

EDN: CDVCTB

УДК 574.2+581.5

## Parameters of *Pinus sibirica* Photosynthetic Apparatus for Phenotyping Trees in the High-Altitude Zone of the Western Sayan

Nina V. Pakharkova\*,  
Nikolay A. Gaevsky and Irina G. Gette  
*Siberian Federal University  
Krasnoyarsk, Russian Federation*

Received 05.12.2023, received in revised form 20.06.2024, accepted 23.06.2024

**Abstract.** The shift of the timberline towards higher altitudes in mountainous areas through undergrowth species invasion of new territories is caused by the global warming. In the fir-pine forests of the Western Sayan, the pioneer species is the Siberian pine, *Pinus sibirica* Du Tour. On the upper forest border, plants were discovered to show structural and physiological adaptations. This work aims to evaluate fast chlorophyll fluorescence and other parameters of the pigment complex of needles as a tool for phenotyping *P. sibirica* trees in the high-altitude zone (the Ergaki Ridge of the Western Sayan). Young Siberian pine trees of the second age class were selected for the study. Within each of the four sample plots located at altitudes from 1450 m to 1650 m, 20 typical specimens were marked. Samples of 2-year-old needles were collected from lateral shoots of the second order. Parameters of chlorophyll fluorescence and photosynthetic activity of needles were recorded on Junior-PAM and IMAGING-PAM M-Series MAXI Version devices (Heinzwalz GmbH, Germany). Quantitative determination of pigments in an alcohol extract was carried out using a SPEKOL 1300 AnalytikJenna AG spectrophotometer. It was revealed that it is necessary to use different sets of structural and functional parameters of the photosynthetic apparatus for phenotyping plants from different habitats. In the summer period, the important parameters for predicting an increase in needle mass in the open Siberian pine habitats located above the forest border can be the electron transport rate, the (chlorophyll a + chlorophyll b)/carotenoids ratio in the pigment complex, as well as the value of non-photochemical quenching of fluorescence. In forest communities, the appropriate parameters are the rate of photosynthetic electron transport, the value of photosystem II maximum quantum yield and the content of chlorophylls in needles.

**Keywords:** fluorescence, chlorophyll, Siberian pine, timberline, treeline, climate change.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

\* Corresponding author E-mail address: npakharkova@sfu-kras.ru

ORCID: 0000-0003-0377-3263 (Pakharkova N.); 0000-0002-3747-9858 (Gaevsky N.); 0000-0001-7372-1499 (Gette I.)

**Acknowledgements.** This research was funded by Russian Science Foundation to the research project: "Intrapopulation variability of ecophysiological features of Siberian pine (*Pinus sibirica* Du Tour) trees under climate change", Grant Number 23–24–00251.

Citation: Pakharkova N. V., Gaevsky N. A., Gette I. G. Parameters of *Pinus sibirica* photosynthetic apparatus for phenotyping trees in the high-altitude zone of the western Sayan. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2024, 17(2), 119–133. EDN: CDVCTB



## Параметры фотосинтетического аппарата *Pinus sibirica* в фенотипировании деревьев в условиях высотной поясности Западного Саяна

Н. В. Пахарькова, Н. А. Гаевский, И. Г. Гетте  
Сибирский федеральный университет  
Российская Федерация, Красноярск

**Аннотация.** Подъем верхней границы леса в горных районах путем освоения подростом новых территорий связан с глобальным повышением температуры. В пихтово-кедровых лесах Западного Саяна пионерным видом в составе подростка является сосна сибирская – *Pinus sibirica* Du Tour., формирующая на верхней границе леса структурные и физиологические адаптации. Данная работа нацелена на изучение возможности использования параметров быстрой флуоресценции хлорофилла и пигментного комплекса хвои для фенотипирования деревьев *P. sibirica* в условиях высотной поясности (на примере хребта Ергаки Западного Саяна). В качестве объектов исследования были выбраны молодые деревья второго класса возраста. В пределах каждой из четырех пробных площадей, расположенных по трансекте на высотах от 1450 м до 1650 м над уровнем моря, были промаркированы по 20 типичных экземпляров. Образцы хвои второго года жизни собирали с боковых побегов второго порядка. Параметры флуоресценции хлорофилла и фотосинтетической активности хвои регистрировали на приборах Junior PAM и IMAGING-PAM M-Series MAXI Version (HeinzWalzGmbH, Германия). Содержание пигментов, экстрагированных в этиловом спирте, определяли на спектрофотометре SPEKOL 1300 Analytik Jenna AG. В ходе исследования установлено, что для фенотипирования растений из различных местообитаний необходимо формировать собственный набор параметров, характеризующих фотосинтетический аппарат сосны сибирской. В летний период на открытых участках обитания сосны сибирской, расположенных выше границы леса, для прогнозирования увеличения массы хвои важными являются скорость фотосинтетического электронного транспорта, соотношение хлорофиллов и каротиноидов в пигментном комплексе, а также величина нефотохимического тушения флуоресценции. Для деревьев, входящих в состав лесных фитоценозов, информативными параметрами являются скорость фотосинтетического электронного транспорта, величина максимального квантового выхода фотосистемы II и содержание хлорофиллов в хвое.

**Ключевые слова:** флуоресценция, хлорофилл, сосна сибирская, верхняя граница леса, линия передовых деревьев, изменение климата.

**Благодарности.** Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ 23–24–00251 «Внутрипопуляционная изменчивость экофизиологических признаков деревьев сосны сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour) в условиях изменения климата».

---

Цитирование: Пахарькова Н. В. Параметры фотосинтетического аппарата *Pinus sibirica* в фенотипировании деревьев в условиях высотной поясности Западного Саяна / Н. В. Пахарькова, Н. А. Гаевский, И. Г. Гетте // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2024. 17(2). С. 119–133. EDN: CDVCTB

---

## Введение

Изменение климата оказывает существенное влияние на динамику лесных экосистем. Сдвиги широтных и высотных границ ареала показаны (Kharuk et al., 2021; Pakharkova et al., 2020) у многих видов хвойных, относящихся к основным лесообразующим видам Сибири и Алтая. В горных фитоценозах можно заметить более быстрый подъем нижней границы леса из-за уменьшения влажности и более медленный подъем верхней границы, связанный с повышением температуры и освоением подростом новых территорий. При этом скорость движения линии передовых деревьев несколько ниже, чем у верхней границы леса (Petrov et al., 2019). Подобная тенденция стимулирующего воздействия повышения температуры на продвижение линии деревьев по градиенту высоты отмечена также в горах Кольского полуострова, Полярного Урала, плато Путорана (Grigoriev et al., 2022; Moiseev et al., 2022), Восточного Саяна (Petrov et al., 2021), Западного Саяна (Kharuk et al., 2010), Кузнецкого Алатау (Petrov et al., 2015).

Важным вопросом, определяющим динамику видового состава древесного яруса горных лесных экосистем, является способность подростов видов-лесообразователей выживать выше существующей границы леса. Для пихтово-кедровых горных лесов пионерным видом является сосна сибирская – *Pinus sibirica* Du Tour (Pakharkova et al., 2020; Pakharkova et al., 2021;

Sannikov et al., 2018). Одним из несомненных биологических преимуществ сосны сибирской для продвижения выше границы леса является распространение её семян кедровкой (*Nucifraga caryocatactes* L.), которая, делая запасы, закапывает их в подстилку и мох. Однако соотношение подростка к сеянцам, а затем взрослых деревьев к подросту в зоне гольцово-тундрового пояса значительно ниже, чем под пологом леса (Никитина, Михайлова, 2018; Николаева, Панов, 2012; Сташкевич и др., 2013; Sannikov et al., 2018). Выше границы леса преобладают стланные формы, так как сильные ветры при незначительной толщине снежного покрова способствуют формированию многоствольных низкорослых деревьев (Велисевич и др., 2013).

В последние годы проведены исследования сезонных изменений структуры ассимиляционного аппарата хвойных деревьев разного возраста (Плюснина, Тужилкина, 2021; Котеева, 2002; Zagirova, 2001), их пигментного фонда (Тужилкина, 2012; Sofronova et al., 2016), а также функциональных изменений в фотосинтезирующих тканях (Бендер, 2019; Vag et al., 2020). Вместе с тем практически не исследованы экофизиологические особенности у тех экземпляров сосны сибирской, которые успешно растут и развиваются выше линии леса в суровых условиях горных экосистем. Необходимо дополнительно определить механизмы адаптации сеянцев и подростка сосны сибирской

к возможным стресс-факторам в условиях высотной поясности. Такие устойчивые генотипы (экземпляры) можно найти как в пределах вида (Шигапов и др., 2016), так и в пределах одной популяции (Пахарькова и др., 2019). Как правило, процент таких деревьев увеличивается на границе распространения вида, как в широтном, так и в высотном направлении. Экологическое разнообразие растений-пионеров может быть описано на основе адаптивных изменений их морфологических, структурных и физиологических параметров (Зотикова, Бендер, 2009). Наряду с методами феномики растений, основанными на определении закономерностей изменения физиологических и биохимических характеристик растительного организма на уровне фенотипа (Furbank, Tester, 2011; Demidchik et al., 2020), перспективными признаны методы, основанные на регистрации параметров флуоресценции хлорофилла (Dutta et al., 2015; Rolfe, Scholes, 2010; Smolikova et al., 2018).

Целью данной работы явилось изучение возможности использования параметров быстрой флуоресценции хлорофилла и пигментного комплекса хвои для фенотипирования деревьев *P. sibirica* в условиях высотной поясности (на примере хребта Ергаки Западного Саяна).

## Материалы и методы

Трансекта, пересекающая верхнюю границу леса при переходе от горно-таежного к гольцово-тундровому поясу, была заложена в окрестностях оз. Ойское на территории природного парка «Ергаки» (Ермаковский район Красноярского края). Средняя температура воздуха в январе, по данным метеостанции Оленья Речка (индекс 29974 в Региональной Синоптической Сети (Регион II) Всемирной метеорологической организации), расположенной поблизости (52°48' с.ш., 93°14' в.д.;

1404 м над уровнем моря), составляет –17,7 °С, июля – + 13,2 °С. Годовое количество осадков ~1200 мм, при этом в среднем 440 мм приходится на летние месяцы (Справочно-информационный портал «Погода и климат»: <http://www.pogodaiklimat.ru>).

Четыре пробные площади (ПП), расположенные вдоль трансекты, имеют следующие координаты центральных точек:

ПП1 – N 52°50'40.4" E 093°16'24.2" высота 1636 м н.у.м.

ПП2 – N 52°50'26.3" E 093°16'26.9" высота 1558 м н.у.м.

ПП3 – N 52°50'17.2" E 093°16'21.0" высота 1505 м н.у.м.

ПП4 – N 52°50'14.6" E 093°15'28.4" высота 1455 м н.у.м.

Линия передовых деревьев проходит между ПП1 и ПП2, граница леса – между ПП2 и ПП3, граница между ПП3 и ПП4 отделяет мелкотравный пихтово-кедровый лес с преобладанием сосны сибирской от смешанного крупнотравного кедрово-пихтового леса с преобладанием пихты сибирской (табл. 1). ПП4 расположена в нижней части склона на выположенном участке, а ПП3, так же как ПП2 и ПП1, на склоне южной экспозиции.

В пределах каждой пробной площади были промаркированы 20 типичных экземпляров сосны сибирской (молодые деревья второго класса возраста), с каждого экземпляра было собрано по три побега. Общее количество растительных образцов составило 240 штук. Сбор материала был произведен в июле 2023 года.

Содержание хлорофиллов *a* и *b*, суммы каротиноидов, а также параметры быстрой флуоресценции определяли у хвои второго года жизни с боковых побегов второго порядка. Параметры флуоресценции хлорофилла хвои исследовали на флуориметрах Junior PAM и IMAGING-PAM M-Series MAXI Version

Таблица 1. Древесные формы *Pinus sibirica* на пробных площадяхTable 1. *Pinus sibirica* tree forms in sample plots

| Номер пробной площади | Древесные формы  |
|-----------------------|--|
| 1                     | Единичные экземпляры стланиковых форм <i>Pinus sibirica</i> высотой до 1 м. Диаметр стволов 3–5 см   |
| 2                     | Редколесье, стволовые формы <i>Pinus sibirica</i> . Сомкнутость крон 0,1. Древостой однородный, формула древостоя К10. Высота деревьев до 5 м. Диаметр стволов 8–12 см                               |
| 3                     | Смешанный мелкотравный пихтово-кедровый лес с преобладанием <i>Pinus sibirica</i> . Сомкнутость крон 0,4. Формула древостоя 6К4П. Высота деревьев сосны сибирской до 15 м. Диаметр стволов 15–20 см  |
| 4                     | Смешанный крупнотравный кедрово-пихтовый лес с преобладанием <i>Abies sibirica</i> . Сомкнутость крон 0,7. Формула древостоя 6П4К. Высота деревьев сосны сибирской до 15 м. Диаметр стволов 15–20 см |

В формуле древостоя К – *Pinus sibirica*, П – *Abies sibirica*.

(Heinz Walz GmbH, Германия) в режиме записи световой кривой фотосинтеза. Период темновой инкубации хвои составлял от 20 до 24 часов при температуре +14 °С. Максимальный квантовый выход фотосистемы II –  $Y(II)m$ , актуальный квантовый выход фотосистемы II –  $Y(II)$  во время записи световой кривой фотосинтеза, квантовый выход всех светоиндуцированных процессов нефотохимического тушения флуоресценции –  $Y(NPQ)$ , квантовый выход других неиндуцированных светом процессов, способных тушить флуоресценцию хлорофилла –  $Y(NO)$ . Сумма трех квантовых выходов тушения флуоресценции равна единице (Kramer et al., 2004). Величины указанных параметров, а также скорость нециклического транспорта электронов – ETR получены автоматически с помощью полнофункционального программного обеспечения WinControl-3 (WALZ, <http://www.walz.com>).

Пигменты экстрагировали 96 % этиловым спиртом. В полученных экстрактах измеряли оптическую плотность при 440,5, 649, 665 и 720 нм на спектрофотометре SPEKOL 1300 Analytik Jenna AG. Количество пигментов рассчитали по следующим формулам (Wintermans, De Mots, 1965):

$$Ca \text{ (мг/л)} = 13,7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5,76 \times (D_{649} - D_{720})$$

$$Cb \text{ (мг/л)} = 25,8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7,6 \times (D_{665} - D_{720})$$

$$C_{car} \text{ (мг/л)} = 4,695 \times (D_{440,5} - D_{720}) - 0,268 \times C(a+b)$$

Долю хлорофиллов  $a$  и  $b$ , входящих в светособирающий хлорофилл  $a/b$  белковый комплекс (ССК), рассчитывали по формуле (Lichtenthaler, 1987):

$$ССК = (Cb + 1,2 \times Ca) / (Ca + Cb),$$

исходя из того, что весь хлорофилл  $b$  находится в ССК, и отношение  $Ca/Cb$  в ССК составляет 1,2.

Хвою доводили до абсолютно сухого состояния в сушильном шкафу при температуре 95 °С, взвешивание проводили на аналитических весах ГОСМЕТР ВЛ-124В-С с погрешностью  $\pm 0,5$  мг.

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета Microsoft Excel 2010. Рассчитаны средние значения, ошибки средних, коэффициенты корреляции Пирсона, проведен однофакторный дисперсионный анализ. Средние значения абсолютно сухой массы 20 хвоинок у каждого дерева определены на основе трех измерений, средние величины показателя для

каждой площадки – на основе 20 величин ранее рассчитанных средних. Содержание фотосинтетических пигментов и показатели флуоресценции измеряли в 3-кратной повторности в каждом отобранном образце. Средние значения концентрации пигментов и показателей флуоресценции для каждой площадки – на основе 4 величин ранее рассчитанных средних по каждому показателю. Гипотезу о достоверности различия средних значений проверяли по критерию Стьюдента. Определение достоверности выборочных коэффициентов корреляции выполнили на основе функции Фишера:  $Z=0,5 \times \ln(1+r)/(1-r)$  по формуле:

$$N=t^2/z^2+3,$$

где  $r$  – выборочный коэффициент корреляции,  $N$  – количество пар значений, достаточных для достоверности выборочного коэффициента корреляции,  $t$  – критерий Стьюдента, равный 1,96 для порога вероятности безошибочного прогноза ( $\beta_1=0,95$ ) (Плохинский, 1970).

## Результаты и обсуждение

Статистически достоверные различия ( $p \geq 0,95$ ) по абсолютно сухой массе хвои деревьев *P. sibirica* обнаружены между всеми пробными площадками, кроме ППЗ и ПП4. Абсолютно сухая масса образцов хвои деревьев *P. sibirica* увеличивалась от площадки ПП1 к площадке ПП3 по мере уменьшения высоты их расположения над уровнем моря. Величины абсолютно сухой массы образцов хвои на площадках ППЗ и ПП4 совпадали (рис. 1).

Экспресс-анализ максимальной скорости нециклического электронного транспорта – ETRmax у 80 модельных деревьев выполнен в условиях стационара природного парка «Ергаки» с помощью портативного РАМ флуориметра Junior-RAM (рис. 2). Результаты однофакторного дисперсионного анализа показали достоверные различия ETRmax ( $p \geq 0,95$ ) между площадкой ПП1 и каждой из других пробных площадок. Достоверных различий ETRmax между площадками (ПП2, ПП3 и ПП4) не выявлено. Далее на каждой площадке были выбраны по два дерева *P. sibirica* с минимальными и максимальными значе-

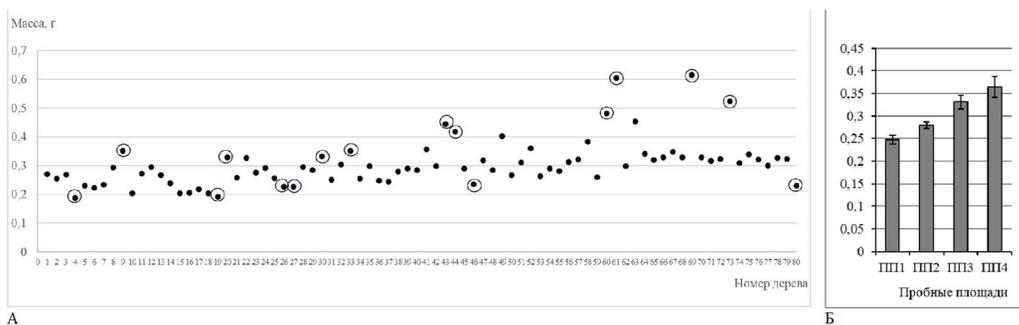


Рис. 1. Сухая масса двадцати хвоинок: А – среднее для каждого дерева (данные представлены как среднее арифметическое, полученное в 3 биологических повторностях). Выделены растения, имеющие максимальные и минимальные значения массы хвои, на каждой пробной площадке. Б – среднее для каждой пробной площадки (данные представлены как среднее арифметическое, полученное в 60 биологических повторностях)

Fig. 1. Dry mass of twenty needles: A – the average for each tree (data is presented as an arithmetic mean obtained from three biological replicates). Plants with maximum and minimum needle mass were identified in each sample plot. B – the average for each sample plot (data is presented as an arithmetic mean obtained from 60 biological replicates)

ниями ETRmax (рис. 2). В отобранных контрастных образцах в лабораторных условиях исследованы флуоресцентные параметры

хвои (рис. 3) с использованием флуориметра IMAGING-PAM M-Series MAXI Version и состав фотосинтетических пигментов (рис. 4).

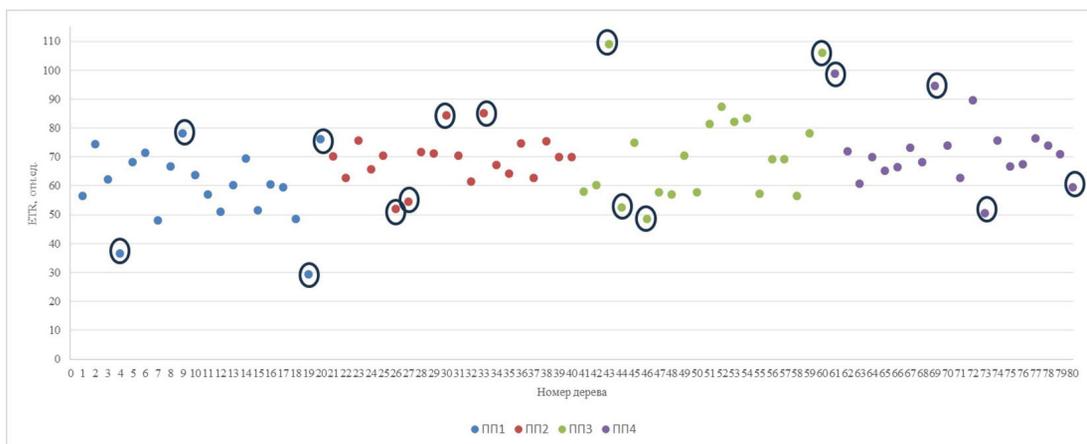


Рис. 2. Скорость нециклического электронного транспорта (ETR) в хвое растений *Pinus sibirica* (данные представлены как среднее арифметическое, полученное в трех биологических повторностях). Выделено по два растения, имеющих максимальные и минимальные значения ETR на каждой пробной площади

Fig. 2. The rate of non-cyclic electronic transport (ETR) in *Pinus sibirica* needles (data is presented as an arithmetic mean obtained from three biological replicates). Two plants with maximum and minimum ETR values were identified in each sample plot

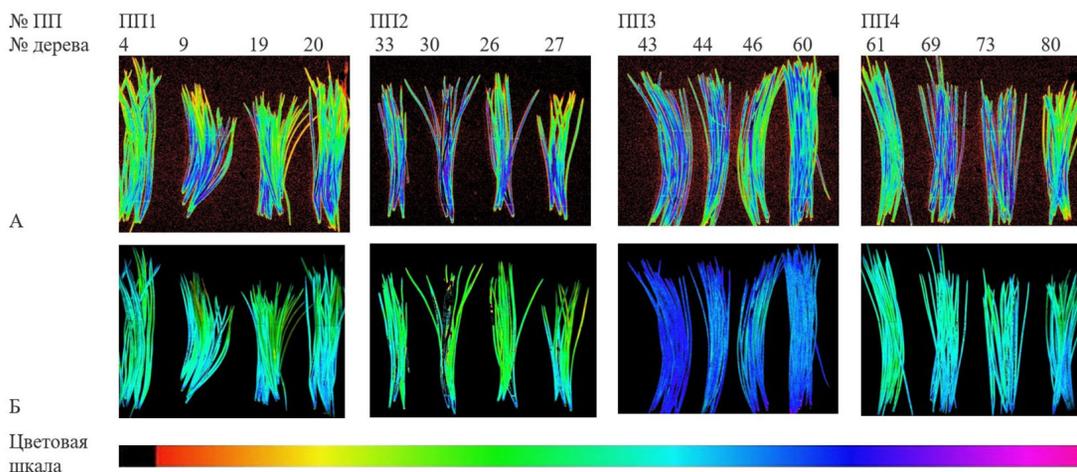


Рис. 3. Визуализация различий максимальной флуоресценции (Fm) хлорофиллов (А) и максимальной величины квантового выхода фотосистемы II (Y(II)max) (Б) хвои растений *Pinus sibirica*, произрастающих на различной высоте над уровнем моря. Цветовая шкала слева направо показывает интенсивность флуоресцентных параметров хлорофиллов хвои от минимальных до максимальных значений, оцененных при помощи флуориметра IMAGING-PAM

Fig. 3. Visualization of the differences in maximum chlorophyll fluorescence (Fm) and maximum quantum yield of photosystem II (Y(II)max) in the needles of *Pinus sibirica* growing at different altitudes. The color scale from left to right shows the intensity (from minimum to maximum values) of the fluorescence parameters of the needle chlorophyll obtained on the IMAGING-PAM fluorimeter

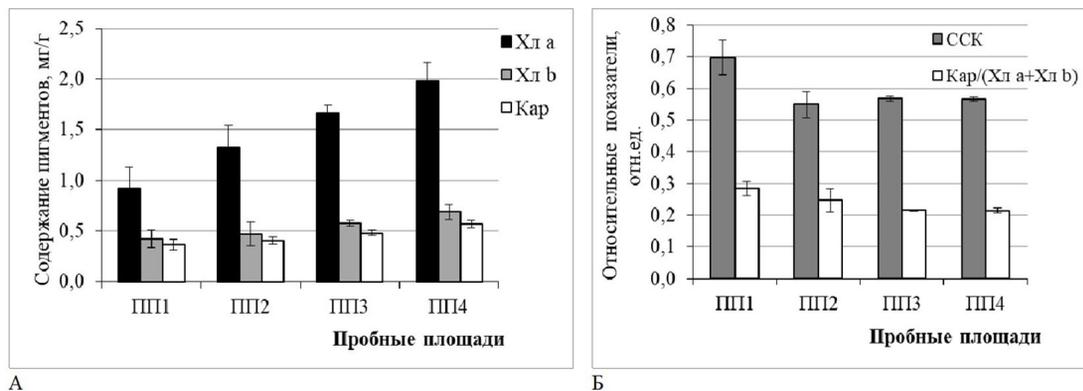


Рис. 4. Абсолютные и относительные показатели фотосинтетических пигментов хвои растений *Pinus sibirica*. Показаны средние ( $n=4$ ) и ошибки средних: А – содержание (мг/г а.с. массы) хлорофилла а, хлорофилла b и суммы каротиноидов. Б – доля суммы хлорофиллов а и b в составе светособирающего хлорофилл a/b белкового комплекса (ССК); отношение суммы каротиноидов к сумме хлорофиллов, Кар/(Хл а + Хл b)

Fig. 4. Absolute and relative indices of photosynthetic pigments of *Pinus sibirica* needles. Means ( $n=4$ ) and standard errors of means are shown: А – content (mg/g a.d. mass) chlorophyll a, chlorophyll b and the sum of carotenoids. В – proportion of the sum of chlorophylls a and b in the composition of the light-harvesting chlorophyll a/b protein complex (LHC); ratio of the sum of carotenoids to the sum of chlorophylls, Car/(Chl a + Chl b)

Визуализация позволила определить пространственные неоднородности образцов в результате частичных повреждений хвои, которые необходимо учитывать для правильной интерпретации результатов измерения фотосинтетической активности. При регистрации флуоресценции нами была выделена зона в средней части хвоинок. Интенсивность максимальной флуоресценции хлорофилла (Fm) была минимальной у хвои растений *P. sibirica* на площадке ПП1 и значительно увеличивалась в хвое растений с площадки ПП2, на которой стволовые формы замещают стланиковые формы *P. sibirica* (табл. 1), что указывает на снижение стрессующего воздействия лимитирующих факторов. На третьей и четвертой пробных площадках, расположенных ниже верхней границы леса, величина Fm стала еще выше, что особенно наглядно видно на изображениях Fm у хвои с деревьев № 43 и № 44 (ПП3), а также № 69 и № 73 (ПП4).

Наименьшее содержание хлорофиллов а и b и каротиноидов определили у деревьев

*P. sibirica*, произрастающих в верхней части склона (ПП1) (рис. 4А). Содержание фотосинтетических пигментов в хвое деревьев *P. sibirica* увеличивалось по мере уменьшения высоты местоположения площадки над уровнем моря. Это согласуется с данными других авторов (Зотикова, Бендер, 2009; Tranquillini, 1979; James et al., 1994). Также можно отметить значительное увеличение дисперсии содержания пигментов у хвои деревьев *P. sibirica*, произрастающих на верхних площадках ПП1 и ПП2 по сравнению с дисперсией на площадках ПП3 и ПП4.

Доля суммы хлорофиллов а и b в составе светособирающего хлорофилл a/b белкового комплекса (ССК) в хвое растений *P. sibirica* на площадке ПП1 существенно выше, чем у деревьев на площадках ПП2-ПП4 (рис. 4Б), на которых ССК был развит в равной степени. Отношение суммы каротиноидов к сумме хлорофиллов в хвое на площадке ПП1 также имело максимальное значение (рис. 4Б), а на площадке ПП2 уступало площадке ПП1,

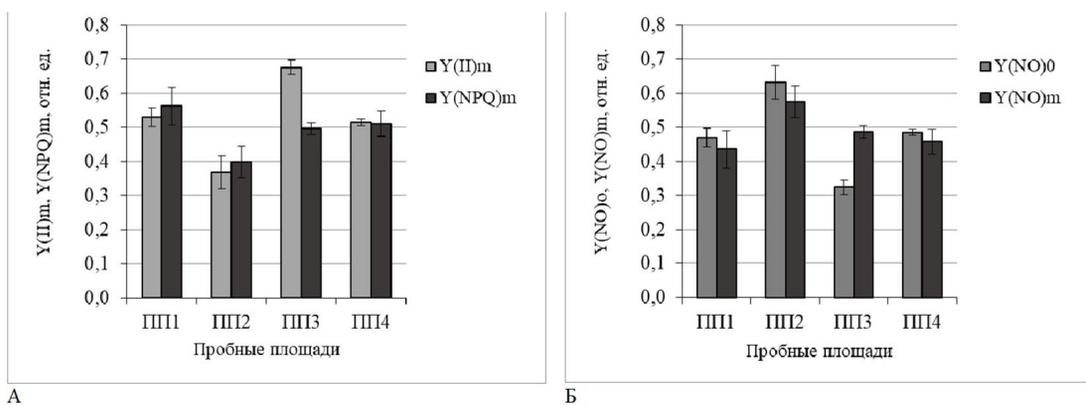


Рис. 5. Максимальный фотохимический квантовый выход фотосистемы II,  $Y(II)_{max}$ ; квантовый выход светоиндуцированного нефотохимического тушения флуоресценции,  $Y(NPQ)$ ; квантовый выход светонезависимого нефотохимического тушения флуоресценции,  $Y(NO)$  в хвое растений *Pinus sibirica*. Показаны средние значения ( $n=4$ ) и ошибки средних. А –  $Y(II)_m$  – максимальный фотохимический квантовый выход фотосистемы II в момент первой насыщающей вспышки;  $Y(NPQ)_m$  – максимальный квантовый выход светоиндуцированного нефотохимического тушения флуоресценции. Б –  $Y(NO)_o$  и  $Y(NO)_m$  – квантовый выход светонезависимого нефотохимического тушения флуоресценции в момент первой насыщающей вспышки и в условиях максимальной скорости транспорта электронов ( $ETR_m$ ) соответственно

Fig. 5. Maximum photochemical quantum yield of photosystem II,  $Y(II)_{max}$ ; quantum yield of light-induced non-photochemical fluorescence quenching,  $Y(NPQ)$ ; quantum yield of non-light induced non-photochemical fluorescence quenching,  $Y(NO)$ , in needles of *Pinus sibirica*. Means ( $n=4$ ) and standard errors of means are shown. А –  $Y(II)_m$  is maximum photochemical quantum yield of photosystem II at the time of the first saturating flash;  $Y(NPQ)_m$  is maximum quantum yield of light-induced non-photochemical fluorescence quenching. Б –  $Y(NO)_o$  and  $Y(NO)_m$  – quantum yields of non-light induced non-photochemical fluorescence quenching at the time of the first saturating flash and at maximum electron transport velocity ( $ETR_m$ ), respectively

но превосходило эту величину у хвои на площадках ПП3 и ПП4. Высокое содержание ССК и отношение  $Car/(Xl a + Xl b)$  в хвое растений *P. sibirica* на площадке ПП1 согласуется с необходимостью усиления защитной роли каротиноидов и пигментов ксантофиллового цикла в составе ССК (Maslova et al., 2021) в условиях повышенной инсоляции растений светом видимого и УФ-диапазонов. Протекторная функция ССК показана также для большой группы травянистых растений Западного Шпицбергена. Ведущим процессом оказывается нефотохимическое тушение флуоресценции, которое позволяет корректировать поступление и распределение световой энергии в растениях Арктики (Марковская, Шмакова, 2017).

Величина максимального квантового выхода фотосистемы II –  $Y(II)_{max}$ , в отличие

от  $F_m$ , которая во многом определяется количеством хлорофилла, формируется во время биогенеза фотосинтетического аппарата и характеризует способность реакционного центра фотосистемы II использовать энергию возбужденного хлорофилла на фотохимическое восстановление акцепторов фотосистемы II. Максимальная величина  $Y(II)_{max}$  зарегистрирована у хвои деревьев с площадки ПП3 (рис. 5А). Именно на этой площадке по количеству деревьев *P. sibirica* преобладает в составе древостоя (табл. 1). На площадке ПП4, где древесный ярус представлен большей частью деревьями *Abies sibirica*, величина  $Y(II)_{max}$  заметно снижена. В верхней части склона на площадке ПП1 потенциальная фотохимическая активность фотосистемы II сохраняла относительно высокий уровень

$Y(II)_{max}$ , но из-за низкого содержания хлорофилла и большой доли ССК (рис. 4Б) величина  $ETR_m$  оказалась низкой (рис. 2) по сравнению с нижерасположенными участками.

Светоиндуцированное нефотохимическое тушение флуоресценции –  $Y(NPQ)$  определяет долю безызлучательного рассеивания энергии, в котором участвует светособирающий хлорофилл-*a/b*-белковый комплекс (ССК) (Kramer et al., 2004; Maslova et al., 2021). Минимальные среди четырех площадок значения  $Y(NPQ)$  зарегистрированы у хвои деревьев *P. sibirica* на площадке ПП2, там же, где были минимальные значения  $Y(II)_m$ .

Квантовый выход неиндуцированных светом процессов диссипации энергии возбуждения, способных тушить флуоресценцию хлорофилла –  $Y(NO)$  (Kramer et al., 2004), по видимому, зависит от наличия центров тушения, сформированных в период биогенеза фотосинтетического аппарата. Это предположение справедливо и по отношению к величине максимального выхода фотосистемы II –  $Y(II)_m$ . Во время первой насыщающей вспышки света компонент тушения флуоресценции –  $Y(NPQ)$  равен нулю, поэтому  $Y(NO) = 1 - Y(II)_m$ . Напротив, при световом насыщении первичных реакций фотосинтеза актуальный квантовый выход фотосистемы II приближается к нулю, и  $Y(NO) \approx 1 - Y(NPQ)_m$ . Видимые различия между  $Y(NO)_o$  и  $Y(NO)_m$  (рис. 5Б) указывают на изменения в организации центров тушения флуоресценции хлорофилла во время регистрации световой кривой фотосинтеза. Независимо от момента регистрации  $Y(NO)_o$ , его величина у хвои на площадке ПП2 является максимальной. Значения  $Y(NO)$  на площадках ПП1 и ПП4 совпадают. На площадке ПП3 значения  $Y(NO)_o$  были минимальны на старте световой кривой, но выросли до значений на площадках ПП1 и ПП4 после насыщения световой кривой (рис. 5Б).

Высокие значения скорости электронного транспорта –  $ETR$  (см. рис. 2) и других зарегистрированных параметров флуоресценции хлорофилла (рис. 3) отмечены у деревьев *P. sibirica*, имеющих максимальную (высокую) абсолютно сухую массу хвои.

Обсуждение полученных результатов, очевидно, надо вести на основе возможных адаптаций у растений *P. sibirica* в зоне, расположенной на границе и выше границы леса, по сравнению с мелкотравным и крупнотравным пихтово-кедровым лесом. С увеличением высоты над уровнем моря сокращается период активного функционирования фотосинтетического аппарата. Весной возникает ситуация, когда хвоя сосны находится в состоянии вынужденного покоя, а уровень солнечной радиации достигает высоких значений. Светозависимые процессы, защищающие фотосинтетический аппарат от окислительного стресса в этот период еще неактивны. Адаптация в этих условиях может заключаться в снижении количества хлорофиллов на единицу массы и формировании антенного комплекса фотосистемы II с увеличенным содержанием центров тушения флуоресценции. По нашим данным, минимальное содержание хлорофилла *a* и каротиноидов отмечено в хвое на верхней площадке ПП1, и наблюдается увеличение этих показателей с понижением высоты над уровнем моря. Одновременно от максимума к минимуму изменяется отношение суммы каротиноидов к сумме хлорофиллов. Величина ССК максимальна на верхней площадке и остается постоянной на площадках ПП2-ПП4.

Сравнение функциональных показателей фотосинтетического аппарата у хвои деревьев *P. sibirica* показало увеличение скорости электронного транспорта –  $ETR_m$  от минимальных значений на площадке ПП1 к равным и более высоким значениям на площадках

ПП2-ПП4. Максимальный квантовый выход фотохимического тушения флуоресценции –  $Y(II)m$  был у хвои деревьев *P. sibirica* на ПП3, на которой в кедрово-пихтовом древостое преобладала *P. sibirica*.

Функциональные показатели фотосинтетического аппарата у хвои деревьев *P. sibirica* на ПП2 заслуживают особого внимания. Высокие значения светонезависимого нефотохимического тушения флуоресценции –  $Y(NO)$  одновременно с минимальными значениями  $Y(II)m$  и  $Y(NPQ)m$  указывает на отличный от других площадок способ защиты фотосинтетического аппарата хвои, который защищен снегом у стланиковых форм на площадке ПП1 или сомкнутыми кронами деревьев на площадках ПП3 и ПП4.

В работе Рубана (Ruban, 2015) утверждается, что механизм светозависимого нефотохимического тушения эффективен только при закрытых реакционных центрах фотосистемы II, то есть при высокой освещенности. Как показывает анализ литературы (Maslova et al., 2021; Pospisil, 1998), чувствительность к стрессу усиливается при высоких освещенностях.

Это связано с тем, что стресс, вызывая различные метаболические нарушения, затрагивает энергетический обмен растения, в первую очередь процесс фотосинтеза. В этом случае растение начинает корректировать приход и использование световой энергии как наиболее простой и экономичный путь адаптации для коррекции метаболизма (Ruban, 2015), и механизм нефотохимического тушения входит как составляющая в систему неспецифических ответов растения в условиях стресса.

По выборке всех исследованных деревьев коэффициент корреляции между максимальной скоростью электронного транспорта –  $ETRm$  и абсолютно сухой массой хвои имеет высокие значения (табл. 2). Умеренные коэффициенты корреляции отмечены на верхних пробных площадях ПП1 и ПП2. Возможно, это связано с более коротким вегетационным периодом, когда за небольшое время необходимо нарастить биомассу, и хвоя фотосинтезирует более активно. Что касается максимального квантового выхода фотосистемы II –  $Y(II)m$  и нефотохимического тушения –  $Y(NPQ)$ , деревья сосны сибирской,

Таблица 2. Коэффициенты корреляции абсолютно сухой массы хвои *Pinus sibirica* со скоростью транспорта электронов, максимальным квантовым выходом, нефотохимическим тушением флуоресценции и содержанием фотосинтетических пигментов, рассчитанные по методу Пирсона

Table 2. Correlation coefficients between absolutely dry mass of *Pinus sibirica* needles and electron transport rate, maximum quantum yield, non-photochemical quenching of fluorescence and photosynthetic pigments content calculated by the Pearson method

| Показатели | Количество пар | Абсолютно сухая масса хвои |       |       |       |
|------------|----------------|----------------------------|-------|-------|-------|
|            |                | ПП1                        | ПП2   | ПП3   | ПП4   |
| $ETRm$     | 20             | 0,58*                      | 0,57* | 0,47* | 0,42  |
| $Y(II)m$   | 4              | 0,62                       | 0,69  | 0,64  | 0,63  |
| $Y(NPQ)m$  | 4              | 0,52                       | 0,22  | -0,40 | -0,85 |
| Ca         | 4              | 0,93*                      | 0,74  | 0,86  | 0,89  |
| Ca+Cb      | 4              | 0,92*                      | 0,76  | 0,88  | 0,89  |
| Ca/Cb      | 4              | 0,27                       | 0,23  | 0,35  | 0,57  |
| Scarot     | 4              | 0,92*                      | 0,56  | 0,46  | 0,46  |

\* выборочные коэффициенты корреляции достоверны для уровня значимости 0,95.

произрастающие выше границы леса и обладающие механизмами диссипации излишков световой энергии, имеют явное преимущество по набору массы хвои перед другими растениями с той же пробной площади. Для деревьев с других пробных площадей высокая доля нефотохимического тушения является скорее помехой. Ещё одним параметром, имеющим высокие значения коэффициентов корреляции с массой хвои для всех пробных площадей, является содержание хлорофиллов. Количество каротиноидов, даже в летний период, особенно важно для растений на верхней пробной площади (ПП1), что хорошо согласуется с необходимостью процессов нефотохимического тушения.

### Заключение

Для хвойных растений, произрастающих выше границы леса, основными рисками являются высокая интенсивность солнечной радиации в начале лета, вызывающая фотоингибирование фотосинтеза при низких положительных температурах, и более короткий вегетационный период. В зависимости от пигментного состава хвои, структурных особенностей фотосинтетического аппарата, интенсивности фотосинтеза и других параметров растения оказываются в разной степени устойчивыми.

Измерение параметров флуоресценции хлорофилла является удобным методом для фенотипирования хвойных, в частности сосны сибирской кедровой (*P. sibirica*), с целью выбора деревьев для сбора семенного материала и оптимизации лесовосстановления в условиях изменения климата. Однако необходимо выделять различные структурно-функциональные параметры фотосинтетического аппарата при фенотипировании растений из различных местообитаний.

В ходе исследования было выявлено, что для открытых местообитаний сосны сибирской, расположенных выше границы леса, важным параметром в летний период для прогнозирования наращивания массы хвои и площади фотосинтетического аппарата, что, в свою очередь, обеспечивает продуктивность всего растения, может стать скорость электронного транспорта, соотношение в пигментном комплексе хлорофиллов и каротиноидов, а также величина нефотохимического тушения флуоресценции.

Для деревьев, входящих в состав лесных фитоценозов, информативными параметрами являются скорость электронного транспорта, величина максимального квантового выхода фотосистемы II и содержание хлорофиллов в хвое.

### Список литературы / References

Бендер О.Г. (2019) Структурные и функциональные особенности хвои кедрового стланика в условиях юга Западной Сибири. *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии*, 18: 467–471 [Bender O.G. (2019) Structural and functional features of Siberian stone pine and Siberian dwarf pine needle in the south part of Western Siberia. *Problems of Botany of South Siberia and Mongolia* [Problemy botaniki Yuzhnoi Sibiri i Mongolii], 18: 467–471 (in Russian)]

Велисевич С.Н., Хуторной О.В., Горошкевич С.Н. (2013) Морфогенез стелющихся и прямостоячих форм *Pinus sibirica* Du Tour (Pinaceae) на интразональных границах распространения. *Журнал Сибирского федерального университета. Биология*, 6(3): 275–289 [Velisevich S.N., Khutornoy O.V., Goroshkevich S.N. (2013) Morphogenesis of upright and prostrate growth forms of *Pinus sibirica* Du Tour (Pinaceae) at the intrazonal distribution limits. *Journal of Siberian Federal University. Biology* [Zhurnal Sibirskogo federalnogo universiteta. Biologiya], 6(3): 275–289 (in Russian)]

Зотикова А. П., Бендер О. Г. (2009) Структура и функция ассимиляционного аппарата кедр сибирского в горах Центрального Алтая. *Журнал Сибирского федерального университета. Биология*, 2(1): 80–89 [Zotikova A. P., Bender O. G. (2009) Structure and function of Siberian stone pine assimilation apparatus in central Altai Mountains. *Journal of Siberian Federal University. Biology* [Zhurnal Sibirskogo federalnogo universiteta. Biologiya], 2(1): 80–89 (in Russian)]

Котеева Н. К. (2002) Особенности сезонной ритмики ультраструктуры клеток апикальной меристемы побега и мезофилла хвои *Pinus sylvestris* (Pinaceae). *Ботанический журнал*, 87(11): 50–60 [Koteeva N. K. (2002) Features of the seasonal rhythm of *Pinus sylvestris* (Pinaceae) cell ultrastructure in shoot apical meristem and needle mesophyll. *Botanical Journal* [Botanicheskii zhurnal], 87(11): 50–60 (in Russian)]

Марковская Е. Ф., Шмакова Н. Ю. (2017) *Растения и лишайники Западного Шпицбергена: экология, физиология*. Петрозаводск, ПетрГУ, 270 с. [Markovskaya E. F., Shmakova N. Yu. (2017) *Plants and lichens of Western Spitsbergen: ecology, physiology*. Petrozavodsk, Petrozavodsk State University, 270 p. (in Russian)]

Никитина Н. В., Михайлова Л. М. (2018) Рост и развитие подростка кедр (*Pinus sibirica* Du Tour) под пологом леса и на вырубках Юго-Западной Якутии. *Успехи современного естествознания*, 12–2: 296–301 [Nikitina N. V., Mikhaylova L. M. (2018) Growth and development of the cedar (*Pinus sibirica* Du Tour) adolescent under the forest protection and on the cut-over areas of south-western Yakutia. *Advances in Current Natural Sciences* [Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya], 12–2: 296–301 (in Russian)]

Николаева С. А., Панов А. Н. (2012) Сезонный рост и развитие побегов кедр сибирского под пологом сосновых и березовых насаждений. *Лесоведение*, 3: 59–68 [Nikolaeva S. A., Panov A. N. (2012) Seasonal growth and development of shoots in Siberian stone pine under deciduous-pine canopy. *Russian Journal of Forest Science* [Lesovedenie], 3: 59–68 (in Russian)]

Пахарькова Н. В., Кузьмина Н. А., Кузнецова Г. В., Кузьмин С. Р. (2019) Диагностика устойчивости представителей рода *Pinus* к периодическим повышениям температуры в зимне-весенний период. *Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии*, 227: 88–106 [Pakharkova N. V., Kuzmina N. A., Kuznetsova G. V., Kuzmin S. R. (2019) Diagnostics of genus *Pinus* representatives resistance to periodical temperature increases during winter-spring period. *News of the Saint Petersburg Forestry Academy* [Izvestiya Sankt-Peterburgskoi lesotekhnicheskoi akademii], 227: 88–106 (in Russian)]

Плохинский Н. А. (1970) *Биометрия*. Москва, МГУ, 367 с. [Plokhinsky N. A. (1970) *Biometrics*. Moscow, Moscow State University, 367 p. (in Russian)]

Плюснина С. Н., Тужилкина В. В. (2021) Структурно-функциональная характеристика фотосинтетического аппарата подростка *Pinus sylvestris* (Pinaceae) в подзоне средней тайги европейского Северо-Востока. *Ботанический журнал*, 106(11): 1072–1084 [Plyusnina S. N., Tuzhilkina V. V. (2021) Structural and functional characteristics of the photosynthetic apparatus of *Pinus sylvestris* (Pinaceae) regrowth in the middle taiga subzone of the European north-east. *Botanical Journal* [Botanicheskii zhurnal], 106(11): 1072–1084 (in Russian)]

Сташкевич Н. Ю., Данилина Д. М., Сенашова В. А. (2013) Оценка состояния подростка *Pinus sibirica* Du tour и *Abies sibirica* Ledeb. в смешанных производных лесах черного пояса Западного Саяна. *Вестник Красноярского государственного университета*, 9: 145–150 [Stashkevich N. Yu., Danilina D. M., Senashova V. A. (2013) Assessment of the state of the adolescent *Pinus sibirica* Du tour and *Abies sibirica* Ledeb. in mixed secondary forests of the black belt of the West Siberian Sayans. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo universiteta*, 9: 145–150 (in Russian)]

(2013) Undergrowth condition assessment of *Pinus sibirica* Du Tour and *Abies sibirica* Ledeb. in the mixed second growth forests of the western Sayan dark belt. *Bulletin of KrasGAU* [Vestnik KrasGAU], 9: 145–150 (in Russian)]

Тужилкина В. В. (2012) Пигментный комплекс хвои сосны в лесах европейского Северо-Востока. *Лесоведение*, 4: 16–23 [Tuzhilkina V. V. (2012) Pigment complex of pine in phytocenoses of the European north-east. *Russian Journal of Forest Science* [Lesovedenie], 4: 16–23 (in Russian)]

Шигапов З. Х., Путенихина К. В., Шигапова А. И., Уразбахтина К. А., Путенихин В. П. (2016) Генетическое разнообразие кедра сибирского при интродукции на Южном Урале и в Башкирском Предуралье. *Сибирский лесной журнал*, 5: 137–146 [Shigapov Z. Kh., Putenikhina K. V., Shigarova A. I., Urazbakhtina K. A., Putenikhin V. P. (2016) Genetic diversity of Siberian stone pine under introduction in the south Urals and Bashkir cis-Urals. *Siberian Journal of Forest Science* [Sibirskii lesnoi zhurnal], 5: 137–146 (in Russian)]

Bag P., Chukhutsina V., Zhang Z., Paul S., Ivanov A. G., Shutova T., Croce R., Holzwarth A. R., Jansson S. (2020) Direct energy transfer from photosystem II to photosystem I confers winter sustainability in Scots Pine. *Nature Communications*, 11: 6388

Demidchik V. V., Shashko A. Y., Bandarenka U. Y., Smolikova G. N., Przhevalskaya D. A., Charnysh M. A., Pozhvanov G. A., Barkosvkyi A. V., Smolich I. I., Sokolik A. I., Yu M., Medvedev S. S. (2020) Plant phenomics: fundamental bases, software and hardware platforms, and machine learning. *Russian Journal of Plant Physiology*, 67(3): 397–412

Dutta S., Cruz J. A., Jiao Y., Chen J., Kramer D. M., Osteryoung K. W. (2015) Non-invasive, whole-plant imaging of chloroplast movement and chlorophyll fluorescence reveals photosynthetic phenotypes independent of chloroplast photorelocation defects in chloroplast division mutants. *Plant Journal*, 84(2): 428–442

Furbank R. T., Tester M. (2011) Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science*, 16(12): 635–644

Grigoriev A. A., Shalaumova Y. V., Vyukhin S. O., Balakin D. S., Kukarskikh V. V., Vyukhina A. A., Camarero J. J., Moiseev P. A. (2022) Upward treeline shifts in two regions of subarctic Russia are governed by summer thermal and winter snow conditions. *Forests*, 13(2): 174

James J. C., Grace J., Hoad S. P. (1994) Growth and photosynthesis of *Pinus sylvestris* at its altitudinal limit in Scotland. *Journal of Ecology*, 82(2): 297–306

Kharuk V. I., Im S. T., Petrov I. A. (2021) Alpine ecotone in the Siberian Mountains: vegetation response to warming. *Journal of Mountain Science*, 18(12): 3099–3108

Kharuk V. I., Im S. T., Dvinskaya M. L. (2010) Forest-tundra ecotone response to climate change in the Western Sayan Mountains, Siberia. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 25(3): 224–233

Kramer D. M., Johnson G., Kiirats O., Edwards G. E. (2004) New fluorescence parameters for the determination of  $Q_A$  redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research*, 79(2): 209–218

Lichtenthaler H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350–382

Maslova T. G., Markovskaya E. F., Slemnev N. N. (2021) Functions of carotenoids in leaves of higher plants (review). *Biology Bulletin Reviews*, 11(5): 476–487

Moiseev P. A., Hagedorn F., Balakin D. S., Bubnov M. O., Devi N. M., Kukarskih V. V., Mazepa V. S., Viyukhin S. O., Viyukhina A. A., Grigoriev A. A. (2022) Stand biomass at treeline

ecotone in Russian subarctic mountains is primarily related to species composition but its dynamics driven by improvement of climatic conditions. *Forests*, 13(2): 254

Pakharkova N., Borisova I., Sharafutdinov R., Gavrikov V. (2020) Photosynthetic pigments in Siberian pine and fir under climate warming and shift of the timberline. *Forests*, 11(1): 63

Pakharkova N., Kazantseva A., Sharafutdinov R., Borisova I., Gavrikov V. (2021) Two-species forests at the treeline of Siberian mountains: An ecophysiological perspective under climate change. *Plants*, 10(4): 763

Petrov I. A., Shushpanov A. S., Golyukov A. S., Dvinskaya M. L., Kharuk V. I. (2021) Dynamics of tree and shrub vegetation in the Eastern Sayan mountain tundra. *Russian Journal of Ecology*, 52(5): 399–405

Petrov I. A., Kharuk V. I., Dvinskaya M. L., Im S. T. (2015) Reaction of coniferous trees in the Kuznetsk Alatau alpine forest-tundra ecotone to climate change. *Contemporary Problems of Ecology*, 8(4): 423–430

Petrov I. A., Shushpanov A. S., Golyukov A. S., Kharuk V. I. (2019) *Pinus sibirica* Du Tour response to climate change in the forests of the Kuznetsk Alatau Mountains. *Siberian Journal of Forest Science*, 5: 43–53

Pospisil P. (1998) Mechanisms of non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching in higher plants. *Photosynthetica*, 34(3): 343–355

Rolfe S. A., Scholes J. D. (2010) Chlorophyll fluorescence imaging of plant-pathogen interactions. *Protoplasma*, 247(3–4): 163–175

Ruban A. V. (2015) Evolution under the sun: Optimizing light harvesting in photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 66(1): 7–23

Sannikov S. N., Tantsyrev N. V., Petrova I. V. (2018) Invasion of Siberian pine populations in mountain tundra in the northern Urals. *Contemporary Problems of Ecology*, 11(4): 396–405

Sofronova V. E., Dymova O. V., Golovko T. K., Chepalov V. A., Petrov K. A. (2016) Adaptive changes in pigment complex of *Pinus sylvestris* needles upon cold acclimation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(4): 433–442

Smolikova G., Kreslavski V., Shiroglazova O., Bilova T., Sharova E., Frolov A., Medvedev S. (2018) Photochemical activity changes accompanying the embryogenesis of pea (*Pisum sativum*) with yellow and green cotyledons. *Functional Plant Biology*, 45(2): 228–235

Tranquillini W. (1979) *Physiological ecology of the alpine timberline: tree existence at high altitudes with special reference to the European Alps. Ecological studies (analysis and synthesis), Volume 31.* New York, Berlin, Springer-Verlag, 137 p.

Wintermans J. F. G. M., De Mots A. (1965) Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta*, 109(2): 448–453

Zagirova S. V. (2001) Structure and CO<sub>2</sub> exchange in the needles of *Pinus sylvestris* and *Abies sibirica*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48(1): 23–28