

Оригинальная статья

УДК 574/577+581.19+518.4+518.96

<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2024-4-487-499>

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ И КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ГИБРИДОГЕННОГО ТАКСОНА *ECHINOPS SAKSONOVII* (ASTERACEAE, ASTERALES) В СРАВНЕНИИ С РОДИТЕЛЬСКИМИ ВИДАМИ

О. А. Розенцвет[✉], Е. С. Богданова, В. А. Розенцвет,
Н. А. Саблина, Т. М. Гребенкина

Самарский федеральный исследовательский центр РАН,
Институт экологии Волжского бассейна РАН
Россия, 445003, г. Тольятти, ул. Колзина, д. 10

Поступила в редакцию 30.06.2023 г., после доработки 29.02.2024 г., принята 29.02.2024 г., опубликована 17.12.2024 г.

Аннотация. Гибридизация – важный компонент эволюции и видообразования растений. Межвидовые и внутривидовые скрещивания могут приводить к изменениям генома, тем самым влияя на морфологию, адаптацию, рост и развитие новых видов растений. Гибридогенный вид *Echinops saksonovii* Vasjukov происходит от интрогрессивной гибридизации *E. ruthenicus* M. Bieb. и *E. sphaerocephalus* L. На морфологическом уровне *E. saksonovii* отличался от родительских видов меньшими линейными размерами листьев и большей длиной устьиц. Содержание зеленых пигментов и каротиноидов в листьях нотовида было в 2.0 и 2.5 раза больше, но по их соотношению нотовид ближе к родительскому виду *E. ruthenicus*. В липидном комплексе *E. saksonovii* обнаружено повышенное содержание липидов, ответственных за формирование тилакоидных и непластидных мембран. Среди вторичных соединений листьев растений *E. saksonovii* накапливали больше флавоноидов и пролина. По количественному содержанию фенольных соединений и продуктов перекисного окисления *E. saksonovii* ближе к родительскому теневыносливому виду *E. sphaerocephalus*. Таким образом, выявлены особенности структурно-функциональной организации и клеточного метаболизма в листьях гибридогенного вида *E. saksonovii* в сравнении с родительскими видами, что может способствовать лучшей приспособляемости и жизнеспособности *E. saksonovii* и, как следствие, к большей конкурентоспособности.

Ключевые слова: абиотические факторы, антиоксидантный комплекс, гибридогенный таксон, липиды, межвидовая гибридизация, пигменты, структура листа

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии Волжского бассейна РАН – филиала Самарского научного центра РАН (№ 1021060107217-0-1.6.19).

[✉] Для корреспонденции. Лаборатория исследования экосистем Института экологии Волжского бассейна РАН – филиала Самарского научного центра РАН.

ORCID и e-mail адреса: Розенцвет Ольга Анатольевна: <https://orcid.org/0000-0001-6312-3620>, olgarozen55@mail.ru; Богданова Елена Сергеевна: <https://orcid.org/0000-0002-2445-1952>, cornales@mail.ru; Розенцвет Виктор Александрович: <https://orcid.org/0000-0002-1826-9636>, rozenzvet@mail.ru; Саблина Нелли Александровна: <https://orcid.org/0000-0003-1588-8367>, nellitlt@mail.ru; Гребенкина Татьяна Михайловна: <https://orcid.org/0000-0003-2567-774X>, matane4ka@yandex.ru.

Соблюдение этических норм. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования. Розенцвет О. А., Богданова Е. С., Розенцвет В. А., Саблина Н. А., Гребенкина Т. М. Особенности структурно-функциональной организации листьев и клеточного метаболизма гибридного таксона *Echinops saksonovii* (Asteraceae, Asterales) в сравнении с родительскими видами // Поволжский экологический журнал. 2024. № 4. С. 487 – 499. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2024-4-487-499>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время нет сомнений в том, что гибридизация является частым и важным компонентом эволюции и видообразования растений (Papuga et al., 2019; Rodionov et al., 2019). Данные о встречающихся в природе гибридах растений достаточно многочисленны (Gross, Rieseberg, 2005; Whitney et al., 2010). Гибридизация имеет как полезные, так и вредные последствия, приводя в одних случаях к увеличению разнообразия, а в других – к возможному вымиранию популяций или видов (Mallet, 2005; Soltis, Soltis, 2009; López-Caamal, Tovar-Sánchez, 2014). Полагают, что естественная гибридизация у растений происходит с разной частотой и в значительной степени определяется внутренними свойствами, а не условиями окружающей среды (Thompson et al., 2010; Whitney et al., 2006; 2010).

Габитус растения и морфологические признаки используются для идентификации близкородственных видов или гибридных поколений (Bobowicz et al., 2000; Vasilyeva, 2021). В то же время гибридизация часто приводит к образованию уникальных метаболитов или метаболических профилей (Kirk et al., 2005). Гибридное наследование отдельных классов метаболитов (например, флавоноидов, алкалоидов или терпеноидов) у многих видов хорошо изучено (Rieseberg et al., 1993; Orians, 2000). Однако широкий спектр первичных и вторичных метаболитов в сочетании с морфологией и экологией вида исследован мало.

Род *Echinops* L. (Asteraceae Dumort.) включает около 120 – 130 видов много-, реже однолетних травянистых растений, встречающихся в тропической Африке, в Средиземноморском регионе, умеренных районах Евразии, Средней Азии, Монголии и северо-восточного Китая. Большее разнообразие видов зафиксировано на Кавказе и Ближнем Востоке (Bitew, Hymete, 2019). Важным диагностическим признаком рода является строение общего соцветия – шаровидной формы, которое сохраняется от фазы бутонизации до полного отцветания. Соцветия локализуются одиночно на концах ветвей (Hedge, 1975; Bobrov, 1997; Sánchez-Jiménez et al., 2010).

Для определения внутривидовых границ *Echinops* L. используют также диагностические признаки строения гомогамных корзинок (Hedge, 1975; Bobrov, 1997), различия в опушении листьев, длине покрытых волосков, характере строения стеблей (Somayeh et al., 2017; Кныазев, 2018). К решению таксономических задач привлекают молекулярно-филогенетические исследования: пластидную ДНК и ядерную рибосомную ДНК (Sánchez-Jiménez et al., 2010; Ali et al., 2015; Somayeh et al., 2017).

Описанный В. М. Васюковым (Vasjukov, Bondareva, 2021) гибридогенный вид *Echinops saksonovii* Vasjukov является таксоном, происходящим от интрогрессивной гибридизации *Echinops ruthenicus* M. Bieb. и *E. sphaerocephalus* L. Растения гибридогенного таксона отличаются от родительских видов высотой стебля, архитектурой листа, размерами и цветом соцветий.

Цель – изучить особенности структурно-функциональной организации листьев и клеточного метаболизма гибридогенного таксона *E. saksonovii* в сравнении с родительскими видами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования выбраны три вида рода *Echinops* (*E. ruthenicus*, *E. sphaerocephalus* и *E. saksonovii*). Представленные виды произрастали в двух локациях, расположенных в различных географических районах Приволжской возвышенности: в Волгоградской области (49°71'39" с.ш., 44°36'49" в.д.) и Ульяновской области (54°02'06" с.ш., 48°40'01" в.д.).

Растения каждого вида отбирали во второй декаде июня 2020 и 2021 гг. в период цветения растений на площадках размером 20×20 м. Одновременно отбирали образцы почвы методом конверта на глубине 10 – 15 см. Кислотность и влажность почвы определяли согласно рекомендациям (Arinushkina, 1970). Анализ минерального остатка почвенной вытяжки проводили в сертифицированной лаборатории ФГБУ САС «Самарская».

Морфометрические показатели листьев определяли у 10 – 20 растений каждого вида методами классической морфометрии, оперирующей линейными размерами органов, а также современными методами геометрической морфометрии. Визуализацию морфологических параметров осуществляли с помощью цифрового фотоаппарата Nikon D-3200 (Nikon, Япония), для каждого вида растений делали 8 фотографий. Обработку изображений проводили в программе JMicroVision-v.1.3.4 (Nicolas Roduit, Швейцария).

Из средней части зрелых свежесобранных листьев формировали общую биомассу. Часть биомассы использовали для определения оводненности тканей после их высушивания при температуре 60°C до постоянного веса. Содержание воды рассчитывали после определения веса сырой и сухой массы (сыр. м. и сух. м.) и выражали в % от сыр. м.

Из другой части общей биомассы отбирали по три параллельные пробы (0.1 – 0.5 г) для каждого вида анализа и хранили в жидком азоте при температуре -196°C.

Удельную плотность поверхности листа (УППЛ) определяли в 20 дисках площадью 1 см², которые высушивали до постоянного веса. Расчет осуществляли по формуле: m / S , г/дм², где m – количество сух. м., г; S – площадь поверхности листа, дм².

Подсчет устьиц проводили на продольных парадермальных срезах листьев, предварительно зафиксированных в 3.5% глутаровом альдегиде (pH 7.5), подсчитывали число устьиц в 1 см² на нижней поверхности листа, измеряли их длину в мкм. Для анализа использовали биологический микроскоп «ОПТИКА» В-500TPL (ОПТИКА, Италия).

Фотосинтетические пигменты экстрагировали холодным ацетоном (90%) из 0.5 г свежесзамороженных листьев. Содержание пигментов определяли в полученном ацетоновом экстракте спектрофотометрически. Концентрацию хлорофиллов (Хл) *a* и *b* измеряли при длинах волн 662 и 645 нм соответственно, каротиноидов (Кар) – при 470 нм. Расчет концентрации выделенных пигментов производили по методу (Lichtenthaler, 1987).

Содержание свободного пролина определяли кислым нингидриновым реактивом по методу (Bates et al., 1973) и рассчитывали на 1 г сух. м.

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в листьях растений оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) по реакции с тиобарбитуровой кислотой (Uchiyama, Mihara, 1978).

Липиды экстрагировали смесью хлороформ – метанол (1:2) с одновременным механическим разрушением тканей. Разделение липидов осуществляли методом тонкослойной хроматографии. Количество мембранных липидов определяли денситометрическим методом, используя программу «Денскан-04» (Россия). Хроматограммы анализировали в режиме параболической аппроксимации по градуировочным зависимостям, используя фосфатидилхолин (ФХ), моногалактозилдиацилглицерин (МГДГ) в качестве стандартов (Rozentsvet et al., 2014).

Метанолиз жирных кислот (ЖК) осуществляли их кипячением в 2.5% растворе HCl в метаноле. Полученные эфиры анализировали на хроматографе «Хроматэк Кристалл 5000.1» («Хроматэк», Россия) в изотермическом режиме с использованием капиллярной колонки, длиной 105 м и диаметром 0.25 мм «RESTEK» (США). Температура колонки 180°C, испарителя и детектора – 260°C, скорость тока газаносителя (гелий) – 2 мл/мин.

Общее содержание фенольных соединений и флавоноидов устанавливали по методу T. Swain, W. E. Hillis (1959) и выражали в мг/г сух. м. в эквиваленте галловой кислоты. Общее содержание флавоноидов выражали в мг/г сух. м. в эквиваленте рутина.

Для определения концентрации пигментов, свободного пролина, ПОЛ использовали спектрофотометр «ПЭ-3000 УФ» («ПромЭкоЛаб», Россия).

Анализ каждого компонента проводили трижды в каждой параллельной пробе. Результаты представлены в виде средних значений параметра и их стандартных ошибок. В отдельных случаях дополнительно показаны минимальные и максимальные значения. Сравнение количественных характеристик данных проводили с помощью дисперсионного анализа (One-way ANOVA). Расчеты выполняли, используя программы Statistica 10.0 for Windows (StatSoft Inc, США), Past 3 (Oyvind Hammer, Норвегия), Microsoft Excel 2007 (Microsoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованные виды рода *Echinops* (*E. ruthenicus*, *E. sphaerocephalus* и *E. saksonovii*) представляют собой стержнекорневые травянистые многолетники. По экологическому режиму, обусловленному увлажнением, растения считают ксерофитами. Однако *E. ruthenicus* является восточноевропейско-западноазиатским видом, который произрастает на каменистых склонах, известняковых и меловых об-

нажениях, в степях (Кныазев, 2018). *E. sphaerocephalus* – европейско-западноазиатский вид, растёт на лесных полянах и опушках, степных склонах, среди кустарников, у дорог (Rakov et al., 2014). В свою очередь, *E. saksonovii* предпочитает песчаные степи и боровые пески лесостепной зоны Европейской России (Vasjukov, Bondareva, 2021). Следовательно, прослеживается существенная разница в экологических предпочтениях как родительских видов, так и гибридогенного вида.

Почвы, на которых произрастали три исследуемых вида, оцениваются как щелочные. Влажность почвенного покрова, на котором произрастал *E. saksonovii*, была на 5% больше, чем та, на которой произрастали *E. ruthenicus* и *E. sphaerocephalus*. Показано, что в почве места произрастания гибридогенного таксона существенно ниже концентрации ионов, особенно ионов кальция, чем у родительских видов (табл. 1). Можно предположить, что *E. saksonovii* более требователен к обеспеченности почвы влагой и обладает меньшей физиологической потребностью в кальциевом компоненте.

Таблица 1. Характеристика почвы в местах произрастания видов рода *Echinops* L.
Table 1. Soil characteristics in the habitats of species from the genus *Echinops* L.

Параметр / Parameter	<i>E. ruthenicus</i>	$\frac{F}{P}$	<i>E. sphaerocephalus</i>	$\frac{F}{P}$	<i>E. saksonovii</i>
Влажность почвы, % / Soil moisture, %	14.20±1.16	<u>11.1</u> 0.03	14.20±2.11	<u>8.4</u> 0.044	19.10±2.04
pH	8.00	–	8.00	–	8.30
Катионы / Cations					
Ca ²⁺	1.20±0.11	<u>185.4</u> 0.0001	1.20±0.15	<u>108.3</u> 0.0001	0.25±0.05
K ⁺	0.14±0.04	–	0.14±0.05	–	0.05±0
Na ⁺	0.07±0.01	<u>6.0</u> 0.07	0.07±0.02	<u>2.4</u> 0.19	0.05±0.01
Mg ²⁺	0.10±0.01	<u>0.0</u> 1.0	0.10±0.03	<u>0.0</u> 1.0	0.10±0.01
Анионы / Anions					
HCO ₃ ⁻	0.96±0.10	<u>112.7</u> 0.003	0.96±0.13	<u>70.6</u> 0.008	0.30±0.04
Cl ⁻	0.06±0	<u>1.5</u> 0.28	0.06±0.01	<u>4.0</u> 0.13	0.05±0.01
SO ₄ ²⁻	0.50±0.03	<u>0.0</u> 1.0	0.50±0.05	<u>0.0</u> 1.0	0.50±0.02

Примечание. *F* – критерий Фишера, *P* – уровень значимости; жирным шрифтом выделен фактический уровень значимости между гибридогенным и родительскими видами.

Note. Fisher's criterion, *P* – significance level; the actual level of significance between the hybridogenic and parental species is shown in bold.

Отметим, что температурный режим в районах произрастания исследованных видов также существенно различался. Так, в Волгоградской области в период массового цветения растений среднесуточная температура воздуха составляла 23.7°C, а средняя дневная температура – 26.6°C. В Ульяновской области температурные значения были на уровне 22.5°C и 17.7°C соответственно.

Морфометрические показатели листьев исследованных видов измеряли в двух разных географических районах. Линейные размеры листьев родительских видов варьировали в очень широких пределах – от 52 до 276 мм в длине и от 25 до 79 мм в ширине. В отличие от родительских видов у растений гибридогенного таксона длина и ширина листьев была ниже как по средним значениям (в 5 – 6 раз), так и в сравнении с минимальными и максимальными значениями линейных размеров листьев (в 4.5 – 7 раз). При этом значения толщины листовой пластины у гибридогенного вида менялись в тех же пределах, как и у родительских видов (табл. 2). Листья гибридогенного вида отличались также по характеру организации устьичного аппарата. Так, длина устьиц у *E. saksonovii* в 4 раза больше, а их число вдвое ниже, чем у родительских видов. Листья его более оводнены: содержание воды в них в 1.2 раза больше, чем у родительских видов. Различия в содержании воды в листьях отразились на таком показателе, как удельная поверхностная плотность листа, у гибридогенного вида он почти вдвое ниже в сравнении с *E. ruthenicus* и вдвое ниже в сравнении с *E. sphaerocephalus*. Таким образом, очевидно, что структурная организация листа наряду с другими морфологическими параметрами является отличительным признаком *E. saksonovii*.

Таблица 2. Морфометрические показатели листьев и содержание воды в листьях видов рода *Echinops* L.

Table 2. Morphometric parameters and water content in the leaves of species from the genus *Echinops* L.

Параметр / Parameter	<i>E. ruthenicus</i>	$\frac{F}{P}$	<i>E. sphaerocephalus</i>	$\frac{F}{P}$	<i>E. saksonovii</i>
Длина листа, мм / Leaf length, mm	<u>52.0 – 276.0</u> 148.0±12.5	291.0 0.003	<u>64.0 – 253.0</u> 156.0±13.4	287.8 0.003	<u>14.0 – 39.0</u> 23.0±2.2
Ширина листа, мм / Leaf width, mm	<u>25.0 – 79.0</u> 47.0±3.9	233.5 0.002	<u>42.0 – 84.0</u> 62.0±5.4	255.5 0.002	<u>6.0 – 19.0</u> 11.0±1.2
Толщина листа, мм / Leaf thickness, mm	<u>0.18 – 0.34</u> 0.25±0.03	0.0 1.0	<u>0.20 – 0.55</u> 0.30±0.04	3.7 0.15	<u>0.12 – 0.48</u> 0.25±0.2
Удельная поверхностная плотность листа, г/дм ² / Specific surface density of a leaf, g/dm ²	<u>2.18 – 2.37</u> 2.27±0.05	2917.0 0.0002	<u>1.07 – 2.40</u> 1.73±0.26	48.8 0.019	<u>0.41 – 0.95</u> 0.68±0.01
Число устьиц, тыс. шт. / см ² листа / Number of stomata, thousand pcs/cm ² of a leaf	<u>20.0 – 130.1</u> 85.2±7.5	136.9 0.007	<u>40.1 – 100.3</u> 70.0±7.4	68.9 0.01	<u>34.0 – 35.1</u> 34.5±0.3
Длина устьиц, мкм / Stomata length, µm	<u>6.0 – 8.0</u> 7.0±0.8	3535.0 0.0002	<u>8.0 – 9.0</u> 8.5±0.0	1014 0.0002	<u>34.0 – 35.0</u> 34.5±0.0
Оводненность, % от сыр. м. / Water content, % of crude mass	<u>66.0 – 54.0</u> 60±0.02	760.5 0.0001	<u>56.0 – 63.0</u> 60±0.02	760.5 0.0001	<u>72.0 – 74.0</u> 73.0±0.02

Примечание. *F* – критерий Фишера, *P* – уровень значимости; жирным шрифтом выделен фактический уровень значимости между гибридогенным и родительскими видами.

Note. *F* – Fisher’s criterion, *P* – significance level; the actual level of significance between the hybridogenic and parental species is shown in bold.

Оводненность листьев, диффузия CO₂ через устьичный аппарат и содержание пигментов в совокупности обеспечивают эффективность фотосинтеза. Содержание зеленых пигментов в листьях *E. saksonovii* было в 2 раза больше, чем в листьях *E. ruthenicus* и *E. sphaerocephalus*, независимо от места произрастания, что говорит о большей фотосинтетической активности гибридогенного вида (табл. 3). Для всех

видов характерен стабильный параметр соотношения Хл / Кар. Однако большее в 2.5 раза содержание Кар (мощного липофильного антиоксиданта) указывает на то, что *E. saksonovii* более устойчив к свободнорадикальным процессам (Maslova et al., 2021).

Таблица 3. Содержание и соотношение фотосинтетических пигментов видов рода *Echinops* L.
Table 3. Content and ratio of photosynthetic pigments in species from the genus *Echinops* L.

Параметр / Parameter	<i>E. ruthenicus</i>	$\frac{F}{P}$	<i>E. sphaerocephalus</i>	$\frac{F}{P}$	<i>E. saksonovii</i>
Хл <i>a</i> , мг/г сух. м. / Chlorophylls <i>a</i> , mg/g fresh weight	2.2–3.3 2.7±0.4	73.5 0.001	1.5–2.2 1.9±0.3	155.0 0.0003	4.3–6.6 5.5±0.4
Хл <i>b</i> , мг/г сух. м. / Chlorophylls <i>b</i> , mg/g fresh weight	0.7–1.3 0.9±0.1	24.0 0.008	0.7–0.8 0.7±0.1	54.0 0.001	1.3–2.2 1.3±0.1
Каротиноиды, мг/г сух. м. / Carotenoids, mg/g fresh weight	0.7–0.9 0.7±0.1	60.0 0.004	0.5–0.5 0.6±0.1	72.6 0.003	1.3–1.8 1.7±0.2
Σ пигментов, мг/г сух. м. / Σ pigments, mg/g fresh weight	4.5±0.6	62.3 0.01	3.3±0.5	118.2 0.0006	8.7±0.7
Хл <i>a</i> / Хл <i>b</i> / Chl <i>a</i> / <i>b</i>	3.0	–	2.7	–	4.2
Хл / Кар / Chlorophylls / Carotenoids	4.7	–	4.5	–	4.6

Примечание. *F* – критерий Фишера, *P* – уровень значимости; жирным шрифтом выделен фактический уровень значимости между гибридогенным и родительскими видами.

Note. *F* – Fisher's criterion, *P* – significance level; the actual level of significance between the hybridogenic and parental species is shown in bold.

Пигменты, интегрированные в мембраны тилакоидов хлоропластов и связанные с липидами и белками, представляют собой продукты первичного метаболизма (Ben-Shem et al., 2003). В липидном комплексе трех видов рода *Echinops* выявлена заметная разница между концентрациями мембранных липидов. Повышенное содержание галактолипидов (МГДГ и ДГДГ), а также сульфолипида (СХДГ) и фосфатидилглицерина (ФГ), ответственных за формирование отдельных субъединиц фотосинтетического аппарата, свидетельствуют о различиях структуры листьев родительских видов и их гибридогенного таксона на субклеточном и мембранном уровнях организации (рис. 1, *a*). Известно, что МГДГ и ДГДГ являются главными мембранообразующими компонентами тилакоидов, а ФГ принимает участие в сборке светособирающего комплекса фотосистемы II (Wada, Murata 2007). СХДГ обеспечивает электростатическое взаимодействие с аминокислотными остатками белков тилакоидной мембраны. Этим создается прочное закрепление белков в мембране, что препятствует слипанию мембран и позволяет хранить регулярно уложенные мембраны (Jones, 2007; Kobayashi et al., 2016; Rocha et al., 2018). Можно полагать, что повышенное содержание МГДГ, ДГДГ, ФГ и СХДГ говорит о большей протяженности мембран и устойчивости тилакоидов *E. saksonovii*, в которые интегрированы хлорофилл-белковые комплексы фотосинтетического аппарата.

Содержание строительных структурных единиц непластидных мембран также было выше в листьях *E. saksonovii*. В частности, содержание двух классов липидов фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ), которые считают ос-

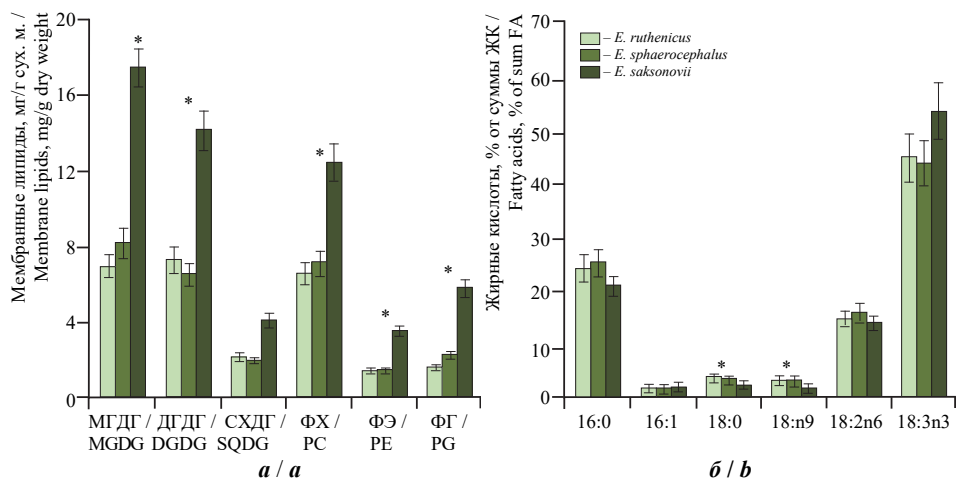


Рис. 1. Липидный комплекс видов рода *Echinops*: *a* – полярные липиды (МГДГ – моногалактозилдиацилглицерин, ДГДГ – дигалактозилдиацилглицерин, СХДГ – сульфохиновозилдиацилглицерин, ФХ – фосфатидилхолин, ФЭ – фосфатидилэтанолламин, ФГ – фосфатидилглицерин), *б* – жирные кислоты (16:0 – пальмитиновая, 16:1 – пальмитоолеиновая, 18:0 – стеариновая; 18:1 – олеиновая, 18:2 – линолевая, 18:3 – линоленовая). * – достоверные различия ($p < 0.05$) между гибридогенным и родительскими видами

Fig. 1. Lipid complex of species from the genus *Echinops*: *a* – polar lipids (MGDG, monogalactosyldiacylglycerol; DGDG, digalactosyldiacylglycerol; SQDG, sulfoquinovosyldiacylglycerol; PC, phosphatidylcholine; PE, phosphatidylethanolamine; PG, phosphatidylglycerol), *b* – fatty acids (16:0 – palmitic, 16:1 – palmitooleic, 18:0 – stearic; 18:1 – oleic, 18:2 – linoleic, 18:3 – linolenic acid); * – significant differences ($p < 0.05$) between the hybridogenic and parental species

новными в мембранах клетки, в 2 – 3 раза превосходило их содержание в липидах родительских видов. Изменение соотношения между ними является одним из механизмов поддержания физико-химических свойств мембраны при действии различных стрессовых факторов, а именно большее значение соотношения ФХ / ФЭ говорит о меньшей проницаемости мембран (Wu, 2020). Этот показатель также почти в 1.5 раза ниже у *E. saksonovii*, чем у родительских видов.

Функциональные свойства мембран, такие как целостность и текучесть, зависят в том числе от состава ЖК. У всех исследуемых видов наибольшее количество в пуле ЖК составляют пальмитиновая, линолевая и линоленовая кислоты. Содержание стеариновой и олеиновой кислот в листьях гибридогенного вида было в 1.5 – 2 раза меньше, чем в листьях родительских видов (см. рис. 1, б).

Среди соединений, относящихся к группе вторичных метаболитов, исследовано содержание аминокислоты пролина, фенольных соединений и флавоноидов. Вместе с этим проанализировано содержание продуктов пероксидации липидов как индикатора стресса (рис. 2, а – з). Вторичные метаболиты не только защищают клетки растений от неблагоприятных воздействий ультрафиолетовых лучей и низких температур, но и участвуют в репродукции, а также выполняют сигнальную функцию (Kennedy, Wightman, 2011; Martínez-Lüscher et al., 2014).

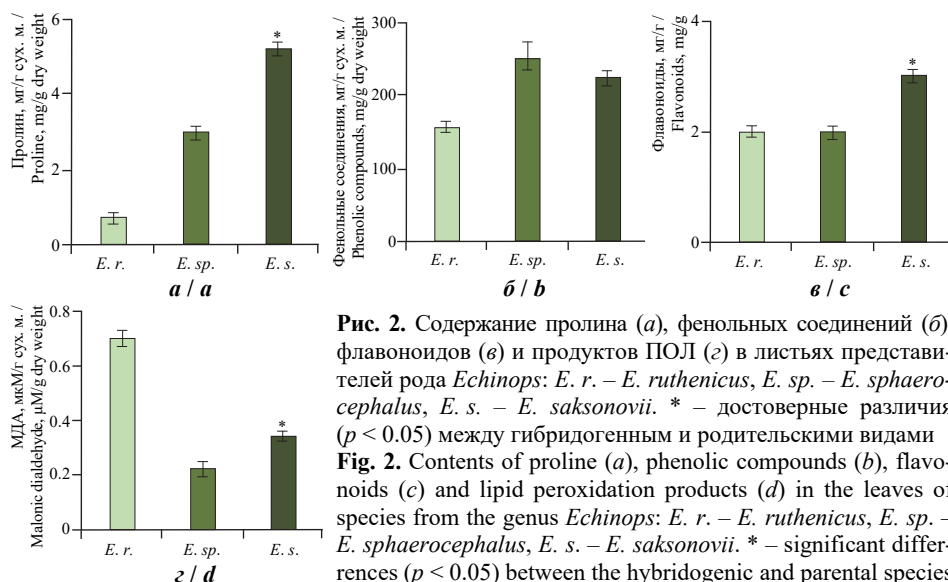


Рис. 2. Содержание пролина (а), фенольных соединений (б), флавоноидов (в) и продуктов ПОЛ (г) в листьях представителей рода *Echinops*: *E. r.* – *E. ruthenicus*, *E. sp.* – *E. sphaerocephalus*, *E. s.* – *E. saksonovii*. * – достоверные различия ($p < 0.05$) между гибридогенным и родительскими видами

Fig. 2. Contents of proline (a), phenolic compounds (b), flavonoids (c) and lipid peroxidation products (d) in the leaves of species from the genus *Echinops*: *E. r.* – *E. ruthenicus*, *E. sp.* – *E. sphaerocephalus*, *E. s.* – *E. saksonovii*. * – significant differences ($p < 0.05$) between the hybridogenic and parental species

Наибольшие различия в количественном содержании этих соединений выявлены для пролина и ПОЛ, между которыми установлены реципрокные отношения. По-видимому, накопление пролина, выполняющего антиоксидантную функцию, ограничивает развитие окислительных процессов в клетках листьев *E. saksonovii*. Проллин, кроме антиоксидантных свойств, проявляет себя как эффективный осмолитик. Его накопление приводит к увеличению клеточной осмолярности, что вызывает приток воды в клетки или снижает ее отток, обеспечивая при этом водный потенциал, необходимый для поддержания тургора в условиях недостатка воды (Kolupaev et al., 2019).

В листьях *E. saksonovii* обнаружено и большее накопление флавоноидов, одной из наиболее заметных функций которых является их участие в защите растений от окислительного стресса благодаря выраженной антиоксидантной активности. Антиоксидантное действие флавоноидов связано также с их способностью влиять на экспрессию таких антиокислительных ферментов, как каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и др. (Gould, Lister, 2006). Повышенное накопление пролина и флавоноидов в листьях гибридогенного вида также отличает его от родительских видов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании исследования комплекса морфометрических, физиологических и биохимических параметров выявлены особенности структурно-функциональной организации и клеточного метаболизма в листьях гибридогенного вида *E. saksonovii* в сравнении с родительскими видами. Отличительными особенностями гибридогенного вида являются уменьшение линейных размеров

листьев, увеличение оводненности тканей, повышенное содержание фотосинтетических пигментов, антиоксидантов пролина и флавоноидов, а также изменение ультраструктуры фотосинтетических мембран по сравнению с родительскими видами. Специфичность структурной организации и метаболизма могут привести к лучшей приспособляемости и жизнеспособности *E. saksonovii* и, как следствие, к большей конкурентоспособности.

Авторы приносят благодарность кандидату биологических наук В. М. Васюкову за определение видов и ценные замечания в процессе подготовки статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

Ali M. A., Al-Hemaid F., Lee J., Hatamleh A.A., Gyulai G., Rahman M. O. Unraveling systematic inventory of *Echinops* (Asteraceae) with special reference to nrDNA ITS sequence-based molecular typing of *Echinops abuzinadianus*. *Genetics and Molecular Research*, 2015, vol. 14, no. 4, pp. 11752–11762. <https://doi.org/10.4238/2015.October.2.9>

Arinushkina E. V. *Manual on Chemical Analysis of Soils*. Moscow, Moscow University Press, 1970. 489 p. (in Russian).

Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 1973, vol. 39, pp. 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>

Ben-Shem A., Frolov F., Nelson N. Crystal structure of plant photosystem I. *Nature*, 2003, vol. 426, pp. 630–635. <https://doi.org/10.1038/nature02200>

Bitew H., Hymete A. The genus *Echinops*: Phytochemistry and biological activities: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, vol. 10, article no. 1234. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01234>

Bobowicz M. A., Stephan B. R., Prus-Głowacki W. Genetic variation of F1 hybrids from controlled crosses between *Pinus montana* var. *rostrata* and *Pinus sylvestris* in anatomical needle traits. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 2000, vol. 69, no. 3, pp. 207–214.

Bobrov E. G. *Echinops* L. In: Shishkin B. K., Bobrov E. G., eds. *Flora of the USSR*. Dehra Dun, Bishen Singh, Mahendra Pal Singh and Koelz Scientific Books, 1997, vol. 27, pp. 1–70.

Hedge I. C. *Echinops* L. In: Davis P. H., ed. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh, Edinburgh University Press, 1975, vol. 5, pp. 609–622.

Gross B. L., Rieseberg L. H. The ecological genetics of homoploid hybrid speciation. *Journal Heredity*, 2005, vol. 96, no. 3, pp. 241–252.

Gould K. S., Lister C. Flavonoid functions in plants. In: Andersen O. M., Markham K. R., eds. *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications*. Boca Raton, London, New York, CRC Press, 2006, pp. 397–443.

Jones M. R. Lipids in photosynthetic reaction centres: Structural roles and functional holes. *Progress in Lipid Research*, 2007, vol. 39, no. 1, pp. 56–87. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2006.06.001>

Kirk H., Choi Y. H., Kim H. K., Verpoorte R., Van Der Meijden E. Comparing metabolomes: The chemical consequences of hybridization in plants. *New Phytologist*, 2005, vol. 167, iss. 2, pp. 613–622. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01448.x>

Kennedy D. O., Wightman E. L. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *American Society for Nutrition. Advances in Nutrition*, 2011, vol. 2, iss. 1, pp. 32–50. <https://doi.org/10.3945/an.110.000117>

Knyazev M. S. A new species of *Echinops* (Asteraceae) from the Volga-Urals region. *Novitates Systematicae Plantarum Vascularium*, 2018, no. 49, pp. 133–138 (in Russian). <https://doi.org/10.31111/novitates/2018.49.133>

Kobayashi I. K., Endo K., Wada H. Roles of lipids in photosynthesis. In: Nakamura Y., Li-Beisson Y., eds. *Lipids in Plant and Algae Development*. Cham, Springer, 2016, pp. 21–49. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25979-6_2

Kolupaev Y. E., Karpets Y. V., Kabashnikova L. F. Antioxidative system of plants: Cellular compartmentalization, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2019, vol. 55, no. 5, pp. 441–459. <https://doi.org/10.1134/S0003683819050089>

Lichtenthaller H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 1987, vol. 148, pp. 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)

López-Caamal A., Tovar-Sánchez E. Genetic, morphological, and chemical patterns of plant hybridization. *Revista Chilena de Historia Natural*, 2014, vol. 87, article no. 16. <https://doi.org/10.1186/s40693-014-0016-0>

Mallet J. Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology Evolution*, 2005, vol. 20, iss. 5, pp. 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>

Martínez-Lüscher J., Torres N., Hilbert G., Richard T., Sánchez-Díaz M., Delrot S., Aguirreola J., Pascual I., Gomès E. Ultraviolet-B radiation modifies the quantitative and qualitative profile of flavonoids and amino acids in grape berries. *Phytochemistry*, 2014, vol. 102, pp. 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.03.014>

Maslova T. G., Markovskaya E. F., Slemnev N. N. Functions of carotenoids in leaves of higher plants (Review). *Biology Bulletin Reviews*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 476–487. <https://doi.org/10.1134/s2079086421050078>

Orians C. M. The effects of hybridization in plants on secondary chemistry: Implications for the ecology and evolution of plant-herbivore interactions. *American Journal of Botany*, 2000, vol. 87, iss. 12, pp. 1749–1756. <https://doi.org/10.2307/2656824>

Papuga G., Rossella F., Gauthier P., Gauthier P., Farris E. Variation in floral morphology in a hybrid complex of *Cyclamen* in Sardinia. *Plant Ecology and Diversity*, 2019, vol. 12, iss. 1, pp. 51–61. <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1593545>

Rakov N. S., Saksonov S. V., Senator S. A., Vasjukov V. M. *Flora of the Volga River Basin. Vol. II. Vascular Plants of Ulyanovsk Region*. Togliatti, Kassandra, 2014, pp. 39–40 (in Russian).

Rieseberg L. H., Ellstrand N. C., Arnold Dr. M. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1993, vol. 12, iss. 3, pp. 213–241. <https://doi.org/10.1080/07352689309701902>

Rocha J., Nitenberg M., Girard-Egrot A., Jouhet J., Maréchal E., Block M. A., Breton C. Do galactolipid synthases play a key role in the biogenesis of chloroplast membranes of higher plants? *Frontier Plant Science*, 2018, vol. 9, article no. 126. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00126>

Rodionov A. V., Amosova, A. V., Belyakov, E. A., Zhurbenko P. M., Mikhailova Yu. V., Punina E. O., Shneyer V. S., Loskutov I. G., Muravenko O. V. Genetic consequences of interspecific hybridization, its role in speciation and phenotypic diversity of plants. *Russian Journal Genetics*, 2019, vol. 55, iss. 3, pp. 278–294. <https://doi.org/10.1134/S1022795419030141>

Rozentsvet O. A., Nesterov V. N., Bogdanova E. S. Membrane-forming lipids of wild halophytes growing under the conditions of Prieltonic of South Russia. *Phytochemistry*, 2014, vol. 105, pp. 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.05.007>

Soltis P. S., Soltis D. E. The role of hybridization in plant speciation. *Annual Review Plant Biology*, 2009, vol. 60, pp. 561–588. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092039>

Somayeh M., Alfonso S., Juan Antonio C., Valiollah M., Mohammad Reza R. Molecular systematics and phylogeography of the genus *Echinops* (Compositae, Cardueae–Echinopsinae): Focus on the Iranian centre of diversification. *Phytotaxa*, 2017, vol. 997, no. 2, article no. 27. <https://doi.org/10.1146/10.11646/phytotaxa.297.2.1>

Sánchez-Jiménez I., Lazkov G. A., Hidalgo O., Garnatje T. Molecular systematics of *Echinops* L. (Asteraceae, Cynareae): A phylogeny based on ITS and trnL-trnF sequences with emphasis on sectional delimitation. *Taxon*, 2010, vol. 9, no. 3, pp. 698–708. <https://doi.org/10.2307/25677662>

Swain T., Hillis W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal Science of Food and Agriculture*, 1959, vol. 10, no. 1, pp. 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>

Thompson J. D., Gaudeul M., Debussche M. Conservation value of sites of hybridization in peripheral populations of rare plant species. *Conservation Biology*, 2010, vol. 24, iss. 1, pp. 236–245. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01304-x>

Vasilyeva G. Light microscopic structure of needle in *Pinus sibirica*, *P. pumila*, and their hybrids. *Flora*, 2021, vol. 285, article no. 151964. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151964>

Vasjukov V. M., Bondareva V. V. A new species of *Echinops* (Asteraceae) from Middle Volga region. *Botanicheskii Zhurnal*, 2021, vol. 106, no. 11, pp. 1127–1130 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0006813621110120>

Wada H., Murata N. The essential role of phosphatidylglycerol in photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 2007, vol. 92, no. 2, pp. 205–215. <https://doi.org/10.1007/s11120-007-9203-z>

Whitney K. D., Ahern J. R., Campbell L. G., Albert L. P., King M. S. Patterns of hybridization in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2010, vol. 12, no. 3, pp. 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2010.02.002>

Whitney K. D., Randell R. A., Rieseberg L. H. Adaptive introgression of herbivore resistance traits in the weedy sunflower *Helianthus annuus*. *American Naturalist*, 2006, vol. 167, no. 6, pp. 794–807. <https://doi.org/10.1086/504606>

Wu S. Molybdenum induces alterations in the glycerolipidome that confer drought tolerance in wheat. *Journal Experimental Botany*, 2020, vol. 71, iss. 16, pp. 5074–5086. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa215>

Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 1978, vol. 86, iss. 1, pp. 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)

Structural and functional organization of leaves and cellular metabolism of the hybridogenic taxon *Echinops saksonovii* (Asteraceae, Asterales) compared with the parental species

O. A. Rozentsvet , E. S. Bogdanova,
V. A. Rozentsvet, N. A. Sablina, T. M. Grebenkina

Samara Federal Research Center of RAS,
Institute of Ecology of the Volga River Basin of Russian Academy of Sciences
10 Komzina St., Togliatti 445003, Russia

Received: June 30, 2023 / revised: February 29, 2024 / accepted: February 29, 2024 / published: December 17, 2024

Abstract. Hybridization is an important component of plant evolution and speciation. Interspecific and intraspecific crossings may lead to changes in the genome, thereby affecting the morphology, adaptation, growth and development of new plant species. The hybridogenic species *Echinops saksonovii* Vasjukov originates from the introgressive hybridization of *E. ruthenicus* M. Bieb. and *E. sphaerocephalus* L. At the morphological level, *E. saksonovii* differed from its parent species in smaller linear dimensions of the leaves and a longer length of the stomata. The content of green pigments and carotenoids in the leaves of the hybridogenic species was 2.0 and 2.5 times higher, respectively. However, in terms of the ratio of pigments, *E. saksonovii* is closer to its parent species *E. ruthenicus*. An increased content of lipids responsible for the formation of thylakoid and non-plastid membranes was found in the lipid complex of *E. saksonovii*. Among secondary compounds, *E. saksonovii* leaves accumulated more flavonoids and proline. In terms of the quantitative content of phenolic compounds and peroxidation products, *E. saksonovii* is closer to its parent shade-tolerant species *E. sphaerocephalus*. Thus, some features of the structural and functional organization and cellular metabolism in the leaves of the hybridogenic species *E. saksonovii* in comparison with its parent species have been revealed, which may contribute to better adaptability and viability of *E. saksonovii* and, as a consequence, to greater competitiveness.

Keywords: abiotic factors, antioxidant complex, hybridogenic taxon, lipids, interspecific hybridization, pigments, leaf structure

Funding. The work was performed within the framework of the state assignment of the Institute of Ecology of the Volga Basin of the Russian Academy of Sciences, a branch of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences (No. 1021060107217-0-1.6.19).

Ethics approval and consent to participate: This work does not contain any studies involving human and animal subjects.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

For citation: Rozentsvet O. A., Bogdanova E. S., Rozentsvet V. A., Sablina N. A., Grebenkina T. M. Features of the structural and functional organization of leaves and cellular metabolism of the hybridogenic taxon *Echinops saksonovii* (Asteraceae, Asterales) compared with its parental species. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2024, no. 4, pp. 487–499 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2024-4-487-499>

 *Corresponding author.* Laboratory Ecosystem research of Institute of Ecology of the Volga River Basin of Russian Academy of Sciences, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Olga A. Rozentsvet: <https://orcid.org/0000-0001-6312-3620>, olgarozen55@mail.ru; Elena S. Bogdanova: <https://orcid.org/0000-0002-2445-1952>, cornales@mail.ru; Viktor A. Rozentsvet: <https://orcid.org/0000-0002-1826-9636>, rozentsvet@mail.ru; Nelly A. Sablina: <https://orcid.org/0000-0003-1588-8367>, nellitlt@mail.ru; Tatyana M. Grebenkina: <https://orcid.org/0000-0003-2567-774X>, matane4ka@yandex.ru.