

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Сибирский федеральный университет»

На правах рукописи



Гетте Ирина Геннадьевна

**ОТКЛИК СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) НА ВОЗДЕЙСТВИЕ
НИЗОВЫХ ПОЖАРОВ В УСЛОВИЯХ КРАСНОЯРСКОЙ ЛЕСОСТЕПИ**

1.5.15 – Экология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент

Безкоровайная Ирина Николаевна

Красноярск 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ПОСЛЕДСТВИЯ ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ.....	11
1.1 Воздействие пожаров на компоненты лесных экосистем.....	13
1.2 Экологические особенности восстановления после пожаров различной интенсивности представителей рода <i>Pinus</i>	17
1.3 Высокие температуры при пожаре как стрессовый фактор для древостоя	23
1.4 Синтез белков теплового шока в растительной клетке при стрессе.....	30
1.5 Применение флуоресцентных методов в оценке стресс–устойчивости растений.....	35
ГЛАВА 2 РАЙОН И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1 Характеристика природно–климатических условий района исследования.....	38
2.2 Характеристика экспериментальных участков.....	40
ГЛАВА 3 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	44
3.1 Моделирование устойчивого конвективного потока заданной температуры.....	44
3.2 Тепловое стрессирование побегов в термостате.....	46
3.3 Моделирование пожара на территории опытного экспериментального хозяйства «Погорельский Бор».....	48
3.4 Флуоресцентные методы.....	49
3.5 Определение содержания фотосинтетических пигментов.....	52
3.6 Определение накопления белков теплового шока.....	53
3.7 Оценка жизненного состояния насаждений.....	58
3.8 Отбор образцов.....	60
3.9 Статистическая обработка данных.....	62

ГЛАВА 4 ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА ПОВЫШЕННЫЕ ТЕМПЕРАТУРЫ.....	63
4.1 Адаптивные изменения фотосинтетической активности сосны в постпирогенный период (после повторного теплового стресса).....	64
4.2 Анализ воздействия высоких температур при моделировании конвективного потока на ассимиляционный аппарат хвои сосны обыкновенной	69
ГЛАВА 5 ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ И ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ПОСТПИРОГЕННЫЙ ПЕРИОД.....	80
5.1 Моделирование пожара на территории ОЭХ «Погорельский бор».....	80
5.2 Оценка жизненного состояния древостоя на исследуемых площадях.....	87
5.3 Оценка накопления стрессовых белков и интенсивности фотосинтеза хвои сосны обыкновенной в постпирогенный период.....	91
5.3.1 Краткосрочные последствия пожара. Накопление Hsp и флуоресцентные показатели хвои	91
5.3.2 Сезонная динамика накопления Hsp и флуоресцентные показатели хвои в период восстановления (1 год после пожара).....	99
5.3.3 Долгосрочные последствия пожара в зависимости от силы пожара, длительности послепожарного периода и возраста хвои.....	114
ВЫВОДЫ.....	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Современное состояние исследований в области лесной пирологии характеризуется устойчивым интересом (Soja et al., 2004; McRae et. al., 2006; Тарасов и др., 2011; Швиденко и др., 2011; Цветков, 2013; Иванова и др., 2014; Иванова и др., 2022). По данным спутниковых наблюдений, динамика горимости лесов Сибири, за последние 20 лет, показывает устойчивую тенденцию роста, как в количестве лесных пожаров, так и в площади, пройденной ими (Швиденко, Щепаченко, 2013; Ponomarev, Kharuk, 2016). Прогнозирование послепожарного развития лесных экосистем при этом становится актуальной задачей. Оценка устойчивости лесов и их отдельных компонентов (в частности древостоя) к пирогенному воздействию является важной частью такого прогнозирования (Bryukhanov et.al., 2018).

Неоднократно отмечалось, что степень пирогенной трансформации и последующее восстановление экосистемы зависит от вида и характера повреждения, которые определяются длительностью и интенсивностью пожара, комплекса абиотических факторов, типа леса (Neary et.al, 1999; Certini 2005; Ice et al. 2004; Herrero et.al, 2007). Светлохвойным лесам присуща высокая природная пожарная опасность (Korovin, 1996; Иванова и др., 2022).

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является одним из основных лесообразующих видов хвойных Сибири и признана одной из наиболее устойчивых к огневому воздействию пород (Perevoznikova et.al., 2005; Санников и др., 2008). Благодаря способности приспосабливаться к крайне неблагоприятным условиям экотопа ее относят к видам стресс-толерантам (Миркин, 2000).

Исследования, посвященные изучению ответных реакций растений на действие стрессовых факторов, проводятся на протяжении многих десятилетий (Кулаева, 1997; Xu et.al. 2011). В случае лесного пожара, одним из основных стрессирующих факторов являются кратковременные экстремальные температуры, непродолжительное действие которых оказывает влияние на

физиологический статус организма, что будет определять продуктивность, выживаемость и способность к регенерации.

Работы ряда авторов указывают на то, что действие высоких температур при прохождении низового пожара оказывает влияние на ряд физиолого–биохимических процессов и показателей растительных организмов, важное место среди которых занимают изменения в фотосинтетическом аппарате (Rieske, 2002; Adams, Rieske, 2003; Креславский и др., 2007; Масягина и др., 2007; Судаchkova и др., 2015; Титов и др., 2011; Wang et.al., 2014). В первую очередь, высокие температуры приводят к снижению устьичной проводимости и скорости ассимиляции углерода (интенсивности фотосинтеза) (Ducrey et al., 1996; Fleck et. al. 1996; Klimov, 2008; Ashraf, Harris 2013; Michaletz, 2018). При этом активируется множество регуляторных систем, в частности – синтез стрессовых белков, содержание фитогормонов и полиаминов, экспрессия ряда генов (Кулаева, 1997; Xin et al., 1994; Wang et al., 2004).

Приведённые данные в большей степени отражают результаты краткосрочных экспериментов, когда последствия действия температуры наблюдаются в течение нескольких часов, суток. Экофизиологические исследования, проводимые в долгосрочном периоде восстановления древостоя после пожара единичны. Установление маркеров (индикаторов) устойчивости деревьев, необходимо для дополнения теоретической базы в области экологического стресса растений, имеющей прогностическую ценность послепожарного развития лесных экосистем.

Цель исследования: оценка физиолого–биохимических реакций в отклике сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на пирогенное воздействие в условиях Красноярской лесостепи.

Задачи исследования:

1. Определение фотосинтетической активности в хвое сосны обыкновенной и способности к её восстановлению в ответ на прямое действие высоких температур во время пожара, а также в послепожарный период.

2. Оценка накопления белков теплового шока (Hsp) в хвое как биохимического маркера стрессового ответа дерева на пирогенное воздействие.

3. Оценка влияния силы пожара, и длительности восстановительного периода на содержание Hsp в хвое и уровень их накопления в ответ на повторное действие стрессового фактора.

4. Сравнение сезонной динамики флуоресцентных показателей и накопления Hsp в хвое сосны обыкновенной, подвергавшейся пирогенному воздействию и сформированной после него.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хвоя сосны обыкновенной, сформировавшаяся в послепожарный период, имеет те же тенденции изменения активности фотосинтетического аппарата и синтеза белков теплового шока, как и хвоя, сохранившаяся после пожара, что отражает проявление общей защитной реакции на уровне организма.

2. Накопление Hsp в хвое может служить биохимическим маркером протеомной защиты древостоя сохранившего жизнеспособность после низового пожара.

Научная новизна. В ходе уникальных исследований физиолого–биохимических параметров сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) выявлена способность к восстановлению ассимиляционного аппарата хвои в ответ на прямое воздействие высоких температур во время низового пожара и в период послепожарного восстановления древостоя.

Впервые для представителя рода *Pinus*, применен критерий для оценки биохимического статуса в виде определения содержания специфических стрессовых белков–шаперонов, выполняющих ключевую роль в восстановлении клетки при неблагоприятных условиях. Установлены различия в начальном содержании белков теплового шока для хвои сформированной в условиях восстановления, а так же хвои непосредственно подвергавшейся конвективному нагреву.

Впервые для древесного вида показано, что непродолжительное действие высоких температур является стрессовым сигналом, который запускает изменения

протеомных факторов устойчивости, представленных специфическим набором белков теплового шока, сохраняющихся на протяжении нескольких лет после воздействия теплового стресса.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты имеют фундаментальное и прикладное значение, заключающиеся в возможности прогнозирования физиологического состояния, в том числе на уровне протеома, представителя рода *Pinus* в ответ на действие высоких температур и в период восстановления. Изученные индикаторные признаки могут быть использованы при разработке принципов и механизмов климатического лесопользования.

Выявленные закономерности могут быть использованы для мониторинга экологического состояния лесных экосистем и диагностики процессов, вызванных воздействием экзогенных природных и антропогенных факторов.

Материалы диссертации рекомендованы к использованию в учебном процессе при реализации образовательных программ по направлениям «Экология и природопользование», «Биология», «Лесное хозяйство».

Личный вклад автора. Автор принимал участие в полевых работах, в том числе при проведении экспериментального пожара в виде контролируемого выжигания в сосновом насаждении, по сбору растительного материала. Первичная обработка образцов, выделение и определение белков теплового шока, флуоресцентных показателей, обработка данных, анализ и интерпретация выполнены лично автором.

Выявление белков теплового шока было выполнено с использованием оборудования ЦКП «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Апробация результатов. Основные положения диссертационной работы апробированы на конференциях и других научных мероприятиях российского и международного уровня. Список мероприятий приведен ниже:

X Съезд Общества физиологов растений России «Биология растений в эпоху глобальных изменений климата», Уфа, 2023 г. (тезисы: Накопление белков

теплового шока в хвое представителя рода *Pinus* в постпирогенный период); III Международная научно–практическая конференция, Минск, 2022 г. (тезисы: Краткосрочное и долгосрочное влияние низовых пожаров на содержание белков теплового шока в хвое *Pinus sylvestris* L.); Научная конференция «Интеграция науки и образования: современные проблемы, достижения и инновации в области экологии и устойчивого развития», Красноярск, 2022 г. (тезисы: Оценка содержания белков теплового шока в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в постпирогенный период); IX Съезд общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего», Казань, 2019 г. (тезисы: Оценка содержания стрессовых белков в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в постпирогенный период в условиях Красноярской лесостепи); отчетная конференция «Фундаментальные исследования молодых ученых Енисейской Сибири», Красноярск, 2019 г. (тезисы: Оценка содержания стрессовых белков и интенсивности фотосинтеза хвои сосны обыкновенной в постпирогенный период в условиях Красноярской лесостепи); Международная научно–практическая конференция «Актуальные проблемы природопользования и природообустройства», Пенза, 2018 г. (тезисы: Влияние низового пожара на термоустойчивость хвои сосны обыкновенной); Годичное собрание общества физиологов растений России «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды», Иркутск, 2018 г (тезисы: Оценка содержания белков теплового шока в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в постпирогенный период); XVII Международная научно–практическая конференция «Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии», Барнаул, 2018 г. (тезисы: Оценка стрессовой реакции сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на пирогенное воздействие в условиях Красноярской лесостепи); XX Международной научной школы–конференции студентов и молодых ученых «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий», Абакан, 2016 г. (тезисы: Влияние теплового стресса на ассимиляционный аппарат хвои сосны обыкновенной в послепожарных лесах южной Сибири); Всероссийская научная конференция с международным участием и школа молодых ученых «Факторы

устойчивости растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде», Иркутск, 2016 г. (тезисы: Использование флуоресцентных методов для оценки фотосинтетической активности хвои сосны обыкновенной в послепожарных сосняках); EcoSummit, Монпелье, 2016 г. (тезисы: Assessment of photosynthetic resilience in Scots pines after a surface fire).

Работа была поддержана грантами РФФИ 17–34–50051 мол_нр Оценка содержания стрессовых белков в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) после низовых пожаров в условиях Красноярской лесостепи; РФФИ/ККФН 18–44–243007 р_мол_а Оценка содержания стрессовых белков и интенсивности фотосинтеза хвои сосны обыкновенной в постпирогенный период в условиях Красноярской лесостепи.

Диссертационная работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания по проектам: «Фундаментальные основы защиты лесов от энтомо- и фитовредителей в Сибири» (№ FEFE-2020-0014) и «Эффективные оценки современных климатических и экологических рисков для центральной Сибири: Эко-Климатический Центр» (№ FSRZ-2023-007).

Публикации. Основное содержание и защищаемые положения отражены в 17 научных публикациях, в том числе 5 публикаций в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 5 публикаций в изданиях, индексируемых в базах Scopus и Web of Science, 7 в прочих научных изданиях.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Содержание диссертационной работы соответствует паспорту специальности 1.5.15 Экология (биологические науки). Результаты и выводы, полученные в рамках работы над диссертационным исследованием, соответствуют п.4 «Разработка принципов и механизмов, обеспечивающих устойчивое развитие общества при сохранении биоразнообразия и стабильного состояния природной среды».

Структура и объем работы диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав и выводов. Текст работы изложен на 156 страницах, содержит 30 рисунков и 10 таблиц. Список использованной литературы содержит 254 источников, 148 из которых на английском языке.

Благодарности. Автор выражает благодарность за помощь в работе над диссертацией, ценные советы, рекомендации и поддержку научному руководителю д.б.н., Безкоровайной И.Н. и к.б.н., доценту Пахарьковой Н.В.; за ценные комментарии, помощь в освоении методики, за помощь в обработке данных и поддержку – к.б.н., с.н.с. Коротаевой Н.Е; за помощь в проведении экспериментов, отборе, транспортировке образцов – к.с.–х.н., с.н.с. Косову И.В.

Автор выражает благодарность всем сотрудникам кафедры экологии и природопользования Института экологии и географии ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» за ценные комментарии и советы при работе над диссертацией. Автор признателен всему коллективу лаборатории физиологической генетики Института физиологии и биохимии растений СО РАН – за предоставленную возможность, проводить работу с образцами на базе научного учреждения.

ГЛАВА 1 ПОСЛЕДСТВИЯ ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ

Ежегодно, в России возникает от 4.5 до 27 тыс. пожаров, которые охватывают значительные площади, по некоторым оценкам достигающие несколько млн.га ежегодно (Conard et al., 2002; Цветков, Буряк, 2014; Иванова и др., 2022). Российские и зарубежные исследователи приводят оценки ежегодной площади пожаров в лесах России на уровне от 2–17 млн га, данные цифры получены в том числе с применением дистанционных методов исследования (Conard et al., 2002; Пономарев и др, 2019; Shvidenko et al., 2011). Ежегодно, большинство лесных пожаров приходится на леса Сибирского Федерального округа, в среднем более 30 процентов от общего количества пожаров на территории России (Wildfire Hazards..., 2015). В последние десятилетия отмечается тренд на увеличение числа лесных пожаров, в современных климатических условиях, и как следствие площади пройденной ими (Soja et al., 2004; Shvidenko et al., 2011; Швиденко, Щепашенко, 2013; Пономарев и др., 2019).

Распределение лесных пожаров на территории Сибири неравномерно, в основном в районах с насаждениями лиственницы сибирской и сосны обыкновенной, которые характеризуются повышенной пожароопасностью (Евдокименко, 2008; Валендик, 2014). На долю сосновых лесов приходится до 60 % от общего количества лесных пожаров (Korovin, 1996). Леса, где преобладают темнохвойные виды, характеризуются меньшей опасностью в возникновении и распространении пожаров в виду высокой влажности лесных горючих материалов (Софронов и др, 2005). На их долю приходится в среднем от 3,5 до 7% (Kharuk et.al., 2013, Wildfire Hazards..., 2015). Более 80% всех пожаров характеризуются как наземные пожары различной интенсивности, остальные приходятся на верховые, менее 1% площади охвачено подземными пожарами (Korovin, 1996). По среднемноголетним данным спутниковых наблюдений (Барталев., Стыщенко, 2021) вероятность гибели лесов после прохождения пожара характеризуется сезонным распределением, максимум отмечен в летний период, весенним и

осенним пожарам соответствуют многократно более низкие уровни губительных повреждений.

По результатам многолетних данных отмечена высокая горимость и частая повторяемость пожаров для светлохвойных лесов Восточной Сибири, и напротив редкая повторяемость пожаров заболоченных темнохвойных лесов Западной Сибири (Валендик, 1996). В сосновых лесах Центральной Сибири, средний интервал между пожарами оценен в 30–38,5 лет (Wirth et.al., 2002, McRae et al., 2006).

Для Средней Сибири в сосново–лиственничных лесах частота пожаров увеличивается с севера на юг (Валендик, 1996). По данным Ивановой Г.А (2006, 2022) для сосняков Средней Сибири в северной и средней тайге максимальное число лесных пожаров приходится на июль. В южной тайге это ранневесенний пик горимости (май) и летний (июль). В подтаежной и лесостепной зонах максимум приходится на май–июнь, в горных лесах юга Средней Сибири на май. При этом большее количество лесных пожаров в сосняках и площади пройденной ими относится к лесорастительной зоне Южной тайги, с средним межпожарным интервалом 16–28 лет; затем Средняя тайга – 20–40 лет, подтайга и лесостепь – 6–12 лет; Северная тайга – 32–54 лет. В зоне доминирования лиственничников подзона северной тайги Средней Сибири межпожарный интервал составляет 50–80 лет (Пономарев и др., 2019). Основной причиной возникновения лесных пожаров является антропогенный фактор и грозы. Для северных лесов и редколесий пожары от гроз могут составлять более 90%, тогда как подтаежно–лесостепной зоне не более 10% (Фуряев и др. 2017; Иванова и др. 2022).

В научных работах последних десятилетий все чаще приводятся прогностические сценарии, основанные на глобальных климатических моделях, о влиянии потепления климата на леса Сибири. При повышении среднесуточных температур в бореальных лесах прогнозируется сокращение межпожарного интервала, увеличение засух и как следствие горимости лесных территорий, увеличение интенсивности горения, площади пройденной пожарами, а так же

возрастания количества экстремальных пожаров и пожаров от молний (Валендик, 1996; Flannigan et al, 2009; Швиденко и Щепашенко, 2013; Кукавская и др 2017).

1.1 Воздействие пожаров на компоненты лесных экосистем

Лесные пожары представляют один из основных экологических факторов, влияющих на лесные экосистемы. Отечественными и зарубежными учёными накоплен обширный материал по влиянию пирогенного фактора на отдельные компоненты среды. В частности, отмечается значительное влияние на биоразнообразие, возрастную структуру древостоя, соотношение видов, гидротермические условия, трансформацию химических и биологических свойств почвы, биогеохимические циклы в лесных экосистемах, заселение участков энтомоvoreдителями (Turetsky, Wieder, 2001; Pausas et al., 2003; Pausas, Verdú 2005; McRae et al., 2006; Цибарт, Геннадиев, 2008; Tarasov et al., 2011; Швиденко и др., 2011; Цветков, 2013; Иванова и др., 2014; Дымов и др., 2015; Ковалева, 2015). При этом не раз отмечается, что степень пирогенной трансформации и последующее восстановление лесной экосистемы прямо коррелирует с типом, интенсивностью и продолжительностью пожара, характером и количеством лесных горючих материалов, типом растительности, возрастом древостоя, уклоном, рельефом (микрорельефом), эдафическими и климатическими характеристиками, а так же площадью горения (Neary et.al, 1999; Ice et al. 2004; Certini 2005; Lecomte et.al, 2006; Herrero et.al, 2007; Alexander, Cruz, 2012).

Высокоинтенсивные пожары приводят к значительному снижению наземной биомассы, изменению видового состава растительности; значительно сказываются на свойствах почв, включая изменение физических структур (Boyer, Miller 1994; Arocena, Opio 2003; Kukavskaya et al., 2014), увеличение запасов почвенных катионов (Liechty et al., 2005; Neff et al., 2005), изменению соотношения C:N в почвах, при этом сразу после пирогенного воздействия наблюдается увеличение содержания валового азота за счет поступления большого количества опада (Choromanska, DeLuca 2002; MacKenzie et al. 2004).

Высоко– и среднеинтенсивные низовые пожары, приводят к значительному нарушению фитоценоза, непосредственно влияют на почву. Отмечается увеличение зольности после пожара (Pereira et al. 2013), изменение поступления питательных веществ, что в свою очередь сопровождается изменением биохимических показателей почвы, макро– и микрофауны подстилки и верхних слоев почвы; повышении температуры верхних слоев; изменение скорости эвапотранспирации из–за гибели растительного покрова, что, в свою очередь, изменяет доступность почвенной влаги. Изменение температурного режима почвы может приводить к деградации многолетней мерзлоты (McRae et al., 2006; Bodi et al., 2014). Изменение гидротермических условий почв, представляет собой очень ценную информацию, характеризующую степень влияния пирогенного фактора на компоненты лесных биоценозов (Тарасов и др., 2008; Тарасов и др., 2023).

Влияние поверхностных пожаров с низкой интенсивностью на химические свойства почвы обычно относительно незначительны. Лишь незначительное повышение pH и общего содержания азота в почвенном органическом слое. В первое время практически исчезают активные деструкторы клетчатки (микроскопические грибы) (Richter et al., 1982; Ferran et al., 2005; DeLuca, Sala 2006; Neill et al., 2007; Marozas et.al., 2013). После пожаров, вне зависимости от их интенсивности, снижается плотность и разнообразие микро– и мезоэдафауны. В первые годы снижается численность микроорганизмов азотно–углеродного цикла, уменьшается интенсивность микробного дыхания (Безкоровайная и др, 2005; Богородская и др., 2010).

В условиях распространения многолетней мерзлоты, где преобладают лиственничники, повторяемость лесных пожаров достаточно редка, однако в большинстве случаев, имея достаточно высокую интенсивность горения, приводит к полному разрушению древостоя (Фуряев и др., 2017). При этом, в течении первых 10 лет проявляется их позитивное влияние на верхние горизонты почвы, что выражается в снижении кислотности, повышении содержания доступных элементов питания, улучшение теплообеспеченности (Абаимов,1996).

Пожар является одним из экологических факторов, который влияет на структуру и состав растительности. Восстановление видового разнообразия наземной растительности во многом обусловлено организацией травяно-кустарничкового яруса исходного (предпожарного) типа леса, а так же интенсивностью пожара. Например, в условиях криолитозоны, где доминируют лиственничники, низовой пожар слабой интенсивности не разрушает структуру растительного покрова, и она быстро восстанавливается, в отличие от высокоинтенсивных воздействий (Перевозникова и др., 2005). Исследования по составу и структуре наземной растительности в сосновых лесах средней Сибири показали, что пожары слабой интенсивности не наносят значительного ущерба травяно-кустарничковому ярусу, после пожаров более высокой интенсивности восстановление отмечается на 3 – 6 год (Perevoznikova et.al., 2007), то же показано и в исследовании (Marozas et.al., 2013), который отмечает увеличение покрытия напочвенной растительности в течении 3–4 лет после пожара, по сравнению с негоревшими участками. В случае высокоинтенсивных пожаров в сосняках разнотравной группы типов леса, при котором значительно нарушается живой напочвенный покров, в условиях восстановления формируются монодоминантные растительные сообщества из кипрея и вейника (Перевозникова и др., 2005). В лиственничниках Центральной Эвенкии после сильных устойчивых пожаров возобновление напочвенного покрова с проективным покрытием до 50 % отмечается на второй 2–3 год после пожара формируя вейниково-кипрейные гари (Шабалина и др., 2021).

Жизненное состояние древостоя в первую очередь детерминировано интенсивностью горения, в виду влияния критических температур на крону, термического повреждения камбия ствола и корней (Валендик, Косов 2008; Kukavskaya et al., 2014; Иванова и др., 2018). При этом на горях отмечается хорошее возобновление светлохвойных пород сосны и лиственницы (Буряк и др., 2003; Цветков, 2013; Иванова и др., 2018), в отличие от темнохвойных пород ели, пихты, кедра (Буряк, Каленская, 2020). В первую очередь, при пожарах различной

интенсивности губительны для подростка с диаметром ствола 6–8 см, погибающие от кольцевого ожога камбия (Фурьев В.В., Фурьев Е.А., 2008).

Несмотря на отмеченные общие черты, влияние пожаров на компоненты экосистем могут быть различным и зависеть от физико-географических условий, типа леса и местообитаний, первоначальных свойств почвы, фитоценозы, а также вида и интенсивности пожара (Безкоровайная и др., 2005; Lecomte et al., 2006; Dymov et al., 2018; Гераськина и др., 2021).

В настоящее время, в России и за рубежом, имеются данные о сравнительной устойчивости различных древесных пород к огню, т. е. о степени их повреждаемости и огнестойкости. При этом, наибольшая устойчивость к огню (пожароустойчивость) характерна для светлых хвойных пород, тогда как мелколиственные и темнохвойные виды менее устойчивы к воздействию огня (Балбышев, 1963; Гирс, 1982; Michaletz, Johnson, 2007; Цветков, 2011; Буряк, Каленская 2020). В работе Sparks с соавторами (2023) приведены результаты сравнения хвойных видов по физиологическим характеристикам и смертности в ответ на воздействия пожаров различной интенсивности. Автор отмечает высокую выживаемость видов рода *Pinus* после низкоинтенсивных пожаров по сравнению с другими хвойными видами.

Сохранение жизнеспособности взрослых особей светлых хвойных видов обусловлено морфологическими и физиологическими особенностями: наличие толстой коры, обладающей высокой термоизолирующей способностью; быстрый рост в высоту и очищение ствола от нижних сучьев; заглубленная корневая система; обильное смоловыделение, что предотвращает развитие энтомофитовредителей; семенная репродукция (Гирс, 1982; Pausas, 2019; Санников, Санникова 2009, Буряк, Каленская 2020; Фурьев В.В., Фурьев Е.А., 2008; Цветков 2006, 2011). Ряд исследований указывают на наличие регенерационных стратегий у растений, сформированных в ходе эволюции, в результате периодически повторяющихся пожаров, что позволяет им восстанавливаться на сгоревших участках (Vallejo et al., 2012).

1.2 Экологические особенности восстановления после пожаров различной интенсивности представителей рода *Pinus*

Анализ послепожарных нарушений и изменений в лесных сообществах напрямую связан с изучением механизмов адаптации, на примере ее отдельных компонентов. Восстановление фитоценоза после пожара представляет собой сложный процесс, зависящий от индивидуальных особенностей растительных организмов (морфологические и физиолого-биохимические параметры), абиотических факторов среды, сопутствующих пожару, а так же от характеристик пожара (время года, в которое произошел пожар, его интенсивность) (Tapias et al., 2001). Представители рода *Pinus* довольно устойчивы к действию пожаров слабой и средней интенсивности. К обще родовым особенностям можно отнести наличие толстой коры, что выступает хорошей изоляцией тканей от губительных температур, плотный лист, глубокая корневая система, высокоподнятая крона, огнестойкие шишки (Fernandes et.al., 2008).

Во время горения лесной подстилки температура конвективного потока в кроне и камбиальной зоне древостоя может варьировать в зависимости от интенсивности и характера горения, а так же возраста древостоя, что определяет высоту расположения кроны и толщину коры (Varner et al. 2009; Yadegarnejad et al. 2015; Michaletz, 2018; Varner et al. 2021). Наиболее уязвимыми оказываются молодые деревья, с тонкой корой и низко расположенной кроной. Последствия ожога кроны и камбиальной зоны это изменения в физиологических, биогеохимических процессах, что отражается на жизненном состоянии древостоя (Varner et al. 2021).

Рассматривая пирозэкологические свойства *Pinus sylvestris* Фуряев В.В. и Фуряев Е.А. (2008) отмечают, что стволы до 6 см, с толщиной коры менее 3 мм погибают от кольцевого ожога камбия и полного повреждения крон, при этом сосны с диаметром свыше 20 см с корой около сантиметра не получают кольцевых ожогов. В общем, данные согласуются с экспериментальными исследованиями Валендика и др., (2008) по выявлению зависимости между

временем прогрева камбия и толщиной коры. При пожарах средней интенсивности будет происходить гибель *Pinus sylvestris* с диаметром до 12–16 см, а *Pinus sibirica* – до диаметра 18 см.

Лесные пожары могут приводить к изменениям физиологических и ростовых процессов древостоя, через прямое влияние высоких температур, вызывая стресс у деревьев, а так же через косвенное влияние, например изменение доступности питательных веществ в почве. В исследованиях экологического воздействия лесных пожаров, отмечаются различные особенности в физиологических параметрах растительного организма в постпирогенный период, что по большей степени обусловлено характером нарушения, а именно интенсивностью лесного пожара и его продолжительностью. Для высших растений, к которым относятся и представители рода *Pinus*, характерен активный путь адаптации к неблагоприятным факторам среды, включающий как специфические, так и неспецифические реакции (Kolb, Robberecht, 1996).

В работе Heidi J. Renninger (2013) рассматривается влияние ранневесеннего контролируемого выжигания низкой интенсивности на физиологические особенности, в частности состав питательных веществ и фотосинтетическую активность хвои *Pinus rigida* L., произрастающей на территории Национального парка «The New Jersey Pinelands» (США). Было отмечено, что исследуемые фотосинтетические параметры не имели значимых отличий между контрольной и нарушенной территорией, в течении всего вегетационного периода. Тем не менее, максимальная скорость карбоксилирования различались между двумя площадями. Отмечено увеличение более чем в 3 раза для сосны произрастающей на территории подверженной контролируемому горению, между предпожарным и летним периодом, при этом осталась относительно постоянной в контрольном древостое.

Rachele Beghin с соавт. (2011) исследовали влияние сильного пожара на изменения структуры годичных колец (ширину), а также изменения в изотопном составе азота и углерода годичных колец, уцелевших деревьев в насаждениях *Pinus sylvestris* L. в Северной Италии. После пожаров у уцелевших деревьев

наблюдалось подавление роста годовичных колец. Отношение изотопов углерода $\delta^{13}\text{C}\%$ уменьшается в кольцах деревьев, образовавшихся в течение 5 лет после пожара, что указывает на лучшее водоснабжение в условиях меньшей конкуренции. Изменения в росте и изотопном составе деревьев, подвергшихся огневому стрессу, исчезли через 6–10 лет после пожара. Thompson Matthew T. C. (2017) не отметил достоверных отличий в содержании $\delta^{13}\text{C}\%$ в древесных кольцах *Pinus contorta* var. *latifolia* спустя 2 года после повреждения низовым пожаром средней и низкой интенсивности, относительно контрольных участков.

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является одним из основных лесообразующих видов хвойных Сибири и многими исследователями признана одной из наиболее устойчивых и хорошо адаптирующихся к огневому воздействию пород (Perevoznikova et.al., 2005).

На примере контролируемого выжигания, имитирующего пожар средней силы в насаждении *Pinus sylvestris* L. в лесостепной зоне Красноярского края, показано, что в течение нескольких месяцев после воздействия пожара проявляется первичная реакция дерева на пирогенный стресс (Судачкова и др., 2016). Происходит резкое снижение содержания хлорофиллов в хвое и повышение пероксида водорода, снижение содержания низкомолекулярных углеводов и ослабление активности окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов в прикамбиальной зоне деревьев. Отмечено уменьшение ширины образовавшегося годовичного кольца, вследствие уменьшения числа ранних и поздних трахеид (Гирс, 1982; Судачкова и др., 2016). Как показали исследования (Судачкова и др., 2015), температура камбиальной зоны при средней силе низового пожара колеблется от 37 до 95°C, при слабой – от 30 до 53 °C что превышает максимальную температуру камбиальной зоны сосны в данном районе и может быть причиной образования избыточного количества свободных радикалов. При этом низовые пожары слабой силы, значительно повреждая подчиненную часть древостоя, не вызывают необратимых последствий в редокс-статусе прикамбиальной зоны доминирующих деревьев (Судачкова и др., 2015). Исследования по определению дыхания стволов сосны обыкновенной показали,

что низовой пожар низкой интенсивности привел к снижению данного показателя в 1,5–1,6 раза у ослабленных и сильно ослабленных деревьев по сравнению со здоровыми, по предположению авторов такое снижение может объясняться блокировкой смоляных ходов ствола (Масягина и др., 2007).

Thompson et al. (2016) провели исследование ряда физиологических параметров хвои пяти деревьев *Pinus contorta* 52–92 летнего возраста, сохранивших жизнеспособность на 2 год после контролируемого горения имитирующего пожар средней интенсивности. Процент потери кроны составил около 10 %, годичный прирост и площадь листьев поврежденных деревьев сократились, показатель устьичной проводимости был ниже у поврежденных в отличие от контрольных древостоев. Не было выявлено существенных различий в значениях $\delta^{13}C$. Результаты, как отмечают авторы, указывают на снижение гидравлической проводимости тканей, в том числе из-за уменьшения площади заболони.

Комплексное физиологическое исследование было проведено Alexou, Dimitrakopoulos (2014) на территории Греции в сосновом лесу с доминирующим видом *Pinus brutia* Ten. В эксперимент были включены четыре дерева в возрасте 10–16 лет, высотой 1,9–3,15 м, которые подвергали нагреванию при помощи газовой горелки в течении 10 минут, с высотой пламени от 30 до 60 см. Было отмечено накопление общих сахаров, аминокислот во флоэме в первый день после пожара и их снижение через неделю. Содержание общего белка во флоэме значительно увеличилось через 2 часа после горения, спустя неделю содержание было так же выше относительно контрольного уровня. В хвое содержание сахаров и аминокислот статистически не различались с контролем, при этом увеличение АФК было отмечено через 2 часа после воздействия, содержание общего белка, антиоксидантов увеличилось на следующий день. Авторы отводят основную роль в защитных процессах флоэмному транспорту веществ.

Pinus pinaster Ait. – вид, распространенный в прибрежных регионах Средиземноморского бассейна Европы и Африки, Атлантического океана побережья Португалии, Испании и Франции, а также на средних высотах, на

горных хребтах и равнины Пиренейского полуострова. Один из видов, испытывающий частое влияние лесных пожаров. *P. pinaster* наряду с *Pinus halepensis*, вида широко распространенном на западе регионов Средиземноморья, характеризуются как типичные пирофиты, поскольку хорошо восстанавливаются после лесного пожара. К основным адаптивным признакам данных видов относят раннюю семенную продуктивность, течении 20 лет после прорастания, быстрый рост. *P. halepensis* после высокотемпературного воздействия на шишки быстро распространяет семена (Castro et al., 1990; Nunez, Calvo, 2000; Fernandes et al., 2004). Основным морфологическим признаком огнестойкости *Pinus pinaster* является толстая кора, формирующаяся довольно рано. Для деревьев с диаметром 20–30 см толщина коры варьирует от 1,5–4 см (Fernandes, Rigolot, 2007). Так же указано, что хвоя *P. pinaster* выдерживает температуры в диапазоне от 55–65 в течении минуты, в отличие от *Pinus halepensis* и *P. pinea* которые менее терпимы к тепловому стрессу. Для *Pinus halepensis* характерная достаточно тонкая кора, которая не защищает внутри клетки от высоких температур. Средняя выживаемость *Pinus halepensis* с диаметром 3–18,5 см после низовых пожаров составляет около 30%. При воздействии на древостой высокоинтенсивных пожаров выживаемость *P. pinea* составляет более 10%, в то время как *P. halepensis* при одних условиях полностью погибает (Fernandes et al., 2008; Battipaglia et al., 2014). При высокоинтенсивных пожарах для *Pinus pinaster* отмечено снижение прироста, что тесно коррелирует с процентом ожога кроны. В год пожара наблюдается резкое снижение фотосинтетической и устьичной активности (Niccoli et al., 2019).

Pinus pinea и *Pinus canariensis* –виды с достаточно толстой корой, с отсутствием низко расположенных боковых ветвей являются огнестойкими видами. Имеются данные, древостой *Pinus pinea*, получивший 80% ожога своего полога в результате низового пожара, сохраняет свою жизнеспособность (Pines and Their Mixed Forest..., 2021).

Так же, положительная роль низкоинтенсивных наземных лесных пожаров показана для лесов с насаждениями *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws., за счет

снижения количества лесных горючих материалов, прореживания подроста и подлеска, увеличение высоты основания кроны доминирующих деревьев (Reinhardt, Dickinson, 2010; Smith et al., 2016). Молодые деревья *Pinus ponderosa* с диаметром до 10–15 см весьма уязвимы к действию пожаров низкой интенсивности из-за тонкой коры и низко расположенной кроны (Battaglia et al., 2009).

Некоторые представители рода *Pinus*: *P. banksiana*, *P. rigida*, *P. clausa*, *P. attenuate*, *Pinus pinaster*, *Pinus halepensis* и др. – сохраняют семена в закрытых шишках и единовременно «выбрасывают» их сразу после прохождения фронта пожара. Отмечается послепожарное повышение семенной продуктивности сосны обыкновенной. После интенсивного пожара часть семян сосны обыкновенной (30–40%) высвобождается, обсеменяя гарь, проявляя, таким образом, послепожарную семенную репродукцию (Санников, Санникова, 2009).

Недавние исследование Sparks Aaron M. с соавторами (2023) использовали подход «доза–реакция» для изучения влияния низовых пожаров различной интенсивности на физиологические параметры (скорость фотосинтеза, флуорисценцию хлорофилла) двух видов сосны белой западной (*Pinus monticola* var. *minima* Lemmon) и пихты Дугласова (*Pseudotsuga menziesii* Mirb). Было показано, что физиологические параметры как *P. monticola*, так и *P. menziesii* снижались с увеличением интенсивности пожара, при этом *P. monticola* сохраняла более высокую скорость фотосинтеза и более высокую флуоресценцию хлорофилла при более высоких дозах и в течение более длительного времени после пожара. *Pinus monticola* также имела полную выживаемость при более низких дозах пожара, тогда как *P. menziesii* при различной интенсивности пожара имела некоторую смертность, что отражает более высокую огнестойкость *P. monticola*.

Некоторые расхождения в эколого–физиологической реакции древостоя на воздействия пожаров могут быть из-за разницы в степени тяжести, разных временных интервалов между горением и исследованием параметров.

Таким образом, состояние насаждений после пожара в значительной степени определяется его типом. Влияние беглых низовых пожаров на древостой незначительно и к сильному ослаблению не приводит (Верховец, 2000). Устойчивые низовые пожары средней и высокой интенсивности вызывают ослабление и частичное усыхание деревьев в древостоях в течение нескольких последующих лет. Возможность репарации повреждений, полученных при тепловом воздействии во время пожара, зависит от степени нарушения физиологических функций в живых тканях корней, ствола и кроны (Swezy, Agee, 1991; Dickinson et al., 2005; Судаchkova и др. 2016). В обзоре Fernandes et.al. (2008) по европейским видам наибольшая огнестойкость характерна для *P. canariensis*, *P. pinea* и *P. pinaster*, менее огнестойки *P. sylvestris*, *P. halepensis* и *P. uncinata* которые сохраняют жизнеспособность после нескольких пожаров низкой интенсивности.

1.3 Высокие температуры при пожаре как стрессовый фактор для древостоя

В течение жизненного цикла растительные организмы испытывают влияние изменений существующего экологического режима в результате деятельности человека, а так же различных воздействий биотических и абиотических факторов, оказывающих влияние на их жизнеспособность. Для лесных экосистем одним из важнейших циклически повторяющихся экологических факторов являются лесные пожары (Иванова и др., 2022). Исследователи отмечают, что последствия лесных пожаров отмечаются на всех уровнях биологической организации, от клеточного: фотосинтеза и дыхания, до экосистемного: продуктивности и эвапотранспирации (Michaletz, 2018). В зависимости от типа леса, возраста древостоя, высоты расположения кроны дерева, толщины коры, глубины залегания корней, интенсивности и продолжительности пожара отмечаются различные последствия (Clinton et al., 2011; Hood et al., 2010).

При прохождении лесного пожара, значимым стрессовым фактором, оказывающим влияние на древостой, живой напочвенный покров, почвенный микробоценоз, являются высокие температуры (Богородская и др., 2010; Судачкова и др., 2016). В последние годы было проведено множество исследований способности растений восстанавливать свои поврежденные стрессом системы, что важно для выживания и продуктивности (Woolley et al. 2011; Guo et al. 2016; Smith et al. 2017; Furniss et al. 2019).

В своих исследованиях П.А. Цветков отмечает, что пирогенные свойства древесных пород представляют совокупность ответных адаптивных реакций (адаптивный потенциал), выработанных в процессе филогенетического развития. Он предлагает рассматривать понятия «огнестойкость», «пожароустойчивость», «пирофитность» как частные определения устойчивости древесных пород к пожарам, объединяя их общим понятием «пирогенные свойства». При этом огнестойкость определяется как форма индивидуальной устойчивости особей вида к пожарам; пожароустойчивость – форма устойчивости на уровне насаждения; пирофитность рассматривается как степень приспособления древесных пород послепожарным условиям экотопа на уровне лесных формаций (Цветков, 2011).

Устойчивость древесных пород к пожарам на организменном уровне связана с их морфологическими и физиологическими особенностями (Буряк, Каленская, 2020). Первое в основном оценивается по визуальным таксационным характеристикам. Высокотемпературное воздействие при пожаре запускает каскад сложных механизмов, которые оказывают влияние на физиологию дерева. Изучение физиологических особенностей и функционирования всего растения в поспирогенный период являются предметом исследования на протяжении долгого периода (Гирс, 1982; Fleck et al., 1996; Michaletz, Johnson, 2007; Fernandes et al., 2008; Battipaglia et al., 2014; Судачкова и др., 2015, 2016; Carlo et al., 2016; Bar et al., 2019; Kleynhans et al., 2021; Sparks et al., 2023; Dickman et al., 2023).

Более пластичная адаптационная перестройка процессов метаболизма характерна для светлых формаций, для которых межпожарный интервал

невелик, и в среднем может составлять от 8 до 40 лет. Древостой в светлохвойных лесах относительно устойчив к огню с 30-40 летнего возраста. Для темнохвойных формаций межпожарный интервал составляет в среднем 90–100 лет (Иванова и др., 2022). При этом, последствия пожаров в ельниках и пихтачах более тяжелые, из-за значительного повреждения низкорасположенных крон, так и из-за того что эти породы тонкокорые и имеют поверхностную корневую систему (Гирс, 1982).

Получены данные по многоплановому влиянию лесных пожаров на ствол и крону деревьев, как через последующее изменение условий среды, так и через непосредственное воздействие высоких температур во время горения (Горшков и др., 2004; Varner et al., 2009; Судачкова и др., 2016). В работах по изучению способов теплопередачи при лесных пожарах на древостой обозначается, что присутствуют три вида теплопередачи: конвекция, кондукция (теплопроводность) и тепловое излучение пламени (инфракрасное излучение). Преобладающая часть теплопередачи при низовом пожаре отводится конвекции (Rieske, 2002; Adams, Rieske, 2003; Валендик и др., 2006; Michaletz, Johnson 2007; Креславский и др., 2007).

Растительные организмы имеют различный уровень толерантности к тепловому воздействию. В целом, нарушения биологических структур, сопровождающиеся деградацией белка и гибелью тканей растений, находится в диапазоне 40–70°C. При температуре почвы около 60°C корни растений могут быть значительно повреждены или погибнуть, гибель семян происходит в диапазоне 70–90°C (Neary et.al., 1999). Имеются данные, что ущерб, нанесенный деревьям низовыми пожарами, различен в зависимости от времени года. Так Harrington (1993) при изучении влияния огня на крону сосны желтой (*Pinus ponderosa*) приводит результаты того, что уровень гибели на 2,5 раза был выше у активно растущих деревьев при весенних и летних пожарах, по сравнению с древостоем после осеннего возгорания, при одинаковой степени ожога кроны, что подтверждается результатами исследования Bison et.al. (2022).

В тоже время в исследования Гирс (1982) приводятся результаты исследований теплоустойчивости хвои различных видов в течении вегетационного периода. Отмечено, что теплоустойчивость вегетативных органов повышается к концу вегетации, минимальная жаростойкость характерна для фазы развертывания листьев.

Тепловое излучение оказывает непосредственное воздействие на ствол дерева, что приводит к снижению интенсивности процесса ксилогенеза – образования древесины, обусловленное деятельностью камбия, так как в условиях пожара камбиальные клетки испытывают тепловой шок (Судачкова и др., 2016). В зависимости от видовой принадлежности вида, гибель клеток камбия и флоэмы начинается при температуре от 48°C, при достаточно длительном воздействии, при этом флоэма более чувствительна к термическому воздействию. Температуры около 60–65°C являются летальными (Гирс, 1982; Валендик и др., 2006; Иванова и др., 2022). При частичном повреждении камбиальных тканей, на поврежденной части ствола образуется пожарная подсушина, древостой при этом остается жизнеспособным. Значительная роль в степени огнестойкости различных видов отводится толщине и плотности коры, ее влажности, а так же плотности самой древесины. Повреждение меристематических тканей может ограничивать рост других важных тканей и органов, таких как флоэма, ксилема, корни и листья (Michaletz, Johnson, 2007).

Кондукция присутствует при распространении тепла излучением, так как энергия при излучении в коре распространяется теплопроводностью, но также присутствует отдельный случай, это пожары распространяющиеся тлением, более известные как торфяные (Косов и др., 2004). В различной степени, в зависимости от продолжительности горения, а так же характера лесных горючих материалов, их влажности, происходит повреждение корневой системы посредством теплопередачи (Michaletz, Johnson, 2007). Повышение температур выше экологического оптимума для вида, приводит к некрозу живых клеток. Устойчивое горение вызывает более серьезное повреждение корней в отличие от беглых пожаров, из-за более длительного прогрева почвенного слоя.

Повреждение корневой системы может привести к снижению запасов неструктурных углеводов в корнях, снижению транспирации всего растения и темпов роста (Kleynhans et al., 2021). При достаточно мощном развитии корневой системы повреждение пожаром может быть незначительным. У ослабленных деревьев может наблюдаться повышенная влажность луба комлевой части ствола, что обусловлено «нагнетанием» влаги корнями (Гирс, 1982). В своём обзоре биологических реакций на нагрев почвы при прохождении природных пожаров Pingree и Kobziar (2019) приводят данные о гибели корней различных растительных организмов в диапазоне температур от 48°C до 65°C при продолжительности воздействия от 0,5 до 120 минут. В монографии Ивановой Г.А. с авторами (2022) приводятся данные, что во время пожаров температура под подстилкой достигала 150°C при высокоинтенсивном пожаре и не превышала 45°C при низкоинтенсивном горении. При этом, в почве на глубине 5 см температура редко достигала 50°C. В случае высокоинтенсивного горения с высотой пламени до 2 м и продолжительностью до 20 минут температура в слое 0–5 см может достигать 60°C. Температура подстилки в этом слое составляет около 300°C (Валендик и др., 2006).

В работах (Валедик, Косов, 2008) по моделированию конвективного потока с температурой более 60°C на почки хвойных пород, установлено что: «Почки хвойных деревьев в зависимости от их диаметра гибнут через 80–100 сек. При этом, продолжительность нагревания почек сосны до летальной температуры (при температуре конвекционного потока 60–80°C) находится в пределах 40–80 сек, почек кедра – 70–100 сек, а почек пихты – 32–55 сек. При этом, почки деревьев в период вегетации (июль – август) более теплостойки, чем почки в состоянии покоя (апрель–май)».

Конвекционный поток тепла при прохождении пожара нагревает листья, побеги и почки нижних и средних веток. Диапазон летальных температур вегетативных органов различных растений от 52 до 59°C. В работе Гирс (1982) приводятся обобщающие данные нескольких исследователей, так температуры 52–54°C летальны для хвои лиственницы сибирской, пихты сибирской и ели

обыкновенной, сосна обыкновенная гибнет при 56–57°C, сосна сибирская кедровая при 58–59°C, данные приведены без длительности нагрева и периода исследования. Действие конвекционного тепла на листья при прохождении низового пожара оказывает существенное влияние на ряд физиолого-биохимических процессов и показателей растительных организмов. В первую очередь, высокие температуры приводят к снижению устьичной проводимости и скорости ассимиляции углерода (интенсивности фотосинтеза) (Ducrey et al., 1996; Fleck et. al. 1996; Klimov, 2008; Ashraf, Harris 2013; Michaletz, 2018). Тепловое воздействие приводит к инаktivации ключевых ферментов фотосинтеза, накоплению активных форм кислорода, повышению текучести мембранных липидов, нарушениям в работе электронно–транспортной цепи хлоропластов и водорасщепляющего комплекса (Xin et al., 1994; Кулаева, 1997; Wang et al., 2004, Ruelland, Zachowski, 2010; Судачкова и др., 2015; Левыкина, Караваев, 2016). В ответ на повышение температуры в растениях развивается ряд процессов, способствующих термоустойчивости фотосинтетического аппарата: образуются антиоксиданты, вторичные метаболиты, гормоны, осмопротекторы, которые помогают преодолеть последствия воздействия высоких температур (Allakhverdiev et.al., 2008; Bita, Gerats, 2013).

Особенности защитных реакций, которые позволяют древесным растениям противостоять губительному влиянию лесных пожаров, изучаются на протяжении многих десятилетий (McRae et. al., 1979; Гирс, 1982; Keeling et. al., 1994; Fleck et. al., 1996; Larkindale et. al., 2005; Michaletz, Johnson 2007; Huang, Xu 2008; Khan et. al., 2009; Цветков, 2013; Буряк, Каленская, 2020; Иванова и др., 2022).

В своем исследовании Varner et. al. (2021) обсуждая эколого-физиологические последствия пожаров на древостой, подводят заключение о том, что практически отсутствуют данные о долгосрочных физиологических и генетических последствиях сублетальных температур при пожарах, и последующая устойчивость деревьев к ним. Подобного рода исследования особенно актуальны для лесных экосистем, которые подвержены периодическим возгораниям, и древостой при этом неоднократно подвергается огню. Так же

автор отмечает, что недостаточно сведений о том, как известные клеточные механизмы, которые запускаются в ответ на стрессовые воздействия, такие как: синтез белков теплового шока и гормонов стресса (абсцизовая кислота, салициловая кислота, этилен) экстраполируются на нагрев, возникающий во время лесных пожаров (Varner et. al., 2021).

В связи с этим, на сегодняшний день, обозначена проблема установления индикаторов стрессового состояния древесных растений при пожаре и в постпирогенный период. Ее рассмотрение необходимо для уточнения и пополнения теоретических основ, но так же в перспективе практического применения: выявление изменений метаболизма древесных растений на действие стрессовых условий важно для физиологов, генетиков, селекционеров как индикационных признаков устойчивости (Биохимические индикаторы..., 1997). Недавние исследования предполагают, что растения имеют «стрессовую память», которая способствует стрессоустойчивости при повторяющихся неблагоприятных факторах (Lamke, Baurle, 2017). При этом память о стрессе определяется как феномен, посредством которого сохраняется информация о стресс-сигнале, который был в прошлом, что приводит к измененной реакции на повторяющийся стресс (Bulgakov et. al., 2019), и, в конечном счете, может обеспечить механизм акклиматизации и приспособления. В этом случае, особое внимание уделяется таким системам, как фитогормональная регуляция метаболизма (например, с помощью абсцизовой кислоты) и экспрессия генов специфических белков, различных изменений фотосинтетического процесса (Hu et al., 2015; Guo et.al., 2016; Pierre et.al., 2017). В настоящее время активно ведутся исследования механизмов обеспечивающих «стрессовую память» на примере сельскохозяйственных культур, в большей степени на эталонном объекте *Arabidopsis thaliana*. Другие растительные виды, в том числе древесные растения изучены недостаточно, но отмечается, что при наблюдаемых климатических изменениях среды является крайне необходимым и актуальным. Основная цель работ заключается в возможности повышения стрессоустойчивости (толерантности) растений к экстремальным условиям окружающей среды, в том

числе к экстремальным погодным явлениям и повышению средних температур, болезням без существенной потери биомассы и урожайности (Lämke, Bäumle, 2017).

1.4 Синтез белков теплового шока в растительной клетке при стрессе

Термин стресс (от англ. «stress» – напряжение) был предложен выдающимся канадским ученым–физиологом Гансом Селье в 1936 г. для описания реакции организма на любое сильное неблагоприятное воздействие (Селье, 1972). Понятие стресс было перенесено в физиологию растений. Наблюдаемый при стрессе комплекс метаболических перестроек у растений назван фитострессом (Генкель, 1982).

Растительные организмы обладают механизмами физиолого–биохимической защиты от различного рода повреждений. В процессе филогенетического развития, в условиях часто повторяющихся лесных пожаров различной интенсивности, представители светлохвойных формаций могли приобрести способность к адаптационной перестройке на физиолого–биохимическом уровне (Перевозникова и др., 2005). Сопутствующие лесному пожару условия запускают различные стрессовые системы в растениях.

Одним из известных факторов, способствующих послестрессовому восстановлению на уровне клеток, являются стрессовые белки, или белки теплового шока Hsp (Heat Shock Proteins) (Кулаева, 1997; Wang et al., 2004). Hsp обнаружены у всех изученных организмов. В клетках растений Hsp накапливаются в ответ на многие неблагоприятные воздействия, включая тепловой и холодовой стресс, водный дефицит, воздействие тяжелыми металлами, паразитарную инвазию и др., и способствуют выживаемости в период воздействия и восстановлению повреждений после окончания действия неблагоприятного фактора (Boston et al., 1996; Кулаева, 1997; Timperio et al., 2008; Al–Whaibi, 2011). Повышение экспрессии генов кодирующих Hsp регулируется на этапе транскрипции. Большинство Hsp является шаперонами – компонентами

протеома клетки, отвечающими в оптимальных и в неблагоприятных условиях за формирование третичной конформации полипептидов, формирование четвертичных белковых комплексов, транспорт через мембраны, перенос и утилизацию белков (Wang et al., 2004). Hsp действуют на уровне белковых молекул и мембран, связываясь с ними в период стресса и предотвращая их необратимые повреждения (Hartl, 1996). В период восстановления Hsp способствуют восстановлению поврежденных белков (Hartl, 1996).

Синтез белков теплового шока происходит в клетках растений при подъеме температуры на 8–10°C выше оптимальной для вида, при этом мРНК, кодирующие Hsp обнаруживаются через 5 минут после начала стресса, сами Hsp обнаруживаются в клетках уже через 15 минут, достигая максимума в течении пары часов. При окончании теплового шока синтез стрессовых белков прекращается и возобновляется синтез белков, которые характерны для клетки в нормальных условиях. На примере сельскохозяйственных культур показано, что синтез белков начинает ослабевать через 4 часа после прекращения стрессового воздействия (Кулаева, 1997; Al-Whaibi, 2011). Синтезирование белков теплового шока в клетках растений происходит и в жаркие часы в полевых условиях, и могут обеспечивать нормальное функционирование растений при смене температурных условий (Кулаева, 1997).

По молекулярной массе и аминокислотному составу Hsp классифицированы на основные группы: высокомолекулярные Hsp 100, Hsp 90 Hsp 70, Hsp 60, низкомолекулярные Hsp (small Hsp или smHsp, Mr ниже 40 кД (Wang et al., 2004). В своей статье, Хохлова Л.П. и др. (2015) отмечает что, для smHsp характерен конформационный динамизм, локализация практически во всех органоидах клетки, участие в передаче сигналов – все это определяет многофункциональность белков данного типа, что признает их как решающие для защиты растительных клеток от теплового стресса.

Количество и состав изоформ белков, относящихся к каждой группе, может быть различным в зависимости от вида растения. Защитный эффект шаперонов в клетках растений объясняется согласованной работой представителей нескольких

классов этих белков, когда smHsp связываются с частично поврежденными белками, предотвращая их агрегацию и формируя пул субстратов для последующего восстановления шаперонами семейств Hsp 70/Hsp 100 (Smykal et al., 2000; Lee, Vierling, 2000; Mogk et al., 2003).

В настоящее время признано, что семейства Hsp 100 накапливаются под действием теплового шока и необходимы для формирования индуцированной термотолерантности (Queitsch et. al., 2000).

Группа белков Hsp 90 образуют комплексы с вспомогательными белками «кошаперонами». При тепловом стрессе необходимы для реактивации денатурированных белков. Обнаружен в клетках растений (Кулаева, 1997).

Имеются значительные описательные данные об экспрессии Hsp 70 у различных растений, включая исследования при тепловом и других стрессах. Hsp 70 присутствует во всех компартментах клетки. При воздействии температурами, которые превышают биологический оптимум вида, что приводит к денатурации белковых молекул, происходит активация синтеза белков Hsp 70, обладающие шапероновой активностью, и необходимые для обеспечения механизмов защиты других клеточных белков от необратимого повреждения. Растительные цитозольные Hsp 70 предположительно участвуют в фолдинге вновь синтезированных белков, облегчают транспорт белков в органеллы. При этом основная функция Hsp 70, может заключаться в связывании и вовлечении частично развернутых белков в АТФ–зависимый цикл. Предполагают, что Hsp 70 совершает АТФ–зависимый цикл при переносе белков через мембрану, в основе которого лежит изменение конформации Hsp70 в зависимости от связи с АТФ или АДФ (Кулаева, 1997; Валлиулина и др., 2007). Разворачивание белков с помощью Hsp 70 необходимо для их проникновения через мембрану хлоропластов, митохондрий и эндоплазматического ретикулума (Кулаева, 1997).

Hsp 60, так же относится к шаперонам, является митохондриальным белком, отвечающим за импорт белков в митохондрии (Павлова и др., 2009). Обеспечивают правильную сборку четвертичной структуры клеточных белков. Такую функцию они выполняют в митохондриях и хлоропластах

эукариотических клеток. Благодаря своей структуре определяют правильную упаковку белков клетки при образовании четвертичной структуры, в том числе ключевого фермента фотосинтеза RuBisCO (Кулаева, 1997; Al–Wahaibi, 2011).

Большинство растительных низкомолекулярных белков Hsp (smHsp) были обнаружены относительно недавно, и составляют минимум 6 классов. Локализуются в ядре, цитоплазме, эндоплазматической сети, хлоропластах и митохондриях (Scharf et. al., 2001). Отмечено, что smHsp проявляют шаперонную активность, предотвращая агрегацию белков вызванную тепловым стрессом (van Montfort et. al., 2001). В исследованиях (Валлиулина и др., 2007), отмечено, в обычных условиях низкомолекулярные Hsp содержатся в малых количествах, при этом значительно экспрессируются при действии различных стресс-факторов, и содержание их может составлять около 2% от всех клеточных белков. smHsp обнаружены практически во всех компартментах клетки. В хлоропластах smHsp поддерживают активность фотосинтетического транспорта электронов в условиях теплового и окислительного стрессов (Downs et al. 1998; Neta–Sharir et al. 2005), защищают термолабильную фотосистему II и, следовательно, электронный транспорт во время теплового воздействия (Heckathorn et al. 1998). Имеются данные, что при добавлении smHsp к тилакоидам хлоропластов защищало электронно–транспортную цепь фотосистемы II, повышая устойчивость растений, как к повышенным температурам, так и к воздействию тяжелых металлов (Хохлова и др., 2015). Накопление низкомолекулярных белков связано и с приобретением растениями термовыносливости. Цитозольный белок Hsp 17,6 принадлежит к семейству малых smHsp растений, которые в процессе своего функционирования активно взаимодействуют с Hsp 101 (Павлова и др., 2009). При этом установлено, что при мягкой тепловой закалке (до 37°C) растений *A. thalia*, развивается устойчивость к жесткому тепловому шоку (50°C) именно повышением уровня синтеза Hsp 101 и Hsp 17,6 (Павлова и др., 2009).

Так же, низкомолекулярные белки принимают участие в связывание ненативных белков, таким образом, как бы образуя гранулы теплового шока предотвращающее появление больших неструктурированных и

нефункциональных агрегатов частично денатурированных белков. Впоследствии такие агрегаты могут иметь возможность к репарации посредством высокомолекулярных белков, такого как Hsp 70 или других потенциальных АТФ–зависимых шапероновых систем (Валлиулина и др., 2007). Таким образом, эти стрессовые белки, действуя сообща, выступая компонентом клеточного ответа на стрессовое воздействие.

Изоформы Hsp хвойных и изменения в их составе в настоящее время мало изучены. Однако, было показано, что в Восточной Сибири содержание перечисленных стрессовых белков изменяется в зависимости от сезона года. Hsp 70 накапливается в холодное время года, Hsp 17,6 – в летние месяцы; содержание Hsp 60 почти не изменяется на протяжении периода вегетации, Hsp 101 также преимущественно накапливается зимой, однако, его содержание сильнее подвержено колебаниям в течение года, чем содержание Hsp 70 (Korotaeva et al., 2012). Признано, что защита и восстановление других белков осуществляется всеми группами Hsp согласованно, при этом они организуются в «шапероновую машину» (Zietkiewicz et al., 2004).

Таким образом, синтез в растительной клетке белков теплового шока является универсальным ответом на стрессы и играет важную роль в их защите от негативных последствий. Белки теплового шока принимают участие в реализации фундаментальных клеточных процессов и как отмечают Максимович Н.Е., Бонь Е.И. (2020) изменение в темпах их синтеза может выступать важным диагностическим маркером реакции клетки на повреждение. По результатам исследований синтеза Hsp 17,3 в пшенице в ответ на действие повышенных температур и водного дефицита Хохлова Л.П. и др. (2015) делают заключение о возможности использования данного признака как мембранного биомаркера устойчивости растений пшеницы к перегреву и засухе при создании и скрининге более приспособленных новых фенотипов зерновых культур.

К настоящему времени в опубликованных данных не встречено информации о содержании групп Hsp в растительных организмах в ответ на влияние такого экологического фактора, как пожары. Тем не менее, анализ

экспериментальных работ показал, что Hsp – может использоваться как качественная мера биологической пластичности, то есть способности организма перестраивать биологические функции через активацию адаптивных ответов при влиянии высокотемпературного стресса и последующих изменениях физиологических параметров древесного организма (Wang et.al., 2004; Al-Whaibi, 2011; Xu et.al., 2011; Korotaeva et al., 2012; Хохлова и др., 2015).

В настоящем исследовании, по накоплению набора белков теплового шока, как биохимического показателя, будет проводиться оценка стрессовой реакции древесного организма на воздействие пирогенного фактора.

1.5 Применение флуоресцентных методов в оценке стресс–устойчивости растений

В оценке состояния растения, одним из общепризнанных индикаторов служит оценка изменений эффективности первичных процессов фотосинтеза, в ответ на различные воздействия окружающей среды. На основе многочисленных исследований, считается, что различные параметры отражающие флуоресценцию хлорофилла могут быть использованы в качестве показателей структурных и функциональных характеристик фотосинтетического аппарата растений и использоваться при экспресс-оценке влияния факторов различной природы на активность хлоропластов (Алехина, 2005). Проведено множество исследований по определению эффективности фотосинтетического аппарата высших растений, водорослей, лишайников и фотосинтезирующих бактерий при помощи флуоресцентных методов (Kalaji et al., 2012; Гольцев и др., 2014).

Флуоресценция – один из путей трансформации энергии, поглощенной хлорофиллом во время облучения. В виде флуоресценции *in vivo* (в живых тканях) испускается лишь небольшая доля поглощенной энергии (3 – 5%). Частичная потеря энергии происходит также в виде тепла. Часть поглощенной энергии света в листе используется в первичных реакциях фотосинтеза (миграция энергии в светособирающих комплексах к пигменту реакционного центра,

передача возбужденного электрона на акцептор в реакционных центрах) (Гаевский, Моргун, 1993). Основным источником флуоресценции в фотосинтезирующих организмах является хлорофилл, причем основным флуоресцирующим пигментом является хлорофилл *a* фотосистемы II. Фотоиндуцированные сигналы связаны с окислительно–редукционными реакциями фотосистемы II и всей фотосинтетической цепью электронного транспорта (Гольцев и др., 2014). Существуют методики фиксации параметров быстрой и замедленной флуоресценции. «Время жизни» быстрой флуоресценции составляет доли секунд ($10^{-9} - 10^{-8}$), замедленная флуоресценция, оно же «послесвечение» может наблюдаться в течение нескольких минут после остановки действия света. Быстрая флуоресценция является фотофизическим процессом и обусловлена высвечиванием части поглощенной антенным хлорофиллом энергии, которая не успела мигрировать на реакционный центр. Замедленная флуоресценция тесно связана с фотохимическими реакциями, протекающими в реакционных центрах. Для измерения флуоресценции хлорофилла используются различные спектрофлуориметры с фиксацией ряда различных характеристик.

Изменения в первичных процессах фотосинтеза непосредственно отражаются в уровне флуоресценции хлорофилла, что можно зафиксировать задолго до видимых изменений физиологического состояния растений. В работах как отечественных, так и зарубежных исследователей при оценке воздействия разнообразных факторов на различные растительные организмы показано, что измерение флуоресценции хлорофилла является удобным и информативным.

Анализ флуоресценции хлорофилла обеспечил большой объем информации о физиологии растений, особенно в отношении их реакции на различные факторы: высокие и низкие температуры, интенсивность освещения, засуху (West et al., 2005), солевой стресс, тяжелые металлы, действие гербицидов (Maxwell, Johnson 2000; Kalaji et al., 2012; Гольцев и др., 2014; Gupana et al., 2021). Так же флуоресцентные методы применяются для характеристики особенностей зимнего покоя растительных организмов (Гаевский и др., 1997), широко используется

данный прием и в оценке состояния городских (Григорьев, Пахарькова, 2001; Кирпичникова и др., 1995; Пахарькова, 1999; Алиева и др., 2014) и лесных насаждений (Mohammed et al., 1995). Применение метода в селекционной работе позволяет выявлять сортовые различия растений в устойчивости к температуре, водному дефициту, засолению, болезням, гербицидам (Кузнецова, 2000).

Стресс, вызванный воздействием высоких температур, один из факторов, оказывающий существенное влияние на фотосинтетическую продуктивность растений. Считается, что фотосистема II является наиболее чувствительной к перегреву. Высокие температуры приводят к дезинтеграции компонентов фотосистемы II и снижению эффективности миграции энергии возбуждения от светособирающих пигмент–белковых комплексов к рекреационным центрам. Ряд флуоресцентных параметров коррелируют с термотолерантностью растений и могут быть использованы для оценки структурно–функциональной характеристики фотосинтетического аппарата в ответ на стрессовое воздействие (Гольцев и др., 2014; Левыкина, Караваев, 2016). Таким образом, исследования параметров флуоресценции широко используется для диагностики состояния, как отдельных растений, так и состояния экосистем в целях экологического мониторинга (Пахарькова и др., 2010; Wang, Hu, 2014).

ГЛАВА 2 РАЙОН И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика природно-климатических условий района исследования

По природному районированию М.В. Кириллова (1962), Красноярская лесостепь относится к Красноярскому округу Красноярско-Канской провинции Средне-Сибирской зоны подтайги и островных лугостепей.

По агроклиматическому районированию отнесена к умеренно прохладному и достаточно увлажненному району (Агроклиматический справочник, 1961). Климат района – резко континентальный (Средняя Сибирь, 1964). Вегетационный период в пределах района в среднем равен 144 дням. Число дней с температурой, превышающей 10°C, в среднем составляет 103. Среднегодовая относительная влажность воздуха 60–70% (Бугаева, 2009). Минимальная относительная влажность наблюдается в мае – июне. На эти месяцы приходится большая часть пожаров (Иванова, 2006; Аброскина и др., 2012). Согласно данным Ивановой Г.А. с соавт. (2022) для лесостепной зоны Красноярского края характерны весенние и редко летние пики горимости, около 4 месяцев. Основная причина возникновения пожаров – антропогенные источники огня (более 90%). Преобладают низкоинтенсивные беглые низовые пожары. Межпожарный интервал составляет от 8,4 до 12,1 лет.

Красноярская лесостепь характеризуется неоднородностью почвенного покрова (Сергеев, 1971). Он представлен чередованием черноземов, серых лесных почв и дерново-подзолистых почв (Кириллов, 1962; Сергеев, 1971; Бугаков, Чупрова, 1995). Растительный покров представлен типами растительных формаций лесной и лугово-степной (разнотравная группа типов леса), однороден по древесному составу с преобладанием сосны, березы и лиственницы (Черепнин, 1967; Антипова, 2006; Бугаева, 2006). На долю сосновых древостоев Красноярской и Канской лесостепи приходится около 30% от общей лесопокрытой площади Красноярского края (Семечкина, 1978).

Постоянные пробные площади были заложены на территории опытного экспериментального хозяйства «Погорельский бор» Института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (N 56°22', E 92°57'), Емельяновский район Красноярского края. Территориально Погорельский Бор входит в Красноярскую островную лесостепь, которая простирается с юга на север на 110–150 км, а с запада на восток не более 80 км (Аброскина и др., 2012). Климат умеренно прохладный, средняя годовая температура +0,6°C. Продолжительность вегетационного периода составляет в среднем 144 –дня, число дней с температурой выше 0°C 202–210, выше 5°C 140–155, выше 10°C 105–114. Среднегодовое количество осадков 400–470 мм, значительная часть приходится на июль–август. Минимальная относительная влажность наблюдается в мае – июне. Макрорельеф со слабо заметными уклонами в северном и южном направлениях около (2–3°), наивысшая отметка 280 м. Мезорельеф на территории представлен в виде ложбин и повышений, являющихся следствием переработки рельефа эрозионными процессами (Аброскина и др., 2012).

На территории Погорельского бора господствуют сосновые древостои без примеси лиственных пород, около 63%, остальная площадь представлена березовыми насаждениями (27%), осинники и ельники распространены около 1%. Луга и вырубki занимают около 8%. Выделено 5 типов групп леса: зеленомошная, разнотравная, остепненная, крупнотравная, травяно–болотная группы (Бугаева, 2009). В основном растительный покров представлен сосняками разнотравно–зеленомошными и бруснично–разнотравно–зеленомошным на дерново–подзолистых и березняками осочково–разнотравными на серых лесных почвах (Боболева, 1968; Бугаева, Оскорбин 2008; Аброскина и др., 2012). Среднесибирский подтаежно–лесостепной район характеризуется продолжительным пожароопасным сезоном – с апреля по сентябрь. Класс природной пожарной опасности довольно высокий и составляет 3,3 (Иванова и др., 2022).

Территория Погорельского бора окружена заросшими сельскохозяйственными угодьями, на которых образуются большие запасы

травяной ветоши, что представляет постоянную угрозу весенних и осенних пожаров. Так же возникновению и распространению пожаров способствуют несанкционированные выжигания сухой травы весной жителями близлежащих населенных пунктов (Аброскина и др., 2012).

2.2 Характеристика экспериментальных участков

Объектом исследования являлись насаждения сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) разнотравно–зеленомошной группы типов леса естественного происхождения (I– II класса возраста), сформированных на дерново–подзолистой почве.

Доминирующий вид древостоя представлен сосной обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) I–III бонитета. Подлесок развит слабо с преобладанием шиповника (*Rosa acicularis*.); в травяно–кустарничковом ярусе доминируют вейник (*Calamagrostis arundinacea*) и костяника (*Rubus saxatilis*); так же осока (*Carex macroura*) и брусника (*Vaccinium vitis-idaea*), с меньшим обилием чина приземистая (*Lathyrus humilis*), майник (*Maianthemum bifolium*), кровохлебка (*Sanguisorba officinalis*), прострел (*Pulsatilla patens*). В моховом покрове встречаются плевроциум (*Pleurozium schreberi*), и птилиум (*Ptilium crista–castrensis*) (Бугаева, 2009).

В сосняках была заложена серия участков из 7 постоянных пробных площадей (п. п.) размером от 0,05 до 0,1 га.: на двух участках были проведены экспериментальные пожары в виде контролируемых выжиганий, моделирующие низовые пожары соответственно средней (в 2014 г.) и слабой силы (интенсивности) (в 2017 г.); два участка расположены в древостое после прохождения естественного низового пожара слабой (2014 г.) и средней силы (2011 г.) соответственно. В качестве контрольных служили участки, не подвергнутые действию огня и находящиеся в пределах 50–100 м от экспериментальных (рисунок 1).

На каждой пробной площади проводился сплошной учет деревьев с замером основных таксационных показателей. При контролируемых выжиганиях фиксировалась высота пламени, были установлены температурные датчики в кроны деревьев, что позволило установить силу воздействия. На участках после природных пожаров сила пожара устанавливалась косвенно, по одному из диагностических признаков – высоте нагара на стволах деревьев (Курбатский, 1962, Цветков, 2006).

п.п. 1 – контрольный участок к п. п. 2;

п.п. 2 – участок после естественного низового пожара слабой силы. Возгорание зафиксировано 27 апреля 2014 года;

п.п. 3 – контрольный участок к п.п. 4 и 5;

п.п. 4 – участок после контролируемого выжигания, моделирующего низовой пожар средней силы, проведенного 18 июня 2014 года;

п.п. 5 – участок после контролируемого выжигания, моделирующего низовой пожар слабой силы, проведенного 5 августа 2017 года;

п.п. 6 – контрольный участок к п.п. 7;

п.п. 7 – участок после естественного низового пожара средней силы. Возгорание зафиксировано 26 апреля 2011 года.

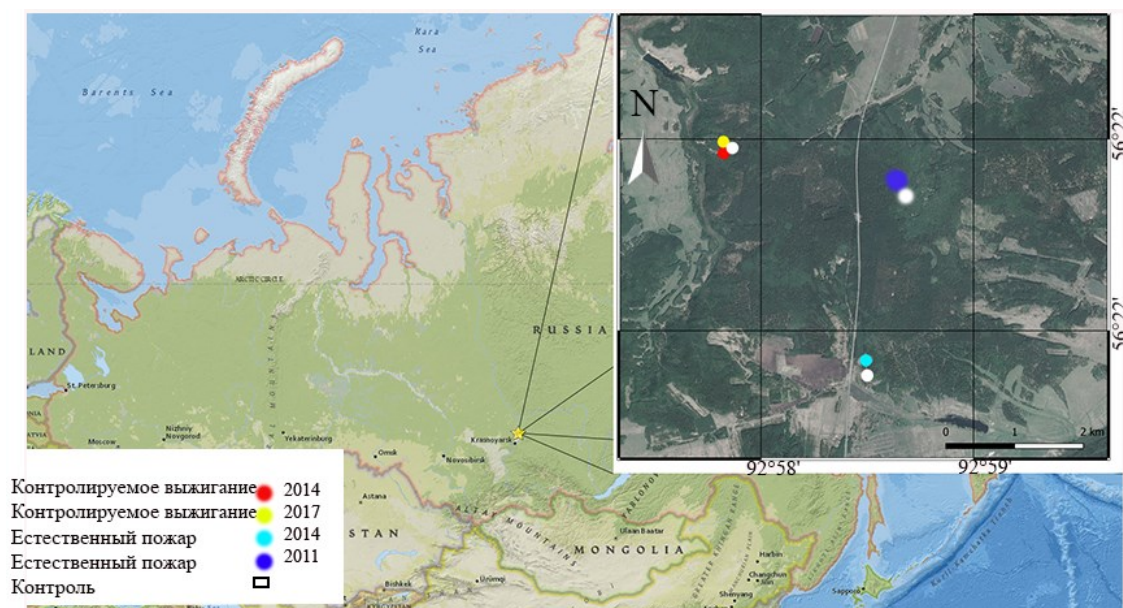


Рисунок 1– Исследуемые участки на территории опытного экспериментального хозяйства «Погорельский Бор»

Участок после естественного пожара 2014 года, (п.п.2)

Насаждение представляло собой чистый сосновый молодняк со средним диаметром стволов (на высоте 1.3 м) 11.7 ± 1.1 см, высотой 7.8 ± 0.4 м, возрастом ≈ 17 лет. Уклон поверхности на участке составлял 2–3 градуса. Последние осадки перед пожаром зарегистрированы 22.04.2014. В предшествующие два дня наблюдалась жаркая и ветреная погода, температура воздуха днем при умеренном ветре достигала $19\text{--}23^\circ\text{C}$ в тени. Такие метеоусловия способствовали быстрому высыханию горючего материала, представленного опавшей хвоей и ветошью. Возгорание зафиксировано 27 апреля 2014 года между 11–13 часами дня. По данным ближайшей метеостанции «Сухобузимо», день пожара характеризовался температурами воздуха до 17°C в тени, низкой влажностью воздуха (до 53% в утренние часы и до 23% в дневные), умеренным ю–з ветром 7–8 м/с с порывами до 13–19 м/с. Пожар развивался с небольшой скоростью вверх по склону. Пожар характеризуется как слабый, низовой, высота нагара на стволах 23 ± 9 см. (Курбатский, 1962).

Участок после контролируемого выжигания, проведенного в 2014 году (п.п.4)

Насаждение представляло собой чистый сосновый молодняк со средним диаметром стволов (на высоте 1.3 м) $6,9 \pm 0.2$ см, высотой – $5,9 \pm 0.1$ м, возрастом ≈ 15 лет. Контролируемое выжигание проводилось 18 июня 2014 г в 17 часов на участке площадью 0.04 га. Температура воздуха составляла 25°C , относительная влажность воздуха 39%, скорость ветра до 2 м/с. Контролируемое горение, имитирующее низовой пожар средней силы, проводилось методом отжига от одной стороны участка (Valendik et.al., 2006). Высота пламени изменялась от 0,4–1,0 м. Средняя скорость продвижения кромки низового пожара – 0,55 м/мин. Средняя температура в кроне составляла до 53°C .

Участок после контролируемого выжигания, проведенного в 2017 году (п.п.5)

Насаждение представляло собой чистый сосновый молодняк со средним диаметром стволов (на высоте 1.3 м) 8.5 ± 3.3 см, высотой – 7.0 ± 1.3 м, возрастом $\approx$

19 лет. Контролируемое выжигание проводилось 5 августа 2017 г в 16 часов, на участке площадью 0.04 га. Температура воздуха составляла 31°C, относительная влажность воздуха – 39%, скорость ветра – 0–1 м/с. Контролируемое горение, имитирующее кромку низового пожара слабой силы, проводилось методом отжига от одной стороны участка (Valendik et.al., 2006). Высота пламени изменялась от 0,2 до 1 м, максимальная высота пламени наблюдалась в скоплениях деревьев и запасов горючих материалов. Средняя скорость продвижения кромки низового пожара на участке составила 0,25 м/с. Средняя температура в кроне составляла около 47°C.

Участок после естественного пожара 2011 года (п.п.7)

Насаждение представляло собой чистый сосновый молодняк со ср. диаметром ствола 9.5 ± 1.4 см, высотой 8.6 ± 0.6 м, возрастом ≈ 19 –20 лет. В предшествующие два дня наблюдалась жаркая и ветреная погода, температура воздуха днем при умеренном ветре достигала 20–25°C в тени. Такие метеоусловия способствовали быстрому высыханию горючего материала, представленного опавшей хвоей и ветошью. Возгорание проходило в начале мая 2011 года. По данным ближайшей метеостанции «Сухобузимо», день пожара характеризовался температурами воздуха до 25°C, низкой влажностью воздуха (до 51% в утренние часы и до 33% в дневные), умеренным ю–з ветром. Пожар характеризуется как средней силы, низовой, высота нагара на стволах до 1 м.

Контроль (п.п.1; п.п.3; п.п.6) – участки, не подвергнутые действию огня и находящиеся в пределах 50–100 м от участков, где проводилось контролируемое выжигание либо прошел естественный пожар. Насаждения представлены чистыми сосновыми древостоями, со схожими лесотаксационными характеристиками: со средним диаметром стволов (на высоте 1.3 м) 8.7 ± 3.3 см, высотой – 8.0 ± 1.3 м, возрастом ≈ 17 –19 лет.

ГЛАВА 3 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В рамках исследования применен комплексный подход, работа проводилась в несколько этапов, каждый из которых включал проведение как полевых, так и лабораторных экспериментов, направленных на оценку особенностей послепожарного отклика сосны обыкновенной произрастающей в условиях Красноярской лесостепи.

Этап 1. Оценка первичной реакции фотосинтетической функции хвои сосны обыкновенной на тепловой стресс из насаждений, ранее не затронутых пожаром (глава 4).

Этап 2. Определение способности к восстановлению ассимиляционного аппарата хвои после повторного влияния сублетальных температур на растения, находящиеся в восстановительном периоде после пожара (глава 4).

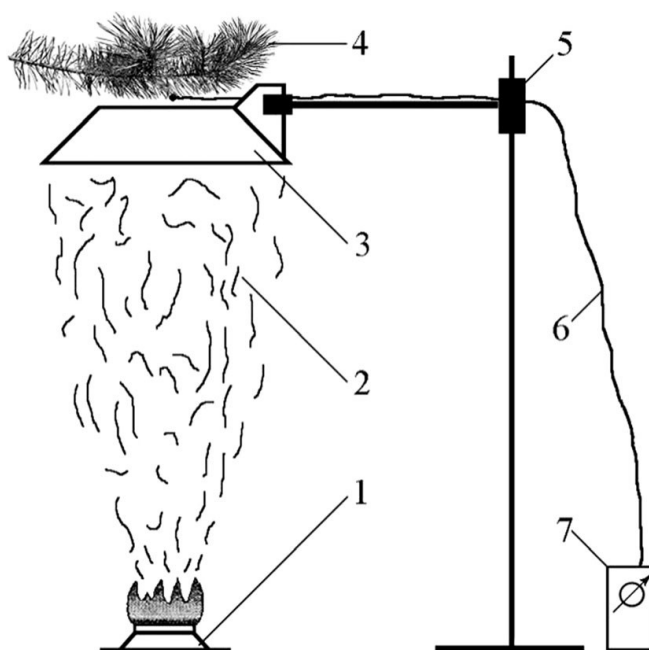
Этап 3. Оценка кратковременного влияния пожара слабой силы на содержание белков теплового шока и флуоресцентные показатели хвои (глава 5).

Этап 4. Оценка долгосрочных последствий пожара, после повторного стрессирования побегов с древостоя находящегося в восстановительном периоде на содержание белков теплового шока и флуоресцентных показателей хвои (глава 5).

3.1 Моделирование устойчивого конвективного потока заданной температуры

Определение температуры конвективного потока в кроне во время горения и связанные с ним физиологические изменения является достаточно трудной задачей. Использование оригинальной установки (рисунок 2) позволяет создать стабильный конвективный поток, имитирующий воздействие пожара на крону (Валендик, Косов, 2008), что позволяет оценить первичную реакцию фотосинтетической функции на тепловой стресс. Нагревание моделировали тепловым потоком от пламени газовой горелки.

Образец крепится в горизонтальной плоскости над стабилизатором потока, термопара EClerk («РЭЛСИБ», Россия), фиксирующая тепловой поток, крепится непосредственно под образцом в центре потока, где температура соответствовала заданной в эксперименте. Для измерения температуры потока используются автономные регистраторы с разрешающей способностью в 1 сек. Измеряющим элементом служат хромель–алюмелевые термопары заводского изготовления («РЭЛСИБ», Россия).



1 – газовая горелка; 2 – конвективный поток; 3 – стабилизатор потока; 4 – побег; 5 – стойка с кронштейном; 6 – термопара; 7 – регистратор температуры

Рисунок 2– Установка для моделирования конвективного потока

Для характеристики степени выносливости и краткосрочных эффектов к тепловым повреждениям использовали хвою сосны обыкновенной в различные периоды фазы вегетации (июнь, июль, август, сентябрь). Для экспериментов по моделированию теплового воздействия в качестве образцов использовали побеги 10 деревьев сосны обыкновенной 20 летнего возраста. С каждого дерева, с ветвей нижней части кроны отбирали по 3 ветки с высоты 2,5–3 метра. Длительность теплового воздействия составляла 2, 5 и 10 минут при температурах 45, 50 и 55°C.

Установленные температуры и продолжительность воздействия имитировало влияние высоких температур в центре кроны при низовом пожаре слабой интенсивности (Гирс, 1982; Валендик и др., 2006). После прогрева побеги помещали в сосуды с водой и в последующие трое суток проводили наблюдения за их состоянием в лабораторных условиях при относительной влажности воздуха $\approx 60 \pm 5\%$, при температуре воздуха $\approx 24 \pm 2^\circ\text{C}$. Для измерений использовалась хвоя 2-го года жизни.

Во время прохождения низового пожара воздействие высоких температур пагубно сказывается в основном на подросте доминирующих лесных пород с тонкой корой и низкой кроной (Catrya et al. 2010; Brando et al. 2012). Для характеристики долгосрочных эффектов после высокотемпературного воздействия, которые сохранились на протяжении вегетационного периода, был использован подрост сосны обыкновенной. В весенний период за год до эксперимента, модельные деревья, произрастающие в одинаковых условиях увлажнения и освещения, были пересажены в садовые поддоны, и помещены под полог взрослого древостоя. Возраст деревьев составлял 10 ± 1.2 лет, средняя высота 0.6 ± 0.1 м. На следующий год проводили эксперимент по моделированию конвективного потока (30 июня), нагревая участок главного побега второго года (вторая мутовка). После чего в течении вегетационного периода фиксировали параметры быстрой флуоресценции на хвое 2го года, а после отрастания и 1го года хвои. Контролем служили деревья, не подверженные конвективному нагреву.

В обоих экспериментах исследовались параметры быстрой флуоресценции, проводилась оценка содержания фотосинтетических пигментов (таблица 1).

3.2 Тепловое стрессирование побегов в термостате

Для определения физиологических особенностей древесных растений в послепожарном периоде был применен прием теплового стрессового воздействия,

при котором осуществлялся прогрев охвоенных побегов при температуре превышающей физиологический оптимум.

Нагрев побегов, погруженных нижней частью в сосуды с водой, осуществляли в термостате MIR–154, Sanyo (Япония), оборудованном внутренним вентилятором для равномерного прогрева образцов. Продолжительность нагрева и температура устанавливались в зависимости от исследуемых параметров и задач эксперимента:

1. Для характеристики флуоресцентных параметров хвои с древостоя, находящегося в восстановительном периоде после пожара, относительно контрольных, проводили прогрев срезанных побегов при сублетальной температуре 45°C. Длительность нагрева составляла 10 минут, после чего сразу проводились измерения показателей быстрой и замедленной флуоресценции. После прогрева побеги оставляли в лабораторных условиях при относительной влажности воздуха $\approx 60 \pm 5\%$, при температуре воздуха $\approx 24 \pm 2$ °C. В течение 3 суток наблюдалось восстановление их фотосинтетической активности (таблица 1). Таким образом, устанавливалась общая теплоустойчивость и способность клеток активировать защитные механизмы и противостоять тепловому повреждению, что определяет выносливость дерева во время пожара и после него (Ланге, 1964; Гирс, 1982).

2. Для определения различий в начальной содержании белков теплового шока, а также темпах его синтеза, побеги срезанные на контрольном и послепожарном участках, помещали в сосуды с водой на 1 сутки, затем проводили стрессирование в термостате MIR–154, Sanyo (Япония) при температуре 45°C в течении 1 часа, затем на 20 минут оставляли при комнатной температуре. Далее с веток отбирали хвою, фиксировали ее в жидком азоте и хранили при –80°C. Для определения содержания Hsp без теплового воздействия, хвою отбирали с побегов послепожарного и контрольного участков после суток экспозиции при комнатной температуре.

3.3 Моделирование пожара на территории опытного экспериментального хозяйства «Погорельский Бор»

Контролируемое горение является удобным приемом, позволяющим оценить конкретные последствия, согласно задачам исследования (Иванова и др., 2022; Технологии контролируемых выжиганий..., 2011).

Моделирование низового пожара представляло контролируемое выжигание средней силы, проводимое методом отжига от одной стороны участка (Курбатский, 1962; McRae et.al., 1979; Валендик и др., 2006). Выжигание проводилось в вегетационный период 2017 года на участке площадью 0.04 га. Скорость распространения кромки пожара определяли при помощи таймера. Высота пламени измерялась с помощью подвешенного припоя (Simard et. al., 1984). Для определения глубины прогорания на участке устанавливали вешки, в количестве 6 штук, до проведения контролируемого горения. Вешки устанавливали на расстоянии не менее 1 м от края пробной площади. Перекладина на вешке касалась опада. Перед выжиганием вокруг участка были свалены все стоящие деревья, для предотвращения распространения очагов горения создали минерализованную полосу мотокультиватором. Зажигание проводилось точечным методом постепенного выжигания, одновременно вдоль минполосы с подветренной стороны участка, кромка огня двигалась против ветра. В первую очередь зажигались скопления горючих материалов. Затем создавались очаги горения вдоль одной линии на участках с меньшей захламленностью. При таком способе можно повысить интенсивность огня, полноту и скорость сгорания, особенно эффективен этот метод в фенофазу полного развития травяно-кустарничкового яруса.

Для оценки запаса горючих материалов использовали методику Н.П. Курбатского (1970). Учет запаса упавших древесных горючих материалов проводили по методике пересеченных линий (McRae et al., 1979). Лесотаксационные работы, определение жизненного состояния проводились в

соответствии с общепринятыми рекомендациями и методиками (Алексеев, 1989; Буйволов и др., 1998; Постановление Правительства..., № 607 от 20.05.2017).

Перед зажиганием на модельные деревья (на высоте около 3 м) на ветках устанавливались датчики измерения температуры. Температуру конвективного потока в кроне измеряли автономными регистраторами температуры EClerk («РЭЛСИБ», Россия). Диапазон записи от -40°C до $+800^{\circ}\text{C}$, значение тепловой инерции 1 сек. Измеряющим элементом служили хромель–алюминиевые термопары заводского изготовления («РЭЛСИБ», Россия). Считывание показания датчиков производилось через USB–интерфейс на персональный компьютер. Также, во время эксперимента с помощью тепловизора FLIR E5 (FLIR, США) фиксировались комбинированные снимки объекта исследования для полного анализа температурного профиля. Во время эксперимента оценивались высота пламени, скорость продвижения кромки пожара, глубина прогорания лесных горючих материалов.

После прекращения огневого воздействия на экспериментальном и контрольном, не подверженном влиянию огня участках, были установлены логгеры температур «ТЕРМОХРОМ» (Россия) в подстилку (0 см) и на глубину 5 см. Температура эксплуатации логгеров составляет от -20 до $+60^{\circ}\text{C}$, с почасовой фиксацией температуры в установленной среде. Считывание показания датчиков производилось через специальный зонд «USB – iButton» на персональный компьютер.

3.4 Флуоресцентные методы

Параметры замедленной флуоресценции хлорофилла

Параметры замедленной флуоресценции определяли на флуориметре Фотон–10» (Россия). В качестве показателя замедленной флуоресценции было взято отношение значений интенсивности быстрой и медленной компонент затухания свечения, измеряемых на высоком (120 Вт/м^2) и низком (10 Вт/м^2) возбуждающем свете, соответственно (ОП ЗФ). При регистрации параметра

учитывали методические рекомендации для отбора хвои сосны обыкновенной и их анализа (Григорьев и др., 1996; Григорьев, Андреев, 2012).

Параметры быстрой флуоресценции хлорофилла

Одним из наиболее распространенных методов изучения функционирования первичных реакций фотосинтеза является РАМ–флуориметрия, основанная на импульсной амплитудной модуляции (Гольцев и др., 2014). Состояние фотосинтетического аппарата в значительной степени соответствует общему состоянию растения.

Параметры быстрой флуоресценции определяли в хвое при помощи модулирующего импульсного флуориметра Junior–РАМ в режиме записи световой кривой фотосинтеза (Walz, Germany). Обработка данных осуществлена с помощью полнофункционального программного обеспечения WinControl.

Отношение F_v/F_m было использовано для оценки максимального квантового выхода фотохимии ФС II, отражающий потенциальную эффективность ФС II (Maxwell, Johnson 2000). Пониженное соотношение обусловлено ингибированием ФС II. F_v/F_m регистрировалось при интенсивности фотосинтетически активной радиации (PAR), равной 845 $\mu\text{моль} / \text{м}^2 \cdot \text{после}$ адаптации фотосинтезирующего объекта к темноте (около 20–30 минут).

Исследование флуоресцентных параметров проводилось поэтапно:

1. Моделирование конвективного потока на побеги сосны обыкновенной

Для характеристики степени выносливости и краткосрочных эффектов к тепловым повреждениям проведены исследования параметров быстрой флуоресценции в течении вегетационного периода 2016 года (июнь, июль, август, сентябрь). В качестве контрольного (исходного) значения использовали показатели, зафиксированные до высокотемпературного воздействия.

2. Моделирование конвективного потока на подрост сосны обыкновенной

Для характеристики долгосрочных эффектов после высокотемпературного воздействия на протяжении вегетационного периода был использован подрост

сосны обыкновенной. Контролем служили деревья, не подверженные конвективному нагреву.

Параллельно с параметрами быстрой флуоресценции измеряли содержание фотосинтетических пигментов и относительное содержание воды, по описанным ниже методикам.

3 Исследование влияния повышенных температур, при экспериментальном пожаре 2017 года (п.п.5)

Для измерения флуоресцентных параметров использовали 2-летнюю хвою с побегов средней части кроны 5 модельных деревьев, на которых были установлены датчики температур. Измерения проводили минимум в трех повторностях на дерево (таблица 1). Начальные значения флуоресценции хвои, не подверженные влиянию конвективного потока при горении, принимали за контроль. Далее регистрация флуоресцентных параметров осуществлялась через 30 минут после окончания горения, спустя 2 и 5 суток, и 2 месяца после выжигания в 2017 году. Измерения флуоресцентных параметров приводилось на хвое, которая была отобрана для дальнейшего исследование содержания белков теплового шока. Обоснование указанного интервала приводится далее.

Для характеристики фотосинтетической активности в постпирогенный период в годовом цикле, показатели быстрой флуоресценции фиксировали в июне, октябре, декабре 2018 года, апреле 2019 года.

4. Исследование долгосрочных последствий пожара, после повторного стрессирования побегов с древостоя находящегося в восстановительном периоде после пожара 2014 года (п.п.4)

Для измерения параметров быстрой и замедленной флуоресценции использовали 2-летнюю хвою с побегов средней части кроны 10 модельных деревьев сохранивших жизнеспособность, без видимых повреждений насекомыми-ксилофагами, суховершинностей и т. п. С каждого дерева отбиралось по 3 побега, исследования проводились с обобщенной пробы для каждого дерева. В эксперименте использовали прием повторного стрессирования побегов сублетальной температурой 45°C, в течении 1 часа. После прогрева

побеги оставляли в лабораторных условиях при относительной влажности воздуха $\approx 60 \pm 5\%$, при температуре воздуха $\approx 24 \pm 2^\circ\text{C}$. Затем в течение 4 суток наблюдалось восстановление их фотосинтетической активности. В качестве контроля был подобран участок с аналогичными условиями, без огневого воздействия на древостой.

Образцы хвои для анализа были отобраны в постпирогенный период в июне, июле, сентябре 2015 года, т.е. спустя год, после естественного пожара.

3.5 Определение содержания фотосинтетических пигментов

Различные отклонения от оптимальных условий среды, свойственных виду, влияют на количественные и качественные характеристики пигментного фонда пластид, что является немаловажным показателем физиологического состояния древостоев. Содержание фотосинтетических пигментов определяли в хвое с помощью спектрофотометра SPEKOL1300 Analytik Jenna AG (Германия) после экстракции в 85% ацетоне (Гавриленко, Жигалова, 2003).

Для расчета концентрации хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов в вытяжке пигментов определить оптическую плотность вытяжки на спектрофотометре при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения определяемых пигментов в данном растворителе: $\lambda = 663, 644$ и $452,5$ нм. Контроль – чистый растворитель (85% ацетон), $l_{\text{кюв.}} = 1$ см.

Расчеты производят по следующим формулам:

$$C_a \text{ (мг/л)} = 10,3 \times (D_{663} - D_{720}) - 0,918 \times D_{644} - D_{720} \quad (1)$$

$$C_b \text{ (мг/л)} = 19,7 \times (D_{644} - D_{720}) - 3,87 \times D_{663} - D_{720} \quad (2)$$

$$C_{a+b} \text{ (мг/л)} = 6,4 \times (D_{663} - D_{720}) + 18,8 \times D_{644} - D_{720} \quad (3)$$

$$C_k \text{ (мг/л)} = 4,75 \times (D_{452,5} - D_{720}) - 0,226 \times C_{a+b} \quad (4)$$

где,

$D_{452,5}$, D_{644} , D_{663} и D_{720} – оптическая плотность вытяжки при 452,5, 644 и 663 нм соответственно;

C – концентрация пигмента в вытяжке, мг/л.

Установив концентрацию пигмента в вытяжке, определяют его содержание в исследуемой ткани с учетом объема вытяжки и массы пробы:

$$F_{(\text{мг/г сыр.массы})} = (V \times C) / P \quad (5)$$

где,

F – содержание пигмента в растительном материале, (мг/г сыр.массы);

V – объем вытяжки, л;

C – концентрация пигмента, мг/л;

P – навеска растительного материала, г.

Исследование количественного содержания пигментов проводилось поэтапно:

1. Исследование влияния повышенных температур при экспериментальном пожаре 2017 года (п.п.5)

Обобщенная проба 2–летней хвои сосны отобрана из средней части кроны 5 модельных деревьев, с мест, где были закреплены датчики температур, не менее чем в трех повторностях (таблица 1), через 30 минут после выжигания. За начальный уровень принимали содержание фотосинтетических пигментов в хвое, не подвергшейся воздействию огня (контроль).

2. Исследование долгосрочных последствий пожара, после повторного стрессирования побегов с древостоя находящегося в восстановительном периоде после пожара 2014 года (п.п.4)

Обобщенная проба 2–летней хвои сосны отобрана из средней части кроны 10 модельных деревьев, не менее чем в трех повторностях (таблица 1). За контроль принимали содержание фотосинтетических пигментов в хвое, с древостоя, не подвергавшегося воздействию огня.

3.6 Определение накопления белков теплового шока (Hsp)

Для оценки содержания стрессовых белков в хвое использован современный высокочувствительный аналитический иммунохимический метод

выделения и полуколичественной оценки содержания белков теплового шока растений с применением Вестерн-блоттинга.

Выделение суммарного клеточного белка

Общий белок выделяли по опубликованной методике (Korotaeva et al., 2012). Для экстракции общего клеточного белка 6 г хвои, фиксированной в жидком азоте, растирали. К растертому материалу добавляется 160 мкл PMSF («Gerbu», США), 4% нерастворимого PVPP (Poly(vinylpyrrolidone) («Sigma», Германия). Растернутый материал заливали буфером (0.1 М трис-HCl, pH 7.5), содержащем 1% SDS, 12 mM меркаптоэтанол, 10 mM ЭДТА и 4%. После центрифугирования (50000g, 20 минут) к супернатанту добавляли нерастворимый PVPP (4% от массы супернатанта), центрифугировали (50000g, 20 минут), затем осаждали белки четырьмя объемами охлажденного ацетона в течение 30 минут, осажденные белки отделяли центрифугированием (5000g, 10 минут) и растворяли их 3 минуты на водяной бане в буфере для образца (0.5 М трис-HCl, pH 6.8), содержащем 1 mM ЭДТА, 10%-й SDS, 20% глицерина, 10% меркаптоэтанол.

Определение концентрации белка

Содержание белка в образцах определяли по методу Брэдфорда с применением коммерческого реактива («Bio-Rad», США) по прилагаемой инструкции (Bio-Rad Protein Assay) с использованием планшетного спектрофотометра Immunochem-2100 («High Technology Inc», США).

Электрофорез в полиакриламидном геле

Электрофоре белков проводили в блоках полиакриламидного геля с ДДС-Na в системе mini Protean III («Bio-Rad», США) по прилагаемой инструкции. Для электрофоретического разделения в ячейку наносили по 5 мкг белка каждого образца. Разделяющий гель полимеризовали в 0,0375 М трис-HCl, pH 8,8. Концентрирующий гель полимеризовали в 0,0625 М трис-HCl, pH 6,8. Оба геля содержали 0,1% ДДС-Na. Разделяющий гель имел концентрацию 12% ПААГ. Полимеризацию инициировали добавляя к раствору персульфат аммония, вместе с TEMED (N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин). Перед электрофорезом

количество наносимого белка было выровнено с использованием Кумасси R-250 окраса.

Иммуноблотинг и иммунодетекция

Иммуноблотинг в системе mini-Protean III («BioRad», США) проводили в течении 3 часов при низких температурах 4–5°C в охлажденном буфере для переноса на 10 % метанола. Интенсивность переноса определяли при помощи красителя Ponaseau S (0,5% Ponaseau S («Sigma», США) в 0,1% уксусной кислоте). Затем нитроцеллюлозную мембрану помещали в блокирующий раствор (20 mM Трис–HCl, 500 mM NaCl, 5% обезжиренное сухое молоко).

Инкубирование полученных нитроцеллюлозных мембран проводили в растворе первичный антител в течении 2–3 часов. После чего мембрана отмывалась буфером TTBS (pH 7,5) (20 mM Трис–HCl, 500 mM NaCl, 0,05% Tween). Антитела визуализировали с помощью вторичных антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой («Jackson Immuno Research», Великобритания), в присутствии BCIP (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate) и NBT (nitrotetrazolium blue chloride) («Gerbu», Германия). Интенсивность окрашивания белкового пятна на мембране определяли после сканирования в цифровой формат с помощью сканера Gel Doc™ XR+ («BioRad», США) и программы Image Lab (версия 5.2) («BioRad», США) в условных единицах, которые соответствовали числу окрашенных пикселей на изображении.

Использованные антитела

Для детекции стрессовых белков использовали первичные антитела Hsp 101 (AS07 253, «Agrisera», Швеция); Hsp 70 (ADI SPA-817, Enzo Life Sciences, США); Hsp 60 (H1830-77B, US Biological, США); Hsp 17.6 (класс I, AS07 254, 2 «Agrisera», Швеция).

Исследование содержания белков теплового шока в хвое проводилось поэтапно:

1. Исследование влияния повышенных температур при экспериментальном пожаре 2017 года (п.п.5)

Для определения содержания Hsp после контролируемого выжигания 2017 года 2-летнюю хвою отбирали с побегов средней части кроны 5 модельных деревьев, на которых были установлены датчики температур, в равных пропорциях. Хвоя отбиралась с обеих сторон ствола (с солнечной и теневой стороны). Полученные результаты представлены для объединённой пробы, в трех повторностях выделения белка для каждой (таблица 1). Отбор хвои проводили перед выжиганием (контроль), через 30 минут после окончания горения, а так же спустя 2 и 5 суток после выжигания. Использовалась хвоя, не имеющая видимых повреждений и участков пожелтения и усыхания. Отобранная хвоя сразу фиксировалась в жидком азоте и хранилась в кельвинаторе при температуре – 80°C до начала экстракции общего белка.

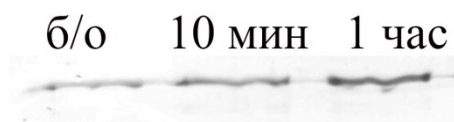
Время первого отбора проб определило время с момента прекращения огневого воздействия и остывания подстилающей поверхности, для возможности сбора растительного материала с модельных деревьев. Так же, согласно литературным источникам (Кулаева, 1996; Al-Whaibi, 2011) активный синтез белков теплового шока обнаруживаются в клетке в среднем через 15–30 минут. Отбор образцов на 2 и 5 сутки был определён на основе исследований Судачковой Н.Е. и др. (2015, 2016) по оценке влияния контролируемых выжиганий, и как следствие теплового шока, на антиоксидантную защиту в прикамбиальной зоне деревьев сосны обыкновенной. Прооксидантно–антиоксидантное равновесие характеризует одно из ключевых звеньев начала стрессовой реакции, что может приводить к запуску защитных механизмов, в том числе синтезу белков теплового шока. На 2–3 сутки под влиянием низового пожара отмечено существенное повышение содержания пероксида водорода основного показателя окислительного стресса. На 5 сутки уровень пероксида водорода снижался во всех участках побуревших тканей деревьев.

Таким образом, определенный нами интервал позволил определить кратковременную динамику изменений в накоплении белков теплового шока.

2. Исследование долгосрочных последствий пожара, после повторного теплового стрессирования побегов с древостоя находящегося в восстановительном периоде после экспериментальных пожаров 2014 (п.п.4), 2017 (п.п.5) годов и естественных пожаров 2011 (п.п.7) и 2014 (п.п.2) годов

Для установления различия в начальном содержании белков, а так же в темпах его синтеза для хвои, сформированной после экспериментальных пожаров 2014 и 2017 гг. и естественных низовых пожаров 2011 и 2014 гг., был применен прием теплового стрессирования побегов (45°C/1 час, термостат MIR–154 (Panasonic (Sanyo), Япония). Материалом для выделения Hsp служила хвоя 1,2 и 3 года жизни отобранная с побегов средней части кроны 5 модельных деревьев. Хвоя отбиралась с обеих сторон ствола (с солнечной и теневой стороны). Использовалась хвоя, не имеющая видимых повреждений и участков пожелтения и усыхания. Полученные результаты представлены для объединенной пробы, в трех повторностях выделения белка для каждой (таблица 1). За контроль использовали хвою с древостоя, расположенного на участке, аналогичному по условиям произрастания, не нарушенного огнем. Отобранная хвоя сразу фиксировалась в жидком азоте, транспортировалась и хранилась в кельвинаторе при температуре –80°C до начала работ по экстракции общего белка.

Продолжительность повторного теплового стрессирования побегов с древостоя определена экспериментальным путем, на основе полученных мембран, после обработки побегов в течении 10 и 60 минут. На рисунке 3 представлена мембрана после визуализации антител. При более продолжительном воздействии 1 час/45°C наблюдается более интенсивное накопление Hsp 101, что послужило определению времени для повторного теплового стрессирования.



б/о – без обработки, 10 мин – 10 минут при 45°C, 1 час – час при 45°C

Рисунок 3 – Влияние тепловой обработки при 45°C на накопление Hsp 101 в хвое сосны обыкновенной

3. Определение сезонной динамики стрессовых белков в хвое после контролируемого пожара 2017 года (п.п.5)

Для определения сезонной динамики содержания Hsp в хвое после пожара 2017 года, 1 и 2-летнюю хвою отбирали с побегов средней части кроны 5 модельных деревьев, на которых были установлены датчики температур, в равных пропорциях. Хвоя отбиралась с обеих сторон ствола (с солнечной и теневой стороны). Использовалась хвоя, не имеющая видимых повреждений и участков пожелтения и усыхания. Полученные результаты представлены для объединенной пробы, в трех повторностях выделения белка для каждой. За контроль использовали хвою с древостоя расположенного на участке, аналогичному по условиям произрастания, не нарушенного огнем. Для установления различия в начальном содержании белков, а так же в темпах его синтеза для хвои был применен прием теплового стрессирования побегов (45°C/ 1 час, термостат MIR-154 (Panasonic (Sanyo), Япония). Отобранная хвоя сразу фиксировалась в жидком азоте, транспортировалась и хранилась в кельвинаторе при температуре -80 °C до начала работ по экстракции общего белка.

Образцы хвои для анализа были отобраны в постпирогенный период в июне 2018, ноябре 2018, декабре 2018, апреле 2019 года (таблица 1). Таким образом, для исследования использовалась хвоя, которая непосредственно подвергалась действию высоких температур при горении (2 летняя), а так же сформировалась в условиях восстановления (1 летняя).

3.7 Оценка жизненного состояния насаждений

На всех исследуемых пробных площадях проводился сплошной пересчет древостоя с замером основных таксационно-биометрических параметров. Определение категории жизненного состояния проводились в соответствии с общепринятыми рекомендациями и методиками (Алексеев, 1989; Буйволов и др., 1998; Постановление Правительства..., № 607 от 20.05.2017).

Состояние деревьев устанавливалась как интегральная балльная оценка комплекса визуальных признаков (густота и цвет кроны, наличие и доля усохших ветвей в кроне, наличие плодовых тел грибов и стволовых вредителей). Использовалась следующая шкала категорий состояния деревьев: 1 – здоровые (без признаков ослабления), 2 – ослабленные, 3 – сильно ослабленные, 4 – усыхающие, 5 (5а) – свежий сухостой, 6 (5б) – старый сухостой. Категории ветровал и бурелом не учитывались.

После суммирования количества стволов деревьев по категории производилась оценка относительного жизненного состояния (ОЖС) всего насаждения по следующей формуле:

$$L_n = (100n_1 + 70n_2 + 40n_3 + 5n_4) / N \quad (6)$$

где,

L_n - относительное жизненное состояние древостоя, рассчитанное по числу деревьев;

n_1 - число здоровых деревьев;

n_2 - число ослабленных деревьев;

n_3 - число сильно ослабленных деревьев;

n_4 - число отмирающих деревьев лесообразователя или лесообразователей на пробной площади (или 1 га);

N - общее число деревьев (включая сухостой) на пробной площади или 1 га.

При показателе L от 100 до 85% жизненное состояние древостоя оценивается как здоровое, при 79-50% древостой считается поврежденным (ослабленным), при 49-20% - сильно поврежденным (сильно ослабленным), при 19% и ниже – полностью разрушенным (Алексеев, 1989).

Оценка жизненного состояния проводилась в период отбора хвои с пробных площадей для исследования. Для п.п.5 – через 2 месяца после выжигания, а так же

через год, в 2018 г. Для п.п.2, п.п.4 в 2017 году, спустя 3 года после повреждения; п.п.7– спустя 6 лет после повреждения.

3.8 Отбор образцов

Для выполнения поставленных задач, исследования были проведены в естественных и лабораторных условиях в несколько этапов. Количество отобранных образцов по каждому эксперименту прописано в описании к применяемым в оценке параметрам, а так же сведено в таблицу 1. В таблице 1 приведены оцениваемые параметры в ходе исследований по оценке краткосрочных последствий действия высоких температур, имитирующих влияние низового пожара, а так же после проведения контролируемого выжигания и долгосрочных последствий, для древостоя находящегося в восстановительном периоде.

Образцы для исследования отбирали в различные периоды: в условиях активной вегетации, осеннего закаливания, зимнего покоя и выхода из покоя, в зависимости от задач исследования. Такого рода периодичность отбора выбрана для комплексной оценки функционального состояния древостоя, с учетом естественного изменения в метаболизме.

Таблица 1 – Исследуемые параметры для каждой площади

Пробная площадь/ год пожара	Проведенные измерения	Количество исследуемых деревьев/ повторности	время отбора проб	Тепловое стрессирован ие в термостате
<i>Исследование влияния высоких температур при моделировании конвективного потока на побеги и подрост (хвоя 1, 2 года жизни)</i>				
п.п.1 (побеги, подрост)	– Измерение флуоресцентных параметров хвои	10 (30)	Период вегетации 2015	нет
	– Количество <i>chl a</i> , <i>chl b</i> и <i>car</i>	10 (3)*		нет
<i>Исследование краткосрочных последствий влияния пожара (хвоя 2 год жизни)</i>				
п.п.5/ 2017	– Количество <i>chl a</i> , <i>chl b</i> и <i>car</i>	5 (3)*	Август 2017	нет
	– Измерение флуоресцентных параметров хвои	5 (15)	Август 2017, Октябрь 2017	нет
	– Содержание Hsp в хвое	5 (3)*	Август 2017	нет
<i>Исследование долгосрочных последствий пожара, после повторного стрессирование побегов с древостоя находящегося в восстановительном периоде (хвоя 1,2,3 год жизни)</i>				
п.п.1, п.п.2/2014	– Измерение флуоресцентных параметров хвои	10 (30)	Июнь, июль, сентябрь 2015	да
	– Содержание Hsp в хвое	10 (3)*	Апрель 2017	да
п.п.6, п.п.7/2011	– Содержание Hsp в хвое	10 (3)*	Апрель 2017	да
п.п.3, п.п.4/2014	– Содержание Hsp в хвое	10 (3)*	Апрель 2017	да
		10 (3)*	Апрель 2022	да
п.п.3, п.п.5/2017	– Измерение флуоресцентных параметров хвои	5 (15)	Июнь, ноябрь, декабрь 2018; апрель 2019	да
	– Содержание Hsp в хвое	5 (3)*		да

Примечание - *обозначена обобщенная выборка с модельных деревьев; без звездочки, в скобках, указано общее число повторностей

3.9 Статистическая обработка данных

Для статистической оценки содержания белков и формирования диаграмм использовали программу SigmaPlot 12.0, вычисляли медиану и 25–й и 75–й квартили. Нормальность распределения определяли по критерию Шапиро–Уилка. Достоверность различий оценивали по непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни ($p < 0.05$), One–way Anova (Tukey Test, $p < 0.05$).

Статистический анализ флуоресцентных показатели, содержания фотосинтетических пигментов проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 8, вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку. Статистически значимые различия определяли с помощью t –критерия Стьюдента при $p \leq 0.05$.

ГЛАВА 4 ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА ПОВЫШЕННЫЕ ТЕМПЕРАТУРЫ

Высокие температуры, возникающие при прохождении низовых пожаров мгновенно приводят к различного рода ответным реакциям в метаболизме растительных организмов, которые становятся объектом внимания исследователей в области лесной экологии и физиологии растений. При этом, кратковременные физиолого-биохимическим последствия на пожарное воздействие изучены достаточно хорошо. Такого рода исследования в большой степени проведены на организменном уровне и отражают результаты по показателям стрессового состояния отдельных компонентов лесных сообществ, в частности, древостоя (Судачкова и др., 2016, 2017; Fleck et.al., 1996).

Вопрос продолжительности восстановления нормального метаболизма остается открытым. Древостои, сохранившие жизнеспособность после пирогенного нарушения находятся в стадии репарации физиологических процессов. В последнее время именно оценка длительности периода восстановления нормального метаболизма в растениях, наличие акклимационных эффектов на организменном и популяционном уровнях, сформированных в послестрессовых условиях, представляется предметом исследований (Lämke, Bäumle, 2013; Walter et.al., 2013; Hu et.al., 2015; Avramova, 2015; Liu et.al., 2022).

Под акклимацией понимается совокупность полезных изменений, ответных реакций, в морфологии или физиологии организма, дающих ему возможность выжить и приспособиться к новым условиям, что играет важную роль в устойчивости организма.

В работах, посвящённых изучению влияния лесных пожаров на древостой, отмечается что решающим периодом в формировании являются 30 лет их жизни (Тюрин, 1978, Собачкин и др, 2009). Сосновые молодняки, испытавшие на себе воздействие пожаров, и сохранившие жизнеспособность, в дальнейшем становятся более устойчивыми к низовым пожарам слабой и средней интенсивности. Достигается это в основном за счет уменьшения густоты

древостоев, увеличения среднего диаметра деревьев, уменьшения запасов горючих материалов, что и повышает их естественную пожароустойчивость (Фуряев В.В., Фуряев Е.А., 2008; Цветков, 2011).

4.1 Адаптивные изменения фотосинтетической активности сосны в постпирогенный период (после повторного теплового стресса)

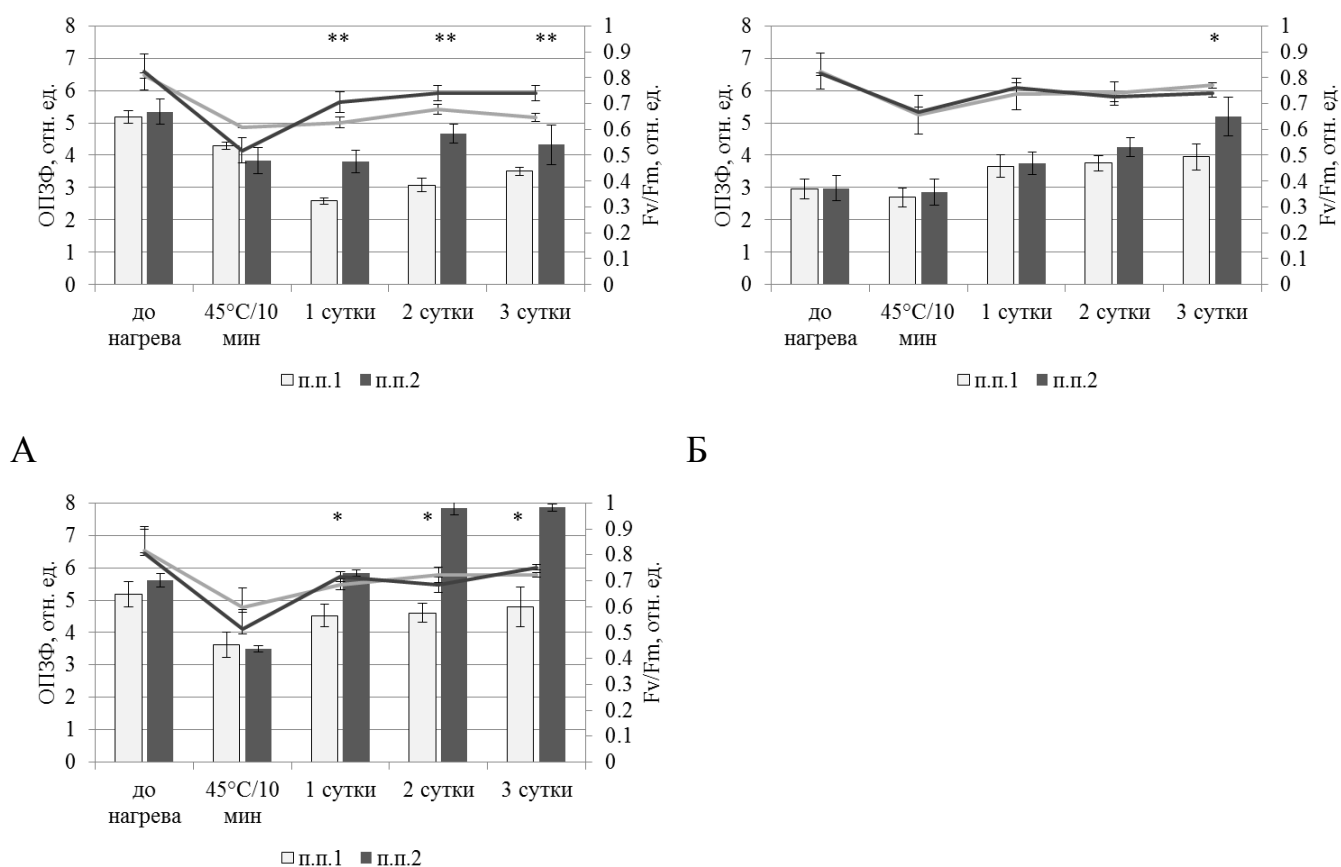
Для определения устойчивости древесных растений к высоким температурам и их способности к восстановлению в послепожарный период необходимо изучение адаптивных ответов на организменном уровне. Фотосинтез является одним из наиболее чувствительных физиологических процессов на действие различных неблагоприятных факторов, поэтому даже кратковременное повышение температуры в результате низового пожара может стать для них значимым стрессовым фактором (Гетте и др., 2020).

Исследования по оценке наличия акклимационного эффекта проводились на пробной площади п.п.2. Модельные деревья сосны обыкновенной I класса возраста испытали действие низового пожара слабой силы, так как высота пламени, определенная по высоте нагара, в среднем по участку не превышала 0,5 м (Курбатский, 1962).

Для исследования использовали образцы побегов сосны, отобранные в течении вегетационного периода 2015, то есть на следующий год после пожара. В качестве контроля был подобран соответствующий участок со схожими таксационными характеристиками (п.п.1), не пройденный огнем, в исследовании использовали 2 год жизни хвои.

Для определения устойчивости древесных растений к высоким температурам и их восстановления в послепожарный период применяли метод повторного теплового стрессирования, прогревая хвою при температуре 45°C в течении 10 минут, после чего сразу проводили измерения показателей флуоресценции: F_v/F_m – максимальный квантовый выход фотохимии ФС II, ОПЗФ – относительный показатель замедленной флуоресценции. Таким образом,

определялась способность клеток активировать защитные механизмы и противостоять тепловому повреждению.



В

Периоды исследования: А – июнь; Б – июль; В – сентябрь, отбор проб 2015 год

Рисунок 4 – Интенсивность показателей быстрой и замедленной флуоресценции для хвой сосны обыкновенной с пробной площади находящейся в восстановительном периоде после пожара слабой силы 2014 года (п.п.2). Представлены результаты в относительных единицах, при экспозиции в лабораторных условиях, после воздействия температурой 45 °C/10 мин.
* – ОПЗФ ($p \leq 0.05$), ** – ОПЗФ и Fv/Fm ($p \leq 0.05$)

Показатели флуоресценции хвой сосны обыкновенной при комнатной температуре ($\approx 24^\circ\text{C}$) не демонстрируют существенных различий между пробными площадями на протяжении всего периода исследования (рисунок 4). При тепловом стрессировании отмечается изменение фотосинтетической активности в различной степени.

Кратковременный 10–минутный прогрев побегов при 45°C приводит к подавлению фотосинтетической активности как у деревьев, произрастающих на контрольной пробной площади, так и у деревьев, подвергавшихся действию низового пожара год назад.

Для образцов, отобранных в июне 2015 г. (рисунок 4 А) 10–минутная экспозиция приводит к снижению ОПЗФ относительно исходного уровня на 18% у хвой деревьев с контрольной площади, и 28% – с подвергавшихся нагреванию при низовом пожаре 2014 г. Величина соотношения F_v/F_m так же снизилась относительно исходного уровня. На следующий день после прогрева наблюдается снижение показателя замедленной флуоресценции для хвой с обеих площадей. Такая реакция возможна ввиду того, что растения находились в фазе нарастания побегов и интенсивное поступление пластических веществ (метаболитов) направлено на поддержание ростовых процессов и, возможно, клетки содержат меньшее количество термопротекторов. Восстановление активности фотосинтеза практически до исходного уровня происходит на вторые–третьи сутки, при этом более высокие значения ОПЗФ и F_v/F_m характерны для хвой деревьев, подвергавшихся действию стрессовых температур при пожаре 2014 г. (различия статистически достоверны для $p \leq 0.05$).

Для образцов, отобранных в июле 2015 (см. рисунок 4 Б) ОПЗФ при комнатной температуре имеет наименьшие значения по сравнению с предыдущим и последующим периодами исследования. Известно, что фотосинтез относится к термолабильным функциям, снижение его интенсивности наступает при относительно низких температурах, не являющихся для клетки летальными (Коновалов, Семенов, 1990). Таким образом, 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 отн. ед.), что свидетельствует о высокой эффективности первичной фотохимии ФС II. Десятиминутный прогрев при 45°C 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 рисунке 3Б видно, что на третьи сутки после действия теплового стресса наблюдалось увеличение фотосинтетической активности при экспозиции в лабораторных условиях, относительно исходного уровня. При этом меньшее значение характерно для деревьев с контрольной площади, не подвергавшихся огневому воздействию. Таким образом, низовой пожар 2014 г. привел к повышению способности деревьев к репарации после остановки действия повреждающих температур.

Данные, полученные для побегов, отобранных в сентябре, представлены на рисунке 4 В. При 10–минутном прогреве побегов при температуре 45°C наблюдается в равной степени подавление фотосинтеза хвои для деревьев с контрольной площади и площади, подвергавшейся огневому воздействию. При экспозиции в лабораторных условиях соотношение F_v/F_m и ОПЗФ хвои с контрольной площади восстанавливается до исходного уровня на 1–е экспериментальные сутки. Репарация фотосинтетической активности хвои с пробной площади п.п. 2 также отмечена на первые экспериментальные сутки, при этом во 2–й и 3–й дни зафиксировано повышение уровня флуоресценции в среднем на 40% относительно исходного значения.

Такие различия в ответ на кратковременное воздействие температурой, превышающей физиологический оптимум фотосинтеза, между пробными площадями возможны в виду воздействия пожара на древостой с п.п.2, что могло повлиять на уровень теплоустойчивости хвои, имеющей значение как для сохранения функциональной активности в послестрессовый период, так и при повторном воздействии температур.

Величина максимального квантового выхода фотохимии (F_v/F_m) в хвое, которая была отобрана в июле и сентябре не имеет достоверных различий между

контролем и п.п.2. В частности, после повторного стрессового воздействия величина F_v/F_m оставалась одинаковой для деревьев с обоих участков. Таким образом, в данном исследовании мы не выявили возможность применения данного параметра для оценки продолжительности сохранения метаболических изменений в деревьях.

Одним из показателей ответных реакции растений на действие различных стрессовых факторов внешней среды, степени их адаптации к новым условиям является содержание фотосинтетических пигментов, характеризующих фотосинтетическую активность и физиологическое состояние растения в целом (Тужилкина, 2009). Средние значения для каждой пробной площади представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание хлорофиллов $a+b$, каротиноидов, $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы

Время отбора	<i>Chl a+b</i>		<i>Car</i>	
	п.п.1	п.п.2	п.п.1	п.п.2
Июнь	2.06 ± 0.40	2.26 ± 0.12	0.28 ± 0.03	0.29 ± 0.02
Июль	2.24 ± 0.11	2.07 ± 0.15	0.25 ± 0.04	0.24 ± 0.01
Сентябрь	2.19 ± 0.30	2.11 ± 0.30	0.25 ± 0.03	0.26 ± 0.01

Данные сравнительного анализа суммы хлорофиллов a и b после низового пожара отражают уменьшение количества пигментов в июле и сентябре. 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 2.06 и 2.26 мг г^{-1} сухой массы для пробной площади п.п.1 (контроль) и п.п.2 соответственно.

Изменение в содержании каротиноидов в целом 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.

Вывод по результатам: Регистрация параметров флуоресценции хлорофилла показала, что физиологические процессы в растениях модифицируются стрессовыми событиями. Эти изменения могут иметь положительный эффект при непродолжительных повторных действиях стрессовых факторов. Хвоя сосны обыкновенной, формирующаяся в постпирогенный период, обладает большей устойчивостью к повторному действию повышенных температур и этот эффект сохраняется в течении следующего вегетационного периода.

4.2 Анализ воздействия высоких температур при моделировании конвективного потока на ассимиляционный аппарат хвои сосны обыкновенной

Изменение параметров быстрой флуоресценции хвои сосны обыкновенной в ответ на первичный тепловой стресс (исследования проведены на срезанных побегах сосны обыкновенной)

Проведение исследований в условиях естественных пожаров затруднено из-за того, что практически невозможно оценить первичную реакцию организмов на тепловой стресс. Восстановление растительных организмов представляет собой сложный процесс, зависящий от индивидуальных особенностей, в том числе физиолого-биохимических параметров. При прохождении лесного пожара на вегетативные органы растений оказывают влияние высокие температуры, приводящие к стрессовому состоянию организма. Изучение изменений фотосинтетической активности под влиянием тепловых воздействий может определять степень ослабления дерева во время пожара, а после отражать процесс репарации повреждений.

Эксперименты по характеристике краткосрочной реакции фотосинтетического аппарата хвои сосны обыкновенной проводились с

использованием оригинальной установки по моделированию устойчивого конвективного потока заданной температуры (рисунок 2). Установка позволяет создать стабильный конвективный поток, которым моделируется воздействие пожара на побег и модельные деревья (Валендик, Косов, 2008).

Для опытов по моделированию первичного теплового воздействия в качестве образцов использовали побеги 10 модельных деревьев сосны обыкновенной 15–25-летнего возраста с контрольной площади. Насаждение ранее не было подвержено воздействию пожаров. Нагревание проводили в вегетационный период 2016 года (июнь, июль, август, сентябрь). Нагрев побегов моделировали конвективным тепловым потоком от пламени газовой горелки.

Диапазон летальных температур для живых тканей растений – 52–60°C (Гирс, 1982; Wahid et.al., 2007). По данным Гирс (1982) обратимое подавление фотосинтеза с постепенным восстановлением для сосны обыкновенной наблюдалось при температуре до 56–57°C.

Согласно проведенным экспериментам по моделированию поведения пожаров в лабораторных и полевых исследованиях (Валендик и др., 2006) установлено, что флуктуации температуры около максимальных значений происходят в среднем 5–10 минут. В виду чего, в проведенных экспериментах были установлены сублетальные стрессовые температуры 45°C, 50°C и 55°C, с длительность нагрева 2, 5 и 10 минут. Параметр быстрой флуоресценции F_v/F_m измеряли до нагрева, уровень принятый за контроль, сразу после теплового воздействия, а так же в течении 3-х суток, для характеристики особенности восстановления.

Изучение теплоустойчивости хвои второго года сосны обыкновенной показало, что температуры в 45°C и 50°C при различной длительности нагрева не являются для клетки летальными во все периоды исследования. На рисунке 5 представлен результат по воздействию сублетальной температурой 45°C в один из исследуемых периодов (июнь) на побеги. Так, действие 45°C, что превышает физиологический оптимум фотосинтеза, не оказало существенного влияния на параметр максимального квантового выхода фотохимии ФС II, значения которого

сохранялись на протяжении всей экспозиции в лабораторных условиях. Кроме того, на протяжении всего периода исследования не было отмечено морфологических изменений стрессируемых побегов. Таким образом, после теплового воздействия небольшой интенсивности может идти прямое восстановление фотосинтетической активности. Графические изображения полученных экспериментальных данных в последующие периоды исследования в течении вегетационной фазы (июль, август, сентябрь) не показали значимых отличий, и имеют аналогичных характер кривых, в виду чего они не приведены.

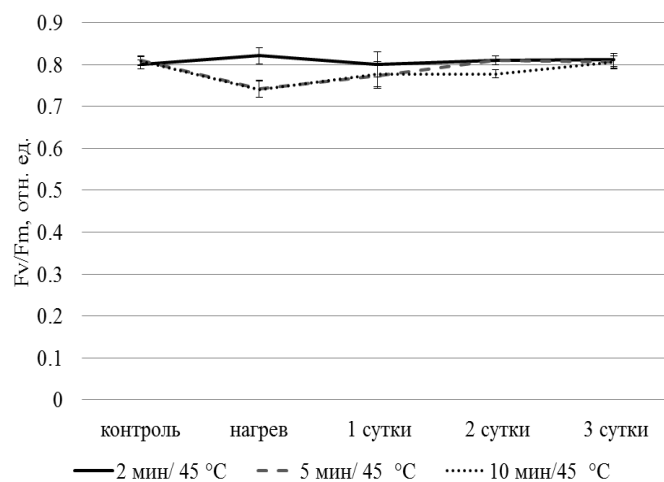


Рисунок 5 – Изменение параметра быстрой флуоресценции F_v/F_m 2-х летней хвой с побегов сосны обыкновенной после воздействия конвективным потоком заданной температурой в 45°C, период исследования июнь

При воздействии температурой 50 и 55°C на побеги сосны обыкновенной в различные периоды (июнь, июль, август, сентябрь) наблюдалась различная термоустойчивость хвой (рисунок 6). В период нарастания побегов (июнь) двухлетняя хвоя при нагревании 55°C повреждалась и опадала значительно интенсивнее, чем в последующие периоды, при этом 10 минутный прогрев оказался полностью губительным для побега, большая часть хвой пожелтела и опала на следующие сутки наблюдения.

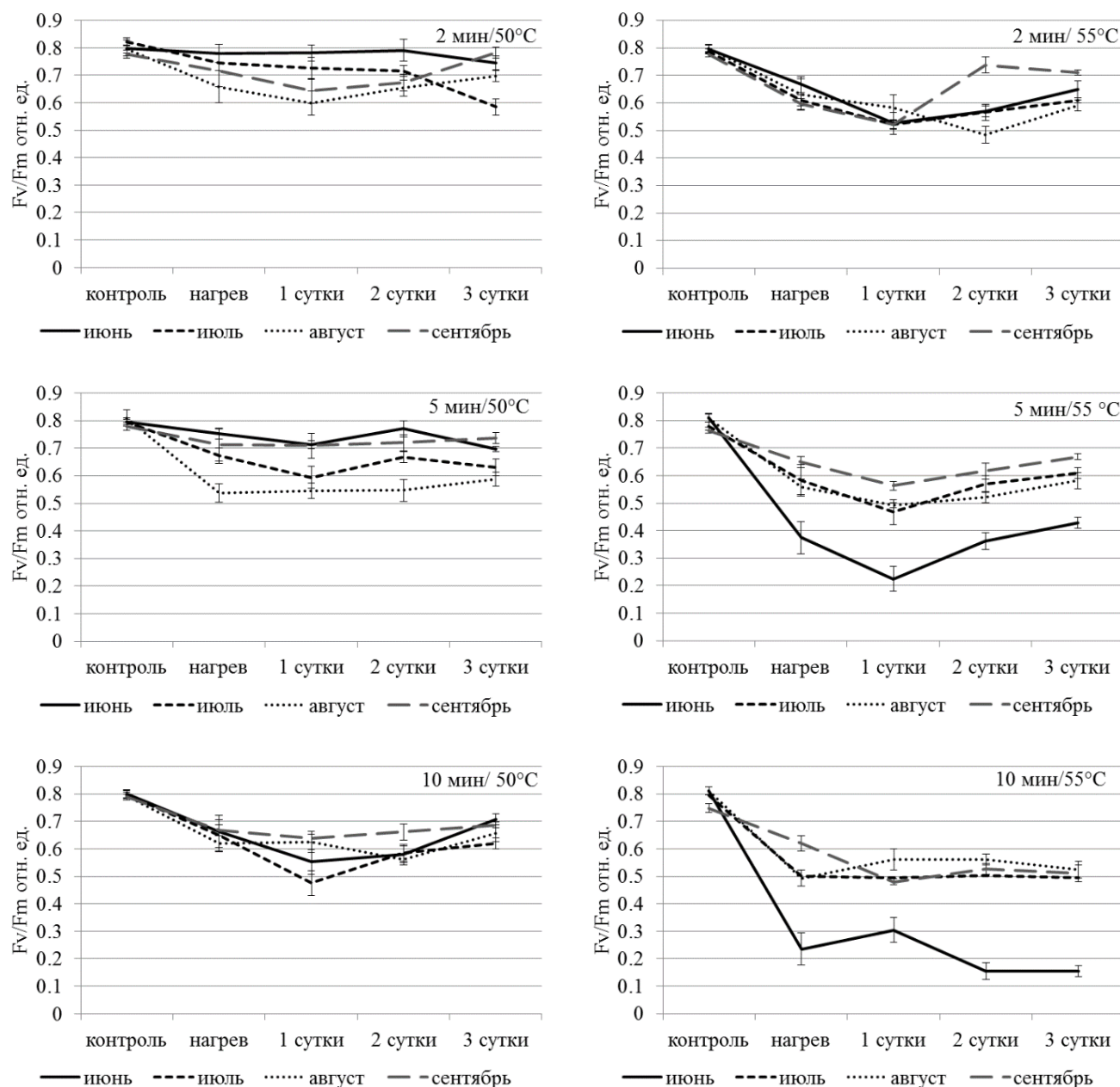


Рисунок 6 – Изменение параметра быстрой флуоресценции F_v/F_m 2-летней хвои с побегов сосны обыкновенной после воздействия конвективным потоком заданными температурами 50 и 55 °С в различные периоды фазы вегетации

Выносливость хвои сосны обыкновенной к действию высоких температур повысилась к концу вегетации. При визуальной оценке состояния побегов после 5-ти минутного нагрева при 50 и 55°C в августе и сентябре за трое суток экспозиции в лабораторных условиях не выявлены характерные признаки

усыхания хвои, но более длительный нагрев при 55°C приводит к пожелтению и усыханию хвои на 3 сутки в среднем около половины.

В обычном состоянии, до теплового воздействия, соотношение F_v/F_m во все периоды исследования составляет около 0,80 отн. ед.

Обратимое подавление фотосинтеза с постепенным восстановлением процесса наблюдалось при температуре 50°C во все периоды исследования, при этом важным фактором стала длительность действия температур. После 5 – минутного прогрева при 50°C уровень репарации на следующие трое суток был выше, чем после 10–минутного прогрева при этой же температуре. Кратковременный 2–минутный нагрев при 50°C не привел к существенному снижению исследуемого показателя относительно исходного уровня.

Побеги отобранные в июне (рисунок 6) характеризуются наименьшей теплоустойчивостью в ответ на прогрев сублетальной температурой 55°C. Отмечено резкое снижение параметра быстрой флуоресценции при прогреве 5 и 10 минут, что составило в среднем 55 и 70% относительно контрольного уровня. При экспозиции в лабораторных условиях репарация фотосинтеза на 3 экспериментальные сутки достигла практически исходного уровня, только у хвои после воздействия температурой 55°C в течение 2 минут. На 3 сутки экспозиции в лабораторных условиях после 5–ти минутного прогрева не происходит значительного увеличения исследуемых параметров флуоресценции. Необратимое снижение фотохимической активности ФС II произошло при 10 минутном прогреве при 55°C, при полном усыхание хвои через сутки после прогрева. Для последующих периодов исследования (июль, август, сентябрь) характерная более высокая способность к репарации повреждения.

Реакция пигментного фонда в ответ на первичный тепловой стресс

Количественные и качественные характеристики пигментного фонда пластид, в ряде работ рассматривается как один из параметров отражающий физиологических изменения ассимиляционного аппарата в ответ на действие

различных стрессовых факторов (Ashraf, Harris 2013; Гирс, 1982; Судачкова и др., 2016).

В таблице 3, 4 представлены результаты по количественному изменению пигментов 2–летней хвой сосны обыкновенной после теплового воздействия на побеги, имитирующего конвективный поток при пожаре, в различные периоды вегетации. Количество фотосинтетических пигментов определено до экспериментального нагрева (контроль) и на следующие сутки.

Таблица 3 – Изменение содержания *Chl a + b* в хвое через сутки после прогрева, мг г⁻¹ сухой массы (контроль – исходное содержание пигментов без действия высоких температур)

Параметры воздействия/период		Июнь	Июль	Август	Сентябрь
Контроль		3.01 ± 0.08	2.99±0.03	3.20±0.04	3.01±0.04
45°C	2 мин	2.78 ± 0.21	2.79±0.1	3.12±0.1	2.89±0.03
	5 мин	2.79 ± 0.12	2.7±0.15	3.05±0.09	2.75±0.02
	10 мин	2.79 ± 0.18	2.7±0.1	2.94±0.05	2.75±0.1
50°C	2 мин	2.58 ± 0.19	2.23±0.15	2.95±0.3	2.72±0.08
	5 мин	2.74 ± 0.13	2.39±0.01	2.7±0.01	2.21±0.13
	10 мин	2.74 ± 0.20	2.18±0.2	2.7±0.1	2.34±0.03
55°C	2 мин	2.18 ± 0.23	2.9±0.31	2.5±0.02	2.5±0.09
	5 мин	2.05 ± 0.15	2.43±0.04	2.34±0.05	2.12±0.08
	10 мин	1.97 ± 0.20	1.99±0.05	2.10±0.04	1.97±0.03

Таблица 4 – Изменение содержания *Car* в хвое через сутки после прогрева, мг г⁻¹ сухой массы (контроль – исходное содержание пигментов без действия высоких температур)

Параметры воздействия/период		Июнь	Июль	Август	Сентябрь
Контроль		0.31±0.01	0.36±0.01	0.36±0.02	0.46±0.01
45°C	2 мин	0.29±0.03	0.4±0.05	0.36±0.02	0.47±0.03
	5 мин	0.27±0.03	0.35±0.01	0.3±0.02	0.46±0.02
	10 мин	0.27±0.01	0.35±0.01	0.32±0.01	0.4±0.01
50°C	2 мин	0.31±0.04	0.29±0.01	0.31±0.01	0.4±0.03
	5 мин	0.23±0.04	0.28±0.01	0.28±0.02	0.35±0.01
	10 мин	0.21±0.03	0.27±0.01	0.27±0.01	0.36±0.03
55°C	2 мин	0.26±0.01	0.29±0.02	0.3±0.03	0.35±0.02
	5 мин	0.22±0.03	0.29±0.01	0.27±0.01	0.31±0.01
	10 мин	0.23±0.04	0.25±0.01	0.25±0.02	0.31±0.01

По результатам проведенных экспериментов можно заключить, что прогрев хвои приводит к незначительному снижению количества хлорофилла и каротиноидов, что свидетельствует об отсутствии их распада (таблица 3,4). Изменения количества пигментов в последующий период после действия высоких температур зависят от интенсивности теплового воздействия.

После кратковременного прогрева при температурах 45°C и 50°C снижение в содержании пигментов относительно исходного уровня выражено слабо. При воздействии температурой 55°C отмечено снижение суммы *Chl a + b* и каротиноидов относительно исходного уровня на следующие сутки после прогрева. В среднем 5–ти минутное высокотемпературное воздействие на побеги приводит к снижению суммы *Chl a + b* и *Car* на 30% относительно контрольного уровня. Более длительный нагрев привел к снижению *Chl a + b* и *Car* в среднем на 35 и 30% соответственно, относительно контрольного содержания.

Вывод по результатам: В ходе проведенных экспериментов по влиянию конвективного потока на ассимиляционный аппарат сосны обыкновенной, имитирующего влияние низового пожара, нами была установлена первичная теплоустойчивость хвои. В ходе регистрации параметра быстрой флуоресценции и при определении количественного содержания пигментов показано, что после снятия действия повреждающего фактора ассимиляционный аппарат сосны может восстанавливаться, при этом скорость восстановления будет зависеть от температуры и продолжительности ее воздействия. Полученные результаты отражают повышение уровня теплоустойчивости вегетативных органов во второй половине вегетационного периода. Такое заключение согласуется с данными полученными другими исследователями (Гирс, 1982; Валендик и др., 2006).

Изменение параметров быстрой флуоресценции хвои сосны обыкновенной в ответ на первичный тепловой стресс (исследования проведены на подросте сосны обыкновенной в естественных условиях среды)

По изменениям фотосинтетической активности в период действия и последействия высоких температур, можно заключить о функциональной

стойкости ассимиляционного аппарата. Для характеристики эффектов после высокотемпературного воздействия, которые сохранились на протяжении вегетационного периода, был использован подрост сосны обыкновенной. Эксперимент по моделированию конвективного потока проводили 30 июня 2016 года, нагревая участок главного побега второго года (вторая мутовка). После чего в течении вегетационного периода, фиксировали параметры быстрой флуоресценции.

В эксперименте по моделированию высокотемпературного воздействия, проводимого в конце июня, по визуальной оценке состояния подроста, прогрев при 50°C привел к незначительным морфологическим изменениям, в среднем, за период исследования, побурение отмечено у 20%, незначительная часть хвои опала к концу исследования. Более высокое температурное воздействие при 55°C в течение 5 минут в различной степени сказалось на состоянии ассимиляционного аппарата. На следующие сутки после воздействия отмечено незначительное побурение кончиков хвои (около 10%), а через 2 недели на 30%, к концу наблюдения охвоенность побега составила менее половины по сравнению с контролем. Более длительный 10-ти минут нагрев привел к значительному пожелтению хвои уже на 4 сутки. Спустя месяц стрессируемая двухлетняя хвоя практически полностью опала.

После теплового повреждения отмечено резкое снижение фотосинтетической активности, около 40% (рисунок 7 А) и 50% (рисунок 7 Б). Репарация фотосинтетической активности происходила лишь на 4 сутки у модельных деревьев после 50°C воздействия. При этом, после восстановления, флуоресцентные параметры стрессируемой хвои не отличаются от контрольных значений.

Длительный прогрев 10 минут при 55°C оказался летальным для клеток. Необратимое снижение фотохимической активности отождествляются с повреждением комплексов фотосистемы II. Поэтому можно говорить о необратимости подавления фотосинтетического процесса и разрушении фотосинтетического аппарата.

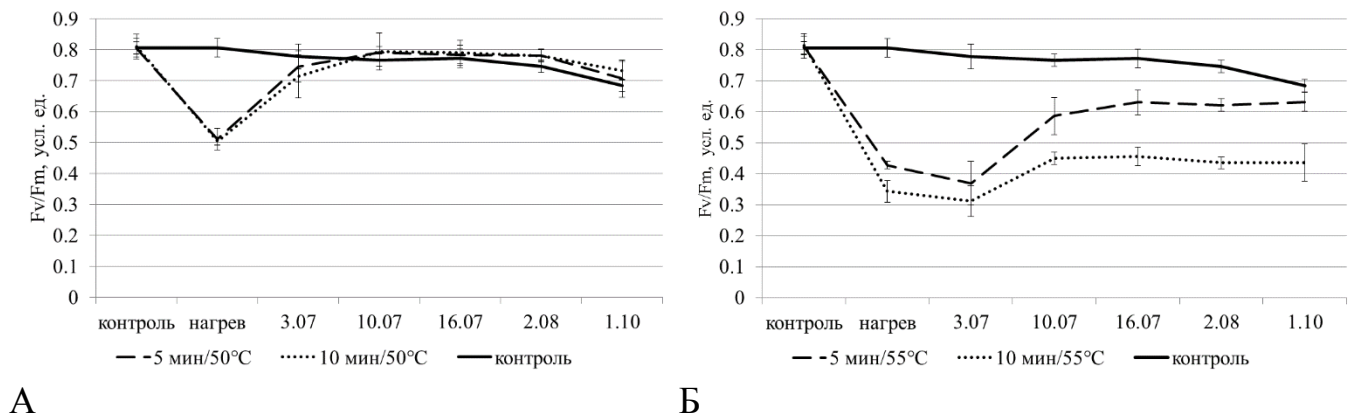


Рисунок 7 – Изменение параметра быстрой флуоресценции F_v/F_m 2-летней хвои подростка сосны обыкновенной после воздействия конвективным потоком заданными температурами 50 и 55°C на главный побег

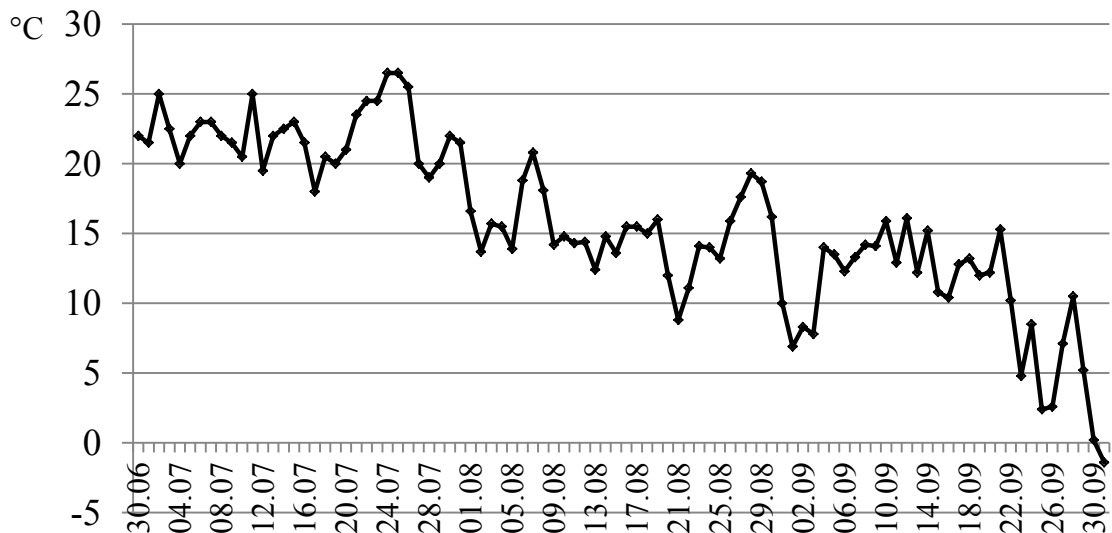


Рисунок 8 – Среднесуточные температуры воздуха на пробной площади по данным метеостанции «Погорельский Бор». 03.07, 10.07, 16.07, 02.08, 01.10 – дни измерения параметра быстрой флуоресценции

Результат кратковременного ответа зарегистрированного на следующие сутки на побегах, что было приведено ранее, не могут в полной мере отражать устойчивость пигментного аппарата к повреждающему действию высоких температур. Для определения возможности репарации пигментного фонда нами проведены измерения по содержанию $Chl\ a+b$ и Car в хвое подростка, находившемся в периоде восстановления, в естественных условиях под пологом соснового древостоя. Так как флуоресцентные показатели при 50°C не имели

значимых отличий на протяжении периода исследования (периода вегетации), количественное содержание пигментов не проводилось. Изменения в количественном составе пигментов вызванных тепловым воздействием в 55°C на подрост представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Изменение содержание *Chl a+b* и *Car* в 2-летней хвое экспериментального подроста в период восстановления после прогрева, мг г⁻¹ воздушно-сухой массы (контроль – исходное содержание пигментов без действия высоких температур)

Период	Контроль <i>Chl a+b</i>	55°C		Контроль <i>Car</i>	55°C	
		5 мин	10 мин		5 мин	10 мин
01.07	2.75±0.05	2.21±0.02	1.80±0.02	0.88±0.01	0.61±0.01	0.59±0.02
10.07	2.74±0.07	2.12±0.03	1.69±0.04	0.87±0.03	0.70±0.01	0.57±0.01
02.08	3.13±0.1	2.08±0.1	1.44±0.01	0.95±0.01	0.62±0.01	0.50±0.01
01.10	3.12±0.16	1.98±0.02	1.25±0.01	1.05±0.02	0.65±0.02	0.48±0.02

Нагрев охвоенной части главного побега проводили на модельных деревьях 30 июня 2016 года. По полученным результатам, на следующие сутки после 5–ти и 10–ти минутное высокотемпературного воздействия отмечено снижению *Chl a+b* на 20 и 35% соответственно, относительно контроля. В целом негативное тепловое воздействие в течении 10 минут было экстремальным для подроста, что привело к необратимым изменениям в хлоропластах. Так, к концу вегетационном периода резко упало содержание суммы хлорофиллов *a + b*, каротиноидов в хвое и составило 60 и 51% от контроля, что является достоверно значимым.

Вывод по результатам: Фотосинтез хвои сосны относительно устойчив к действию высоких температур. Восстановление фотосинтетической активности происходило после частичного подавления процесса температурами 50 и 55 °C. Для скорости восстановления фотосинтеза важным фактором служила длительность действия повреждающих температур. При высокотемпературном воздействии продолжительностью 5 минут, характерного для весеннего беглого низового пожара, отмечено более быстрое восстановление фотосинтетической активности хвои, в том числе в начале вегетационного периода. Десятиминутное нагревание, возможное при более медленном и более опасном летнем низовом

пожаре оказывается губительным в начале лета (Гирс, 1982; Валендик и др., 2006).

При сравнении экспериментальных данных, полученных при использовании срезанных побегов и целых растений сосны обыкновенной можно сделать вывод, о сопоставимости полученных показателей. В связи с этим, мы считаем, что для исследований по оценке краткосрочных эффектов от повреждающих факторов, с использованием параметров флуоресценции, могут быть использованы побеги древесных растений, при невозможности работы в естественных условиях.

ГЛАВА 5 ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ И ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ПОСТПИРОГЕННЫЙ ПЕРИОД

5.1 Моделирование пожара на территории ОЭХ «Погорельский Бор»

В последние годы активно ведутся исследования способности растений восстанавливать поврежденные стрессом системы, что важно для их выживания и продуктивности. В случае лесного пожара именно экстремальные температуры, пусть и непродолжительно действующие, представляют стрессовый фактор, определяющий продуктивность, выживаемость и способность к регенерации растений в лесных экосистемах. Проведение исследований в условиях естественных пожаров затруднено из-за того, что практически невозможно оценить первичную реакцию организмов на тепловой шок, а так же не представляется возможным точно оценить характеристики горения (силу). Для этого был заложен участок в 2017 году для проведения экспериментального пожара в виде контролируемого выжигания (п.п.5) с измерением интенсивности воздействия конвективного потока в кроне древостоя. Для сравнения физиологических параметров был заложен контрольный участок, с аналогичными экологическими условиями произрастания, лесотаксационными характеристика (п.п.3).

Экспериментальный пожар проводился 5 августа 2017 года в 16 ч., на участке площадью 0,04 га. Температура воздуха составляла 31°C, относительная влажность воздуха – 39%, скорость ветра – 0–1 м с⁻¹. Горение имитировало беглый низовой пожар слабой силы (Курбатский, 1962).

Для оценки запаса лесных горючих материалов использовали методику Н.П. Курбатского (1970). Учет запаса упавших древесных горючих материалов проводили по методике пересеченных линий (McRae et al., 1979). Лесотаксационные работы, определение жизненного состояния проводились в соответствии с общепринятыми рекомендациями и методиками (Курбатский, 1970; Сукачев, 1972; Побединский, 1966; Алексеев, 1989).

При низовых пожарах в горении участвуют лесные горючие материалы (ЛГМ), представленные живым напочвенным покровом (ЖНП), опадом текущего года, подстилкой, упавшими древесными горючими материалами (УДГМ), куда входят ветви и валеж (таблица 6). В данном эксперименте опад отдельно не отбирался, его масса учтена в составе подстилки.

Таблица 6 – Запас напочвенных горючих материалов до выжигания, т/га

ЖНП	УДГМ	Подстилка	Всего
0.009	0.005	0.119	0.133

В силу возраста и состава древостоя, напочвенный покров имел слабую степень разложения, в подстилке хвоя 3–4 летней давности сохраняла свою форму, находясь на различной степени ферментации. В подстилке на экспериментальном участке до выжигания можно выделить два слоя, один из которых представлен слаборазложившимся опадом растений, а второй является слоем ферментации, где опад потерял форму, структуру и частично гумифицировался (Богатырев, 1990). Состав подстилки представлен в таблице 7.

Таблица 7 – Фракционный состав лесной подстилки до выжигания, т/га

Отмершие травы и кустарнички		хвоя		кора		шишки		остальное	
т/га	%	т/га	%	т/га	%	т/га	%	т/га	%
0.015	12.6	0.014	11.9	0.001	0.5	0.002	1.5	0.087	73.5

Слаборазложившиеся фракции подстилки (отмершие травы и кустарнички, хвоя, кора и шишки) являются проводниками горения (Курбатский, 1970). На экспериментальном участке вместе с УДГМ они составили 0.124 т/га, что соответствовало 93% общего запаса горючих материалов.

До проведения эксперимента, в кроны 5 модельных деревьев, выбранных случайным образом, по среднестатистическим таксационным параметрам, с

противоположных сторон ствола располагали по 2 температурных датчика, на высоте 3 метра. После, полученные термограммы были анализированы (таблица 8).

Как видно из полученных диаграмм температурного профиля горение протекало в различных фазах, принимая либо ускоренную, либо устойчивую форму (рисунок 9).

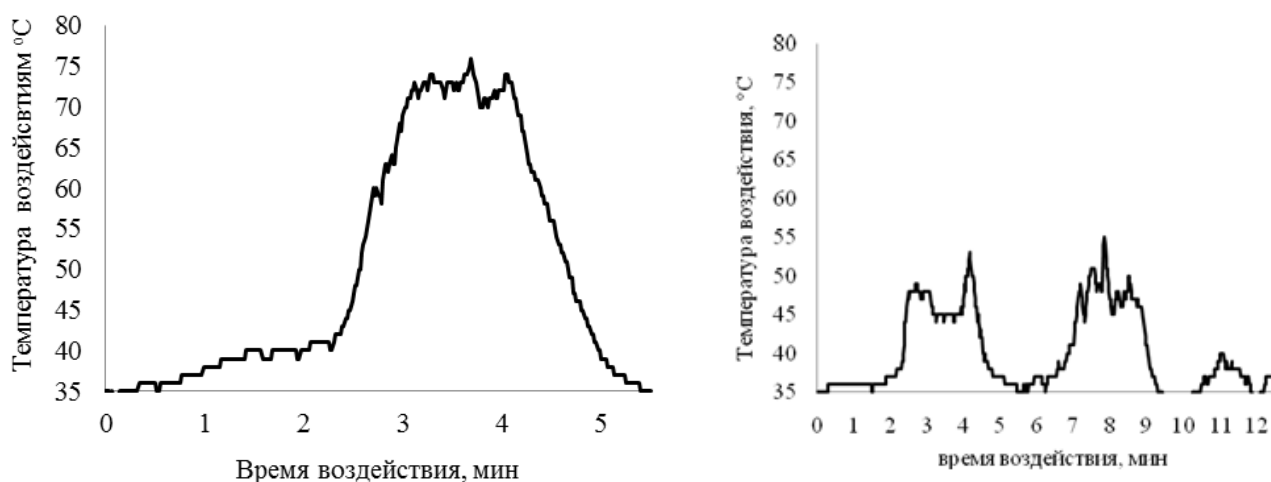


Рисунок 9 – Кривые изменения температуры конвективного потока от кромки пожара для модельных деревьев 1 (А) и 2 (Б) на высоте 3 м

Таблица 8 – Характеристики теплового воздействия кромки огня на крону модельных деревьев (высота измерения – 3 метра)

Критерий	Дерево 1		Дерево 2		Дерево 3	Дерево 4	
	Датчик 1	Датчик 2	Датчик 1	Датчик 2	Датчик 1	Датчик 1	Датчик 2
Средние значения действующих температур, °C	55±12,8	40±4,3	40±5,2	49±14	38±2,1	41±5,0	40±5,2
Время действия температур, превышающих фоновые значения (35°C), мин	6.1	7,5	11,7	5,7	5,3	3	4,5

Максимальные значения действующих температур, °С	74	48	55	76	42	55	52
Время действия максимальной температуры, мин	0,12	0,08	0,02	0,02	0,13	0,07	0,12

Интенсивное и быстрое сгорание лесного горючего материала вызвано подтоком воздуха и на графике имеет один пик в одной точке кроны, с меньшей продолжительностью, но более высокой температурой (рисунок 9 А). Устойчивое горение (рисунок 9 Б) без ускорения движения воздуха может сопровождаться двумя и более пиками температур и более продолжительным воздействием температуры в одной точке кроны. Такие колебания температур, во время горения связаны с периодическими возмущениями воздуха в зоне эксперимента. Движение воздуха (поток) к кромке пожара над землей присутствует даже при полном штиле, что связано с вертикальным движением горячей воздушной массы при горении (Валендик, 1968).

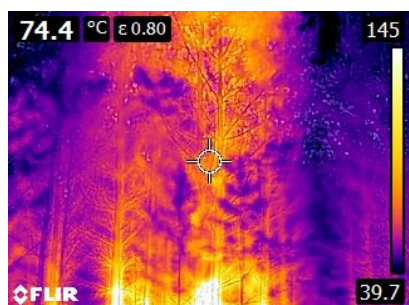
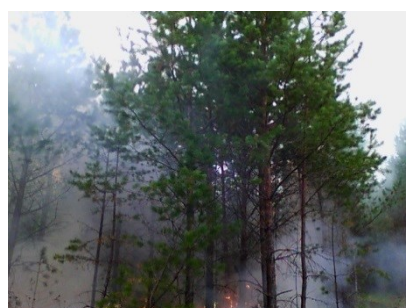
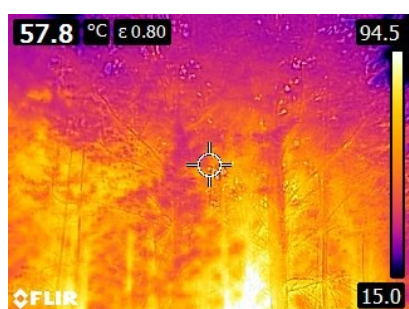
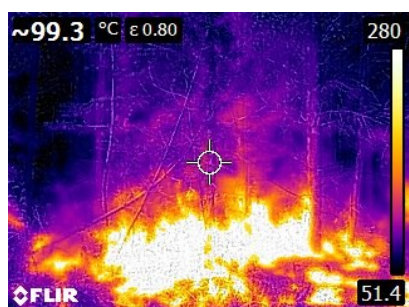
Скорость распространения огня и глубина прогорания подстилки составили 0.25 м/мин и 3.5 ± 0.9 см соответственно, средние температуры в кроне модельных деревьев, составили $46 \pm 7^\circ\text{C}$. Максимальные значения действующих температур зафиксированы датчиками в момент приближения кромки пожара к модельному дереву. Судя по рисунку 9 максимальные температуры в центре кроны, превышающие 70°C , действовали на крону около 2 минут. Температуры выше 35°C , превышающие фоновые значения на момент проведения эксперимента, влияли на древостой пробной площади в диапазоне от 5,5 до 12 минут.

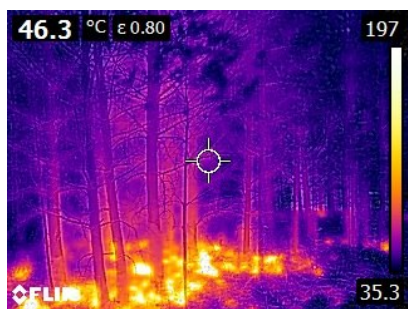
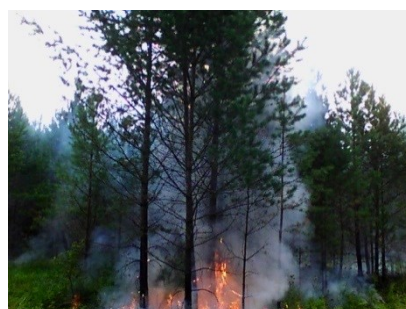
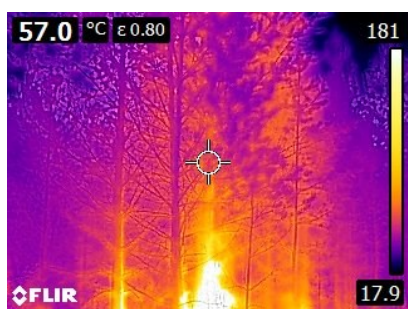
Именно это непродолжительное влияние высоких температур может запускать в растениях многочисленные структурные и функциональные изменения, имеющих важное значения на функционирования организма в постпирогенный период.

Снимки, отражающие изменение конвективного потока по кроне, полученные с помощью тепловизора FLIR E5, представлены на рисунке 10. Как

видно из рисунка, температура в средней части кроны модельного дерева в момент горения может изменяться в пределах от 40 до 80°C, что соответствует температурам конвективного потока, замеренным автономными регистраторами температуры (рисунок 9).

Сосна обыкновенная относится к группе ксерофитов, для нее оптимум протекания физиологических процессов, в частности, фотосинтеза, лежит в пределах 10°C – 30°C в разные сезоны года (Суворова, 2009), поэтому даже кратковременное повышение температуры до 45–50°C в ходе низового пожара может стать для них значимым стрессовым фактором. Температура в кроне во время низового пожара превышает максимальные значения температуры естественной среды обитания древостоя, а так же оптимум жизнедеятельности вида. В ответ на эти воздействия в растении должна развиваться стрессовая реакция, приводящая к физиологическим изменениям в нем.





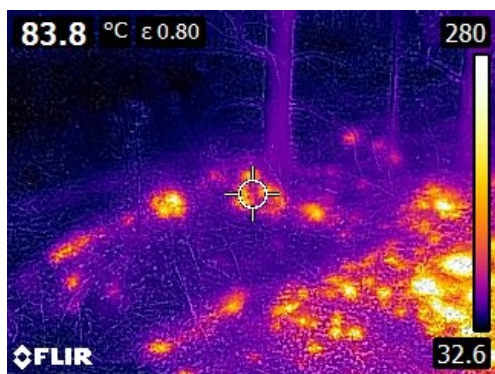
А

Б

А – ИК–снимок древостоя, курсор наведен в среднюю часть кроны;
Б – цифровое изображение древостоя (изображения получены одновременно с помощью тепловизора FLIR E5)

Рисунок 10 – Внешний вид древостоя при пожаре 2017 года

В момент прекращения огневого воздействия, а так же несколько минут после, температура подстилки превышает фоновые значения (рисунок 11).



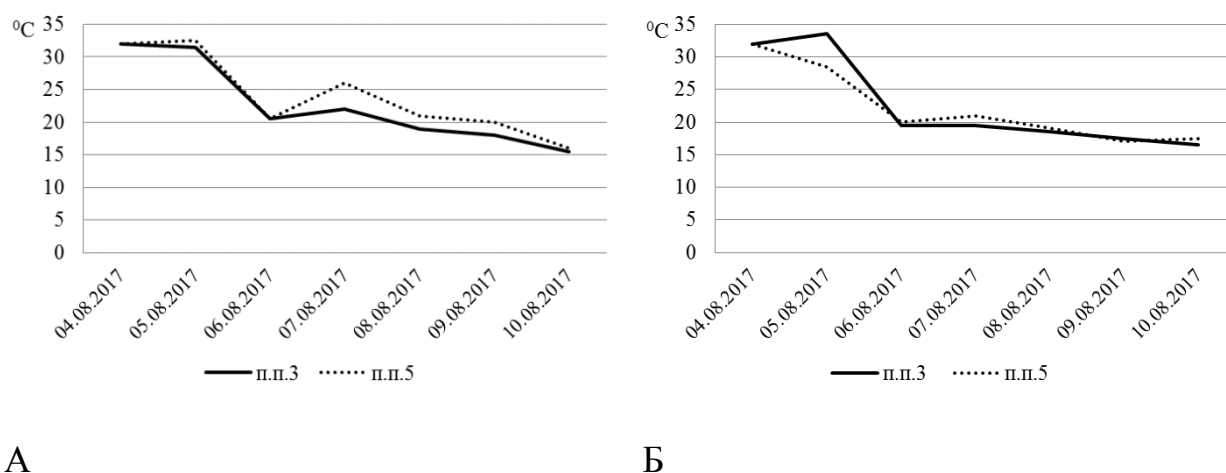
А

Б

А – ИК–снимок подстилки, курсор наведен на нижнюю часть модельного дерева, Б – цифровое изображение (изображения получены одновременно с помощью тепловизора FLIR E5)

Рисунок 11 – Внешний вид экспериментального участка по окончании пожара 2017 года

После контролируемого выжигания на экспериментальную и контрольную площади в подстилку и на глубину 5 см были установлены температурные логгеры – универсальная система температурного мониторинга УСМТ ТЕРМОХРОМ для регистрации температурных значений.



А

Б

А – в подстилке (0 см); Б – на глубине 5 см

Рисунок 12 – Динамика дневных температур по данным регистрации УСМТ ТЕРМОХРОМ

Как видно из графиков, представленных на рисунке 12, после прекращения огня температура подстилки увеличивается, но не значительно, по отношению к контролю, и составляет около 2 градусов, на протяжении нескольких суток. Данные по температурам, полученным с датчиков, заложенных на глубину 5 см, не показывают изменений. Таким образом, экспериментальный низовой пожар слабой силы, не оказал существенного влияние на температуру подстилки и почвы.

Результаты, полученные в ходе эксперимента, согласуются с данными других исследований о температурных характеристиках пожара, полученных при контролируемых выжиганиях (Валендик, Косов, 2008; Иванова и др., 2014; Carlo et al., 2016).

5.2 Оценка жизненного состояния древостоя на исследуемых площадях

На момент отбора растительных образцов с пробных площадей была проведена оценка жизненного состояния древостоев. На каждой пробной площади вёлся сплошной перечет деревьев с замером основных лесотаксационных параметров. Результаты приведены в таблице 9, и ниже в описании. Характеристика древостоя по показателю жизненного состояния проводилась в момент отбора растительного материала для исследования долгосрочных последствий пирогенного фактора, таким образом, через год для п.п.5, через три года для п.п.2, п.п.4; через 6 лет для п.п.7.

Таблица 9 – Оценка жизненного состояния деревьев после низовых пожаров

Дата пожара, год	Сила пожара	Относительное жизненное состояние древостоя, %		Степень ослабления древостоя
		до пожара	после пожара	
27 апреля 2014 (п.п.2)	слабая	–	80	здоровое насаждение
18 июня 2014 (п.п.4)	средняя	83	36	сильно ослабленный древостой
5 августа 2017 (п.п.5)	слабая	83	54	ослабленный древостой
15 мая 2011 (п.п.7)	средняя	–	43	сильно ослабленный древостой

Примечание – «прочерк» – нет данных

Состояние древостоя после пожара 2014 года (п.п.2)

В данном случае, сила пожара устанавливалась косвенно, по одному из диагностических признаков – высоте нагара на стволах деревьев, согласно существующим методикам (Курбатский, 1962, Цветков, 2006). Судя по высоте нагара, средняя высота пламени на пробной площади составляла до 0,5 м. Через год после пожара на этом участке хвоя с нижних веток опала, крона поднялась на 1 метр до 2.9 ± 0.2 м., фотография древостоя на этот момент представлена на

рисунке 13. В целом, можно заключить, что модельные деревья, расположенные на пробном участке площадью 0,25 га, испытали действие низового пожара слабой силы. Относительное жизненное состояние (ОЖС) древостоя через 3 года составило 80%, что характеризуется как здоровое насаждение.



Рисунок 13 – Внешний вид объекта исследования на п.п.2 на следующий год после низового пожара

Состояние древостоя после пожара 2014 года (п.п.4)

До пожара 2014 г. насаждение было биологически устойчивым, жизненное состояние оценивалось как 83%. Усыхающие деревья отсутствовали. Через два месяца после проведения эксперимента произошла сильная дефолиация хвои нижних веток, иногда достигающая до середины кроны. Через три года после проведения экспериментального пожара произошло сильное ослабление насаждения, категория состояния снизилась до 36% за счет усыхания ослабленных деревьев, в итоге усохло около трети (35%) от первоначального количества деревьев, 3% перешли в категорию усыхающие. Фотографии древостоя в момент низового пожара и в период восстановления представлен на рисунке 14.



А



Б



В



Г

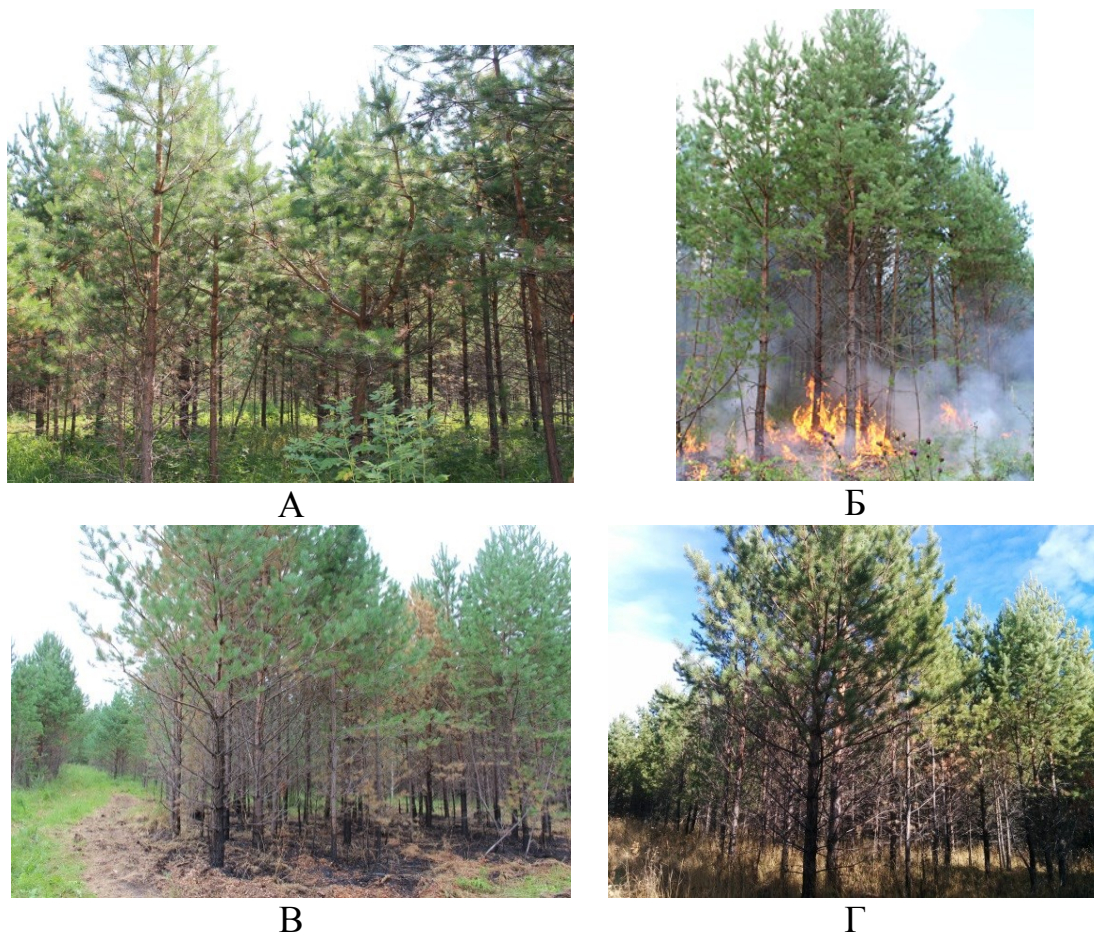
А – до пожара; Б – в момент горения; В – сразу после пожара; Г – состояние древостоя спустя 3 года после пожара

Рисунок 14 – Внешний вид объекта исследования на п.п.4

Состояние древостоя после пожара 2017 года (п.п.5)

Перед проведением экспериментального пожара в 2017 г. насаждение имело высокую биологическую устойчивость, ОЖС составляло 83%. Усыхающие деревья отсутствовали. Осмотр насаждения, проведенный через два месяца после пожара, показал, произошла сильная дефолиация хвои нижних веток. На этот момент в насаждении усохло 13% деревьев, 22% деревьев перешли в категорию усыхающие. Через год после проведения эксперимента биологическая устойчивость насаждения нарушилась, насаждение стало ослабленным, критерий состояния снизился до 54%. В насаждении усохло 17% от первоначального количества живых деревьев, 29 % перешло в категорию усыхающие, тем не менее,

древостой сохранивший жизнеспособность начинает восстанавливаться (рисунок 15).



А – до пожара; Б – в момент горения; В – сразу после пожара; Г – состояние древостоя спустя год после пожара

Рисунок 15 – Внешний вид объекта исследования на п.п.5

Состояние древостоя после пожара 2011 года (п.п. 7)

В данном случае, сила пожара устанавливалась косвенно, по одному из диагностических признаков – высоте нагара на стволах деревьев, согласно существующим методикам (Курбатский, 1962, Цветков, 2006). Судя по высоте нагара, средняя высота пламени на пробной площади составляла до 1 м. В целом, можно заключить, что модельные деревья, расположенные на пробном участке площадью 0,25 га, испытали действие низового пожара средней силы. Относительное жизненное состояние древостоя через 7 лет составило 43% что характеризуется как сильно ослабленное насаждение (рисунок 16).



Рисунок 16 – Внешний вид объекта исследования на п.п.7 спустя 6 лет после прохождения пожара

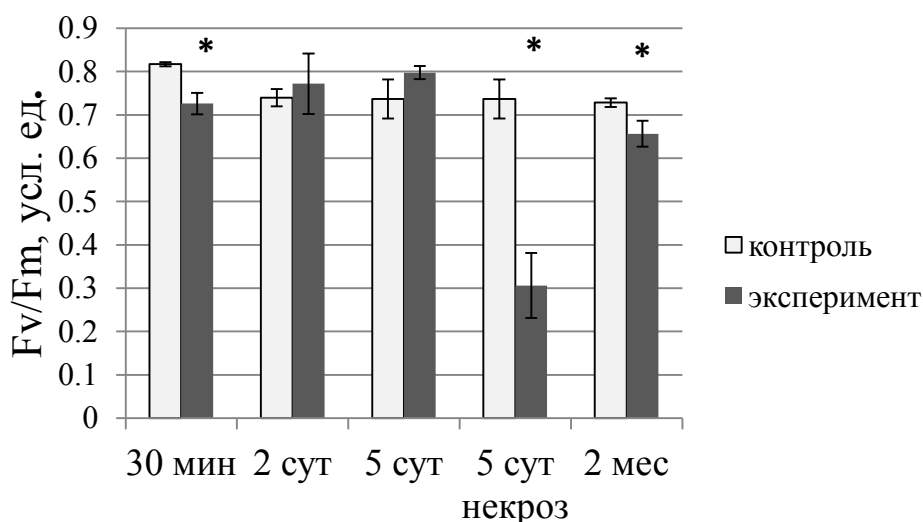
5.3 Оценка накопления стрессовых белков и интенсивности фотосинтеза хвои сосны обыкновенной в постпирогенный период

5.3.1 Краткосрочные последствия пожара. Накопление Hsp и флуоресцентные показатели хвои

У растительных организмов ключевым фактором, определяющим устойчивость к неблагоприятным параметрам окружающей среды, является сохранение основной энергопроизводящей функции – фотосинтеза (Климов, 2008). 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 и др., 2011; Wang, 2014). Согласно рисункам 8,9 во время пожара 2017 года максимальные температуры в центре кроны, превышающие 70°C, действовали не более 2 минут. Температуры выше 35°C, превышающие фоновые значения на момент проведения эксперимента, влияли на древостой пробной площади не более 12 минут.

Хвоя, как ассимилирующий орган древесных растений, является структурной единицей побега, наиболее чувствительной к изменениям окружающей среды. (Тужилкина, 2009). Конвективный поток низового пожара оказывает непосредственное влияние на вегетативные органы растений, что впоследствии может сказываться на состоянии организма в целом (Гирс, 1982; Wahid et.al., 2007; Timperio, 2008). Таким образом, определение фотосинтетической активности под влиянием тепловых воздействий, с одной стороны может отражать реакцию дерева как биологической системы в ответ на стрессовое воздействие, с другой стороны определять степень ослабления дерева во время пожара и в процессе репарации повреждений.

По данным представленным на рисунке 17, через 30 минут и через 2 месяца после пожара эффективность первичных процессов фотосинтеза в хвое, подвергавшейся влиянию высоких температур при горении, была достоверно ниже исходного значения, измеренного до эксперимента. На 3-е сутки эффективность первичных процессов фотосинтеза не отличалась от исходных значений. Для сравнения, у хвои, имеющей участки некротизации тканей, было отмечено значительное снижение флуоресценции хлорофилла через 5 суток после выжигания, в отличие от неповрежденной хвои.



* – различия между контролем и экспериментом значимы при $p \leq 0.05$

Рисунок 17 – Влияние пожара слабой силы на эффективность первичных процессов фотосинтеза в хвое сосны обыкновенной в краткосрочной динамике

При этом хвоя, которая не имела видимых повреждений, оставалась жизнеспособной даже через 2 месяца после эксперимента, хотя значение F_v/F_m у нее было пониженным. Снижение фотофлуоресценции через 2 месяца после пожара (рисунок 17) может свидетельствовать о подавлении процессов ассимиляции в послепожарной хвое и общем ослаблении жизнедеятельности дерева по сравнению с контролем. Это подавление может быть вызвано повреждением проводящих тканей дерева и ухудшением транспортных процессов в дереве после пожара (Michaletz, 2018).

Теплоустойчивость вегетативных органов сосны повышается от начала вегетации к ее окончанию, и уже в июле выходит на стационарный уровень у хвои 2-го года, это отражают результаты экспериментов, описанных в главе 3, что так же согласуется с результатами исследований Гирс Г.И. (1982). Поскольку выжигание проводилось в августе, теплоустойчивость хвои была уже достаточно высокой. Это может быть одной из причин, по которой проведенное выжигание не вызвало серьезных повреждений и отмирания хвои в краткосрочном периоде наблюдения. В нашем исследовании интервал воздействия температурами выше

40°C был не продолжителен. По данным полученным в ходе моделирования конвективного потока в лабораторных условиях (глава 4), прогревание хвои сосны обыкновенной при 55°C в течение 5 минут вызывает ее гибель в течение 3 суток. Таким образом, кратковременное воздействие температурами выше 40°C, не превышающее 5 минут, не привели к глубоким нарушениям структуры и функций хвои сосны, сохранившей свою жизнеспособность.

Тем не менее, часть хвои все-таки получила ожоги с последующим образованием усохших участков. Так произошло из-за того, что в естественных условиях при горении конвективный поток оказывает переменное влияние на побеги. Такое воздействие приводит к различной степени ожога у побегов, расположенных даже на одной высоте, и влияет на физиологические параметры. Так, параметр F_v/F_m был заметно снижен у поврежденной и частично некротизированной хвои на 5-е экспериментальные сутки, и составлял около 0,3 усл. ед. (рисунок 17). В условиях экологического оптимума параметр F_v/F_m составляет около 0,8 усл. ед (Smith et.al., 2017). Такое снижение фотохимической активности отождествляется с повреждением комплексов фотосистемы II и свидетельствует о нарушении функционирования ассимиляционного аппарата. Через 2 месяца наиболее поврежденная хвоя опала с побегов. Таким образом, при высокоинтенсивном влиянии повышенных температур на отдельные части побегов на них образуются усохшие или частично усохшие участки с нарушениями флуоресценции хлорофилла.

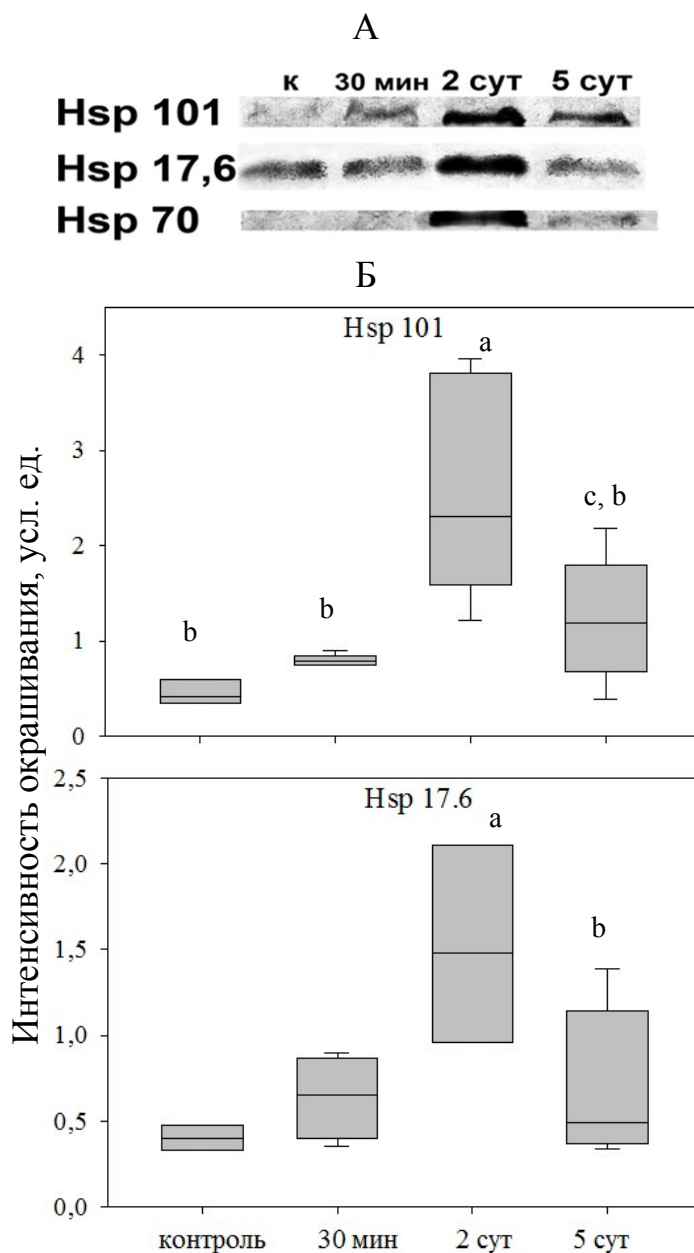
Отклонение температуры среды от оптимальной зоны, свойственной виду, может оказывать влияние на количественные и качественные характеристики пигментного фонда пластид, структурную организацию хлоропластов и их функциональную активность (Гирс, 1982; Судаchkova и др., 2016).

Таблица 10 – Изменение содержание *Chl a+b* и *Car* в хвое сосны обыкновенной после пожара слабой силы, мг г⁻¹ сухой массы (контроль – содержание пигментов до горения, эксперимент – содержание пигментов после экспериментального горения)

	<i>Chl a+b</i>	<i>Car</i>
Контроль	2.74±0.2	0.28±0.017
Эксперимент	2.66±0.1	0.27±0.02

Данные сравнительного анализа содержания хлорофиллов а и b, каротиноидов (таблица 10) в хвое через сутки после выжигания достоверно не отличаются от исходных значений, что свидетельствует о сохранении стабильности пигментного фонда к кратковременному температурному воздействию, в рамках данного эксперимента.

Одним из проявлений защитных механизмов в фотосинтезирующих органах растений является накопление белков теплового шока, действующих как молекулярные шапероны (Валиуллина и др., 2007; Timperio et al., 2008; Xu et al., 2011). Из литературных источников известно, что Hsp обнаруживаются в клетках уже через 15 минут после повышения температуры на 10–15°C от оптимальной (Кулаева, 1997). В нашем эксперименте образцы свежей хвои отбирались со средней части кроны спустя 30 минут через 2 и 5 суток после действия огня. На рисунке 18 представлены данные, характеризующие изменения в накоплении высокомолекулярного Hsp 101 и низкомолекулярного Hsp 17.6 в послепожарной хвое по отношению к контрольной.



А – Изображение типичных мембран после визуализации антител
 Б – Результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен Hsp 101 и Hsp 17.6.

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. Контроль – содержание до горения. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp101 n=5, Hsp 17,6 n=5. Для оценки значимости различий использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (Sigma Plot 12.0). Латинские буквы означают значимые различия при $p < 0.05$.

Рисунок 18 – Влияние низового пожара слабой силы на накопление Hsp в хвое

Сведений о содержании Hsp в хвое голосеменных крайне мало. Однако имеются данные, что с небольшими количественными изменениями Hsp 101 присутствует в клетке постоянно, а Hsp 17.6 накапливается преимущественно в теплое время года (Korotaeva et al., 2012). Это согласуется с полученными нами результатами для контрольных образцов (рисунок 18).

Уменьшение фотофлуоресценции (рисунок 17) указывает на нарушение функционирования фотосистемы II и изменения в структуре белков, составляющих фотосистему, что является сигналом для экспрессии генов Hsp (Biswal et al. 2011). Накопление Hsp 101, Hsp 70 и Hsp 17.6 в хвое сосны в ответ на воздействие огня происходит после снижения фотосинтетической активности, то есть после появления симптома повреждения фотосинтетического аппарата. Повреждение фотосинтетического аппарата может быть одним из сигналов для активации накопления стрессовых белков в хвое после воздействия пожара, а накопление стрессовых белков может иметь важное значение для восстановления активности фотосинтетического аппарата хвои (Heckathorn et al. 1998). Похожим образом, накопление smHsp способствовало восстановлению электронного транспорта после нагревания в хлоропластах томата (Heckathorn et al., 1998).

Однако повышение содержания Hsp 101, Hsp 70 и Hsp 17.6 произошло только на 2-е сутки после окончания горения (рисунок 18). Через 30 минут после выжигания содержание стрессовых белков почти не изменилось, а через 5 суток оно вновь равнялось контрольному уровню. При воздействии аномально высокими температурами на травянистые растения, рост содержания стрессовых белков обычно происходит уже через 30 минут (Sung et al., 2001; Malik et al., 1999). Воздействия температурами от 40 до 70°C должно быть достаточно для накопления Hsp в растительной ткани. Такое слабое накопление может говорить либо о кратковременности воздействия, недостаточной для активации защитных механизмов на уровне белкового синтеза, либо о сильных барьерных свойствах наружных структур хвои. Сосна относится к группе ксерофитов, хвоя которой имеет ксероморфное строение и отличается усиленным слоем наружных защитных тканей (кутикула, гиподерма) (Загирова, 1999), которые хорошо

предохраняют мезофилл от внешних воздействий. Так же вероятно, что регуляция экспрессии генов стрессовых белков хвои у древесного растения происходит сложнее и занимает больше времени, поскольку древесное растение обладает большими ресурсами и механизмами компенсации для преодоления последствий стрессового воздействия. Помимо этого воздействие теплового потока на охвоенные побеги во время пожара было рассеянным, а не сплошным, что может замедлить ответ на стресс.

Как известно, одним из стимулов, приводящих к экспрессии генов стрессовых белков во всех изученных организмах, является накопление АФК (активные формы кислорода) (Mittler 2002; Guan et al., 2004; Quan et al., 2008). На примере тканей ствола сосны обыкновенной было показано, что содержание АФК повышается в растениях после огневого воздействия (Судачкова и др., 2017), что может активировать экспрессию генов Hsp. Симптомы окислительного стресса сохраняются у сосны обыкновенной, подвергнутой выжиганию, даже через 2 месяца (Судачкова и др. 2015). Многие изменения, вызванные пожаром, сохраняются у деревьев и в окружающей среде долгое время. Так, влияние интенсивности пожара на степень фиксации углерода может сохраняться у хвойных деревьев до 10 лет (Sparks et al., 2018); изменения механических и агрохимических свойств почвы, вызванные пожаром и влияющие на деревья, в условиях Иркутского Приангарья могут сохраняться в течение 15—30 лет (Гирс, 1982). Таким образом, влияние пожара может отражаться на физиологии древесного растения очень продолжительное время.

По результатам экспериментов содержание Hsp на 5-е сутки существенно не отличалось от его содержания спустя 30 минут после выжигания (для Hsp 101) и от содержания в контрольном образце (для Hsp 17.6). Сокращение количества стрессовых белков на 5-е сутки связано, по-видимому, с прекращением или снижением стрессового давления. Такой результат согласуется с данными о том, что уровень H_2O_2 снижался во всех участках тканей побуревших деревьев через 5 дней после пожара (Судачкова и др., 2015). С другой стороны, сохранение на 5-е сутки относительного количества Hsp 101 на уровне выше контрольного может

говорить в пользу сохранения стрессирующего эффекта либо продолжения восстановительных процессов, для которых наличие стрессового белка может быть необходимо. Имеются данные о том, что после прекращения стрессового воздействия низкомолекулярные белки теплового шока могут обнаруживаться в растительной клетке на протяжении 30–50 часов (Waters et.al., 1996).

Так же представлено изображение типичной мембраны с Hsp 70 после визуализации антител (рисунок 18 А). В контрольных пробах, до возгорания, а так же через 30 минут после эксперимента, интенсивности окрашивания белковых пятен слишком слабая, в связи с этим денситометрическая оценка не проводилась. Из литературных источников известно, что белки группы Hsp 70 накапливаются преимущественно в холодное время года (Korotaeva et al., 2012). Возможно, именно это стало причиной его низкого содержания в августовской хвое. Однако на 2 сутки, окрашивания белкового пятна довольно интенсивное, к пятым суткам так же наблюдается его количественное снижения, что согласуется с полученными нами результатами для Hsp 101 и Hsp 17.6.

5.3.2 Сезонная динамика накопления Hsp и флуоресцентные показатели хвои сосны обыкновенной в период восстановления (1 год после низового пожара)

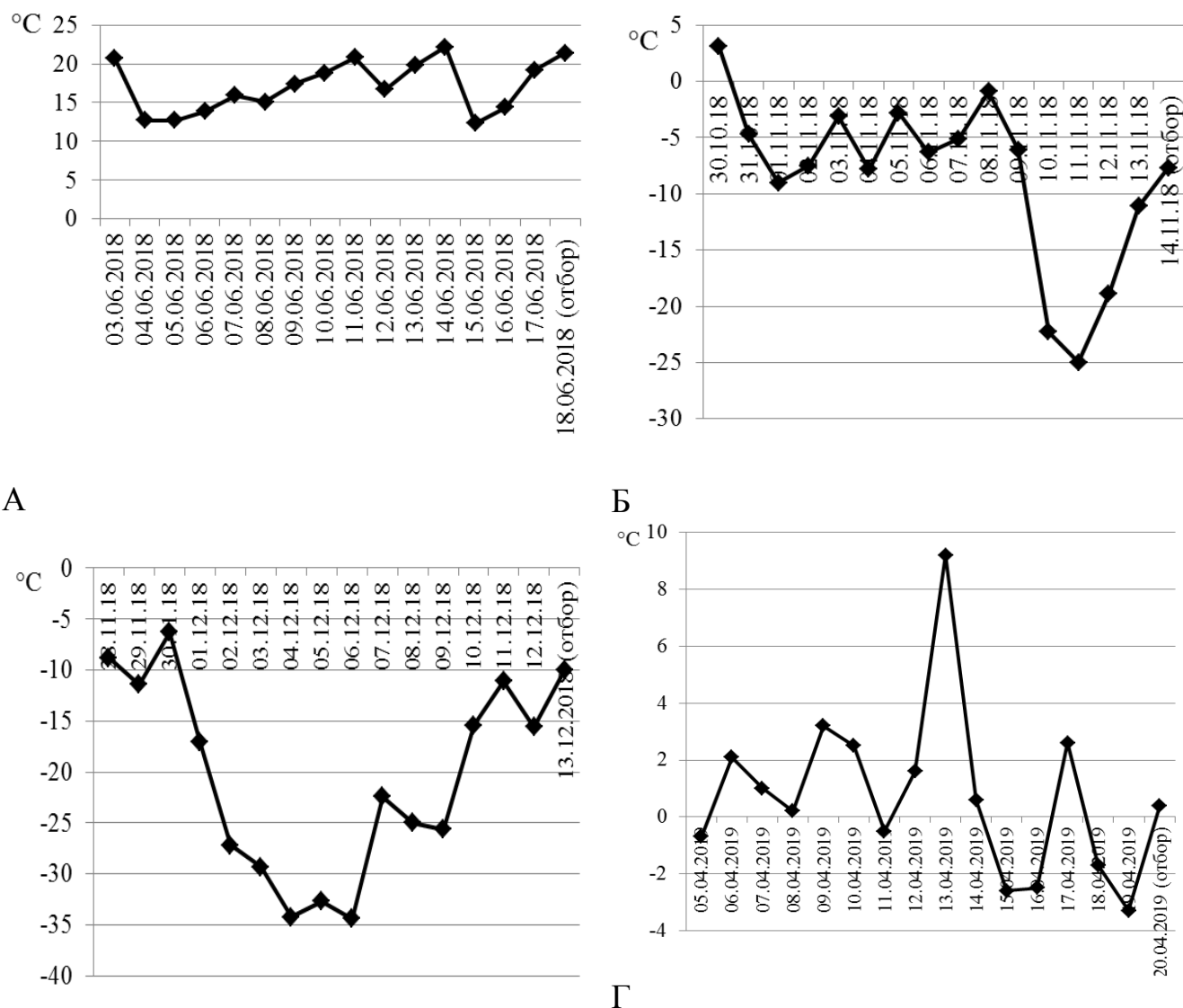
В зависимости от интенсивности стрессовых условий внешней среды растительные организмы обладают способностью к саморегуляции, оптимизации протекающих процессов. В последние годы активно ведутся исследования способности растений препятствовать повреждениям и восстанавливать поврежденные стрессом системы, что важно для их выживания и продуктивности (Woolley et.al., 2011; Guo et.al., 2016; Smith et.al., 2017; Furniss et.al., 2019). Однако, стрессовые изменения метаболизма дерева, определяющие его статус в послепожарный период мало исследованы.

В исследовании мы выделили 4 периода для характеристики эколог-физиологических особенностей сосны обыкновенной находящейся в восстановительном периоде после прохождения низового пожара.

Проводилась регистрация флуоресцентных параметров и полуколичественная оценка белков теплового шока в годовом цикле: в условиях осенней холодной акклимации (ноябрь), зимнего покоя (декабрь), выхода из периода покоя (апрель) и активной вегетации (июнь), так как именно осенью и весной у хвойных деревьев структурно–функциональная организация фотосинтетического аппарата претерпевает существенные изменения, вызванные низкими положительными температурами, направленные на формирование механизмов адаптации к меняющимся условиям, что является важным фактором для комплексной оценки функционального состояния древостоя, с учетом естественного изменения в метаболизме.

Регистрация физиологических параметров с древостоя сосны выполнялась спустя год после экспериментального пожара, проведенного в вегетационный период 2017 г. Анализ параметров флуоресценции и содержания стрессовых белков произведен как на вновь сформированной однолетней хвое, так и непосредственно подвергавшейся конвективному нагреву во время горения год назад (двулетняя хвоя). Сбор образцов осуществлялся с одних и тех же модельных деревьев в равной пропорции, представляя, таким образом, обобщённую пробу на участок для каждого исследуемого периода.

Отбор проб осуществляли в следующие периоды: 18.06.2018 г.; 14.11.2018 г.; 13.12.2018 г.; 20.04.2019 г. На рисунке представлены графики среднесуточных температур за две недели до отбора растительных образцов для каждого периода исследования. Температура представлена по данным ближайшей к участку метеостанции «Сухобузимо» (рисунок 19).



Периоды исследования: А – июнь, Б – ноябрь, В – декабрь, Г – апрель

Рисунок 19 – Среднесуточные температуры воздуха за две недели до отбора образцов на исследования накопления Hsp и флуоресцентных показателей

Климатические условия, в частности температура внешней среды, являются важным фактором определяющим скорость биохимических и физиологических процессов у растений.

Интенсивность флуоресценции хлорофилла

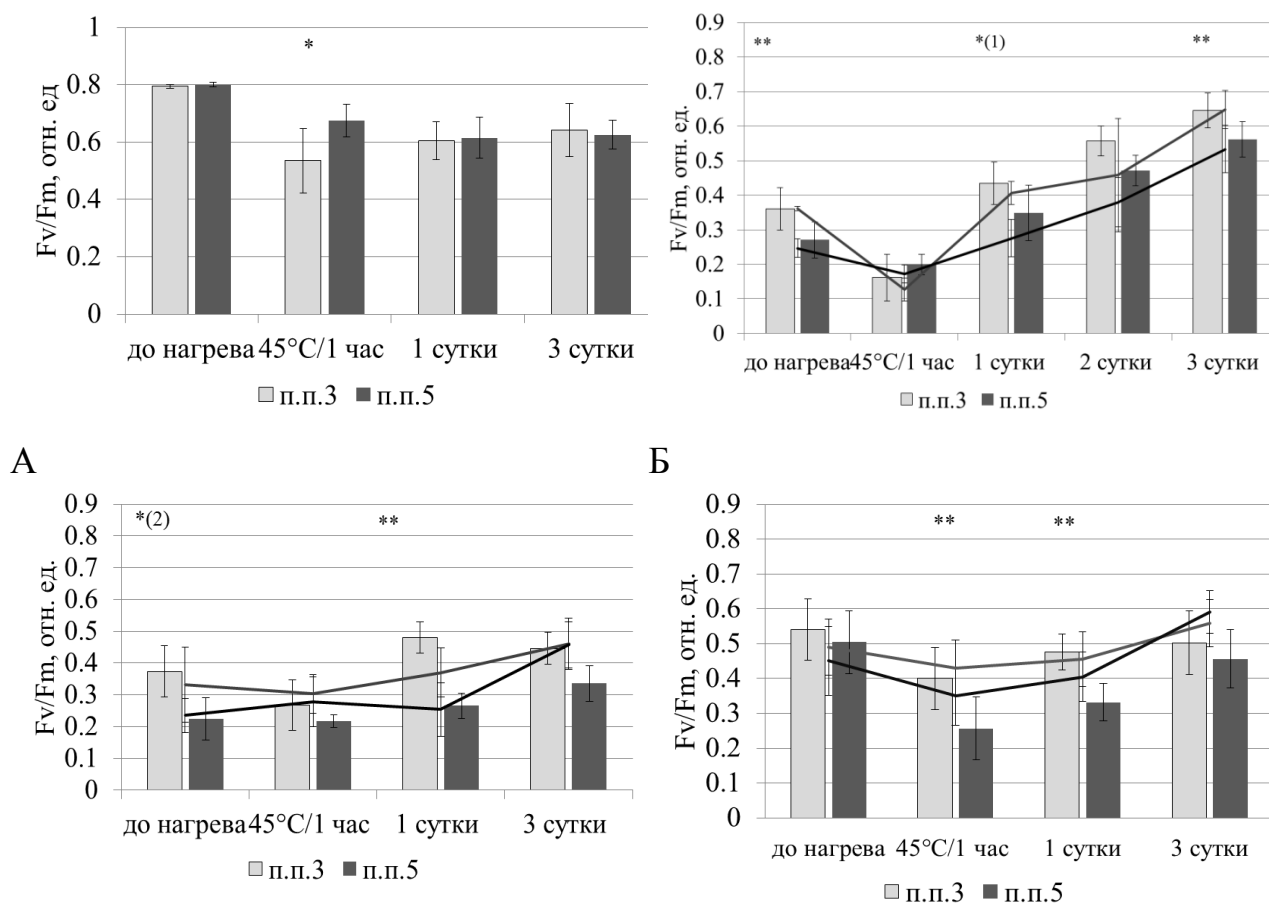
Для июня среднесуточные температуры за две недели до отбора хвои составляли +17°C (рисунок 19). Такие температуры входят в зону оптимума для

данного вида, и являются благоприятными для протекания физиологических процессов в клетке. До проведения стрессирования побегов, F_v/F_m составляет около 0,8 усл. ед., для хвои с деревьев обеих площадей. Тепловое стрессирование привело к закономерному снижению фотосинтетической активности хвои, при этом величина параметра F_v/F_m достоверно ниже у хвои с контрольных деревьев, относительно древостоя произрастающего на площади п.п.5 (рисунок 20 А). Подобного рода ответ согласуется с результатами описанные в пункте «4.1. Адаптивные изменения фотосинтетической активности сосны в постпирогенный период (после повторного стресса)» настоящей работы.

Теплоустойчивость фотосинтеза имеет различный характер ответа между контрольной и экспериментальной группой деревьев, как после повторного теплового воздействия, так и в период репарации. При этом, в период активной вегетации повышенная устойчивость к сублетальным температурам свойственна именно хвое отобранной с древостоев, находящихся в восстановительном периоде после воздействия пирогенного фактора.

Для ноября среднесуточные температуры составили -8.5°C (рисунок 19), при этом за 5 дней до отбора проб температура воздуха значительно снизилась достигая отметки -25°C . Среднесуточные температуры декабря составили -20°C (рисунок 19), отмечаются небольшие колебания к дате отбора образцов. Низкие температуры, сокращение длины светового дня приводят к переходу растительных организмов в состояние зимнего покоя со снижением эффективности фотосинтетических процессов (рисунок 20 Б, В).

Показатель быстрой флуоресценции до высокотемпературной обработки в эти периоды составил около 0,3 усл. ед. При этом, для древостоя с пробной площади после пожара 2017 (п.п.5) начальный уровень F_v/F_m (до нагрева) достоверно ниже значений полученных для хвои с контрольной площади. Для образцов отобранных в ноябре (рисунок 20 Б), воздействие сублетальной температурой в течении часа привело к снижению исследуемого параметра в среднем на 55 и 30% для хвои с контроля и п.п.5 соответственно.



В
Г
Периоды исследования: А – июнь; Б – ноябрь; В – декабрь; Г – апрель

Линиями на графиках обозначен показатель Fv/Fm для 1-го года хвои, столбцами – для 2 года хвои: 1 год – хвоя сформировалась на следующий год после пожара; 2 год – хвоя испытывала на себе действие конвективного потока при пожаре 2017 года. Для июня результаты представлены по 2 году жизни хвои (1 год хвои не сформирован). Тепловое стрессирование (1 ч/ 45°C) проводили в термостат (MIR-154, Sanyo, Япония)

** – различия выборки значимы при $p < 0.05$ (t-test, STATISTICA), в скобках указан год хвои с достоверно значимым различием

Рисунок 20 – Влияние теплового стрессирования на показатель быстрой флуоресценции (Fv/Fm) хвои сосны обыкновенной

Так же, как видно из графиков, представленных на рисунке 20 В, стрессовое воздействие высокой температурой приводит к незначительному подавлению параметра быстрой флуоресценции у хвои деревьев с п.п.5, а в контрольной группе (п.п.3) данным показатель снижен в среднем на 30% относительно исходного уровня. Таким образом, хвоя 2- и 1-го года жизни, сформировавшаяся

после пожара, отличается более высоким уровнем первичной теплоустойчивости, сохранившимся вплоть до момента исследования. В течении следующих суток экспозиции в лабораторных условиях наблюдается увеличение исследуемого показателя для побегов. Однако интенсивность восстановления фотосинтетической активности наблюдается в различной степени. У побегов с контрольной пробной площади без действия низового пожара репарация фотосинтеза происходит более интенсивно. Такая реакция возможна ввиду того, что после стрессового воздействия происходит активный синтез термопротекторов, действие которых направлено на поддержание ростовых процессов, в то время как у деревьев с пробной площади после экспериментального пожара могла закрепиться кратковременная физиологическая адаптация, которая послужила основой устойчивости в ответ на повторное стрессовое воздействие.

В апреле отмечается повышение среднесуточных температур, со средним значением 0.4°C , при этом характерны периодические колебания с повышением до $+10^{\circ}\text{C}$ (рисунок 19). Повышение среднесуточных температур и увеличение длины светового дня способствует возрастанию эффективности фотосинтетических процессов в хлоропластах и выходу из состояния зимнего покоя (рисунок 20 Г). F_v/F_m для апрельской хвои составляет около 0,5 усл.ед.. Воздействие высокой температурой на побеги привело к значительному, достоверному снижению фотосинтетической активности с пробной площади п.п.5 для хвои как 1– так и 2–го года жизни, относительно значений полученных для контрольного участка. В условиях выхода из состояния покоя происходят значительные изменения в метаболизме клетки, таким образом растительный организм является наиболее уязвимым по отношению к неблагоприятным внешним условиям. Таким образом высокотемпературное воздействие привело к подавлению фотоассимиляции для древостоя находящегося в восстановительном периоде после пожара 2017 года.

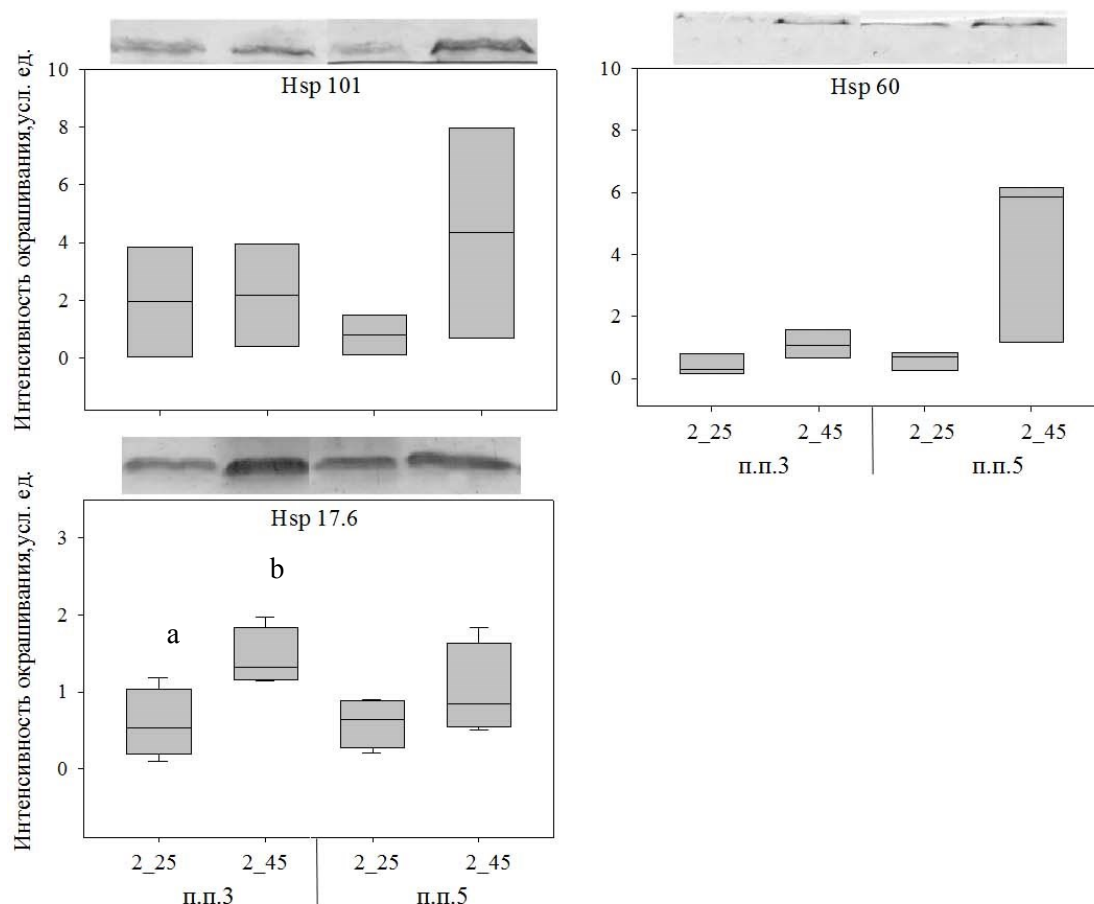
Полуколичественная оценка содержания белков теплового шока в хвое

В годовом цикле растительные организмы претерпевают значительные изменения абиотических условий среды, в результате чего происходят значительные физиологические и биохимические изменения в клетке, что позволяет чередовать активный рост и периоды покоя в зависимости от сезонных климатических колебаний.

На рисунке 21 представлена денситометрическая оценка интенсивности окрашивания белковых пятен, полученных для образцов, отобранных в июне. Результаты представлены только для второго года жизни хвои, так как первый год не был сформирован. Высокотемпературное воздействие (45°C/1 часа) не привело к достоверным изменениям в содержании высокомолекулярных Hsp в хвое между п.п.3 и п.п.5. Гирс Г.И. (1982) проводя наблюдения за сезонными изменениями первичной теплоустойчивости фотосинтеза годичной хвои подростов сосны, показали, что фотосинтетическая функция наиболее устойчива к высоким температурам именно в фазе летней вегетации, когда хвоя естественно адаптирована к повышенным температурам воздуха. Таким образом, прогрев побегов не привел к значительному синтезу высокомолекулярных белков, относительно исходного уровня, до стрессирования. Как отмечалось ранее, белки семейства Hsp 100 имеют значение для развития термоустойчивости растений, ввиду чего их содержание после теплового стресса, в летний период, существенно не изменилось. Результаты, полученные по низкомолекулярному белку, имеют достоверное отличие только для контрольной группы, до и после гипертермии, тогда как в хвое с п.п.5 не отмечено существенного увеличения в синтезе Hsp 17.6.

Опираясь на результаты, полученные по оценке фотосинтетической активности хвои для данного периода (рисунок 20 А) повышение содержания Hsp 17.6 в хвое происходит после достоверного снижения фотосинтетической активности относительно исходного уровня в контроле, после теплового стресса. Это может свидетельствовать о том, что smHsp имеют важное значение для

восстановления активности фотосинтетического аппарата хвои, помимо этого уже было отмечено, что накопление smHsp способствовало восстановлению электронного транспорта после нагревания в хлоропластах томата (Heckathorn et al., 1998).



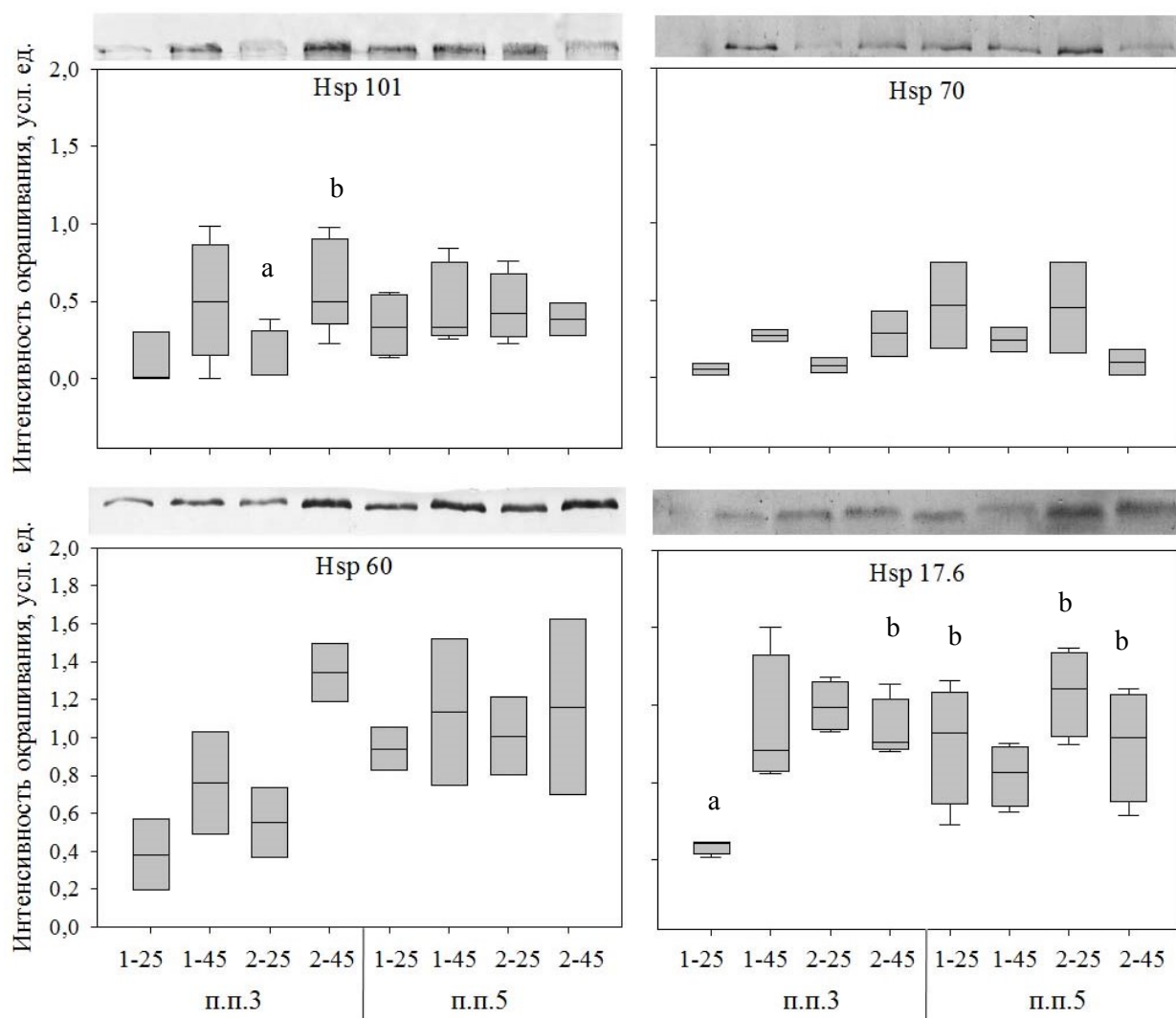
Над диаграммами – изображения типичных мембран после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp 101 $n = 3$, Hsp 60 $n = 3$, Hsp 17.6 $n = 4$. Для оценки значимости различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни (Sigma Plot 12.0). Латинские буквы означают значимые различия при $p \leq 0.05$.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги 45°C/1 час; п.п.3 – контрольная площадь, п.п.5 – площадь после пожара слабой силы 2017 года

Рисунок 21 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое сосны обыкновенной в постпирогенный период после пожара 2017 года, период измерения

Результаты по содержанию Hsp в хвое сосны обыкновенной отобранной в ноябре представлены на рисунке 22. По литературным источникам (Pakharkova et.al., 2016; Суворова, 2009) в климатических условиях Сибири продуктивность фотосинтеза и скорость метаболических процессов значительно снижается в осенний период, начиная с 1 сентября до перехода в состояние покоя в конце октября – первой декаде ноября. Снижение темпов физиологической активности обусловлено понижением температуры воздуха и охлаждением почвенного слоя. В нашем исследовании хвоя была отобрана 18 ноября. По представленному графику (рисунок 19) видно, что отрицательные температуры первой недели ноября (в среднем -5°C), резко сменяются снижением до -25°C , характерные для зимнего периода. Исходный уровень фотохимической активности ассимиляционного аппарата хвои в первый день сбора (рисунок 20 Б) сопоставим со значениями, полученными в зимний период (декабрь) (рисунок 20 В). Можно предположить, что исследуемые деревья к моменту отбора растительного материала находились в состоянии зимнего покоя. В связи с чем, полученные результаты по оценке содержания белков теплового шока будут иметь схожий характер. Для Hsp 101 повторное стрессирование стимулировало небольшое увеличение в содержании белка для хвои с контрольной пробной площади. Для проб с постпирогенного участка как для хвои 1–го так и 2–го года жизни, стрессирование побегов не стимулировало индукцию синтеза белков. Аналогичные результаты представлены для декабря (рисунок 23).



Над диаграммами – изображения типичных мембран после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp 101 $n = 6$, Hsp 70 $n = 2$, Hsp 60 $n = 2$, Hsp 17.6 $n = 4$. Для оценки значимости различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни (Sigma Plot 12.0). Латинские буквы означают значимые различия при $p \leq 0.05$.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги $45^{\circ}\text{C}/1$ час; п.п.3 – контрольная площадь, п.п.5 – площадь после пожара слабой силы 2017 года

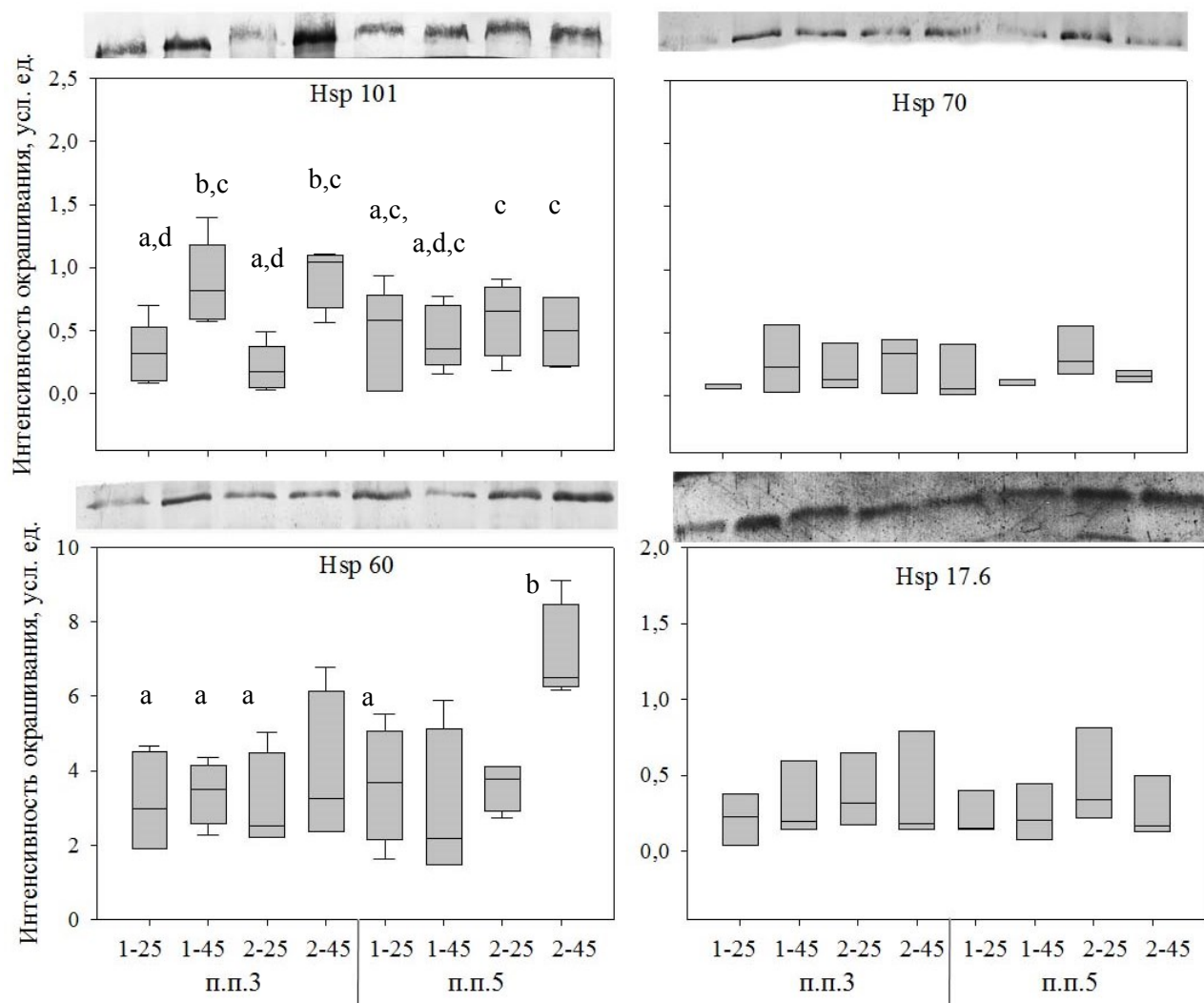
Рисунок 22 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое сосны обыкновенной в постпирогенный период после пожара 2017 года, период измерения ноябрь

На рисунке 23 представлена денситометрическая оценка интенсивности окрашивания белковых пятен, полученных для образцов, отобранных в декабре. Понижение среднесуточных температур воздуха, является одним из факторов, определяющих переход растительного организма в состояние зимнего покоя, со значительным снижением темпов фотосинтеза, о чём свидетельствуют данные представленные на рисунке 20 В. После суток акклиматизации в лабораторных условиях была проведена оценка полуколичественного содержания Hsp. Стрессирование побегов при 45°C в течении часа вызвало закономерное накопление Hsp 101 в хвое деревьев с контрольного участка. Для хвои с деревьев находящихся в восстановительном периоде после пожара 2017 года характерно, что после термической обработки содержание белка либо не значительно снижалось (хвоя 1 года жизни), либо оставалось на том же уровне (хвоя 2 года жизни), что статистически не является значимым. Так же можно отметить, что у двулетней хвои с п.п.5 (2–25), которая в момент выжигания подвергалась конвективному повреждению, содержание Hsp 101 до стрессирования достоверно выше, чем в хвое с контрольного древостоя (п.п.3). Помимо этого, данные полученные по фотосинтетической активности в этот период (рисунок 20 В), отражают устойчивость к термической обработке хвои в ответ на нагрев, и более плавному восстановлению параметра флуоресценции, по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о повышенной первичной термоустойчивости. В целом можно отметить, ответ на повторное стрессовое воздействие в виде синтеза белка Hsp 101 имеет схожий характер для 1 и 2 летней хвои на обоих участках.

Результаты по низкомолекулярному белку Hsp 17.6 не показывают значимых отличий внутри эксперимента, анализируя полученные графики, а так же представленную типичную окрашенную мембрану, видно, что содержание остается стабильным, и повторный нагрев не привел к дополнительной экспрессии генов этого белка.

К сожалению, из-за небольшого количества повторностей, нам не удалось получить достоверных отличий по Hsp 70, хотя по литературным источникам

белок данной группы накапливается преимущественно в холодное время года (Korotaeva et.al., 2012).



Над диаграммами – изображения типичных мембран после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

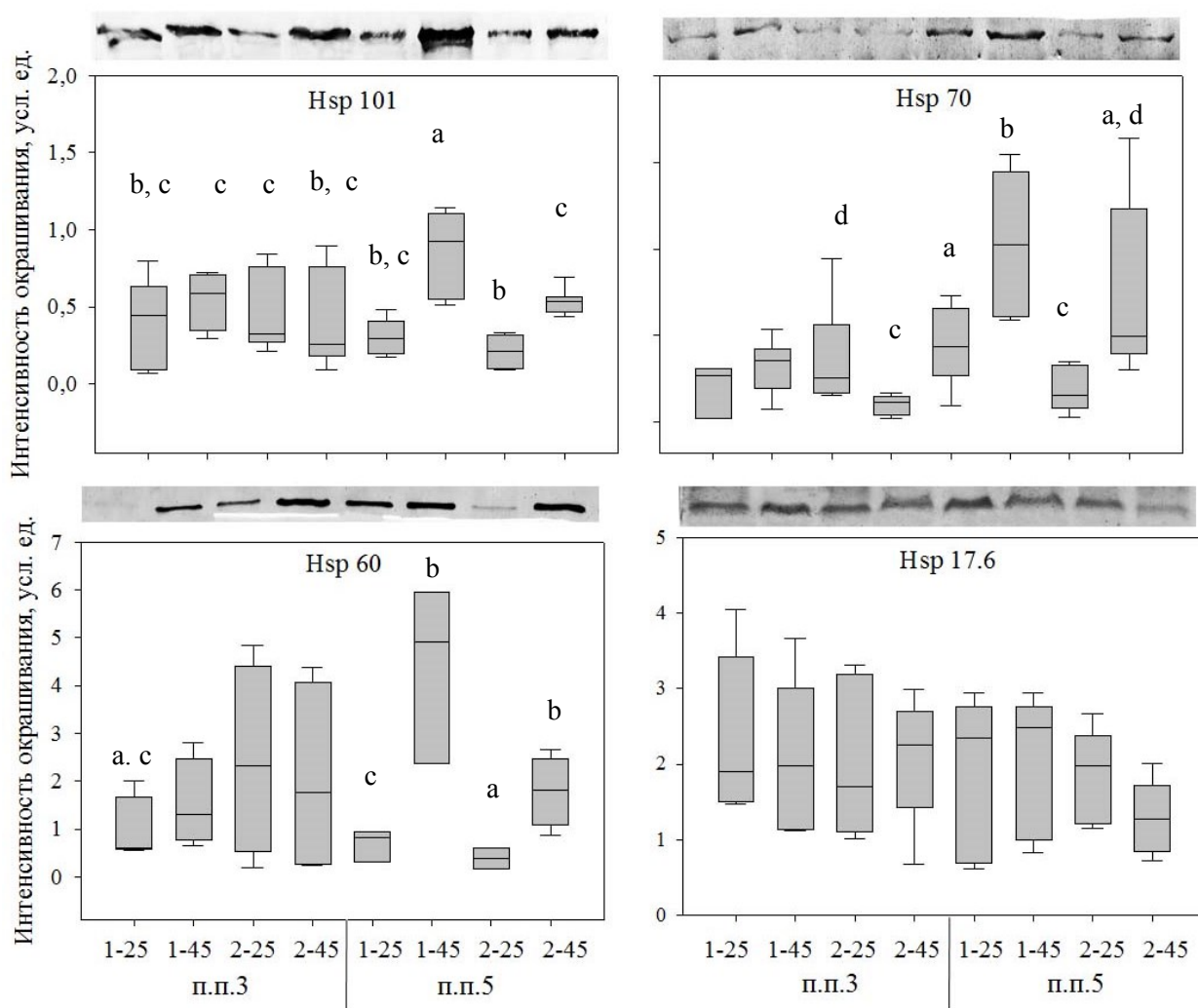
Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp 101 $n=6$, Hsp 70 $n=3$, Hsp 60 $n=4$, Hsp 17.6 $n=3$. Для оценки значимости различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни (Sigma Plot 12.0). Латинские буквы означают значимые различия при $p \leq 0.05$.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги $45^{\circ}\text{C}/1\text{ час}$; п.п.3 – контрольная площадь, п.п.5 – площадь после пожара слабой силы 2017 года

Рисунок 23 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое сосны обыкновенной в поспирогенный период после пожара 2017 года, период измерения декабрь

На рисунке 24 представлена денситометрическая оценка интенсивности окрашивания белковых пятен, полученных для образцов, отобранных в апреле. Положительные среднесуточные температуры апреля (рисунок 19 Г), показатель флуоресценции F_m/F_v равный 0,5 усл. ед (рисунок 20 Г), свидетельствуют о выходе сосны обыкновенной из состояния зимнего покоя. Обработка сублетальной температурой (45°C) побегов деревьев с контрольной пробной площади не привела к индцированию синтеза Hsp, можно отметить, что уровень фотосинтетической активности так же не был существенно снижен по сравнению с исходными показателями, зарегистрированными до обработки. Как видно из представленных графиков, достоверных отличий по содержанию высокомолекулярных Hsp 101 и 60 в контрольной группе нет. Кроме того, содержание Hsp 70 достоверно снижается в двулетней хвое. По результатам оценки параметра быстрой флуоресценции (рисунок 20 Г) для контрольных образцов после теплового стресса значения достоверно не снижаются по сравнению с исходным уровнем и отражают быстрые темпы восстановления фотосинтетической активности, в отличие от хвои с древостоя произрастающего на п.п.5.

Противоположная реакция по содержанию Hsp отмечена для участка после пожара слабой силы 2017 года (п.п.5). Достоверное увеличение отмечено для всех исследуемых высокомолекулярных белков. По данным таблицы 8, состояние древостоя с п.п.5 характеризуется слабой степенью ослабления и может испытывать большую необходимость в регуляторах биохимических процессов метаболизма, по сравнению с древостоем не подверженному огневому воздействию. Таким образом, высокотемпературный стресс приводит к индцированию синтеза специфических белков и характеризуется усиленными темпами их накопления в годовой перспективе восстановления в поспирогенный период.



Над диаграммами – изображения типичных мембран после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp 101 $n = 7$, Hsp 70 $n = 7$, Hsp 60 $n = 5$, Hsp 17.6 $n = 5$. Для оценки значимости различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни (Sigma Plot 12.0).

Латинские буквы означают значимые различия при $p \leq 0.05$.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги $45^\circ\text{C}/1\text{ час}$; п.п.3 – контрольная площадь, п.п.5 – площадь после пожара слабой силы 2017 года

Рисунок 24 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое сосны обыкновенной после пожара 2017 года, период измерения апрель

Так же, стоит отметить, что содержание перечисленных белков и амплитуда их изменения в ответ на повторное стрессирование были выше у однолетней хвои по сравнению с двухлетней. Подобного рода ответ был получен и при исследовании долгосрочных последствий пожара средней силы 2014 года (п.п.4), когда анализировалась 1 и 3 летняя хвоя (рисунок 27), результаты данного эксперимента описаны ниже. В обоих случаях, однолетняя хвоя в случае исследования поспирогенных особенностей метаболизма древостоя после выжигания 2014 года, или двухлетняя хвоя в данном эксперименте, не подвергались прямому воздействию огневого воздействия, а сформировались после него. Одинаковая ответная реакция свидетельствует об общем изменении физиологического статуса древесного организма на уровне функциональной единицы ассимиляционного аппарата.

Вывод по результатам. При экспозиции побегов в лабораторных условиях и ежедневной фиксации флуорисцентных параметров, отмечено, что хвоя с пробной площади после пожара 2017 года (п.п.5) имеет более низкие темпы восстановления фотосинтепической активности, как в период покоя (ноябрь, декабрь) так и в период выхода из состояния зимнего покоя (апрель), что указывает на изменения в метаболических процессах растительного организма. Значения параметра, полученные для 1 года хвои, сформировавшейся в условиях восстановления, показывают аналогичный отклик на стрессирование. Таким образом, это может указывать на наличие общего ответа дерева.

В послепожарной хвое сосны обыкновенной происходят изменения содержания стрессовых белков и динамики накопления стрессовых белков в ответ на повторный нагрев. Изменения в содержании стрессовых белков хвои маркируют глубокие физиологические изменения у сосны обыкновенной, которые произошли в результате пожара и сохраняются на протяжении не менее года, что говорит в пользу существования длительных последствий пожара для протеомных защитных механизмов.

5.3.3 Долгосрочные последствия пожара в зависимости от силы пожара, длительности послепожарного периода и возраста хвои

Во время огневого воздействия деревья (крона, ствол, поверхностные корни) подвергаются интенсивному нагреву непосредственно при горении. Но подобного рода высокотемпературное воздействие, как отмечено выше, характеризуется коротким интервалом действия. Исследователями неоднократно отмечалось, что лесные пожары воздействуют на древостой так же опосредованно в течении длительного времени после него, через изменённые условия среды, называемые «постпирогенный период», в который исследователя отмечают изменения в физиологических параметрах (Судачкова и др., 2016; Fleck et.al., 1996). Ряд авторов отмечает наличие компенсационных эффектов в послепожарный период, как на морфологическом уровне, так и на физиолого–биохимическом (Судачкова и др., 2015). Однако остается открытым вопрос об особенностях восстановления метаболизма древостоя, а так же о продолжительности сохранения акклимационных эффектов, имеющих важное практическое значение. Таким образом, одна из задач работы была направлена на оценку влияния длительности восстановительного периода на исходное содержание белков в хвое и интенсивность их синтеза в ответ на повторное действие стрессового фактора.

Исследования проводились на участках с чистыми насаждениями сосны обыкновенной п.п.2, п.п.4, п.п.7. Участок п.п.2 представлен древостоем сосны обыкновенной находящегося в восстановительном периоде после пожара слабой силы 2014 года, п.п.4 –участок после пожара средней силы. На третьем участке п.п.7 низовой пожар средней силы был зафиксирован в мае 2011 г. Для сравнения были подобраны контрольные площади (п.п.1, п.п.3, п.п.6 соответственно) с аналогичными климатическими и эдафическими условиями, при этом древостой ранее не был затронут низовым пожаром. На контрольных и экспериментальных пробных площадях случайным образом было выбрано по пять модельных деревьев со средними лесотаксационными параметрами, сохранивших

жизнеспособность, без видимых повреждений насекомыми–ксилофагами, суховершинностей и т.п. Сбор побегов осуществлялся в апреле 2017 г. со всех перечисленных пробных площадей, т.е. через 3 (для п.п.2 и п.п.4) и 6 лет (для п.п. 7) после пожара. Среднесуточные температуры предшествующие отбору образцов представлены на рисунке 25. Среднесуточная температура составила $-3,3^{\circ}\text{C}$. Амплитуда колебания температур была в пределах от -11°C до 8°C .

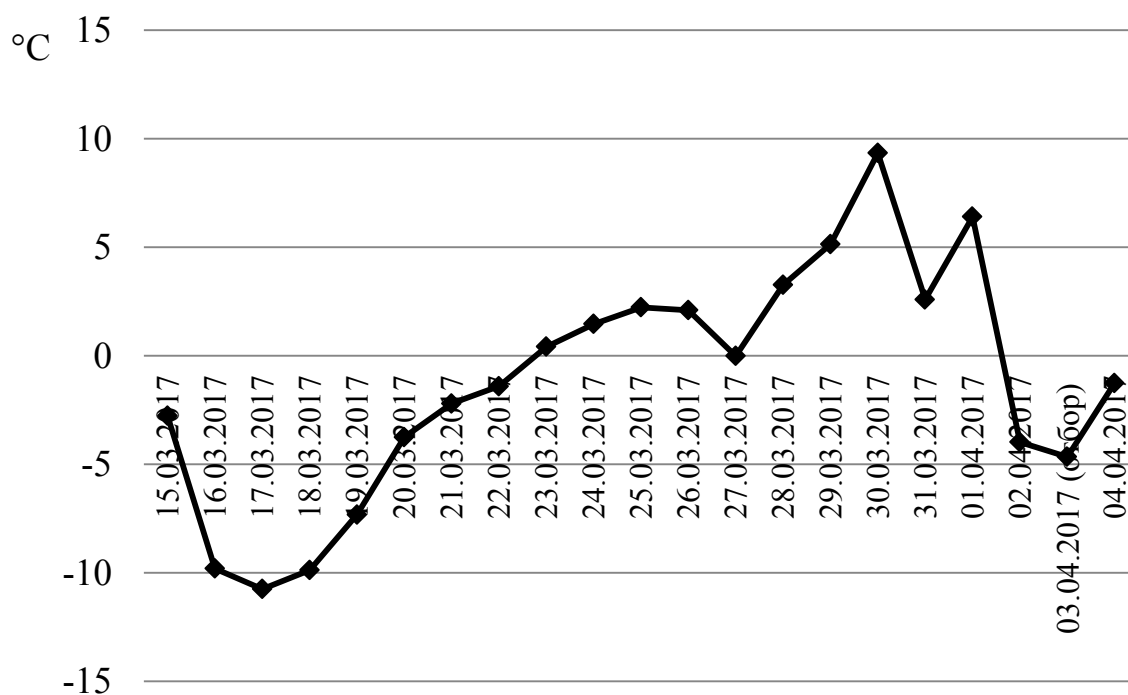


Рисунок 25 – Среднесуточные температуры воздуха за две недели до отбора образцов на исследования Hsp, отбор растительного материала 03.04.2017 года (представлены среднесуточные по данным метеостанции «Сухобузимо»)

С пробной площади 4 отбор образцов осуществлялся так же 18 апреля 2022 года, спустя 8 лет после пожара. Среднесуточные температуры предшествующие отбору образцов представлены на рисунке 26. Среднесуточная температура до отбора образцов составила 3.9°C , амплитуда колебания температур была в пределах от -3°C до 13°C .

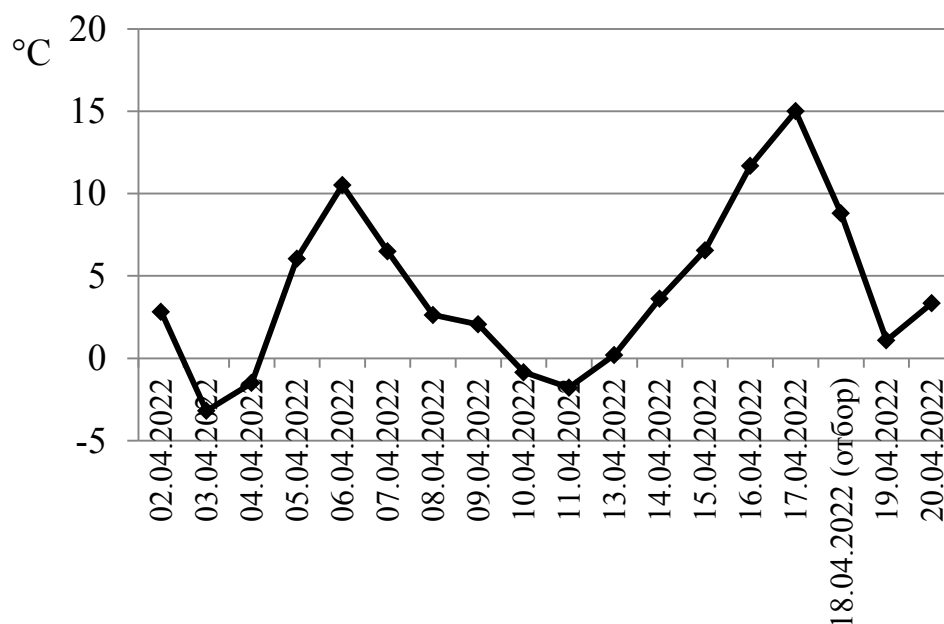


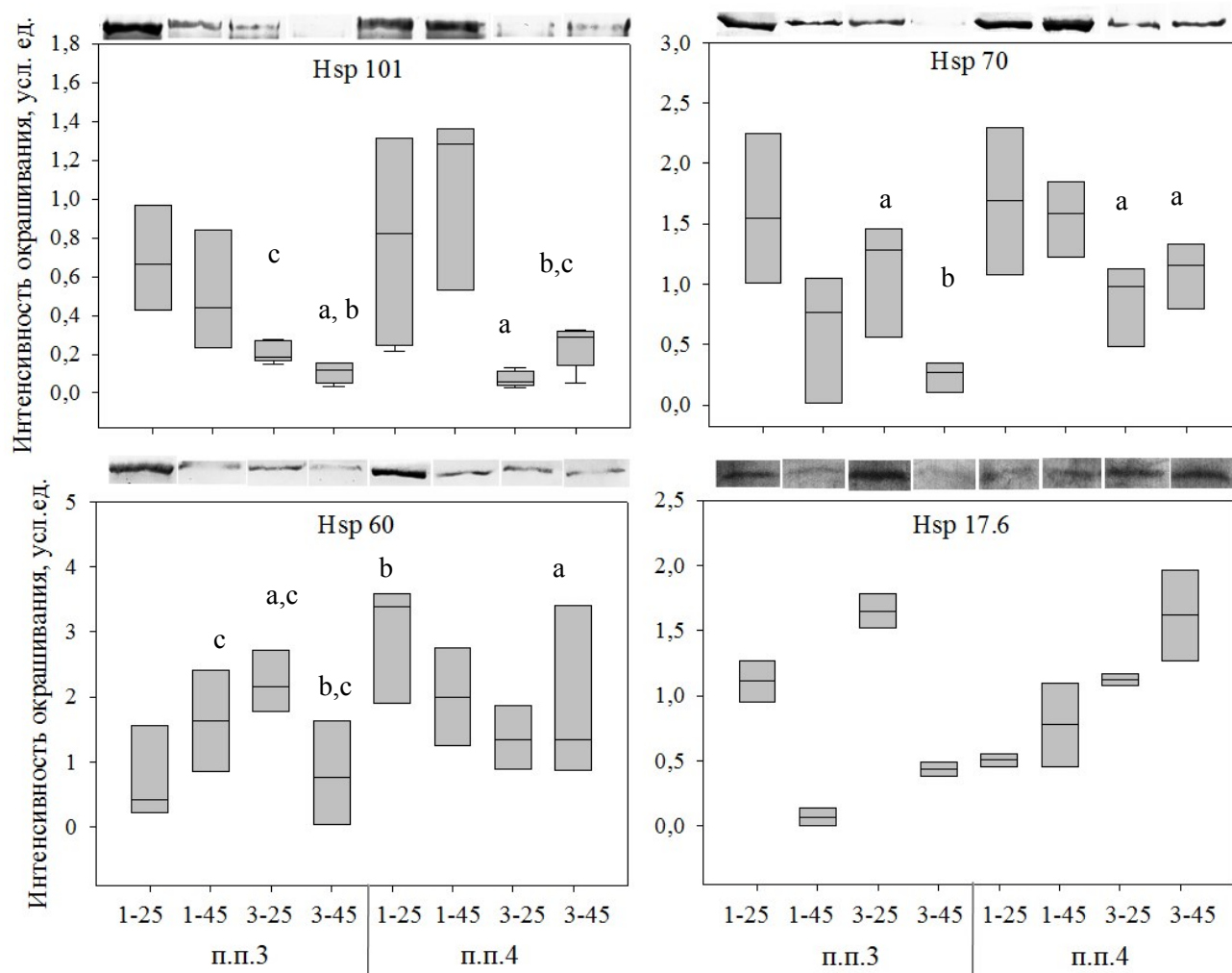
Рисунок 26 – Среднесуточные температуры воздуха за две недели до отбора образцов на исследования Hsp, отбор растительного материала 18.04.2022 года (представлены среднесуточные по данным метеостанции «Сухобузимо»)

Для установления различия в начальном содержании белков, а так же в темпах его синтеза для хвои, сформированной после пожаров 2011 и 2014 гг, был применен прием повторного теплового стрессирования побегов, описание приведено в методах.

На рисунке 27 представлены данные по содержанию Hsp в хвое 1 и 3 года жизни для образцов, отобранных с площади п.п.4 в апреле 2017 года, т.е. в период трехлетнего восстановления. При этом однолетняя хвоя сформирована в восстановительном периоде, т.е. не испытывала влияние высоких температур при пожаре 2014 года.

Содержание Hsp 101, Hsp 70 и Hsp 17.6 в хвое с древостоя находящегося в постпирогенном периоде после пожара средней силы 2014 года было ниже по сравнению с контрольным (рисунок 27), что может быть признаком ослабления жизнеспособности. Общее ослабление деревьев после пожара могло быть вызвано повреждением проводящей ткани во время горения (Michaletz, 2018). Другие данные литературы, говорят в пользу накопления в деревьях после пожара

активных форм кислорода, которые вызывают разнообразные повреждения и также способствуют ослаблению организма (Судачкова и др., 2016, 2017).



Над диаграммами – изображения типичных мембран после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp101 n= 4, Hsp70 n=3, Hsp 60 n=3, Hsp 17,6 n= 3. Для оценки значимости различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни (Sigma plot 12.0.).

Латинские буквы означают значимые различия при $p \leq 0.05$.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги 45°C/1 час; п.п.3 – контрольная площадь, п.п.4 – площадь после пожара средней силы 2014 г

Рисунок 27 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое сосны обыкновенной после пожара 2014 года

Тепловой стресс хвои (при 45°C) вызывал изменения в накоплении стрессовых белков как в образцах с контрольного (п.п.3), так и с экспериментального (п.п.4) (Рисунок 27). Однако, эти изменения происходили по-разному у хвои с различных участков. После повторного нагревания содержание Hsp в контрольной хвое снижается. Такие изменения касались как хвои 1-го, так и хвои 3-го года. Можно предположить, что подобного рода снижение содержания Hsp у контрольных хвойных деревьев после тестового стресса может зависеть от периода отбора проб, поскольку содержание стрессовых белков зависит от того, находится ли зимующее растение в состоянии зимнего покоя. На рисунке 25, видно, что до отбора растительного материала, около одной недели держались положительные температуры, достигающие +10 °C. Рост среднесуточных температур весной, является одним из факторов, который приводит к снижению холодоустойчивости многолетнего растения и его выходу из состояния покоя и может изменять экспрессию генов Hsp (Welling, Palva 2006). На территории Восточной Сибири весной более важным фактором, способствующим выходу растений из периода покоя, является именно повышение среднесуточных температур, но не солнечная радиация, так как увеличение продолжительности светового дня опережает повышение температуры воздуха (Ensminger et al. 2008). Во время выхода из периода покоя происходит раззакаливание растений и их подготовка к активной вегетации (Welling, Palva 2006), при этом уровень накопления «зимних» стрессовых белков Hsp 101 и Hsp 70 понижен по сравнению с холодными месяцами и в дальнейшем он будет продолжать снижаться (Korotaeva et al 2012). Так как хвоя для исследования была собрана в апреле, она находилась на стадии деакклимации (раззакаливания). Возможно, в этом случае нагрев во время тестового стресса имитировал быстрый переход к летним условиям активной вегетации и ускорение процесса деакклимации (раззакаливания), что привело к снижению содержания стрессовых белков.

Тепловой стресс хвои с древостоя пробной площади п.п.4 в большинстве случаев либо не приводило к изменению содержания стрессовых белков

(например, оставалось тем же содержание Hsp 70 в хвое 1 года, содержание Hsp 17.6 в хвое 1 и 3 года), либо происходил рост их содержания (Hsp 101 в хвое 1 и 3 года; Hsp 70 в хвое 3 года). Такая особенность не касалась только Hsp 60: содержание этого белка после теплового стресса сокращалось как в хвое с контрольного (п.п.3), так и с п.п.4 участков. Содержание Hsp 60 в меньшей степени подвергается сезонной регуляции по сравнению с другими Hsp, остается более постоянным на протяжении всего периода вегетации и в меньшей степени зависит от влияния сезона года (Korotaeva et. al., 2012). Это косвенно подтверждает предположение о том, что воздействие пожаром может влиять на факторы, которые отвечают за сезонную регуляцию содержания Hsp у сосны.

У 13–15–недельных побегов, подвергшихся тепловому стрессу в ходе лабораторного эксперимента, термостойкость восстанавливается по сравнению с контрольными побегами через три недели после воздействия (Colombo, Timmer 1992; Teskey et. al., 2015). В нашем исследовании влияние пожара на взрослые деревья сохранялось в естественной среде почти 3 года. Другие исследования также наблюдали длительные эффекты после пожаров в течении нескольких лет (Гирс, 1982; Sparks et. al., 2018).

Во время пожара 2014 года (п.п.4), прямое действие высоких температур испытывала хвоя 3–го года, а хвоя 1–го года сформировалась в постпирогенный период. Однако, характер изменения содержания Hsp в ответ на тестовую нагрузку был одинаковым у хвои первого и третьего года жизни (рисунок 27). Этот факт подтверждает долгосрочное влияние пожара, которое распространяется на все растение, независимо от того, испытывали ли отдельные органы растения на себе воздействие пожаром. Содержание Hsp 101, Hsp 60, Hsp 17.6 и амплитуда их изменения в ответ на тестовый стресс были выше у однолетней хвои по сравнению с третьими годами. Эта особенность может быть связана с более интенсивным обменом веществ (метаболизмом) в более молодых органах по сравнению со старыми. Известно, что хвоя сосны первого года (в отличие от хвои второго года) в весенний период содержит больше азота, аминокислот и низкомолекулярных углеводов; в нем более высокая концентрация хлорофиллов а

и в (Судачкова и др., 2012). Чем моложе хвоя, тем она более чувствительна к воздействию высокой температуры (Гирс, 1982). Так, для усыхания хвои 2 года в разные периоды вегетации требовалась температура воздействия на 4–10°C выше, чем для хвои 1 года (Гирс, 1982); в хвое 1 года происходило большее снижение содержания хлорофиллов и белкового азота по сравнению с хвоей 2 года при одинаковом уровне засухи (Судачкова и др., 2012). Таким образом, степень ответной реакции хвои на тепловой стресс зависит от их возраста.

Тепловой стресс хвои с деревьев, находящихся в восстановительном периоде на участке п.п.4, привело к более значительному накоплению Hsp 70, Hsp 60 и Hsp 17.6 в послепожарной хвое по сравнению с контрольной (рисунок 27), что согласуется с представлением о положительном действии пожара средней силы на устойчивость (Fire in Ecosystems of Boreal Eurasia, 1996; Шешуков и др., 1992; Fernandez–Garcia et.al. 2019). Показано, что деревья рода сосна, наряду с лиственницами, в большинстве сообществ более пожароустойчивы, чем остальные хвойные. К числу морфологических приспособлений, способствующих переживанию пожаров, относятся приподнятая крона, утолщённая кора в нижней части ствола, глубокая корневая система, так же обильное выделение смолы в ответ на рост температуры окружающей среды (Гирс, 1982; Матвеев А.М, Матвеев П.М., 2006). Кроме того, область произрастания сосны обыкновенной часто характеризуется тёплыми и засушливыми условиями (Шиманюк, 1974), что делает ее более приспособленной к высоким температурам и потере влаги. Вероятно, лучшая приспособленность сосны к засушливому и жаркому климату способствует успешному преодолению последствий пожара, и реакция накопления стрессовых белков в послепожарный период является одним из факторов восстановления.

Результаты, полученные по оценке полуколичественного содержания белков теплового шока после пожара слабой силы 2017 года (рисунок 24) (п.п.5), отражают динамику отклика в ответ на повторное стрессирование побегов, подобно результатам, полученным для участка с древостоем после пожара средней силы 2014 года (п.п.4) (рисунок 27). Аналогичный отклик для хвои

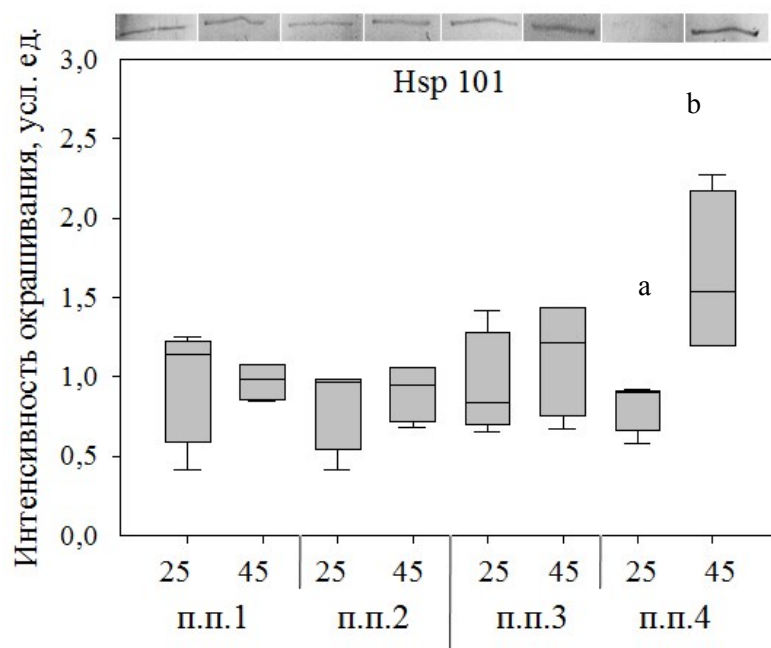
разного возраста, отобранной с различных пробных площадей, в апрельский период измерения, свидетельствует о сопоставимости полученных результатов.

В таблице 9 приведены результаты оценки жизненного состояния древостоя после пожаров. Показатель, отражающий степень ослабления древостоя, отражает более сильное угнетение состояния древостоя после пожара средней силы 2014 года по сравнению с пожаром слабой силы того же года. По времени воздействия, пожары, как правило, приходятся на начало, середину или конец вегетационного периода. Весной из-за слабого пробуждения и осенью ввиду затухания биологических процессов пожары оказывают слабое воздействие на деревья. Летние пожары, приходящиеся на этап активного роста, оказывают наиболее сильное воздействие. Горение летом оказывается более устойчивым и интенсивным из-за хорошо просохших лесных горючих материалов, сухой и теплой почвы. Экспериментальный пожар 2014 года, проведенный в середине лета, существенно ослабил насаждение по сравнению с естественным пожаром того же года, которое прошел в апреле, при этом усохло 36% деревьев. Пожары весны и конца лета оказали более слабое воздействие на древостой, хотя произошло усыхание угнетенных или сильно поврежденных деревьев, но не более 17%. Насаждение, пройденное естественным пожаром, к настоящему моменту восстановилось после огневого воздействия.

Рисунок 28 демонстрирует влияние теплового стресса на содержание Hsp 101 в двухлетней хвое после пожаров 2014 года отличающихся по своей силе воздействия на древостой.

Достоверное увеличение в накоплении Hsp 101 после теплового стресса произошло в хвое с участка п.п.4. Для хвои с участка п.п.2 увеличение содержания Hsp 101 не было значительным. Интенсивность пожаров, а следовательно и степень их воздействия на древостой отличались. Так, сезон года, когда произошли пожары (естественный пожар в апреле 2014 и экспериментальный пожар в августе 2014). Наиболее сильное влияние оказывают летние пожары на стадии активного роста. Так же характеристика древостоя по оценке жизненного состояния через 3 года после пожаров: средневзвешенное

состояние (ОЖС) 80% для п.п.2 и 36% для п.п.4 (таблица 9). Возможно, сила воздействия повлияла на динамику содержания Hsp 101 после последующего термического воздействия. Многочисленные указания на то, что пожар действует на деревья дозозависимо, есть в литературе (Smith et al. 2016; Sparks et al. 2017; Судачкова и др., 2017; Steady et al., 2019).



Над диаграммой – изображение типичной мембраны после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. $n=4$. Для оценки значимости различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни (Sigma plot 12.0.). Латинские буквы означают значимые различия при $p \leq 0.05$.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги 45°C/1 час; п.п.1 – контрольная площадь к п.п.2 – площадь после пожара слабой силы 2014 года; п.п.3 – контрольная площадь к п.п.4 – площадь после пожара средней силы 2014 года

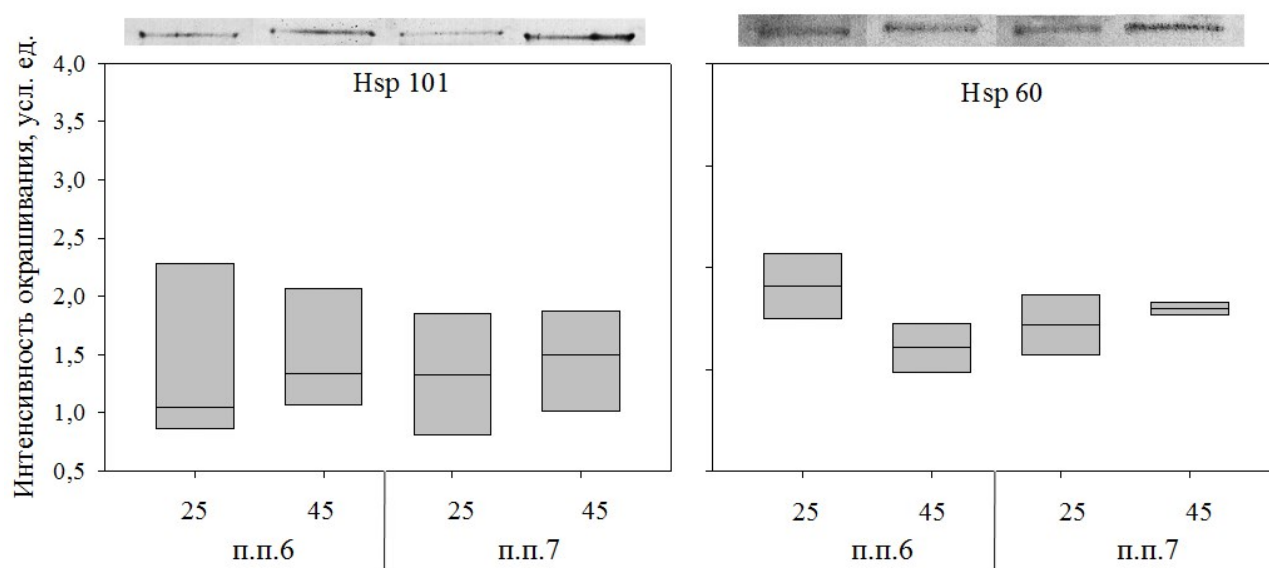
Рисунок 28 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое 2 года жизни сосны обыкновенной после пожаров 2014 года

Известно, что уровень экспрессии генов Hsp и накопления этих белков коррелирует с интенсивностью воздействия (Nieto–Sotelo et. al., 2002; Guan et. al., 2004; Zhang et. al., 2015; Song et. al., 2019). Ранее уже были получены данные о том, что сила пожара дозозависимо влияет на радиальный рост ствола (Sparks et. al., 2017), выживаемость, высоту побегов и толщину корневой шейки (Steady et. al., 2019), способность к фиксации углерода (Smith et. al., 2016). Sparks et. al. (2023) использовал подход «доза–реакция» при оценке влияния пожаров различной интенсивности на древостой сосны белой западной (*Pinus monticola* var. *minima* Lemmon) и пихты Дугласова (*Pseudotsuga menziesii* Mirb.) на скорость фотосинтеза и флуоресценцию хлорофилла в краткосрочном периоде. Результаты показали, что физиологические характеристики как *P. monticola*, так и *P. menziesii* снижались с увеличением интенсивности пожара, однако *P. monticola* сохраняла более высокую скорость фотосинтеза и более высокую флуоресценцию хлорофилла при более высоких дозах и в течение более длительного времени после пожара.

Появление признаков окислительного стресса в хвое сосны обыкновенной после нагревания также имеет дозозависимый характер (Судачкова и др., 2017). В данном исследовании изменения в физиологических процессах оказываются связанными с интенсивностью горения даже через 3 года после него. Похожим образом дозозависимое влияние огневого воздействия на рост саженцев проявлялось в течение нескольких месяцев после проведения обработки огнем (Steady et al., 2019). Таким образом, накопление Hsp является еще одной физиологической характеристикой, дозозависимый характер которой проявляется через продолжительное время после пожара. Для однозначного утверждения, что сила пожара дозозависимо действует на последующее накопление Hsps (после теплового стресса), данных недостаточно, это может быть предметом дальнейших исследований.

Для установления наличия и сохранности метаболических изменений на уровне протеома клетки в хвое с древостоев находящихся в восстановительном периоде после пожаров на выделенных пробных площадях, были отобраны

растительные образцы. На п.п.4 отбор проб и анализ содержания стрессовых белков проведен в апреле 2022 года, т.е. спустя 8 лет после пожара средней силы. На площади, на которой был отмечен естественный низовой пожар средней силы 2011 года (п.п.7) – оценку содержания проводили в 2017 году, т.е. спустя 6 лет, и соседних контрольных участках. Полученные результаты по содержанию стрессовых белков представлены на рисунках 29, 30. При анализе использовалась хвоя 2 года жизни, которая сформирована в постпирогенных условиях.

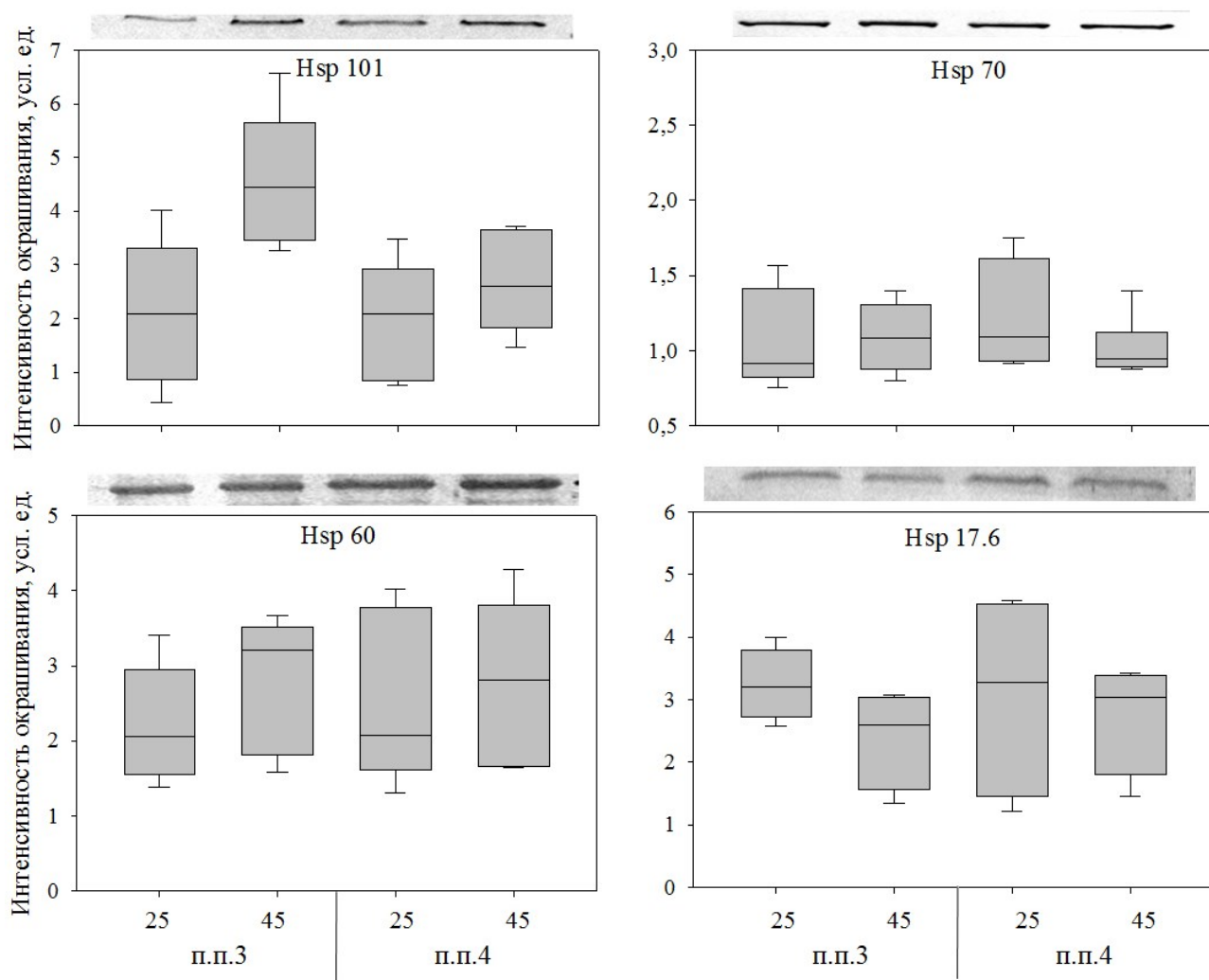


Над диаграммами – изображения типичных мембран после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp 101 n=4, Hsp 60 n=3.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги 45°C/1 час; п.п.6 – контрольная площадь, п.п.7 – площадь после пожара средней силы 2011 года

Рисунок 29 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое 2 года жизни сосны обыкновенной после пожара 2011 года



Над диаграммами – изображения типичных мембран после визуализации антител, столбцами представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен

Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах. На рисунке показаны квартили [25%; 75%] и медиана. Hsp 101 n=6, Hsp 70 n=5, Hsp 60 n=5, Hsp 17,6 n=4.

25 – измерение с побегов при комнатной температуре; 45 – тепловое воздействие на побеги 45°C/1 час; п.п.3 – контрольная площадь, п.п.4 – площадь после пожара средней силы 2014 года

Рисунок 30 – Влияние теплового стрессирования на накопление Hsp в хвое 2 года жизни сосны обыкновенной после пожара 2014 года

Как видно из результатов представленных на рисунке 29, 30, отражающих интенсивность окрашивания белкового пятна, достоверных различий в

содержании белков не отмечено на обоих пробных площадях. Таким образом, не выявлено наличия акклимационного эффекта, физиологического отклика спустя 6–8 лет после пожаров средней интенсивности 2011 и 2014 гг.

Вывод по результатам: Можно заключить, что у хвои деревьев сосны обыкновенной, испытавших действие пожара, происходят изменения в содержании стрессовых белков и в динамике стрессового ответа на повторное нагревание. Результаты указывают на наличие системного ответа дерева в ответ на повышение температуры при прохождении низового пожара. Наблюдаемые отличия между хвоей с контрольного и с экспериментального участков позволяют предположить, что такое воздействие является значимым стресс–фактором не только для хвои, которая в момент пожара присутствует на дереве (в виде хвои или закладывающейся почки). Оно также может продолжать действовать на уровне всего древесного организма в восстановительном периоде в виде адаптационного фактора, который активизируется после повторного нагревания. Сохранение акклимационного эффекта не отмечено через 6–8 лет после воздействия пожара на древостой.

ВЫВОДЫ

1. Различия в теплоустойчивости фотосинтеза хвои сосны обыкновенной, выявленные на основании анализа параметров флуоресценции хлорофилла хвои, свидетельствуют о модификации физиологических процессов в растениях после влияния пирогенного фактора, формирующих положительный акклимационный эффект.

2. После прохождения низового пожара слабой силы, были выявлены признаки стрессового состояния древостоя в виде накопления Hsp в краткосрочном послепожарном периоде. Содержание стрессовых белков Hsp 101 и Hsp 17,6 значимо не отличалось от контрольного уровня через 30 минут и на 5–е сутки после пожара и достигало максимальных значений на 2–е сутки, при этом оно в –5,5 и 3,5 раза соответственно, превышало контрольные значения. Подобного рода синтез специфических Hsp по–видимому обусловлен их участием в восстановлении растительной клетки.

3. Низовой пожар приводит к изменению в накоплении Hsp в ответ на повторный тепловой стресс. Термическая обработка приводит к увеличению содержания Hsp 101 и Hsp 70 в хвое с древостоя, находящегося в постпирогенном периоде, тогда как в контроле происходит снижение набора Hsp, либо изменений в содержании не происходит.

4. Параметры фотосинтетической активности и протеомные факторы устойчивости в виде содержания Hsp в ответ на повторное влияние стрессового фактора, имеют схожую динамику для хвои, которая в момент пожара присутствует на дереве, а так же сформировавшаяся после, что отражает наличие общего ответа растительного организма.

5. Продолжительность сохранения акклимационного эффекта, по флуоресцентным показателям составляет не менее 1 года после воздействия низового пожара слабой и средней силы на древостой. Изменения в накоплении белков теплового шока в хвое и динамики стрессового ответа на повторное

нагревание, сохраняются не менее 3 лет после воздействия низового пожара средней силы на древостой, по сравнению с контролем.

6. Низовой пожар вызывает изменения в накоплении белков теплового шока в хвое сосны обыкновенной в кратко– и долгосрочном периоде и в динамике их накопления после повторного нагрева, что свидетельствует о влиянии пожара на протеомные факторы устойчивости вида.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аброскина, А. К. Составление карт природной пожарной опасности по материалам лесоустройства/ А. К. Аброскина, А. В. Волокитина, М. А. Корец // Вестник КрасГАУ. – 2012. – № 7. – С. 60–64.
2. Абаимов, А.П. Эколого–фитоценотическая оценка воздействия пожаров на леса криолитозоны/ А.П. Абаимов, С.Г. Прокушкин, О.А. Зырянова// Сибирский экологический журнал. – 1996. – №1. – С. 51–60.
3. Агроклиматический справочник по Красноярскому краю и Тувинской АО. - Л.: Гидрометеиздат, 1961. – 268 с.
4. Алексеев, В.А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев/ В.А. Алексеев // Лесоведение.– 1989. – № 4. – С. 51–57.
5. Алиева, М.Ю. Изучение параметров флуоресценции хлорофилла древесных растений в условиях различной транспортной нагрузки / М.Ю. Алиева, А.Т. Мамаев, М.Х.–М. Магомедова, Е. В. Пиняскина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – №1–3. – С. 701–704.
6. Алехина, Н.Д. Физиология растений: учеб. / Н.Д. Алехина, Ю.В. Балнокин, В.Ф. Гавриленко. – М.: «Академия», 2005. – 640 с.
7. Антипова, Е.М. Леса северных лесостепей Южной Сибири / Е.М. Антипова // География и природ, ресурсы. – 2006. – № 1 – С. 70–75.
8. Балбышев, И.Н. Сравнительная пожароустойчивость древесных пород таежной зоны / И.Н. Балбышев // Лесные пожары и борьба с ними: сб. ст. - М.: Изд-во АН СССР. - 1963.- С. 114-127.
9. Барталев, С.А. Спутниковая оценка гибели древостоев от пожаров по данным о сезонном распределении пройденной огнем площади/ С.А. Барталев, Ф.В. Стыщенко // Лесоведение. – 2021. – №2. – С. 115–122.
10. Боболева, Э.Е. К характеристике почвенного покрова Погорельского стационара/ Э.Е. Боболева // Исследования в лесах Сибири. Красноярск: Ин–т леса и древесины СО АН СССР. – 1968. – Вып. 1. – С. 33–38.

11. Биохимические индикаторы стрессового состояния древесных растений: монография / Н.Е. Судачкова, И.В. Шеин, Л.И. Романова.- Новосибирск: Наука. – 1997. - 174 с.
12. Безкоровайная, И.Н. Пирогенная трансформация почв сосняков средней тайги Красноярского края/ И.Н. Безкоровайная, Г.А. Иванова, П.А. Тарасов, Н.Д. Сорокин, А.В. Богородская, В.А. Иванов, С.Г. Конард, Д.Д. Макрае // Сибирский экологический журнал. – 2005. – Т. 12. – №1. – С. 143–152.
13. Буйволов, Ю.А. Методика оценки жизненного состояния леса по сосне / Ю.А. Буйволов, М.В. Кравченко, А.С. Боголюбов. - М.: Экосистема. - 1998. 25 с.
14. Богатырев, Л.Г. О классификации лесных подстилок / Л.Г. Богатырев// Почвоведение. – 1990. – № 3. – С. 118–127.
15. Богородская, А.В. Послепожарная трансформация микробоценозов и комплексов беспозвоночных в почвах сосняков центральной Сибири/ А.В. Богородская, Е.Н. Краснощекова, И.Н. Безкоровайная, Г.А. Иванова //Сибирский экологический журнал. 2010. Т. 17. № 6. С. 893–901.
16. Бугаева, К.С. Структура и динамика лесной растительности Погорельского бора: Красноярская лесостепь: автореферат дис. канди. биол. наук: 03.00.16, 03.00.05 / К.С. Бугаева. – Ин-т леса им. В.Н. Сукачева СО РАН. – Красноярск, 2009. – 18 с.
17. Бугаева, К.С. Послепожарная динамика лесных насаждений в красноярской лесостепи/ К.С. Бугаева, П.А. Оскорбин // Лесоведение. – 2008. – № 4. – С. 28–33.
18. Бугаева, К.С. Типологическая структура лесов Погорельского Бора (Красноярская лесостепь)/ К.С. Бугаева //Лесоведение.– 2009.– №6.– С. 46–53.
19. Бугаков, П.С. Агрономическая характеристика почв земледельческой зоны Красноярского края: учеб. пособие / П.С. Бугаков, В.В. Чупрова – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет. - 1995. – 176 с.

20. Влияние низовых пожаров на формирование светлехвойных насаждений юга Средней Сибири: монография / Л. В. Буряк, А. Г. Лузганов, П. М. Матвеев, О. П. Каленская.- Красноярск: СибГТУ. - 2003. 195 с.
21. Влияние пожаров на формирование насаждений Нижнего Приангарья: монография / Л.В. Буряк, О.П. Каленская. – Пушкино: Всероссийский научно–исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства. – 2020.- 140 с.
22. Валендик, Э.Н. Ветер и лесной пожар. М.: Наука, 1968. - 118 с.
23. Валендик, Э.Н. Экологические аспекты лесных пожаров в Сибири / Э.Н. Валендик // Сибирский экологический журнал. – 1996. – №1. – С. 1–8.
24. Влияние низовых пожаров на устойчивость хвойных пород / Э. Н. Валендик, А. И. Сухинин, И. В. Косов. - Красноярск: Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН. - 2006. - 98 с.
25. Валендик, Э.Н. Влияние теплового излучения лесного пожара на окружающую среду/ Э.Н. Валендик, И.В. Косов //Сибирский экологический журнал. – 2008. – № 4. – С. 517–523.
26. Валендик, Э. Н. Лесные пожары в средней Сибири при аномальных погодных условиях / Э. Н. Валендик, Е. К. Кисляхов, В. А. Рыжкова, Е. И. Пономарев, Й. Г. Голдаммер // Сибирский лесной журнал.– 2014. – №3. – С. 43–52.
27. Валиуллина, Р.Н. Влияние повышенных температур и атмосферной засухи на экспрессию генов белков теплового шока в листьях яровой пшеницы/ Р.Н. Валиуллина, Л.П. Хохлова, Н. Э. Ионова, К. Форрайтер //Ученые записки казанского государственного университета, серия: естественные науки. – 2007. – Т.149. – № 2. – С. 84–93.
28. Верховец, С.В. Влияние контролируемых выжиганий на пожароопасность и лесовосстановление на сплошных вырубках: дисс. канд. с–х. наук: спец. 06.03.03/ С.В. Верховец - Красноярск: Сибирский гос. техн. университет, 2000. 200 с.

29. Воздействие пожаров на светлохвойные леса Нижнего Приангарья/ Иванова Г.А., Кукавская Е.А., Безкоровая И.Н. и др. – Новосибирск: Наука. - 2022. – 204 с.
30. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по фотосинтезу: учеб. пособие. / В. Ф. Гавриленко, Т. В. Жигалова М.: Академия. - 2003. 256 с.
31. Гаевский Н.А., Сорокина Г.А., Гехман А.В., Фомин С.А., Гольд В.М. Способ определения степени глубины покоя древесных растений. Авторское свидетельство № 1358843 от 15 августа 1987 г.
32. Гаевский, Н.А. Использование переменной и замедленной флуоресценции хлорофилла для изучения фотосинтеза растений/ Н.А. Гаевский, В.Н. Моргун // Физиология растений. –1993. – Т.40. – № 4. – С. 589 – 595.
33. Генкель, П.А. Физиология жаро– и засухоустойчивости растений/П.А. Генкель: М.. - 1982.- 280 с.
34. Гетте, И. Г. Влияние контролируемого выжигания на содержание стрессовых белков в хвое сосны обыкновенной в условиях Красноярской лесостепи/ И. Г. Гетте, Н. Е. Коротаева, И. В. Косов, Н. В. Пахарькова, Г. Б. Боровский // Лесоведение. – 2020. – № 3. – С. 195–204.
35. Гераськина, А.П. Пожары как фактор утраты биоразнообразия и функций лесных экосистем/ А.П. Гераськина, Д.Н. Тебенкова, Д.В. Ершов, Е.В. Ручинская, Н.В. Сибирцева, Н.В. Лукина // Вопросы лесной науки. –2021.– Т.4.– № 2.– С. 3–76.
36. Гирс, Г.И. Физиология ослабленного дерева / Г.И. Гирс.- Новосибирск: Наука, Сиб. отд–ние. - 1982. – 255 с.
37. Горшков, В.В. Повреждение деревьев сосны обыкновенной и древесного яруса сосновых лесов европейского севера в результате пожаров / В.В. Горшков, Н.И. Ставрова, В.Н. Тарасова // Лесоведение. – 2004. – № 5. – С. 10–19.
38. Григорьев, Ю. С. К вопросу о методике регистрации замедленной флуоресценции хлорофилла при биоиндикации загрязнения воздушной среды на хвойных/ Ю. С. Григорьев, Д. Н. Андреев // Естественные науки. – 2012. – № 2.– С. 36–39.

39. Григорьев Ю. С., Фурьев Е. А., Андреев А. А. Способ определения содержания фитотоксических веществ. Патент № 2069851 // Бюллетень изобретений от 27.11.1996 № 33.
40. Григорьев, Ю.С. Влияние техногенного загрязнения воздушной среды на состояние зимнего покоя сосны обыкновенной / Ю.С. Григорьев, Н.В. Пахарькова // Экология. – 2001. – № 6. – С. 471–473.
41. Гольцев, В. Н. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений / В. Н. Гольцев, М. Х. Каладжи, М. А. Кузманова, С. И. Аллахвердиев.- Ижевск.- М.: Институт компьютерных исследований. - 2014. – 220 с.
42. Дымов, А. А. Влияние пожара в северотаежном ельнике на органическое вещество почвы / А. А. Дымов, Ю. А. Дубровский, Д. Н. Габов, Е. В. Жангуров, Н. А. Низовцев // Лесоведение. – 2015. – № 1. – С. 52–62.
43. Евдокименко, М. Д. Пирогенная дигрессия светлохвойных лесов Забайкалья/ М. Д. Евдокименко // География и природные ресурсы.– 2008. – № 2.– С. 109–116.
44. Загирова, С.В. Структура ассимиляционного аппарата и CO_2 –газообмен у хвойных/ С.В. Загирова. - Екатеринбург: УрО РАН. - 1999.- 108 с.
45. Иванова, Г.А. Зонально–экологические особенности лесных пожаров в сосняках средней Сибири: автореферат на соискание степени доктора биол. наук, специальность: 06.03.03 / Г.А. Иванова. – Красноярск, 2006. – 44 с.
46. Иванова, Г.А. Воздействие пожаров на компоненты экосистемы среднетаежных сосняков Сибири / Г.А. Иванова, С.Г. Конард, Д.Д. Макрае.- Новосибирск: Наука. - 2014.- 232 с.
47. Иванова, Г.А. Постпирогенная трансформация основных компонентов сосняков средней Сибири / Г.А. Иванова, С.В. Жила, В.А. Иванов, Н.М. Ковалева, Е.А. Кукавская // Сибирский лесной журнал. – 2018. – №3. – С. 30–41.
48. Ковалева, Н. М. Влияние пожаров на напочвенный покров лиственнично–сосновых насаждений Нижнего Приангарья/ Н. М. Ковалева // Лесоведение. – 2015. – № 6. – С. 430–435.

49. Косов, И.В. Динамика температуры почвы при низовых пожарах/ И.В. Косов, Э.Н. Валендик, Е.К. Кисильхов //Ботанические исследования в Сибири. – 2004. – Вып. 12. – С. 76–81.
50. Коновалов, В.Н. Влияние пожаров на физиологическое состояние древостоев Крайнего Севера/ В.Н. Коновалов, Б.А. Семенов //Проблемы лесоведения и лесной экологии. – 1990. – Ч. I. – С. 156–158.
51. Кирпичникова, Т. В. Состояние фотосинтетического аппарата хвои сосны и ели в зонах промышленного загрязнения при различных микроклиматических условиях / Т.В. Кирпичникова, С.А. Шавнин, А.А. Кривошеева // Физиология растений: научно – практический журнал. –1995.– Том 42. – № 1.– С. 107–113.
52. Кириллов, М.В. Красноярский край / М.В. Кириллов, Ю.А. Щербаков. Красноярск, 1962. – 402 с.
53. Кукавская, Е.А. Трансформация напочвенного покрова при низовых пожарах и оценка пирогенной эмиссии углерода в темнохвойных лесах Средней Сибири / Е.А. Кукавская, Л.В. Буряк, О.П. Каленская, Д.С. Зарубин // Сибирский экологический журнал. – 2017. – №1. – С. 72–82.
54. Креславский, В.Д. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу/ В.Д. Креславский, Р. Карпентьер, В.В. Климов, Н. Мурата, С.И. Аллахвердиев // Биологические мембраны. – 2007. – Т. 24. – № 3. – С. 195–217.
55. Кузнецова, Е.А. Исследование флуоресценции листьев растений при повышенных температурах / Е.А. Кузнецова // Лесной вестник. Физика. – 2000. – № 2. – 127– С.139.
56. Кулаева, О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу/ О.Н. Кулаева // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2. – С. 5–13.
57. Курбатский, Н.П. Техника и тактика тушения лесных пожаров. М.: Гослесбумиздат, 1962. 154 с.

58. Курбатский, Н.П. Исследование количества и свойств лесных горючих материалов/ Н.П. Курбатский // Вопросы лесной пирологии: Сб. статей, Красноярск. -1970. - С. 5–58.
59. Ланге, О.Л. Исследование изменений теплоустойчивости у растений. Клетка и температура среды. М; Л.: Наука, 1964. С. 91–97.
60. Левыкина, И.П. Индукционные изменения флуоресценции листьев бобов после теплового воздействия / И.П. Левыкина, В.А. Караваев //Вестник Московского университета. Серия 3: Физика. Астрономия. – 2016. – № 1. – С. 106–112.
61. Масягина, О.В. Влияние пожаров на интенсивность дыхания ствола сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / О.В. Масягина, С.Г. Прокушкин, Г.А. Иванова // Хвойные бореальной зоны. – 2007. – Т. 24. – № 1.– С. 82–91.
62. Максимович, Н.Е. Белки теплового шока. Свойства. Роль в адаптации. Методические подходы к определению/ Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь // Биомедицина. – 2020. – Т. 16. – № 2. – С. 60–67.
63. Матвеев, А.М. Влияние огневого воздействия на возобновление среднтаежных лиственничников Эвенкии/ А.М. Матвеев, П.М. Матвеев // Лесоведение. – 2006. – №5. – С. 7–11.
64. Миркин, Б.М. Современная наука о растительности/Б.М. Миркин, Л.Г. Наумова, А.И. Соломец. –М.: Логос. - 2000. –263 с.
65. Пахарькова, Н.В. Замедленная флуоресценция хлорофилла хвойных в условиях техногенного загрязнения атмосферы: автореф. диссертации на соискание ученой степени канд.биол. наук. /Н.В. Пахарькова. – Красноярск, 1999. – 17 с.
66. Пахарькова, Н.В. Различия в акклимационных стратегиях сосны обыкновенной и ели сибирской на загрязнение воздушной среды / Н.В. Пахарькова, О.П. Калякина, А.А. Шубин, Ю.С. Григорьев, С.В. Пахарьков, Г.А. Сорокина // Хвойные бореальной зоны. – 2010. – № 3. – С. 231–236.
67. Павлова, Е.Л. Влияние салициловой кислоты на развитие индуцированной термотолерантности и индукцию синтеза БТШ в культуре клеток

Arabidopsis thaliana / Е.Л. Павлова, Е.Г. Рихванов, Е.Л. Таусон, Н.Н. Варакина, К.З. Гамбург, Т.М. Русалева, Г.Б. Боровский, В.К. Войников // Физиология растений. – 2009. – Т. – 56. – №1. – С. 78–84.

68. Перевозникова, В. Д. Видовой состав и структура живого напочвенного покрова в сосняках после контролируемых выжиганий / В. Д. Перевозникова, Г. А. Иванова, В. А. Иванов, Н. М. Ковалева, С. Г. Конард // Сибирский экологический журнал. – 2005. – № 1. – С. 135–141.

69. Побединский, А.В. Изучение лесовосстановительных процессов/ А.В. Побединский. - М.: Наука, 1966. 60 с.

70. Постановление Правительства РФ от 20.05.2017 N 607 «О Правилах санитарной безопасности в лесах». Приложение N 1, к Правилам санитарной безопасности в лесах. [Электронный ресурс].- Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_217315/7c9aa459ec2b805aa487e00e30bc5ad2b9ceff9f/.

71. Пономарев, Е.И. Мониторинг природных пожаров в Сибири: динамика горимости в современном климате, пространственно–временные закономерности, характеристики и прогнозы: монография / Е.И. Пономарев, В.И. Харук, Е.Г. Швецов – Красноярск. - 2019 – 218 с.

72. Санников, С.Н. География естественного возобновления сосны обыкновенной на гарях в лесах Северной Евразии / С.Н. Санников, Н.С. Санникова, И.В. Петрова //Пожары в лесных экосистемах Сибири: Материалы Всероссийской конференции с международным участием.– Красноярск: ИЛ СО РАН. – 2008. – С.178–180.

73. Санников, С.Н. Эволюционные аспекты пирозкологии светлохвойных видов/ С.Н. Санников, Н.С. Санникова //Лесоведение. – 2009. – № 3. – С. 3–10.

74. Селье, Г. На уровне целого организма / Г. Селье // М.: Наука, 1972. – 121 с.

75. Сергеев, Г.М. Островные лесостепи и подтайга Приенисейской Сибири / Г.М. Сергеев. — Иркутск: Восточно–Сибирское книжное изд–во, 1971. 263 с.

76. Семечкина, М.Г. Структура фитомассы сосняков. / М.Г. Семечкина. Новосибирск: Наука, 1978. – 165 с.
77. Средняя Сибирь / Под общ. ред. И.П. Герасимова М.: Наука, 1964. – 480 с.
78. Судаchkова, Н.Е. Биохимическая адаптация хвойных к стрессовым условиям Сибири: монография/ Н. Е. Судаchkова, И. Л. Милютина, Л. И. Романова; отв. ред. Л. И. Милютин; (Российская акад. наук, Сибирское отделение, Ин-т леса им. В. Н. Сукачева), Новосибирск, изд-во Гео, 2012, 175 с.
79. Судаchkова, Н.Е. Воздействие низовых пожаров на жизнеспособность и антиоксидантную защиту молодняков сосны обыкновенной в красноярской лесостепи / Н.Е. Судаchkова, И.Л. Милютина, Л.И. Романова, И.В. Косов, Д.С. Собачкин // Лесоведение. – 2015. – № 2. – С. 16–25.
80. Судаchkова, Н. Е. Стрессовые реакции деревьев сосны обыкновенной на повреждение низовым пожаром/ Н. Е. Судаchkова, Л. И. Романова, Н. В. Астраханцева, М. В. Новоселова, И. В. Косов // Сибирский экологический журнал. – 2016. – № 5. – С. 739–749.
81. Судаchkова, Н. Е. Термоустойчивость антиоксидантных ферментов в тканях сосны обыкновенной в условиях теплового шока/ Н. Е. Судаchkова, Л. И. Романова, Н. В. Астраханцева, М. В. Новоселова // Сибирский лесной журнал. – 2017. – №1. – С. 4–14.
82. Сукачев, В.Н. Руководство к исследованию типов леса/ В.Н. Сукачев // Избранные труды. – 1972. – Т. 1. – С. 15–141.
83. Суворова, Г.Г. Фотосинтез хвойных деревьев в условиях Сибири. - Новосибирск: ГЕО, 2009. 195 с.
84. Собачкин, Д.С. Влияние густоты на таксационные показатели сосновых молодняков естественного и искусственного происхождения / Д.С. Собачкин, В. Е. Бенькова, Р. С. Собачкин, А. И. Бузыкин // Лесоведение. – 2009. – № 2. – С. 3–9.

85. Софронов, М.А. Пожарная опасность в природных условиях: монография / М.А. Софронов, И.Г. Голдаммер, А.В. Волокитина, Т.М. Софронова.- Красноярск: Ин-т леса им. В. Н. Сукачева СО РАН. – 2005. - 322с.
86. Тарасов, П.А. Особенности температурного режима почв в сосняках средней тайги, пройденных низовыми пожарами/ П.А. Тарасов, В.А. Иванов, Г.А. Иванова // Хвойные бореальной зоны. – 2008. – Т. 25. – №3–4. –С. 300–304.
87. Тарасов, П.А. Поспирогенные изменения гидротермических параметров почв Среднетаежных сосняков/ П.А. Тарасов, В.А. Иванов, Г.А. Иванова, Е.Н. Краснощекова // Почвоведение. – 2011. – № 7. – С. 795–803.
88. Тарасов, П.А. Постспирогенные изменения гидротермических параметров песчаных подзолов в сосняках южной тайги/ П.А. Тарасов, В.А. Иванов, Г.А. Иванова, И.Н. Безкоровайная // Хвойные бореальной зоны. – 2023. – Т. 41. – №1. – С. 46–55.
89. Технологии контролируемых выжиганий в лесах Сибири: монография/ Э.Н. Валендик, С.В. Верховец, Е.К. Кисилыхов, Г.А. Иванова, А.В. Брюханов, И.В. Косов, И.Г. Голдаммер, отв. ред. Е.С. Петренко. Красноярск: СФУ. – 2011. - 160 с.
90. Тюрин, Е. Г. Динамика состава смешанных сосновых молодняков с возрастом / Е. Г. Тюрин // Лесоведение. – 1978.– № 2. – С. 46–53.
91. Тужилкина, В. В. Реакция пигментной системы хвойных на длительное аэротехногенное загрязнение / В. В. Тужилкина // Экология. – 2009. – № 4. – С. 243–248.
92. Титов, А. Ф. Локальное действие высоких и низких температур на растения / А. Ф. Титов, В. В. Таланова.- Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, ин-т биологии КарНЦ РАН, 2011. 166 с.
93. Швиденко, А.З. Влияние природных пожаров в России 1998–2010 гг. на экосистемы и глобальный углеродный бюджет/ А.З. Швиденко, Д.Г. Щепашенко, Е.А. Ваганов // Доклады академии наук. – 2011. – Т. 441. – №4. – С. 544–548.

94. Швиденко, А.З. Климатические изменения и лесные пожары в России / А.З. Швиденко, Д.Г. Щепашенко // Лесоведение. – 2013. – №5. – С. 50–61.
95. Шабалина, О.М. Сопряженная динамика восстановления растительности и сообществ раковинных амёб на гаях в лесах Центральной Эвенкии/ О.М. Шабалина, А.В. Гренадерова, И.Н. Безкоровайная, А.А. Красильникова, А.В. Кошкарова // Лесоведение. – 2021. – №3. – С. 278–289.
96. Шиманюк, А.П. Дендрология: учеб. / А.П. Шиманюк. – М.: Лесная промышленность, 1967. – 264 с.
97. Шешуков, М.А. Лесные пожары и борьба с ними на севере Дальнего Востока/ М.А. Шешуков, А.П. Савченко, В.В. Пешков. – Хабаровск: ДальНИИЛХ. - 1992.– 95 с.
98. Фуряев, В.В. Пирозкологические свойства сосны обыкновенной в Средней Сибири / В.В. Фуряев, Е.А. Фуряев // Хвойные бореальной зоны. – 2008– № 1–2. С. 103–108.
99. Фуряев, В.В. Условия возникновения и распространения пожаров в лесных районах Красноярского края/ В.В. Фуряев, П.А. Цветков, И.В. Фуряев, Л.П. Злобина //Хвойные бореальной зоны. – 2017. – Т35. – №1–2. – С. 66–74.
100. Хохлова, Л.П. Термостабильность мембран и экспрессия генов низкомолекулярных белков теплового шока (мБТШ) при действии на растения повышенных температур и водного дефицита/ Л.П. Хохлова, Р.Н. Валиуллина, Д.Р. Мидер, Н.И. Акберова //Биологические мембраны. – 2015. – Т. 32. – №1. –С. 59–71.
101. Черепнин, Л.М. Флора южной части Красноярского края. Выпуск 6. / Л.М. Черепнин. – Красноярск. - 1967. – 238 с.
102. Цветков, П. А. Нагар как диагностический признак / П. А. Цветков // Хвойные бореальной зоны. – 2006. – Т. XXIII. – № 3. – С. 132–137.
103. Цветков, П.А. Пирогенные свойства древесных пород / П.А. Цветков // Лесоведение. – 2011.– № 2. – С. 25–31.
104. Цветков, П.А. О последствиях лесных пожаров в Сибири / П.А. Цветков //Хвойные бореальной зоны. – 2013 – Т. 31. – № 5–6. – С.10–14.

105. Цветков, П.А. Исследование природы пожаров в лесах Сибири / П.А. Цветков, Л.В. Буряк // Сибирский лесной журнал. – 2014. – № 3. – С. 25–42.
106. Цибарт, А. С. Влияние пожаров на свойства лесных почв Приамурья / А. С. Цибарт, А. Н. Геннадиев // Почвоведение. – 2008. – № 7. – С. 783–787.
107. Allakhverdiev, S.I. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis/ S.I. Allakhverdiev, V.D. Kreslavski, V.V. Klimov, D.A. Los, R. Carpentier, P. Mohanty // Photosynthesis Research. – 2008. – № 98. – P. 541–550.
108. Alexou, M. Early physiological consequences of fire as an abiotic stressor in metabolic source and sink of young Brutian pine (*Pinus brutia* Ten.) / M. Alexou, A. P. Dimitrakopoulos // Tree Physiology. – 2014. – № 34. – P. 1388–1398.
109. Alexander, M. E. Interdependencies between flame length and fireline intensity in predicting crown fire initiation and crown scorch height/ M. E. Alexander, M. Cruz // International Journal of Wildland Fire. – 2012. – №21. – P. 95–113.
110. Al-Whaibi, M.H. Plant heat-shock proteins: A mini review/ M.H. Al-Whaibi // J. King Saud University. Science. – 2011. – V. 23. – P. 139–150.
111. Adams, A.S. Prescribed fire affects white oak seedling phytochemistry: implications for insect herbivory/ A.S. Adams, L.K. Rieske // Forest Ecology & Management. – 2003. – V. 176. – № 1–3. – P. 37–47.
112. Avramova, Z. Transcriptional ‘memory’ of a stress: transient chromatin and memory (epigenetic) marks at stress-response genes/ Z. Avramova // The Plant Journal. – 2015. – № 83. – P. 149–159.
113. Arocena, J.M. Prescribed fire-induced changes in properties of sub-boreal forest soils/ J.M. Arocena, C. Opiob // Geoderma. – 2003. – №113. – P. 1 – 16.
114. Ashraf, M. Photosynthesis under stressful environments: an overview/ M. Ashraf, P.J.C. Harris // Photosynthetica. – 2013. – 51(2). – P. 163–190.
115. Battaglia, M. Predicting mortality of ponderosa pine regeneration after prescribed fire in the Black Hills, South Dakota/ M. Battaglia, F. W. Smith, W. D. Shepperd // International Journal of Wildland Fire. – 2009. – №18(2). – P. 176–190.
116. Bar, A. Fire effects on tree physiology/ A. Bar, S.T. Michaletz, S. Mayr // New Phytologist. – 2019. – № 223. – P. 1728–1741.

117. Battipaglia, G. The effects of prescribed burning on *Pinus halepensis* Mill. as revealed by dendrochronological and isotopic analyses/ G. Battipaglia, S. Strumia, A. Esposito, E. Giuditta, C. Sirignano, S. Altieri, F.A. Rutigliano // *Forest Ecology and Management*. – 2014. – Vol. 334. – P. 201–208.
118. Bitá, C.E. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stresstolerant crops/ C.E. Bitá, T. Gerats//*Frontiers in Plant Science*. – 2013. – №4. – P. 273.
119. Beghin, R. Tree-ring growth and stable isotopes (^{13}C and ^{15}N) detect effects of wildfires on tree physiological processes in *Pinus sylvestris* L./ R. Beghin, P. Cherubini, G. Battipaglia, R. Siegwolf, M. Saurer, G. Bovio // *Trees*. – 2011. – № 25. – P. 627–636.
120. Biswal, B. Photosynthesis, a global sensor of environmental stress in green plants: stress signalling and adaptation/ B. Biswal, P.N. Joshi, M.K. Raval, U.C. Biswal// *Current Science*. – 2011. – № 101. – P. 47–56.
121. Bison, N.N. Trait phenology and fire seasonality co-drive seasonal variation in fire effects on tree crowns/ N. N. Bison, R. Partelli–Feltrin, S.T. Michaletz // *New Phytologist*. – 2022. – Vol. 234. – №5. – P 1654–1663.
122. Boston, R.S. Molecular chaperones and protein folding in plants/ R.S. Boston, P.V. Viitanen, E. Vierling//*Plant Molecular Biology*. – 1996. – № 32. – P. 191–222.
123. Bodí, M. B.Wildland fire ash: production, composition and eco–hydro–geomorphic effects/ M. B. Bodí, D. A. Martin, V. N. Balfour, C. Santín, S. H. Doerr, P. Pereira, J. Mataix–Solera// *Earth–Science Reviews*. – 2014. – № 130. – P. 103–127.
124. Boyer, W. Effect of burning and brush treatments on nutrient and soil physical properties in young longleaf pine stands/ W. Boyer, J. Miller // *Forest Ecology and management*. – 1994. – №70. – P. 311–318.
125. Bulgakov, V.P. Coordination of ABA and chaperone signaling in plant stress responses/ V.P. Bulgakov, H–C. Wu, T–L. Jinn // *Trends in Plant Science*. – 2019. – № 24. – P. 636–651.

126. Brando, P.M., Fire-induced tree mortality in a neotropical forest: the roles of bark traits, tree size, wood density and fire behavior/ P.M. Brando, D.C. Nepstad, J.K. Balch, B. Bolker, M.C. Christman, M. Coe, F.E. Putz// *Glob. Change Biol.* – 2012. – № 18. – P. 630–641.
127. Bryukhanov, A. V. Wildfire impact on the main tree species of the Near-Yenisei Siberia/ A. V. Bryukhanov, A. V. Panov, E. I. Ponomarev, N. V. Sidenko// *Izvestiya, Atmospheric and Oceanic Physics.*– 2018. – Vol. 54. – № 11. – P. 1525–1533.
128. Carlo, N.J. Impacts of prescribed fire on *Pinus rigida* Mill. in upland forests of the Atlantic Coastal Plain/ N.J. Carlo, H.J. Renninger, K.L. Clark, K.V. Schafer // *Tree Physiology.*– 2016. – V. 36.– P. 967–982.
129. Catrya, F.X. Post-fire tree mortality in mixed forests of central Portugal/ F.X. Catrya, F. Regoa, F. Moreiraa, P.M. Fernandesb, J.G. Pausasc // *For Ecol. Manag.*– 2010.– №260. – P. 1184–1192.
130. Castro, J.F. Regeneration of *Pinus pinaster* forest after wildfire / J.F. Castro, J. Bento, F. Rego In: Goldammer, J.G., Jenkins, M.J. (Eds.), *Fire in Ecosystem Dynamics*. SPB Academic Publishing, The Hague. – 1990. - P. 71–75.
131. Certini, G. Effects of fire on properties of forest soils: a review/ G. Certini// *Oecologia.* – 2005. №143. – P. 1–10.
132. Choromanska, U. Microbial activity and nitrogen mineralization in forest mineral soils following heating: evaluation of post-fire effects/ U. Choromanska, T.H. DeLuca // *Soil Biology and Biochemistry.* – 2002. – Vol.34. – № 2. – P. 263–271.
133. Conard, S.G. Determining effects of area burned and fire severity on carbon cycling and emissions in Siberia/ S.G. Conard, A.I. Sukhinin, B.J. Stocks, D.R. Cahoon, E.P. Davidenko, G.A. Ivanova// *Clim. Change.* – 2002. – №55 (1–2). – P. 197–211.
134. Colombo, S.J. Limits of tolerance to high temperatures causing direct and indirect damage to black spruce// S.J. Colombo, V.R. Timmer // *Tree Physiology.*– 1992. – № 11. – P. 95–104.

135. Clinton, B.D., Transient changes in transpiration, and stem and soil CO₂ efflux in longleaf pine (*Pinus palustris* Mill.) following fire-induced leaf area reduction/ B.D. Clinton, C.A. Maier, C.R. Ford, R.J. Mitchell // *Trees*. – 2011. – № 25. – P. 997–1007.
136. Downs, C.A. The methionine-rich low-molecular-weight chloroplast heat-shock protein: evolutionary conservation and accumulation in relation to thermotolerance / C.A. Downs, S.A. Heckathorn, J.K. Bryan, J.S. Coleman // *American Journal of Botany*. – 1998. – V. 85. – P. 175–183.
137. Dickinson, M. Vascular cambium necrosis in forest fires: using hyperbolic temperature regimes to estimate parameters of a tissue-response model/ M. Dickinson, J. Jolliff, A. Bova // *Aust. J. Bot.* – 2005. – № 52. – P. 757–763 .
138. Dickman, L. T. Integrating plant physiology into simulation of fire behavior and effects/ L. T. Dickman, A. K. Jonko, R. R. Linn, I. Altintas, A. L. Atchley, A. Bär, A. D. Collins., J.–L. Dupuy, M. R. Gallagher, J. K. Hiers, C. M. Hoffman, S. M. Hood et.al // *New Phytologist*. – 2023. – Vol. 238. – №3. – P. 952–970.
139. Ducrey, M., The ecophysiological and growth responses of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) to controlled heating applied to the base of the trunk/ M. Ducrey, F. Duhoux, R. Huc, E. Rigolot // *Canadian Journal of Forest Research*. – 1996. – № 26. – P. 1366–1374.
140. Dymov, A. A. Impact of forest fire on soil properties/ A. A. Dymov, E. V. Abakumov, I. N. Bezkorovaynaya, A. S. Prokushkin, Y. V. Kuzyakov, E. Y. Milanovsky // *Theoretical and applied ecology*. – 2018. – № 4. – P. 13–23.
141. DeLuca, T. H. Frequent fire alters nitrogen transformations in ponderosa pine stands of the stands of the inland Northwest / T. H. DeLuca, A. Sala // *Ecology*. – 2006. – № 87. – P. 2511–2522.
142. Ensminger, I. Intermittent low temperatures constrain spring recovery of photosynthesis in boreal Scots pine forests / I. Ensminger, D. Sveshnikov, D.A. Campbell, C. Funk, S. Jansson, J. Lloyd, O. Shibistova, G. Oquist // *Global Change Biology*. – 2004. – № 10. – P. 995–1008.

143. Flannigan, M.D. Implication of changing climate for global wildland fire / M.D. Flannigan, M.A. Krawchuk, W.J. de Groot, B.M. Wotton, L.M. Gowman // Int. journal wildland fire. – 2009. – № 18. – P. 483–507.
144. Fleck, I. Influence of fire and tree-fell on physiological parameters in *Quercus ilex* resprouts / I. Fleck, M.D. Grau, D.V. Sanjose // Ann For Sci. – 1996. – № 53(2–3). – P. 337–348.
145. Fernandes, P. M. Fire behaviour and severity in a maritime pine stand under differing fuel conditions/ P. M. Fernandes, C. A. Loureiro, H.S. Botelho // Ann. For. Sci. – 2004. – № 61. – P. 537–544.
146. Fernandes, P. M. The fire ecology and management of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) / P. M. Fernandes, E. Rigolot // Forest Ecology and Management. – 2007. – Vol. 241. – P. 1–13.
147. Fernandes, P.M. Fire resistance of European pines/ P.M. Fernandes, J.A. Vega, E. Jimenez // For Ecol Manag. – 2008. – Vol.256. – P. 246–255.
148. Fernandez–Garcia, V. A. C. Impact of burn severity on soil properties in a *Pinus pinaster* ecosystem immediately after fire/ V. A. C. Fernandez–Garcia, A. E. Marcos, A J. M. Fernandez–Guisuraga, A. B. A. Taboada, A. S. Suarez–Seoane, A. L. Calvo // International Journal of Wildland Fire. – 2019. – № 28(5). – P. 354–364.
149. Ferran, A. Effects of fire recurrence in *Quercus coccifera* L. Shrublands of the Valencia Region (Spain)/ A. Ferran, W. Delite, V. R. Valleho // Plant and soil nutrient, Plant Ecology. – 2005. – №177. – P. 71–83.
150. Fire in Ecosystems of Boreal Eurasia /Part of the Forestry Sciences book series (FOSC, vol. 48), Editors Johann Georg Goldammer and Valentin V. Furyaev, Springer. – 1996. - 542 p.
151. Furniss, T. J. Multi–scale assessment of post–fire tree mortality models/ T. J. Furniss, A. J. Larson, Van R. Kane, J. A. Lutz // International Journal of Wildland Fire. – 2019. – Vol. 28. – P. 46–61.
152. Gupan, R.S. Remote sensing of sun–induced chlorophyll–a fluorescence in inland and coastal waters: Current state and future prospects/ R.S. Gupan, D. Odermatt,

I. Cesana, C. Giardino, L. Nedbal, A. Damm // Remote Sensing of Environment. – 2021. – № 262. – P. 112482.

153. Guo, M. The plant heat stress transcription factors (HSFs): structure, regulation, and function in response to abiotic stresses/ M. Guo, J.–H. Liu, X. Ma, D.–X. Luo, Z.–H. Gong, M.–H. Lu// Frontiers in Plant Science.– 2016. – №7. – P. 114.

154. Guan, J.–C. Characterization of the genomic structures and selective expression profiles of nine class I small heat shock protein genes clustered on two chromosomes in rice (*Oryza sativa* L.)/ J.–C. Guan, T.–L. Jinn, C.–H. Yeh, S.–P. Feng, Y.–M. Chen, C.–Y. Lin // Plant Molecular Biology. – 2004. –№ 56. – P. 795–809.

155. Hartl, F.U. Molecular chaperones in cellular protein folding/ F.U. Hartl // Nature. – 1996. – № 381. – P. 571–579.

156. Herrero, C. Effect of heat and ash treatments on germination of *Pinus pinaster* and *Cistus laurifolius*/ C. Herrero, R. San Martin, F. Bravo // Journal of Arid Environments. – 2007. – № 70. – P. 540–548.

157. Heckathorn, S.A. The small, methionine–rich chloroplast heat–shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress/ S.A. Heckathorn, C.A. Downs, T.D. Sharkey, J.S. Coleman //Plant Physiology. – 1998. – №116. – P. 439–444.

158. Harrington, M. Predicting *Pinus ponderosa* mortality from dormant season and growing season fire injury/ M. Harrington// Int J Wildland Fire. – 1993. – № 3. – P. 65–72.

159. Hood, S.M. Predicting mortality for five California conifers following wildfire/ S.M. Hood, S.L. Smith, D.R. Cluck// For Ecol Manage. – 2010. –№ 260. – P. 750–762.

160. Huang, B. Identification and characteriz–ation of proteins associated with plant tolerance to heat stress/ B. Huang, C. Xu // Journal of Integrative Plant Biology.– 2008. –№ 50. – P. 1230–1237.

161. Hu, T. Stress memory induced rearrangements of HSP transcription, photosystem II photochemistry and metabolism of tall fescue (*Festuca arundinacea*

Schreb.) in response to high-temperature stress / T. Hu, S.-Q. Liu, E. Amombo, J.-M. Fu // *Frontiers in Plant Science*. – 2015. – Vol. 6. – P. 1–13.

162. Ice, G. G. Effects of wildfire on soils and watershed processes/ G. G. Ice, D. G. Neary, P. W. Adams // *Journal of Forestry*. – 2004. – №102. – P. 16–20.

163. Kalaji, H. Experimental in vivo measurements of light emission in plants: A perspective dedicated to David Walker/ H. Kalaji, V. Goltsev, K. Bosa, S.I. Allakhverdiev, R. Strasser // *Photosynth. Res.*. – 2012. – № 114. – P. 69–96.

164. Keeling, E.G. Effects of fire exclusion on forest structure and composition in unlogged ponderosa pine Douglas-fir forests/ E.G. Keeling, A. Sala, T.H. DeLuca // *Forest Ecology and Management*. 2006. – Vol. 237 (1–3). – P. 418–428.

165. Kolb, P.F. High temperature and drought stress effects on survival of *Pinus ponderosa* seedlings/ P.F. Kolb, R. Robberecht // *Tree Physiology*. – 1996. – № 16. – P. 665–672.

166. Korotaeva, N.E. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle/ N.E. Korotaeva, M.V. Oskorbina, L.D. Kopytova, G.G. Suvorova, G.B. Borovskii, V.K. Voinikov // *J. Forest Research*. – 2012. – V. 17. – № 1. – P. 89–97.

167. Korovin, G.N. Analysis of the distribution of Forest Fires in Russia/ G.N. Korovin // *Fire in ecosystem of boreal Eurasia*. – 1996. – P.112–128.

168. Klimov, S.V. Plant adaptation to stress through changes in source-sink relations at different levels of plant hierarchy / S.V. Klimov// *Biol Bull Rev*. – 2008. – № 128(3). – P. 281–299.

169. Kleynhans, E. J. Chapter Eleven – Modeling fire effects on plants: From organs to ecosystems / E. J. Kleynhans, A. L. Atchley, S. T. Michaletz // In book: *Plant Disturbance Ecology: The Process and the Response*. – 2021. – P. 393– 421.

170. Khan, M. S. Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis to enhance abiotic stress tolerance in plants / M. S. Khan, X. Yu, A. Kikuchi, M. Asahina, K. N. Watanabe // *Plant Biotechnol*. – 2009. – № 26. – P.125–134.

171. Kharuk, V.I. Fire return intervals within the northern boundary of the larch forest in Central Siberia / V.I. Kharuk, M.L. Dvinskaya, K.J. Ranson // *Int. J. Wildland Fire*. – 2013. – № 22 (2). – 207–211.
172. Kukavskaya, E. A. Biomass dynamics of central Siberian Scots pine forests following surface fires of varying severity / E. A. Kukavskaya, G. A. Ivanova, S.G. Conard, D.J. McRae, V. A. Ivanov // *International Journal of Wildland Fire*. – 2014. – № 23. – P. 872–886.
173. Lämke, J. Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants/ J. Lämke, I. Bäurle // *Genome Biology*. – 2017. – № 18 (124). – P. 2–11.
174. Larkindale, J. Heat stress phenotypes of Arabidopsis mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance/ J. Larkindale, J. Hall, M.R. Knight, E. Vierling//*Plant Physiology*. – 2005. – №138. – P. 882–897.
175. Lecomte, N. Fire severity and long-term ecosystem biomass dynamics in coniferous boreal forests of Eastern Canada / N. Lecomte, M. Simard, N. Fenton, Y. Bergeron // *Ecosystems*. – 2006. – №. 9. – P. 1215–1230.
176. Lee, G.J. A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein / G.J. Lee, E. Vierling // *Plant Physiology*. – 2000. – V. 122. – P. 189–197.
177. Liechty, H. O. Soil chemistry and nutrient regimes following 17–21 years of shortleaf pine–bluestem restoration in the Ouachita Mountains of Arkansas / H. O. Liechty, K. R. Luckow, J. M. Guldin // *Forest Ecology and Management*. – 2005. – Vol. 204 (2–3). – P. 345–357.
178. Liu, X. Stress memory responses and seed priming correlate with drought tolerance in plants: an overview/ X. Liu, W. Quan, D. Bartels // *Planta*. – 2022. – № 255 (45). – P. 1– 14.
179. Maxwell, K. Chlorophyll fluorescence—a practical guide / K. Maxwell, G.N. Johnson// *Journal of Experimental Botany*. – 2000. – № 51 (345). – P. 659–668.
180. Malik, M. K. Modified expression of a carrot small heat shock protein gene, HSP17.7, results in increased or decreased thermotolerance / M. K. Malik, J. P.

Slovin, C. H. Hwang, J. L. Zimmerman // *The Plant Journal*. – 1999. – № 20(1). – P. 89 – 99.

181. Marozas, V. Changes of ground vegetation, soil chemical properties and microbiota following the surface fires in scots pine forests / V. Marozas, K. Armolaitis, J. Aleinikovien // *Journal of environmental engineering and landscape management*. – 2013. – Vol. 21(1). – P. 67–75.

182. Michaletz, S.T. How forest fires kill trees: a review of the fundamental biophysical processes / S.T. Michaletz E.A. // *Johnson Scandinavian Journal of Forest Research*. – 2007. – № 22. – P. 500–515.

183. Michaletz, S.T. Xylem dysfunction in fires: towards a hydraulic theory of plant responses to multiple disturbance stressors/ S.T. Michaletz// *New Phytologist* 2018. – № 217. – P. 1391–1393.

184. Mittler, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance / R. Mittler// *Trends Plant Sci*. – 2002. – № 7(9). – P. 405–10.

185. McRae, G.J. Variability of Fire Behavior, Fire Effects, and Emissions in Scotch Pine Forests of Central Siberia / G.J. McRae, S.G. Conard, G.A. Ivanova, A.I. Sukhinin // *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. – 2006. – № 11. – P. 45–74.

186. McRae, D.J. Measurement and description of fuels and fire behavior on prescribed burn / D.J. McRae, M.E. Alexander, B.J. Stocks.- Ontario: Canadian Forest Service Publications, 1979. 44 p.

187. MacKenzie, M.D. Forest structure and organic horizon analysis along a fire chronosequence in the low elevation forests of western Montana/ M.D. MacKenzie, T.H. DeLuca, A. Sala // *Forest Ecology and Management*. – 2004. – № 203 (1–3). –P. 331–343.

188. Mogk, A. Refolding of substrates bound to small HSPs relies on a disaggregation reaction mediated most efficiently by ClpB/DnaK / A. Mogk, C. Schlieker, K.L. Friedrich, H.J. Schonfeld, E. Vierling, B. Bukau // *The J. Biological Chemistry*. – 2003. – V. 278. – P. 31033–31042.

189. Mohammed, G.H. Chlorophyll fluorescence: A review of its practical forestry applications and instrumentation / G.H. Mohammed, W.D. Binder, S.L. Gillies // Scand. J. Forest Res. – 1995. – № 10 (1–4). – P. 383–410.
190. Neill, C. Responses of soil carbon, nitrogen and cations to the frequency and seasonality of prescribed burning in a Cape Cod oakpine forest / C. Neill, W. A. Patterson, W. David, J. Craig // Forest Ecology and Management. – 2007. – № 250. – P. 234–243.
191. Neff, J. C. Fire effects on soil organic matter content, composition, and nutrients in boreal interior Alaska / J. C. Neff, J. W. Harden, G. Gleixner // Canadian Journal of Forest Research. – 2005. – Vol. 35 (9). – P. 2178–2187.
192. Neary, D. G. Ffolliott Fire effects on belowground sustainability: a review and synthesis / D. G. Neary, C. K. Carole, F. D. Leonard, F. Peter // Forest Ecology and Management. – 1999. – № 122. – P. 51–71.
193. Neta-Sharir, I. Dual role for tomato heat shock protein 21: protecting photosystem II from oxidative stress and promoting color changes during fruit maturation / I. Neta-Sharir, T. Isaacson, S. Lurie, D. Weiss // Plant Cell. – 2005. – Vol. 17. – P. 1829–1838.
194. Nieto-Sotelo, J. Runying HSP101 Plays Important Roles in Both Induced and Basal Thermotolerance and Primary Root Growth/ J. Nieto-Sotelo, M. L. Martínez, G. Ponce, G. I. Cassab, A. Alagón, R. B. Meeley, J.–M. Ribaut, M. Yang // The Plant Cell. – 2002. – Vol. 14 (7). – P. 1621–1633.
195. Niccoli, F. Fire Severity Influences Ecophysiological Responses of *Pinus pinaster* Ait / F. Niccoli, A. Esposito, S. Altieri, G. Battipaglia// Frontiers in Plant Science. – 2019. – Vol. 10 (539). – P. 1–11.
196. Nunez, R. Effect of high temperatures on seed germination of *Pinus halepensis* and *Pinus sylvestris* / R. Nunez, L. Calvo // Forest Ecology and Management. – 2000. – №131. – P. 183–190.
197. Pakharkova, N.V. Quantitative characteristics of the phases of winter dormancy of conifer species at a site in Central Siberia / N.V. Pakharkova, H.

Heilmeyer, I.G. Gette, E.B. Andreeva, A.M. Grachev, N.A. Gaevskiy, Yu.S. Grigoriev // *Braz Journal of Botany*. – 2016. – № 39(4). – P. 1005.

198. Pausas, J.G. Fire severity and seedling establishment in *Pinus halepensis* woodlands, eastern Iberian Peninsula / J.G. Pausas, N. Ouadah, A. Ferran, T. Gimeno, R. Vallejo // *Plant Ecology*. – 2003. – №169. – P. 205–213.

199. Pausas, J.G. Plant persistence traits in fire-prone ecosystems of the Mediterranean basin: a phylogenetic approach / J.G. Pausas, M. Verdú//*Oikos*. – 2005. – Vol.109 (1). – P.196–202.

200. Pausas, J.G. Generalized fire response strategies in plants and animals/ J.G. Pausas //*Oikos*. – 2019. – Vol. 128 (2). – P. 147–153.

201. Perevoznikova, V.D. Species composition and structure of the living surface cover in pine stands after controlled burning/ V.D. Perevoznikova, G.A. Ivanova, V.A. Ivanov, N.M. Kovaleva, S.G. Konard// *Contemporary Problems of Ecology*. – 2005. – № 1.– P. 135–141.

202. Perevoznikova, V. D. Transformation of Ground Vegetation under the Effect of Fires in Pine Forests of Middle Siberia / V. D. Perevoznikova, G. A. Ivanova, V. A. Ivanov, N. M. Kovaleva // *Russian Journal of Ecology*. – 2007. – Vol. 38 (6). –P. 444–448.

203. Pereira, P. Short-term spatio-temporal spring grassland fire effects on soil colour, organic matter and water repellency in Lithuania / P. Pereira, X. Ubeda, J. Mataix-Solera, D. Martin, M. Oliva, A. Novara // *Solid Earth Discussions*. – 2013. – № 5(2).

204. Pierre, J. The heat-shock protein chaperone network and multiple stress resistance / J. Pierre, H. Hirt, A. Bendahmane // *Plant Biotechnology Journal*. – 2017. – № 15. – P. 405–414.

205. *Pines and Their Mixed Forest Ecosystems in the Mediterranean Basin*// Editors Gidi Ne’eman, Yagil Osem. – Springer, 2021, 746 p.

206. Pingree, M. The myth of the biological threshold: A review of biological responses to soil heating associated with wildland fire / M. Pingree, L. N. Kobziar // *Forest Ecology and Management*. – 2019. – № 432. – P. 1022–1029.

207. Ponomarev, E. I. Wildfire occurrence in forests of the Altai–Sayan region under current climate changes/ E. I. Ponomarev, V. I. Kharuk // *Contemporary Problems of Ecology*. – 2016. – Vol. 9 (1). – P. 29–36.
208. Rieske, L.K. Wildfire alters oak growth, foliar chemistry, and herbivory/ L.K. Rieske // *Forest Ecology & Management*. – 2002. – V. 168 (1–3). – P. 91–99.
209. Richter, D. D. Prescribed fire: effects on water quality and forest nutrient cycling / D. D. Richter, C. W. Ralston, W. R. Harms // *Science*. – 1982. – № 215. – P. 661–663.
210. Reinhardt, E.D. First-order fire effects models for land management: overview and issues / E.D. Reinhardt, M.B. Dickinson // *Fire Ecology*. – 2010. – № 6. – P. 131–15.
211. Ruelland, E. How plants sense temperature / E. Ruelland, A. Zachowski // *Environmental and Experimental Botany*. – 2010. – № 69. – P. 225–232.
212. Renninger, H. J. Effects of a prescribed fire on water use and photosynthetic capacity of pitch pines/ H. J. Renninger, K. L. Clark, N. Skowronski, K. V. R. Schafer // *Trees*. – 2013. – № 27. – P. 1115–1127.
213. Shvidenko, A.Z. Impact of wildfire in Russia between 1998 d 2010 on ecosystems and the global carbon budget / A.Z. Shvidenko, D.G. Shchepashchenko, E.A. Vaganov, A.I. Sukhinin, Sh. Maksyutov, I. McCallum, I.P. Lakyda // *Dokl. Earth Sci.* – 2011. – №441 (2). – P. 1678–1682.
214. Scharf, K.D. The expanding family of Arabidopsis thaliana small heat stress proteins and a new family of proteins containing crystalline domains (Acd proteins)/ K.D. Scharf, M. Siddique, E. Vierling // *Cell Stress Chaperon*. – 2001. – № 6. – P. 225–237.
215. Soja, A.J. AVHRR-derived fire frequency, distribution and area burned in Siberia/ A.J. Soja, A.I. Sukhinin, Jr. D.R. Cahoon, H.H. Shugart, P.W. Stackhouse // *Int. J. Remote Sens.* – 2004. – № 25 (10). – P. 1939–1960.
216. Song, Z. Genome-wide identification and characterization of Hsp70 gene family in Nicotiana tabacum/ Z. Song, F. Pan, X. Lou, W. Daibin, Y. Chao, Z. Baoquan, Z. Hongying // *Mol. Biol. Rep.* – 2019. – № 46. – P. 1941–1954.

217. Simard, A.J. A general procedure for sampling and analyzing wildland fire spread / A.J. Simard, J.E. Eenigenburg, K.B. Adams // *Forest Science*. – 1984. – Vol. 30. – P. 51–64.

218. Smith, A.M.S. Towards a new paradigm in fire severity research using dose–response experiments / A.M.S. Smith, A.M. Sparks, C.A. Kolden, J.T. Abatzoglou, A.F. Talhelm, D.M. Johnson, L. Boschetti, J.A. Lutz, K.O. Apostol, K.M. Yedinak, W.T. Tinkham // *International Journal of Wildland Fire*. – 2016. – № 25(2). – P. 158–166.

219. Smith, A.M.S. Effects of fire radiative energy density dose on *Pinus contorta* and *Larix occidentalis* seedling physiology and mortality / A.M.S. Smith, A.F. Talhelm, D.M. Johnson, A.M. Sparks, C.A. Kolden, K.M. Yedinak, K.G. Apostol, W.T. Tinkham, J.T. Abatzoglou, J.A. Lutz, A.S. Davis, K.S. Pregitzer, H.D. Adams, R.L. Kremens // *International Journal of Wildland Fire*. – 2017. – №26. – P. 82–94.

220. Sparks, A. M. Johnson Impacts of fire radiative flux on mature *Pinus ponderosa* growth and vulnerability to secondary mortality agents / A. M. Sparks, M. S. Alistair, A. F. Smith, C.A. Talhelm, K. M. Kolden, D. M. Yedinak // *Fire International Journal of Wildland Fire*. – 2017. – № 26. – P. 95–106.

221. Sparks, A.M. Fire intensity impacts on post–fire temperate coniferous forest net primary productivity / A.M. Sparks, C.A. Kolden, A.M.S. Smith, L. Boschetti, D.M. Johnson, M.A. Cochrane // *Biogeosciences*. – 2018. – № 15. – P. 1173–1183.

222. Sparks, A.M. Fire intensity impacts on physiological performance and mortality in *Pinus monticola* and *Pseudotsuga menziesii* saplings: a dose–response analysis / A.M. Sparks, A. S. Blanco, D.R. Wilson, D.W. Schwilk, D.M. Johnson, H.D. Adams, D.M. Bowman, D. D. Hardman, A.M. Smith // *Tree Physiology*. – 2023. – Vol.43 (8). – P.1365–1382.

223. Steady, W.D. The survival of *Pinus ponderosa* saplings subjected to increasing levels of fire behavior and impacts on post–fire growth / W.D. Steady, R.P. Feltrin, D.M. Johnson, A.M. Sparks, C.A. Kolden, A.F. Talhelm, J.A. Lutz, L. Boschetti, A.T. Hudak, A.S. Nelson, A.M.S Smith // *Fire*. – 2019. № 2. P.23.

224. Smykal, P. Chaperone activity of tobacco HSP18, a small heat-shock protein, is inhibited by ATP / P. Smykal, J. Malin, I. Hrdy, I. Konopasek, V. Zarsky // *Plant J.* – 2000. – V. 23. – P. 703–713.
225. Sung, D.Y. Comprehensive expression profile analysis of the Arabidopsis Hsp 70 gene family / D.Y. Sung, E. Vierling, C.L. Guy // *Plant Physiology.* – 2001. – № 126. – P. 789–800.
226. Swezy, D.M. Prescribed-fire effects on fine root and tree mortality in old-growth ponderosa pine / D.M. Swezy, J.K. Agee // *Can. J. For. Res.* – 1991. – №. 21. – P. 626–634.
227. Tarasov, P.A. Postpyrogenic changes in hydrothermal parameters of soils of middle Taiga pine forests / P.A. Tarasov, V.A. Ivanov, G.A. Ivanova, E.N. Krasnoschekova // *Soil Sci.* – 2011. – №7. – P. 795–803.
228. Tapias, R. Canopy Seed Banks in Mediterranean Pines of South-Eastern Spain: A Comparison between *Pinus halepensis* Mill., *P. pinaster* Ait., *P. nigra* Arn. and *P. pinea* L. / R. Tapias, L. Gil, P. Fuentes-Utrilla, J. A. Pardos // *Journal of Ecology.* – 2001. – Vol. 89 (4). – P. 629–638.
229. Turetsky, M. R. A direct approach to quantifying organic matter lost as a result of peatland wildfire / M. R. Turetsky, R.K. Wieder // *Canadian Journal of Forest Research.* – 2001. – № 31. – P. 363–366.
230. Timperio, A.M. Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP)/ A.M. Timperio, M.G Egidi, L. Zolla // *J. Proteomics.* – 2008. – № 71. – P. 391–411.
231. Teskey, R. Responses of tree species to heat waves and extreme heat events / R. Teskey, T. Wertin, I. Bauweraerts, M. Ameye, M.A. McGuire, K. Steppe // *Plant, Cell & Environment.* – 2015. – №38. – P.1699–1712.
232. Thompson, M.T. C. Wildfire effects on physiological properties in conifers of central Idaho forests, USA / M.T. C. Thompson, A. Koyama, K. L. Kavanagh // *Trees.* – 2017. – № 31. – P. 545–555.

233. Montfort, R.L.M. Crystal structure and assembly of a eukaryotic small heat shock protein / R.L.M. Montfort, E. Basha, K.L. Friedrich, C. Slingsby, E. Vierling // *Nat. Struct. Biol.*– 2001. – № 8. – P. 1025–1030.
234. Varner, J.M. Post–fire tree stress and growth following smoldering duff fires / J.M. Varner, F.E. Putz, J.J. O’Brien, J.K. Hiers, R.J. Mitchell, D.R. Gordon // *For Ecol. Manag.* – 2009. – №258. – P. 2467–2474.
235. Varner, J. M. Tree crown injury from wildland fires: causes, measurement and ecological and physiological consequences / J. M. Varner, S.M. Hood, D. P. Aubrey, K.Yedinak, J. K. Hiers, W. M. Jolly, T. M. Shearman, J. K. McDaniel, J. J. O’Brien, E. M. Rowell // *New Phytologist.*– 2021. – Vol. 231(5). –P. 1676–1685.
236. Valendik, E.N. An experimental burn to restore a moth–killed boreal conifer forest, Krasnoyarsk region, Russia / E.N. Valendik, J.C. Brissette, Y.K. Kisilyakhov, R.J. Lasko, S.V. Verkhovets, S.T. Eubanks, I.V. Kosov, A.Y. Lantukh // *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change.* – 2006. - № 11. – P. 883–896.
237. Vallejo, V.R. Fire ecology and post–fire restoration approaches in Southern European forest types. In: Moreira, F., Arianoutsou, M., Corona, P., Heras, J. (Eds.), *Post–Fire Management and Restoration of Southern European Forests.* Springer Verlag, Dordrecht. – 2012. – P. 93–119.
238. Queitsch, C. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*/ C. Queitsch, S.W. Hong, E. Vierling, S. Lindquist // *Plant Cell.*– 2000. – №. 12(4). – P. 479–492.
239. Quan, L.J. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network/ L.J. Quan, B. Zhang, W.W.Shi, H.Y. Li // *J. Integr. Plant. Biol.* – 2008. – №50(1). – P. 2–18.
240. Xin, Z. Evidence for a functional ABA–receptors on the external face of the plasma membrane during induction of chilling tolerance in maize cells / Z. Xin, W. Chen, P.H. Li // *Plant Physiol.* – 1994. – № 1. – P. 142–150.

241. Xu, Y. Heat Shock Proteins in Association with Heat Tolerance in Grasses / Y. Xu, C. Zhan, B. Huang // International J. Proteomics. – 2011. – Vol. 11. – P. 1-11.
242. Wahid, A. Heat tolerance in plants: An overview / A. Wahid, S. Gelani, M. Ashraf, M.R. Foola // Environmental and Experimental Botany. – 2007. – № 61. – P. 199–223.
243. Wang, W. Role of plant heat–shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response / W. Wang, B. Vinocur, O. Shoseyov, A. Altman // Trends in Plant Science. – 2004. – V. 9 (5). – P. 244–252.
244. Wang, R. Physiological response of *Betula platyphylla* leaves to fire and the restoration after fire / R. Wang, H. Q. Hu // Journal of Beijing Forestry University. – 2014. – № 36(1). – P. 31–34.
245. Walter, J. Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes / J. Walter, A. Jentsch, C. Beierkuhnlein, J. Kreyling // Environmental and Experimental Botany. – 2013. – № 94. P. 3– 8.
246. Welling, A. Molecular control of cold acclimation in trees / A. Welling, E.T. Palva // Physiologia Plantarum. – 2006. –№ 127. – P. 167–181.
247. Waters, E. R. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants / E. R. Waters, G. J. Lee, E. Vierling // Journal of Experimental Botany. – 1996. – Vol. 47 (3). – P. 325–338.
248. West, J. D. Dynamics of stomatal patches for a single surface of *Xanthium strumarium* L. leaves observed with fluorescence and thermal images / J. D. West, D. Peak, J. Q. Peterson, K. A. Mott // Plant, Cell, Environment. – 2005. – Vol. 8 (5). – P. 633–641.
249. Woolley, T. A review of logistic regression models used to predict post–fire tree mortality of western North American conifers/ T. Woolley, D. C. Shaw, L. M. Ganio, S. Fitzgerald // International Journal of Wildland Fire. – 2011. – Vol. 21(1). – P. 1–35.
250. Wildfire Hazards, Risks, and Disasters. Hazards and Disasters Series. / Editor Douglas Paton. – Elsevier.– USA. – 2015. - 271 p.

251. Wirth, C. Beyond annual budgets: carbon flux at different temporal scales in fire-prone Siberian Scots pine forests / C. Wirth, C.I. Czimeczik, E.-D. Schulze // *Tellus*. – 2002. – № 54. – P. 611–630.

252. Yadegarnejad, A. Surface wildfire in conifer broad-leaved forests of the Hyrcanian region of Iran: short-term effect on regeneration and damage to trees / A. Yadegarnejad, M. D. Jafarabad, N. M. Savadkoochi // *Journal of Forestry Research*. – 2015. – Vol. 26. – P. 425–434.

253. Zietkiewicz, S. Successive and synergistic action of the Hsp 70 and Hsp 100 chaperones in protein disaggregation / S. Zietkiewicz, J. Krzewska, K. Liberek // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – №279. – P. 44376–44383.

254. Zhang, L. Genome-wide analysis and expression profiling under heat and drought treatments of HSP70 gene family in soybean (*Glycine max* L.) / L. Zhang, H.K. Zhao, Q.L. Dong, Y.Y. Zhang, Y.M. Wang, H.Y. Li, G.J. Xing, Q.Y. Li, Y.S. Dong // *Front. Plant Sci.* – 2015. – № 6. – P. 773.