

Минобрнауки России
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр Российской академии наук»
(КарНЦ РАН)

На правах рукописи

Климова Анна Владимировна

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
об основных результатах научно-квалификационной работы (диссертации)
на тему: МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИЙ ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ К
ПОСЛЕДСТВИЯМ ЛЕСОХОЗЯЙСТВЕННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ:
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ

подготовленной в соответствии с требованиями
Федерального государственного образовательного стандарта
высшего образования по направлению 06.06.01. Биологические науки
(уровень подготовки кадров высшей квалификации)

Научный руководитель:
главный научный сотрудник лаборатории физиологии и цитологии древесных растений
ИЛ КарНЦ РАН,
доктор биологических наук,
Галибина Н.А.

Петрозаводск, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
Основная часть	6
Объекты и методы исследования.....	6
Результаты исследования.....	7
Краткосрочная реакция ФА на воздействие измененных факторов среды – показатели флуоресценции хлорофилла <i>a</i> и состав фотосинтетических пигментов	8
Генерация АФК при фотохимических процессах и система их детоксикации	10
Влияние адаптаций ФА и работы АОС на метаболический статус хвои	14
Долговременная реакция ФА на воздействие измененных факторов среды – показатели флуоресценции и состав фотосинтетических пигментов.....	18
Долговременная реакция на воздействие измененных факторов среды – генерация АФК и система их детоксикации	19
Активность экспрессии генов устьичного развития и их влияние на формирование эпидермиса хвои	20
Влияние перестроек на уровне ФА на анатомическое строение тканей ствола.....	22
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	24
ВЫВОДЫ	26
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	27

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Для повышения продуктивности древостоев существует ряд лесохозяйственных мероприятий, направленных на реализацию потенциала максимального прироста древесины в определенных условиях местопроизрастания. Одним из таких мероприятий являются рубки ухода, где повышение прироста происходит за счет оптимизации густоты древостоя. Благодаря регулированию породного состава насаждений при проведении рубок ухода, можно формировать высокопродуктивные насаждения, состоящие из целевых древесных пород, обладающих наибольшей востребованностью в лесной промышленности конкретного региона. Лесоводственная эффективность рубок ухода показана в многочисленных публикациях отечественных и зарубежных авторов (Сеннов, 1977; Juodvalkis et al., 2005; Aun et al., 2021 и др.).

Однако первоначальные реакции на рубки ухода не всегда положительно сказываются на состоянии хвойного подроста и могут приводить к временному торможению скорости роста растений, обесцвечиванию и опадению хвои, гибели отдельных побегов или всего дерева (Mård 1997; Weiskittel et al., 2007; Sharm et al., 2012). Такие негативные реакции связаны с резким изменением условий среды, в первую очередь освещенности, а также изменением температуры и влажности воздуха и почвы, количеством осадков, усилением скорости ветра (Чибисов и Нефедова, 2003; Wang et al., 2010; Aosaar et al., 2023). Повышение уровня ФАР (физиологически активной радиации), вызванного рубками ухода, в первую очередь оказывают непосредственное влияние на фотосинтетический аппарат (ФА) растений и, в связи с этим, на донорно-акцепторные отношения ФА и тканей ствола. В условиях высокой освещенности антенная система ФА неакклиматизированной к новым условиям хвои обеспечивает избыточный приток фотонов в реакционный центр (РЦ) фотосистемы (ФС) II, что может привести к фотоингибированию и вызывает генерацию активных форм кислорода (АФК) (Niemistö et al. 2021, Lapenis et al. 2022).

Существуют различные механизмы, предотвращающие фотоингибирование и фотоповреждение неакклиматизированной хвои: (1) повышение нефотохимического тушения (NPQ) (Müller et al. 2001); (2) перестройка пигментного комплекса (Gnojek, 1992; Dumova et al. 2010); (3) изменение активности ферментов антиоксидантной системы (АОС) в ответ на образование АФК (Mittler, 2017). Повышение активности ферментов АОС – универсальная реакция растений на интенсивно образующиеся АФК. Супероксиддисмутаза (СОД) запускает реакцию дисмутации супероксидного радикала с образованием пероксида водорода (H_2O_2), который, в свою очередь, нейтрализуется пероксидазой (ПОД) или

каталазой (КАТ) (Nimse, S.B., 2015). ПФО (полифенолоксидаза) катализирует окисление фенолов до хинонов и участвуют в детоксикации АФК. Также важную роль в работе АОС играют различные фенольные соединения, синтезирующиеся из коричной кислоты, поступающей из реакции фенилаланина и ФАЛ (фенилаланинаммиак-лиаза). Увеличение доли фенилпропановидного пути и как следствие концентрации фенольных соединений может выступать своеобразным маркером при изменении внешних условий среды (Sakihama, Yamasaki, 2002).

В связи с этим, понимание механизмов, позволяющих растениям акклиматизироваться к новым условиям среды, позволит подбирать наиболее оптимальные методы лесного хозяйства (в том числе сроки и интенсивность рубок ухода) для конкретного региона с учетом локальных климатических условий, прогнозировать реакцию подроста на них и в короткие сроки оценить эффективность этих лесохозяйственных мероприятий.

С целью изучения адаптационных возможностей фотосинтетического аппарата десятилетнего подроста ели европейской к последствиям лесохозяйственных мероприятий (рубки ухода с полным удалением листовенных пород) были поставлены следующие **задачи**:

1. выявить перестройки пигментного комплекса (хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, каротиноиды, соотношение *a/b*, размер светособирающего комплекса) и изменение показателей флуоресценции хлорофилла *a* в хвое разных лет жизни растений ели европейской в ответ на изменение условий произрастания (ФАР, влажность и температура) после проведения рубки ухода;
2. исследовать содержание АФК (супероксид анион, пероксид водорода) и активность ферментов АОС (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, полифенолоксидаза) в хвое текущего года и в однолетней хвое контрольных и опытных растений ели европейской;
3. изучить у контрольных и опытных растений ели европейской метаболический статус хвои разных лет жизни, включающий содержание сахаров (сахароза, глюкоза, фруктоза), крахмала, фенольных соединений, активность ферментов метаболизации сахарозы (инвертазы, сахарозосинтаза) и фенилаланинаммиак-лиазу;
4. оценить количество устьиц и экспрессию генов устьичного развития (*SPCH* и *FAMA*) в хвое текущего года и в однолетней хвое у подроста ели европейской в ответ на изменение условий среды после проведения рубок ухода;

5. оценить краткосрочную (сутки, две и пять недель после осветления) и долговременную (спустя год после осветления) реакцию подростка ели на рубки ухода (полное удаление листовенных пород).

Теоретическая и практическая значимость работы

Впервые дана комплексная оценка подростка ели европейской на рубки ухода (полное удаление листовенных пород), включающая (1) характеристику показателей фотохимических процессов; (2) динамику содержания АФК (супероксид анион, пероксид водорода) и активности ферментов АОС (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, полифенолоксидаза; (3) содержание неструктурных сахаров, фенольных соединений, активность ферментов метаболизма сахарозы и ключевого фермента фенилпропаноидного пути; (4) изменение количества устьиц и экспрессии генов устьичного развития. Дана оценка краткосрочной (два дня, две и пять недель после осветления) и долговременной (спустя год после осветления) реакции подростка ели на рубки ухода. Выявленные закономерности могут помочь при подготовке рекомендаций по проведению лесоводственных работ с целью формирования высокопродуктивных древесных насаждений.

Научно-квалификационная работа выполнена на базе лаборатории физиологии и цитологии древесных растений и лаборатории аналитической Института леса Карельского научного центра Российской академии наук.

Основная часть

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования был выбран 10-летний подрост ели европейской *Picea abies* (L.) H.Karst., произрастающий под пологом 10-летних лиственных деревьев (в особенности осины) в средней подзоне тайги. После проведения в средневозрастном ельнике черничном сплошной рубки сформировался густой подрост, состоящий, в основном, из осины (70 %) и ели (30 %). Для исследования физиолого-биохимических изменений, происходящих под влиянием рубок осветления, было заложено 12 постоянных круговых пробных площади (КПП) радиусом 4 м (50 м²). Из них выделено 6 – опытных и 6 – контрольных КПП (рис. 1). Район проведения эксперимента: Республика Карелия, Пряжинский район, станция Падозеро. На опытных КПП в июне 2022 г. были вырублены все лиственные породы, образующие полог. К этому времени у осины лист распустился на 100 %, у ели шло формирование хвои текущего года (масса хвои текущего года составила 50–60 % от массы хвои первого года; длина – 70–80% от длины хвои первого года).

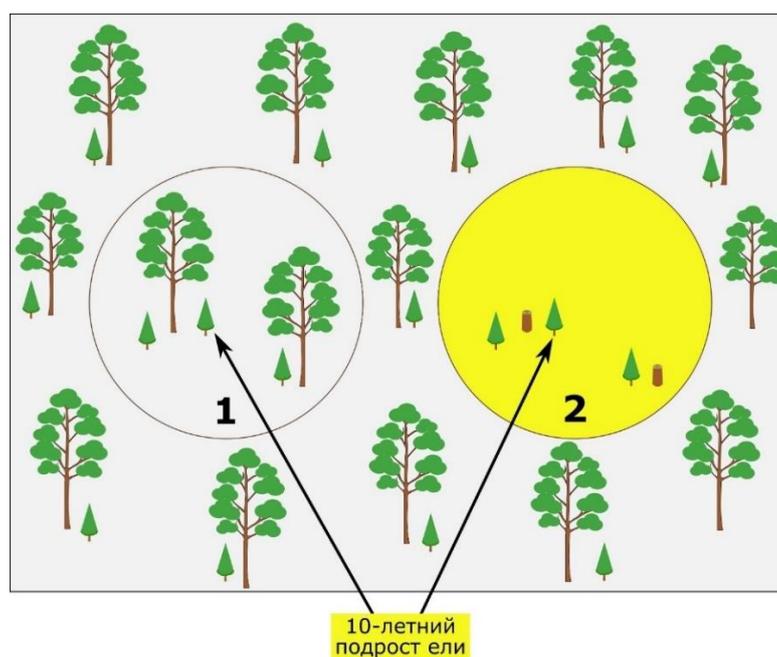


Рисунок 1. Схематическое изображение контрольных (1) и опытных (2) круговых пробных площадок (КПП). На опытных КПП в июне 2022 года удалены все лиственные породы.

Для проведения биохимических и молекулярно-генетических исследований производили отбор образцов хвои текущего года и однолетней хвои в разные фазы вегетационного периода: 21.06.2022 – до осветления; 23.06.2022 – спустя 2 суток после осветления; 08.07.2022 – через 2 недели после осветления в период активного камбиального

роста; 04.08.2022 – через 5 недель после осветления в период завершения ростовых процессов. Образцы древесины ствола отбирали в период активного камбиального роста (8.07.2022 года) и в конце вегетационного периода (20.09.2022 года). Хвою отбирали со всех растений ели, находящихся на КПП. В 2023 году исследовали долгосрочную реакцию на изменившиеся условия, отбор образцов происходил в те же вегетационные фазы, что в первый год эксперимента: 14.06.2023, 12.07.2023 и 8.08.2023.

Интенсивность фотосинтетически активного излучения (ФАР) измеряли в астрономический полдень в ясную и облачную погоду на опытных и контрольных КПП с использованием системы PAR LI-250Q (Li-Cor, США). Биохимические исследования проводили по общепринятым методикам с модификациями (Ershova et al., 2022; Nikerova et al., 2022). Измерения показателей флуоресценции хлорофилла *a* были проведены с использованием флуориметра с импульсно-модулированным освещением (FluorPenFP 110, PSI, Чехия) на хвое текущего года и однолетней после 30-минутной темновой адаптации (Katanić et al., 2012; Zivcak et al., 2014).

Результаты исследования

Образовавшийся избыток освещенности наряду с другими экологическими факторами оказал непосредственное влияние на метаболический статус хвои. Так, разница условий освещенности (ФАР) между контрольными (неосветленными) и опытными (осветленными) составляет до более 5 раз в разные периоды проводимых отборов образцов (рис. 2). При этом стоит отметить, что эта разница сохраняется как облачную погоду, так и в ясную. Так, в ясную погоду в период активного роста растений значение ФАР на осветленных участках составлял $1534,87 \pm 208,64$ мкмоль·м⁻²·с⁻¹, что в 5,4 раза больше, чем значение ФАР на неосветленных участках – $284,06 \pm 141,35$ мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Также было выявлено существенное влияние температурного фактора: среднесуточная амплитуда температуры выше на осветленных участках, чем на контрольных. Это указывает на относительно более стабильные температурные условия в контроле, в сравнении с опытными КПП.

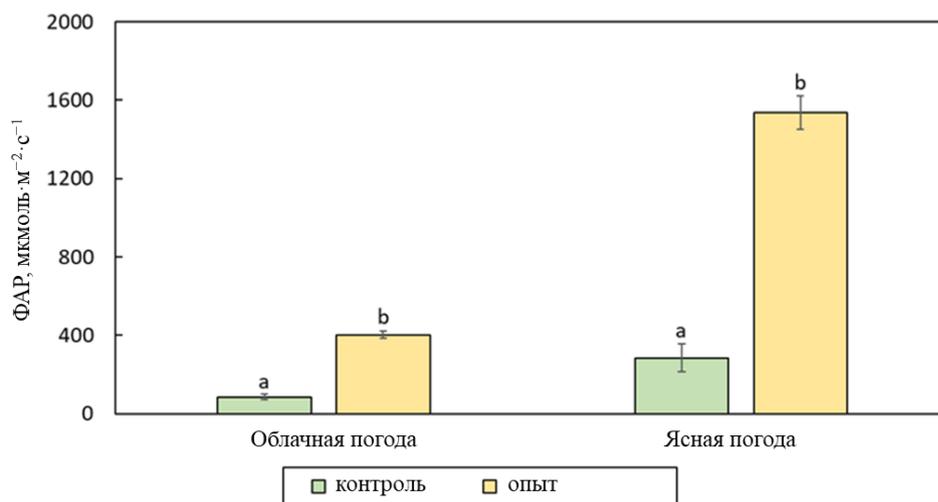


Рисунок 2. Интенсивность фотосинтетически активной радиации после рубки ухода на контрольных и опытных пробных площадках. Разные буквы указывают на достоверные различия между контрольными и опытными КПП ($p < 0,05$).

Краткосрочная реакция ФА на воздействие измененных факторов среды – показатели флуоресценции хлорофилла *a* и состав фотосинтетических пигментов

Резкое изменение абиотических факторов среды вынуждает растение адаптировать процессы фотосинтеза во избежание фотохимических повреждений. Через двое суток после проведения рубки ухода (23 июня) у опытных растений не было отмечено достоверно значимых изменений в содержании фотосинтетических пигментов (Хл *a* и *b*, Кар), а также их соотношении (рис.3).

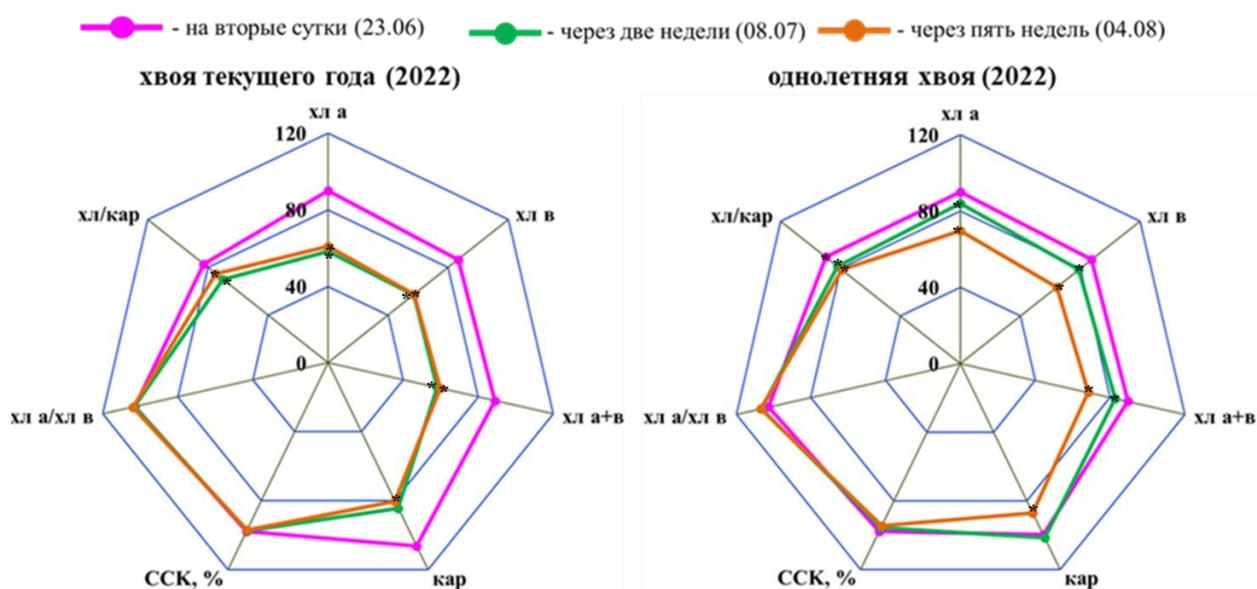


Рисунок 3. Относительное изменение (% от контроля) содержания фотосинтетических пигментов в первый вегетационный сезон после проведения рубок

осветления. * отмечены параметры, средние значения которых достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

При значительном повышении интенсивности освещения (в 5 раз) антенная система обеспечивает избыточный приток фотонов в реакционный центр ФС II. Однако показано, что пигментный аппарат не успевает перестроиться в течении суток, и избыточная энергия в таком количестве не может дальше быть передана по ЭТЦ.

Через двое суток после вырубки скорость захвата энергии возбуждения одним РЦ (TR_0/RC) значимо не изменилась (рис. 4), а транспорт электронов через один активный РЦ (ET_0/RC) существенно снизился. Это указывает на снижение транспорта электронов за пределы Q_A^- и снижение фотосинтетической способности хвои (Kumar et al., 2022). В связи с этим также была отмечена тенденция к снижению эффективного квантового выхода ФС II ($Y(II)$), что косвенно указывает на снижение скорости фотосинтеза (Murchie and Ruban, 2020). Снижение транспорта электронов у растений при повышенной освещенности было связано с увеличением количества энергии, рассеиваемой одним реакционным центром (DI_0/RC). Снижение DI_0/RC с частичной дезактивацией РЦ ФС II используется как защитный механизм от фотоокислительного повреждения (Murchie and Ruban, 2020).

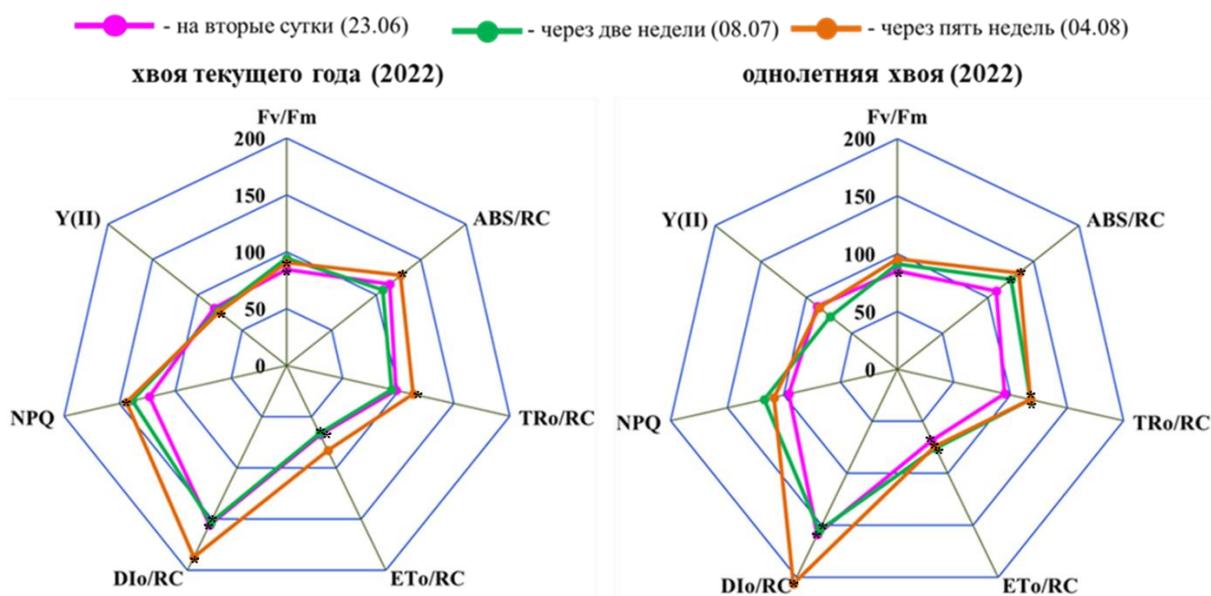


Рисунок 4. Относительное изменение (% от контроля) некоторых показателей флуоресценции хлорофилла а в первый вегетационный сезон после проведения рубок осветления. Fv/Fm , – максимальная фотохимическая эффективность ФС II; ABS/RC – поглощение и TR_0/RC – захват энергии возбуждения, ET_0/RC – транспорт электронов и DI_0/RC – диссипация избыточной поглощенной энергии на один активный, т.е. Q_A^- восстанавливающий РЦ ФСII; NPQ – нефотохимическое тушение, $Y(II)$ – эффективный

квантовый выход ФС II. * отмечены параметры, средние значения которых достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$)

В эксперименте через двое суток не было отмечено увеличение нефотохимического тушения (NPQ) – механизма, предотвращающего передачу энергии возбуждения от молекул хлорофилла антенны к РЦ (рис 4). Это, вероятно, приводит к генерации АФК (в первую очередь O_2^- , который затем дисмутирует в H_2O_2) и повреждению ФС II (Vass, 2012). Повышение уровня освещенности через двое суток вызвало снижение максимальной фотохимической эффективности ФС II (Fv/Fm), что указывает на повреждение структуры и функции ФС II (Adams and Demmig-Adams, 2004). Фотоповреждение было связано с ингибированием акцепторной стороны ФС II.

При рассмотрении исследуемых показателей в течении вегетационного сезона в целом отмечалась адаптация к условиям повышенной освещенности. Так, через две недели после вырубki отмечалась перестройка пигментного комплекса (рис. 3). Было отмечено снижение содержания Хл *a* в хвое текущего года и в однолетней хвое в опыте в сравнении с контролем. Снижение содержания фотосинтетических пигментов является одним из механизмов акклиматизации к увеличению освещенности (Gnojek, 1992; Dymova et al. 2010). Доля каротиноидов относительно общего содержания хлорофиллов после проведения осветления увеличилась, что при сохранении отношения Хл *a/b*, позволяет защищать ФА от избыточного освещения (Дымова, Головки, 2007).

Достоверно значимое увеличение NPQ (144,1 % от контроля) после рубок осветления было выявлено только у хвои текущего года. Значения ET_0/RC оставались низкими до конца вегетационного сезона у однолетней хвои; у хвои текущего года через полтора месяца (4 августа) было отмечено постепенное восстановление ET_0/RC . DI_0/RC была значительно выше у растений на осветленных участках, по сравнению с контролем – около 200 % от контроля. Также в этот период отмечается постепенное восстановление Fv/Fm у хвои текущего года и у однолетней до контрольных значений.

Генерация АФК при фотохимических процессах и система их детоксикации

Отмеченное через два дня после проведения рубки ухода ингибирование переноса электронов на акцепторной стороне ФС II, а затем уже и на донорной стороне ФС II, возможно, могло привести к повышению генерации АФК (Vass, 2012) и изменению активности ферментов АОС (ApeI, 2004; Foyer, 2009). Однако через двое суток после проведения рубки ухода было отмечено достоверно значимое снижение (более чем в 2 раза) содержания супероксид-аниона (рис. 5) в хвое текущего года. При этом избыточная

освещенность также повлияла на содержание пероксида водорода в хвое текущего года – было отмечено достоверно значимое повышение в опыте. Крайне важным показателем для предотвращения окислительного стресса является соотношение активных форм кислорода, нежели их содержание. Так, соотношение пероксида водорода к супероксид-аниону возросло в несколько раз в ответ на изменившиеся условия. При этом для однолетней хвои не было отмечено изменений в содержании исследованных активных форм кислорода и их соотношении в ответ на изменившиеся условия среды.

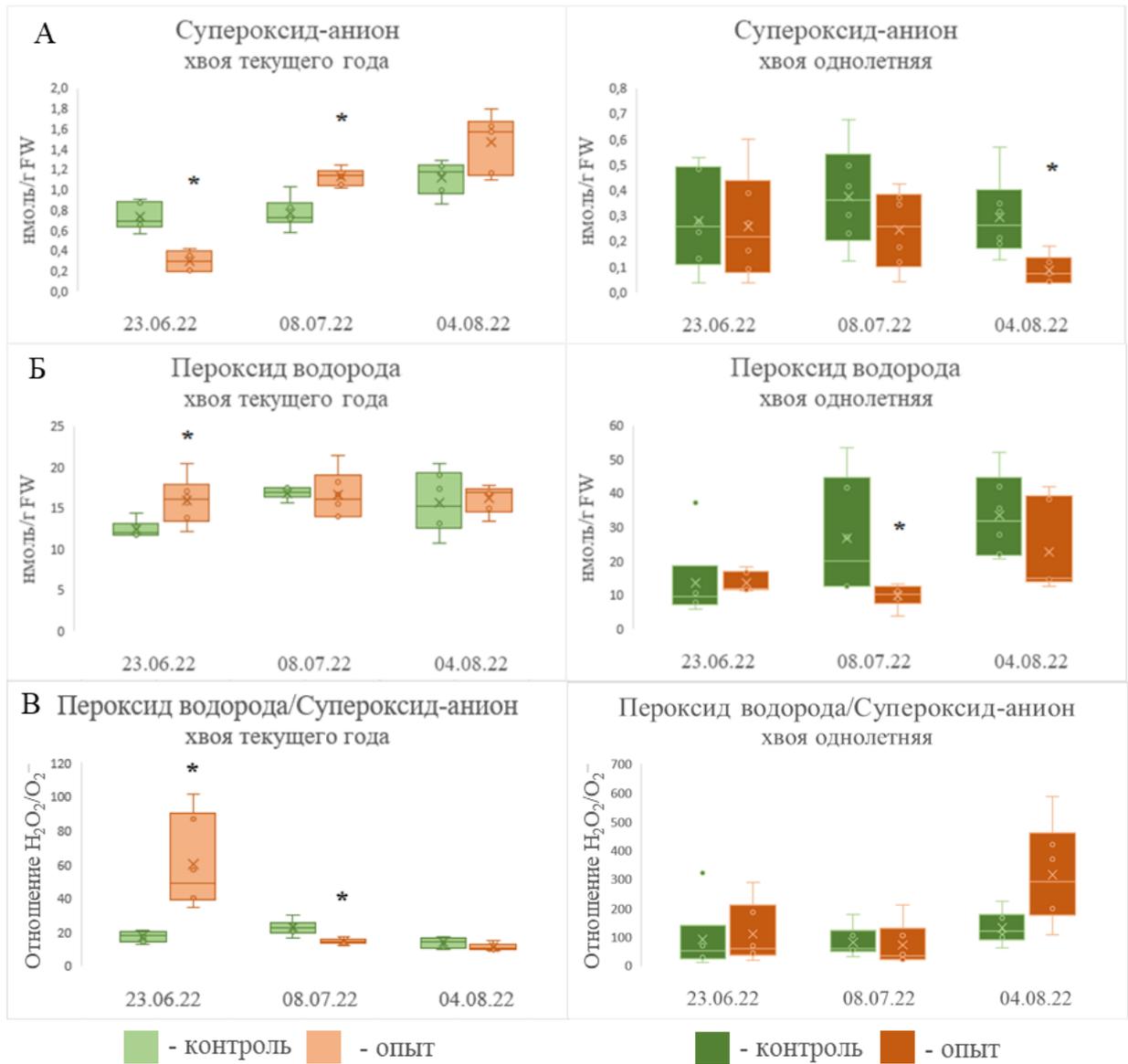


Рисунок 5. Содержание супероксид-аниона (А) и пероксида водорода (Б), соотношение содержания пероксида водорода к содержанию супероксида аниона (В) в хвое подроста ели текущего и первого года, растущих на контрольных (зеленый цвет) и опытных (оранжевый цвет) участках через два дня (23.06), две недели (08.07) и полтора месяца

(04.08) после проведения рубок ухода. * *отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).*

Таким образом, снижение содержания супероксид-аниона и повышение содержания пероксида водорода через двое суток в хвое текущего года у растений при повышенной освещенности говорит о более активном участии СОД (рис.6) в утилизации образовавшегося супероксид-аниона с образованием пероксида водорода, что сопровождается тенденцией на повышение активности СОД. Однолетняя хвоя, напротив, на первом этапе защиты оказалась более устойчивой к изменившимся условиям, реагируя на них повышением активности СОД (рис. 7) и снижением активности ПФО без изменения содержания и соотношения исследуемых форм АФК (рис. 5). Для однолетней хвои было отмечено изменение соотношения СОД/КАТ (в опыте выше в два раза), что указывает на более активную работу по нейтрализации O_2^- , со стороны СОД в условиях повышенной освещенности. Также показано, что ПФО, вероятно, не получает в достаточной степени свой субстрат – кислород (Vaughn, Duke, 1984), за счет его превращения в супероксид-анион и это, в свою очередь, приводит к снижению активности ПФО через два дня после вырубki (Креславский и др. 2012; Никерова, 2021).

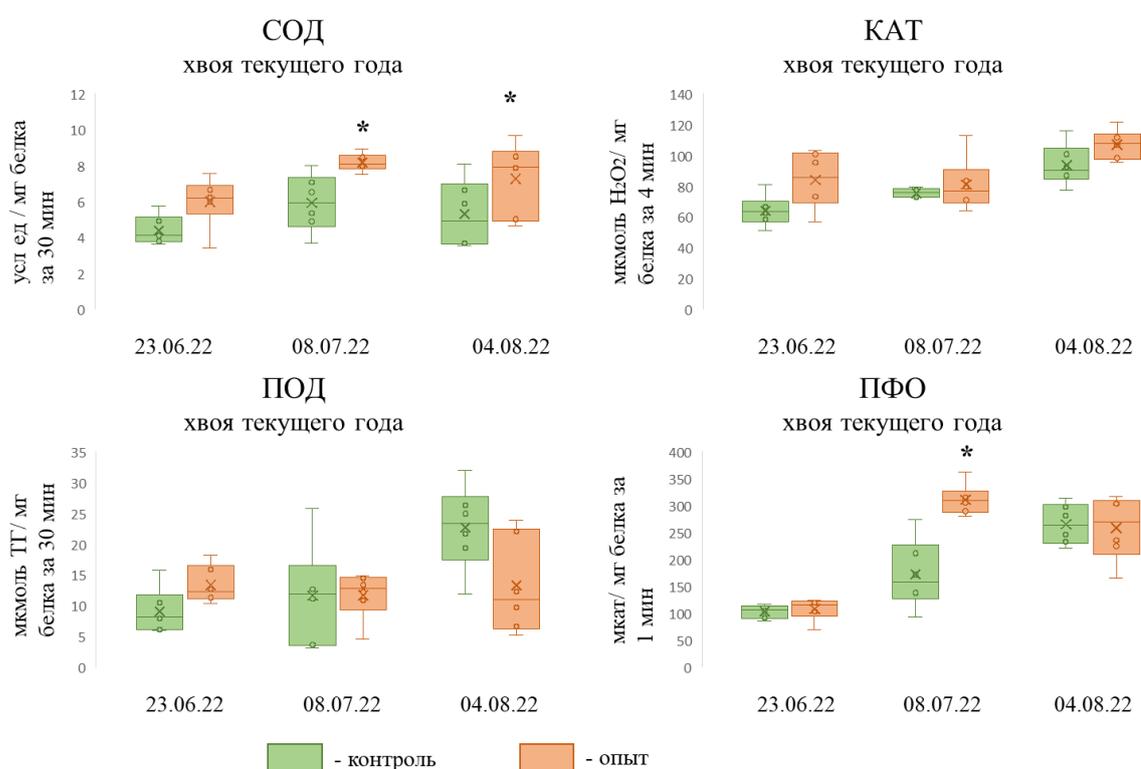


Рисунок 6. Содержание ферментов АОС (СОД, КАТ, ПОД, ПФО) в хвое подростка текущего года, растущей на контрольных и опытных участках через два дня (23.06), две недели (08.07) и полтора месяца (04.08) после проведения рубок ухода. * *отмечены*

значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

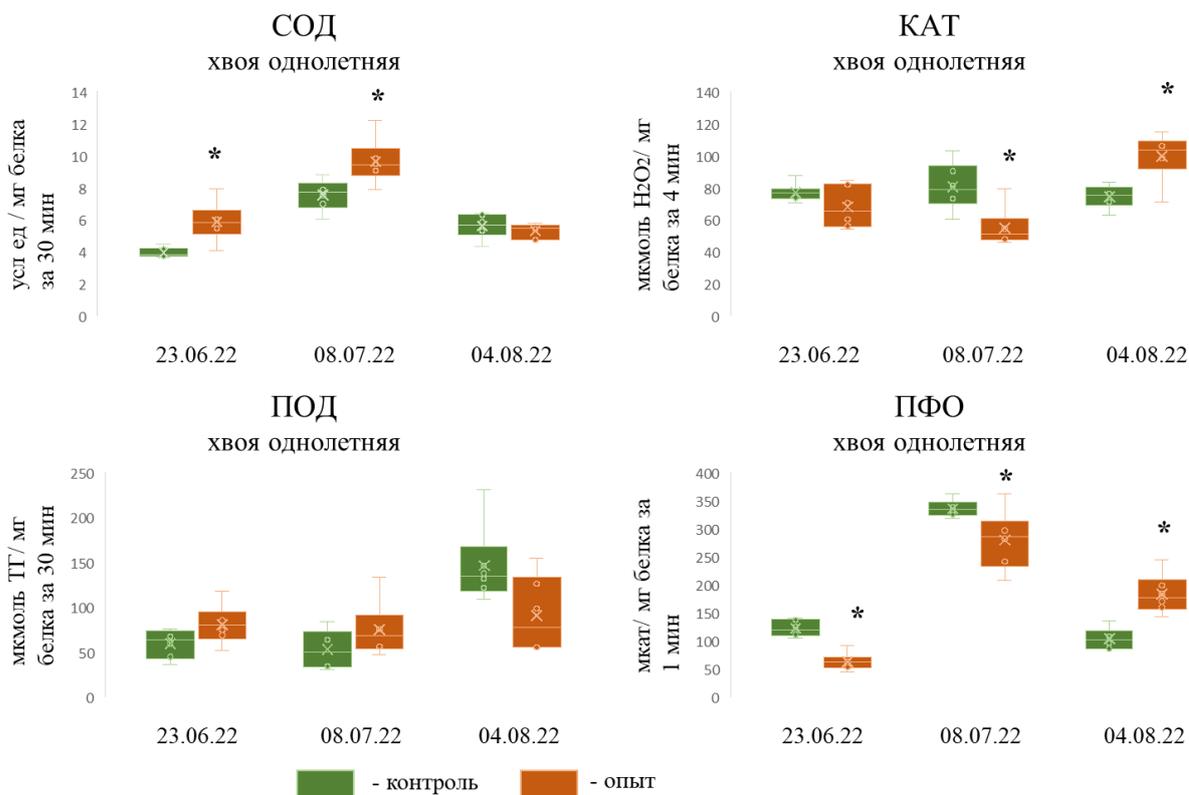


Рисунок 7. Содержание ферментов АОС (СОД, КАТ, ПОД, ПФО) в однолетней хвое подростка ели, растущей на контрольных и опытных участках через два дня (23.06), две недели (08.07) и полтора месяца (04.08) после проведения рубок ухода. * отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Отмеченное для хвои текущего года снижение содержания супероксид-аниона через две недели компенсируется его возрастанием и изменением соотношения форм АФК, связанное с возрастанием интенсивности работы СОД, использующего супероксид-анион в качестве субстрата для своих реакций. Для однолетней хвои через две недели было зафиксировано снижение содержания пероксида водорода, а через полтора месяца снижение содержания супероксид-аниона у растений, подвергшихся избыточному освещению, что говорит о большей стабильности протекания биохимических реакций уже сформированной хвои по отношению к формирующейся.

Рассмотрение более длительного ответа изучаемых растений показало изменение работы ферментов АОС, отмечающееся спустя две недели и полтора месяца после проведения рубок ухода. Начиная с периода активного роста, у хвои текущего года

активность СОД значительно возросла в опыте в сравнении с контролем. Также возросла и активность ПФО почти в 2 раза в опыте в сравнении с контролем, что указывает на их совместное участие в перераспределении кислорода и супероксид-аниона (Camejo, D., 2016, Креславский и др. 2012). При этом ближе к концу вегетационного сезона активность СОД все еще остается высокой, в то время как активность ПФО уже не отличается от контрольных значений.

В однолетней хвое через две недели после проведения рубок ухода взаимосвязь активностей изучаемых ферментов АОС изменяется: активность СОД повышается, при этом отмечается снижение активности ПФО, которая возрастает к периоду завершения ростовых процессов, при этом активность СОД не изменяется. Значительное повышение активности ПФО предотвращает ингибирование циклического и/или нециклического фотофосфорилирования фенольными соединениями, используя их в качестве субстратов. (Steffens, 1994; Никерова, 2021). Повышение активности КАТ в опыте к концу вегетационного сезона говорит об ее участии в утилизации избытков перекиси, образованных при работе СОД в период активного камбиального роста (через 2 недели после рубки). Обнаруженные закономерности могут свидетельствовать о временной разобщенности активностей изучаемых ферментов.

Таким образом, наибольшие изменения в антиоксидантном статусе были отмечены для однолетней хвои, в то время как хвоя текущего года за счет постепенной адаптации фотосинтетического аппарата к периоду завершения ростовых процессов не имела существенных повреждений в ФА (ФС I и ФС II, а также в ЭТЦ).

Влияние адаптаций ФА и работы АОС на метаболический статус хвои

Изменение условий освещения, влияя на активность фотохимических процессов, оказало влияние на содержание метаболитов углеводной природы и активностей ферментов, участвующих в их метаболизации. Однако через два дня после проведения рубки активизации апопластного пути расщепления сахарозы не было зафиксировано. Так, для хвои текущего года было отмечено достоверно значимое снижение в 2 раза активности АпИнв (рис. 8) в ответ на повышение уровня освещения. В этот же период не было выявлено изменений в содержании сахаров у хвои текущего и первого года, так как изменения на уровне ФА еще не успели оказать влияние на метаболический статус хвои (рис. 8, рис. 9).

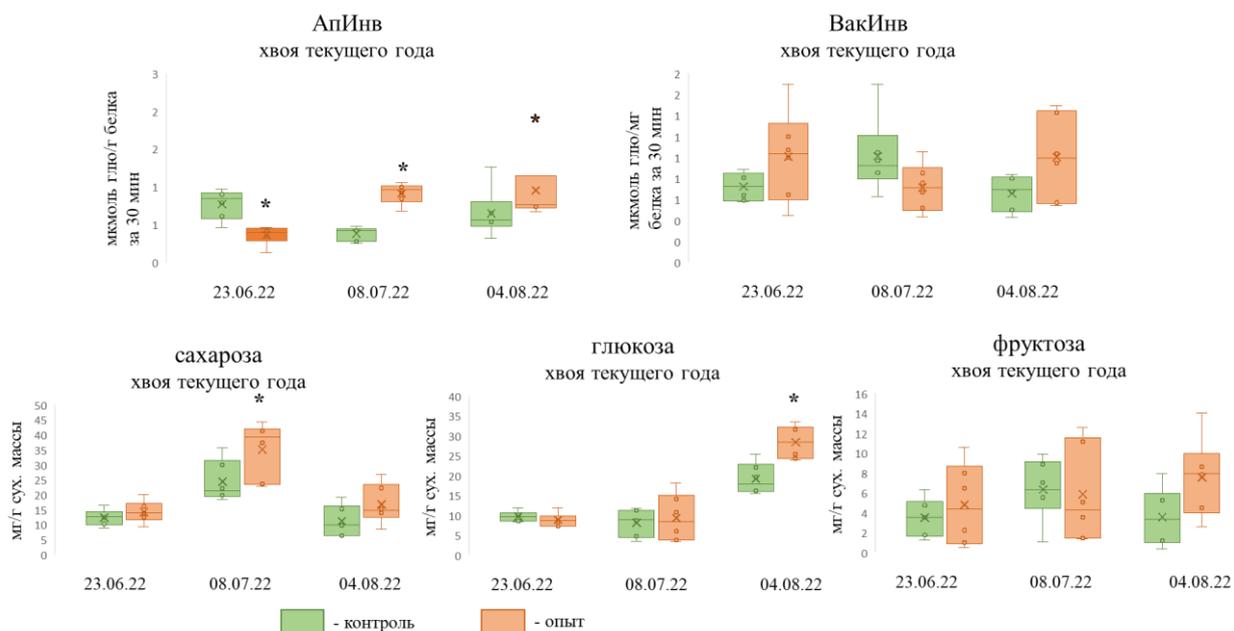


Рисунок 8. Содержание сахаров (сахароза, глюкоза, фруктоза) и ферментов, участвующих в их метаболизации (АпИInv – апопластная инвертаза, ВакИInv – вакуолярная инвертаза), в хвое подростка ели текущего года, растущей на контрольных и опытных участках через два дня (23.06), две недели (08.07) и полтора месяца (04.08) после проведения рубок ухода. * отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

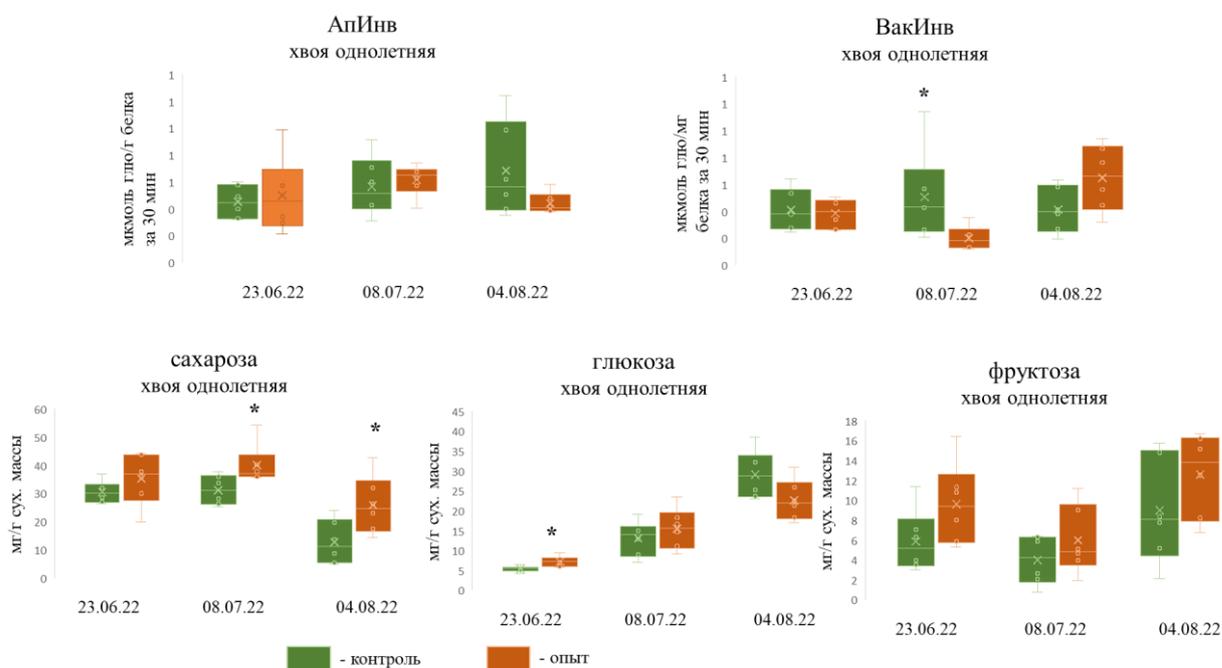


Рисунок 9. Содержание сахаров (сахароза, глюкоза, фруктоза) и ферментов, участвующих в их метаболизации (АпИInv – апопластная инвертаза, ВакИInv – вакуолярная инвертаза), в однолетней хвое подростка ели, растущей на контрольных и опытных участках

через два дня (23.06), две недели (08.07) и полтора месяца (04.08) после проведения рубок ухода. * *отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).*

Спустя две недели после проведения осветления у хвой текущего года в период активного камбиального роста наблюдается возрастание содержания сахарозы в ответ на повышение уровня освещения. При этом ранее сниженная активность АпИнв возрастает в ответ на увеличение освещенности, участвуя в усилении метаболизации сахарозы. В период завершения ростовых процессов поддержка высокой активности АпИнв сопровождается активным гидролизом сахарозы, о чем также говорит увеличение в 1,5 раза содержания глюкозы в опыте. Вероятно, происходит усиление пути синтеза прекурсоров фенольной природы и АФК за счет реакций гексоз в циклах Кребса, ПФЦ, гликолиза, так как одновременно наблюдается повышение активности ферментов АОС (Couée et al., 2006; Wellen, Thompson, 2010).

У однолетней хвой через две недели после проведения осветления было отмечено повышение концентрации сахарозы в сравнении с контролем, сопровождавшееся снижением активности ВакИнв. При этом к концу вегетационного сезона концентрация сахарозы все еще оставалась достаточно высокой, в то время как изменений в активности работы исследованных ферментов, участвующих в превращениях сахаров (АпИнв, ВакИнв) не было отмечено (Никерова, 2022).

Изменение условий освещения сказалось на содержание крахмала у хвой текущего года только к периоду завершения ростовых процессов (рис.11). При этом было отмечено значительное запасание (превышение в 10 раз) крахмала в хвое в опыте в сравнении с контролем. Для однолетней хвой характерно высокое содержание крахмала в начале вегетационного сезона, которая затем используется в метаболических реакциях. Отмечено, что при повышенной освещенности отток крахмала из хвой замедлился и к периоду завершения ростовых процессов был в 4,3 раза выше, чем в контроле.

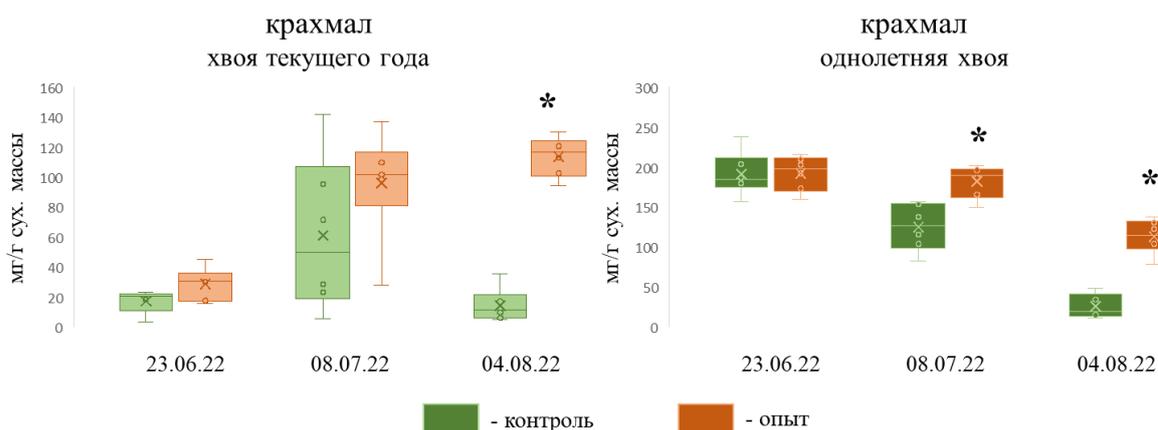


Рисунок 10. Содержание крахмала в хвое текущего года и однолетней, растущей на контрольных и опытных участках через два дня (23.06), две недели (08.07) и полтора месяца (04.08) после проведения рубок ухода. * отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Таким образом, увеличение содержания сахаров через две недели после проведения рубок ухода и далее в течение вегетационного сезона, а также накопление крахмала в хвое связано с постепенной адаптацией ФА к новым условиям и, вызванным повышенной освещенностью, увеличением скорости фотосинтетических процессов и, приводящим соответственно, к увеличению скорости синтеза метаболитов. Такое запасание метаболитов в хвое, вероятно, приводит к замедленному оттоку метаболитов от ассимилирующих органов к тканям ствола и в корневую систему в условиях повышенной освещенности.

Важнейшее значение в адаптации растений к изменяющимся условиям имеет фенилпропаноидный путь синтеза фенольных соединений, в ходе которого при участии ФАЛ фенилаланин превращается в коричную кислоту. В эксперименте было показано, что ФАЛ значительно не изменяется (рис. 11) через двое суток при воздействии повышенной освещенности, что, в свою очередь, не способствовало повышению активности ПФО и ПОД, использующих фенольные соединения в качестве субстратов. К периоду завершения ростовых процессов для хвои текущего года отмечено значительное снижение активности ФАЛ в опыте, вероятно, приводящее к снижению фенилпропаноидного пути (Загоскина и др., 2023). Кроме того, обнаруженное через сутки после проведения рубок ухода у однолетней хвои снижение содержания фенольных соединений также подтверждает отсутствие субстратов вторичной природы.

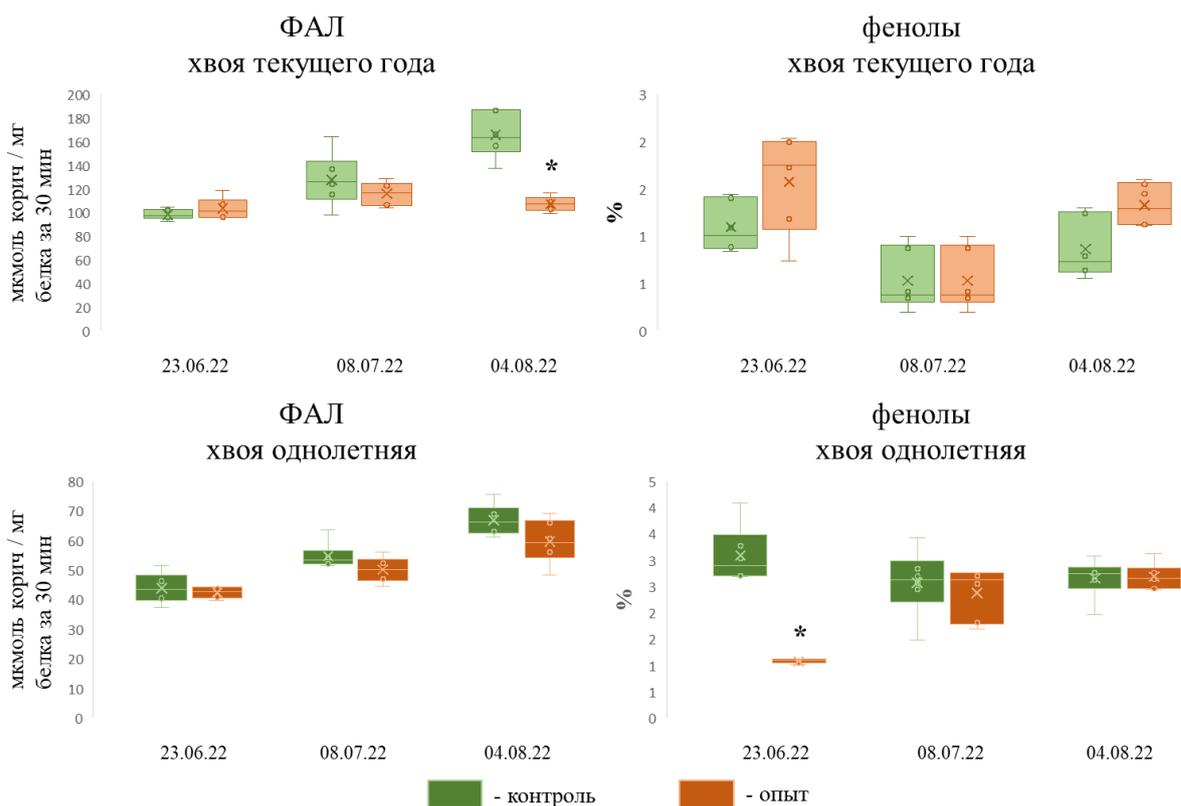


Рисунок 11. Активность ФАЛ и содержание фенолов в хвое текущего года и однолетней, растущей на контрольных и опытных участках через два дня (23.06), две недели (08.07) и полтора месяца (04.08) после проведения рубок ухода. * отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Долговременная реакция ФА на воздействие измененных факторов среды – показатели флуоресценции хлорофилла *a* и состав фотосинтетических пигментов

Содержание фотосинтетических пигментов в хвое и их соотношение во второй вегетационный сезон (2023 год) – через год после проведения рубок осветления – отражает акклиматизацию хвои к новым условиям освещения. У растений ели, растущих влиянием повышенного освещения, отмечалась тенденция к более низкому содержанию хлорофиллов *a* и *b*, снижение отношения хлорофиллов к каротиноидам и уменьшение отношения *a/b*. Также в начале вегетационного сезона у хвои второго и третьего годов жизни на опытных участках отмечается снижение доли хлорофилла *b* (увеличение отношения хл *a/хл b*). Эти изменения на уровне пигментного состава приводят к меньшему поглощению световой энергии в условиях увеличенной освещенности и позволяют избежать фотоингибирования путем уменьшения количества поглощаемого света (Думова et al. 2010; Креславский, 2012).

Перестройка в пигментном аппарате привела к балансу между количеством поглощаемой световой энергии и её использованием в фотосинтетических реакциях. Для однолетней и двухлетней хвои не было отмечено различий между опытными и контрольными растениями в значениях показателей, отражающих функциональную активность ФС II, что указывает на их акклиматизацию к новым условиям среды уже через год после проведения рубок осветления.

Через год после проведения рубок ухода не было отмечено существенных различий в значениях F_v/F_m у хвои растений подростка ели, растущих на контрольных участках и на участках, на которых были проведены рубки ухода. Для однолетней и двухлетней хвои не было отмечено влияния повышенного уровня освещенности на показатели, отражающие функциональную активность ФС II, что указывает на их акклиматизацию к новым условиям среды уже через год после проведения рубок осветления. Для хвои текущего года (которая полностью формируется в новых условиях освещения) были отмечены изменения в функциональной активности ФС II между опытными и контрольными растениями: было отмечено увеличение NPQ и DI_0/RC (выступающих в качестве механизма, позволяющего рассеивать избыточно поглощенную энергию и защищать ФА от фотоповреждения) и в результате снижение ET_0/RC и $Y(II)$.

Долговременная реакция на воздействие измененных факторов среды – генерация АФК и система их детоксикации

В начале второго вегетационного сезона было отмечено достоверно значимое повышение содержания супероксид-аниона при воздействии измененных условий как в хвое текущего года, так и в хвое первого года. При этом изменений в содержании пероксида водорода не было выявлено. Такое соотношение и распределение АФК указывает на сбалансированную работу АОС в первом вегетационном сезоне и адаптацию ФА к новым условиям (Креславский, 2012; Hasanuzzaman, 2020; Devireddy, 2021).

Для исследованных ферментов АОС (СОД, КАТ, ПОД, ПФО) в период активных ростовых процессов не было выявлено влияние измененных условий среды на активность во второй вегетационный год после проведения рубки, что говорит об адаптации этих биохимических маркеров в течении первого года эксперимента. Отмеченные различия по активности ферментов между хвоей разного возраста соответствуют метаболическому статусу хвои разных годов. Полученные результаты связаны с перестройкой на уровне пигментного комплекса и на уровне АОС (Креславский, 2012; Hasanuzzaman, 2020; Devireddy, 2021).

При исследовании антиоксидантного статуса хвои, сформированной во второй вегетационный период, на которую повлияли измененные условия еще на стадии ее закладки, было выявлено достоверно значимое отличие по активности КАТ (рис. 12). Повышение активности КАТ указывает на ее роль в утилизации образующейся перекиси (Bakalova et al., 2004; Blackman, 2008) и активном участии в антиоксидантной защите (Креславский, 2012; Hasanuzzaman M, 2020; Devireddy A R., 2021)

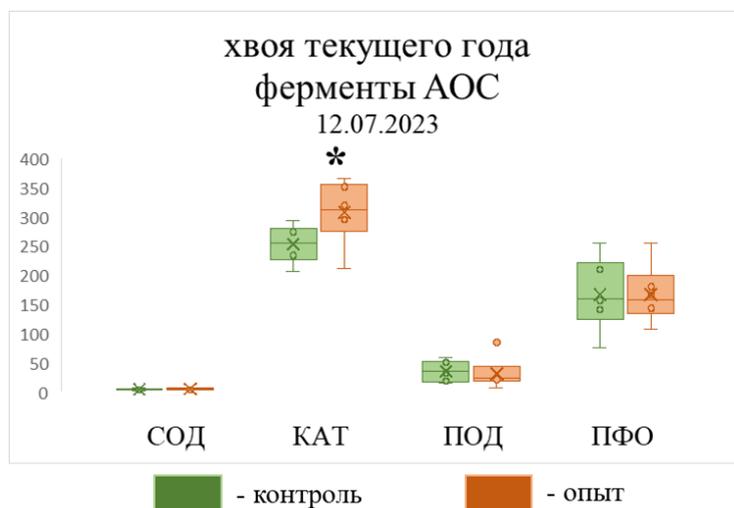


Рисунок 12. Активность ферментов АОС у хвои текущего года (2023), сформированной во второй вегетационный год. СОД – А (усл ед) / мг белка за 30 мин; КАТ – мкмоль H_2O_2 / мг белка за 4 мин; ПОД – мкмоль ТГ / мг белка за 30 мин; ПФО – мкат / мг белка за 1 мин. * отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Активность экспрессии генов устьичного развития и их влияние на формирование эпидермиса хвои

Развитие устьиц – это биохимически регулируемый процесс, в ходе которого меристематические протодермальные клетки претерпевают ряд асимметричных и симметричных делений, формируя эпидермис листа (Zoulas, 2018). Факторы транскрипции семейства bHLH SPCH, MUTE и FAMA выполняют различные функции в процессе устьичного развития. Так, SPCH регулирует образование меристемоидов, MUTE регулирует количество асимметричных делений меристемоидов и дифференцировку в замыкающую материнскую клетку, а FAMA регулирует окончательное симметричное деление.

Относительный уровень экспрессии генов SPCH и FAMA значительно выше (более 150 раз) в хвое текущего года в сравнении с первым (рис. 13). При этом также отмечено, что

у хвои текущего года в период роста и формирования хвои (23 июня 2022 года) уровень экспрессии генов *SPCH* и *FAMA* значительно выше, чем в более поздние периоды (12 июля 2023 года). Достоверно значимо было показано влияние изменившихся условий освещенности на относительный уровень экспрессии *FAMA* – как у хвои текущего, так и у первого года через две недели с момента изменения условий среды было зафиксировано возрастание уровня экспрессии *FAMA*. Вероятно, это могло привести к увеличению скорости окончательного симметричного деления, которое регулирует *FAMA* (MacAlister, 2011). Так, подсчет количества устьиц в хвое (рис. 14), сформировавшейся во второй вегетационный год (2023), показал достоверное увеличение их количества в хвое, произрастающей в опытных условиях (Zoulias, 2018). Таким образом, рубки ухода привели к формированию хвои с большим количеством устьиц уже на второй вегетационный период.

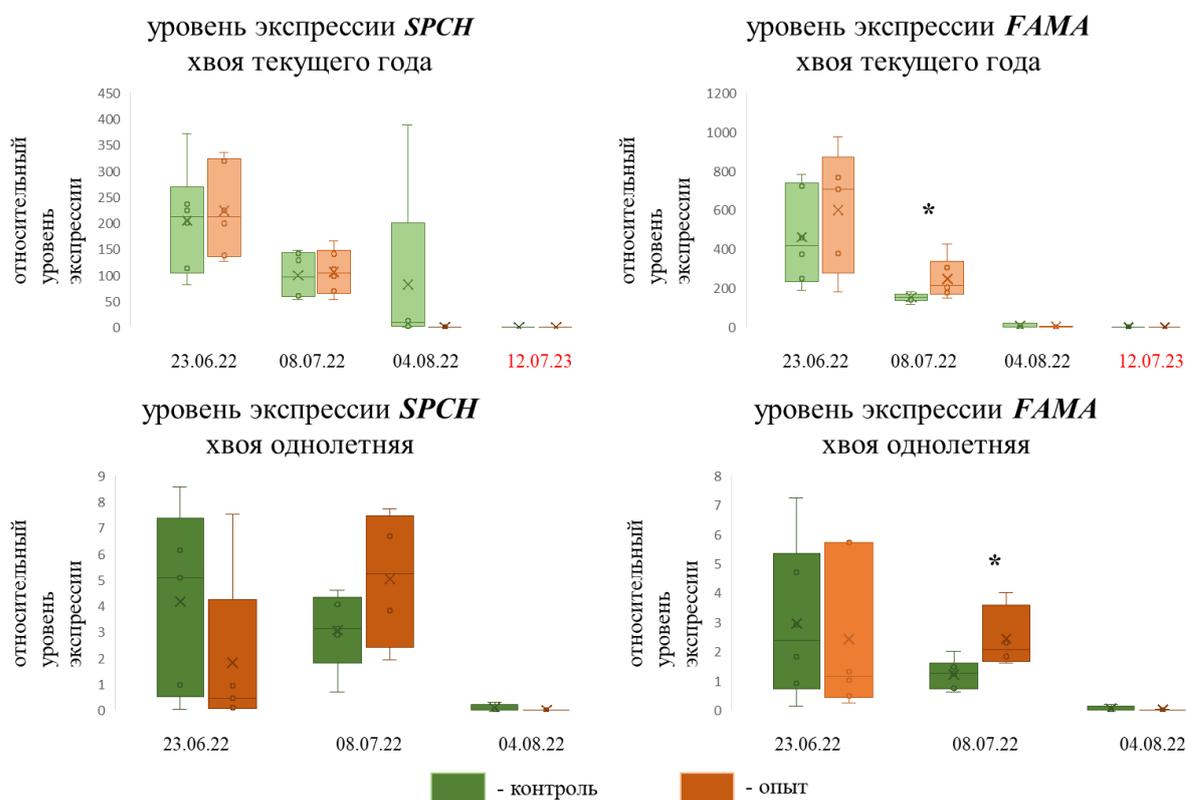


Рисунок 13. Относительный уровень экспрессии генов *SPCH* и *FAMA* в хвое текущего и первого года. * отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

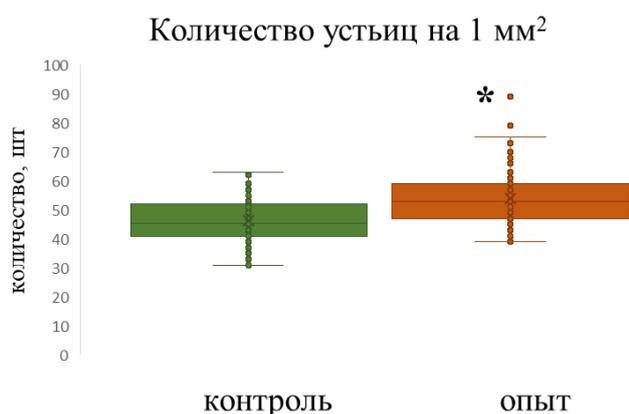


Рисунок 14. Количество устьиц в хвое, сформировавшейся во второй вегетационный год (2023). * отмечены значения, которые достоверно отличаются от контрольных (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Влияние перестроек на уровне ФА на анатомическое строение тканей ствола

Через две недели после начала эксперимента произошедшие метаболические изменения еще не успели сказаться на анатомическом строении тканей ствола. Так, у всех исследованных деревьев на момент отбора 8 июля была полностью сформирована ранняя флоэма, происходило формирование поздней флоэмы. Ширина прироста флоэмы у деревьев двух групп статистически не различалась (рис. 15А). Также в середине июля у всех деревьев активно протекал ксилогенез, начиналось отложение клеток поздней флоэмы. Приросты ксилемы были достоверно выше в группе опытных деревьев ($p=0.002$), однако наблюдаемые различия, в большей степени, обусловлены индивидуальными особенностями отобранных деревьев, чем влиянием рубок осветления (рис. 15Б).

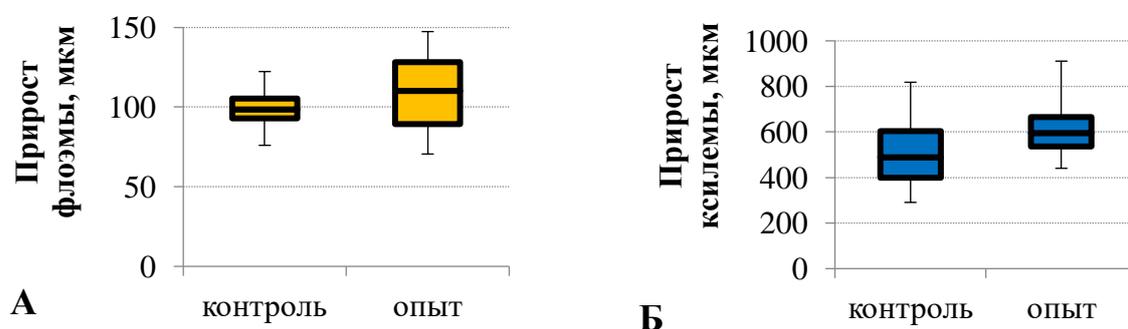


Рисунок 15. Приросты флоэмы (А) и ксилемы (Б) у подростка ели с контрольных и опытных участков. Отбор 8 июля 2022 года

В конце вегетационного периода, когда все ткани ствола были полностью сформированы, у деревьев, произраставших на опытных участках, была отмечена тенденция к увеличению приростов флоэмы и ксилемы, однако различия с контрольной группой не были статистически достоверными (рис.16).

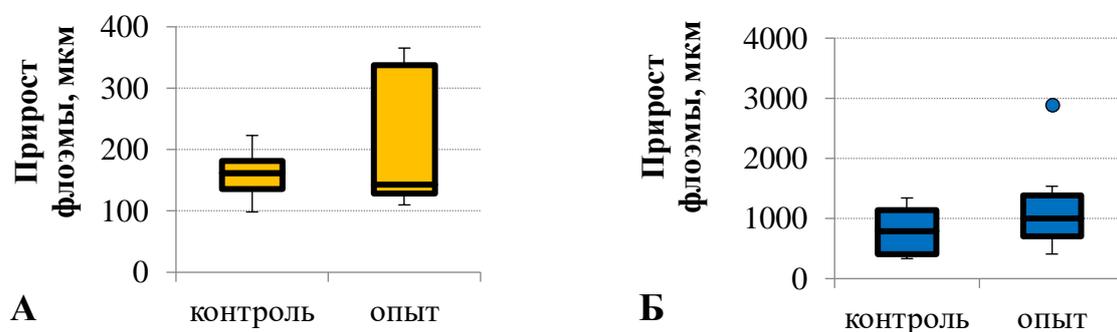


Рисунок 16. Приросты флоэмы (А) и ксилемы (Б) у подростка ели с контрольных и опытных участков. Отбор 20 сентября 2022 года

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило выявить механизмы адаптации фотосинтетического аппарата ели европейской к последствиям лесохозяйственных мероприятий. Проведение рубок ухода и связанное с ними изменение условий среды (в основном увеличение освещенности, а также изменение температурного и водного режима) привело к фотоингибированию неадаптированной к новым условиям хвои (теневая хвоя). В условиях повышенной освещенности после проведения рубок ухода отмечается изменение донорно-акцепторных отношений листового аппарата и тканей ствола.

Полученные данные указывают на то, что фотоповреждение ФС II у теневой хвои было вызвано в основном повреждением акцепторной стороны ФС II. Через двое суток после осветления было отмечено снижение транспорта электронов за пределы Q_A^- и снижение фотосинтетической способности теневой хвои. Снижение DI_0/RC с частичной дезактивацией РЦ ФС II используется как защитный механизм от фотоокислительного повреждения. В течении вегетационного сезона после проведения рубок ухода отмечалась постепенная адаптация ФА к новым условиям освещенности. Анализ показателей флуоресценции хлорофилла *a* и активностей ферментов АОС указывает на более быструю перестройку ФА к новым условиям хвои текущего года, по сравнению с однолетней хвоей.

Показано, что за счет слаженной работы АОС – не происходит значимого повреждения ФС II. В однолетней хвое взаимосвязь ферментов АОС изменяется под действием повышенной освещенности: активность СОД повышается, при этом отмечается снижение активности ПФО, которая затем возрастает в период завершения ростовых процессов. Значительное повышение активности ПФО предотвращает ингибирование циклического и/или нециклического фотофосфорилирования фенольными соединениями, используя их в качестве субстратов. Показано, что система СОД/КАТ направлена на нейтрализацию образующихся АФК в большей степени, чем система ФАЛ/ПФО/ПОД, что указывает на быстрый ответ на стрессовые условия еще на первой ступени защиты.

Выявлено, что экспрессия генов закладки устьиц (*SPCH* и *FAMA*) наибольшая в период роста хвои текущего (23 июня 2022 года) и значительно превосходит таковую у однолетней хвои. Увеличение освещенности сопровождалось возрастанием экспрессии гена *FAMA*, кодирующего транскрипционный фактор, который, с одной стороны, необходим для дифференцировки и морфогенеза замыкающих клеток устьиц, а, с другой, принимает участие в остановке пролиферации их непосредственных предшественников. Изменение условий освещенности также оказало влияние на количество устьиц в хвое, сформировавшейся во второй вегетационный год в изменившихся условиях (световой хвои).

Установлено, что измененные в результате рубок ухода условия оказали влияние на донорно-акцепторные отношения листового аппарата и тканей ствола. В период камбиального роста (спустя две недели после осветления) отмечено накопление сахаров в хвое и связанное с ним накопление крахмала в связи с замедленным оттоком метаболитов от ассимилирующих органов к тканям ствола и корневой системе.

Таким образом, было показано влияние изменившихся условий среды в ходе проведения рубок ухода на компоненты ФА и АОС, которые подключали различные механизмы защиты ФА от окислительного стресса и повреждения. Полученные данные имеют не только фундаментальное, но и прикладное значение для реализации программ, направленных на увеличение продуктивности древесных растений при проведении лесохозяйственных мероприятий.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены краткосрочные реакции, защищающие фотоассимиляционный аппарат (ФА) ели от избыточного освещения. Через двое суток после проведения рубок ухода происходят снижение транспорта электронов через один активный реакционный центр (РЦ) и увеличение энергии, рассеиваемой одним РЦ. Через две недели после проведения рубки ухода перестройка пигментного аппарата и увеличение нефотохимического тушения защищают ФА от поглощения избыточной световой энергии. При этом, эффективность работы фотосистемы II снижена. Установлено, что адаптация ФА к новым условиям освещенности происходит в течение вегетационного сезона: через год после проведения рубок ухода различий между опытными и контрольными растениями в значениях показателей, отражающих функциональную активность ФС II не обнаружено.

2. Установлено, что ингибирование переноса электронов на акцепторной стороне ФС II, а затем на донорной стороне ФС II сопровождается повышением АФК. В утилизации супероксид-аниона и пероксид водорода активное участие принимают СОД и КАТ. Индикаторная роль ПОД в утилизации пероксида водорода не выявлена. Утилизация образующихся АФК в ответ на изменившиеся условия среды. Выявлена возможная роль ПФО в регулировании уровня кислорода около фотосистем и ограничение его доступности для СОД.

3. Показано изменение донорно-акцепторных отношений листового аппарата и тканей ствола у опытных растений ели европейской. Через две недели после проведения рубок ухода отмечено накопление сахаров и, связанное с ним накопление крахмала, в хвое (замедление оттока метаболитов от ассимилирующих органов к тканям ствола и корневой системе). Через пять недель после проведения осветления в хвое текущего года существенно снижается активность ФАЛ (уменьшение роли фенилпропаноидного пути в утилизации ассимилятов).

4. Установлено, что экспрессия генов закладки устьиц (*SPCH* и *FAMA*) значительно выше в хвое текущего года в сравнении с однолетней хвоей. Увеличение освещенности сопровождалось возрастанием экспрессии гена *FAMA*, кодирующего транскрипционный фактор, который необходим для дифференцировки и морфогенеза замыкающих клеток устьиц. В хвое, сформировавшейся на следующий год после проведения рубок ухода, происходило увеличение количества устьиц.

5. Анализ показателей флуоресценции (постепенное восстановление значений ET_0/RC , более низкие значения DIO/RC) и активностей ферментов АОС указывает на более быструю перестройку ФА к новым условиям у хвои текущего года, по сравнению с однолетней хвоей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дымова О. В., Головки Т. К. Состояние пигментного аппарата растений живучки ползучей в связи с адаптацией к световым условиям произрастания // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – №. 1. – С. 47-53.
2. Загоскина Н. В., Назаренко Л. В. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений // Вестник Московского городского педагогического университета. Серия: естественные науки. – 2016. – №. 2 (22). – С. 9-23.
3. Креславский В. Д. и др. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – №. 2. – С. 163-163.
4. Никерова К. М. и др. Активные формы кислорода и компоненты антиоксидантной системы-участники метаболизма растений. Взаимосвязь с фенольным и углеводным обменом // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2021. – №. 3. – С. 5-20.
5. Сеннов С. Н. Рубки ухода за лесом. М.: Лесная промышленность. 1977. 160 с.
6. Чибисов Г. А., Нефедова А. И. Экологическая эффективность рубок ухода за лесом // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. – 2003. – №. 5. – С. 11-17.
7. Adams III W. W., Demmig-Adams B. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment // Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2004. – С. 583-604.
8. Aosaar J. et al. Short-term effects of pre-commercial thinning on carbon cycling in fertile birch (*Betula sp.*) stands in hemiboreal Estonia // European Journal of Forest Research. – 2024. – Т. 143. – №. 2. – С. 363-378.
9. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. – 2004. – Т. 55. – №. 1. – С. 373-399.
10. Aun K. et al. Short-term effect of thinning on the carbon budget of young and middle-aged Scots pine (*Pinus sylvestris L.*) stands // Forest Ecology and Management. – 2021. – Т. 492. – С. 119241.
11. Bakalova S., Nikolova A., Nedeva D. Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds // Journal of plant physiology. – 2004. – Т. 30. – №. 1-2. – С. 64-77.
12. Blackman L. M., Hardham A. R. Regulation of catalase activity and gene expression during *Phytophthora nicotianae* development and infection of tobacco // Molecular Plant Pathology. – 2008. – Т. 9. – №. 4. – С. 495-510.

13. Camejo D., Guzmán-Cedeño Á., Moreno A. Reactive oxygen species, essential molecules, during plant–pathogen interactions //Plant Physiology and Biochemistry. – 2016. – T. 103. – C. 10-23.
14. Couée I. et al. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants //Journal of experimental botany. – 2006. – T. 57. – №. 3. – C. 449-459.
15. Devireddy A. R. et al. Integration of reactive oxygen species and hormone signaling during abiotic stress //The Plant Journal. – 2021. – T. 105. – №. 2. – C. 459-476.
16. Dymova O. V. et al. Characterization of pigment apparatus in winter-green and summer-green leaves of a shade-tolerant plant *Ajuga reptans* //Russian Journal of Plant Physiology. – 2010. – T. 57. – C. 755-763.
17. Ershova M. A. et al. Some Minor Characteristics of Spectrophotometric Determination of Antioxidant System and Phenolic Metabolism Enzyme Activity in Wood Plant Tissues of *Pinus sylvestris* L //Protein and Peptide Letters. – 2022. – T. 29. – №. 8. – C. 711-720.
18. Foyer C. H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications //Antioxidants & redox signaling. – 2009. – T. 11. – №. 4. – C. 861-905.
19. Gnojek A. R. Changes in chlorophyll fluorescence and chlorophyll content in suppressed Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] in response to release cutting //Trees. – 1992. – T. 6. – C. 41-47.
20. Hasanuzzaman M. et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator //Antioxidants. – 2020. – T. 9. – №. 8. – C. 681.
21. Juodvalkis A., Kairiukstis L., Vasiliauskas R. Effects of thinning on growth of six tree species in north-temperate forests of Lithuania //European Journal of Forest Research. – 2005. – T. 124. – C. 187-192.
22. Katanić Z. et al. PSII photochemistry in vegetative buds and needles of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurement //Acta biologica hungarica. – 2012. – T. 63. – C. 218-230.
23. Kumar D. et al. Analyzing the effects of urban photopollution on photosynthetic efficiency of certain trees through chlorophyll fluorescence OJIP transient //Stresses. – 2022. – T. 2. – №. 4. – C. 437-449.
24. Lapenis A., Robinson G., Lawrence G. Radial growth decline of white spruce (*Picea glauca*) during hot summers without drought: preliminary results from a study site south of

a boreal forest border //Canadian Journal of Forest Research. – 2022. – T. 52. – №. 4. – C. 582-590.

25. MacAlister C. A., Bergmann D. C. Sequence and function of basic helix–loop–helix proteins required for stomatal development in Arabidopsis are deeply conserved in land plants //Evolution & development. – 2011. – T. 13. – №. 2. – C. 182-192.

26. Mård H. Damage and growth response in suppressed *Picea abies* after removal of overstorey birch (*Betula* spp.). – 1997.

27. Mittler R. ROS are good //Trends in plant science. – 2017. – T. 22. – №. 1. – C. 11-19.

28. Muller P., Li X. P., Niyogi K. K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy //Plant physiology. – 2001. – T. 125. – №. 4. – C. 1558-1566.

29. Murchie E. H., Ruban A. V. Dynamic non-photochemical quenching in plants: from molecular mechanism to productivity //The Plant Journal. – 2020. – T. 101. – №. 4. – C. 885-896.

30. Niemistö P., Korpunen H., Nuutinen Y. Harvesting efficiency and understory damage with different cutting methods on two storied stands of silver birch and Norway spruce. – 2024.

31. Nikerova K. M. et al. Upregulation of antioxidant enzymes is a biochemical indicator of abnormal xylogenesis in Karelian birch //Trees. – 2022. – C. 1-13.

32. Nimse S. B., Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms //RSC advances. – 2015. – T. 5. – №. 35. – C. 27986-28006.

33. Sakihama Y. et al. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants //Toxicology. – 2002. – T. 177. – №. 1. – C. 67-80.

34. Sharma P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions //Journal of botany. – 2012. – T. 2012. – №. 1. – C. 217037.

35. Steffens J. C., Harel E., Hunt M. D. Polyphenol oxidase //Genetic engineering of plant secondary metabolism. – Boston, MA : Springer US, 1994. – C. 275-312.

36. Vass I. Molecular mechanisms of photodamage in the Photosystem II complex //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 2012. – T. 1817. – №. 1. – C. 209-217.

37. Vaughn K. C., Duke S. O. Function of polyphenol oxidase in higher plants //Physiologia Plantarum. – 1984. – T. 60. – №. 1.

38. Wang et al., 2010; 250. Wang J. R. et al. Foliar responses of understory *Abies lasiocarpa* to different degrees of release cutting in a *Betula papyrifera* and conifer mixed species stand //Scandinavian Journal of Forest Research. – 2000. – T. 15. – №. 6. – C. 611-620.

39. Weiskittel A. R., Maguire D. A., Monserud R. A. Response of branch growth and mortality to silvicultural treatments in coastal Douglas-fir plantations: Implications for predicting tree growth //Forest Ecology and Management. – 2007. – T. 251. – №. 3. – C. 182-194.
40. Wellen K. E., Thompson C. B. Cellular metabolic stress: considering how cells respond to nutrient excess //Molecular cell. – 2010. – T. 40. – №. 2. – C. 323-332.
41. Zivcak M. et al. Photosynthetic responses of sun-and shade-grown barley leaves to high light: is the lower PSII connectivity in shade leaves associated with protection against excess of light? //Photosynthesis research. – 2014. – T. 119. – C. 339-354.
42. Zoulas N. et al. Molecular control of stomatal development //Biochemical Journal. – 2018. – T. 475. – №. 2. – C. 441-454.