось действие и последствие искусственных заморозков на листья различающихся по морозостойкости видов картофеля: устойчивого дикого вида *S. schreiteri* выдерживающего температуру до -5° и нестойких сортов Приекульский ранний и Олев, повреждающихся при -2° . Действие отрицательных температур как без льдообразования в тканях растений, так и с льдообразованием приводит к значительным изменениям цитофизиологических функций и структур клеток листьев.

2. Микроскопические наблюдения в процессе переохлаждения и после его окончания выявили следующие цитофизиологические изменения в листьях картофеля: округление хлоропластов, повышение стационарного уровня флуоресценции у нестойкого вида, снижение способности протоплазмы к движению, которые были обратимы через несколько часов после возвращения растений в условия выращивания. Растения картофеля не имели после переохлаждения видимых простым глазом признаков повреждения.

3. Одинаковые по характеру цитофизиологические изменения возникали в клетках *S. schreiteri* после более сильного переохлаждения, чем в клетках листьев нестойкого сорта. Разная реакция клеток различных по морозостойкости видов позволяет говорить о том, что в основе межвидовой разницы в устойчивости к переохлаждению лежат различия в устойчивости протопластов клеток.

4. Образование льда в тканях листа, наступающее после его значительного переохлаждения, приводит к необратимому повреждению клеток. Критическая температура переохлаждения, после которой обнаруживалась быстрая коагуляция про-

топлазмы после оттаивания, для сортов Олев и Приекульский ранний была около -3° — -4° , для *S. schreiteri* ниже -5° .

5. В процессе медленного льдообразования было обнаружено увеличение малой оси хлоропластов и замедление движения протоплазмы вплоть до прекращения. По мере разрастания кристаллов льда в межклетниках происходило сжатие клеток столбчатой паренхимы, в результате чего можно было наблюдать сближение хлоропластов друг к другу и к центру клеток.

6. После оттаивания листьев картофеля, испытавших во время заморозка медленное льдообразование, отмечен ряд последовательно наступающих по мере усиления заморозков изменений: увеличение малой оси хлоропластов, сопровождающееся повышением стационарного уровня флуоресценции; изменение расположения хлоропластов в клетках столбчатой паренхимы и расслоение их содержимого с параллельным уменьшением первоначальной вспышки флуоресценции; снижение способности протоплазмы к движению. Все эти изменения обратимы после помещения растений в вегетационный домик.

7. Скучивание и слипание хлоропластов сопровождалось резким снижением флуоресценции и свидетельствовало о гибели клеток. Однако, полное гашение флуоресценции наступало при дальнейшем охлаждении через несколько часов после коагуляции протоплазмы.

8. Нарушение способности протоплазмы клеток листьев картофеля к плазмолизу наступало после действия заморозков лишь вместе с наступлением коагуляции.

9. Сопоставление чувствительности к заморозкам изученных цитофизиологических показателей выявило, что одним из наиболее чувствительных компонентов клеток листьев картофеля являются хлоропласты. Однако, представление о том, что хлоропласты служат причиной гибели клеток слишком односторонне.

10. Растения картофеля сортов Олев и Приекульский ранний с одной стороны и *S. schreiteri* с другой различаются между собой по способности выживать после образования льда в их тканях. При этом различия в устойчивости целых растений коррелируют с различиями в сроках наступления цитофизиологических изменений.

11. Характер изменений, вызываемых в клетках листьев картофеля заморозками с медленным льдообразованием, одинаков как у стойкого, так и у нестойкого вида, но у нестойких сортов они появлялись при менее сильных заморозках, чем у дикого вида. Вероятно, в основе повреждения клеток листьев стойкого и нестойкого к заморозкам видов картофеля при медленном льдообразовании лежат одинаковые механизмы. Разница в устойчивости к льдообразованию отчасти может зависеть от разной скорости льдообразования, обусловленной тканевыми различиями.

12. Результаты опытов с внезапным замораживанием высечек из листьев в микрохолодильнике позволили предположить, что листья картофеля сорта Приекульский ранний и *S. schreiteri* имеют одинаковую устойчивость к внутриклеточному льдообразованию. Но листья *S. schreiteri* более устойчивы к межклеточному льду по сравнению с листьями сорта Приекульский ранний.

13. Нарушение способности протоплазмы клеток листьев картофеля к движению и плазмолизу при внезапном переносе листьев из комнатной температуры в отрицательную происходило вместе с наступлением коагуляции, в то время как морфологические изменения хлоропластов и изменения интенсивности флуоресценции наблюдались значительно раньше.

14. Из всех тканей листа картофеля наименее устойчивы к действию отрицательных температур клетки столбчатой паренхимы.

С п и с о к работ опубликованных по материалам диссертации

1. Балагурова Н. И. 1966. Действие заморозков на некоторые цитофизиологические функции и компоненты клеток листа картофеля. Научная конференция Института биологии по итогам работы за 1965 год. Тезисы докладов. Петрозаводск.
2. Балагурова Н. И. 1967. О методе определения устойчивости растительных клеток в термоэлектрическом микрохолодильнике. Научная конференция Института биологии посвященная 50-летию Советской власти. Тезисы докладов, Петрозаводск.
3. Балагурова Н. И. 1968. Изменение хлоропластов в листьях картофеля при действии на растения заморозков. Цитология, т. 10, № 1.
4. Балагурова Н. И., Грушевский Б. Н. 1968. Влияние отрицательных температур на интенсивность флуоресценции хлорофилла в листьях картофеля. Конференция молодых биологов Карелии. Тезисы докладов. Петрозаводск.
5. Балагурова Н. И. 1968. Исследование повреждающего действия отрицательных температур на клетки листьев картофеля. Тезисы докладов конференции по физиологии устойчивости растений. Наукова думка. Киев.
6. Балагурова Н. И. 1969. Цитофизиологические исследования действия заморозков на листья различных по холодостойкости видов картофеля. Ботанический журнал № 5.
7. С. Н. Дроздов, З. Ф. Сычева, Н. П. Будыкина, Н. И. Балагурова, Н. П. Холопцева, Л. А. Кучко, К методике изучения заморозкоустойчивости полевых культур. В сб. «Устойчивость растений к низким температурам и заморозкам и пути ее повышения». Сибирский институт физиологии и биохимии. Наука, в печати.