

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ И ДЫХАТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ХВОЕ КЕДРА СИБИРСКОГО, КЕДРОВОГО СТЛАНИКА И ГИБРИДОВ МЕЖДУ НИМИ

Работа выполнена при финансовой поддержке программы ФНИ VI.52.2.6. «Структура разнообразия в экосистемах бореальных лесов: взаимодействие и сопряженные трансформации компонентов», интеграционного проекта СО РАН № 140 и гранта РФФИ № 13-04-01649.

Проведено сравнительное исследование фотосинтетических и дыхательных процессов у кедра сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour), кедрового стланика (*Pinus pumila* (Pall.) Regel) и их естественных гибридов. Показано, что хвоя кедрового стланика текущего года содержала меньше хлорофиллов и каротиноидов по сравнению с кедром сибирским. Подобная закономерность наблюдалась при исследовании функциональной активности изолированных хлоропластов на уровне фотосистемы II, т.е. скорость реакции Хилла у кедрового стланика была ниже, чем у кедра сибирского. По фотосинтетическим параметрам гибриды разделились на две группы, одна из которых проявила большее сходство с кедром сибирским, другая – с кедровым стлаником. Скорость темновой эмиссии CO₂ и активность НАД-зависимой малатдегидрогеназы, т.е. процессов, связанных с дыханием, наоборот, были выше у кедрового стланика по сравнению с кедром сибирским. По дыхательным параметрам исследованные гибриды имели показатели, близкие к кедровому стланику. Полученные результаты обсуждаются с точки зрения физиолого-биохимических особенностей хлоропластов и митохондрий у исследованных видов и их гибридов.

Ключевые слова: *Pinus sibirica* Du Tour; *Pinus pumila* (Pall.) Regel; гибриды; фотосинтетические пигменты; функциональная активность хлоропластов; темновое дыхание; активность малатдегидрогеназы.

Введение

Явление естественной гибридизации широко распространено в растительном мире и играет важную роль в эволюции видов [1]. Большинство генных взаимодействий при гибридизации оказываются неблагоприятными или нейтральными, однако небольшая доля чужеродных генов благоприятно взаимодействует друг с другом, что может обеспечить дальнейшую эволюцию гибридного таксона [2]. Гибриды, как правило, обладают большей генетической изменчивостью и в связи с этим имеют больший эволюционный потенциал, чем родительские виды, благодаря объединению двух сильно различающихся генотипов [3]. Успешное приспособление гибридных особей к конкретным условиям существования проявляется как на морфологическом [4], так и на физиологическом [5–7] уровнях.

Среди трех видов пятихвойных сосен (секция *Quinquefoliae*, подрод *Strobus*), обитающих на территории России, гибридизация отмечена между кедром сибирским (*Pinus sibirica* Du Tour) и кедровым стлаником (*Pinus pumila* (Pall.) Regel) [8]. Ареал кедра сибирского простирается от Северного Урала на западе до водоразделов Лены и Амура на востоке. Северная граница ареала проходит по р. Игарка в низовьях р. Енисей, на юге граница доходит до верховий р. Орхон в Монголии. Кедровый стланик распространен по всей Восточной Сибири и Дальнему Востоку. Ареалы обоих видов перекрываются в Прибайкалье и Забайкалье. Именно здесь впервые были отмечены естественные гибриды между кедром и стлаником [8]. Кедр и стланик являются экологически различными видами. Кедр сибирский не выносит холодных почв, его северная и восточная границы совпадают с юго-западной границей распространения вечно мерзлотных грунтов. На территории Восточной Сибири кедровые леса являются типичным элементом растительности горно-долинного ландшафта среднего и нижних поясов горных систем, климат которых можно оха-

рактеризовать как умеренно холодный и достаточно влажный [9]. Кедровый стланик существует в области особо резко континентального климата северо-востока Азии, совпадающей с зоной вечной мерзлоты. На горных поднятиях в пределах ареала *P. pumila* образует густые заросли в подгольцовом поясе [10]. Кедр сибирский и кедровый стланик также имеют различную жизненную форму. *P. sibirica* – прямостоячее дерево, *P. pumila* существует в виде стелющегося древесного растения, поэтому стратегия выживания этих видов отличается и реализуется в первую очередь через особенности протекания физиологических процессов. Гибриды отличаются от родительских видов промежуточной формой роста, они не стелятся как кедровый стланик, а их ствол обычно искривлен в комлевой части и отклоняется от вертикали. Шишки гибридов по цвету похожи на шишки кедра сибирского, такие же фиолетовые, по размеру они мельче, чем у кедра сибирского, но крупнее, чем у кедрового стланика [8].

Исследования физиологических особенностей кедра сибирского, кедрового стланика и их гибридов немногочисленны. Например, ранее были показаны значительные отличия состояния пигментного фонда и водного режима хвои кедра сибирского, кедрового стланика и их гибридов в зимний период [11]. Известно, что процессы роста, а в конечном счете и продуктивности, заложенные в генотипе, большей частью ограничиваются их энергетическими возможностями, которые зависят от фотосинтетической и дыхательной деятельности [12]. Цель данной работы состояла в сравнительном исследовании ряда показателей, характеризующих фотосинтез и темновое дыхание хвои, у кедра сибирского, кедрового стланика и их естественных гибридов.

Материалы и методики исследования

Исследования проводили на стационаре «Кедр» Института мониторинга климатических и экологиче-

ских систем СО РАН (56°13' с.ш., 84°51' в.д., 78 м над ур. м., юго-восток Западно-Сибирской равнины, южная тайга). Объектом исследования служили кедр сибирский, кедровый стланик и их естественные гибриды, представленные привоями на местный экотип кедр сибирского. Возраст прививок у исследованных видов и гибридов составлял 10 лет. Местом происхождения материнских деревьев был северный макросклон хребта Хамар-Дабан (Забайкалье). Гибриды отличаются от родительских видов промежуточной формой роста, они не стелятся, как кедровый стланик, а их ствол обычно искривлен в комлевой части и отклоняется от вертикали. Шишки гибридов по цвету похожи на шишки кедр сибирского, такие же фиолетовые, по размеру они мельче, чем у кедр сибирского, но крупнее, чем у кедрового стланика. В работе было использовано по 3 клона видов и 4 клон гибридов. Для исследования активности малатдегидрогеназы использовали активно растущие почки, для всех остальных анализов проводили сбор хвои текущего года в конце июля, когда фотосинтетический аппарат полностью сформировался.

Для характеристики фотосинтеза были выбраны два показателя: содержание фотосинтетических пигментов и скорость фотовосстановления феррицианида калия изолированными хлоропластами (реакция Хилла). Количество хлорофиллов a и b , а также сумму каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом (спектрофотометр UV-1601PC «Shimadzu», Япония) в этиловом спирте при длинах волн 665, 649, 440,5 нм соответственно, в одной вытяжке без их предварительного разделения [13].

Выделение хлоропластов проводили при температуре 2–4°C путем растирания хвои в среде следующего состава: 0,05 М Трис-НСl-буфер pH 8,0; 0,4 М сахароза; 1 мМ ЭДТА; 1 мМ MgCl₂; 0,5%-ный бычий альбумин [14]. Фотосинтетическую активность хлоропластов определяли спектрофотометрическим методом по скорости фотовосстановления феррицианида калия. Реакцию проводили в одинаковой реакционной среде при равном содержании хлорофилла в кювете. Реакционная среда содержала: 100 мкМ трис, pH 7,4; 10 мкМ NaCl; 10 мкМ MgCl₂; 3 мкМ K₃Fe(CN)₆; 4 мкМ АДФ; 10 мкМ KH₂PO₄ [15]. Реакции измеряли при освещении кюветы белым светом интенсивностью 150 Вт/м².

Изучение дыхательных процессов хвои включало в себя исследование эмиссии CO₂ при темновом дыхании хвои и анализ активности НАД-зависимой малатдегидрогеназы. Измерение эмиссии CO₂ проводили на лазерном оптико-акустическом газоанализаторе в затемненных камерах. Образцы хвои (навеска 10 г) помещали в затемненную герметичную емкость объемом 0,5 л, заполненную воздухом. После темновой экспозиции хвои в течение 1, 2 и 3 ч проводили забор газа из емкости и продувку им измерительной ячейки газоанализатора. Методика проведения экспериментов подробно описана в наших предыдущих публикациях [16, 17].

Выделение митохондрий проводили при температуре 2–4°C при центрифугировании гомогената при 16 тыс. оборотов в минуту с использованием рефри-

жераторной центрифуги К-24 (ГДР). Среда выделения содержала 0,05 М трис-НСl буфер, pH 7,8; 5 мМ аскорбат натрия, 3 мМ цистеин, 1 мМ хлористый магний и 5 мМ дитиотрейтол [18]. Определение активности НАД-зависимой малатдегидрогеназы проводили в среде: 0,05 М трис-НСl буфер, pH 9,1; 1,93 М малат натрия и 11 мМ НАД [19]. Содержание белка определяли по Лоури в параллельной пробе хвои, не содержащей дитиотрейтол [20]. Для анализа активности фермента использовали почки, так как добиться измерения активности данного фермента в сформировавшейся хвое не удалось из-за значительного содержания в ней терпенов, смол, флавоноидов.

В таблицах и на рисунках приведены средние арифметические значения и стандартные отклонения. Для видов указаны средние значения, полученные для разных клонов. Поскольку гибриды между собой сильно различались, то их клоны рассматривались и сравнивались с видами каждый отдельно. Среднее значение для клонов высчитывалось на основании 4–6 аналитических повторностей. Значимость различий оценивали по критерию Стьюдента, критический уровень значимости приняли равным 0,05. Разными буквами отмечены значимые различия между вариантами. Статистическая обработка полученных данных и построение графиков выполнены в программе Microsoft Excel.

Результаты исследования и обсуждение

Состояние фотосинтетических пигментов хвои древесных растений является одним из важных показателей функционирования фотосинтетического аппарата. Проведенные исследования показали, что содержание хлорофилла a в хвое текущего года у кедрового стланика было достоверно ниже, чем у кедр сибирского, количество же хлорофилла b и соотношение хлорофиллов a/b отличалось у данных видов незначительно (табл. 1). Отличия в содержании каротиноидов исследованных видов были более значительными, кедровый стланик содержал на 38% меньше данных пигментов, чем кедр сибирский. Отношение же Хл $a + b$ / каротиноиды у кедрового стланика было выше в основном за счет снижения доли каротиноидов в пигментном комплексе хлоропластов. Пигментный фонд гибридов количественно варьировал, тем не менее можно было выделить две группы клонов. У первой группы (гибриды 1 и 4) содержание фотосинтетических пигментов было близко к значению этого показателя у кедрового стланика. У второй группы (гибриды 2 и 3) количество пигментов было ближе к кедр сибирскому. Гибрид 1 характеризовался самым низким содержанием фотосинтетических пигментов (табл. 1).

Исследования, проведенные на изолированных хлоропластах у видов и гибридов, показали их различную функциональную активность на уровне фотосистемы II (рис. 1). Скорость фотовосстановления феррицианида калия изолированными хлоропластами у кедрового стланика была ниже относительно кедр сибирского. У гибридов наблюдалась большая вариабельность скорости электрон-транспортных реакций.

Гибриды 1 и 2 по данному параметру проявили себя несколько угнетенно в сравнении с родительскими видами, скорость реакции Хилла у них была ниже в 3,2 раза по сравнению с кедром сибирским и

в 2,4 раза по сравнению с кедровым стлаником. У гибрида 3 скорость данной реакции была примерно такая же, как у кедра сибирского, а гибрид 4 характеризовался самой высокой активностью.

Т а б л и ц а 1

Содержание фотосинтетических пигментов в хвое текущего года у гибридов и их родительских видов, мкг/г сухой массы

Параметр	Кедр	Стланик	Гибрид 1	Гибрид 2	Гибрид 3	Гибрид 4
Хлорофилл <i>a</i>	1764±18 x	1582±25 y	1452±21 z	1715±15 x	1694±27 x	1518±28 y
Хлорофилл <i>b</i>	518±16 x	495±11 x	415±14 y	517±13 x	526±22 x	453±16 z
Сумма каротиноидов	441±15 x	273±10 y	285±19 y	404±11 x	324±18 z	294±14 y
Хл <i>a/b</i>	3,41 x	3,20 x	3,49 x	3,32 x	3,24 x	3,35 x
Хл <i>a+b</i> /каротиноиды	4,02 x	5,49 y	5,11 y	4,25 x	5,23 y	5,17 y

Примечание. Разными буквами отмечены значимые различия между вариантами.

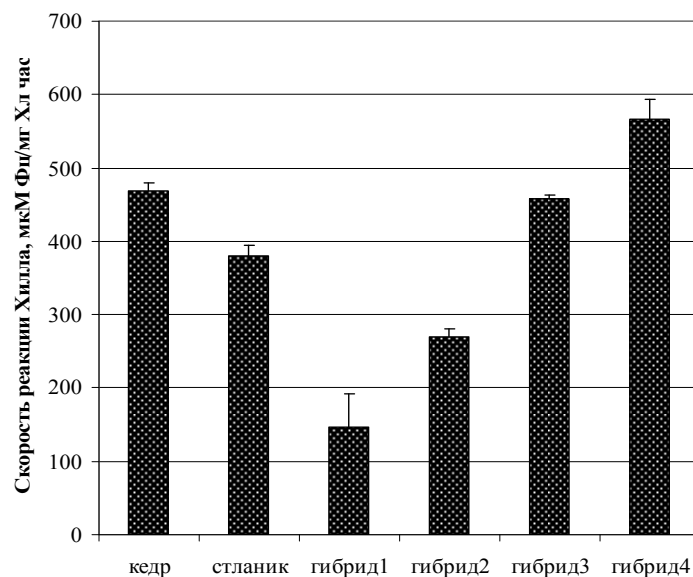


Рис. 1. Скорость фотовосстановления феррицианида калия изолированными хлоропластами кедра сибирского, кедрового стланика и их гибридов. Представлены средние данные из 5 повторностей с доверительными интервалами

Исследование темнового дыхания хвои выявило, что кедровый стланик выделяет больше углекислого газа через 1, 2 и 3 ч темновой экспозиции по сравнению с кедром сибирским (рис. 2). Так, через 3 ч различия между кедром сибирским и кедровым стлаником в содержании углекислого газа в камере достигли 46%. Эмиссия CO₂ у гибридов была достоверно выше, чем у кедра сибирского, и близка к таковой у кедрового стланика (рис. 2).

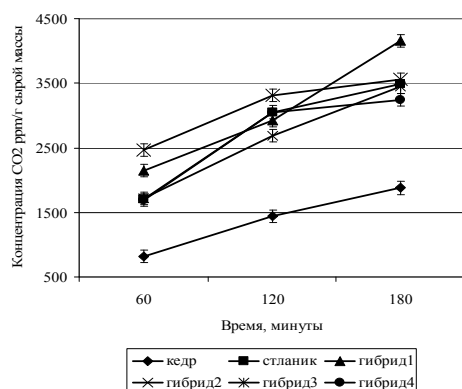


Рис. 2. Скорость эмиссии CO₂ при темновом дыхании хвои кедра сибирского, кедрового стланика и гибридов между ними. Представлены средние данные из 5 повторностей с доверительными интервалами

Исследование активности НАД-зависимой малатдегидрогеназы – ключевого фермента цикла Кребса – показало, что активность данного фермента у кедрового стланика была в 2–3 раза выше, чем у кедра сибирского (табл. 2). Все исследованные гибриды также характеризовались повышенной активностью малатдегидрогеназы.

Т а б л и ц а 2

Активность НАД-зависимой малатдегидрогеназы в почках кедра сибирского, кедрового стланика и гибридов между ними

Объекты исследования	Активность фермента, мЕ/мг белка	Активность фермента, %
Кедр	109,5±15,4 x	100
Стланик	369,5±30,2 y	337
Гибрид 1	184,9±14,8 z	169
Гибрид 2	204,7±26,8 z	187
Гибрид 3	281,4±18,1 w	257
Гибрид 4	345,6±23,6 y	316

Примечание. Разными буквами отмечены значимые различия между вариантами.

Для сравнения всех исследованных показателей у родительских видов и гибридов изученные признаки были разбиты на две группы: фотосинтетические и дыхательные, и условно приняты у кедра сибирского за 1. Это позволило унифицировать все единицы измерения и через пропорцию рассчитать относитель-

ные значения всех показателей у гибридов и кедрового стланика. Затем были рассчитаны отклонения полученных относительных значений от 1, поэтому отклонение у кедра сибирского было равным 0. Максимальные отклонения были получены у кедрового стланика, гибриды занимали промежуточное положение (рис. 3). По фотосинтетическим показателям гибриды 2 и 3 были ближе к кедру сибирскому, а гибриды 1 и 4 – к кедровому стланику. По дыхательным параметрам все четыре гибрида были ближе к кедровому стланику.

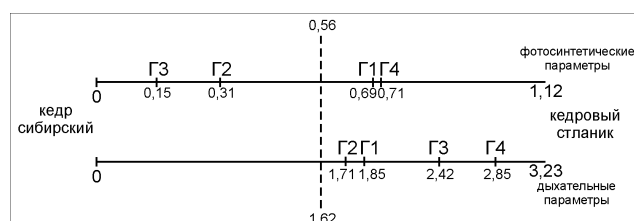


Рис. 3. Сравнение гибридов с родительскими видами по величине отклонений исследованных параметров относительно кедра сибирского. Штриховой линией показано среднее значение отклонения каждого параметра

Сравнение кедра сибирского и кедрового стланика выявило значительные отличия этих двух видов по комплексу исследованных физиологических показателей. Низкое содержание фотосинтетических пигментов в хвое кедрового стланика по сравнению с кедром сибирским ранней весной и в течение всего вегетационного сезона отмечалось нами в предыдущих работах при выращивании этих видов на юге Томской области [11]. Если принять во внимание, что каротиноиды выполняют как светособирающую, так и защитную функции [21], то уменьшение доли этих пигментов в хлоропластах кедрового стланика свидетельствует, скорее всего, о снижении защитной функции у данного вида при произрастании в нетипичных для него условиях. При чрезвычайной изменчивости содержания пигментов полученный результат может быть свидетельством косвенной связи их количества с адаптивной изменчивостью. В литературе неоднократно показаны экологические аспекты специфики пигментного фонда хвои [22, 23]. Интерпретируя полученные результаты и сравнивая их с литературными данными, можно сказать, что накопление фотосинтетических пигментов – это адаптивная реакция, которая в большей степени зависит от возрастных, сезонных и экологических изменений, а по наследству, по-видимому, может передаваться только степень изменчивости данного параметра.

В реализации фотосинтетической функции большое значение имеет не только общее содержание хлорофилла, но и его организация в пигмент – белково-липидные комплексы и фотосистемы. Первичные фотохимические процессы находятся в большой зависимости от внешних факторов среды, а также подвержены направленной физиолого-биохимической регуляции со стороны клетки. Известно, что первичные реакции фотосинтеза напрямую не связаны с количеством пигментов, а зависят от организации макромолекулярных комплексов на поверхности тилакоидов [21].

Существуют генетически обусловленные особенности структурно-функциональной организации фотосистем хлоропластов [24]. Скорость фотовосстановления феррицианида калия характеризует активность первичных фотохимических процессов фотосинтеза на уровне фотосистемы II, которая по сравнению с фотосистемой I быстрее реагирует на изменение экологических факторов [25, 26]. Наблюдаемая нами низкая функциональная активность хлоропластов у кедрового стланика указывает на различную организацию макромолекулярных комплексов хлоропластов на уровне фотосистемы II, которая, вероятно, зависит от генетических особенностей вида и характерных для каждого вида условий произрастания.

Показатели, связанные с дыхательной функцией, наоборот, у кедрового стланика были выше по сравнению с кедром сибирским. О.А. Семихатовой [27] было показано, что в неблагоприятных условиях среды нарушается корреляция между дыханием и ростом вследствие возникновения дополнительных дыхательных затрат, связанных с адаптацией. Если учесть, что кедровый стланик хуже растет в прививках по сравнению с кедром сибирским [28], то, вероятно, большая часть ассимилятов, образующихся в процессе фотосинтеза хвои, у данного вида тратится на поддержание дыхания, а не на рост. Условия произрастания на юге Томской области для стланика являются неоптимальными и даже стрессовыми, поскольку находятся далеко за пределами ареала вида.

Известно, что у сосен ДНК хлоропластов наследуются по отцовской линии, а ДНК митохондрий – по материнской [29]. Поэтому можно предположить, что физиологические функции, за которые ответственны эти органеллы, у гибридов проявят сходство с тем родительским видом, от которого они были унаследованы. Близкие значения дыхательных параметров у кедрового стланика и гибридов позволяют сделать предположение о том, что все исследованные гибриды унаследовали митохондрии от кедрового стланика, т.е. они произошли от опыления женских шишек кедрового стланика пыльцой кедра сибирского.

По фотосинтетическим параметрам гибриды разделились на две группы, одна из которых проявила большее сходство с кедром сибирским, другая – с кедровым стлаником. Высокую изменчивость фотосинтетических параметров у гибридов можно объяснить тем, что биогенез хлоропластов и пигмент-белковых комплексов мембран тилакоидов находится под двойным генетическим контролем: хлоропластной и ядерной ДНК [30]. Поскольку у гибридов ядерный геном содержит гены как кедрового стланика, так и кедра сибирского, возможны различные комбинации генов, ответственных за регуляцию физиологических процессов. Низкое значение функциональной активности хлоропластов на уровне фотосистемы II у гибридов 1 и 2, вероятно, детерминировано той или иной генетической комбинацией. С другой стороны, гибриды, как и кедровый стланик, могли испытывать экологический стресс в нетипичных для них условиях произрастания.

Физиологические методы исследования крайне редко используются при изучении гибридов хвойных

видов В литературе имеются немногочисленные и фрагментарные данные по энергопреобразующим процессам у различных гибридов. Так, интенсивность фотосинтеза и темного дыхания не различались у гибридов *Pinus taeda* L. × *P. rigida* Mill. и их родительских видов [31]. По другим данным, достоверно более высокие значения фотосинтеза и устьичной проводимости были показаны у гибридов первого поколения *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. × *P. glauca* (Moench) Voss. × *P. engelmannii* Parry [5, 6]. В дальнейших исследованиях для полной характеристики гибридных растений необходимо использовать комплексный подход с учетом генетических, физиологических и морфологических методов.

Закключение

Проведенные исследования показали, что кедр сибирский, кедровый стланик и их естественные гибриды в одинаковых условиях произрастания отличались

уровнем фотосинтетических пигментов и скоростью электрон-транспортных реакций на уровне фотосистемы II, а также интенсивностью темнового дыхания и активностью малатдегидрогеназы. Кедровый стланик характеризовался низкими значениями фотосинтетических показателей и высокой активностью дыхательных функций по сравнению с кедром сибирским. Гибриды сильно варьировали по фотосинтетическим параметрам, а по активности темнового дыхания были ближе к кедровому стланику. На юге Томской области жизненное состояние гибридов было лучше, чем у кедрового стланика, но хуже, чем у кедр сибирского. Гибриды, по-разному комбинируя генетический материал родительских видов, отличаются от них как по морфологическим, так и по физиологическим признакам. Поэтому в будущем целесообразно проводить анализ фотосинтетических и дыхательных параметров наряду с использованием генетических маркеров. Это позволит достичь более глубокого понимания физиологических процессов у гибридных особей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abbot R.J. Plant invasion, interspecific hybridization and the evolution of new plant taxa // *Trend Ecol. Evol.* 1992. Vol. 7. P. 401–405.
2. Rieseberg L.H., Sinervo B., Linder C.R., Ungerer M.C., Arias D.M. Role of gene interactions in hybrid speciation: evidence from ancient and experimental hybrids // *Science*. 1996. Vol. 272. P. 741–745.
3. Stebbins G.L. The role of hybridization in evolution // *Proc. Amer. Phil. Soc.* 1959. Vol. 103. P. 231–251.
4. Arnold M.L. Transfer and origin of adaptations through natural hybridization: were Anderson and Stebbins right? // *The Plant Cell*. 2004. Vol. 16. P. 562–570.
5. Samuelson L.J., Seiler J.R., Feret P.P. Gas exchange canopy structure of 9-year-old loblolly pine, pitch pine and pitch × loblolly hybrids // *Trees*. 1992. Vol. 6. P. 28–31.
6. Grossnickle S.C., Fan S. Genetic variation in summer gas exchange patterns of interior spruce *Picea glauca* (Moench × *P. engelmannii* Parry ex Engelm. // *Can. J. For. Res.* 1996. Vol. 28. P. 831–840.
7. Fan S., Grossnickle S.C., Sutton B.C. Relationships between gas exchange and carbon isotope discrimination of Sitka × interior spruce introgressive genotypes and ribosomal DNA markers // *Tree Physiol.* 1999. Vol. 19. P. 689–694.
8. Горошкевич С.Н. О возможности естественной гибридизации *Pinus sibirica* и *Pinus pumila* (Pinaceae) в Прибайкалье // *Ботанический журнал*. 1999. Т. 84, № 9. С. 48–57.
9. Колесников Б.П. Кедровые леса Дальнего Востока // *Труды Дальневосточного филиала им. В.Л. Комарова. Л. : Из-во АН СССР*, 1956. 264 с.
10. Уткин А.И., Пряжников А.А., Карелин Д.В. Экология кедрового стланика с позиций углеродного цикла // *Лесоведение*. 2001. № 3. С. 52–62.
11. Зотикова А.П., Бендер О.Г. Сезонные изменения пигментного состава и водного режима хвои кедр сибирского, кедрового стланика и их гибридов в клоновом архиве // *Труды Томского государственного университета. Сер. Биологическая. Томск : Изд-во Том. ун-та*, 2010. Т. 274. С. 176–179.
12. Коф Э.М., Ооржак А.С., Виноградова И.А., Калиберная З.В., Кренделева Т.Е., Кукарских Г.П., Кондыков И.В., Чувашева Е.С. Листовой аппарат, пигментный комплекс и продуктивность дикого и афильного генотипов гороха // *Физиология растений*. 2004. Т. 51, № 4. С. 500–506.
13. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // *Биохимические методы в физиологии*. М. : Наука, 1971. С. 154–170.
14. West K.R., Wiskich I.T. Photosynthetic control by isolated pea chloroplast // *Biochem. J.* 1968. Vol. 109, № 2. P. 527–540.
15. Гавриленко В.Ф., Жуалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М. : Академия, 2003. 256 с.
16. Ageev B.G., Astafurova T.P., Ponomarev Yu.N., Sapozhnikova V.A., Zaitseva T.A., Zotikova A.P. Dark Respiration Under Low Pressure and Increased Ethylene // *J. Plant Physiol.* Vol. 48. 1996. P. 237–242.
17. Ageev B.G., Зотикова А.П., Капитанов В.А., Клишкин А.В., Клишкин В.М., Макогон М.М., Матвиенко Г.Г., Пономарев Ю.Н., Фатеева Н.Л. Комплексный стенд лазерной дистанционной диагностики биосистем // *Оптика атмосферы и океана*. 2007. Т. 20, № 1. С. 90–95.
18. Андреева И.Н. Методы выделения функционально-активных митохондрий из растительных тканей // *Клетка и клеточные структуры*. М. : Наука, 1968. С. 66–93.
19. Chapman E.A., Osmond S.B. The effect of light on the tricarboxylic acid cycle in green leaves. III. A comparison between some C 3 and C 4 plants // *Plant. Physiol.* 1974. Vol. 53. P. 893–896.
20. Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P. 265–275.
21. Мокроносов А.Т., Гавриленко В.Ф. Фотосинтез: физиолого-экологические и биохимические аспекты. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1996. 320 с.
22. Коренные еловые леса Севера: биоразнообразие, структура, функции. СПб. : Наука, 2006. 337 с.
23. Зотикова А.П., Бендер О.Г., Рудник Т.И. Экофизиологические реакции листового аппарата кедр сибирского на изменение климата // *Оптика атмосферы и океана*. 2006. Т. 19, № 11. С. 969–972.
24. Ладыгин В.Г. Редукция мембранной системы хлоропластов при нарушении ранних этапов биосинтеза хлорофилла // *Физиология растений*. 2006. Т. 53, № 1. С. 15–30.
25. Зотикова А.П. Диагностика состояния кедр сибирского по активности первичных фотосинтетических реакций // *Проблемы кедр*. Томск, 2003. Вып. 7. С. 76–80.
26. Скулачев В.П., Шувалов В.А. Фотосинтез и молекулярная энергетика // *Вестник Российской академии наук*. 2006. Т. 76, № 5. С. 437–441.
27. Семихатова О.А. Дыхание поддержания и адаптация растений // *Физиология растений*. 1995. Т. 42, № 2. С. 312–319.

28. Попов А.Г. Первичная интродукция некоторых видов 5-хвойных сосен лесной зоны Западной Сибири // Хвойные бореальной зоны, 2010. XXVII, № 1–2. С. 169–174.
29. Neale D., Sederoff R. Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine // Theor. Appl. Genet. 1989. V. 77. P. 212–216.
30. Концев В.Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. СПб. : ВИП, 1998. 378 с.
31. Boratyński A., Boratyńska K., Lewandowski A., Golab Z., Kiciński P. Evidence of the possibility of natural reciprocal crosses between *Pinus sylvestris* and *P. uliginosa* based on the phenology of reproductive organs // Flora. 2003. Vol. 198. P. 377–388.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 11 октября 2014 г.

PHOTOSYNTHETIC AND RESPIRATORY PROCESSES IN THE NEEDLE OF THE SIBERIAN STONE PINE, THE SIBERIAN DWARF PINE AND THEIR HYBRIDS

Tomsk State University Journal, 2014, 389, pp. 268–274.

Zotikova Al'bina P. Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems SB RAS, Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: zotik.05@mail.ru

Vasil'yeva Galina V. Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems SB RAS (Tomsk, Russian Federation). E-mail: galina__biology@mail.ru

Bender Ol'ga G. Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems SB RAS (Tomsk, Russian Federation). E-mail: obender65@mail.ru

Keywords: *Pinus sibirica* Du Tour; *Pinus pumila* (Pall.) Regel; hybrids; photosynthetic pigments; chloroplast functional activity; dark respiration; malate dehydrogenase activity.

Natural hybridization is widespread in the plants and plays an important role in the plant evolution. Natural hybrids between Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) and Siberian dwarf pine (*Pinus pumila* (Pall.) Regel) were found in the area of the parental species overlapping ranges. *Pinus sibirica* is upright and *P. pumila* is a prostrate tree. The hybrids are characterized by the intermediate growth habit, they are not prostrate like *P. pumila* and their trunks are usually curved in the butt-log part. Moreover, hybrids have purple ripening cones of a similar color to those of *P. sibirica*, and the hybrid cone size is intermediate if compared to the parental species one. Survival strategies of both species and hybrids are realized, first of all, through specific features of the physiological processes; however, the studies of conifer hybrid functional features are rare and fragmentary. The aim of this work was a comparative study of a number of parameters characterizing photosynthesis and dark respiration of the Siberian stone pine, the Siberian dwarf pine and their natural hybrids. The study was carried out in “Kedr” field station managed by the Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems (56°13'N 84°51'E, 78 m above sea level, southeast of the West Siberian Plain, southern taiga). Subjects of the study were the Siberian stone pine, the Siberian dwarf pine and hybrids grafts with the Siberian stone pine as a rootstock. The age of the grafts was 10 years. Photosynthetic pigment content and activity of the electron transport reactions at the level of photosystem II (Hill reaction) were studied to characterize the photosynthesis process. It was shown that the Siberian dwarf pine current-year needle contained less chlorophylls and carotenoids compared with those of the Siberian stone pine. A similar result was observed in the study of the photoreduction rate of potassium ferricyanide by isolated chloroplasts, i.e. the Hill reaction rate in the Siberian dwarf pine was lower than that in the Siberian stone pine. Hybrids were divided into two groups by photosynthetic parameters; the first one was close to the Siberian stone pine, the other to the Siberian dwarf pine. The study of dark respiration included the CO₂ emission analysis in the needle and the analysis of NAD-dependent malate dehydrogenase activity in buds. Parameters associated with dark respiration were higher in the Siberian dwarf pine in comparison with the Siberian stone pine. Studied hybrids were similar to the Siberian dwarf pine by dark respiration traits. Thus, hybrids combine the genetic material of the parental species and differ from the species both in morphological and physiological traits. It is reasonable to carry out further studies using photosynthesis and respiration parameters along with genetic markers. This will achieve a better understanding of physiological processes in hybrids.

REFERENCES

1. Abbot R.J. Plant invasion, interspecific hybridization and the evolution of new plant taxa. *Trend Ecol. Evol.*, 1992, vol. 7, pp. 401–405. DOI: 10.1016/0169-5347(92)90020-C
2. Rieseberg L.H., Sinervo B., Linder C.R., Ungerer M.C., Arias D.M. Role of gene interactions in hybrid speciation: evidence from ancient and experimental hybrids. *Science*, 1996, vol. 272, pp. 741–745. DOI:10.1126/science.272.5262.741
3. Stebbins G.L. The role of hybridization in evolution. *Proc. Amer. Phil. Soc.*, 1959, vol. 103, pp. 231–251.
4. Arnold M.L. Transfer and origin of adaptations through natural hybridization: were Anderson and Stebbins right? *The Plant Cell.*, 2004, vol. 16, pp. 562–570. DOI: 10.1105/tpc.HistPersp
5. Samuelson L.J., Seiler J.R., Feret P.P. Gas exchange canopy structure of 9-year-old loblolly pine, pitch pine and pitch × loblolly hybrids. *Trees*, 1992, vol. 6, pp. 28–31. DOI: 10.1007/BF00224495
6. Grossnickle S.C., Fan S. Genetic variation in summer gas exchange patterns of interior spruce *Picea glauca* (Moench × *P. engelmannii* Parry ex Engelm.) *Can. J. For. Res.*, 1996, vol. 28, pp. 831–840. DOI: 10.1139/cjfr-28-6-831
7. Fan S., Grossnickle S.C., Sutton B.C. Relationships between gas exchange and carbon isotope discrimination of Sitka × interior spruce introgressive genotypes and ribosomal DNA markers. *Tree Physiol.*, 1999, vol. 19, pp. 689–694. DOI: 10.1093/treephys/19.10.689
8. Goroshkevich S.N. O vozmozhnosti estestvennoy gibridizatsii *Pinus sibirica* i *Pinus pumila* (Pinaceae) v Priбайkal'e [On the possibility of natural hybridization of *Pinus sibirica* and *Pinus pumila* (Pinaceae) in the Baikal region]. *Botanicheskiy zhurnal*, 1999, vol. 84, no. 9, pp. 48–57.
9. Kolesnikov B.P. Kedrovye lesa Dal'nego Vostoka [Cedar forests of the Far East]. *Trudy Dal'nevostochnogo filiala im. V.L. Komarova*, 1956. 264 p.
10. Utkin A.I., Pryazhnikov A.A., Kargin D.V. Ekologiya kedrovogo stlanika s pozitsiy uglerodnogo tsikla [Ecology of the elfin cedar from the standpoint of the carbon cycle]. *Lesovedenie*, 2001, no. 3, pp. 52–62.
11. Zotikova A.P., Bender O.G. Sezonnye izmeneniya pigmentnogo sostava i vodnogo rezhima khvoi kedra sibirskogo, kedrovogo stlanika i ikh gibridov v klonovom arkhive [Seasonal changes in pigment composition and the water regime of the needles of Siberian stone pine, *Pinus pumila* and their hybrids in clonal archive]. *Trudy Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya biologicheskaya. Izd-vo Tomskogo universiteta*, 2010, vol. 274, pp. 176–179.
12. Kof E.M., Oorzhak A.S., Vinogradova I.A., Kalibernaya Z.V., Krendeleva T.E., Kukarskikh G.P., Kondykov I.V., Chuvashova E.S. Leaf morphology, pigment complex, and productivity in wild-type and afilea pea genotypes. *Fiziologiya rasteniy – Russian Journal of Plant Physiology*, 2004, vol. 51, no. 4, pp. 500–506. (In Russian).

13. Shlyk A.A. *Opredelenie khlorofillov i karotinoidov v ekstraktakh zelenykh list'ev* [Determination of chlorophylls and carotenoids in extracts of green leaves]. In: *Biokhimicheskie metody v fiziologii* [Biochemical methods in physiology]. Moscow: Nauka Publ., 1971, pp. 154-170.
14. West K.R., Wiskich I.T. Photosynthetic control by isolated pea chloroplast. *Biochem. J.*, 1968, vol. 109, no. 2. R. 527-540.
15. Gavrilenko V.F., Zhigalova T.V. *Bol'shoy praktikum po fotosintezu* [Large workshop in photosynthesis]. Moscow: Akademiya Publ., 2003. 256 p.
16. Ageev B.G., Astafurova T.P., Ponomarev Yu.N., Sapozhnikova V.A., Zaitseva T.A., Zotikova A.P. Dark Respiration Under Low Pressure and Increased Ethylene. *J. Plant Physiol.*, vol. 48. 1996, pp. 237-242. DOI: 10.1016/S0176-1617(96)80320-8
17. Ageev B.G., Zotikova A.P., Kapitanov V.A., Klimkin A.V., Klimkin V.M., Makogon M.M., Matvienko G.G., Ponomarev Yu.N., Fateeva N.L. Complex test bench for optical diagnostics of biosystems. *Optika atmosfery i okeana – Atmospheric and Oceanic Optics*, 2007, vol. 20, no. 1, pp. 90-95. (In Russian).
18. Andreeva I.N. *Metody vydeleniya funktsional'no-aktivnykh mitokhondriy iz rastitel'nykh tkaney* [Methods for isolating functionally active mitochondria from plant tissues]. In: *Kletka i kletochnye struktury* [Cell and cell structures]. Moscow: Nauka Publ., 1968, pp. 66-93.
19. Chapman E.A., Osmond S.B. The effect of light on the tricarboxylic acid cycle in green leaves. III. A comparison between some C 3 and C 4 plants. *Plant. Physiol.*, 1974, vol. 53, pp. 893-896.
20. Lowry O.N., Rosebroug N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein Measuriment with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, vol. 193, pp. 265-275.
21. Mokronosov A.T., Gavrilenko V.F. *Fotosintez: fiziologo-ekologicheskie i biokhimicheskie aspekty* [Photosynthesis: physiological, ecological and biochemical aspects]. Moscow: MSU Publ., 1996. 320 p.
22. *Korennye elovye lesa Severa: bioraznoobrazie, struktura, funktsii* [Indigenous spruce forests of the North: biodiversity, structure, function]. St. Petersburg: Nauka Publ., 2006. 337 p.
23. Zotikova A.P., Bender O.G., Rudnik T.I. Ecophysiological reactions of the Siberian stone pine leaf apparatus to climate changes. *Optika atmosfery i okeana – Atmospheric and Oceanic Optics*, 2006, vol. 19, no. 11, pp. 969-972. (In Russian).
24. Ladygin V.G. Reduction of the chloroplast membrane system caused by disorders in early stages of chlorophyll biosynthesis. *Fiziologiya rasteniy – Russian Journal of Plant Physiology*, 2006, vol. 53, no. 1, pp. 15-30.
25. Zotikova A.P. *Diagnostika sostoyaniya kedra sibirskogo po aktivnosti pervichnykh fotosinteticheskikh reaktsiy* [Diagnosis of Siberian cedar on the activity of primary photosynthetic reactions]. In: *Problemy kedra* [Problems of cedar]. Tomsk, 2003. Issue 7, pp. 76-80.
26. Skulachev V.P., Shuvalov V.A. Fotosintez i molekulyarnaya energetika [Photosynthesis and Molecular Energy]. *Vestnik Rossiyskoy akademii nauk*, 2006, vol. 76, no. 5, pp. 437-441.
27. Semikhatova O.A. Dykhanie podderzhaniya i adaptatsiya rasteniy [Breathing support and adaptation of plants]. *Fiziologiya rasteniy – Russian Journal of Plant Physiology*, 1995, vol. 42, no. 2, pp. 312-319.
28. Popov A.G. The initial introduction of some 5-needle pine species on the south forest part of Western Siberia. *Khvoynye boreal'noy zony*, 2010, XXVII, no. 1-2, pp. 169-174. (In Russian).
29. Neale D., Sederoff R. Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine. *Theor. Appl. Genet.*, 1989. V. 77, pp. 212-216. DOI: 10.1007/BF00266189
30. Konarev V.G. *Morfogenez i molekulyarno-biologicheskii analiz rasteniy* [Morphogenesis and molecular biological analysis of plants]. St. Petersburg: VIR Publ., 1998. 378 p.
31. Boratyński A., Boratyńska K., Lewandowski A., Gołęb Z., Kiciński P. Evidence of the possibility of natural reciprocal crosses between *Pinus sylvestris* and *P. uliginosa* based on the phenology of reproductive organs. *Flora*, 2003, vol. 198, pp. 377-388. DOI: 10.1078/0367-2530-00110

Received: 11 October 2014