

УДК 574.24:630*181.22:582.*475.4

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ ТЕРМОУСТОЙЧИВОСТИ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПОСЛЕ НИЗОВЫХ ПОЖАРОВ

И. В. Косов¹, И. Г. Гетте², Н. В. Пахарькова²

¹ Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН 660036, Красноярск, Академгородок, 50/28

² Сибирский федеральный университет 660041 Красноярск, просп. Свободный, 79

E-mail: letter-box@list.ru, getteirina@yandex.ru, nina.pakharkova@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.06.2017 г.

Рассмотрена возможность применения флуоресцентных методов в оценке теплового воздействия на ассимиляционный аппарат хвои сосны обыкновенной. Проведено два вида экспериментальных исследований. В основе первого – оценка первичной теплоустойчивости хвои из насаждений, ранее не затронутых пожаром. Для оценки влияния температурного стресса на функционирование фотосинтетического аппарата хвои сосны проведены эксперименты по моделированию конвективного потока, имитирующего действие низового пожара. Исследовали хвою 2-го года с деревьев I класса возраста зеленомошно-разнотравной группы типов леса, располагающихся в лесостепной зоне Южной Сибири. По параметру быстрой флуоресценции F_v/F_m (максимальный фотохимический квантовый выход фотосистемы II) определено, что после теплового стресса ассимиляционный аппарат хвои сосны может восстанавливаться с различной скоростью, которая зависит от продолжительности и интенсивности нагрева. Второй эксперимент направлен на определение способности к восстановлению ассимиляционного аппарата хвои после повторного влияния сублетальных температур на растения, находящиеся в восстановительном периоде после низового пожара предыдущего года. На основании анализа параметров быстрой и замедленной флуоресценции удалось выявить различия в теплоустойчивости и темпах восстановления фотосинтетической активности хвои сосны обыкновенной, которые свидетельствуют о модификации физиологических процессов в растениях под влиянием теплового стрессового фактора, формирующих положительный акклимационный эффект. Таким образом, флуоресцентные методы могут быть использованы для диагностики термической устойчивости хвои, в частности, показатель замедленной флуоресценции – в качестве критерия для оценки резистентности ассимиляционного аппарата в ответ на повторное действие стрессовых факторов в период восстановления после пожара. Отношение F_v/F_m может быть использовано для оценки ответной реакции ассимиляционного аппарата хвои на стресс в первые дни после пожара.

Ключевые слова: сосна обыкновенная *Pinus sylvestris* L., тепловая устойчивость, лесные пожары, флуоресценция, тепловой стресс.

DOI: 10.15372/SJFS20170509

ВВЕДЕНИЕ

Лесные пожары – один из основных периодических факторов, оказывающих значительное влияние на лесные экосистемы во всем мире. В бореальных лесах пожары всегда были фактором эволюционного значения. От 4.5 до 27 тыс. лесных пожаров, большинство из которых низовые, ежегодно происходят в лесной и лесостепной зонах Сибири (Иванова и др., 2014). При

этом в последнее время наблюдается тесная корреляция между динамикой температуры воздуха и общим количеством лесных пожаров, что отражается на увеличении площадей, пройденных ими (Ponomarev et al., 2012; Харук, Пономарев, 2016). Лесные пожары на территории Сибири сконцентрированы в основном в районах, занятых светлохвойной тайгой, что может быть связано с интенсивностью и продолжительностью засух в подзонах тайги (Валендик и др., 2014).

Сосновые насаждения полностью погибают только при сильных низовых пожарах. Пожары слабой или даже средней силы не всегда губительны и могут оказывать положительное влияние на отдельные компоненты лесных биогеоценозов (Верховец, 2000; Цветков, Буряк, 2014).

В настоящее время большое внимание уделяется изучению адаптивных реакций и механизмов устойчивости растений в ответ на действие различных стрессовых факторов. Работы ряда авторов указывают на то, что под влиянием высоких температур в растениях происходят многочисленные структурные и функциональные изменения, важное место среди которых занимают изменения в фотосинтетическом аппарате (ФСА) (Титов, Таланова, 2011; Wang, Hu, 2013).

Исследования влияния прогрева на отдельные части растений показывают, что он существенно изменяет ряд физиолого-биохимических процессов и показателей, в частности синтез стрессовых белков, содержание фитогормонов и полиаминов, скорость транспорта ассимилятов, экспрессию ряда генов (Xin, Li, 1993; Кулаева, 1997; Wang et al., 2004).

Так, на примере контролируемого выжигания, имитирующего пожар средней силы в насаждении сосны обыкновенной, показано, что в течение нескольких месяцев после воздействия пожара проявляется первичная реакция дерева на пирогенный стресс (Судачкова и др., 2016; Sudachkova et al., 2016). Происходит резкое снижение содержания хлорофиллов в хвое и повышение пероксида водорода, снижение содержания низкомолекулярных углеводов и ослабление активности ряда элементов антиоксидантной системы в прикамбиальной зоне деревьев (Гирс, 1982; Судачкова и др., 2016; Sudachkova et al., 2016). При этом низовые пожары слабой силы, значительно повреждая подчиненную часть древостоя, не вызывают необратимых последствий в прикамбиальной зоне всех деревьев (Судачкова и др., 2015).

Немало исследований посвящено изучению влияния теплового стресса на электронно-транспортную систему, функционирование фотосистем, активность фотосинтеза, газообмена и флуоресценции хлорофилла в растениях (Atkin, Tjoelker, 2003; Wang, Hu, 2013). Известно, что фотосинтез – один из наиболее чувствительных физиологических процессов у растений, поэтому повреждение фотосистем часто является их первой реакцией при нагревании, и даже кратковременное повышение температуры в результате низового пожара может стать для них

значимым стрессовым фактором (Yamori et al., 2014). Удобным и перспективным методом, несущим информацию о протекании первичных реакций фотосинтеза, позволяющим быстро оценить воздействие экстремальных температур на мезофилл хвои, является метод регистрации флуоресценции хлорофилла, так как состояние фотосинтетического аппарата в значительной степени соответствует общему состоянию растения.

Значительное внимание уделяется изучению адаптивных реакций модельных растений или сельскохозяйственных культур на тепловой стресс, в то время как способность восстановления хвойных растений в условиях стресса изучена в меньшей степени.

Исследуя образцы хвои с насаждений сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L., находящихся в одинаковых климатических и почвенных условиях, можно определить резистентность ФСА сразу после теплового стресса, а также наличие акклимационного эффекта. Акклимация подразумевает ответные реакции, позволяющие растениям приспособиваться к новым стрессовым условиям, что в дальнейшем играет важную роль в устойчивости организма к их повторным воздействиям.

В настоящее время важно не только определить параметр, который может быть использован для оценки чувствительности фотосинтеза к тепловому стрессу, но и выяснить, могут ли деревья сохранить эффекты адаптации после воздействия огня.

Цель исследования – установление возможности применения флуоресцентных методов для определения фотосинтетической активности и способности к восстановлению ассимиляционного аппарата хвои сосны обыкновенной после первичного и повторного теплового стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для опытов по моделированию первичного теплового воздействия в качестве образцов использовали побеги 10 модельных деревьев сосны обыкновенной 15–25-летнего возраста из насаждения за пределами г. Красноярск, ранее не подвергавшегося воздействию пожара. Для экспериментов хвою второго года отбирали 30 мая – в начале вегетационного периода.

Для определения акклимационных эффектов у насаждения, пройденного низовым пожаром, сбор побегов осуществляли в сосняке зеленомошно-разнотравной группы типов леса.

Таблица 1. Характеристика пробных площадей

№ ПП	Состав древостоя	Класс		Диаметр, см	Высота, м	Полнота	Высота нагара, м
		возраста	бонитета				
1Г	10 С	I	Ia	11.7 ± 1.1	7.8 ± 0.4	0.6	0.23 ± 0.09
2К	10 С	I	Ia	12.0 ± 1.6	7.9 ± 0.6	0.6	–

Для исследования подобрана пробная площадь (ПП1Г), пройденная низовым пожаром год назад, а в качестве контроля (ПП2К) – участок, не пройденный огнем (табл. 1).

Побеги отбирали на территории экспериментального хозяйства Института леса им. В. Н. Сукачева СО РАН «Погорельский бор», который относится к лесостепной зоне Южной Сибири (56°22' с. ш., 92°57' в. д.). Силу низового пожара устанавливали по средней высоте нагара на стволах деревьев (Курбатский, 1962; Цветков, 2006). Отбор побегов осуществляли 3 раза на протяжении вегетационного периода (в июне, июле и сентябре) и после отбора в сосудах с водой доставляли в лабораторию.

На каждой ПП отобрали по 8 модельных деревьев, произрастающих в одинаковых условиях увлажнения и освещения, сохранивших жизнеспособность, без видимых повреждений насекомыми-ксилофагами, суховершинностей и т. п. Сбор побегов со всех исследуемых площадок осуществляли в течение одного дня (Григорьев, Андреев, 2012). С каждого дерева отбирали по 3 ветки с нижней части кроны на высоте 2.5–3 м, для экспериментов отбирали хвою второго года жизни.

Во время пожара кроны деревьев подвергаются нагреву за счет конвекционного потока. По данным Г. И. Гирс (1982), во время горения температура воздуха в кронах в зависимости от интенсивности горения может колебаться от 33 °С во время низового пожара слабой силы до 52 °С при беглом низовом пожаре средней силы (Курбатский, 1962).

Проведение большого количества измерений температуры конвективного потока в кроне во время пожара – методически трудная задача, в связи с чем все эксперименты проводили на срезах побегов.

Для оценки фотосинтетической продуктивности древостоев в естественных и лабораторных условиях необходимо иметь показатель, который может служить в качестве характеристики фотосинтетической деятельности. Такими показателями при эколого-физиологическом определении фотосинтеза могут быть параметры быстрой флуоресценции (Молчанов, 2012).

Методика исследования параметров флуоресценции хвои в ответ на первичный тепловой стресс. При оценке реакции хвои определяли параметры быстрой флуоресценции до (контроль) и сразу после нагрева конвективным потоком при помощи модулирующего импульсного флуориметра Junior-PAM (Walz, Germany). Отношение F_v/F_m использовано в качестве оценки максимального квантового выхода фотохимии ФС II (Maxwell, Johnson, 2000). Параметры флуоресценции рассчитывали, используя программу WinControl. Измерения проводили в пяти биологических и трех аналитических повторностях для каждой температуры и времени нагрева.

Нагрев побегов моделировали конвективным тепловым потоком от пламени газовой горелки. Длительность нагрева составляла 2, 5 и 10 мин при температуре 45, 50 и 55 °С. Для создания устойчивого конвективного потока заданной температуры использовали установку для моделирования воздействия конвективного потока на побег дерева (рис. 1). Установка позволяет создать стабильный поток с изменяемыми параметрами воздействия на экспериментальный образец (Валендик, Косов, 2008).

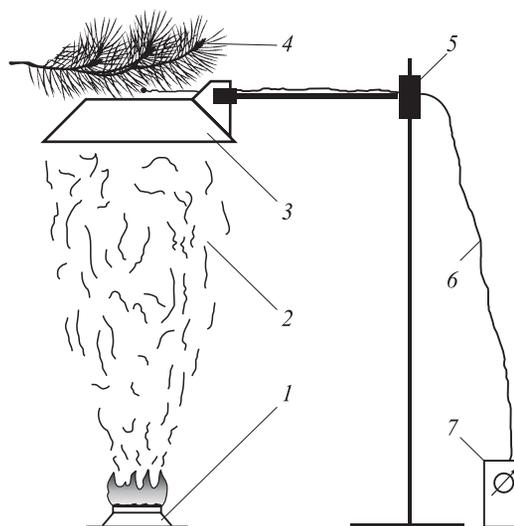


Рис. 1. Установка для моделирования конвективного потока: 1 – газовая горелка; 2 – конвективный поток; 3 – стабилизатор потока; 4 – побег; 5 – стойка с кронштейном; 6 – термопара; 7 – регистратор температуры.

Побег крепили в горизонтальной плоскости над стабилизатором потока, термопару – непосредственно под побегом в центре потока, где температура соответствовала заданной в эксперименте. Для измерения температуры потока использовали автономные регистраторы с разрешающей способностью в 1 с. Измеряющим элементом служили хромель-алюмелевые термопары заводского изготовления.

Методика исследования параметров флуоресценции хвои в ответ на повторный тепловой стресс. Для оценки устойчивости ФСА хвои к тепловому стрессу использовали параметры быстрой и замедленной флуоресценции. Параметр замедленной флуоресценции, а именно относительный показатель замедленной флуоресценции (ОПЗФ), определяли на флуориметре «Фотон-10», учитывая методические рекомендации для отбора и анализа хвои сосны обыкновенной (Григорьев и др., 1996; Григорьев, Андреев, 2012).

Устойчивость хвои к высоким температурам и скорость ее восстановления в послепожарный период определяли методом искусственного стрессового воздействия. Хвою прогревали при температурах, превышающих ее физиологический оптимум. Нагрев срезанных побегов, погруженных нижней частью в сосуды с водой, осуществляли в климатостате, оборудованном внутренним вентилятором для равномерного прогрева образцов, при сублетальных температурах 43, 45 и 47 °С. Эти температуры не приводили к усыханию хвои. Длительность нагрева составляла 10 мин, после чего сразу проводили измерения показателей флуоресценции (F_v/F_m и ОПЗФ).

После прогрева в климатостате и конвективным потоком побеги оставляли в лабораторных условиях при относительной влажности воздуха (60 ± 5) % и температуре воздуха (24 ± 2) °С. Затем в течение 4 сут наблюдали за восстановлением их фотосинтетической активности. Таким образом определялась способность клеток активировать защитные механизмы и противостоять тепловому повреждению, что определяет выносливость дерева во время пожара и после него (Ланге, 1964).

Одним из показателей ответных реакций растений на действие различных стрессовых факторов внешней среды и степени их адаптации к новым условиям является содержание фотосинтетических пигментов, характеризующее фотосинтетическую активность и физиологическое состояние растения в целом (Тужилкина, 2009);

Тужилкина, 2009). Содержание фотосинтетических пигментов определяли в хвое второго года жизни с помощью спектрофотометра SPEKOL 1300 Analytik Jena AG после экстракции в 85%-м ацетоне (Гавриленко, Жигалова, 2003) по средней пробе с побегов каждого модельного дерева в трех повторностях.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 9.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование параметров флуоресценции хвои в ответ на первичный тепловой стресс.

Фотосинтез относится к термолабильным процессам – его подавление наступает при относительно невысоких температурах (Гирс, 1982). По литературным данным, для него отмечена высокая способность к восстановлению. По изменениям фотосинтетической активности в период действия и последствия высоких температур можно сделать заключение о функциональной стойкости ассимиляционного аппарата.

Изучение теплоустойчивости хвои второго года сосны обыкновенной показало, что температуры 45 и 50 °С при различной длительности нагрева не являются для клетки летальными. Так, действие 45 °С, что превышает фотосинтетический оптимум фотосинтеза, не оказало существенного влияния на параметр максимального квантового выхода фотохимии ФС II, значения которого сохранялись на протяжении всей экспозиции в лабораторных условиях. Таким образом, после теплового воздействия небольшой интенсивности может идти прямое восстановление фотосинтетической активности. Обратимое подавление фотосинтеза с постепенным восстановлением процесса наблюдалось при температуре 50 °С, при этом важным фактором стала длительность действия температуры. После 5-минутного прогрева при 50 °С уровень репарации на следующие трое суток был выше, чем после 10-минутного прогрева при этой же температуре. Кратковременный 2-минутный нагрев при 50 °С не привел к существенному снижению исследуемого показателя относительно исходного уровня.

После воздействия сублетальной температурой 55 °С отмечено резкое снижение параметра быстрой флуоресценции при прогреве 5 и 10 мин, что составило в среднем 60 и 70 % относительно контрольного уровня (рис. 2). При

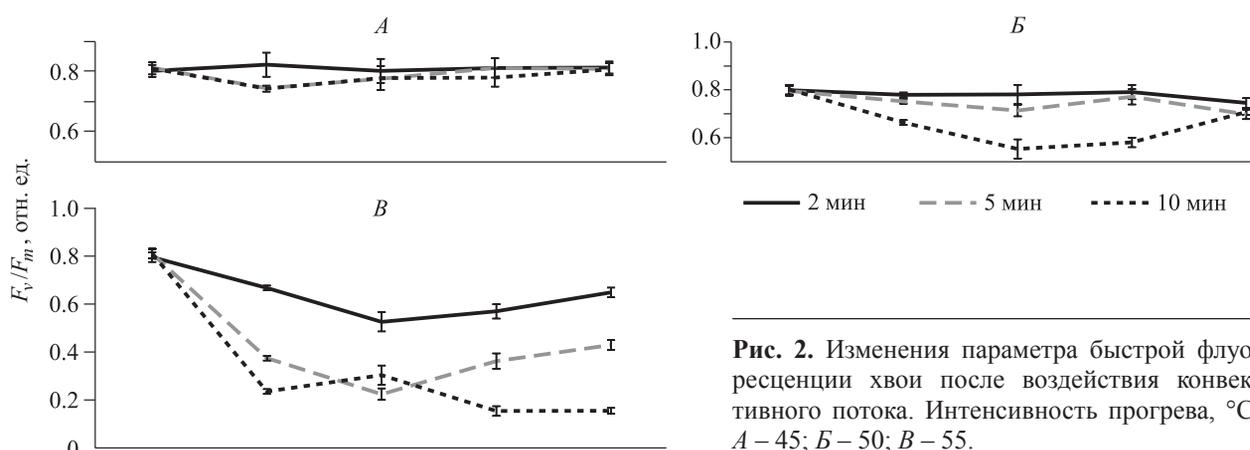


Рис. 2. Изменения параметра быстрой флуоресценции хвои после воздействия конвективного потока. Интенсивность прогрева, °С: А – 45; Б – 50; В – 55.

экспозиции в лабораторных условиях репарация фотосинтеза на третьи экспериментальные сутки достигла исходного уровня только у хвои после воздействия температурой 55 °С в течение 2 мин, после прогрева в течение 5 мин фотосинтез восстановился до 40 % исходной интенсивности.

Необратимое снижение фотохимической активности ФС II до полного усыхания хвои через сутки после прогрева произошло при 10-минутном прогреве при 55 °С.

Таким образом, проведенные наблюдения показали, что фотосинтез хвои сосны относительно устойчив к действию высоких температур. Восстановление фотосинтетической активности происходило после частичного подавления процесса температурами 45, 50 и 55 °С. Для скорости восстановления фотосинтеза немаловажным фактором служила длительность действия повреждающих температур.

Известно, что отклонение температуры среды от оптимальной зоны, свойственной виду, влияет на количественные и качественные ха-

рактеристики пигментного фонда пластид, структурную организацию хлоропластов и их функциональную активность (Гирс, 1982; Судачкова и др., 2016; Sudachkova et al., 2016).

По результатам проведенных экспериментов можно заключить, что прогрев хвои приводит к незначительному снижению количества хлорофилла и каротиноидов, что свидетельствует об отсутствии их распада (табл. 2).

Изменения количества пигментов в последующий после действия высоких температур период зависят от интенсивности теплового воздействия.

После кратковременного прогрева при температуре 45 и 50 °С снижение содержания пигментов относительно исходного уровня выражено слабо. При воздействии температуры 55 °С отмечено снижение в среднем на 30 % суммы Хл *a + b* и каротиноидов относительно исходного уровня на следующие сутки после прогрева, что говорит об устойчивости пигментного аппарата сосны обыкновенной к действию высоких температур.

Таблица 2. Изменение содержания хлорофиллов *a + b* и каротиноидов через сутки после прогрева, мг · г⁻¹ воздушно-сухой массы (контроль – исходное содержание пигментов без действия высоких температур)

Температура, °С	Время, мин	Хлорофиллы <i>a + b</i>	Каротиноиды
Контроль		3.03 ± 0.08	0.31 ± 0.01
45	2	2.78 ± 0.21	0.29 ± 0.03
	5	2.79 ± 0.12	0.27 ± 0.03
	10	2.79 ± 0.18	0.27 ± 0.01
50	2	2.58 ± 0.19	0.31 ± 0.04
	5	2.74 ± 0.13	0.23 ± 0.04
	10	2.74 ± 0.20	0.21 ± 0.03
55	2	2.18 ± 0.23	0.26 ± 0.01
	5	2.05 ± 0.15	0.22 ± 0.03
	10	1.97 ± 0.20	0.23 ± 0.04

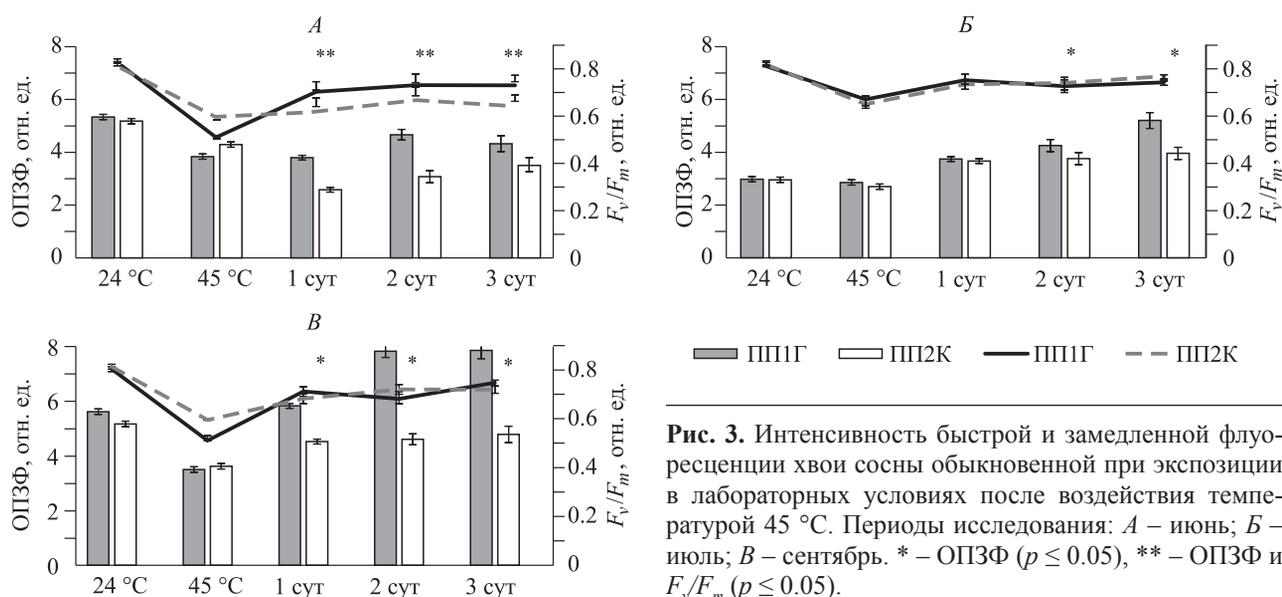


Рис. 3. Интенсивность быстрой и замедленной флуоресценции хвои сосны обыкновенной при экспозиции в лабораторных условиях после воздействия температурой 45 °С. Периоды исследования: А – июнь; Б – июль; В – сентябрь. * – ОПЗФ ($p \leq 0.05$), ** – ОПЗФ и F_v/F_m ($p \leq 0.05$).

В ходе проведенных экспериментов по влиянию конвективного потока на ассимиляционный аппарат сосны обыкновенной, имитирующего низовой пожар, выявлена первичная теплоустойчивость хвои. А при регистрации параметра быстрой флуоресценции и определении количественного содержания пигментов обнаружено, что после снятия действия повреждающего фактора ассимиляционный аппарат сосны может восстанавливаться, при этом скорость восстановления будет зависеть от температуры и продолжительности ее воздействия.

Исследование параметров флуоресценции хвои в ответ на повторный тепловой стресс. Приведенные данные – результат кратковременных опытов, когда последствие температуры наблюдалось в течение нескольких дней, поэтому остается вопрос о длительности периода восстановления нормального метаболизма в листьях, наличии акклимационных эффектов на организменном уровне, сформированных в постстрессовых условиях, и продолжительности их сохранения. Для этого провели экспериментальные исследования на побегах с деревьев *Pinus sylvestris* L. в течение вегетационного периода на следующий год после пожара.

В ходе эксперимента отмечено снижение ОПЗФ и максимального квантового выхода фотохимии ФС II в ответ на действие температуры (43, 45 и 47 °С).

Показатели флуоресценции хвои сосны обыкновенной при комнатной температуре (24 °С) не показывают существенных различий между ПП на протяжении всего периода исследова-

ния (рис. 3). Однако при нагревании отмечается различная степень изменения активности фотосинтеза.

Показатели замедленной и быстрой флуоресценции для хвои сосны с ПП, пройденной слабым низовым пожаром, показали, что при 10-минутном прогреве побегов при 45 °С подавляется фотосинтетическая активность у деревьев как с контрольной ПП, так и с подвергавшейся действию низового пожара (см. рис. 3).

Для образцов, отобранных в июне (см. рис. 3, А), 10-минутная экспозиция приводит к снижению ОПЗФ относительно исходного уровня на 18 % у хвои деревьев с контрольных ПП и на 28 % – с подвергавшихся нагреванию при низовом пожаре. Величина соотношения F_v/F_m также снизилась относительно исходного уровня. На следующий день после прогрева показатель замедленной флуоресценции снизился для хвои с обеих ПП. Такая реакция возможна, поскольку растения находились в фазе нарастания побегов, когда интенсивное поступление пластических веществ (метаболитов) направлено на поддержание ростовых процессов и, возможно, клетки содержат меньшее количество термопротекторов. Восстановление активности фотосинтеза до исходного уровня происходит на вторые–третьи сутки, при этом более высокие значения ОПЗФ и F_v/F_m характерны для хвои деревьев, подвергавшихся действию стрессовых температур при пожаре.

Для образцов, отобранных в июле (см. рис. 3, Б), ОПЗФ при комнатной температуре имеет наименьшие значения по сравнению с

Таблица 3. Содержание хлорофиллов *a + b*, каротиноидов, мг · г⁻¹ воздушно-сухой массы

Время отбора	Хлорофиллы <i>a + b</i>		Каротиноиды	
	ПП1Г	ПП2К	ПП1Г	ПП2К
Июнь	2.26 ± 0.12	2.06 ± 0.40	0.29 ± 0.02	0.28 ± 0.03
Июль	2.07 ± 0.15	2.24 ± 0.11	0.24 ± 0.01	0.25 ± 0.04
Сентябрь	2.11 ± 0.30	2.19 ± 0.30	0.26 ± 0.01	0.25 ± 0.03

предыдущим и последующим периодами исследования. Так как фотосинтез относится к термолабильным функциям, высокие среднесуточные и дневные температуры июля могли повлиять на снижение фотосинтетической активности в целом. Однако высокие среднесуточные температуры воздуха не отразились на величине максимального квантового выхода (F_v/F_m), который был стабильно высоким (0.7–0.8), что свидетельствует о высокой эффективности первичной фотохимии ФС II.

Десятиминутный прогрев при 45 °С приводит к слабому снижению ОПЗФ относительно исходного уровня. Такая теплоустойчивость может быть результатом заблаговременного включения клетками защитных реакций для предотвращения повреждений при высоких дневных температурах. Деревья в фазе летней вегетации адаптированы к повышенным температурам воздуха. Кратковременный прогрев приводит к уменьшению параметра F_v/F_m . Его снижение составило около 20 % по отношению к исходному уровню для хвои сосны со всех участков. На рис. 3, Б видно, что на третьи сутки после действия теплового стресса при экспозиции в лабораторных условиях наблюдалось увеличение относительно исходного уровня фотосинтетической активности. При этом меньшее значение характерно для деревьев с контрольной площади, не подвергавшихся огневому воздействию. Таким образом, низовой пожар привел к повышению способности деревьев к репарации после остановки действия повреждающих температур.

Данные, полученные для побегов, отобранных в сентябре, представлены на рис. 3, В. При 10-минутном прогреве побегов при температуре 45 °С наблюдается в равной степени подавление фотосинтеза хвои деревьев как с контрольной площади, так и с подвергавшейся огневому воздействию. При экспозиции в лабораторных условиях соотношение F_v/F_m и ОПЗФ хвои с ПП2К восстанавливается до исходного уровня на первые экспериментальные сутки. Репарация фотосинтетической активности хвои с ПП1Г от-

мечена в первые экспериментальные сутки, при этом на второй и третий день зафиксировано повышение уровня флуоресценции в среднем на 40 % относительно исходного уровня, что отражено в увеличении ОПЗФ. Такие различия между ПП в ответ на кратковременное воздействие температуры, превышающей физиологический оптимум фотосинтеза, возможны из-за воздействия пожара на древостой с ПП1Г в прошлом, что могло повлиять на уровень теплоустойчивости хвои, имеющей значение как для сохранения функциональной активности в послестрессовый период, так и при повторном воздействии температуры.

Величина максимального квантового выхода фотохимии (F_v/F_m) в хвое с ПП1Г и ПП2К, отобранной в июле и сентябре, не имеет достоверных различий. В частности, после повторного стрессового воздействия величина F_v/F_m была одинаковой для деревьев с обоих участков. Таким образом, в данном исследовании мы не выявили возможности применения данного параметра для оценки продолжительности сохранения метаболических изменений в деревьях.

Данные сравнительного анализа суммы хлорофиллов *a* и *b* в хвое после низового пожара (ПП1Г) отражают уменьшение количества пигментов в июле и сентябре (табл. 3).

По данным Г. И. Гирс (1982), на следующий год после пожара содержание хлорофилла в хвое в начале вегетации (июнь) превышает контроль, что согласуется с нашими данными и составляет 2.26 и 2.06 мг/г воздушно-сухой массы для ПП1Г и ПП2К соответственно. В целом изменений в содержании каротиноидов после повреждения пожаром слабой интенсивности не наблюдается. Различия в количественном содержании пигментов не являются статистически достоверными. Таким образом, можно заключить, что пигментный комплекс устойчив к кратковременному нагреву во время действия повышенных температур при пожаре слабой интенсивности, что и обеспечивает сохранение функциональной активности в послестрессовый период.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследований выявлены определенные различия в динамике теплоустойчивости хвои как непосредственно после воздействия, так и в период восстановления после гипертермии. В ходе проведенных экспериментов по влиянию теплового стресса на ассимиляционный аппарат сосны обыкновенной величина F_v/F_m указала на относительную устойчивость фотосинтеза хвои сосны к действию высоких температур. Восстановление фотосинтетической активности происходило после частичного подавления процесса температурами 45, 50 и 55 °С, при этом длительность нагрева усиливала подавление.

По результатам регистрации параметров замедленной флуоресценции установлено, что физиологические процессы в растениях модифицируются стрессовыми событиями. Эти изменения могут иметь положительный эффект при повторных действиях стрессовых факторов.

Так, тепловое воздействие на побеги во время прошлогоднего пожара индуцирует повышение термостойкости почек с зачатками вегетативных побегов, что приводит к повышению теплоустойчивости хвои в течение следующего исследуемого вегетационного периода.

Определение количественного содержания пигментов показало пластичность пигментного аппарата сосны обыкновенной в ответ на действие высоких температур, а также возможность его репарации.

Таким образом, флуоресценция хлорофилла может служить индикатором функциональных свойств фотосинтетических мембран листьев растений. В частности, относительный показатель замедленной флуоресценции может отражать продолжительность сохранения метаболических изменений фотосинтетического аппарата в условиях повторного действия стрессового фактора через год после пожара. Отношение F_v/F_m , отражающее фотохимическую эффективность ФС II, может быть использовано для регистрации ответной реакции ассимиляционного аппарата хвои на первичный тепловой стресс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Валендик Э. Н., Кисляхов Е. К., Рыжкова В. А., Пономарев Е. И., Голдаммер Й. Г. Лесные пожары в Средней Сибири при аномальных погодных условиях // Сиб. лесн. журн. 2014. № 3. С. 43–52.
- Валендик Э. Н., Косов И. В. Устойчивость почек хвойных пород к воздействию низовых пожаров // Лесоведение. 2008. № 5. С. 12–17.
- Верховец С. В. Влияние контролируемых выжиганий на пожароопасность и лесовосстановление на сплошных вырубках: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.03.03. Красноярск: Ин-т леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, 2000. 200 с.
- Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу: учеб. пособ. / Под ред. проф. И. П. Ермакова. М.: Академия, 2003. 256 с.
- Гирс Г. И. Физиология ослабленного дерева. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1982. 255 с.
- Григорьев Ю. С., Андреев Д. Н. К вопросу о методике регистрации замедленной флуоресценции хлорофилла при биоиндикации загрязнения воздушной среды на хвойных // Естеств. науки. Журн. фундамент. и прикл. исслед. 2012. № 2. С. 36–39.
- Григорьев Ю. С., Фуряев Е. А., Андреев А. А. Способ определения содержания фитотоксических веществ. Патент № 2069851. Бюл. изобр. № 33 от 27.11.1996 г.
- Иванова Г. А., Конард С. Г., Макрае Д. Д. Воздействие пожаров на компоненты экосистемы среднетаежных сосняков Сибири. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 2014. 232 с.
- Кулаева О. Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу // Соросовск. образоват. журн. 1997. № 2. С. 5–13.
- Курбатский Н. П. Техника и тактика тушения лесных пожаров. М.: Гослесбуиздат, 1962. 154 с.
- Ланге О. Л. Исследование изменений теплоустойчивости у растений // Клетка и температура среды: тр. Междунар. симп. по цитозологии. М.; Л.: Наука, 1964. С. 91–97.
- Молчанов А. Г. Простая модель оценки влияния водообеспеченности на дневную изменчивость световых кривых фотосинтеза // Матем. биол. и биоинформ. 2012. Т. 7. № 1. С. 197–205.
- Судачкова Н. Е., Милютин И. Л., Романова Л. И., Косов И. В., Собачкин Д. С. Воздействие низовых пожаров на жизнеспособность и антиоксидантную защиту молодняков сосны обыкновенной в Красноярской лесостепи // Лесоведение. 2015. № 2. С. 95–104.
- Судачкова Н. Е., Романова Л. И., Астраханцева Н. В., Новоселова М. В., Косов И. В. Стрессовые реакции деревьев сосны обыкновенной на повреждение низовым пожаром // Сиб. экол. журн. 2016. № 5. С. 739–749.
- Титов А. Ф., Таланова В. В. Локальное действие высоких и низких температур на растения. Петрозаводск: Карельск. науч. центр РАН, 2011. 166 с.

- Тужилкина В. В.* Реакция пигментной системы хвойных на длительное аэротехногенное загрязнение // Экология. 2009. № 4. С. 243–248.
- Харук В. И., Пономарев Е. И.* Таежные леса в меняющемся климате: динамика лесных пожаров // Региональные проблемы дистанционного зондирования Земли: мат-лы III Междунар. науч. конф., Красноярск, 13–16 сент., 2016 г. Красноярск: Сиб. фед. ун-т, 2016. С. 38–41.
- Цветков П. А.* Нагар как диагностический признак // Хвойные бореальной зоны. 2006. Т. XXIII. № 3. С. 132–137.
- Цветков П. А., Буряк Л. В.* Исследования природы пожаров в лесах Сибири // Сиб. лесн. журн. 2014. № 3. С. 25–42.
- Atkin O. K., Tjoelker M. G.* Thermal acclimation and the dynamic response of plant respiration to temperature // Trends in Plant Sci. 2003. V. 8. Iss. 7. P. 343–351.
- Maxwell K., Johnson G. N.* Chlorophyll fluorescence – a practical guide // J. Exp. Bot. 2000. V. 51. N. 345. P. 659–668.
- Ponomarev E. I., Valendik E. N., Kisilyakhov Ye. K.* Satellite monitoring of large-scale wildfires in Siberia // Int. Workshop on the Impact of Climate Change on Forest and Agricultural Ecosystems and Adaptation Strategies, 20–23 Sept., 2012, Krasnoyarsk. Sib. Fed. Univ. Krasnoyarsk, 2012. P. 24.
- Sudachkova N. E., Romanova L. I., Astrakhantseva N. V., Novoselova M. V., Kosov I. V.* Stress reactions of Scots pine trees to injuring by ground fire // Contemp. Probl. Ecol. 2016. V. 9. Iss. 5. P. 608–616.
- Tuzhilkina V. V.* Response of the pigment system of conifers to long-term industrial air pollution // Rus. J. Ecol. 2009. V. 40. Iss. 4. P. 227–232.
- Wang W., Vinocur B., Shoseyov O., Altman A.* Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response // Trends in Plant Sci. 2004. V. 9. N. 5. P. 244–252.
- Wang R., Hu H. Q.* Physiological response of *Betula platyphylla* leaves to fire and the restoration after fire // J. Beijing For. Univ. 2013. Iss. 6. P. 1–6.
- Yamori W., Hikosaka K., Way D. A.* Temperature response of photosynthesis in C₃, C₄, and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation // Photosynth. Res. 2014. V. 119. Iss. 1–2. P. 101–117.
- Xin Z., Li P. H.* Relationship between proline and abscisic acid in the induction of chilling tolerance in maize suspension-cultured cells // Plant Physiol. 1993. V. 103. Iss. 2. P. 607–613.

APPLICATION OF FLUORESCENCE ANALYSIS FOR EVALUATION OF HEAT STABILITY OF SCOTCH PINE NEEDLES AFTER GROUND FIRES

I. V. Kosov¹, I. G. Gette², N. V. Pakhar'kova²

¹ Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
V. N. Sukachev Institute of Forest Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036 Russian Federation

² Siberian Federal University
Prospekt Svobodny, 79, Krasnoyarsk, 660041 Russian Federation

E-mail: letter-box@list.ru, getteirina@yandex.ru, nina.pakharkova@yandex.ru

This paper discusses the possibility of using fluorescent methods to assess the thermal effects on Scots pine needles' assimilation apparatus. Two types of experimental studies were carried out. The assessment of the primary heat resistance of the needles from the forest stand previously unaffected by fire lies at the heart of the first one. To assess the effect of temperature stress on the pine needles' photosynthetic apparatus functioning, the experiments on modeling a convective flow, simulating the ground fire effect were carried out. The second year needles from the 1st class trees of the green moss-and-motley group of forest types located in the forest-steppe zone of Southern Siberia were studied. According to F_v/F_m fast fluorescence parameter (the maximum photochemical quantum yield of photosystem II), it was demonstrated that after the heat stress, the assimilation apparatus of pine needles can be restored at different rates. This rate depends on the duration and intensity of heating. The second experiment was based upon the task of determining the ability to restore the assimilation apparatus of pine needles after the repeated influence of sub-lethal temperatures on plants in the recovery period after a ground fire of the previous year. Based on the analysis of the parameters of fast and delayed fluorescence, it was possible to detect differences in thermal resistance and the rates of pine needles' photosynthetic activity reestablishment, which indicates modification of physiological processes in plants under the influence of the thermal stress factor, forming a positive acclimation effect. Thus, fluorescent methods can be used to diagnose the thermal resistance of needles. In particular, the indicator of delayed fluorescence as a criterion for assessing the resistance of the assimilation apparatus in response to the repeated action of stress factors during the recovery from fire. F_v/F_m ratio can be used to assess the response of the needles' assimilation apparatus to stress during the first days after fire.

Keywords: Scotch pine *Pinus sylvestris* L., heat stability, forest fires, fluorescence, heat stress, Southern Siberia.

How to cite: Kosov I. V., Gette I. G., Pakhar'kova N. V. Application of fluorescence analysis for evaluation of heat stability of Scotch pine needles after ground fires // *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* (Sib. J. For. Sci.). 2017. N. 5: 95–104 (in Russian with English abstract).