

## Морфофизиологические особенности хвои у разных климатипов сосны обыкновенной в географических культурах

Н. В. ПАХАРЬКОВА<sup>1</sup>, Н. А. КУЗЬМИНА<sup>2</sup>, С. Р. КУЗЬМИН<sup>2</sup>, А. А. ЕФРЕМОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский Федеральный университет  
660041, Красноярск, просп. Свободный, 79  
E-mail: nina\_pakharkova@yandex.ru

<sup>2</sup> Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН  
660036, Красноярск, Академгородок, 50

Статья поступила 11.09.2012

### АННОТАЦИЯ

В географических культурах сосны обыкновенной выявлены отличия по глубине зимнего покоя на основании анализа параметров нулевого уровня флуоресценции, содержания хлорофиллов и абсцизовой кислоты, что согласуется с результатами исследования морфологических признаков хвои и фенологических наблюдениями. Деревья южного климатипа, отличающиеся по морфологическим признакам хвои и скорости прохождения фенофаз, имеют большую глубину зимнего покоя по сравнению с северными. Предполагается, что в связи с изменением климата северные климатипы будут более уязвимыми в период зимне-весенних оттепелей, не характерных ранее для этих районов.

**Ключевые слова:** сосна обыкновенная *Pinus sylvestris* L., географические культуры, климатип, зимний покой, флуоресценция.

Климатические условия среды являются важным фактором, определяющим рост и распространение различных представителей растительного мира, при этом видовые особенности растений играют большую роль на всех этапах их индивидуального развития.

В лесах умеренной зоны зимние отрицательные температуры вынуждают древесные растения переходить в состояние зимнего покоя, регуляция этого перехода осуществляется в результате изменения фотопериода и температуры. В условиях изменения климата и повышения средних осенних температур возможно уменьшение глубины зимнего покоя, и, следовательно, повреждение

растений во время зимних оттепелей [Третьякова, 2008].

При отрицательной температуре, особенно с ветром, растения продолжают терять воду, но компенсировать эти потери не могут, если почва замерзла. Следовательно, в зимних условиях растения подвержены значительной опасности погибнуть в результате иссушения [Григорьев, 2001].

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) – одна из основных лесообразующих пород России. Ареал ее распространения довольно обширный. Тип растительности – интразональный, так как она произрастает в разных лесорастительных зонах, что предопределяет

ее сильно выраженную географическую изменчивость. По сравнению с темнохвойными видами, например, елью сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), сосна обыкновенная имеет большую глубину покоя и меньше повреждается во время зимних оттепелей [Пахарькова, 2010]. В связи с изменением климата весьма актуальной становится проблема оценки внутривидовых различий в устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды и повышению температуры. Изучение фотосинтетической активности в осенне-зимний период у разных климатипов сосны в географических культурах представляет определенный научный интерес.

Традиционно регистрация сроков наступления сезонных явлений осуществляется с помощью фенологических наблюдений. Но подготовка к состоянию зимнего покоя включает и обратимые изменения на уровне хлоропластов. При изучении перехода деревьев в состояние покоя и обратного процесса хорошо зарекомендовал себя метод регистрации кривых термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ). Использование данного метода возможно и для определения длительности и глубины покоя растений [Гаевский, 1987; Григорьев, 2001].

В качестве независимого индикатора покоя взято содержание в хвое абсцизовой кислоты (АБК). АБК играет ведущую роль в регулировании покоя, поскольку является ингибитором прорастания семян и роста почек. Торможение роста, вызываемое АБК, сопровождается подавлением процессов синтеза и ускорением старения тканей. В стадии физиологического покоя накопление АБК у хвой-

ных растений является необходимым фактором для успешного перенесения низких температур в зимний период [Duan, 2007; Feurtado, 2004]. Для дополнительной характеристики готовности фотосинтетического аппарата к зимнему покою определено количество хлорофиллов *a* и *b* [Софронова, 2007].

Цель данной работы – анализ морфологических признаков хвои и глубины зимнего покоя у сосны обыкновенной разного происхождения в условиях географических культур с использованием метода регистрации термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции хлорофилла.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Географические культуры сосны обыкновенной расположены в Богучанском лесничестве Красноярского края на дерново-подзолистой песчаной почве. Объектами исследований являются три контрастных по месту происхождения климатипа сосны обыкновенной: кандалакшский из европейской части ареала вида (Мурманская область), богучанский из средней части ареала (Красноярский край) и балгазынский с юга ареала (Республика Тыва). Характеристики мест происхождения климатипов приводятся в табл. 1. Согласно с Л. Ф. Правдиным [1964] климатипы являются представителями трех подвидов (географических рас) сосны обыкновенной: кандалакшский представляет северную или лапландскую (*Pinus sylvestris* ssp. *lapponica* Fries), богучанский – сибирскую (*P. sylvestris* ssp. *sibirica* Ledeb.), балгазынский – кулундинскую или степную (*P. sylvestris* ssp. *kulundensis* Sukaczew).

Т а б л и ц а 1

Характеристика мест происхождения климатипов сосны

Характеристика	Климатип		
	кандалакшский (Мурманская область)	богучанский (Красноярский край)	балгазынский (Республика Тыва)
Координаты (с. ш./в. д.)	67°00'/32°00'	58°39'/97°30'	51°00'/95°12'
Осадки, мм	543	361	217
Среднегодовая температура, °С	0,4	-1,5	-1,3
Сумма среднемесячных весенних температур (февраль – июнь)	-3,1	-4,7	1,7

Несмотря на северное расположение, климат Мурманской области относительно мягкий, с большим количеством осадков. Для Богучанского района Красноярского края характерен резко континентальный климат с суровой зимой и коротким вегетационным периодом. Республика Тыва также имеет континентальный климат, но среднемесячные температуры весной значительно раньше приобретают положительные значения [http://www.pogoda.ru.net/].

Географические культуры создавались трехлетними сеянцами, посадка культур проводилась под меч Колесова. Густота посадки определена из расчета 8000 шт./га. Расстояние между рядами – 1,5 м, между деревьями в одном ряду – 0,75 м [Кузьмина, 2005]. Географические культуры сосны подвергались заболеваниям, вызванным снежным шютте (*Phacidium infestans* Karst.) и ценангиевым некрозом (*Cenangium abietis* (Pers) Rehm.) [Кузьмина, 2007]. В возрасте 30 лет климатотипы сосны в пределах песчаной почвы различаются по таксационным показателям. Средняя высота варьирует от 3,9 до 5,6 м, средний диаметр – от 3,6 до 5,5 см, запас – от 14 до 55 м<sup>3</sup>/га. Самые высокие параметры отмечены у кандалакшского климатотипа, имеющего хорошую устойчивость к грибным болезням в условиях географических культур.

Размеры хвои исследовались у 30 деревьев, продолжительность жизни – не менее чем у 50 деревьев, плотность устьиц – у пяти деревьев каждого климатотипа. Учет плотности устьиц проводился у пяти пар двухлетней хвои, взятой из средней части кроны бокового побега с одной и той же части света. Общая площадь фрагмента, взятого в центральной части абаксиальной стороны хвоинки составляла 3,14 мм<sup>2</sup>. Плотности устьиц определялась у образцов хвои, собранных на участке с суглинистой почвой. Замеры длины хвои проводились на образцах, собранных в год благополучного санитарного состояния географических культур на участке с песчаной почвой.

Для определения зимнего покоя сбор материала проводили в конце октября 2011 г. В пределах каждого климатотипа отбирали по пять средних по высоте и диаметру деревьев, с каждого из которых брали по четыре ветки из средней части кроны, общее коли-

чество образцов хвои – 20. Определяли содержание фотосинтетических пигментов, абсцизовой кислоты (АБК) и термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ) как показателя глубины зимнего покоя.

Теоретической основой метода является изменение агрегированности составляющих фотосинтетического аппарата, что проявляется в качественном изменении кривых ТИНУФ (рис. 1). В период активного метаболизма на графике регистрируется два пика – низкотемпературный, связанный с активностью хлорофилл-белкового комплекса фотосистемы 2, и высокотемпературный, обусловленный “разгоранием” хлорофилл-белкового комплекса фотосистемы 1 при инаktivации ее реакционных центров (см. рис. 1, а). При переходе в состояние зимнего покоя наблюдается качественное изменение формы кривой, проявляющееся в отсутствии низкотемпературного максимума, что приводит к уменьшению отношения низко- и высокотемпературного максимумов ( $R_2$ ) флуоресценции (см. рис. 1, б). Отметим, что “зимний” тип термограмм у изученных хлорофилл-содержащих тканей наиболее универсален из извест-

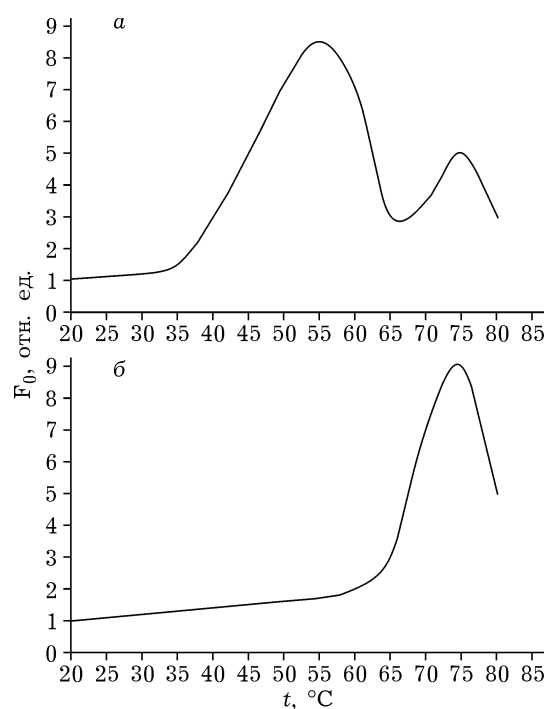


Рис. 1. Кривые термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (а – в период активной вегетации, б – в состоянии зимнего покоя)

ных в настоящее время критериев криорезистентного состояния хлоропластов [Гаевский, 1991].

В качестве показателя состояния растений и глубины покоя [Пахарькова, 2010; Гаевский, 1987] использовали отношение интенсивностей флуоресценции, соответствующих низко- и высокотемпературному максимумам кривой ТИНУФ ( $R_2$ ):

$$R_2 = \Phi_{л_{нт}} / \Phi_{л_{вт}}$$

где  $\Phi_{л_{вт}}$  – интенсивность флуоресценции при высокотемпературном максимуме,  $\Phi_{л_{нт}}$  – интенсивность флуоресценции при низкотемпературном максимуме.

Количественное определение хлорофиллов проводили в ацетоновой вытяжке [Lichtenthaler, 1987] на спектрофотометре SPEKOL 1300 Analytik Jenna AG, данные пересчитаны на сухую массу. Собранныю и предназначенную для определения АБК хвою замораживали жидким азотом и измельчали. Содержание АБК в хвое определяли методом хромато-масс-спектрометрии [Cutler, 2008] на жидкостном хроматографе Agilent 1200. Регистрацию термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции хлорофилла проводили в диапазоне от 20 до 80 °С при скорости нагрева 8 °С/мин на флуориметре “Фотон-11”. Для оценки глубины зимнего покоя побеги деревьев выводили из состояния покоя в лабораторных условиях, при температуре +24 °С и круглосуточном освещении лампами дневного света. Для активно фотосинтезирующей хвои коэффициент  $R_2 > 1$  [Григорьев, 2001; Гаевский, 1987].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние ассимиляционного аппарата является индикатором роста, развития и

внутривидовой изменчивости растений. Параметры длины хвои являются существенным показателем при характеристике географической изменчивости и сохраняются при выращивании сосны в других физико-географических районах. Известно, что наиболее короткой хвоей обладает сосна северная лапландская, сосняки с хвоей среднего размера занимают среднюю полосу ареала, между 50 и 62° с. ш. Популяции сосны с длинной хвоей преобладают на юге ареала, северная граница их соответствует 50° с. ш. [Правдин, 1964].

Исследование морфологических признаков хвои у сосны в географических культурах выявило значительные различия между климатипами ( $p < 0,001$ ). Так, средняя длина хвои у кандалакшского климатипа составляет  $31,1 \pm 1,17$  мм, богучанского –  $38,9 \pm 0,94$  мм, балгазынского –  $50,1 \pm 1,78$  мм. В ранее проведенных исследованиях географических культур сосны на разных экофонах и в разные вегетационные периоды отмечается, что длина хвои является генетически закрепленным признаком. Наиболее наглядно это иллюстрируют климатипы из северных широт, имеющие в пунктах происхождения и испытания короткую хвою [Кузьмин, 2004; Кузьмин, 2009].

Средняя продолжительность жизни хвои у исследуемых деревьев варьирует от трех до пяти лет (табл. 2). Все тестируемые климатипы сосны по этому признаку разделены на две группы. Первую группу с большой продолжительностью жизни хвои составляют климатипы подвида сосны северной лапландской и сибирской, вторую – с короткой – климатипы подвидов сосны обыкновенной и кулундинской. Кандалакшский и богучанский климатипы являются представителями первой группы, балгазынский климатип – пред-

Т а б л и ц а 2

Признаки хвои различных климатипов сосны обыкновенной

Признаки	Климатип		
	кандалакшский (Мурманская область)	богучанский (Красноярский край)	балгазынский (Республика Тыва)
Продолжительность жизни хвои, лет	$3,9 \pm 0,09$	$3,8 \pm 0,09$	$3,4 \pm 0,09$
Длина хвои, см	$31,1 \pm 1,17$	$38,9 \pm 0,94$	$50,1 \pm 1,78$
Число устьиц на 1 мм <sup>2</sup>	$60 \pm 2,2$	$81 \pm 2,7$	$82 \pm 2,3$

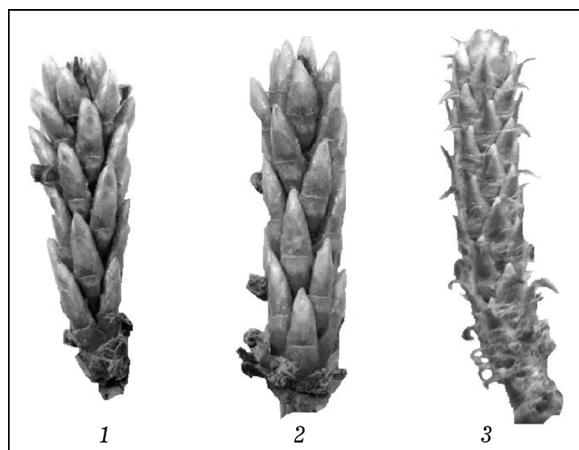


Рис. 2. Фенологические особенности состояния молодых побегов сосны обыкновенной (31 мая 2011 г.). Климатипы: 1 – кандалакшский; 2 – богучанский; 3 – балгазынский

ставителем второй. Более продолжительная жизнь хвои отмечается у кандалакшского и богучанского климатипов, меньшая – у балгазынского, различия между ними достоверны ( $p < 0,001$ ).

Оценка сходства подвидов сосны по плотности устьиц выявила, что северный кандалакшский климатип достоверно отличается меньшими средними значениями от богучанского и балгазынского при уровне значимости  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ .

Фенологические наблюдения за началом роста побегов и разворачиванием хвои в 2011 г. показали, что на 31 мая, когда сумма эффективных температур  $>5$  °С, составляла 466 °С, состояние вегетативных побегов у исследуемых климатипов неодинаково. Брахибласты кандалакшского и богучанского климатипов к этому времени уже освободились от кроющих чешуек, причем у богучан-

ского климатипа они были сильнее прижаты к оси. В это же время брахибласты у балгазынского климатипа еще густо покрыты кроющими чешуйками (рис. 2). Таким образом, в прохождении данной фенологической фазы между балгазынским и другими климатипами отмечаются различия в календарных сроках, которые составляют от 7 до 10 дней.

Таким образом, исследуемые климатипы сосны имеют значительные различия по морфолого-анатомическим признакам хвои, и отличаются между собой сроками прохождения фенологических фаз. В пункте испытания исследуемые климатипы сосны обыкновенной растут в одинаковых экологических условиях, следовательно, выявленные внутривидовые особенности сосны обусловлены генетическими особенностями, эволюционно закрепленными в потомстве в местах происхождения.

Для исследования динамики фотосинтетической активности пигментного аппарата были собраны побеги деревьев исследуемых климатипов в конце октября 2011 г. В это время они уже перешли в состояние физиологического зимнего покоя, и для определения глубины покоя была проведена процедура выведения их из этого состояния в лабораторных условиях (при температуре +24 °С и двенадцатичасовом фотопериоде). Одновременно проводился контроль методом регистрации ТИНУФ хлорофилла хвои (рис. 3).

При искусственном выведении побегов из состояния покоя в лабораторных условиях отмечена различная скорость выхода у представителей разных климатипов, в частности, переход к активной вегетации хвои у богучанского климатипа произошел на пятые сутки, тогда как у остальных – только после

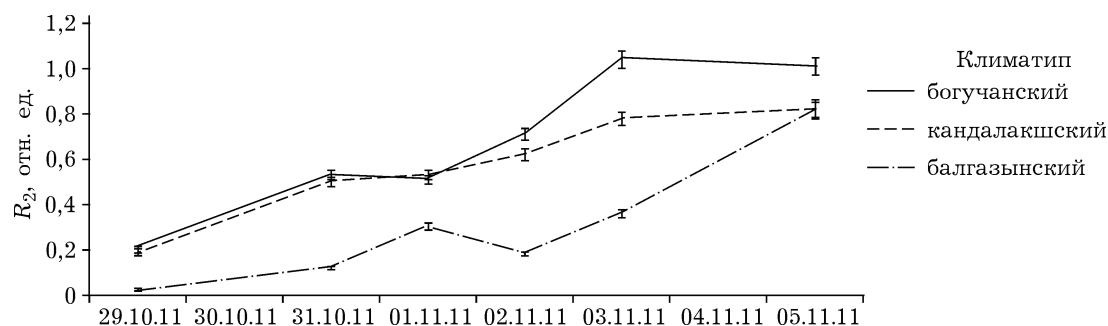


Рис. 3. Динамика коэффициента  $R_2$  при искусственном выведении из состояния покоя побегов сосны обыкновенной различных климатипов

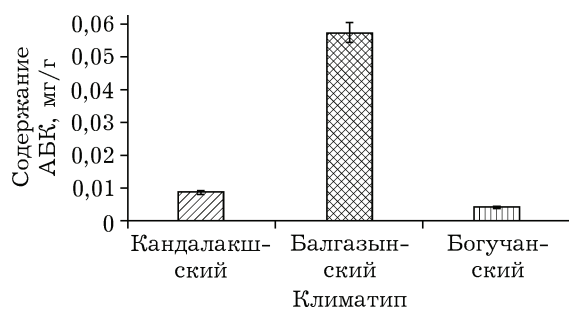


Рис. 4. Содержание абсцизовой кислоты в хвое сосны обыкновенной различных климатипов в пересчете на сухую массу хвои (29 октября 2011 г.)

семи суток. Низкая скорость восстановления структуры фотосинтетического аппарата и повышения фотосинтетической активности характерна для балгазынского климатипа. Таким образом, хвоя “южного” балгазынского климатипа имеет наибольшую глубину покоя, “северо-западного” кандалакшского занимает промежуточное положение, а для хвои богучанского климатипа характерна наименьшая глубина зимнего покоя.

Содержание абсцизовой кислоты (АБК) является одним из индикаторов покоя растений. В хвое балгазынского климатипа количество АБК многократно превышает его содержание в хвое богучанского (в 13,5 раз) и кандалакшского (в 6,4 раза) климатипов (рис. 4). Высокое содержание абсцизовой кислоты в тканях хвои балгазынского климатипа подтверждает, что эти деревья находятся в состоянии глубокого физиологического покоя и не зависят от колебаний температуры.

Анализ содержания хлорофиллов *a* и *b* в хвое (рис. 5) подтверждает представленные

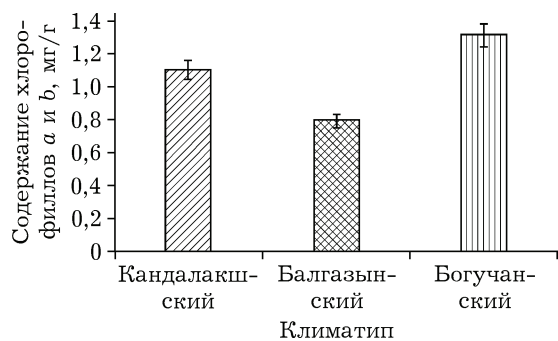


Рис. 5. Суммарное содержание хлорофиллов *a* и *b* в хвое сосны обыкновенной различных климатипов в пересчете на сухую массу хвои (29 октября 2011 г.)

данные. У растений, эволюционно сформировавшихся в более холодных районах, содержание хлорофилла в паренхиме хвои в исследуемый период выше. В совокупности с меньшей глубиной покоя это свидетельствует о более высокой потенциальной готовности растений к возобновлению фотосинтетической активности при повышении температуры.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Деревья “южного” балгазынского климатипа, отличающиеся от богучанского и кандалакшского также и по морфологическим параметрам, имеют большую глубину покоя, обусловленную высоким содержанием АБК. Эти деревья в условиях Богучанского района раньше переходят в состояние зимнего покоя, что косвенно подтверждает меньшее содержание фотосинтетических пигментов. Большее количество АБК дольше поддерживает фазу глубокого, или органического, покоя и предотвращает преждевременный выход из этого состояния во время зимних оттепелей, характерных для южных районов. У “северного” богучанского климатипа такой защитный механизм отсутствует, низкое содержание АБК приводит к быстрому переходу этих растений из фазы глубокого в фазу вынужденного покоя, которая регулируется температурой, что в данных условиях вполне объяснимо. Северные растения, имеющие более короткий вегетационный период, эволюционировали в направлении повышения потенциальной готовности к возобновлению фотосинтетической активности, это подтверждают и результаты фенологических наблюдений. Однако в связи с изменением климата можно предположить, что северные климатипы будут более уязвимыми к меняющимся условиям. Появление зимне-весенних оттепелей, не характерных ранее для этих районов, могут быть серьезным фактором риска для деревьев с небольшой глубиной зимнего покоя – они, восстанавливая процессы фотосинтеза и транспирации, подвержены опасности иссушения и повреждения хвои при последующем понижении температуры. В то же время имеющиеся другие защитные механизмы, особенно у северного

кандалакшского климатипа в виде меньшего числа устьиц и толстой кутикулы хвои, позволяют ему сохранять определенный адаптационный потенциал в пункте испытания в настоящее время.

Работа поддержана РФФИ (гранты 11-04-00246; 11-04-00063).

#### ЛИТЕРАТУРА

- Гаевский Н. А. Способ определения степени глубины покоя древесных растений: авт. свид. № 1358843 от 15.08.87 / авторы и заявители Н. А. Гаевский, Г. А. Сорокина, А. В. Гехман, С. А. Фомин, В. М. Гольд, 1987.
- Гаевский Н. А., Сорокина Г. А., Гольд В. М., Миролюбовская И. В. Сезонные изменения фотосинтетического аппарата древесных и кустарниковых растений // Физиология растений. 1991. Т. 38, вып. 4. С. 685–691.
- Григорьев Ю. С., Пахарькова Н. В. Влияние техногенного загрязнения воздушной среды на состояние зимнего покоя сосны обыкновенной // Экология. 2001. № 6. С. 471–473.
- Кузьмин С. Р., Кузьмина Н. А., Милютин Л. И., Муратова Е. Н. Внутривидовая изменчивость морфологических признаков хвои у сосны обыкновенной в географических культурах Приангарья // Вестн. Том. ун-та, 2004. № 10. С.41–45.
- Кузьмин С. Р., Ваганов Е. А., Кузьмина Н. А., Милютин Л. И., Силкин П. П. Плотность устьиц хвои сосны обыкновенной в географических культурах Приангарья // Лесоведение. 2009. № 2. С. 35–40.
- Кузьмина Н. А. Оценка стволовой продуктивности сосны обыкновенной на песчаной почве в географических культурах и Приангарья // Лесная таксация и лесоустройство. 2005. № 2. С. 75–79.
- Кузьмина Н. А., Кузьмин С. Р. Устойчивость сосны обыкновенной разного происхождения к грибным патогенам в географических культурах Приангарья // Хвойные бореальной зоны. 2007. Т. XXIV, № 4–5. С. 454–460.
- Пахарькова Н. В., Калякина О. П., Шубин А. А., Григорьев Ю. С., Пахарьков С. В., Сорокина Г. А. Различия в акклимационных стратегиях сосны обыкновенной и ели сибирской на загрязнение воздушной среды // Хвойные бореальной зоны. 2010. № 3. С. 231–236.
- Правдин Л. Ф. Сосна обыкновенная. Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция // М.: Наука, 1964. 190 с.
- Софронова В. Е., Чепалов В. А. Адаптивные изменения состава фотосинтетических пигментов хвои *Pinus sylvestris* L. при понижении температуры // Наука и образование. 2007. № 2. С. 34–39.
- Третьякова И. Н., Бажина Е. В., Пахарькова Н. В., Сторожев В. Н. Состояние пихтово-кедровых лесов природного парка “Ергаки” и их флуоресцентная диагностика // Хвойные бореальной зоны. 2008. № 3–4. С. 237–243.
- Cutler S., Bonetta D. Plant Hormones: Methods and Protocols // Series: Methods in Molecular Biology. 2008. Vol. 495. P. 39–51
- Duan B., Yang Y., Lu Y., Li C., Korpelainen H., Berninger F. Interactions between water deficit, ABA, and provenances in *Picea asperata* // J. Experiment. Bot. 2007. Vol. 58, N 11. P. 302–305.
- Feurtado J. A., Ambrose S. J., Cutler A. J., Ross A. R. S., Abrams S. R., Kermod A. R. Dormancy termination of western white pine (*Pinus monticola* DOUGL. Ex D. Don) seeds is associated with changes in abscisic acid metabolism // Planta. 2004. Vol. 218, N 4. P. 630–639.
- Lichtenthaler H. K. Chlorophyll and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes // Methods. Enzimol. 1987. Vol. 148. P. 331–382.

## Morphophysiological Characteristics of Needles of Different Climatypes of Scots Pine in Provenance Trials

N. V. PAKHARKOVA<sup>1</sup>, N. A. KUZ'MINA<sup>2</sup>, S. R. KUZ'MIN<sup>2</sup>, A. A. EFREMOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian Federal University  
660041, Krasnoyarsk, Zvobodniy ave., 79  
E-mail: nina\_pakharkova@yandex.ru

<sup>2</sup> V. N. Sukachev Institute of Forest RAS  
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok 50/28

Differences in winter dormancy depth of Scots pine in provenance trials were revealed during the analysis of zero level of fluorescence parameters and chlorophylls and abscisic acid content. Obtained results correspond with the data received from the study of morphological features of needles and phenological observations. Trees of southern climatype, which differ in morphological features of needles and speed of phenophase transition, have deeper winter dormancy compared to the northern climatype. Due to climatic changes, trees of northern climatypes are expected to be more vulnerable during the periods of winter-spring thaws which previously were not typical for northern regions.

**Key words:** Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), provenance trial, climatype, winter dormancy, fluorescence